

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Dissertação

**Uso da irradiação e de revestimento comestível na conservação de
pinhão [*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kutze] *in natura* e
minimamente processado**

Pérsia Barcellos Carrasco

Pelotas, 2019

Pérsia Barcellos Carrasco

**Uso da irradiação e de revestimento comestível na conservação de
pinhão [*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kutze] *in natura* e
minimamente processado**

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

Co-orientadores: Prof^a. Dr^a. Carla Rosane Barboza Mendonça

Prof. Dr. Eliezer Avila Gandra

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C311u Carrasco, Pérsia Barcellos

Uso da irradiação e de revestimento comestível na conservação de pinhão [*araucaria angustifolia* (bertoloni) otto kutze] in natura e minimamente processado / Pérsia Barcellos Carrasco ; Caroline Dellingshausen Borges, orientadora ; Carla Rosane Barboza Mendonça, Eliezer Avila Gandra, coorientadores. — Pelotas, 2019.

85 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. *Araucaria angustifolia*. 2. Semente. 3. Revestimentos comestíveis. 4. Irradiação. I. Borges, Caroline Dellingshausen, orient. II. Mendonça, Carla Rosane Barboza, coorient. III. Gandra, Eliezer Avila, coorient. IV. Título.

CDD : 641.1

Pérsia Barcellos Carrasco

Uso da irradiação e de revestimento comestível na conservação de pinhão
[*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kutze] *in natura* e minimamente
processado

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: 30 de agosto de 2019

Banca examinadora:

.....

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

Prof^a. Dr^a. Tatiana Valesca Rodriguez Alicieo. Doutora em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá.

Prof. Dr. Fabrizio da Fonseca Barbosa. Doutor em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa.

Prof^a. Dr^a. Carla Rosane Barboza Mendonça (Co-orientadora). Doutora em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. Eliezer Avila Gandra (Co-orientador). Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas.

Agradecimentos

Primeiramente agradecer a Deus pela vida.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Caroline Dellinghausen Borges por todo incentivo, dedicação, paciência e aprendizado na elaboração deste trabalho. Muito obrigada pelo carinho e pelo acolhimento nos momentos difíceis.

Agradeço aos meus co-orientadores, Prof^a. Dr^a. Carla Rosane Barboza Mendonça e Prof. Dr. Eliezer Avila Gandra, pela disponibilidade na elaboração deste trabalho.

Gostaria de agradecer aos estagiários pelo apoio na execução das análises.

A Dr^a. Shanise Lisie Mello El Halal por realizar as análises de firmeza nos pinhões.

Aos meus colegas de mestrado pelo incentivo.

Ao Sr. José Valter Dolzan que disponibilizou os pinhões para este estudo.

Ao Sr. Altair Delfino da Rocha Faes por realizar o tratamento de irradiação dos pinhões e incentivar este trabalho.

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos.

Aos meus pais e irmãs, que sempre me deram apoio em todos os momentos difíceis, sempre incentivando com carinho, força e paciência.

Aos meus avós que de onde estiverem sempre me ajudaram na conquista dos meus sonhos.

Aos meus amigos pelo carinho e incentivo.

Ao meu namorado Eduardo pelo carinho, apoio e paciência.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudos.

Resumo

CARRASCO, Pérsia Barcellos. **Uso da irradiação e de revestimento comestível na conservação de pinhão [*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kutze] *in natura* e minimamente processado**. 2019. 85f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

O pinhão é a semente da *Araucaria angustifolia*, rico em carboidratos de baixo índice glicêmico, minerais e vitamina C, além de compostos fenólicos presentes na casca, que difundem para a semente. Entretanto, essa semente possui elevado grau de perecibilidade e é acometida por infestação de larvas, brotamento e fungos durante a estocagem, devido a sua alta atividade de água, o que dificulta a sua comercialização. Assim objetivou-se com este estudo avaliar a conservação de pinhões *in natura* utilizando radiação gama/refrigeração, bem como de pinhões minimamente processados com o uso de revestimentos comestíveis. No primeiro experimento, os pinhões *in natura* foram submetidos radiação (1 kGy), tendo-se também um controle não irradiado, ambas as amostras foram armazenadas tanto em temperatura ambiente e sob refrigeração (4 °C). Os pinhões foram embalados em sacos de polietileno de alta densidade e avaliados durante 90 dias de armazenamento, quanto à perda de massa, acidez, açúcares redutores, vitamina C, firmeza, cor, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e análises microbiológicas. De uma forma geral, a conservação por refrigeração, sem a aplicação da irradiação, ocasionou a obtenção de melhores resultados na conservação dos pinhões *in natura* por reduzir a perda de massa, o percentual de açúcares redutores e possibilitar a obtenção de maior teor de vitamina C e atividade antioxidante. Entretanto, a aplicação da radiação sobre os pinhões associada a refrigeração ocasionou, no geral, as menores contagens dos microrganismos avaliados. No segundo experimento, os pinhões foram minimamente processados e submetidos aos revestimentos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*. Após foram secos sob ventilação forçada, acondicionados em embalagem de polietileno tereftalato e armazenados a 4 °C durante 10 dias. As análises realizadas foram de perda de massa, pH, açúcares redutores, vitamina C, cor, análises microbiológicas e análise sensorial. Observou-se benefícios com a utilização dos revestimentos de quitosana e gelatina, principalmente, quando aplicados pela técnica *layer-by-layer*. Com a aplicação do revestimento quitosana/gelatina obteve-se a melhor combinação de resultados, principalmente, redução da perda de massa e na inibição do crescimento de fungos e bactérias psicrotróficas aeróbias. Obteve-se ainda, tendência de manutenção da cor, ausência de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase* positiva. O revestimento não retardou o processo de maturação, assim, maiores teores de vitamina C foram obtidos. Os revestimentos não influenciaram no sabor e aroma dos pinhões minimamente processados. Acredita-se que essas técnicas podem ser utilizadas para a conservação da semente, incentivando o seu consumo.

Palavras-chave: *Araucaria angustifolia*. Semente. Revestimentos comestíveis. Irradiação.

Abstract

CARRASCO, Pérsia Barcellos. **Use of irradiation and edible coating for conservation of pinhão nut [*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kutze] fresh and minimally processed**. 2019. 85f. Dissertation (Master Degree in Nutrition and Food). Postgraduate Program in Nutrition and Food. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2019.

Pinhão is the seed *Araucaria angustifolia*, rich in carbohydrates with low glycemic index, minerals and vitamin C, as well as phenolic compounds present in the bark, which diffuse into the seed. However, this seed has a high degree of perishability and is affected by infestation of larvae, sprouting and fungi during storage, due to its high water activity, which hinders its commercialization. The objective of this study was to evaluate the conservation of *in natura* pinhão using gamma radiation/refrigeration, as well as minimally processed pinhão using edible coatings. In the first experiment, the *in natura* pinhões were submitted to radiation (1 kGy), also having a non-irradiated control, both samples were stored at room temperature and under refrigeration (4 °C). The pinhão were packed in high density polyethylene bags and evaluated during 90 days of storage for weight loss, acidity, reducing sugars, vitamin C, firmness, color, total phenolic compounds, antioxidant activity and microbiological analyzes. In general, the preservation by refrigeration, without the application of irradiation, resulted in better results in the conservation of *in natura* pinhão by reducing the loss of mass, the percentage of reducing sugars and enabling the obtaining of higher vitamin C content and antioxidant activity. However, the application of radiation on the pinhão associated with refrigeration caused, in general, the lowest counts of the evaluated microorganisms. In the second experiment, the pinhões were minimally processed and coated with chitosan, gelatin and chitosan/gelatin by the layer-by-layer technique. After, the pinhões were dried under forced ventilation, packaged in a polyethylene terephthalate package and stored at 4 °C for 10 days. The analyzes performed were weight loss, pH, reducing sugars, vitamin C, color, microbiological analysis and sensory analysis. Benefits were observed with the use of chitosan and gelatin coatings, especially when applied by the layer-by-layer technique. With the application of the chitosan/gelatin coating the best combination of results was obtained, mainly reduction of mass loss and inhibition of growth of fungi and aerobic psychrotrophic bacteria. A tendency of color maintenance, absence of thermotolerant coliforms and positive coagulase *Staphylococcus* were also obtained. The coating did not retard the maturation process, thus higher vitamin C contents were obtained. The coatings did not influence the taste and aroma of minimally processed pinhões. It is believed that these techniques can be used for seed conservation, encouraging their consumption.

Keywords: *Araucaria angustifolia*. Seed. Edible coating. Irradiation.

Lista de Figuras

Conservação de pinhão *in natura* pelo uso de radiação gama

Figura 1-	Perda de massa (%) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	20
Figura 2 -	Acidez total titulável (%) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	21
Figura 3 -	Açúcares redutores (g.100g ⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	23
Figura 4 -	Vitamina C (mg.100g ⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	24
Figura 5 -	Firmeza (N) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	25
Figura 6 -	Cor (L*) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	27
Figura 7 -	Cor (a*) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	28
Figura 8 -	Cor (b*) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	28

Figura 9 -	Compostos fenólicos totais (mg.100g ⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	30
Figura 10 -	Atividade antioxidante (% de inibição) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	32
Figura 11 -	Contagem de fungos (Log UFC.g ⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	33
Figura 12 -	Contagem de psicrotróficos aeróbios (Log UFC.g ⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	36
Figura 13 -	Contagem de mesófilos aeróbios (Log UFC.g ⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy ou não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	37

Conservação de pinhão minimamente processado pelo uso de revestimentos à base de quitosana e gelatina

Figura 1-	Perda de massa (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina técnica <i>layer-by-layer</i> , armazenados sob refrigeração a 4 °C por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança de 95%.....	38
Figura 2 -	pH em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica <i>layer-by-layer</i> , armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.....	40

Figura 3 -	Açúcares redutores ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica <i>layer-by-layer</i> , armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.....	41
Figura 4 -	Vitamina C ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica <i>layer-by-layer</i> , armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.....	42
Figura 5 -	Cor (L^*) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica <i>layer-by-layer</i> , armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.....	44
Figura 6 -	Cor (a^*) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica <i>layer-by-layer</i> , armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.....	45
Figura 7 -	Cor (b^*) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica <i>layer-by-layer</i> , armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.....	46
Figura 8 -	Contagens de fungos ($\text{Log UFC} \cdot \text{g}^{-1}$) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica <i>layer-by-layer</i> , armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.....	47
Figura 9 -	Contagens de microrganismos psicotróficos aeróbios ($\text{Log UFC} \cdot \text{g}^{-1}$) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica <i>layer-by-layer</i> , armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.....	48

Lista de tabelas

Conservação de pinhão minimamente processado pelo uso de revestimentos à base de quitosana e gelatina

Tabela 1 - Análise sensorial pelo teste triangular dos pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina.....	50
---	----

Sumário

1. Introdução	1
2. Objetivos	4
2.1 Objetivo geral	4
2.2 Objetivo específico	4
3. Revisão bibliográfica	5
3.1 <i>Araucaria angustifolia</i>	5
3.2 Pinhão	6
3.3 Conservação de vegetais minimamente processados pelo uso de revestimentos comestíveis	8
3.4 Conservação de vegetais pelo uso de radiação ionizante	10
4. Material e métodos	11
4.1 Material	11
4.2 Métodos	12
4.2.1 Conservação de pinhão <i>in natura</i> pelo uso de radiação gama	12
4.2.2 Conservação de pinhão minimamente processado pelo uso de revestimentos à base de quitosana e gelatina	12
4.3 Análises físicas e químicas	14
4.3.1 Perda de massa	14
4.3.2 pH	14
4.3.3 Acidez total titulável	14
4.3.4 Açúcares redutores	14
4.3.5 Vitamina C	15
4.3.6 Firmeza	15
4.3.7 Cor	16
4.3.8 Compostos fenólicos totais	16
4.3.9 Atividade antioxidante	16
4.4 Análises microbiológicas	17
4.4.1 Quantificação de microrganismos mesófilos e psicotróficos aeróbios	17
4.4.2 Enumeração de fungos	17
4.4.3 Enumeração de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	18
4.4.4 Quantificação de coliformes termotolerantes	18
4.5 Análise sensorial	18

4.6	Análise estatística	19
5	Resultados e discussão	19
5.1	Conservação de pinhão <i>in natura</i> pelo uso de radiação gama	19
5.1.1	Perda de massa.....	19
5.1.2	Acidez	21
5.1.3	Açúcares redutores.....	22
5.1.4	Vitamina C	23
5.1.5	Firmeza.....	25
5.1.6	Cor das sementes de pinhão	26
5.1.7	Compostos fenólicos totais	29
5.1.8	Atividade antioxidante	31
5.1.9	Quantificação de fungos	32
5.1.10	Quantificação de microrganismos psicrotróficos aeróbios	34
5.1.11	Quantificação de microrganismos mesófilos aeróbios	36
5.2	Conservação de pinhão minimamente processado pelo uso de revestimentos à base de quitosana e gelatina	38
5.2.1	Perda de massa.....	38
5.2.2	pH	39
5.2.3	Açúcares redutores.....	41
5.2.4	Vitamina C	42
5.2.5	Cor	43
5.2.6	Quantificação de fungos	46
5.2.7	Quantificação de microrganismos psicrotróficos aeróbios	48
5.2.8	Quantificação de coliformes termotolerantes e enumeração de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	49
5.2.9	Análise sensorial.....	50
6.	Conclusão	51
7.	Referências	52
	APÊNDICES.....	67

1. Introdução

O pinhão é a semente da *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze, pertencente à família Araucariaceae. Esse pinheiro é nativo do Brasil e encontra-se, principalmente, nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, podendo ser também encontrado na Argentina e no Paraguai (ZANDAVALLI; DILLENBURG; SOUZA, 2004; REIS; LADIO; PERONI, 2014; POLET et al., 2017).

A semente comestível é considerada como fonte de amido, magnésio, fósforo, cobre, ferro, ácido ascórbico, além de grande quantidade de flavonoides e de outros compostos fenólicos presentes na casca, que difundem para o pinhão durante a cocção. Esses compostos apresentam atividade antioxidante, sendo responsáveis pela inibição de mecanismos oxidativos, prevenindo doenças degenerativas, cardiovasculares e câncer (CORDENUNSI et al., 2004; SOUZA et al., 2014).

O pinhão apresenta elevado grau de perecibilidade, em virtude da alta atividade de água ($>0,98$), sendo facilmente acometido por fungos durante a estocagem (BALBINOT et al., 2008) além de suscetível ao processo de germinação e infestação por larvas (OLIVERA, 2008). Normalmente, é comercializado nas próprias pinhas, ou então a granel, debulhado, envasado em sacos plásticos, refrigerado ou moído congelado (OLIVERA, 2008).

Técnicas de conservação e industrialização do pinhão devem ser desenvolvidas para promover a sua comercialização e consumo em outras épocas do ano, além do período sazonal, incentivando a sua produção, extração e comercialização de forma sustentável, tendo em vista seu caráter essencialmente extrativista (DAVID; SILOCHI, 2010).

Uma técnica alternativa de conservação é a utilização de radiação ionizante, a qual é considerada um processo não térmico, livre de produtos químicos, em que há redução no uso de energia, em função da minimização da necessidade de cadeia do frio e do consumo de água (YUN et al., 2012; MAHERANI et al., 2016).

A radiação ionizante impede a multiplicação de células vivas como bactérias, fungos e organismos superiores, pois altera as estruturas moleculares e induz modificações bioquímicas nos processos fisiológicos dos

tecidos de alguns vegetais, retardando a sua maturação, envelhecimento e brotamento (STEFANOVA; VASILEV; SPASSOV, 2010).

Essa tecnologia tem sido amplamente utilizada na conservação de vegetais como damasco (WEI et al., 2014), tomate cereja (GUERREIRO et al., 2016), espinafre (HUSSAIN et al., 2016), morango (MARAEI; ELSAWY, 2017), cebolinha (MEMON et al., 2018), romã (ASHTARI et al., 2019), broto de bambu (WANG et al., 2019), sendo os resultados dependentes da matéria-prima e da dose aplicada. Na literatura não há trabalhos sobre a aplicação de radiação ionizante em sementes de pinhão.

Outra técnica que alia conservação, praticidade e incentivo ao consumo é a produção de pinhão minimamente processado. Entretanto, de acordo com os resultados de Moreira (2018), o processamento mínimo do pinhão ocasiona aumento da perda de massa, da deterioração fisiológica e do crescimento de microrganismos. Assim, uma forma de reduzir tais alterações é a aplicação de revestimentos comestíveis, os quais atuam, principalmente, como barreira a gases e vapor de água, modificando a atmosfera interna dos frutos, o que reduz as alterações, levando ao aumento da vida útil dos vegetais (MAIA; PORTE; SOUZA, 2000).

Muitas vezes a utilização de um único polímero não propicia as características adequadas para os revestimentos, podendo-se assim utilizar mais de um polímero pela técnica *layer-by-layer*. Por essa técnica, ocorre a deposição de camada sobre camada dos revestimentos contendo polieletrólitos com cargas opostas, com o objetivo de melhoria das propriedades físicas, a partir da formação de novas ligações (CHEN et al., 2008; DENAVI et al., 2009).

A técnica *layer-by-layer* já foi aplicada em melão com alginato e quitosana (POVERENOV et al., 2014) e quitosana e pectina (MOREIRA et al., 2014); em tangerina com quitosana e carboximetilcelulose (ARNON et al., 2015); melancia com alginato e pectina (SIPAHI et al., 2013); abacaxi com alginato e pectina (MANTILLA et al., 2013), quitosana e pululana, quitosana e mucilagem de linhaça, quitosana e mucilagem de aloe vera e quitosana e mucilagem de cactos nopal (TREVIÑO-GARZA et al., 2017), sendo os resultados dependentes da matéria-prima e do revestimento. Dentre os materiais que podem ser utilizados no recobrimento de vegetais por essa técnica estão a quitosana e a gelatina.

A quitosana é um biopolímero obtido a partir da desacetilação de quitina obtida a partir de cascas de crustáceos, como casca do camarão, casca de insetos e fungos (MOURA et al., 2011). É um polissacarídeo catiônico abaixo de pH 6,0, sendo muito utilizado como revestimento devido às suas propriedades atóxicas, antimicrobianas e antibiofilme (DUTTA et al., 2009; MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012; ROY et al., 2017).

Já a gelatina é um biopolímero produzido a partir da hidrólise parcial do colágeno que é uma glicoproteína que contém pequena quantidade de galactose e glicose presente na pele, tendões, cartilagens, ossos e tecidos de animais (ALFARO, 2008). Apresenta carga negativa acima do seu ponto isoelétrico pH 4,8 – 5,0, sendo um polímero biodegradável, atóxico e de baixo custo. A gelatina possui propriedades de barreira efetivas contra oxigênio e o dióxido de carbono (JIANG et al., 2010; ROY et al., 2017; QIAO et al., 2017). Assim, a gelatina e a quitosana podem formar complexos por interações eletrostáticas, além de ligações de hidrogênio, possibilitando a utilização da técnica *layer-by-layer* (QIAO et al., 2017).

Diante do exposto, os pinhões *in natura* irradiados e os pinhões minimamente processados adicionados de revestimentos comestíveis, podem representar alternativas para a conservação e comercialização destas sementes.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Avaliar a conservação de pinhões *in natura* pelo uso de radiação gama e refrigeração e de pinhões minimamente processados pelo uso de revestimentos comestíveis à base de quitosana e gelatina.

2.2 Objetivo específico

Conservar pinhões *in natura* pelo uso de radiação gama e refrigeração.

Conservar pinhões minimamente processados pelo uso de revestimentos à base de quitosana e gelatina.

Avaliar parâmetros físicos e químicos dos pinhões, como perda de massa, firmeza, vitamina C, açúcares redutores, acidez total, pH, cor, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.

Avaliar parâmetros microbiológicos, através da contagem de fungos, microrganismos mesófilos e psicrotróficos aeróbios, *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes.

Realizar avaliação sensorial dos pinhões minimamente processados.

3. Revisão bibliográfica

3.1 *Araucaria angustifolia*

A *Araucaria angustifolia* pertence à família das Araucariaceae, sendo encontrada, principalmente, na América do Sul. É uma planta nativa da Mata Atlântica do sul do Brasil, característica em regiões serranas ou de planaltos com altitudes elevadas e temperatura moderada durante o ano. Caracteristicamente, apresenta-se como uma árvore alta medindo de 20 m a 50 m e de 1 m a 2 m de diâmetro, tronco cilíndrico, reto, raramente ramificado, casca grossa (15 cm), resinosa, cuja superfície externa se desprende em placas finas de cor cinza escuro (BASSO, 2010). Atinge um bom desenvolvimento em 50 anos, com média de vida variando entre 200 a 300 anos (KOCK; CORREIA, 2002; CONAB, 2014).

A araucária é uma planta dioica, ou seja, há árvores femininas e masculinas, com predominância de pinheiros masculinos tanto em áreas de ocorrência natural, como em plantios, porém a floração feminina ocorre o ano todo e, a masculina, de agosto a janeiro. As flores masculinas formam um “charuto” e estão presas na face ventral de escamas que ao amadurecerem tornam-se verdes ou cinzentas, liberam o pólen ao vento, que o transporta até as flores femininas situadas em outras árvores. As flores femininas, em cone arredondado (pinha), protegidas por cerca de mil brácteas escamiformes, estão inseridas num eixo central. Na base das brácteas férteis apenas um óvulo se forma e essas envolvem o pinhão que se desenvolve. A pinha, fruto em que desenvolvem os pinhões, tem formato de uma esfera compacta com diâmetro entre 15 cm e 20 cm, chegando a pesar em média 2,0 kg. O desenvolvimento dos pinhões ocorre em, aproximadamente, seis meses, desde o estágio pró-embrionário até a sua maturação, que ocorre durante os meses de dezembro a maio, dependendo da variedade (CAPELLA; PENTEADO; BALBI, 2010).

Cabe ressaltar que o IBAMA, através da Portaria nº 20 de 27/09/76, autoriza a colheita, transporte e comercialização do pinhão a partir de 15 de abril, com o objetivo de proteger as sementes para a produção de mudas, com consequente preservação da espécie. O término da colheita é determinado

pelos próprios produtores, quando há poucas sementes (SILVEIRA; RODRIGUES; GUERRA, 2006).

Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) demonstram que a produção nacional de pinhão em 2017 foi de, aproximadamente, 9,2 toneladas, sendo o Paraná responsável por 38,7% de todo o pinhão produzido no país (IBGE, 2019).

3.2 Pinhão

O pinhão apresenta forma cônica ou cônica cilíndrica e diferentes tamanhos (de 3 a 15 centímetros de comprimento), dependendo da variedade, idade e condições de crescimento (SANQUETTA, 2007; CAPELLA; PENTEADO; BALBI, 2010). É constituído de envoltório (casca), polpa e embrião, ricos em celulose, amido e lipídeos, respectivamente. Sua casca apresenta coloração marrom avermelhada, e a polpa caracteriza-se pela elevada firmeza quando crua, sendo necessário submetê-lo ao processo de cocção para haver o abrandamento de sua textura e permitir o consumo (CAPELLA; PENTEADO; BALBI, 2010).

Além do consumo na forma cozida (em água, ou assado), a semente é utilizada para a produção de farinha, para o preparo de pratos regionais como bolos, tortas e pães (CORDENUNSI et al., 2004).

O pinhão apresenta expressivo valor nutricional, sendo formado basicamente por amido (41,92%), lipídeos (1,34%), proteínas (3,57%), fibras (15,6%) cálcio (0,35%), ferro (0,70%), fósforo (0,136%) e ácido ascórbico (0,139%) e água (36,24%) (CORDENUNSI et al., 2004; ACORSI et al., 2009; ANJOS, 2013). Apesar de conter alto teor de amido, este apresenta baixo índice glicêmico, devido ao maior teor de amido resistente. O amido resistente se comporta como fibra alimentar, mesmo não sendo. Não é facilmente digerido no trato gastrointestinal, visto que a enzima alfa-amilase e outras enzimas digestivas são inacessíveis fisicamente ao amido resistente, sua digestão é mais lenta, fazendo com que a glicose seja liberada gradualmente evitando picos de insulina, o que aumenta o tempo de saciedade após consumo (MENEZES et al., 2009; POLET, 2017).

Durante o processo de cocção do pinhão, os compostos fenólicos presentes na camada interna e externa da casca difundem não apenas para a água, mas também para a semente, a parte comestível. A cocção da semente abre as membranas da parede celular da casca, facilitando a difusão desses compostos para a semente (THYS; CUNHA, 2015), ou ainda, pode ocorrer a hidrólise parcial dos taninos presentes no revestimento do pinhão, já que muitos destes são termolábeis, produzindo fenólicos simples que difundem para a semente com maior facilidade (KOEHNLEIN et al., 2012).

De acordo com a literatura o teor de compostos fenólicos do pinhão cozido é variável (54 mg – 5140 mg.100g⁻¹) (CORDENUNSI et al., 2004; SANT'ANNA et al., 2016). Dentre os principais compostos fenólicos estão a catequina, a quercetina e o ácido gálico (KOEHNLEIN et al., 2012).

Em função desses compostos, o pinhão cozido apresenta atividade antioxidante. Sant'anna et al. (2016), observaram 87,93% de inibição da oxidação em sementes de pinhão cozido.

Por possuir umidade (50%) e atividade de água muito alta (>0,98), o pinhão é susceptível às reações de deterioração, restringindo sua viabilidade, uma vez que não se trata de um produto processado. O tempo de armazenamento é pequeno, pois facilmente a semente inicia seu processo de brotamento, ocorrendo ataque microbiológico, o que dificulta a sua comercialização (KRAMER; JONG; NORENÅ, 2004).

Amarante et al. (2007) demonstraram que temperaturas próximas de 0° C, são as condições ideais para a conservação de pinhões. Por outro lado, Olivera et al. (2008) verificaram que em temperatura ambiente o pinhão pode ser armazenado por até cinco dias, sendo que os principais fatores limitantes para o consumo em maior tempo são o ataque por fungos e o brotamento, já refrigerado pode ser mantido por três meses e até 8 meses se mantido congelado, sem alterar suas características sensoriais.

Os pinhões são comercializados nas próprias pinhas, ou então a granel, debulhados, armazenados em sacos plásticos ou congelados moídos (OLIVERA, 2008). Por esta razão, é necessário o desenvolvimento de métodos para a conservação do pinhão, que possibilite o aumento de sua vida útil, a um baixo custo, viabilizando sua comercialização durante um maior período após a colheita ou, por outro lado, que proporcione maior praticidade ao consumidor.

Assim, serão abordadas a conservação pelo uso de radiações ionizantes e a aplicação do processamento mínimo, aliado ao uso de revestimentos comestíveis.

3.3 Conservação de vegetais minimamente processados pelo uso de revestimentos comestíveis

Os vegetais minimamente processados são conhecidos como alimentos frescos com alto valor nutricional, sendo modificados fisicamente apenas por meio de corte e fatiamento (RODGERS, 2016). Seu consumo tem sido crescente em função das mudanças no estilo de vida e pela preferência por alimentos prontos (YOUSUF; SRIVASTANA, 2015).

No entanto, as operações de processamento mínimo, como a lavagem e o corte, causam aumento na taxa respiratória e mudanças bioquímicas que levam à rápida deterioração do vegetal, causando alterações físicas, químicas e microbiológicas (MOREIRA et al., 2008).

Um método de conservação dos vegetais minimamente processados é a utilização de revestimentos comestíveis, também chamados de coberturas comestíveis. Para a aplicação dessas, os vegetais são imersos em uma solução formada por carboidrato, proteína, lipídeo ou uma mistura destes, a fim de formar uma fina camada em sua superfície (FALGUERA et al., 2011). O revestimento atua, principalmente, como barreira a gases e vapor de água, modificando a atmosfera interna dos frutos, o que reduz a degradação, levando ao aumento da vida útil dos vegetais (MAIA; PORTE; SOUZA, 2000).

A produção de pinhão minimamente processado é uma alternativa de comercialização desta semente, que propicia praticidade e reduz o tempo de cocção. Entretanto, de acordo com os resultados de Moreira (2018), o processamento mínimo do pinhão ocasiona aumento da perda de massa, da deterioração fisiológica e do crescimento de microrganismos. Neste mesmo estudo, ao avaliar a conservação de pinhões minimamente processados por meio da utilização de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas (quitosana e goma xantana adicionada de óleo essencial de cravo-da-índia), ainda que sem êxito para conter a perda de massa, o estudo

revelou que o revestimento à base de quitosana possibilitou menor contagem de microrganismos psicrófilos.

Uma forma de alterar as características dos revestimentos é a aplicação dos materiais poliméricos pela técnica *layer-by-layer*. Por essa técnica, ocorre a deposição de camada sobre camada dos revestimentos contendo polieletrólitos com cargas opostas, com o objetivo de melhoria das propriedades físicas pela formação de novas ligações (CHEN et al., 2008; DENAVI et al., 2009).

A técnica *layer-by-layer* já foi aplicada em melão com alginato e quitosana (POVERENOV et al., 2014) e quitosana e pectina (MOREIRA et al., 2014); em tangerina com quitosana e carboximetilcelulose (ARNON et al., 2015); melancia com alginato e pectina (SIPAHI et al., 2013); abacaxi com alginato e pectina (MANTILLA et al., 2013), quitosana e pululana, quitosana e mucilagem de linhaça, quitosana e mucilagem de aloe vera e quitosana e mucilagem de cactos nopal (TREVIÑO-GARZA et al., 2017), sendo os resultados dependentes da matéria-prima e do revestimento.

Dentre os materiais que podem ser utilizados no recobrimento de vegetais por essa técnica estão a quitosana e a gelatina.

A quitosana é um biopolímero obtido a partir da desacetilação de quitina, obtida a partir de cascas de crustáceos, como casca do camarão, casca de insetos e fungos (MOURA et al., 2011). É um polissacarídeo catiônico abaixo de pH 6,0, sendo muito utilizado como revestimento devido às suas propriedades atóxicas, antimicrobianas e antibiofilme (DUTTA et al., 2009; MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012; ROY et al., 2017).

Já a gelatina é um biopolímero produzido a partir da hidrólise parcial do colágeno que é uma glicoproteína que contém pequena quantidade de galactose e glicose presente na pele, tendões, cartilagens, ossos e tecidos de animais (ALFARO, 2008). Apresenta carga negativa acima do seu ponto isoelétrico pH 4,8 – 5,0, sendo um polímero biodegradável, atóxico e de baixo custo. A gelatina possui propriedades de barreira efetivas contra oxigênio e o dióxido de carbono (JIANG et al., 2010; ROY et al., 2017; QIAO et al., 2017). Assim, a gelatina e a quitosana podem formar complexos por interações eletrostáticas, além de ligações de hidrogênio, possibilitando a utilização da técnica *layer-by-layer* (QIAO et al., 2017).

No Brasil não existe legislação específica para frutas e hortaliças minimamente processadas que abordem parâmetros físico-químicos. Entretanto na Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001 que dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre os 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, selecionados ou fracionados), branqueados, sanificados, refrigerados ou congelados para consumo direto. As análises de coliformes a 45 °C, *Salmonella* spp, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Bacillus cereus* são preconizadas por essa legislação, dependendo do produto. Além disso, é comum na literatura esses produtos serem avaliados quanto a microrganismos psicotróficos e fungos (GNIEWASZ et al., 2013; SOARES et al., 2018).

3.4 Conservação de vegetais pelo uso de radiação ionizante

A radiação ionizante, técnica de processamento não térmico, é transmitida por partículas de alta energia (alfa, prótons, elétrons e nêutrons) ou ondas eletromagnéticas (raios X e raios gama) que apresentam energia suficiente para remover elétrons de valência de um átomo e energia inferior ao limiar das reações nucleares. Das diversas formas de radiação ionizante, apenas duas são utilizadas na irradiação de alimentos: radiação eletromagnética, principalmente a gama e raios X, e a radiação por feixe de elétrons (LIMA FILHO et al., 2014).

As radiações ionizantes são obtidas a partir de qualquer radioisótopo como fontes de cobalto-60 e cério-137, (SHAHBAZ et al., 2014), ou habilitado por máquina de raios-X ou feixe de elétrons (HUO et al., 2013).

Os produtos irradiados não são radioativos, pois a energia absorvida não é poderosa o suficiente para afetar os neutrões nos núcleos das moléculas (MAHAPATRA et al., 2005).

A irradiação de alimentos é uma tecnologia alimentar que apresenta como vantagem a capacidade de eliminar patógenos de origem alimentar, controlar a deterioração, retardar o amadurecimento de frutas e vegetais frescos além de destruir insetos e parasitas em grãos, frutas e vegetais secos,

carnes e frutos do mar (LACROIX; FOLLET, 2015). Além de apresentar uma alternativa segura e eficaz em termos de custos, é um tratamento não químico para perdas pós-colheita (NAVARRO et al., 2000; HALLMAN, 2011).

Além disso, essa tecnologia proporciona benefícios ambientais, como processo livre de produtos químicos, a redução no uso de energia para o transporte, armazenamento a frio e redução no consumo de água (YUN et al., 2012; MAHERANI et al., 2012).

Entretanto, mesmo que a irradiação ocasione benefícios, esse método de conservação pode causar alterações físicas, químicas, nutricionais e sensoriais nos alimentos, dependendo da dose utilizada (FELLOWS, 2006; ROBERTS, 2014).

A Resolução RDC de nº 21, de 26 de janeiro de 2001, não estabelece doses mínimas para alimentos irradiados, porém, a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a dose máxima deve ser inferior aquela que comprometeria as propriedades funcionais ou atributos sensoriais do alimento (BRASIL, 2001).

Essa tecnologia tem sido amplamente utilizada na conservação de vegetais como damasco (WEI et al., 2014), tomate cereja (GUERREIRO et al., 2016), espinafre (HUSSAIN et al., 2016), morango (MARAEI; ELSAWY, 2017), cebolinha (MEMON et al., 2018), romã (ASHTARI et al., 2019), broto de bambu (WANG et al., 2019), sendo os resultados dependentes da matéria-prima e da dose aplicada. Na literatura não há trabalhos sobre a aplicação de radiação ionizante em sementes de pinhão.

4 Material e métodos

4.1 Material

As amostras de pinhão *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze, foram obtidas de um produtor na cidade de Vacaria (Latitude: 28° 30' 39" Sul, Longitude: 50° 55' 47" Oeste), no estado do Rio Grande do Sul. As sementes foram coletadas, embaladas em saco de estopa e encaminhadas para a cidade de Pelotas – RS, onde foram armazenadas em temperatura ambiente (18°C), por dois dias até o processamento.

4.2 Métodos

4.2.1 Conservação de pinhão *in natura* pelo uso de radiação gama

Os pinhões foram selecionados, descartando os que apresentaram deterioração ou fungos aparentes. Após, foram divididos em dois grupos. No primeiro grupo, os pinhões foram irradiados com radiação gama a partir de uma fonte de cobalto-60 (Theratronics, Eldorado 78, Best Theratronics Ltd., Ottawa, Canada), com energia de partícula de 1,25 MeV, dose de 1 kGy, rendimento de 2,0584 Gy.min⁻¹, a 20-22 °C. Os pinhões (5 kg) foram dispostos em um cubo com 22,5 cm de aresta, de faces vazadas, revestido com filme de policloreto de vinila. A irradiação foi aplicada de forma tridirecional de lados paralelos e opostos. No outro grupo de pinhões não foi aplicada irradiação. Após, cada quilo de pinhão foi embalado em sacos de polietileno de alta densidade. Ambos grupos foram armazenados tanto à temperatura ambiente (média de 18 °C), quanto em refrigeração a 4 °C. As análises foram realizadas em 0, 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

Os seguintes tratamentos foram avaliados: Tratamento A – pinhões irradiados (1 kGy) armazenados à temperatura ambiente; Tratamento B – pinhões não irradiados armazenados à temperatura ambiente; Tratamento C – pinhões irradiados (1 kGy) armazenados à temperatura de refrigeração (4 °C); Tratamento D – pinhões não irradiados armazenados à temperatura de refrigeração (4 °C).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 4 x 4, sendo 4 tratamentos (A, B, C e D) e 4 períodos de avaliação (0, 30, 60 e 90 dias de armazenamento), sendo as avaliações realizadas no mínimo em triplicata. Cada tratamento foi composto de 330 unidades de pinhão.

4.2.2 Conservação de pinhão minimamente processado pelo uso de revestimentos à base de quitosana e gelatina

Os pinhões foram selecionados, em função da presença de deterioração ou fungos aparentes. Em seguida, foram lavados com água, sanitizados em

solução de hipoclorito de sódio (200 ppm), em pH entre 6,5 e 7,0, por 15 min, enxaguados com água e descascados manualmente. Após o descasque, foram novamente sanitizados, enxaguados e centrifugados por 30 segundos.

A solução de quitosana (Polymar) foi preparada na concentração de 1,5% (p/v), em solução de ácido acético 1,5% (p/v), sendo homogeneizada em agitador magnético, a temperatura ambiente durante 2 h, após realizou-se aquecimento a 60 °C por 20 min. A solução foi utilizada 24 h após o preparo. O pH final da solução foi de 3,12.

A solução de gelatina incolor e sem sabor (Dr. Oetker®) foi preparada por dissolução em água destilada na concentração de 5% (p/v). A solução foi homogeneizada em agitador magnético à 60 °C por 30 min. O pH final da solução foi de 5,76. Após a dissolução, ambas soluções foram adicionadas de glicerol na concentração de 1% (p/v).

Os seguintes tratamentos foram avaliados: Tratamento A - controle (água deionizada); Tratamento B - quitosana (1,5% p/v) e glicerol (1,0% p/v); Tratamento C - gelatina (5% p/v) e glicerol (1% p/v); Tratamento D - quitosana (1,5% p/v) e glicerol (1% p/v) sob gelatina (5% p/v) e glicerol (1% p/v).

Os pinhões submetidos aos tratamentos A, B e C foram imersos por 30 seg nas respectivas soluções e secos sob ventilação forçada a temperatura ambiente (15 °C).

No tratamento D foi aplicada a técnica *layer-by-layer*, em que os pinhões foram imersos primeiramente na solução de quitosana por 30 seg e submetidos a secagem nas mesmas condições descritas anteriormente, sendo após os pinhões imersos na solução de gelatina e submetidos novamente a secagem.

Por fim, as amostras foram acondicionadas em embalagem de polietileno tereftalato, padronizando 20 pinhões por embalagem e armazenadas a 4 °C, durante 10 dias. As análises foram realizadas após 0, 3, 6 e 10 dias de armazenamento.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 4 x 4, sendo 4 tratamentos (A, B, C e D) e 4 períodos de avaliação (1, 3, 6 e 9 dias de armazenamento refrigerado), sendo as avaliações realizadas no mínimo em triplicata. Cada tratamento foi composto de 330 unidades de pinhão.

4.3 Análises físicas e químicas

4.3.1 Perda de massa

A perda de massa foi obtida relacionando-se a diferença entre a massa inicial do pinhão e a massa obtida ao final de cada tempo de armazenamento (AKHTAR; ABASSI; HUSSAIN, 2010), de acordo com a equação 1. Os resultados foram expressos em porcentagem de perda de massa.

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

4.3.2 pH

O pH foi determinado em uma suspensão preparada com 10 g de pinhão descascado, triturado e homogeneizado com 100 mL de água destilada, com o auxílio de potenciômetro (Analyser) (IAL, 2008).

4.3.3 Acidez total titulável

A acidez total titulável foi determinada por titulação potenciométrica de 10 g de amostra descascada, triturada e homogeneizada com 100 mL de água destilada. A amostra foi titulada utilizando-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).

4.3.4 Açúcares redutores

Um extrato aquoso a partir de 2,5 g de pinhões descascados e triturados foi preparado em 50 mL de água sob agitação por 2 h, após a suspensão foi filtrada em papel qualitativo. Para determinação dos açúcares redutores foi seguida a metodologia descrita por Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013). Foram pipetados 1,0 µL de extrato aquoso e 1,0 µL do reagente 3,5 ácido dinitrosalicílico e transferidos para balão volumétrico de 10 mL, a solução foi

agitada em vórtex por 1 min. Posteriormente, a amostra foi colocada em banho maria a 100 °C por 5 min, após foi resfriada em banho de água fria. Para após, o volume do balão ser completado com água destilada. A absorbância da solução resultante foi medida em espectrofotômetro (AAKER) a 540 nm. Foi preparado um branco para a calibração do equipamento. A quantificação foi realizada utilizando uma curva de calibração com glicose nas concentrações de 0 a 3 mg mL⁻¹ ($517,88x + 45,851$ $R^2= 0,9907$). Os resultados foram expressos em g.100g⁻¹ de pinhão.

4.3.5 Vitamina C

A partir do pinhão descascado e triturado, foram transferidos para Erlenmeyer de 300 mL 20 g de amostra, 50 mL de água, 10 mL de solução de ácido sulfúrico a 20% (v/v), 1 mL da solução de iodeto de potássio a 10% (v/v) e 1 mL da solução de amido a 1% (p/v). A amostra foi titulada com solução de iodato de potássio 0,02 mol.L⁻¹ até coloração rosada. Os resultados foram expressos em mg.100 g⁻¹ de amostra (IAL, 2008).

4.3.6 Firmeza

Os pinhões foram descascados e posteriormente foi determinada a firmeza utilizando-se um texturômetro (Stable Micro Systems modelo TA.XTplus). Foi utilizada como ponteira a lâmina 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 mm.s⁻¹, velocidade de teste de 1,00 mm.s⁻¹, velocidade pós-teste de 10,00 mm.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, sendo os resultados expressos em Newton (N).

4.3.7 Cor

A cor foi determinada utilizando-se um colorímetro Minolta CR 400. No padrão *C.I.E L*a*b**, onde 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).

4.3.8 Compostos fenólicos totais

Os pinhões com casca foram submetidos ao cozimento em panela de pressão por 20 min. Para o preparo do extrato hidroalcoólico os pinhões foram descascados, triturados e 5 g destes foram adicionados de 50 mL de solução metanólica (70% metanol/30% de água). O extrato ficou 3 h sob agitação a temperatura ambiente, após foi submetido a filtração em papel qualitativo.

A determinação dos compostos fenólicos totais seguiu a metodologia proposta por Singleton et al. (1999) com algumas modificações. Alíquotas de 1 mL do extrato hidroalcoólico (70% metanol/30% água) foram adicionados de 1 mL de solução Folin-Ciocalteu e, posteriormente, 8 mL de água destilada. Após 3 min de reação, 1 mL de Na_2CO_3 1 mol.L⁻¹ foi adicionado e a mistura incubada a 37 °C por 30 min. A absorbância da solução resultante foi medida em espectrofotômetro (AAKER) a 750 nm. A quantificação foi realizada utilizando a curva de calibração realizada com o ácido gálico nas concentrações de 0 a 0,5 mg mL⁻¹ ($y=1,9772x + 0,072$ $R^2=0,9832$). Os resultados foram expressos em mg EAG.100g⁻¹ de pinhão.

4.3.9 Atividade antioxidante

Os pinhões com casca foram submetidos a cocção em panela de pressão por 20 min. Para o preparo do extrato hidroalcoólico os pinhões foram descascados, triturados e 5 g destes foram adicionados de 50 mL de solução metanólica (70% metanol/30% de água). O extrato ficou 3 h sob agitação a temperatura ambiente, após foi submetido a filtração em papel qualitativo.

A determinação da atividade antioxidante foi realizada seguindo o método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) de acordo com Brand-Willians et al. (1995). Foram utilizados 750 µL do extrato hidroalcoólico (70% metanol/30% água) em 3750 µL de DPPH (0,05 mM), a leitura realizada após 20 min, em espectrofotômetro (AAKER), a 515 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição.

4.4 Análises microbiológicas

A avaliação da microbiota presente foi realizada através da contagem mesófilos aeróbios, psicotróficos aeróbios, fungos, *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes.

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com os procedimentos propostos por Downes e Ito (2001). Para todas as amostras foram realizadas diluições seriadas em água peptonada tamponada 0,1% até a diluição 10^{-4} e a partir dessas, as análises foram realizadas em duplicata.

4.4.1 Quantificação de microrganismos mesófilos e psicotróficos aeróbios

A quantificação dos microrganismos foi efetuada por plaqueamento das diluições em Ágar Padrão para Contagem (PCA). Para os microrganismos mesófilos aeróbios, as placas foram incubadas a 35 °C por 48 h, e para psicotróficos aeróbios, a 7 °C por 10 dias. Os resultados foram expressos em UFC.g⁻¹.

4.4.2 Enumeração de fungos

Para a contagem de fungos (bolores e leveduras), foi utilizado o método de plaqueamento em Ágar Batata Dextrose, sendo as placas incubadas a 25 °C. Foram realizadas contagens aos três e aos cinco dias de incubação. O resultado foi expresso em UFC.g⁻¹.

4.4.3 Enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva

Para a contagem do *Staphylococcus* coagulase positiva foi realizada semeadura em superfície, em Ágar Baird Parker com incubação a 37 °C por 48 h. As colônias foram enumeradas e tanto colônias típicas como atípicas foram selecionadas para a realização do teste de produção de coagulase livre.

4.4.4 Quantificação de coliformes termotolerantes

Para a enumeração de coliformes 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 °C por 48 h. Os resultados foram expressos em NMP.g⁻¹.

4.5 Análise sensorial

As amostras dos pinhões minimamente processados foram submetidas à cocção por 20 min em panela de pressão e avaliadas sensorialmente de acordo com o Teste Triangular, em três repetições.

O teste baseia-se em oferecer ao avaliador simultaneamente três amostras, sendo duas iguais e uma diferente, com objetivo de distinguir o sabor e aroma da amostra distinta (IAL, 2008). Participaram da análise 20 avaliadores familiarizados com a técnica, sendo utilizadas cabines individuais, em que as amostras foram oferecidas em recipientes de porcelana branca, não descartável, sendo codificados com três dígitos numéricos.

A realização do teste foi aprovada pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, sob o número CAAE 12348019.1.0000.5317.

4.6 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e a 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 calculado o intervalo de confiança a 95%. Para a análise sensorial os percentuais de acerto dos avaliadores foram analisados de acordo com a tabela de nível de significância (5%) para teste triangular (IAL, 2008).

4 Resultados e discussão

5.1 Conservação de pinhão *in natura* pelo uso de radiação gama

5.1.1 Perda de massa

Ao analisar os dados de perda de massa dos pinhões submetidos aos distintos tratamentos em relação ao tempo, pode-se observar que houve aumento significativo ($p \leq 0,05$) dos valores durante o armazenamento, independente do tratamento, conforme Figura 1. Ao término do armazenamento, pode-se observar efeito significativo ($p \leq 0,05$) da refrigeração na redução da perda de massa, ao se comparar o efeito da refrigeração nos pinhões não irradiados (NITR e NITA), assim como para os pinhões submetidos a irradiação (ITR e ITA). Não houve influência significativa da irradiação na perda de massa dos pinhões (Apêndice A). Assim, os pinhões não irradiados conservados sob refrigeração (NITR) apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) os menores valores de perda de massa (9,92%), em relação aos pinhões irradiados, armazenados no ambiente (ITA) (18,26%), os quais apresentaram os maiores valores, entre os tratamentos avaliados.

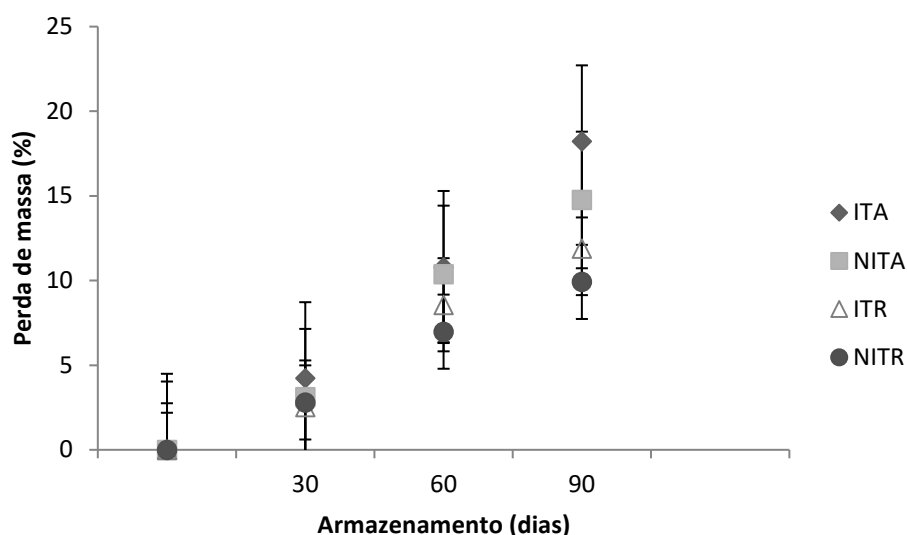


Figura 1 - Perda de massa (%) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

Estudos já demonstraram o efeito de baixas temperaturas na redução da perda de massa de pinhões, em função da diminuição da taxa respiratória (AMARANTE et al., 2007; COSTA, 2014). O efeito da irradiação na perda de massa de vegetais parece ser dependente da matéria-prima, assim como do seu efeito no aumento ou redução da taxa respiratória (MARAEI; ELSAWY, 2017; WANG et al., 2017). Entretanto, não há relatos na literatura do efeito combinado da irradiação com a redução da temperatura na conservação de pinhões.

Memon et al. (2018) observaram aumento de perda de massa em cebolinhas irradiadas (de 0,5 a 1,5 kGy), independente da dose aplicada. Maraei e Elsaywy, (2017) ao avaliar morangos irradiados e armazenados sob refrigeração (10 °C) também observaram aumento da perda de massa com o tempo de conservação, entretanto, houve redução desta com o aumento da dose de irradiação até 900 Gy.

5.1.2 Acidez

Ao analisar os dados de acidez dos pinhões em relação ao tempo, pode-se observar que houve redução significativa ($p \leq 0,05$) da acidez durante os 90 dias de armazenamento, em todos os tratamentos, conforme Figura 2. Entretanto, ao término do armazenamento não houve distinção significativa entre os tratamentos (Apêndice B).

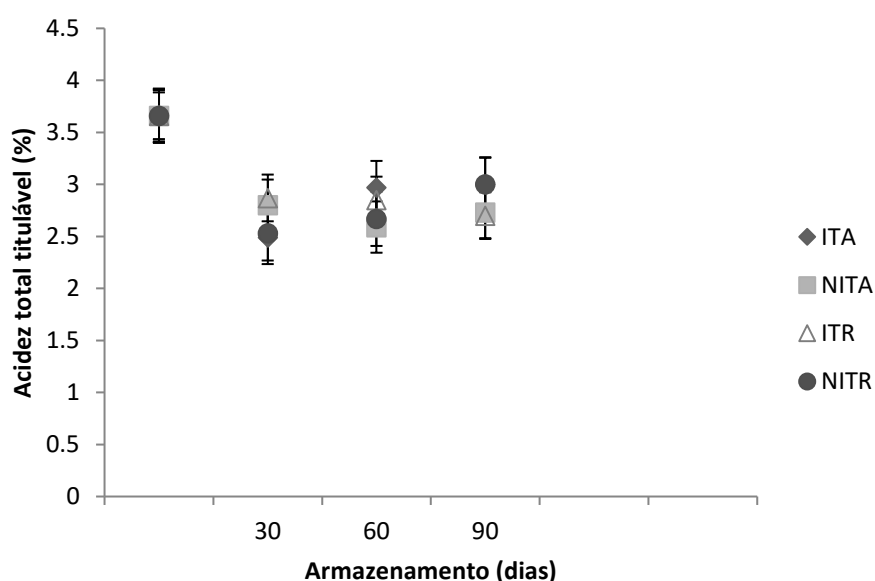


Figura 2 - Acidez total titulável (%) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

A aplicação da radiação gama, assim como da refrigeração, não desacelerou a maturação das sementes de pinhão. A diminuição dos teores de acidez, provavelmente, está relacionada com a oxidação dos ácidos orgânicos e conversão destes em açúcares (KAYS, 1991; MATTIUZ et al., 2003).

Ashtari et al. (2019) também observaram decréscimo da acidez no armazenamento refrigerado (4 °C) de sementes de romã irradiadas, sendo o

efeito dependente da dose de radiação aplicada. Por outro lado, Maraei e Elsawy (2017) não observaram alteração do pH no armazenamento refrigerado (10 °C) de morangos, assim como, distinção entre os frutos irradiados e não irradiados.

5.1.3 Açúcares redutores

Pode-se observar em todos os tratamentos, comportamento semelhante na alteração dos açúcares redutores em relação ao tempo. Houve redução significativa ($p \leq 0,05$) nos teores em 30 dias para amostras armazenadas a temperatura ambiente (NITA e ITA), já para aquelas conservadas sob refrigeração (NITR e ITR), a redução ocorreu em 60 dias. Entretanto, independente do tratamento, pode-se observar aumento nos valores em 90 dias de armazenamento, conforme Figura 3.

Ao término do armazenamento, pode-se observar efeito significativo ($p \leq 0,05$) da refrigeração na obtenção de menor percentual de açúcares redutores, ao se comparar o efeito da refrigeração nos pinhões não irradiados (NITA e NITR), assim como para os pinhões submetidos a irradiação (ITA e ITR). Em relação ao efeito da irradiação, observa-se que esta ocasionou significativamente ($p \leq 0,05$) a obtenção de maiores teores de açúcares redutores, independente da temperatura de conservação (ITA e ITR). Assim, os maiores valores foram obtidos nos pinhões irradiados armazenados no ambiente (ITA) ($1,24 \text{ g.100g}^{-1}$) e os menores nos pinhões não irradiados, armazenados sob refrigeração (NITR) ($0,93 \text{ g.100g}^{-1}$) (Apêndice C).

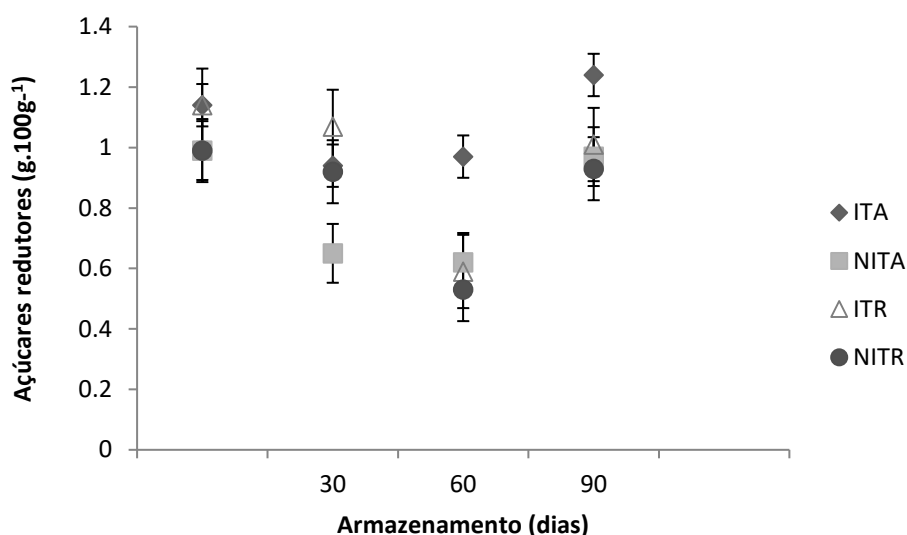


Figura 3 - Açúcares redutores (g.100g⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

A redução dos açúcares, possivelmente, está relacionada a utilização destes durante a respiração ou na produção de vitamina C. Por outro lado, a evolução da maturação pode ocasionar o aumento dos açúcares em função da degradação do amido, assim como da conversão dos ácidos em açúcares (CHITARRA; CHITARRA, 2005; HUSSAIN et al., 2008). Distintos comportamentos são relatados na literatura. Wei et al. (2014) observaram um incremento no teor de açúcares de damascos armazenados em temperatura ambiente, em função da dose de irradiação aplicada. Já Wang et al. (2019) observaram redução dos açúcares em brotos de bambu submetidos a diferentes doses de irradiação, armazenados por 45 dias a 4 °C.

5.1.4 Vitamina C

Houve aumento significativo ($p \leq 0,05$) no teor de vitamina C dos pinhões não irradiados e armazenados a temperatura ambiente (NITA), assim como sob

refrigeração (NITR). Para os pinhões irradiados, tanto armazenados à temperatura ambiente como sob refrigeração (ITA e ITR), os valores oscilaram, entretanto, ao se comparar o primeiro e último dia de armazenamento destas sementes, não houve variação significativa ($p \geq 0,05$) (Figura 4). Não se observou clara influência da irradiação e da refrigeração nos valores de vitamina C dos pinhões. No término do armazenamento, os valores de vitamina C nos pinhões não irradiados e armazenados sob refrigeração (NITR) ($35,22 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) foram significativamente superiores ($p \leq 0,05$) em relação aos pinhões não irradiados e armazenados no ambiente (NITA) ($24,95 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) (Apêndice D).

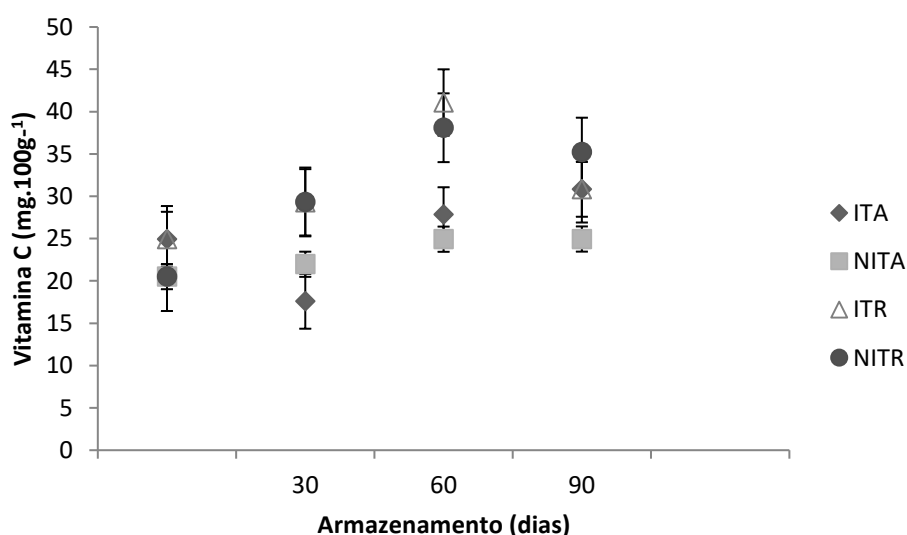


Figura 4 - Vitamina C ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

De uma forma geral, esses resultados podem ser relacionados aos teores de açúcares, já que estes são convertidos em vitamina C, principalmente, para as amostras refrigeradas, independente da irradiação,

sendo obtidos nestes tratamentos valores superiores aos relatados na tabela TACO (2011) ($27,7 \text{ mg.100g}^{-1}$).

Maraei e Elsayy (2017) e Ashtari et al. (2019) observaram redução nos teores de vitamina C em morangos e sementes de romã irradiados, respectivamente, sendo dependente da dose aplicada. Segundo Kilcast (1994) o ácido ascórbico é uma das vitaminas mais sensíveis, e a radiação causa sua oxidação.

5.1.5 Firmeza

Pode-se observar redução significativa ($p \leq 0,05$) da firmeza dos pinhões irradiados e não irradiados armazenados sob refrigeração (ITR e NITR). Já nos pinhões armazenados a temperatura ambiente (ITA e NITA), observou-se redução seguida de aumento da firmeza, independente da aplicação de irradiação ($p \geq 0,05$). Ao término do armazenamento os pinhões refrigerados (NITR e ITR) apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) menor firmeza em relação aos pinhões armazenados à temperatura ambiente (NITA e ITA) (Apêndice E). Não houve influência do processo de irradiação neste parâmetro.

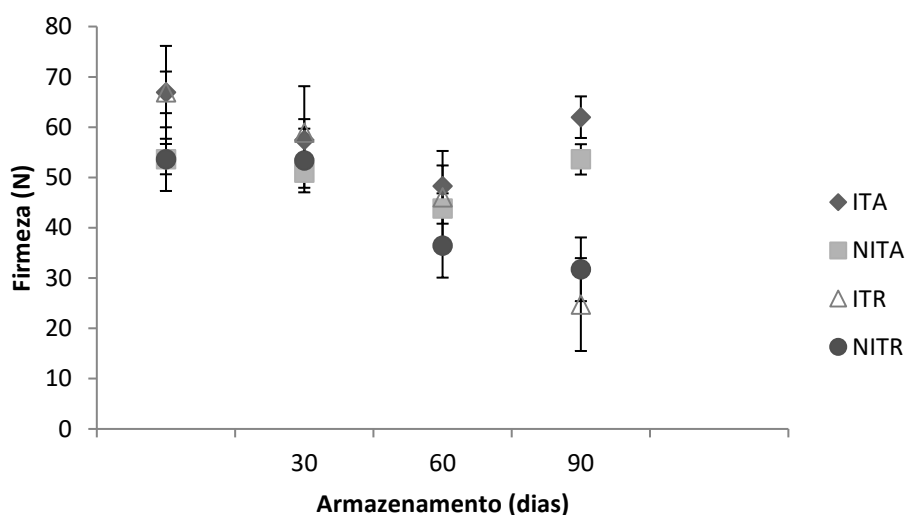


Figura 5 - Firmeza (N) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não

irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

Os resultados de firmeza dos pinhões podem ser relacionados a perda de massa destes, visto que nos pinhões armazenados no ambiente, em função da maior perda de massa, pode ter havido a formação de um tecido superficial mais resistente. Costa (2014) observou comportamento semelhante, ou seja, nas amostras de pinhões armazenadas à temperatura ambiente houve tendência de aumento da firmeza, visto que estas apresentaram maior perda de massa. Já nas amostras armazenadas sob refrigeração, houve redução da firmeza, e perda de massa inferior. A redução da firmeza também pode estar relacionada a atividade de enzimas hidrolases sobre a parede celular (KOBLOITZ, 2008).

Possivelmente, a aplicação da dose de 1 kGy de irradiação sobre os pinhões, tenha sido baixa e insuficiente para ocasionar alteração na parede celular, visto que Latorre et al. (2010) ao avaliarem beterraba submetida a doses de 1 e 2 kGy, observaram que a irradiação contribuiu para uma maior adesão célula-célula por meio do aumento da ligação cruzada de cálcio na parede celular. Wang e Meng (2016) ao avaliarem a irradiação de mirtilos (0,5 a 3 kGy), observaram que o aumento da dose de irradiação, aumenta a firmeza das frutas, possivelmente em função da síntese de lignina estimulada pela irradiação.

Hussain et al. (2008) e Guerreiro et al. (2016) observaram tendência de redução da firmeza de morangos e tomates cereja irradiados armazenados sob refrigeração, respectivamente. Por outro lado, Wang et al. (2019) observaram aumento da firmeza de brotos de bambu submetidos a irradiação armazenados a 4 °C, sendo o aumento dependente da dose aplicada.

5.1.6 Cor das sementes de pinhão

Em relação à coordenada L^* , que se refere a variação do branco (100) ao preto (0), observou-se redução significativa ($p \leq 0,05$) dos valores, com tendência ao escurecimento das sementes de pinhão submetidas aos

diferentes tratamentos, durante o armazenamento (Figura 6). Ao término do armazenamento não foi observada diferença significativa ($p \leq 0,05$) nos valores entre os tratamentos (Apêndice F).

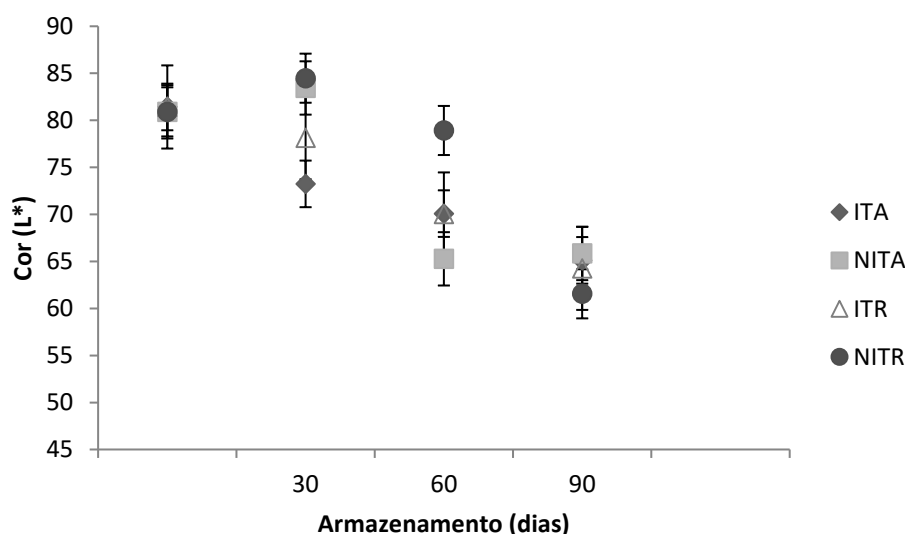


Figura 6 - Cor (L^*) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

A coordenada a^* está relacionada a variação de cores entre o vermelho (+60) e o verde (-60), e a coordenada b^* , reflete a variação entre o amarelo (+60) e o azul (-60). Ao avaliar as coordenadas a^* e b^* , todas as amostras apresentaram aumento significativo ($p \leq 0,05$) nos valores durante o armazenamento (Figura 7 e 8), ou seja, houve a intensificação das cores vermelha e amarela, respectivamente. Não houve distinção significativa entre os tratamentos para os valores de a^* (Apêndice G) e de b^* (Apêndice H) ao término do armazenamento.

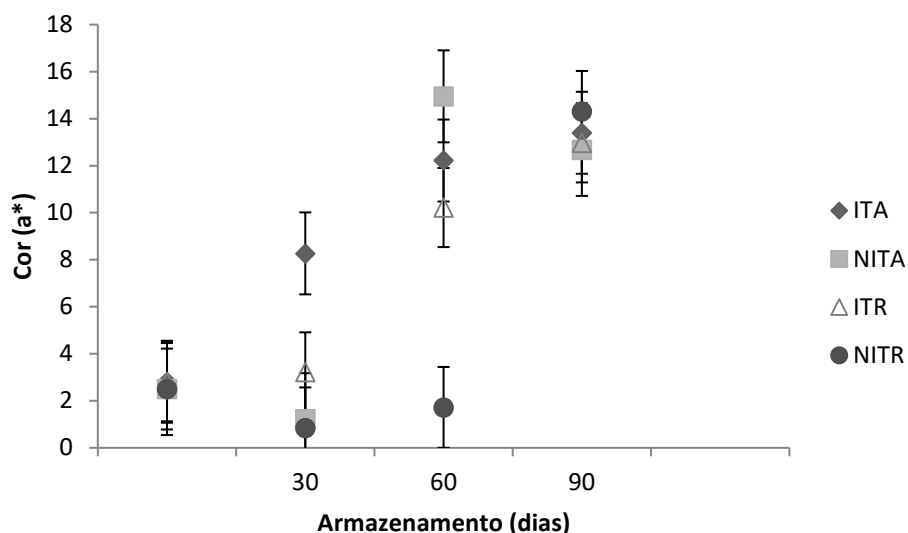


Figura 7 - Cor (a^*) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

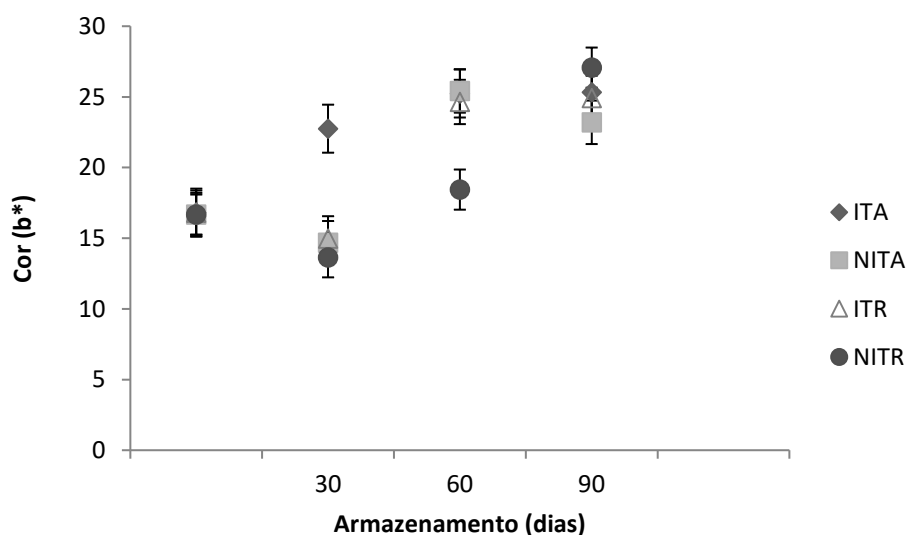


Figura 8 - Cor (b^*) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões

irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

O armazenamento, independente do tratamento, ocasionou intensificação da cor vermelha e amarela dos pinhões. Gama et al. (2010) obtiveram valores inferiores para os parâmetros de cor de diferentes amostras de pinhões coletados no início do período de liberação, obtendo-se em média para L^* 70,85, a^* 5,04 e b^* 16,96.

Possivelmente, a intensificação da cor esteja relacionada a difusão de flavonoides da casca para a polpa, como a catequina e a quercetina, responsáveis pelas cores vermelha e amarela, respectivamente (CORDENUNSI et al., 2004).

5.1.7 Compostos fenólicos totais

Ao analisar o teor de compostos fenólicos dos pinhões submetidos aos distintos tratamentos em relação ao tempo, pode-se observar que houve uma redução significativa dos valores ($p \leq 0,05$) a partir do trigésimo dia de armazenamento, com posterior manutenção destes, independente do tratamento (Figura 9). Ao término do armazenamento, pode-se observar efeito significativo ($p \leq 0,05$) da irradiação na redução dos compostos fenólicos (ITA e ITR). Os pinhões irradiados armazenados sob refrigeração (ITR) apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) os menores teores de compostos fenólicos ($292,91 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$), já aqueles não irradiados armazenados no ambiente (NITA) apresentaram os maiores valores ($306,06 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) (Apêndice I).

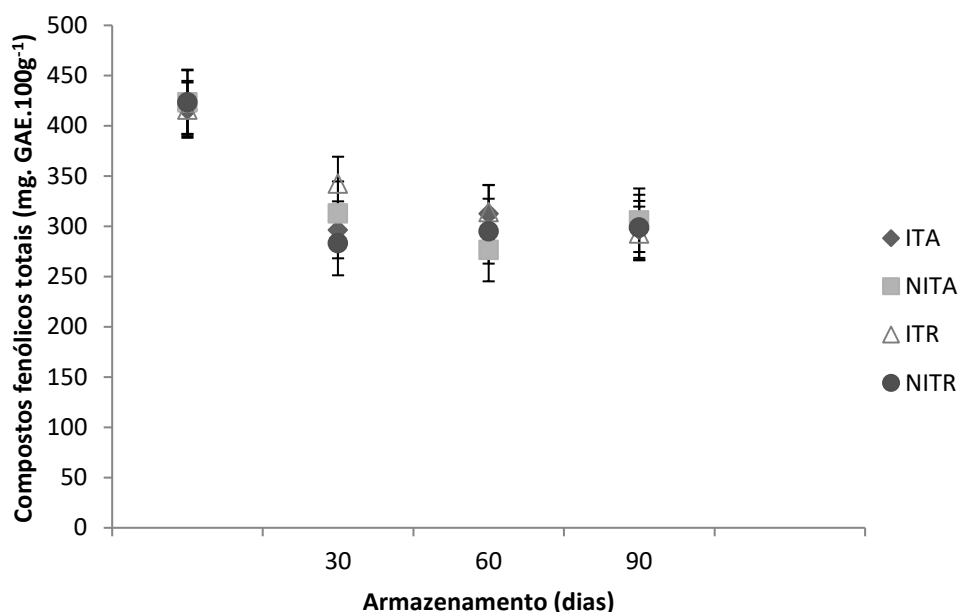


Figura 9 - Compostos fenólicos totais (mg.100g⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

O efeito do tempo no teor de compostos fenólicos pode variar em função da espécie da planta ou cultivar, condições geográficas, ambientais, estado da amostra (seca ou úmida), composição fenólica, procedimento de extração e temperatura (KHATTAK, 2008). A redução observada nos teores dos compostos fenólicos também pode estar relacionada a processos de complexação e polimerização dos taninos (MENEZES, 1994; ANTUNES et al., 2006).

A exposição dos pinhões à radiação pode ocasionar uma oxidação dos compostos fenólicos, propiciando redução desses compostos como observado por Song et al. (2006) ao avaliar sucos de vegetais.

Segundo Cordenunsi et al. (2004), o pinhão *in natura* apresenta baixos valores de compostos fenólicos, entretanto durante o processo de cocção esses compostos migram da casca para a semente. Dentre os principais

compostos fenólicos estão a catequina, a epicatequina, a quercetina, a apigenina e o ácido gálico (KOEHNLEIN et al., 2012). Distintos valores têm sido relatados na literatura para o teor de compostos fenólicos de pinhões, com variação de 54 mg a 5140 mg.100g⁻¹ (CORDENUNSI et al., 2004; SANT'ANNA et al., 2016).

Ao avaliar o efeito da irradiação sobre os compostos fenólicos, Oliveira et al. (2013) não observaram influência desta em polpa de camu-camu armazenada em temperatura ambiente e sob refrigeração durante a estocagem, diferente do encontrado neste estudo. Já Hussain et al. (2016) observaram um incremento de compostos fenólicos em espinafre armazenado a 4 °C, conforme o aumento da dose de irradiação.

5.1.8 Atividade antioxidante

Em relação à atividade antioxidante, pode-se observar aumento significativo ($p \leq 0,05$) dos valores em todos os tratamentos durante o armazenamento (Figura 10). Em 90 dias de armazenamento, os pinhões não irradiados (NITR e NITA) apresentaram os maiores percentuais de inibição, sendo obtidos significativamente ($p \leq 0,05$) os maiores valores para os armazenados em temperatura de refrigeração (72,94%). Por outro lado, o efeito da refrigeração também foi significativo ($p \leq 0,05$), visto que os menores valores foram obtidos para os pinhões irradiados e armazenados a temperatura ambiente (ITA) (61,54%) (Apêndice J).

Não se observou influência do teor de compostos fenólicos dos pinhões submetidos à cocção na atividade antioxidante, por mais que se observe relação do aumento da atividade antioxidante com o aumento das coordenadas a^* e b^* , as quais possivelmente estejam relacionadas com os compostos catequina e quercetina, respectivamente. Entretanto, o aumento da atividade antioxidante pode ser relacionado ao aumento no teor de vitamina C.

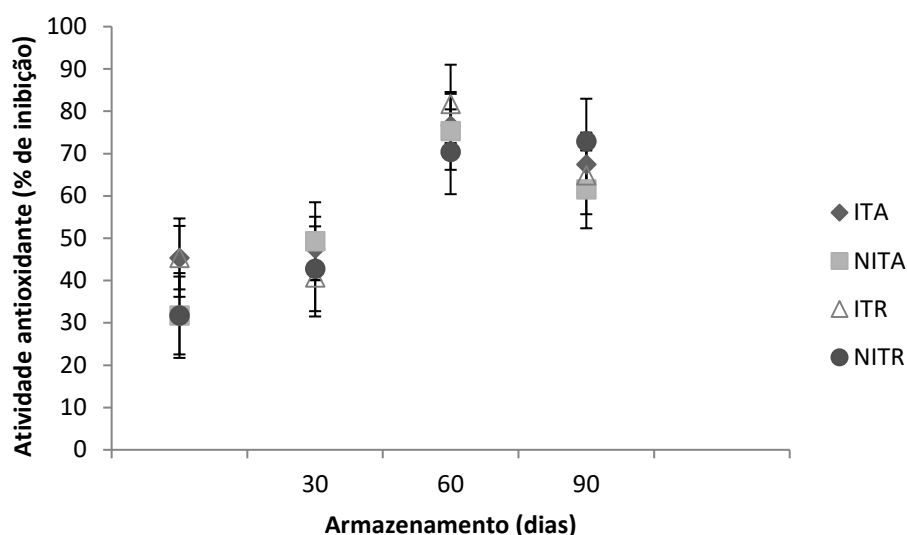


Figura 10 - Atividade antioxidante (% de inibição) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

O pinhão após submetido a cocção apresenta maior atividade antioxidante, conforme estudo de Sant'anna et al. (2016), altos valores foram obtidos (87,93% de inibição).

Maraei e Elsayy (2017) observaram aumento na atividade antioxidante de morangos irradiados em diferentes doses, armazenados durante 9 dias a 10 °C. De acordo com os autores, houve redução no teor de vitamina C, porém incremento de compostos fenólicos e antocianinas. Entretanto, Ashtari et al. (2019) ao avaliarem sementes de romã irradiadas, observaram redução na atividade antioxidante, assim como, redução de compostos fenólicos, vitamina C e antocianinas.

5.1.9 Quantificação de fungos

Pode-se observar aumento significativo ($p \leq 0,05$) na contagem de fungos dos pinhões armazenados em temperatura ambiente, independente da

irradiação (NITA e ITA). Para os pinhões armazenados sob refrigeração, observou-se redução significativa ($p \leq 0,05$) da contagem de fungos para os irradiados (ITR), já para os pinhões não irradiados (NITR) observou-se aumento significativo em 30 dias ($p \leq 0,05$) (Figura 11).

Ao término do armazenamento, os pinhões sob refrigeração (NITR e ITR) apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) as menores contagens de fungos. Não se observou clara influência da irradiação na contagem desses microrganismos (Apêndice K), ao se comparar o efeito do processo nas diferentes temperaturas.

De acordo com Albuzaudi et al. (2017), a redução de fungos em alimentos submetidos à irradiação é dependente de vários fatores, como as características de cada vegetal, umidade e dose aplicada.

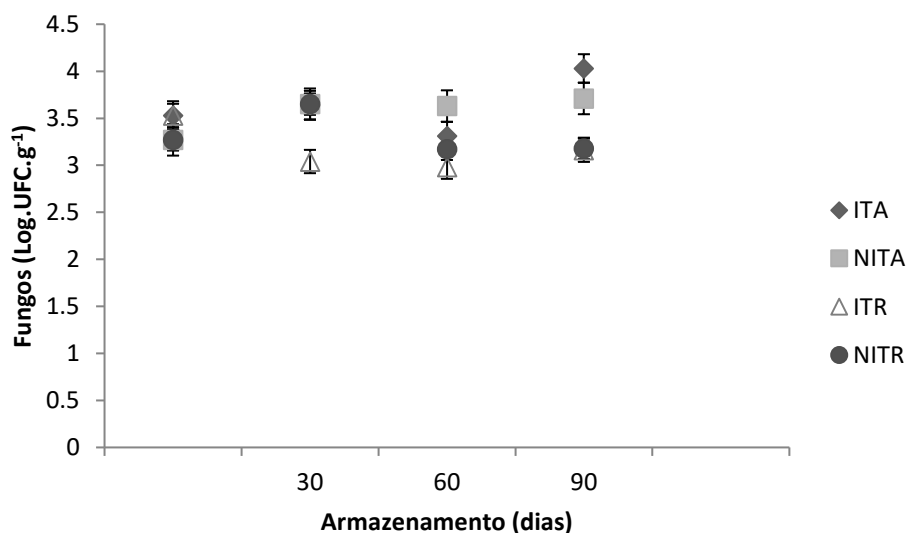


Figura 11 - Contagem de fungos (Log UFC.g⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

As sementes de pinhão apresentam elevado grau de perecibilidade, em virtude da alta atividade de água (0,986), o que propicia o desenvolvimento de

fungos. Além disso, durante o armazenamento em temperatura ambiente ou de refrigeração, a respiração continua, o que provoca umidade em torno da semente, possibilitando o crescimento destes microrganismos (BALBINOT et al., 2008; OLIVERA, 2008). Os principais fungos que acometem essas sementes são os dos gêneros *Penicillium* sp e *Cladosporium* sp. (HENNIPMAN, 2017).

A RDC nº12 (BRASIL, 2001), não dispõe de parâmetros para os microrganismos avaliados neste estudo. No entanto, contagens acima de 5,0 Log UFC.g⁻¹ impossibilitam o consumo (VERZELETTI; FONTANA; SANTI, 2010), pois podem comprometer as características sensoriais, nutricionais, além da produção de micotoxinas, que podem ocasionar lesões hepáticas, carcinogênicas e teratogênicas (VITTI et al., 2004; SILVA et al., 2007).

Assim, os valores obtidos neste estudo, para qualquer dos tratamentos, poderiam viabilizar o consumo, visto que a máxima contagem foi de 4,03 Log UFC.g⁻¹.

De acordo com os resultados obtidos, a refrigeração foi efetiva no controle do crescimento dos fungos, entretanto, a aplicação de 1 kGy não foi eficiente no controle do desenvolvimento destes microrganismos, possivelmente, em função da espessa casca do pinhão, já que o crescimento fúngico se dá abaixo da casca (FONSECA; FREIRE, 2003). Diferentemente dos resultados obtidos por Al-Bachir (2016) e Filho et al. (2018), que observaram que a irradiação foi efetiva na inibição do desenvolvimento de fungos em sementes de gergelim (3 kGy) e morangos (1 kGy), respectivamente.

5.1.10 Quantificação de microrganismos psicrotróficos aeróbios

Pode-se observar que houve um aumento significativo ($p \leq 0,05$) na contagem de microrganismos psicrotróficos aeróbios para os pinhões armazenados em temperatura ambiente, independente da irradiação (NITA e ITA). Para os pinhões armazenados sob refrigeração, observou-se aumento significativo ($p \leq 0,05$), em 60 dias, com posterior redução, independente do tratamento (NITR e ITR), conforme Figura 12. Ao término do armazenamento, os pinhões sob refrigeração (NITR e ITR) apresentaram significativamente

($p \leq 0,05$) os menores crescimentos de microrganismos psicrotróficos aeróbios em relação aos pinhões armazenados em temperatura ambiente (NITA e NITA). Dentre os pinhões armazenados em temperatura ambiente, os irradiados (ITA) apresentaram maiores valores de crescimento ($p \leq 0,05$), porém comportamento inverso foi observado nos pinhões sob refrigeração (Apêndice L). Apesar das diferenças significativas, não há uma conclusão sob o efeito da irradiação, visto que o comportamento foi distinto entre os pinhões armazenados a temperatura ambiente e sob refrigeração.

Microrganismos psicrotróficos são capazes de se desenvolver entre 0 °C e 7 °C, entretanto, crescem em temperatura até 43 °C (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Fato que justifica o crescimento observado nos pinhões armazenados à temperatura ambiente. O principal efeito observado foi referente à redução do crescimento dos microrganismos em função da refrigeração.

Contagens acima de 5,0 Log UFC.g⁻¹ impossibilitam o consumo por ocasionar redução do valor nutricional, alterações sensoriais e infecções (BRUNO et al., 2005). O risco de contaminação por microrganismos psicrotróficos pode estar associado à presença de *Listeria monocytogenes*. Além disso, muitos microrganismos deteriorantes são psicrotróficos, o que contribui para redução da vida útil e indicação de que as operações de sanitização durante o processamento não foram eficientes (VITTI et al., 2004).

Martins et al. (2007) observaram redução da população de microrganismos psicrotróficos de agrião minimamente processado submetido a diferentes doses de irradiação (1kGy a 4 kGy).

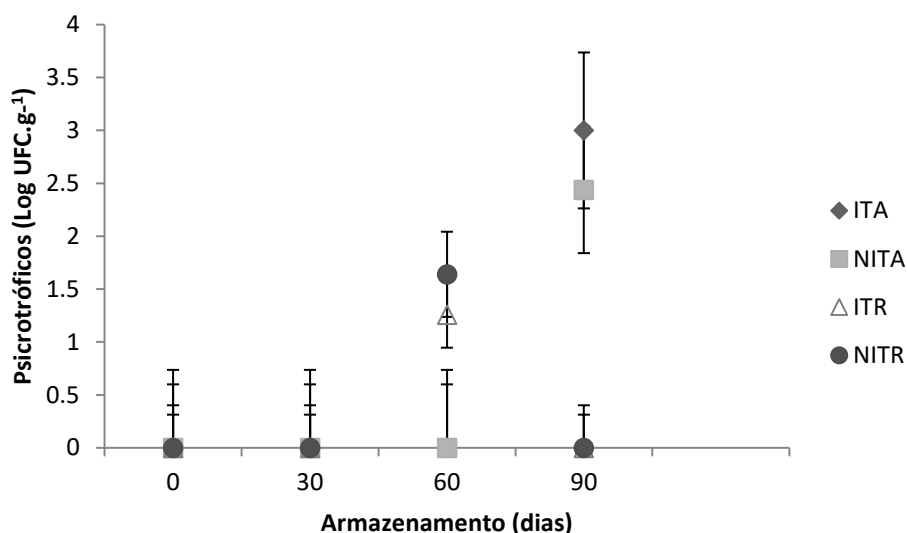


Figura 12 - Contagem de psicotróficos aeróbios (Log UFC.g⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

5.1.11 Quantificação de microrganismos mesófilos aeróbios

Houve aumento significativo na contagem dos microrganismos mesófilos aeróbios em todos os tratamentos, conforme Figura 13. Em 90 dias, os pinhões irradiados, independente da temperatura de armazenamento (ITA e ITR), apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) o menor crescimento de microrganismos mesófilos aeróbios, em relação às amostras não irradiadas (NITA e NITR) (Apêndice M).

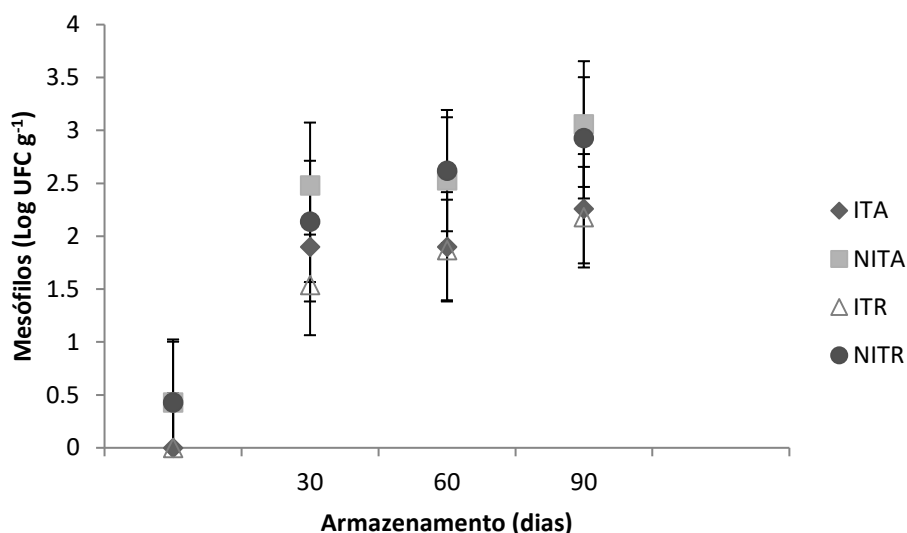


Figura 13 - Contagem de mesófilos aeróbios (Log UFC.g⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.

A RDC n°12 (BRASIL, 2001), não dispõe de parâmetros para mesófilos aeróbios, o que dificulta estabelecer limites. De acordo com Prati (2004), contagens acima de 6,0 Log UFC.g⁻¹ ocasionam alterações sensoriais impossibilitando o seu consumo. No presente estudo, a maior contagem foi de 3,06 Log UFC.g⁻¹.

A irradiação pode danificar o DNA microbiano, de forma que as ligações de hidrogênio responsáveis pela estrutura do DNA são quebradas impossibilitando a sua replicação e causando morte celular (SWAILAM et al., 2007; EGAE et al., 2007). Assim, neste estudo a irradiação ocasionou algum dano a população de microrganismos mesófilos aeróbios nos pinhões.

Filho et al. (2018) e Ashtari et al. (2019) também observaram redução na contagem de microrganismos mesófilos em morangos e sementes de romã irradiados.

5.2 Conservação de pinhão minimamente processado pelo uso de revestimentos à base de quitosana e gelatina

5.2.1 Perda de massa

Ao analisar os dados de perda de massa dos pinhões minimamente processados em relação ao tempo, pode-se observar que houve aumento significativo ($p \leq 0,05$) dos valores durante o armazenamento, em todos os tratamentos, conforme Figura 1. Entretanto, ao término do armazenamento observa-se que os pinhões minimamente processados revestidos com gelatina apresentaram significativamente a menor perda de massa ($p \leq 0,05$) com redução de aproximadamente 23%, quando comparados ao controle e ao tratamento com quitosana (Apêndice A). Em relação ao revestimento quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, parece que a presença da quitosana reduziu a eficiência do revestimento, obtendo-se redução de 16,5% na perda de massa. Possivelmente, a presença da quitosana tenha reduzido a aderência da gelatina ao pinhão. De acordo com Lin e Zhao (2007), a viscosidade, densidade e tensão superficial do revestimento são fatores que influenciam na adesão.

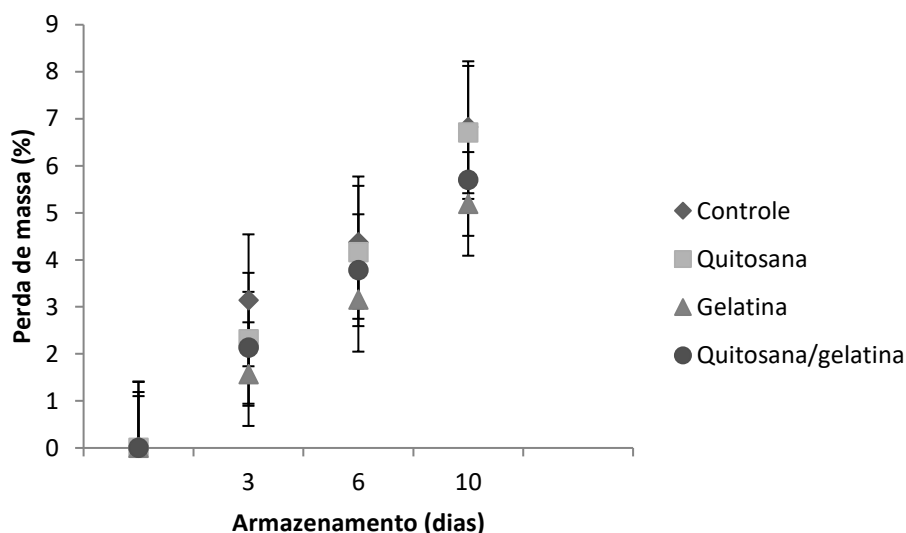


Figura 1: Perda de massa (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

A perda de massa em pinhões resulta, principalmente, do aumento na perda de água assim como, no aumento no consumo de substratos respiratórios, devido ao gasto energético e a desorganização associada à desidratação e a senescência dos tecidos (AMARANTE et al., 2007).

A perda de água é um dos principais fatores de deterioração dos vegetais minimamente processados, devido à maior superfície de exposição e da quebra a barreira natural contra a evaporação da água a partir do interior do produto (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Assim, ao utilizar revestimentos comestíveis, deseja-se que estes restrinjam a difusão do vapor d'água e criem uma atmosfera saturada entre a película e a superfície do vegetal (OLIVEIRA; SANTOS, 2015). Moreira (2018) ao avaliar a conservação de pinhões minimamente processados com o uso de revestimentos à base de quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia aplicados isoladamente, não observou redução da perda de massa em relação ao controle, diferentemente dos resultados obtidos neste estudo.

Por outro lado, Arnon et al. (2015) obtiveram maior redução da perda de massa de tangerinas ao utilizar revestimento de carboximetilcelulose/quitosana pela técnica *layer-by-layer*, em relação a utilização dos polímeros isoladamente. Outros autores também demonstraram a eficiência na técnica na redução da perda de massa de vegetais minimamente processados (SIPAHI et al., 2013; TREVIÑO-GARZA et al., 2017). Entretanto, Poverenov et al. (2014) ao utilizar quitosana e gelatina isoladamente observaram maior redução da perda de massa em pimentões, do que quando aplicados em conjunto.

5.2.2 pH

Pode-se observar em todos os tratamentos, aumento significativo dos valores de pH dos pinhões minimamente processados durante o armazenamento ($p \leq 0,05$) (Figura 2). Ao término do armazenamento, observou-se que a amostra controle apresentou menores valores de pH (6,26) ($p \leq 0,05$), com distinção significativa somente em relação aos pinhões minimamente processados revestidos com quitosana (6,51) (Apêndice B). Não havendo

assim, relação com a presença do ácido acético no preparo da solução de quitosana.

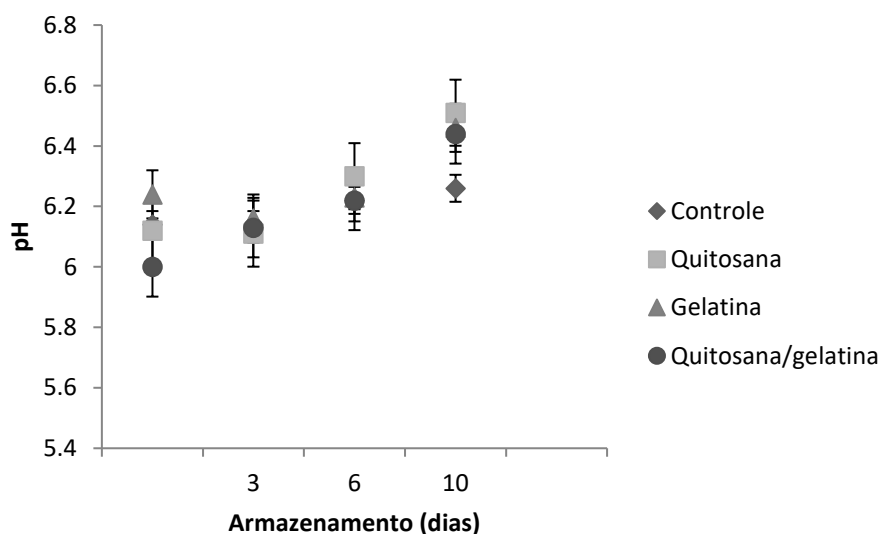


Figura 2: pH em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

Valores elevados de pH podem estar associados com a utilização de ácidos orgânicos em excesso, como substrato respiratório (ARÁUJO; SHIRAI, 2016).

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), o teor de ácidos em vegetais diminui com a maturação, ocorrendo conseqüentemente o aumento do pH em função da respiração e da conversão de ácidos orgânicos em açúcares. Já o aumento da acidez durante o amadurecimento pode ser atribuído à formação de ácidos orgânicos, provenientes da degradação da parede celular (PEREIRA et al., 2005).

Comportamento semelhante foi obtido por Moreira (2018), em que foi observada redução da acidez dos pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e xantana/óleo essencial de cravo-da-índia durante o armazenamento refrigerado.

Por outro lado, a eficiência dos revestimentos aplicados aos vegetais pela técnica *layer-by-layer* na manutenção do pH parece ser dependente de

fatores como matéria-prima, polímeros e concentração destes (MANTILLA et al., 2013; TREVIÑO-GARZA et al., 2017).

5.2.3 Açúcares redutores

Pode-se observar redução significativa ($p \leq 0,05$) no teor de açúcares redutores dos pinhões minimamente processados em todos os tratamentos ao longo do armazenamento, conforme Figura 3. No décimo dia de armazenamento, a amostra controle apresentou significativamente o menor teor de açúcares redutores ($p \leq 0,05$) ($1,18 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ de pinhão), em relação aos pinhões adicionados de revestimento (Apêndice C). Dentre os revestimentos, a gelatina e a quitosana propiciaram a liberação de maior teor de açúcares redutores no pinhão ($p \leq 0,05$), em relação à amostra adicionada destes revestimentos pela técnica *layer-by-layer*.

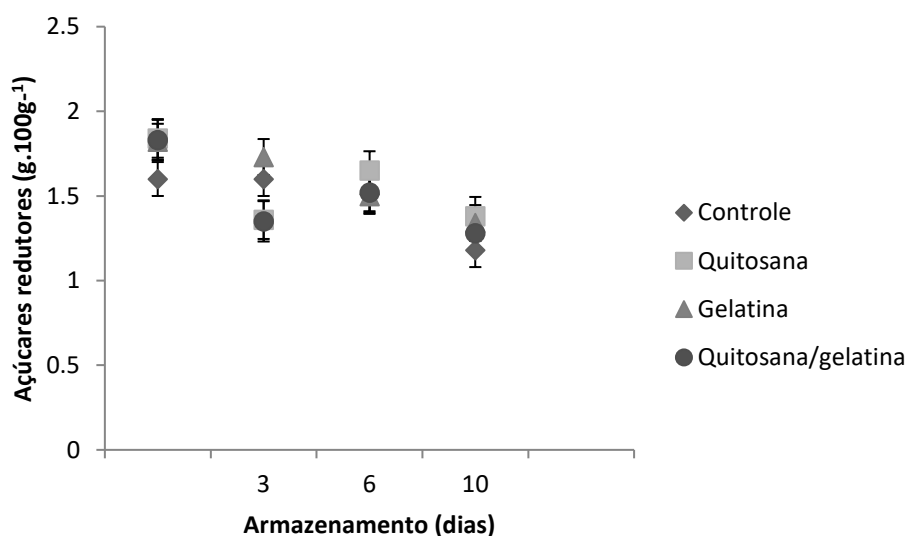


Figura 3: Açúcares redutores ($\text{g.}100\text{g}^{-1}$) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4°C , por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

Segundo Cordenunsi, (2004) o amido é o principal carboidrato presente no pinhão *in natura* (36%). Sua degradação pode ocorrer por hidrólise enzimática e fosforólise, aumentando o teor de açúcares (BEWLEY; BLACK, 1994).

Moreira (2018) observou incremento de açúcares redutores em pinhões minimamente processados, o que difere do encontrado neste estudo. Possivelmente, a redução no teor de açúcares redutores observada nos pinhões minimamente processados, esteja relacionada ao aumento no teor de vitamina C.

5.2.4 Vitamina C

Houve aumento significativo ($p \leq 0,05$) no teor de vitamina C dos pinhões minimamente processados submetidos ao tratamento controle e naqueles revestidos com quitosana e quitosana/gelatina, durante os 10 dias de armazenamento refrigerado. Já com a utilização do revestimento à base de gelatina, de modo geral, não houve variação significativa durante o armazenamento ($p \geq 0,05$), conforme Figura 4. Assim, ao término do armazenamento os valores de vitamina C nos pinhões revestidos com gelatina ($24,1 \text{ mg.100g}^{-1}$) foram significativamente inferiores ($p \leq 0,05$), em relação aos pinhões da amostra controle ($30,77 \text{ mg.100g}^{-1}$) e daqueles revestidos com quitosana/gelatina ($32,85 \text{ mg. 100g}^{-1}$) (Apêndice D).

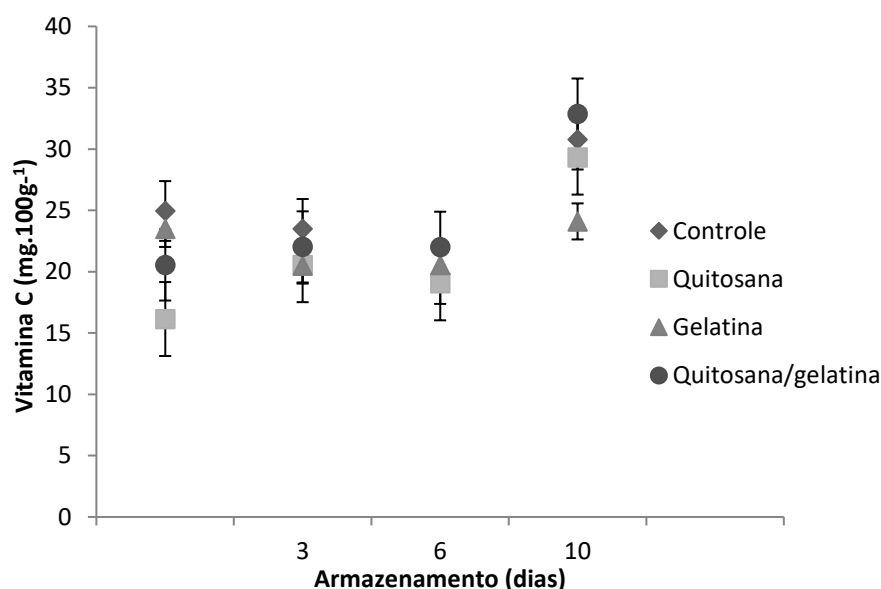


Figura 4: Vitamina C (mg.100g^{-1}) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

Segundo Coultate (2004), a vitamina C é formada a partir de um açúcar simples, como a glicose, durante o processo de maturação do vegetal. Assim, sugere-se que o aumento observado no teor de vitamina C nos tratamentos controle, quitosana e quitosana/gelatina, esteja relacionado à conversão dos açúcares em ácido ascórbico.

Valores semelhantes no teor de vitamina C de pinhões minimamente processados foram obtidos por Moreira (2018). Entretanto, distintos comportamentos foram observados, em função do revestimento.

Mantilla et al. (2013) e Treviño-Garza et al. (2017) ao utilizar a técnica *layer-by-layer* no revestimento de abacaxi minimamente processado observaram redução no teor de vitamina C em todos os tratamentos, diferentemente do comportamento observado neste trabalho.

Em relação a influência do revestimento Poverenov et al. (2014) ao utilizarem quitosana e gelatina isoladamente não observaram distinção significativa no teor de vitamina C, em relação a aplicação destes em conjunto.

5.2.5 Cor

Em relação à coordenada L^* , que representa o grau de luminosidade, os valores oscilaram durante o armazenamento, com tendência a manutenção ao comparar-se o primeiro e último dia de armazenamento ($p \geq 0,05$) (Figura 5). Pode-se observar que ao término do armazenamento, os pinhões revestidos com quitosana (62,15) apresentaram valores de L^* significativamente inferiores ($p \leq 0,05$) aos pinhões da amostra controle (67,31) e daqueles tratados com quitosana/gelatina (66,84) (Apêndice E). Esses resultados demonstram que o tratamento com quitosana ocasionou escurecimento dos pinhões minimamente processados. Vargas et al. (2006) e Poverenov et al. (2014) também observaram redução da coordenada L^* ao utilizarem quitosana como revestimento de vegetais, em função desta proporcionar maior opacidade. Não se observou relação do escurecimento com os teores de vitamina C.

Moreira (2018) observou distintos comportamentos nos valores de L^* de pinhões minimamente processados em função do revestimento comestível aplicado.

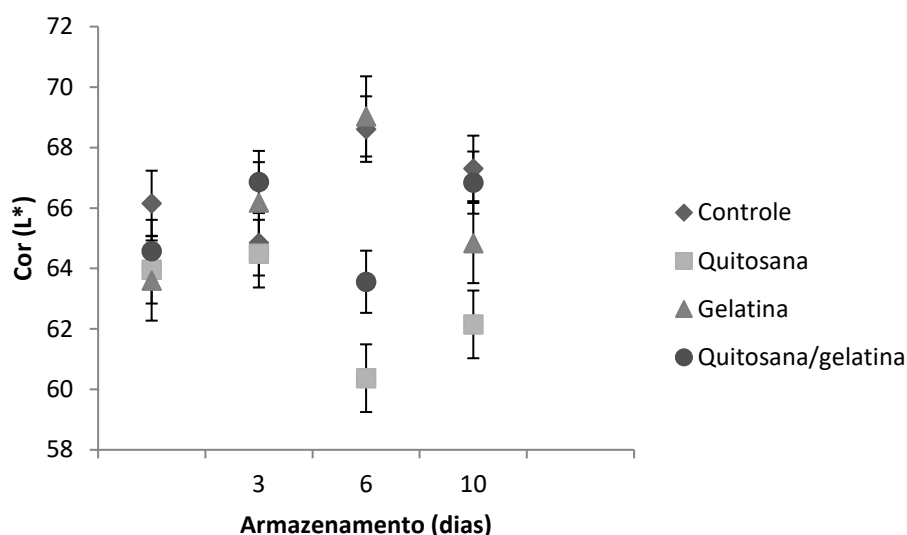


Figura 5: Cor (L*) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

Em relação ao tempo foi observado oscilação dos valores de a^* , sem diferenças significativas nos valores entre o primeiro e último dia de armazenamento ($p \geq 0,05$) (Figura 6). Não se observou diferença significativa ($p \geq 0,05$) nos valores entre os tratamentos ao término do armazenamento (Apêndice F). Os resultados demonstram que os pinhões apresentaram tendência à cor vermelha. O mesmo comportamento foi observado por Moreira (2018), ao avaliar a coloração de pinhões minimamente processados revestidos com quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia.

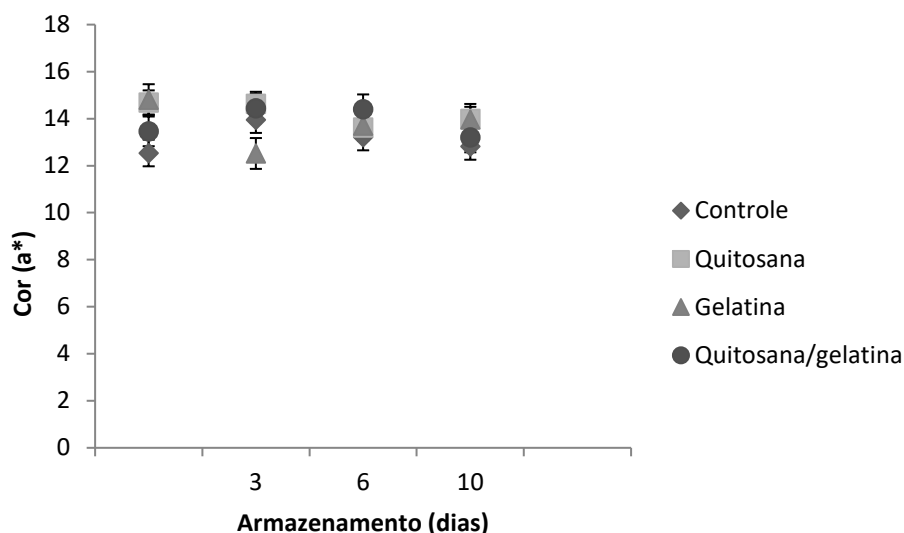


Figura 6: Cor (a^*) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

Ao avaliar a coordenada b^* , que reflete a variação entre o amarelo e o azul, as amostras controle e aquelas revestidas com gelatina apresentaram aumento significativo ($p \leq 0,05$) durante o armazenamento. Já os pinhões revestidos com quitosana e quitosana/gelatina os valores oscilaram, com tendência à manutenção (Figura 7). Ao término do armazenamento, os pinhões revestidos com quitosana/gelatina apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) os menores valores em relação aos demais tratamentos, ou seja, redução da intensidade da coloração amarela (Apêndice G). Já no estudo realizado por Moreira (2018) não se observou influência do tempo e nem dos revestimentos nos valores de b^* em pinhões minimamente processados.

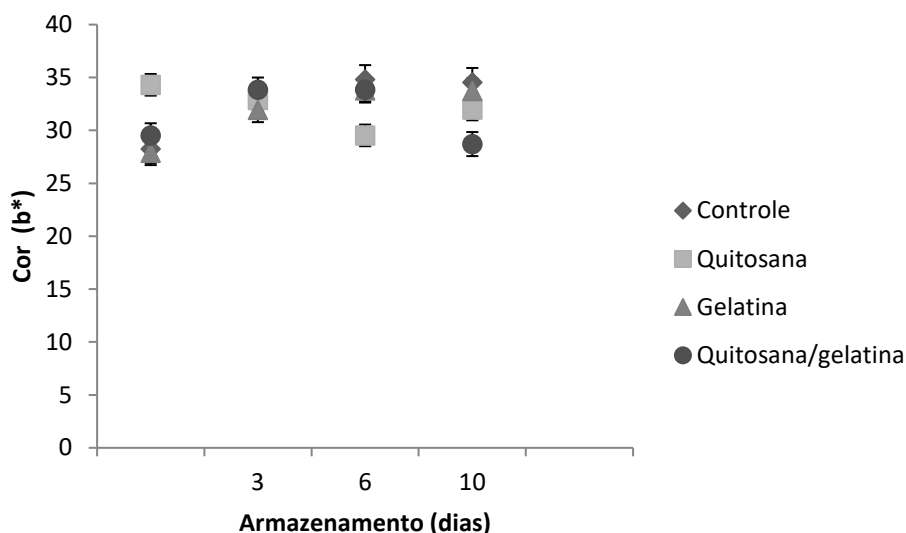


Figura 7: Cor (b*) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

5.2.6 Quantificação de fungos

Pode-se observar, em todos os tratamentos, aumento significativo ($p \leq 0,05$) na contagem de fungos dos pinhões minimamente processados, conforme Figura 8. Ao término do armazenamento, observou-se que a amostra revestida com gelatina ($2,28 \text{ Log UFC.g}^{-1}$) apresentou significativamente o menor crescimento de fungos ($p \leq 0,05$), em relação a amostra controle ($2,8 \text{ Log. UFC.g}^{-1}$) e aquela revestida com quitosana ($2,64 \text{ Log UFC.g}^{-1}$) (Apêndice H). Apesar da quitosana apresentar propriedades antimicrobianas (DUTTA et al., 2009) e ter contribuído para a redução no crescimento dos fungos, a presença da gelatina foi mais efetiva nesta redução. Possivelmente, em função da barreira ao oxigênio propiciada pelo revestimento. Cabe ressaltar que o revestimento à base de quitosana e gelatina inibiu o crescimento dos fungos nos pinhões até o sexto dia de armazenamento, e ao final da estocagem, os valores não diferiram em relação ao revestimento com gelatina.

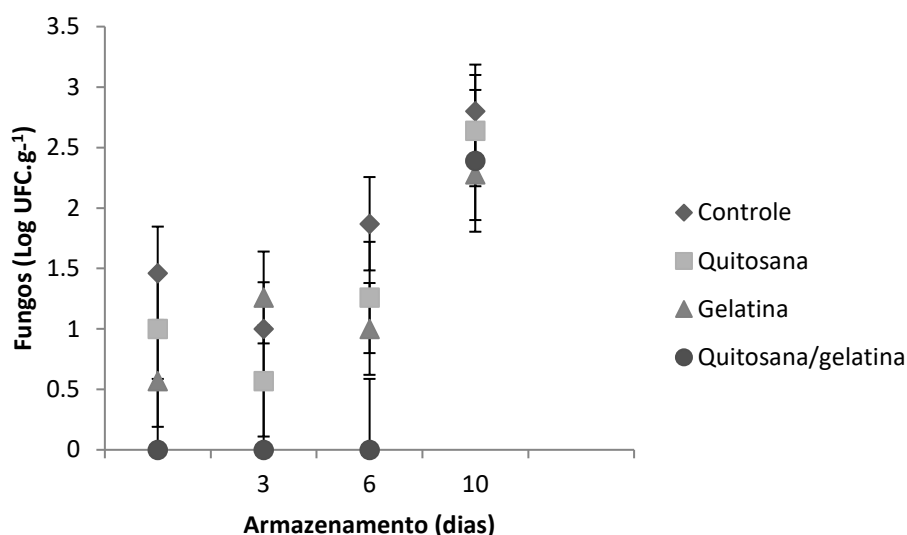


Figura 8: Contagens de fungos (Log UFC.g⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

O pinhão por possuir alta atividade de água (0,986) e umidade (92%) facilita o desenvolvimento de fungos, mesmo em temperatura de refrigeração (OLIVERA, 2008). Dentre os principais fungos que acometem sementes de pinhão podem-se citar os gêneros *Penicillium sp*, *Trichoderma sp*, *Rhizopus sp*, *Pestalotiopsis sp* e *Cladosporium sp*. (HENNIPMAN et al., 2017).

A RDC n° 12 (BRASIL, 2001), não dispõe de parâmetros sobre estes microrganismos, o que dificulta estabelecer limites, entretanto alguns fungos são patogênicos, causando problemas no sistema imunológico (ARUN; GUPTA; SINGH, 2012).

Moreira (2018) não observou influência dos revestimentos na contagem de fungos (média de 4,55 Log UFC.g⁻¹), em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana ou goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia, tendo obtido, em 9 dias de armazenamento, valores superiores aos observados neste estudo.

Distintas combinações de polímeros aplicados pela técnica *layer-by-layer* têm mostrado eficiência na redução de fungos em vegetais minimamente processados (TREVIÑO-GARZA et al., 2017). Entretanto, Poverenov et al. (2014) ao avaliarem o crescimento de fungos em melões minimamente

processados com revestimento de alginato e quitosana pela técnica *layer-by-layer*, observaram maior redução na contagem dos microrganismos com a utilização da quitosana isoladamente.

5.2.7 Quantificação de microrganismos psicrotróficos aeróbios

Pode-se observar, em todos os tratamentos, que houve aumento significativo ($p \leq 0,05$) na contagem de microrganismos psicrotróficos aeróbios dos pinhões minimamente processados, conforme Figura 9. Ao término do armazenamento, observou-se que a amostra quitosana/gelatina (4,74 Log UFC.g⁻¹) apresentou significativamente o menor crescimento de microrganismos psicrotróficos ($p \leq 0,05$), em relação aos pinhões minimamente processados revestidos com gelatina (5,7 Log UFC.g⁻¹) e a amostra controle (5,9 Log UFC.g⁻¹) (Apêndice I).

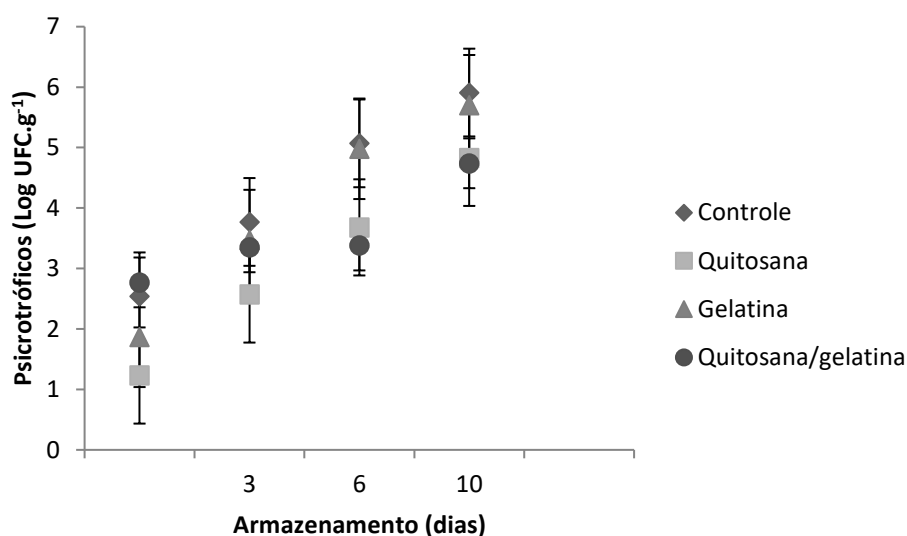


Figura 9: Contagens de microrganismos psicrotróficos aeróbios (Log UFC.g⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

Os resultados demonstram maior participação da quitosana na redução do crescimento de microrganismos psicrotróficos em relação aos fungos. Pois,

a gelatina não apresenta propriedade antibacteriana (POVERENOV et al., 2014).

A ação antimicrobiana da quitosana contra bactérias pode ser em função das cargas positivas na molécula, devido a desacetilação, que permite a interação e formação de complexos polieletrólíticos com polímeros da superfície da célula bacteriana (DURANGO; SOARES; ANDRADE, 2006).

Moreira (2018) também observou menor crescimento de microrganismos psicrotróficos aeróbios ao utilizar quitosana no revestimento de pinhões minimamente processados, em relação ao revestimento com goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia.

Sipahi et al. (2013), ao avaliarem a técnica *layer-by-layer* no revestimento de melancia minimamente processada com alginato e pectina, observaram redução no crescimento de microrganismos psicrotróficos, sendo dependente da concentração de polímero utilizada.

5.2.8 Quantificação de coliformes termotolerantes e enumeração de *Staphylococcus coagulase positiva*

Não foi observada a presença de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva* nos pinhões minimamente processados, isso demonstra que foi efetivo o uso de sanitizante à base de cloro para a higienização das superfícies, utensílios, assim como as Boas Práticas de Fabricação seguidas pelos manipuladores durante o revestimento das sementes de pinhão. A contaminação de alimentos por esses microrganismos pode ocasionar sérias consequências para a saúde do consumidor. Entre os coliformes termotolerantes de maior relevância está a bactéria patogênica entérica *Escherichia coli*, a qual pode provocar infecções (BRACKETT, 1997). Já a bactéria *Staphylococcus coagulase positiva*, em função da produção de uma enteroxina, provoca uma intoxicação alimentar (SCHERER et al., 2016). Moreira (2018), também não observou a presença desses microrganismos em pinhões minimamente processados com revestimentos à base de quitosana e goma xantana/óleo essencial de cravo-da-índia.

5.2.9 Análise sensorial

De acordo com a tabela de nível de significância para o teste triangular (IAL, 2008), o número mínimo de acertos para que haja diferença estatística ao nível de 5% de significância para um total de 60 julgamentos é de 27 acertos. Assim, em função do número de acertos (Tabela 1), não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) nos resultados entre os pinhões revestidos em relação à amostra controle.

Tabela 1 - Análise sensorial pelo teste triangular dos pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina.

Revestimentos dos pinhões	Número de avaliações	Número de acertos obtidos
Quitosana vs. controle	60	23 ^{ns}
Gelatina vs. controle	60	22 ^{ns}
Quitosana/gelatina vs. controle	60	26 ^{ns}

ns: não significativo

Assim, o sabor e aroma dos pinhões revestidos com goma quitosana, gelatina ou quitosana/gelatina, não diferiu, das amostras controle, que não foram adicionadas de revestimentos. Esses resultados indicam que os revestimentos são uma alternativa de conservação para pinhões minimamente processados.

Treviño-Garza et al. (2017) ao avaliarem abacaxi minimamente processado, pela técnica de *layer-by-layer* com diferentes polímeros, também não observaram distinção das características sensoriais de odor e flavour em relação a amostra controle.

6. Conclusão

Os métodos avaliados viabilizaram a extensão da vida útil do pinhão *in natura* e podem ser utilizados como alternativas para a conservação das sementes. O uso isolado de radiação gama (1 kGy) não foi efetivo para a manutenção dos parâmetros avaliados. Porém, quando utilizada em conjunto com o armazenamento refrigerado, propiciou a redução do crescimento de fungos, microrganismos mesófilos e psicrotróficos aeróbios. Por outro lado, o uso isolado de refrigeração dos pinhões, possibilitou a redução da perda de massa, do percentual de açúcares redutores e a obtenção de maior teor de vitamina C e atividade antioxidante. Assim, na busca de ampliar os benefícios, sugere-se a avaliação de doses mais elevadas de irradiação, em função da espessa casca do pinhão.

A produção de pinhão minimamente processado é uma alternativa de apresentação do produto *in natura*, que tem como benefício a praticidade. A aplicação do revestimento quitosana/gelatina utilizando a técnica *layer-by-layer*, possibilitou a redução da perda de massa, do crescimento de fungos e de bactérias psicrotróficas aeróbias. E ainda, tendência de manutenção da cor, ausência de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva em 10 dias de armazenamento refrigerado dos pinhões. O revestimento não retardou o processo de maturação, conseqüentemente maiores teores de vitamina C foram obtidos. Os revestimentos não influenciaram no sabor e aroma dos pinhões minimamente processados. Acredita-se que o processamento mínimo pode incentivar o consumo da semente, por facilitar seu preparo.

7. Referências

ACORSI, D, M; BEZERRA, M, V, R, J; BARÃO, Z, M; RIGO, M. Viabilidade do processamento de biscoitos com farinha de pinhão. **Ambiência – Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 5, n. 2, p. 207–212, 2009.

AKHTAR, A.; ABASSI, N.A.; HUSSAIN, A. Effect of calcium chloride treatments on quality characteristics of laquate fruit during storage. **Journal of Botany**, v.42, n. 1, p. 181-188, 2010.

AL-BACHIR, M. Some microbial, chemical and sensorial properties of gamma irradiated sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. **Food Chemistry**, v.197, p.191-197, 2016.

ALBUZAUDI, M.; FERIKAINEN, T.; TURUNEM, O.; GHELAWI, M.; ASSAD, M.E.H.; TAWALBEH, M.; SHAMEHK, S. Effect of gamma irradiation and heat treatment on the artificial contamination of maize grains by *Aspergillus flavus*. **Journal Stored Products**, v.71, p.57-63, 2017.

ALFARO, A.T. **Otimização das Condições de Extração e caracterização da Gelatina de Pele de Tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*)**. 130f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

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.

ANJOS, G. R. **Obtenção e caracterização de farinha e amido de pinhão nativo e esterificado com ácido láctico**. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação em Tecnologia em Alimentos). 2013.54f. Departamento Acadêmico de Engenharia e Tecnologia em Alimentos – COEAL, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, 2013.

ANTUNES, L.E.C.; GONÇALVES, E.D.; TREVISAN, R. Alterações de compostos fenólicos e pectina em pós-colheita de frutos de amora-preta. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, n.1, p.57-61, 2006.

ARNON, H.; GRANIT, R.; RON, P.; POVERENOV, E. Development of polysaccharides- based edible coating for citrus fruits: a layer-by-layer approach. **Food Chemistry**, v.166, p. 465-472, 2015.

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.

ARUN, N.; GUPTA, S.; SINGH, D.P. Antimicrobial and antioxidant property of commonly found microalgal *Spirulina platensis*, *Nostoc muscorum* and *Clorella pyrenoidosa* against some pathogenic bacteria and fungi. **Internacional Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v.3, n.12, p.4866- 4876, 2012.

ASHTARI, M.; KHADEMI, O.; SOUFBAF, M.; AFSHARMANESH, H.; SARCHESHMEH, M.A.A. Effect of gamma irradiation on antioxidants, microbiological properties and shelf life pomegranate arils cv. 'Malas Saveh'. **Scientia Horticulturae**, v.244, p.365-371, 2019.

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. **Ambiência**, v. 4, n. 3, p. 463-472, 2009.

BASSO, C, M, G. Araucária e a paisagem do planalto sul brasileiro. **Revista de Direito Público**, v.5, n.2, p.1-11, 2010.

BEWLEY, D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1994. 445p.

BRACKETT, R.E. Alteración microbiológicas y microorganismos patógenos de frutas y hortalizas refrigeradas mínimamente procesadas. In: WILEY, R.C. **Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, 1997. p. 263-304.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluated antioxidante activity. **LWT – Food Science and Technology**, v.28, n. 1, p.25-30, 1995.

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. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 21, de 26 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento técnico para irradiação de alimentos.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. Portaria normativa de n.20, de 27 de setembro de 1976. Proíbe o abate de pinheiros adultos portadores de pinhas, nos meses de abril, maio e junho.

BRUNO, L.M.; QUEIROZ, A.A.M.; ANDRADE, A.P.C.; VASCONCELOS, N.M.; BORGES, M.F. Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas mínimamente processadas comercializadas em Fortaleza (CE). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 23, n.1, p.75-84, 2005.

CAPELLA, A. C. V.; PENTEADO, P. T. P. S.; BALBI, 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, 2010.

CHEN, Z.; MO, X.; HE, C.; HANG, S. Intermolecular interactions in electrospun collagen-chitosan complex nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v.72, n.3, p.410-418, 2008.

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

COULTATE, T.P. **Alimentos: A química de seus componentes**. Porto Alegre: Artemed, 2004. 368p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Pinhão (semente)**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_09_09_12_36_06_pinhao_semente_setembro_2014.pdf. Acesso em: 11 de junho 2019.

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 Agriculture Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3412-3416, 2004.

COSTA, Fernanda Janaína de Oliveira 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.

DAVID, A. A. R.; SILOCHI, R. M. H. Q. Avaliação de métodos para conservação de pinhão. **Revista Faz Ciência**, v.12, n.15, p. 207-216, 2010.

DENAVI, G.A.; PÉREZ-MATEOS, M.; AÑON, C.; MONTERO, P.; MAURI, N.A.; GUILLÉN, C.G. Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. **Food Hydrocolloids**, v.23, n.8, p.2094-2101, 2009.

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

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

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

EGAE, I.M.; Sanchez-Bel, P.; MARTINEZ-MADRID, M. C.; FLORES, F.B.; ROMOJARO, F. The effect of beta ionization on the antioxidant potential of “Bulida” apricot and its relationship with quality. **Postharvest Biology and Technology**, v.46, p.63-70, 2007.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J.P.; JIMENEZ, A.; MUNOZ, J.A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science and Technology**, v.22, n.6, p. 292-303, 2011.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. Porto Alegre: Artemed, 2006, 602p.

FILHO, M. de J.; SCOLTORO, C.Z.; SARAIVA.; PINHEIRO, C.J.G.; SILVA, P.I.; DELLA LUCIA, S.M. Physicochemical microbiological and sensory accepta alterations of strawberries caused by gamma radiation and storage time. **Scientia Horticulturae**, v.238, p.187-194, 2018.

FONSECA, S. C. L; FREIRE, H. B., Sementes Recalcitrantes: Problemas na Pós-Colheita. **Revista de Ciências Agronômicas**, v.62, n.2, p.297-303, 2003.

FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. Atheneu, São Paulo, 2008.

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.

GNIEWOSZ, M.; KRASNIEWSKA, K.; WORETA, M.; KOSAKOWSKA, O. Antimicrobial activity of a pullulan-caraway essential oil coating on reduction of food microorganisms and quality in fresh baby-carrot. **Journal of Food Science**, v.78, n.8, p.1242-1248, 2013.

GUERREIRO, D.; MADUREIRA, J.; SILVA, T.; MELO, R.; SANTOS, P.M.P.; FERREIRA, A.; TRIGO, M.J.; FALCÃO.; MARGAÇA, F.M.A.; CABO VERDE, S. Post-harvest treatment of cherry tomatoes by gamma radiation: Microbial and physicochemical parameters evaluation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.36, p.1-9, 2016.

HALLMAN, G. J. Phytosanitary Applications of Irradiation. Reviews in **Food Science and Food Safety**, v. 10, n.2, p.143-151, 2011.

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

HUO, J.X.; BAI, C.Y.; GUO, L.H.; ZHAO, Z. Effect of electron beam irradiation on the shelf life of mozzarella cheese. **International Journal Dairy Technology**, v.66, n. 3, p.352-358, 2013.

HUSSAIN, P.R.; MEENA, R.S.; DAR, M.A.; WANI, A.M. Studies Onenhacing the keeping quality of peach (*Prunus persica Bausch/cv*). Elberta by gamma irradiation. **Radiation Phisics and Chemistry**, v.77, n.4, p-473-481, 2008.

HUSSAIN, P.R.; SURADKAR, P.; JAVAID, S.; AKRAM, H.; PARVEZ, S. Influence of postharvest gamma irradiation treatment on the content of bioactive compounds and antioxidant activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.33, p.268-281, 2016.

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

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home>. Acesso em: 14 de junho de 2019.

JIANG, Y.; LI, Y.; CHAI, Z.; LENG, X. Study of the physical properties of whey protein isolate and gelatin composite films. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.58, n.8, p. 5100-5108, 2010.

KAYS, J. S. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 453 p.

KHATTAK, K.F.; SIMPSON, T.J.; IHSANULLAH. Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical scavenging activity of *Nigella Staiva* seed. **Food Chemistry**, v.110, n.40, p.967-972, 2008.

KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. **Food Chemistry**, v. 49, p. 157-164, 1994.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos-teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 242p.

KOCH, Z.; CORRÊA, M.C. **Araucária: a floresta do Brasil meridional**. Curitiba: Olhar Brasileiro, 2002. 148p.

KOEHNLEIN, E.A.; CARJAVAL, A.E.S.; KOEHNLEIN, E.M.; COELHO-MOREIRA, J.S.; INACIO, F.D.; CASTOLDI, R. Antioxidant activities and

phenolic compounds of raw and cooked Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **African Journal of Food Science**, v.6, p.512-518, 2012.

KRAMER, G.V. JONG, E.V. NOREÑA, C.P.Z. Estudos das operações preliminares ao processamento e armazenamento do pinhão. In: XVI Salão de Iniciação científica da UFRGS, Porto Alegre, 2004.

LACROIX, M.; FOLLET, P. Review: Combination irradiation treatments for food safety and phytosanitary uses. **Stewart Postharvest**, v.11, p.1-10, 2015.

LATORRE, M.E.; NARVAIZ, P.; ROJAS M.E.; GERSCHESON. Effects of gama irradiation on bio-chemical and physico-chemical parameters of fresh-cut red beet (*Beta vulgaris* L. var.conditiva). **Journal of Food Engineering**, v.98, p.178-191, 2010.

LIMA-FILHO, T.; DELLA-LUCIA, S.M.; LIMA, R.M.; SCOLFORO, C.Z.; CARNEIRO, J.C.S.; PINHEIRO, C.J.G.; PASSAMAI, J.L. Irradiation of strawberries: Influence of information regarding preservation technology on consumer sensory acceptance. **Innovate Food Science and Emerging Technologies**, v.26, p.242-247, 2014.

LIN, D.; ZHAO, Y. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews: Food Science and Food Safety*, 6, 60–75, 2007.

MAHAPATRA, A.K.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; JULSON, J.L. Review: Applications of ozone, bacteriocins and irradiation in food processing. **Food Science Nutrition**, v.45, n.6, p.447-462, 2005.

MAHERANI, B.; HOSSAIN, F.; CRIADO, Y. BEM-FADHEL.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. World Market development and consumer acceptance of irradiation technology. **Foods**, v.5, n.4, p.79, 2016.

MAIA, L.H.; PORTE, A; SOUZA, V.F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. **Boletim do Centro de pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.18, n. 1, p. 105-128, 2000.

MANTILLA, N.; CASTELL-PEREZ, M.E.; MOREIRA, R.G. Multilayered antimicrobial edible coating and its effect and quality and shelf-life of fresh cut pineapple (*Ananas comosus*). **LWT-Food Science and Technology**, v.51, n.1, p.37- 43, 2013.

MARAEI, W.R.; ELSAWY, M. K. Chemical quality and nutrient composition of strawberry fruits treated by gama-irradiation. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v.10, p.80-87, 2017.

MARTINS, C.G.; BEHRENS, J.H.; ARAGON-ALEGRO L.C.; VIEIRA.; COSTA-SOBRINHO, P. S.; VIZEU, D.M.; HUTZLER, B.; FRANCO, B. D.G de M.; DESTRO, M.T.; LANDGRAF, M. Shelf-life of irradiated minimally processed watercress (*Nasturtium officinale*). **Food Science and Technology**, v.27, n.1, 2007.

MARTINS, T.J.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A.A. Influence of α tocoferol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v.27, n.1, p.220-227, 2012.

MATTIUZ, B. H.; DURIGAN, J. F. ROSSI JÚNIOR, O. D. Processamento mínimo em goiabas 'Paluma' e 'Pedro Sato'. 2. Avaliação química, sensorial e microbiológica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 409-413, 2003.

MEMON, N.; GAT, Y.; ARYA, S.; WAGHMARE, R. Combined effect of chemical preservative and different doses of irradiation on green onions to enhance shelf life. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.09.006> Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1658077X18302522?token=03F60ED>

[8BC0F7453D87CB7C1E3132B2C1F3E7A90E5014CEBC1723DFA650D1E1418EB6BEA9F349EEBA91CE1F7B95FED6F](https://doi.org/10.1002/9781118431396.ch101). Acesso em: 16 de julho de 2019.

MENEZES, E.W.; GIUNTINI, E.B.; DAN, M.C.T.; LAJOLO, F.M. New information on carbohydrates in the Brazilian food composition database. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, p. 446-452, 2009.

MENEZES, J.B. Pós-colheita do pedúnculo do caju. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n. 180, p. 13-17, 1994.

MOREIRA, M.R.; VALLE, A.G.C.; PEREYRA, L.; ROURA, S.I. Mild heat shocks to extend the shelf life of minimally processed lettuce. **Journal Applied Horticulturae**, v.10, p.87-92, 2008.

MOREIRA, Michele Krüger Vaz. **Conservação de pinhões minimamente processados por meio de revestimentos comestíveis com características antimicrobianas**. 2018.107f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, 2018.

MOREIRA, S.P.; CARVALHO, M. W.; ALEXANDRINO, A. C.; PAULA, H.C.B de.; RODRIGUES, M. do C. P.; FIGUEIREDO, R. W de.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, E. M. A.T de.; BRASIL, I.M. Freshness retention of minimally processed melon using diferente packages and multilayered edible coating containing microencapsulated essential oil. **International Journal of Food Science and Tecnology**, v.49, p.2192-2203, 2014.

MOURA, C. M de.; MOURA, J.M de; SOARES, N.M.; PINTO, L.A. de A. Evaluation of molar weight and deacetylation degree of chitosan during chitindeacetylation reaction: Used to produced biofilm. **Chemical Engineering and Processing**, v.50, n.4, p.351-355, 2011.

NAVARRO, S.; DONAHAYE, J.E.; RIDNER, M.; AZRIELI, A. Storage of dates under carbono dioxide atmosphere for quality preservation. **International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored**

Products, v.1. p.231-239, 2000.

OLIVERA, F. C.. **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, J.; CASTELUCCI, A.C.L.; SILVA, P.P.M.; SILVA, G.M.; SPOTO, M.H.F. Pulp of camu camu (*Myrciaria dubia*) subjected to gamma radiation. **ACTA: Agronomica**, v.62, n.1, p.7-12, 2013.

OLIVEIRA, E.N.A.; SANTOS, D.C. **Tecnologia e processamento de Frutos e Hortalças**. Natal:IFRN, 2015.234p.

PEREIRA, T.; CARLOS, L.A.; OLIVEIRA, J.G.; MONTEIRO, A. R. Características físicas e químicas de goiaba cv. Cortibel (*Psidium guajava*) estocadas sob refrigeração e filmes x-tend. **Revista Alimentos e Nutrição**, v.16, n.1, p 11-16, 2005.

POLET, J.P.; Oliveira, V.R de.; Rios, A. de O.; Souza, C.G de. Physico-chemical and sensory characteristics of gluten- free breads made with pinhão nuts (*Araucaria angustifolia*) associated to other flours. **Journal of Culinary Science and Technology**, v.17, n.2, p.136-145, 2017.

POVERENOV, E.; DANINO, S.; HOREV, B.; GRANIT, R.; VINOKUR, Y.; RODOV, V. Layer-by-Layer eletrostatic deposition of edible coating on fresh cut melon made: Antecipated and unexpected effects of alginate-chitosan combination. **Food Bioprocess Technology**, v.7, p.1424-1432, 2014.

PRATI, P. **Desenvolvimento de processo de estabilização de caldo de cana adicionado de sucos de frutas ácidas**. 2004. 297f. Tese (Doutorado em Engenharia de alimentos), Universidade Estadual de Campinas, 2004.

QIAO, C.; MA, X.; ZHANG, J.; YAO, J. Molecular interactions in gelatina/chitosan composite films. **Food Chemistry**, v.235, p.45-50, 2017.

REIS M. S. dos, LADIO A., PERONI N. Landscapes with Araucaria in South America: evidence for a cultural dimension. **Ecology and Society**, v. 19, n.2, p.43, 2014.

ROBERTS, P.B. Food irradiation is safe: half a century of studies. **Radiation Physics Chemistry**, v.105, p.78-82, 2014.

RODGERS, S. Alimentos funcionais minimamente processados: Caminhos tecnológicos e operacionais. **Jornal da Ciência dos Alimentos**, v.81, n.1, p.2309-2319, 2016.

ROY, C.; SALAUN, F.; GIRAUD, S.; FERRI, A.; GUAN, J. Surface behavior and bulk properties of aqueous chitosan and type-B gelatin solutions for effective emulsion formulation. **Carbohydrate Polymers**, v.173, n.1, p.202-214, 2017.

SANQUETTA, C. R. **Pinheiro do Paraná: lendas e realidades**. Curitiba: Optagraf editora e gráfica, 2007, 120p.

SANT'ANNA, V.; VOLTAIRE, N.M.; MERCALI, G.D.; CORRÊA, A.P.F.;
BRANDELLI, A. Effect of cooking on polyphenols and antioxidant activity of *Araucaria angustifolia* seed coat evaluation of phytochemical and microbiological stability over storage. **International Journal of Food Science Technology**, v.51, p.1932-1936, 2016.

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.

SHAHBAZ, H.M.; AHN, J.J.; AKRAM, K.; KIM, H.Y.; PARK, E.J.; KWON, J.H. Chemical and sensory quality of fresh pomegranate fruits exposed to gamma

radiation as quarantine treatment. **Food Chemistry**, v.145, p.312-318, 2014.

SILVA R.A; CHALFOUN S.M; SILVA M.A. M; PEREIRA M.C. Inquérito sobre o consumo de alimentos possíveis de contaminação por micotoxinas na ingesta alimentar de escolares da cidade de Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p.439-447, 2007.

SILVEIRA, C.F. B; RODRIGUES, G.G; GUERRA. T.A. Coleta do pinhão na floresta nacional de São Francisco de Paula, RS: Uso potencial sustentável. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 1, p. 93-95, 2006.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SIPAHI, R.E.; CASTELL-PEREZ, M.E.; MOREIRA, R.G.; GOMES.C.; CASTILLO, A. Improved multilayered antimicrobial alginate-based edible coating extends the shelf life of fresh-cut watermelon (*Citrullus lanatus*). **Food Science and Technology**, v. 51, n.1.p.9-15, 2013.

SOARES, A. de S.; RAMOS, A. M.; VIEIRA, E.N.R. VANZELA, E.S.L.; OLIVEIRA, P. M. PAULA, D. de A. Vacuum impregnation of chitosan-based edible coating in minimally processed pumpkin. **International Journal of Food Science Technology**, v.53, n.9, p.2229-2238, 2018.

SONG, H.P.; KIM, D.H.; JO, C.; LEE, C.H.; KIM, K.S.; BYUM, M.W. Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and antioxidant activity of fresh vegetable juice. **Food Microbiology**, v.23, p.372-378, 2006.

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. **Antioxidantes Redox Signal**, v. 3, p. 24-37, 2014.

STEFANOVA, R.; VASILEV, N. V.; SPASSOV, S. L. Irradiation of food, current legislation framework, and detection of irradiated foods. **Food Analytical Methods**, v. 3, p. 225-252, 2010.

SWAILAM, H.M.; HAMMAD, A.A.; SERAG, M.S.; MANSOUR, F.A.; ABUEL-NOUR, S.A. Shelf-life extension and quality improvement of minimally processed pear by combination treatments with irradiation. **International Journal of Agriculture and Biology**, v.9. p. 575-583, 2007.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Universidade Estadual de Campinas. 4 ed, 2011.

THYS, R.C.S.; CUNHA, M. Avaliação do tratamento térmico da semente do pinhão no teor de amido resistente e de compostos fenólicos de sua farinha. Anais do 5º Simpósio de Segurança Alimentar, Bento Gonçalves, 2015.

TREVINÑO-GARZA, M.Z.; GARCIA, S.; HEREDIA, N.; ALANÍS- GUZMÁN, M. G, ARÉVALO-NINÑO, K. Layer-by-layer edible coating based on mucilagens pullulan and chitosan and its effect on quality and preservation of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). **Biology and Technology**, v. 128, p 63-75, 2017.

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.

VASCONCELOS, N.M; PINTO, G.A. S; ARAGÃO, F.A.S. Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3,5 dinitrosalicílico: Histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos. **Boletim de Pesquisa e desenvolvimento**. 1º ed. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. 29p.

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.

VITTI, M.C.D.; KLUGE, R.A.; GALLO, C.R.; SCHIAVINATO, M.A.; MORETTI, C.L.; JACOMINO, A.P. Aspectos fisiológicos e microbiológicos de beterrabas minimamente processadas. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v.39, n.10, p.1027-1032, 2004.

WANG, C.; MENG, X. Effect of ^{60}Co γ - irradiation on storage quality and cell wall ultra- structure of blueberry fruit during cold storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.38, p.91-97, 2016.

WANG, J.; JIANG, J.; WANG, J.; WANG.; YANG, X.; JIA, L.The influence of gamma irradiation on the storage quality of bamboo shoots. **Radiation Physics and Chemistry**, v.159, p.124-130, 2019.

WEI, M.; ZHOU, L.; SONG, H.; YI, J.; WU, B.; LI, Y.; ZHANG, L.; CHE, F.; WANG, Z.;GAO, M.; LI, S. Electron beam irradiation of sun-dried apricots for quality maintenance. **Radiation Physics and Chemistry**, v.97, p.126-133, 2014.

YOUSUF, B.; SRIVASTANA, A. *Psillium* (Plantago) gum as on effective edible coating to improve quality and shelf life of fresh-cut papaya (*Carica papaya*). **International Journal of Bioengineering and Life Science**, v.9, n.7, p. 702-707, 2015.

YUN, H.; HAENG LEE, K.; JUNG LEE, H.; WOON LEE, JU.; UK AHN, D.; JO, C. Effect of high dose irradiation on quality characteristics of ready to eat chickenbreast. **Radiation Physics and Chemistry**, v.81, n.8, p.1107-1110, 2012.

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.

APÊNDICES

Conservação de pinhão *in natura* pelo uso de radiação gama

Apêndice A. Perda de massa (%) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	0,00	4,23±0,29 A	10,80±1,25 A	18,22±0,94 A
NITA	0,00	3,11±0,62 AB	10,39±3,95 A	14,76±0,73AB
ITR	0,00	2,53±0,57 B	8,57±1,61 A	11,89±1,60BC
NITR	0,00	2,80±0,51 AB	6,98±0,70 A	9,92±1,11 C

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

Apêndice B. Acidez (%) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	3,66±0,13 A	2,49±0,08 B	2,97±0,31 A	3,00±0,04 A
NITA	3,66±0,05 A	2,80±0,02 A	2,59±0,22 A	2,73±0,04 A
ITR	3,66±0,13 A	2,87±0,05 A	2,85±0,20 A	2,70±0,04 A
NITR	3,66±0,05 A	2,53±0,08 B	2,67±0,15 A	3,00±0,25 A

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

Apêndice C. Açúcares redutores ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	1,14±0,009 A	0,94±0,040 B	0,97±0,008 A	1,24±0,005 A
NITA	0,99±0,020 B	0,65±0,005 C	0,62±0,030 B	0,97±0,009 C
ITR	1,14±0,009 A	1,07±0,009 A	0,59±0,009 B	1,01±0,080 B
NITR	0,99±0,002 B	0,92±0,009 B	0,053±0,005 C	0,93±0,009 D

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

Apêndice D. Vitamina C ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	24,93±4,15 A	17,59±0,009 B	27,83±2,07 B	30,82±3,59AB
NITA	20,51±2,06 A	21,97±0,038 AB	24,93±2,09 B	24,95±2,08 B
ITR	24,93±4,15 A	29,29±4,14 A	41,08±4,18 A	30,82±0,01AB
NITR	20,51±2,06 A	29,33±2,05 A	38,10±2,04 A	35,22±3,60 A

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

Apêndice E. Firmeza (N) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	66,92±2,22 A	57,46±2,23 A	48,25±2,11 A	61,98±3,17 A
NITA	53,64±3,79 B	50,96±4,59 A	43,82±0,28 AB	53,59±3,70 A
ITR	66,92±2,22 A	58,91±0,63 A	46,03±4,71 A	24,73±4,46 B
NITR	53,64±3,79 B	53,37±6,86 A	36,41±2,28 B	31,74±6,76 B

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

Apêndice F. Cor (L^*) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	81,42±3,33 A	73,24±2,48 B	70,08±5,01 B	65,11±4,74 A
NITA	80,90±2,54 A	83,44±1,48 A	65,27±5,06 B	65,84±5,11 A
ITR	81,42±3,33 A	78,15±6,50 B	70,04±5,67 B	64,26±4,97 A
NITR	80,90±2,54 A	84,48±1,75 A	78,92±5,47 A	61,55±3,55 A

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

Apêndice G. Cor (a^*) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	2,81±1,56 A	8,27±2,62 A	12,22±1,18 AB	13,40±1,02 A
NITA	2,50±1,05 A	1,22±1,00 B	14,95±2,19 A	12,67±3,01 A
ITR	2,81±1,56 A	3,23±1,72 B	10,22±3,90 B	12,97±2,44 A
NITR	2,50±1,05 A	0,85±0,82 B	1,72±0,50 C	14,31±1,94 A

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

Apêndice H. Cor (b^*) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	16,81±2,58 A	22,75±2,54 A	25,24±3,87 A	25,33±1,66 A
NITA	16,67±1,47 A	14,68±3,05 B	25,42±2,21 A	23,20±2,00 A
ITR	16,81±2,58 A	14,99±1,83 B	24,64±3,58 A	24,15±2,68 A
NITR	16,67±1,47 A	13,65±1,31 B	18,44±4,08 B	27,07±1,86 A

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

Apêndice I. Compostos fenólicos totais (mg.GAE.100g⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	416,43±6,68 A	296,53±3,11 BC	312,90±1,56 A	296,95±1,04BC
NITA	423,67±2,32 A	313,07±6,90 B	276,91±1,85 C	306,06±0,23 A
ITR	416,43±6,68 A	342,57±12,32 A	314,25±1,56 A	292,91±2,65C
NITR	423,67±2,32 A	283,57±2,81 C	295,20±1,56 B	299,14±1,45B

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

Apêndice J. Atividade antioxidante (% de inibição) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	45,41±1,35 A	47,58±1,82 A	76,62±0,27 B	67,46±0,62 B
NITA	31,74±0,84 B	49,30±5,05 A	75,36±0,71 B	61,54±0,44 D
ITR	45,41±1,35 A	40,77±1,59 A	81,74±0,24 A	64,93±0,35 C
NITR	31,74±0,84 B	42,78±1,97 A	70,43±0,85 C	72,94±0,17 A

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

Apêndice K. Contagens de fungos (Log UFC.g⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	3,53±0,05 A	3,64±0,04 A	3,31±0,13 B	4,03±0,01 A
NITA	3,27±0,08 B	3,65±0,05 A	3,63±0,04 A	3,71±0,47 AB
ITR	3,53±0,05 A	3,04±0,03 B	2,98±0,02 C	3,16±0,1 B
NITR	3,27±0,08 B	3,65±0,00 A	3,17±0,07 BC	3,18±0,01 B

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

Apêndice L. Contagens de microrganismos psicrotróficos aeróbios (Log UFC.g⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	30	60	90
ITA	0,00±0,00 A	0,00±0,00 A	0,00±0,00 B	3,00±0,10 A
NITA	0,00±0,00 A	0,00±0,00 A	0,00±0,00 B	2,44±0,16 B
ITR	0,00±0,00 A	0,00±0,00 A	2,18±0,11 A	0,00±0,00 C
NITR	0,00±0,00 A	0,00±0,00 A	2,21±0,13 A	0,00±0,00 C

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

Apêndice M. Contagens de microrganismos mesófilos aeróbios (Log UFC.g⁻¹) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias.

Armazenamento (dias)				
----------------------	--	--	--	--

Tratamento	0	30	60	90
ITA	0,00±0,00 A	1,90±0,01 C	1,90±0,22 B	2,00±0,37 C
NITA	0,43±0,61 A	2,48±0,08 A	2,53±0,02 A	3,06±0,01 A
ITR	0,00±0,00 A	1,54±0,05 D	1,87±0,07 B	2,18±0,10 B
NITR	0,43±0,61 A	2,14±0,05 B	2,62±0,08 A	2,93±0,02 A

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

Conservação de pinhão minimamente processado pelo uso de revestimentos à base de quitosana e gelatina

Apêndice A. Perda de massa (%) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	3	6	10
Controle	0,00	3,14±0,55 A	4,37±0,25 A	6,82±0,28 A
Quitosana	0,00	2,31±0,30 AB	4,16±0,45 A	6,71±0,67 A
Gelatina	0,00	1,57±0,22 B	3,15±0,32 B	5,19±0,52 B
Quitosana/gelatina	0,00	2,13±0,13 AB	3,78±0,00 AB	5,70±0,22 AB

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

Apêndice B. pH em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	3	6	10
Controle	6,14±0,09 A	6,14±0,06 A	6,22±0,03 A	6,26±0,02 B
Quitosana	6,12±0,13 A	6,11±0,08 A	6,30±0,09 A	6,51±0,10 A
Gelatina	6,24±0,06 A	6,16±0,15 A	6,23±0,04 B	6,46±0,03 AB
Quitosana/gelatina	6,00±0,08 A	6,13±0,009 A	6,22±0,04 A	6,44±0,10 AB

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

Apêndice C. Açúcares redutores ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	3	6	10
Controle	1,60±0,04 B	1,60±0,04 B	1,51±0,01 B	1,18±0,01 C
Quitosana	1,84±0,01 A	1,36±0,00 C	1,65±0,03 A	1,38±0,01 A
Gelatina	1,82±0,00 A	1,73±0,00 A	1,50±0,00 B	1,34±0,01 A
Quitosana/gelatina	1,83±0,00 A	1,35±0,01 C	1,52±0,02 B	1,28±0,01 B

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

Apêndice D. Vitamina C (mg.100g⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	3	6	10
Controle	23,49±2,07 A	20,50±2,06 A	20,53±2,09 A	24,59±1,80 A
Quitosana	16,14±2,07 B	20,53±2,08 A	19,05±2,07 A	29,30±2,09 A
Gelatina	23,49±2,07 A	20,50±2,06 A	20,53±2,08 A	24,09±1,79 B
Quitosana/gelatina	20,55±2,08 AB	22,02±0,01 A	21,99±0,02 A	32,85±1,77 A

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

Apêndice E. Cor (L*) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	3	6	10
Controle	66,15±1,76 A	64,85±2,95 A	68,61±0,88 A	67,31±1,47 A
Quitosana	63,96±1,76 A	64,49±1,75 A	60,37±1,99 B	62,15±2,53 B
Gelatina	63,60±1,88 A	66,19±2,13 A	69,03±2,65 A	64,84±2,79 AB
Quitosana/gelatina	64,58±2,66 AB	66,86±2,38 A	63,56±2,30 B	66,84±1,07 A

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

Apêndice F. Cor (a*) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	3	6	10
Controle	12,54±1,24 A	13,96±2,23 A	13,22±0,83 A	12,82±0,64 A
Quitosana	14,69±1,03 A	14,63±0,89 A	13,63±1,33 A	13,99±1,62 A
Gelatina	14,81±1,03 A	12,52±2,31 A	13,71±1,48 A	13,97±1,58 A
Quitosana/gelatina	13,46±1,62 AB	14,44±2,02 A	14,40±1,69 A	13,20±1,03 A

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

Apêndice G. Cor (b*) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	3	6	10
Controle	28,27±2,42 B	33,00±3,52 A	34,83±2,53 A	34,56±1,97 A
Quitosana	34,31±1,29 B	32,89±2,99 A	29,53±1,57 A	31,98±2,98 A
Gelatina	27,89±2,08 B	31,95±2,25 A	33,8±3,49 AB	33,75±1,03 A
Quitosana/gelatina	29,54±2,04 B	33,86±2,12 A	33,87±2,84 AB	28,71±2,09 B

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

Apêndice H. Contagens de fungos (Log UFC.g⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	3	6	10
Controle	1,46±0,12 A	1,0±0,00 A	1,87±0,29 A	2,80±0,05 A
Quitosana	1,0±0,00 AB	0,57±0,42 AB	1,26±0,20 B	2,64±0,09 A
Gelatina	0,57±0,42 BC	1,26±0,20 A	1,0±0,00 B	2,28±0,06 B
Quitosana/gelatina	0,00±0,00 C	0,00±0,00 B	0,00±0,00 C	2,39±0,07 B

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

Apêndice I - Contagens de microrganismos psicrotróficos aeróbios (Log UFC.g⁻¹) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a 4 °C, por 10 dias.

Tratamento	Armazenamento (dias)			
	0	3	6	10
Controle	2,54±0,05 AB	3,77±0,07 A	5,07±0,06 A	5,91±0,01 A
Quitosana	1,23±0,88 B	2,57±0,09 AB	3,68±0,02 B	4,83±0,10 C
Gelatina	1,87±0,02 AB	3,47±0,06 B	4,98±0,02 A	5,70±0,05 B
Quitosana/gelatina	2,77±0,06 A	3,35±0,16 C	3,38±0,08 C	4,74±0,03 C

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