

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E
INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

**APLICAÇÃO DE FILMES E COBERTURAS
COMESTÍVEIS NO AUMENTO DA VIDA ÚTIL DO
TOMATE**

Autora: Estéfani Emanuele A. do N. Silva
Orientadora: Dr^a Leticia Fleury Viana
Co-orientadora: Dr^a Priscila Alonso dos Santos

Rio Verde – GO
Novembro – 2019

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E
INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

**APLICAÇÃO DE FILMES E COBERTURAS
COMESTÍVEIS NO AUMENTO DA VIDA ÚTIL DO
TOMATE**

Autora: Estéfani Emanuele A. do Nasc. Silva
Orientadora: Dr^a Letícia Fleury Viana
Co-orientadora: Dr^a Priscila Alonso dos Santos

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde - Área de concentração Ciências de Alimentos.

Rio Verde – GO
Novembro – 2019

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

A586a Alves do Nascimento Silva, Estéfani Emanuele
Aplicação de filmes e coberturas comestíveis no
aumento da vida útil do tomate / Estéfani Emanuele
Alves do Nascimento Silva; orientadora Leticia
Fleury Viana; co-orientadora Priscila Alonso dos
Santos. -- Rio Verde, 2019.
68 p.

Dissertação (em Tecnologia de Alimentos) --
Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2019.

1. aditivos naturais. 2. embalagens de alimentos.
3. polimeros. 4. revestimentos comestíveis . 5.
Solanum Lycopersicum. I. Fleury Viana, Leticia ,
orient. II. Alonso dos Santos, Priscila , co-orient.
III. Título.

ues,

7:
7:1
14:**INSTITUTO FEDERAL**

Goiano

Repositório Institucional do IF Goiano - RIIF Goiano
Sistema Integrado de Bibliotecas**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia - Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico | <input type="checkbox"/> Educacional |
| e Tipo: | |

Nome Completo do Autor: *Estéfani Emanuelli A. do Nas. Silva*
 Matrícula: *2017202330740102*
 Título do Trabalho: *Aplicação de filmes e coladuras epoxísticas no aumento da vida útil do tomate*

Restrições de Acesso ao DocumentoDocumento confidencial: Não Sim, justifique: _____Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: / /

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não
 O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumprir quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde 27/11/19
Local Data

Estéfani Emanuelli A. do Nas. Silva

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Flurypiana

 Assinatura do(a) orientador(a)

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

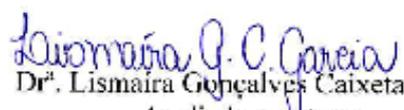
**APLICAÇÃO DE FILMES E COBERTURAS
COMESTÍVEIS NO AUMENTO DA VIDA ÚTIL DO
TOMATE**

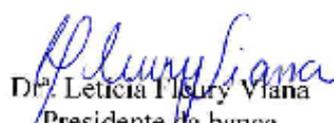
Autora: Estéfani Emanuelle Alves do Nascimento Silva
Orientadora: Leticia Fleury Viana

TITULAÇÃO: Mestre em Tecnologia de Alimentos – Área de Concentração
em Tecnologia e Processamento de Alimentos.

APROVADA em 16 de outubro de 2019.


Dr^a. Geovana Rocha Placido
Avaliadora interna
IF Goiano/Rio Verde


Dr^a. Lismaira Gonçalves Caixeta Garcia
Avaliadora externa
IF Goiano/Rio Verde


Dr^a. Leticia Fleury Viana
Presidente da banca
IF Goiano/Rio Verde

“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito. Não somos o que deveríamos ser não somos o que iremos ser. Mas graças a Deus, não somos o que éramos”

Martin Luther King

AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo a Deus por ter me permitido chegar aqui, por ter me guiado e me acompanhado por todas as viagens até a conclusão dessa etapa.

Agradeço a meus pais por estarem a meu lado sempre e embarcarem comigo nas minhas aventuras. A toda minha família, irmão, avó, tias, primos, pelo amor e compreensão nos momentos de ausência.

Aos meus “filhos” do laboratório, Camila, Glaydson, Joice e Higor, por toda ajuda, apoio, paciência e dedicação em me acompanhar todo o tempo, até mesmo nos finais de semana. Agradeço a Anna Isabela por me ensinar os primeiros passos na microbiologia.

Agradeço a Ana e ao seu filho Joaquim, pela amizade e por me acolherem na sua casa, pela preocupação e pela atenção a mim oferecida. Também agradeço a Camila pela amizade, por me acompanhar até nas madrugadas no laboratório e pelas risadas.

A minha orientadora, por acreditar no meu projeto, por me orientar até mesmo na sua licença maternidade e dividir a atenção da Tainá e do Lisandro comigo. Por me receber em sua casa tantas vezes e pelo cuidado nos momentos de desespero.

Agradeço o apoio das meninas que trabalham comigo que, por muitas vezes, tiveram que se desdobrar para suprir minha ausência. Ao meu chefe, por acreditar no meu trabalho e me ajudar quando mais precisei.

Por fim, agradeço à Capes e ao IF Goiano – Campus Rio Verde, por investirem na formação de pesquisadores.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Nascida em Itumbiara no dia 14 de fevereiro de 1994, Estéfani Emanuele Alves do Nascimento Silva ingressou no IF Goiano – Campus Morrinhos como servidora técnico-administrativa no ano de 2014. Logo no segundo semestre do ano mesmo ano, seu interesse foi despertado pelo curso de Tecnologia em Alimentos oferecido pela instituição, quando pesquisou por dois anos, na iniciação científica, filmes e coberturas. Em 2017, ingressou no Mestrado em Tecnologia de Alimentos também no IF Goiano, porém, dessa vez, no Campus Rio Verde, seguindo na pesquisa com filmes e coberturas comestíveis.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiv
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
1.1. Tomate.....	15
1.1. Filmes e coberturas comestíveis.....	17
1.2. Quitosana.....	18
1.3. Óleos essenciais.....	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
2. CAPÍTULO I.....	25
AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE COBERTURAS COMESTÍVEIS DE QUITOSANA E DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO EM TOMATE	
RESUMO	25
ABSTRACT	26
2.1. INTRODUÇÃO.....	26
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
1.2.1. <i>Preparo das coberturas</i>	27
1.2.2. <i>Aplicação das coberturas nos tomates</i>	28
1.2.3. <i>Análises físico-químicas dos tomates</i>	28
1.2.3.1. <i>Sólidos solúveis</i>	28
1.2.3.2. <i>Acidez titulável e pH</i>	28
1.2.3.3. <i>Textura</i>	29
1.2.3.4. <i>Cor</i>	29
1.2.4. <i>Análises microbiológicas</i>	29
1.2.5. <i>Análise estatística</i>	29

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
1.3.1. Análises físico-químicas	29
1.3.2. Análises microbiológicas.....	34
1.4. CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
3. CAPÍTULO II.....	39
CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS PRODUZIDOS A PARTIR DE QUITOSANA E ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO	
RESUMO	39
ABSTRACT	40
3.1. INTRODUÇÃO	40
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.2.1. <i>Preparo dos filmes</i>	41
3.2.2. Espessura	42
3.2.3. Cor.....	42
3.2.4. Índice de inchamento	42
3.2.5. Solubilidade em água	42
3.2.6. Permeabilidade ao vapor de água.....	43
3.2.7. Microscopia eletrônica de varredura.....	43
3.2.8. Propriedades mecânicas	44
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.4. CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
4. CAPÍTULO II.....	55
AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS DE QUITOSANA E DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO EM TOMATE	
RESUMO	55
ABSTRACT	56
4.1. INTRODUÇÃO	56
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	57
4.2.1. <i>Preparo dos filmes</i>	57
4.2.2. <i>Aplicação dos filmes nos tomates</i>	58
4.2.3. <i>Análises físico-químicas dos tomates</i>	58
4.2.3.1. <i>Sólidos solúveis</i>	58
4.2.3.2. <i>Acidez titulável e pH</i>	58

4.2.3.3. <i>Textura</i>	58
4.2.3.4. <i>Cor</i>	59
4.2.4. <i>Análises microbiológicas</i>	59
4.2.5. <i>Análise estatística</i>	59
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.3.1. Análises físico-químicas dos tomates.....	59
4.3.2. Análises microbiológicas.....	64
4.4. CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
5. CONCLUSÃO GERAL.....	68

ÍNDICE DE TABELAS

Revisão bibliográfica

Tabela 1. Área plantada e produção de tomate, em 2017, no Brasil e nos principais estados produtores de tomate.	16
--	----

Capítulo I

Tabela 2. Teor de sólidos solúveis (Brix ⁰) em tomates sem cobertura, com cobertura de quitosana e com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.	30
Tabela 3. Acidez titulável (%) em tomates sem cobertura, com cobertura de quitosana e com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.	31
Tabela 4. pH em tomates sem cobertura, com cobertura de quitosana e com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.	31
Tabela 5. Valores médios de força máxima (N) em tomates sem cobertura, com cobertura de quitosana e com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.	32
Tabela 6. Resultado médio de cor em tomates sem cobertura, com cobertura de quitosana e com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.	34

Capítulo II

Tabela 7. Resultados de cor dos filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.	46
Tabela 8. Propriedades mecânicas nos filmes de quitosana e de quitosana adicionados de óleo essencial de orégano	51

Capítulo III

Tabela 9. Teor de sólidos solúveis (Brix ⁰) de tomates embalados ou não com filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.	60
Tabela 10. Teor de acidez titulável (%) de tomates embalados ou não com filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.	61
Tabela 11. pH de tomates que foram embalados ou não com filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.....	61
Tabela 12. Valores médios de força máxima (N) para tomates que foram embalados ou não com filme de quitosana e de filme de quitosana com óleo essencial de orégano.	62
Tabela 13. Resultados de cor dos tomates embalados ou não com filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.....	63

LISTA DE FIGURAS

Revisão bibliográfica

Figura 1. Comparação entre as estruturas químicas da quitina e quitosana completamente desacetilada (HAMED et al., 2016)..... 18

Capítulo III

Figura 2. Espessura média (mm) dos filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano. 45

Figura 3. Resultados de índice de inchamento (%) dos filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano. 47

Figura 4. Solubilidade em água (%) dos filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano..... 48

Figura 5. Resultados de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano..... 49

Figura 6. Microscopia eletrônica de varredura da ruptura de filmes de quitosana e filmes de quitosana de óleo essencial de orégano em aumentos de 5000 e 2500x. 50

RESUMO

O tomate é uma hortaliça bastante consumida devido seu valor comercial e nutricional, porém sofre perdas pós-colheitas por suas características metabólicas, fazendo-se necessário a aplicação de métodos para estender sua vida de prateleira. A quitosana tem sido bastante pesquisada e aplicada na produção de filmes com objetivo de atuarem como embalagens ativas e antimicrobianas. Os filmes a base de quitosana tem apresentado potencial no controle de perdas causadas na pós-colheita e na extensão no tempo de armazenamento de frutos. A aplicação de produtos funcionais na indústria de alimentos vem crescendo e assim dá-se a adição do óleo essencial de orégano, que é um composto bioativo natural reconhecido pelo seu efeito antioxidante e ação antimicrobiana. Teve-se como objetivo elaborar e avaliar a aplicação de filmes e cobertura comestíveis de quitosana adicionada ou não de óleo essencial de orégano em tomates submetidos à temperatura de 25 °C, além de caracterizar os filmes verificando o efeito da adição do óleo essencial de orégano sobre as propriedades dos filmes de quitosana. Para isso as coberturas e filmes foram produzidos a partir da quitosana e da adição do óleo essencial de orégano em concentração de 0,5%. Os tomates revestidos com coberturas e os tomates que embalados com os filmes foram analisados quanto a parte físico química quanto a sólidos solúveis, pH, acidez titulável, textura, cor e microbiologicamente quanto a coliformes totais e termotolerantes, *salmonella* e *staphylococcus aureus*. Os filmes foram caracterizados quanto à espessura, cor, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, índice de inchamento, microscopia eletrônica de varredura, e propriedades mecânicas. As coberturas de quitosana tiveram uma boa aderência aos

tomates, mesmo quando se adicionou o óleo essencial de orégano. Os filmes de quitosana tiveram uma boa resistência quando submetidos à temperatura controlada de 25 °C mesmo quando se adicionou o óleo essencial de orégano na sua matriz. Microbiologicamente os filmes e as coberturas não foram eficientes para evitar o crescimento microbiano mesmo com a adição do óleo, mostrando que o óleo não teve interação suficiente com o alimento. Os filmes se mostraram com potencial de utilização futura em embalagens de alimentos já que não houve separação entre a quitosana e o óleo essencial, podendo ser realizadas mais análises para aprofundar sua caracterização.

Palavras-chave: aditivos naturais, embalagens de alimentos, polímeros, revestimentos comestíveis, *Solanum Lycopersicum*.

ABSTRACT

Tomato is a vegetable widely consumed due to its commercial and nutritional value, but suffers postharvest losses due to its metabolic characteristics, making it necessary to apply methods to extend its shelf life. Chitosan has been widely researched and applied in the production of films aiming to act as active and antimicrobial packaging. Chitosan-based films have shown potential in controlling postharvest losses and extending fruit storage time. The application of functional products in the food industry is growing and so is the addition of oregano essential oil, which is a natural bioactive compound recognized for its antioxidant effect and antimicrobial action. The objective of this work was to elaborate and evaluate the application of edible films and cover of chitosan added or not of oregano essential oil in tomatoes submitted to 25 °C temperature, besides characterizing the films verifying the effect of the addition of oregano essential oil on the properties of chitosan films. For this, the covers and films were produced following the adapted methodology of Günlü and Koyun, from chitosan and the addition of oregano essential oil in a concentration of 0.5% (v / v). Covered tomatoes and tomatoes packed with the films were analyzed for chemical physics for soluble solids, pH, titratable acidity, texture, color and microbiologically for total and thermotolerant coliforms, salmonella and staphylococcus aureus. The films were characterized by thickness, color, water solubility, water vapor permeability, swelling index, scanning electron microscopy, and mechanical properties. Chitosan toppings had good adherence to tomatoes, even when the oregano essential oil was added. Chitosan films had good resistance when subjected to a controlled temperature of 25 °C even when the oregano essential oil was added to their matrix. Microbiologically the films and coatings were not efficient to prevent

microbial growth even with the addition of oil, showing that the oil did not have sufficient interaction with the food. The films showed potential for future use in food packaging since there was no separation between chitosan and essential oil, and further analysis can be performed to further characterize them.

Keywords: natural additives, food packaging, polymers, edible coatings, *Solanum Lycopersicum*.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Tomate

Os frutos de tomate (*Solanum lycopersicum*) são uma das mais importantes culturas no mundo em razão do seu valor econômico e nutricional. É um fruto climatérico que tem vida curta pós-colheita (PERDONES et al., 2016). Além disso, é a hortaliça mais industrializada na forma de inúmeros subprodutos, como extrato, polpa, pasta, tomate seco e, mais recentemente, o tomate pelado (NASCIMENTO et al., 2013).

Geralmente este fruto é colhido no estágio de maturação fisiológica (verde-maduro) para facilitar a preservação e minimizar as perdas durante o manuseio e o transporte, porém, em temperatura ambiente, amadurecem rapidamente, mudando de cor, firmeza, sabor e composição química, sofrendo maior perda de água, o que diminui significativamente o período de comercialização (LIZARDO et al., 2018).

No Brasil, em 2017, o Estado de Goiás ocupou o 1º lugar do ranking brasileiro, com 28,8% da produção, seguido de São Paulo, com 21,4%, e de Minas Gerais, que ocupa o 3º lugar, com 15,4% da produção nacional. A Tabela 1 apresenta a área plantada de tomate no Brasil por estado no ano de 2017 bem como sua respectiva produção (IBGE, 2018).

Tabela 1. Área plantada e produção de tomate, em 2017, no Brasil e nos principais estados produtores de tomate.

Brasil e Unidades da Federação	Área plantada (hectares)	Produção (toneladas)	%
Brasil	64.715	4.373.047	100
Bahia	7.200	305.000	6,9
Ceará	2.575	120.397	2,7
Espírito Santo	2.532	164.847	3,7
Goiás	14.076	1.262.701	28,8
Minas Gerais	9.323	676.420	15,4
Paraná	4.312	260.643	5,9
Rio de Janeiro	2.536	180.980	4,1
Rio Grande do Sul	2.283	119.034	2,7
Santa Catarina	2.796	194.694	4,4
São Paulo	12.500	938.800	21,4

FONTE: IBGE (2018).

O tomate é uma hortaliça altamente perecível após a colheita pela sua fragilidade em relação aos tecidos e também pela manutenção de sua atividade metabólica, demandando inúmeros esforços na sua conservação (FERRAZ et al., 2012; MENEZES et al., 2017). As alterações no tomate durante o processo da colheita até o consumidor são principalmente mecânicas, fisiológicas e patológicas (HARVEY, 1978). Danos mecânicos ocorrem com o manuseio do produto não só na colheita, mas também durante a seleção, embalagem, transporte e exposição. Já as alterações fisiológicas e patológicas ocorrem na fase de produção, transporte e exposição (FERREIRA et al., 2006).

Com isso, o uso de coberturas comestíveis feitas por polímeros naturais e biodegradáveis é uma alternativa eficiente para o prolongamento da vida útil pós-colheita de frutos de tomate (RINALDI et al., 2011).

1.1. Filmes e coberturas comestíveis

A aplicação de filmes e coberturas comestíveis vem avançando em novas tecnologias alimentícias em razão da demanda por alimentos de alta qualidade. Os filmes e coberturas têm a função de inibir e/ou reduzir o desenvolvimento microbiano e também atuam no controle da migração de umidade, gases e aromas, uma vez que promovem barreiras semipermeáveis. Ao mesmo tempo, os filmes e as coberturas permitem a incorporação de substâncias funcionais em sua matriz no intuito de aumentar sua funcionalidade, atuando como embalagem ativa, proporcionando aumento da qualidade, estabilidade e segurança, possibilitando a manutenção das propriedades mecânicas e sensoriais dos produtos, reduzindo o escurecimento, a mudança de cor, a perda de aroma, umidade e textura, pois, como promovem uma barreira a gases e vapor d'água, diminuem as taxas de metabolismo e de oxidação (OLIVEIRA, 2013; SCHENATO, 2010).

Os filmes biodegradáveis são geralmente produzidos com materiais biológicos ou biopolímeros, como polissacarídeos, proteínas, lipídios e/ou sua combinação, considerando o baixo custo da matéria-prima e o impacto benéfico sobre o meio ambiente (FERNANDES et al., 2015). São apresentados em duas formas: cobertura/revestimento e filme propriamente dito. Os revestimentos envolvem a formação de filmes diretamente na superfície do produto que se deseja proteger ou melhorar de alguma maneira. Neste sentido, os revestimentos tornam-se parte do produto e permanecem nele durante seu uso e consumo. Já os filmes, normalmente, são considerados *stand-alone*, sendo formados em separado de qualquer eventual utilização pretendida (KROCHTA, 2002).

Os filmes podem ser obtidos através de uma solução filmogênica, seguida do espalhamento feito por técnicas como *casting*, extrusão, termoformagem, injeção, sopro, entre outras. A técnica de *casting* é amplamente utilizada em estudos de laboratório na elaboração de filmes por não exigir equipamentos específicos, consistindo no espalhamento da solução formadora do filme (macromolécula, solvente e plastificante) em um suporte,

posteriormente submetida à secagem para evaporação do solvente (FERREIRA, 2014).

1.2. Quitosana

A quitosana é um biopolímero do tipo polissacarídeo que tem estrutura molecular semelhante em forma química à celulose e à quitina, que se diferenciam somente nos grupos funcionais. A quitina é um polímero natural, precursor direto da quitosana. Constitui o principal elemento do exoesqueleto de invertebrados marinhos, participando também da estrutura de celenterados, moluscos, artrópodes, leveduras e da maioria dos fungos (OLIVEIRA, 2015).

A quitosana é obtida pela desacetilação da quitina, que é a substituição dos grupos acetilas (COCH_3) por grupos aminos livres ($-\text{NH}_2$), que podem ser protonados em meio ácido ($-\text{NH}_3^+$), Figura 1, fazendo com que a quitosana seja solúvel em soluções ácidas de ácidos como acético, ascórbico, láctico, málico, oxálico, succínico, adípico e propiônicos. A quitina e a quitosana são polímeros constituídos de cadeias lineares dos carboidratos 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopiranosose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose, unidos por ligações glicosídicas β (1-4) (FRAGUAS et al., 2015; DIAS, 2013).

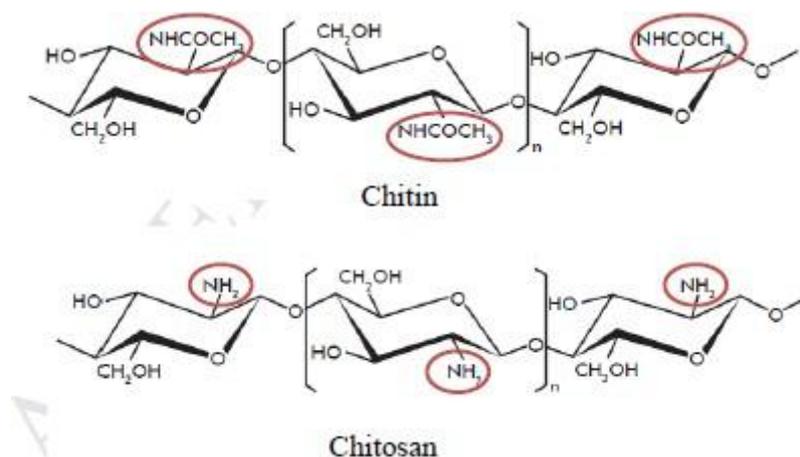


Figura 1. Comparação entre as estruturas químicas da quitina e quitosana completamente desacetilada (HAMED et al., 2016).

A quitosana pode ser utilizada como biopolímero pela sua propriedade de formar filmes. Esses filmes têm moderadas propriedades de barreira ao

oxigênio e boas propriedades de barreira ao dióxido de carbono, também apresentando alta permeabilidade ao vapor de água em virtude de sua natureza hidrofílica. Além disso, a quitosana e seus derivados apresentam atividade antimicrobiana e antifúngica contra muitos microrganismos, sendo muito estudados como conservantes de alimentos (BONILLA et al., 2013; PAGNO, 2016; SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2010).

Filmes à base de quitosana apresentam potencial para controlar perdas causadas por podridões pós-colheita e para prolongar o tempo de armazenamento de frutos (FRAGUAS et al., 2015). Retardam a contaminação microbiana de vegetais, frutas, grãos e peixes, além de atuar como barreira protetora para melhorar a qualidade nutricional do alimento. Os filmes também podem ser usados como portadores de compostos bioativos para melhorar a qualidade dos alimentos e, combinados com diferentes agentes antimicrobianos como ácidos orgânicos, bacteriocinas (nisina e lacticina), extratos vegetais (timol, p-cimeno e cinamaldeído), proteínas (por exemplo, conalbumina), antibióticos, fungicidas e agentes quelantes (EDTA), podem reduzir a deterioração de alimentos por microrganismos patogênicos e aumentar a vida de prateleira. Por serem biodegradáveis, podem ser consumidos junto com o produto na embalagem. Além disso, formam filmes transparentes com boas propriedades mecânicas, constituindo uma película protegendo a aparência e a qualidade do alimento em seu interior (BOURBON et al., 2011; PARK et al., 2013; DUTTA et al., 2011; HAMED et al., 2016).

1.3. Óleos essenciais

Muitas plantas são usadas para fins medicinais por conterem compostos voláteis e, em muitos casos, o óleo é separado da planta para ser usado como medicamento (ROBBERS, 1997).

O crescente interesse dos consumidores por ingredientes funcionais provenientes de fontes naturais está permitindo a aplicação dos óleos essenciais nas indústrias de alimentos, bebidas, produtos de higiene pessoal e cosméticos, com o objetivo de evitar a deterioração lipídica, a oxidação e a contaminação por microrganismos (MIRANDA et al., 2016).

Os óleos essenciais são antioxidantes naturais e substâncias hidrofóbicas e antimicrobianas, extraídos de frutas e vegetais, com um intenso

aroma. Os componentes mais comuns dos óleos essenciais são terpenos e terpenoides, e sua composição varia dependendo dos fatores agronômicos e características da matéria-prima usada para extração (PERDONES, 2016). Os terpenoides podem aderir aos lipídios da membrana celular da bactéria, desintegrando suas estruturas, tornando-a mais permeável, fazendo desses óleos, antimicrobianos naturais (SIKKEMA, 1994).

O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) é bem reconhecido pelo seu efeito antioxidante e ação antimicrobiana. Essas atividades são principalmente atribuídas aos fenóis carvacrol e timol, principais constituintes do óleo essencial de orégano, e aos hidrocarbonetos monoterpênicos p-cimene e γ -terpineno, presentes em baixas concentrações (HOSSEINI et al., 2015). A ação antimicrobiana do óleo essencial do orégano é atribuída ao composto timol, isômero do composto carvacrol, que causa danos à parede celular como mecanismo de ação (RHAYOUR et al., 2003).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONILLA, J. et al. Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch–chitosan films. **Journal of Food Engineering**. v. 118, 172 n. 3, p. 271-278, 10// 2013.

BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A C; CERQUEIRA, M. A., ROCHA, C. M., AVIDES, M. C.; QUINTAS, M. A.; VICENTE, A. A. Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. **Journal of Food Engineering**, v. 106, p. 111-118, 2011.

DIAS, M. V. **Filmes à base de quitosana incorporados com α -tocoferol e montmorilonita para aplicação em embalagens funcional e antioxidante**. 2013. 175f. Tese (Doutorado em Ciências de alimentos) apresentada a Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

DUTTA, J.; TRIPATHI, S.; DUTTA, P. K. Progress in antimicrobial activities of chitin, chitosan and its oligosaccharides: a systematic study needs for food applications. **Food Science and Technology International**, v. 18, n. 1, p. 3-34, 2011.

FERRAZ, E. O.; EVANGELISTA, R M; CLÁUDIO, M. T. R.; SOARES, L. P. R.; SILVA, B. L.; CARDOSO, A. I. I. Características físico-químicas em tomates cereja tipo Sweet Grape envolvidos por diferentes películas protetoras. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.30, n.2, p.7115-7122, 2012.

FERREIRA, F A. **Filmes nanocompósitos antimicrobianos obtidos a partir de proteínas de pescado e nanoargila incorporados com óleos essenciais**. 2014. 105 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimentos) apresentada a Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

FERREIRA, M. D.; CORTEZ, L. A. B.; HONORIO, S. L.; TAVARES, M. Avaliação física do tomate de mesa 'romana' durante manuseio na pós-colheita. **Engenharia Agrícola., Jaboticabal**, v.26, n.1, p.321-327, jan./abr. 2006.

FRAGUAS, M. R.; SIMÃO, A. A.; FARIA, P. V.; QUEIROZ, E. R.; JUNIOR, E. N. O.; ABREU, C. M. P.. Preparo e caracterização de filmes comestíveis de quitosana. **Polímeros: Ciências e Tecnologia**. v.25, n. spe – dez. 2015.

HAMED, I; OZOGUL, F; REGENSTEIN, J M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 40-50, 2016.

HARVEY, J.M. Reduction of losses in fresh market fruits and vegetables. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.16, p.321-41, 1978.

HOSSEINI, S. F.; REZAEI, M; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. **Industrial Crops and Products**. v. 67, p. 403–413, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESATISTICA – IBGE. **Levantamento Sistemático de produção Agrícola**. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado> > Acesso em 08/Maio/2018.

KROCHTA, J. M. Protein as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: GENNADIOS, A. **Protein-based films and coating**. New York: CRC Press, p. 1–39, cap. 1, 2002

LIZARDO, C. I.; MATTIUZ, B. H.; SILVA, J. P.; GALATI, V. C.; VOIGT, V.. Hyperbaric pressure at room temperature increases post-harvest preservation of the tomato cultivar 'Débora'. **Scientia Horticulturae**, v. 228, p. 103-112, 2018.

MENEZES, K. R. P.; SANTOS, G. C. S.; OLIVEIRA, O. M; SANCHES, A. G.; CORDEIRO, C. A. M., OLIVEIRA, A. R. G. Influência dos revestimentos comestíveis na preservação da qualidade pós-colheita de tomate de mesa. **Colloquium Agrariae**, v. 13, n.3, p.14-28, Set-Dez, 2017.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; RODRIGUES, L. M. A.; FIGUEIREDO, A. C. S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento de espécies patogênicas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 213-220, jan-mar, 2016.

NASCIMENTO AR; SOARES JÚNIOR MS; CALIARI M; FERNANDES PM; RODRIGUES JPM; CARVALHO WT. Qualidade de tomates de mesa cultivados em sistema orgânico e convencional no estado de Goiás. **Horticultura Brasileira** v.31:p. 628-635, 2013.

OLIVEIRA, P. G.. **BIOATIVIDADE DE QUITOSANA COMO COBERTURA COMESTÍVEL EM QUEIJO DE COALHO NA INIBIÇÃO DE *Listeria monocytogenes***. 2015. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2015.

OLIVEIRA, Sandra Prestes Lessa Fernandes de. **Avaliação da aplicação de óleo essencial de orégano em filme de proteína de soro do leite**. 2013. 54 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2013.

PAGNO, Carlos Henrique. **Efeito da adição de nanoestruturas, óleos essenciais e quitosana no desenvolvimento de filmes e coberturas biodegradáveis com propriedades antioxidantes e antimicrobianas**. 2016. 182 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

PARK, H. J; BYUN, Y J; KIM, Y T; WHITESIDE, W S; BAE, H J. Processes and applications for edible coating and film materials from agropolymers. In J. H. Han. London: Innovations in **Food Packaging**. 2^o ed., p. 257-275, 2013.

PERDONES, A; TUR, N; CHIRALT, A; VARGAS, M. Effect on tomato plant and fruit of the application of biopolymer–oregano essential oil coatings. **Sci Food Agric**; v.96, p.4505– 4513, 2016.

RHAYOUR, K., BOUCHIKHI, T., TANTAOUIELARAKI, A., SENDIDE, K., REMMAL, A., The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherchia coli* and *Bacillus subtilis*. **Journal of Essential Oil Research**, [S.l.], v. 15, n. 5, p. 356-362, 2003.

RINALDI, M. M.; SANDRI, D.; OLIVEIRA, B. N.; SALES, R. N.; AMARAL, R. D. A. Avaliação da vida útil e de embalagens para tomate de mesa em diferentes condições de armazenamento. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. Curitiba. v. 29, n. 2, p. 305 - 316, 2011.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotecnologia**. São Paulo: Premier, 1997. 327p.

SANCHEZ-GONZALEZ, L. et al. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. **Carbohydrate Polymers**. , v. 82, n. 2, p. 277-283, Sep 2010.

SCHENATO, M. T. **Coberturas comestíveis à base de quitosana, cálcio e ácidos graxos na qualidade pós-colheita de morangos**. 2010. Trabalho de conclusão (Graduação em Tecnologia em Alimentos), Instituto Federal do Rio Grande do Sul – Campus Bento Gonçalves, 2010.

SIKKEMA, J., DE BONT, J.A.M., POOLMAN, B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. **Journal of Biological Chemistry**. v.269, n.11, p.8022–8028, 1994.

2. CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE COBERTURAS COMESTÍVEIS DE QUITOSANA E DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO EM TOMATE

RESUMO

Os tomates são bastante relevantes por toda parte do mundo, é um fruto produzido durante todos os períodos do ano, porém com uma vida pós-colheita curta. O uso dos óleos essenciais surgiu pensando em substituir os aditivos químicos por naturais podendo ser adicionados em diversas produções, inclusive na matriz de coberturas comestíveis de quitosana que são usadas para revestir alimentos na intenção de retardar o avanço da maturação de frutos. Assim, teve-se como objetivo elaborar e avaliar a aplicação da cobertura comestível de quitosana adicionada ou não de óleo essencial de orégano em tomates armazenados à temperatura de 25°C. Os frutos foram revestidos com cobertura de quitosana e coberta de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano, também tiveram os frutos que não receberam nenhum tipo de revestimento, sendo todos eles armazenados por 12 dias sob temperatura controlada em BOD a 25 °C. Diferentes frutos foram analisado a cada três dias de armazenamento quanto ao teor de sólidos solúveis, acidez titulável e pH, textura, cor e microbiologicamente quanto a *Staphylococcus aureus* e coliformes totais e termotolerantes. Estatisticamente usou-se análise de variância e o teste post-hoc de Tukey no programa estatístico Minitab. De modo geral, as coberturas não conseguiram evitar o avanço na maturação dos

frutos na pós-colheita para prolongar a vida útil quando mantidos em condição de temperatura de 25°C e também o crescimento microbiológico quanto aos coliformes.

Palavras-chave: conservação, revestimento, *Solanum Lycopersicum*.

ABSTRACT

Tomatoes are very relevant all over the world, a fruit produced throughout the year, but with a short postharvest life. The use of essential oils came with the idea of replacing chemical additives with natural ones that can be added in several productions, including the matrix of edible chitosan toppings that are used to coat foods in order to slow the progress of fruit ripening. Thus, the objective was to elaborate and evaluate the application of edible cover of chitosan added or not of oregano essential oil in tomatoes stored at 25°C. The fruits were covered with chitosan cover and covered with chitosan added with oregano essential oil. The fruits also had no coating, all stored for 12 days under controlled temperature in BOD at 25 °C. Different fruits were analyzed every three days of storage for soluble solids content, titratable acidity and pH, texture, color and microbiologically for *Staphylococcus aureus* and total and thermotolerant coliforms. Statistically, variance analysis and Tukey's post-hoc test were used in the Minitab statistical program. In general, the toppings could not prevent the advance in fruit ripening in postharvest to prolong the shelf life when kept at 25°C and also the microbiological growth for coliforms.

Keywords: conservation, coating, *Solanum Lycopersicum*.

2.1. INTRODUÇÃO

Os tomates são importantes no mundo todo, tanto frescos quanto para processamento. É um fruto que está disponível durante todo o ano, rico em vitamina C, flavonoides e carotenoides (FAGUNDES et al., 2015). No entanto, é climatérico, sendo assim, tem um aumento considerável na produção de

etileno e na taxa de respiração, sendo associado a uma curta vida pós-colheita em temperatura ambiente (WANG et al., 2008).

Com a intenção da redução do uso de aditivos químicos na indústria de alimentos, surgiu recentemente o uso de óleos essenciais, que são aditivos alimentares naturais extraídos de plantas com propriedades antimicrobianas e antioxidantes (ATARÉS e CHIRALT, 2016), que podem ser incorporados a coberturas comestíveis.

Coberturas comestíveis são camadas finas de materiais comestíveis formados como revestimentos em alimentos, aplicados na forma líquida (FALGUERA et al., 2011; McHUGH, 2000). Fornecem uma barreira semipermeável ao redor da superfície de frutos e vegetais, reduzindo a umidade, restringindo o consumo de oxigênio, diminuindo a respiração, retardando a produção do etileno (GALUS e KADZINKA, 2015; YUAN, CHEN e LI, 2016).

A quitosana é um polissacarídeo derivado da quitina (AIDER, 2010), que apresenta potencial para controlar perdas causadas por podridões pós-colheita e por prolongar o tempo de armazenamento de frutos, sendo também de fácil incorporação de óleos essenciais, que estão recebendo muita atenção por terem potencial de atividade biológica (FRAGUAS et al., 2015; MANSO et al., 2014).

Este trabalho teve como objetivo elaborar e avaliar a aplicação da cobertura comestível de quitosana adicionada ou não de óleo essencial de orégano em tomates armazenados à temperatura de 25°C.

1.2. MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1. Preparo das coberturas

A cobertura de quitosana foi preparada com base na metodologia adaptada de Günlü e Koyun (2013). Para isso, foi adicionada quitosana (2%, p/v) ao ácido acético (1%, v/v), e a solução, homogeneizada durante uma hora com agitador magnético (Kasvi – Agitador Magnético com Aquecimento, Brasil). Em seguida, 2% (v/v) de glicerol foi adicionado lentamente à solução como plastificante e levado novamente ao agitador magnético com aquecimento a 80°C por 10 min. Para as coberturas com adição de óleo essencial de orégano,

foi adicionado junto com o glicerol 0,5% do óleo e também levado ao agitador magnético com aquecimento por 10 min.

A determinação da porcentagem adicionada de óleo essencial de orégano na cobertura foi feita pela realização de teste *in vitro*, utilizando microrganismos para verificação da atividade antimicrobiana do óleo em *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

1.2.2. Aplicação das coberturas nos tomates

Os tomates foram adquiridos na Ceasa/GO no estágio de maturação rosado a vermelho. Foram lavados e sanitizados com hipoclorito de sódio (100ppm) e secos para receberem a cobertura. Em seguida, foram separados e mergulhados um a um por um minuto na cobertura, depois colocados sobre uma tela para que secassem uniformemente e, após, foram acondicionados em bandeja de polipropileno. A mesma metodologia foi aplicada aos tomates que receberam cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano. Após este processo, os frutos foram mantidos em BOD com temperatura controlada de 25°C.

Os diferentes frutos foram analisados em triplicatas nos tempos 0, 4, 8 e 12 dias de armazenamento. Sendo os seguintes tratamentos:

T1 – tomates sem cobertura;

T2 – tomates com cobertura de quitosana; e

T3 – tomates com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.

1.2.3. Análises físico-químicas dos tomates

1.2.3.1. Sólidos solúveis

Os sólidos solúveis foram determinados com refratômetro digital portátil (DR301-95 - Kruss – Alpax) segundo a AOAC (2012).

1.2.3.2. Acidez titulável e pH

A acidez titulável foi determinada pelo método de titulação potenciométrica com indicador, com solução de hidróxido de sódio 0,01 M até

uma faixa de pH de 8,2 a 8,4, enquanto o pH foi determinado em potenciômetro (AOAC, 2012).

1.2.3.3. Textura

A textura foi feita no tomate inteiro com o auxílio do texturômetro (Ametek Brookfield – CT3 Texture Analyser, USA), com distância de penetração de 20mm e velocidade de $2,0\text{mm/s}^{-1}$, utilizando ponteira TA9, sendo os resultados obtidos de 5 pontos aleatórios expressos em Newtons.

1.2.3.4. Cor

A análise de cor foi feita em colorímetro portátil (Konica Minolta, Inc – Chroma Meter CR-400, Japão), operando no sistema CIE (L^* , a^* , b^* , h^* e c^*). Nas amostras, foram obtidos os valores de L^* (luminosidade), a^* (coordenada vermelho/verde), b^* (coordenada amarelo / azul), h^* (hue - tonalidade) e c^* (croma - saturação).

1.2.4. Análises microbiológicas

Foram feitas análises microbiológicas de coliformes totais e termotolerante e de *Staphylococcus aureus*. As análises de coliformes totais e termotolerantes foram feitas com placas petri-film da marca 3M, e a metodologia usada foi a do fabricante. As análises de *Staphylococcus aureus* foram feitas conforme Silva et al. (2010).

1.2.5. Análise estatística

As amostras foram comparadas no decorrer dos dias e entre os diferentes tratamentos, para isso foram usados Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey, no programa estatístico Minitab.

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.3.1. Análises físico-químicas

Os tomates apresentaram teores de sólidos solúveis, Tabela 2, sem diferença estatística para todos os tratamentos ao longo dos dois dias de armazenamento. Comparando os diferentes tratamentos, observa-se que, ao final dos 12 dias de armazenamento, os tomates controle e os revestidos com

cobertura com adição do óleo não tiveram diferença significativa entre si, e os tomates com cobertura de quitosana obtiveram o maior teor de sólidos solúveis, podendo indicar que nesse ponto as coberturas não conseguiram retardar o avanço da maturação. Isso pode ser resultado do estágio de maturação em que os tomates receberam as coberturas, ao contrário de Menezes et al. (2017), que conseguiram retardar o processo de maturação durante 12 dias em relação aos sólidos solúveis, revestindo os tomates com fécula de mandioca e amido de milho.

Tabela 2. Teor de sólidos solúveis (Brix⁰) em tomates sem cobertura, com cobertura de quitosana e com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.

Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	3,53±0,05 ^{Ab}	4,16±0,05 ^{Aa}	3,43±0,25 ^{Ab}	0,002
4	4,03±0,05 ^{Aa}	3,26±0,05 ^{Ac}	3,53±0,05 ^{Ab}	0,000
8	4,20±0,17 ^{Aa}	3,70±0,10 ^{Ab}	4,33±0,11 ^{Aa}	0,003
12	3,26±0,05 ^{Ab}	3,80±0,10 ^{Aa}	3,10±0,00 ^{Ab}	0,000
Valor p	0,444	0,136	0,177	

Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$)

T1= Tomates sem cobertura; T2= Tomates com cobertura de quitosana; T3= Tomates com cobertura de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano.

Em relação aos teores de acidez dos tomates, Tabela 3, houve diferença significativa com valores maiores no 4^o dia de armazenamento para os tomates revestidos de cobertura com óleo. Isto possivelmente indica que houve menor processo respiratório ou aumento do período de maturação, porém, com o passar do período de armazenamento, esses teores se reduziram para todos os tratamentos, não havendo diferença significativa entre os tratamentos para os dias 8 e 12 de armazenamento.

Essas reduções nos teores de acidez ocorrem pelo fato de a quantidade de ácidos orgânicos se reduzir pelo seu uso como substrato no processo respiratório ou pela conversão dos ácidos orgânicos em açúcares durante a maturação dos frutos (CHITARRA E CHITARRA, 2005).

Tabela 3. Acidez titulável (%) em tomates sem cobertura, com cobertura de quitosana e com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.

Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	0,57±0,05 ^{ABb}	0,73±0,08 ^{ABa}	0,73±0,16 ^{Ba}	0,024
4	0,89±0,13 ^{Ab}	0,83±0,01 ^{Ab}	1,18±0,06 ^{Aa}	0,006
8	0,56±0,06 ^{Ba}	0,45±0,08 ^{Ba}	0,54±0,03 ^{Ba}	0,144
12	0,64±0,07 ^{Ba}	0,55±0,02 ^{Ba}	0,56±0,09 ^{Ba}	0,298
Valor p	0,025	0,008	0,006	

Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$)

T1= Tomates sem cobertura; T2= Tomates com cobertura de quitosana; T3= Tomates com cobertura de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano.

A Tabela 3 mostra que ocorreu diferença significativa em todos os tratamentos durante todo o período de armazenamento. Os tomates com cobertura de quitosana no fim dos 12 dias de armazenamento apresentaram menor pH, com diferença significativa em relação aos outros tratamentos.

Tabela 4. pH em tomates sem cobertura, com cobertura de quitosana e com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.

Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	4,80±0,005 ^{Aa}	4,73±0,005 ^{Ab}	4,74±0,00 ^{ABb}	0,000
4	4,58±0,02 ^{Ca}	4,59±0,02 ^{Ca}	4,47±0,02 ^{Bb}	0,001
8	4,63±0,005 ^{Ba}	4,69±0,00 ^{Bb}	4,72±0,00 ^{ABa}	0,000
12	4,82±0,005 ^{Ab}	4,71±0,005 ^{ABc}	4,86±0,00 ^{Aa}	0,000
Valor p	0,000	0,000	0,035	

Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$).

T1= Tomates sem cobertura; T2= Tomates com cobertura de quitosana; T3= Tomates com cobertura de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano.

Textura

A Tabela 4 mostra os valores obtidos no texturômetro. Os tomates revestidos com cobertura de quitosana não tiveram diferença estatística, somente o controle e os tratamentos com cobertura com óleo. A força aplicada nos tomates para a ruptura da casca sofreu variações durante todo o período de armazenamento, e no último dia de armazenamento, ambos os tomates revestidos com as coberturas tiveram aumento significativo em relação ao controle na força para que ocorresse a ruptura.

Segundo Damasceno et al. (2003), ao longo do período de armazenamento de 22 dias não ocorreu interação significativa entre o armazenamento e a película de fécula de mandioca.

Tabela 5. Valores médios de força máxima (N) em tomates sem cobertura, com cobertura de quitosana e com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.

Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	0,63±0,18 ^{Bb}	1,24±0,35 ^{Aa}	0,98±0,38 ^{Bab}	0,036
4	1,11±0,31 ^{ABa}	0,94±0,26 ^{Aa}	0,95±0,33 ^{Ba}	0,618
8	1,52±0,43 ^{Aab}	1,05±0,34 ^{Ab}	1,66±0,19 ^{Aa}	0,039
12	0,59±0,13 ^{Bb}	1,45±0,33 ^{Aa}	1,27±0,42 ^{ABa}	0,003
Valor p	<0,001	0,116	0,018	

Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$).

T1= Tomates sem cobertura; T2= Tomates com cobertura de quitosana; T3= Tomates com cobertura de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano.

Cor

A cor é um dos atributos mais importantes e complexos da qualidade de tomate porque o amadurecimento dos frutos se deve, em parte, à presença de um sistema diversificado de pigmentos. Os tipos de pigmentos e a constituição são determinados a pela constituição genética e pelo ambiente (KABELKA et al., 2004). Os resultados da análise de cor para L, croma e hue podem ser observados na Tabela 5.

Para a coordenada L^* (luminosidade), não ocorreu diferença significativa durante o armazenamento, podendo ser consequência da aplicação da cobertura nos tomates que, possivelmente, impediu essa percepção em virtude da fina camada que se forma no fruto. Costa et al. (2012) encontraram em seu trabalho com tomates revestidos com filme de quitosana diminuição de valores de L^* , podendo significar escurecimento dos frutos.

No croma* (coordenada de saturação), os tomates com ambas as coberturas de quitosana aumentaram significativamente a saturação, passando a ter uma tonalidade vermelha mais intensa, indicando real aumento da maturação.

No ângulo hue* (tonalidade), os valores para os tomates revestidos com a cobertura de quitosana não apresentaram diferença significativa, mostrando que mesmo com a cobertura é possível acompanhar a mudança de tom na cor dos frutos. Nos frutos controle e nos frutos revestidos com cobertura de quitosana adicionada de óleo, houve diminuição dos índices, o que mudou sua faixa de cor (Tabela 5).

Tabela 6. Resultado médio de cor em tomates sem cobertura, com cobertura de quitosana e com cobertura de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.

L*				
Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	39,88±6,90 ^{Aa}	41,08±1,444 ^{Aa}	43,29±4,55 ^{Aa}	0,482
4	35,69±2,78 ^{Aa}	40,08±4,02 ^{Aa}	40,55±3,47 ^{Aa}	0,053
8	37,96±3,69 ^{Aa}	39,50±4,20 ^{Aa}	41,84±4,39 ^{Aa}	0,288
12	37,92±2,97 ^{Aa}	39,46±4,95 ^{Aa}	38,24±2,40 ^{Aa}	0,743
Valor p	0,456	0,877	0,162	
Croma				
Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	59,57±7,71 ^{Aa}	51,60±6,01 ^{Bab}	42,95±7,90 ^{Bb}	0,005
4	56,30±6,67 ^{Aa}	44,50±6,05 ^{Bb}	43,95±3,88 ^{Bb}	0,003
8	57,97±8,77 ^{Aa}	65,47±9,17 ^{Aa}	63,48±11,31 ^{Aa}	0,412
12	57,82±9,96 ^{Aa}	66,76±9,57 ^{Aa}	63,91±10,31 ^{Aa}	0,311
Valor p	0,926	0,000	0,000	
Hue				
Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	58,15±7,30 ^{Aa}	57,98±2,044 ^{Aa}	61,68±11,96 ^{Aa}	0,683
4	44,13±3,05 ^{Ba}	48,82±7,19 ^{Aa}	53,17±8,17 ^{ABa}	0,088
8	47,27±5,82 ^{Ba}	50,91±8,35 ^{Aa}	52,34±11,72 ^{ABa}	0,611
12	42,71±2,088 ^{Ba}	49,77±7,79 ^{Aa}	45,92±3,47 ^{Ba}	0,085
Valor p	0,000	0,116	0,067	

Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$)

T1= Tomates sem cobertura; T2= Tomates com cobertura de quitosana; T3= Tomates com cobertura de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano.

1.3.2. Análises microbiológicas

Os coliformes totais apresentaram contagem dentro do limite no primeiro dia de análise e, no restante do período de armazenamento, apresentaram UFCs (Unidades Formadoras de Colônias) incontáveis. Em relação aos padrões de coliformes termotolerantes, ou seja, a 45°C/g, que se limita ao máximo de 5×10^2 UFCs, nenhum dos tratamentos teve contagem. A porcentagem de óleo adicionada aos filmes não foi suficiente para obter ação bactericida, assim, não conseguiu evitar a contaminação ao longo do período de armazenamento.

Pesquisa desenvolvida por Oliveira (2018) com tomates italianos com revestimento com extrato de folhas de *Dalbergia ecastaphyllum (L.) Taub*, encontrou contagem de coliformes dentro dos padrões estabelecidos pela Anvisa, quando armazenados a 7°C por 24 dias.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) não estabelece limites para contagem de *Staphylococcus aureus* em frutos e hortaliças *in natura*, mas estabelece uma carga microbiana de 10^3 UFCs (Unidades Formadoras de Colônia) por grama de produto, como uma população limite aceitável quando a hortaliça é branqueada ou cozida (BRASIL, 2001). Em todos os tratamentos, foi observada contagem <10 UFC/g para *Staphylococcus aureus* nos tomates.

Lins (2018), ao investigar a aplicação de revestimento à base de amido de inhame, batata doce roxa e mandioca na conservação de tomates, encontrou ausência de *staphylococcus*. A contagem de *Staphylococcus sp*, em tomates revestidos com extrato de *Dalbergia* armazenados a 7°C por 24 dias, também foi ausente na pesquisa de Oliveira (2018).

1.4. CONCLUSÃO

As coberturas de quitosana tiveram uma boa aderência aos tomates, mesmo quando adicionada do óleo essencial de orégano.

Microbiologicamente, ambas as coberturas não foram eficientes para evitar o crescimento microbiano de coliformes ao longo do armazenamento mesmo com a adição do óleo essencial, mostrando que o óleo não teve interação suficiente com o alimento.

Não foi possível evitar o avanço na maturação dos tomates, por isso não foi possível aumentar a vida útil quando revestidos no estágio de maturação vermelho-rosada, armazenados a 25 °C, deixando uma possibilidade de tentativa em outros estádios e temperaturas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. **Food Science and Technology**. Vol. 43, nº. 6, pág. 837-842, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the 266 Association of Official Analytical Chemists**. Arlington: A.O.A.C.,2012.

ATARES, L. e CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology** Vol. 48, pág. 51-62, 2016.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b > Acesso em: 15 fevereiro 2019.

CHITARRA, M. I. F., CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEFE, 783 p. 2005.

COSTA, T.L.E.; OLIVEIRA, T. A.; SANTOS, F. K. G. AROUCHA, E.M.M.; LEITE, R. H. L. Avaliação de coberturas comestíveis compostas por quitosana e argila no revestimento em tomates sob refrigeração pelo método dipping. **Revista Verde** (Mossoró – RN), v. 7, n. 5, p. 361 12-19, dez., 2012.

DAMASCENO, S.; OLIVEIRA, P. V. S.; MORO, E.; MACEDO JR, E. K.; LOPES, M. C.; VICENTINI, N. M. Efeito da aplicação de películas de fécula de mandioca na conservação pós-colheita de tomate. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. V. 23, n. 3, p. 377-380, 2003.

FAGUNDES, C.; MORAES, K.; PEREZ-GAGOB, M.B.; PALOUB, L.; MARASCHINC, M.; MONTEIRO, A.R. Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. **Postharvest Biology and Technology**. Vol. 109, pág. 73–81, 2015.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J.P.; JIMENEZ, A; MUNOS, J.A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **LWT**, v.22, p. 293-303, 2011.

FRAGUAS, M. R.; SIMÃO, A. A.; FARIA, P. V.; QUEIROZ, E. R.; JUNIOR, E. N. O.; ABREU, C. M. P.. Preparo e caracterização de filmes comestíveis de quitosana. **Polímeros: Ciências e Tecnologia**. Vol.25, nº. spe – dez. 2015.

GALUS, S.; KADZINSKA, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science & Technology**. Vol. 45, nº. 2, pág. 273-283, 2015.

GUNLU, A; KOYUN, E. Effects of vacuum packaging and wrapping with chitosan-based edible film on the extension of the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets in cold storage (4 °C). **Food and Bioprocess Technology**. Vol. 6, nº. 7, pág. 1713-1719, 2013.

KABELKA, E., W. Yang and D.M. Francis. Improved tomato fruit color within an inbred backcross line derived from *Lycopersicon esculentum* and *L. hirsutum* involves the interaction of loci. **Journal of the American Society for Horticultural Science**., 129: 250-257, 2004.

LINS, M. S. G. **Revestimento a base de amido de inhame, batata doce roxa e mandioca na conservação de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. 2018. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Sistemas Agroindustriais, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2018.

MANSO, S.; PEZO, D., GOMEZ-LUS, R.; NERIN, C. Diminution of aflatoxin B1 production caused by an active packaging containing cinnamon essential oil. **Food Control**. Vol. 45, pág.101-108, 2014.

McHUGH, T. H. Protein-lipid interactions in edible films and coatings. **Food**. Vol. 44, nº. 3, pág. 148-151, 2000.

MENEZES, K. R. P.; SANTOS, G. C. S.; OLIVEIRA, O. M; SANCHES, A. G.; CORDEIRO, C. A. M., OLIVEIRA, A. R. G. Influência dos revestimentos

comestíveis na preservação da qualidade pós-colheita de tomate de mesa. **Colloquium Agrariae**, v. 13, n.3, p.14-28, Set-Dez, 2017.

OLIVEIRA, Janine Patrícia Melo. **Revestimento de extrato de folhas de *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub na conservação pós-colheita de tomate**. 2018. 120 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Sistemas Agroindustriais, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2018.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Varela, 4ª ed, 2010.

WANG, Y.; WANG, B.; LI, L.. Keeping quality of tomato fruit by high electrostatic field pretreatment during storage. **Journal Science Food and Agriculture**. Vol. 88, nº. 3, pág. 464–470, 2008.

YUAN, G.; CHEN, X.; LI, D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. **Food Research International**. Vol. 89, pág. 117–128, 2016.

3. CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS PRODUZIDOS A PARTIR DE QUITOSANA E ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

RESUMO

Tem se despertado um interesse na elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis elaborados a partir de diversas bases como a quitosana que é um polímero natural extraído do exoesqueleto de animais marinhos. A adição de óleo essencial em filmes depende da característica de cada óleo e de sua interação com a matriz polimérica. O objetivo foi elaborar caracterizar e verificar o efeito da adição do óleo essencial de orégano sobre as propriedades dos filmes de quitosana, e para isso realizou-se análise de espessura, cor, índice de inchamento, solubilidade em água, permeabilidade em água, microscopia eletrônica de varredura e propriedades mecânicas. Os filmes não diferiram significativamente um do outro quanto à espessura, solubilidade e permeabilidade em água, tensão de ruptura, módulo de Yong. Quanto à cor incorporação do óleo tornou o filme mais amarelo, já na microscopia eles apresentaram pequenas imperfeições em ambas as matrizes. Os filmes mostraram potencial de utilização futura em embalagens de alimentos já que não houve separação entre a quitosana e o óleo essencial, podendo ser realizadas mais análises para aprofundar sua caracterização.

Palavras-chave: aditivo natural, embalagens, revestimentos.

ABSTRACT

An interest has been aroused in the elaboration and characterization of biodegradable films made from various bases such as chitosan which is a natural polymer extracted from the exoskeleton of marine animals. The addition of essential oil to films depends on the characteristic of each oil and its interaction with the polymer matrix. The objective of this study was to characterize and verify the effect of the addition of oregano essential oil on the properties of chitosan films. Thickness, color, swelling index, water solubility, water permeability, electron microscopy analysis were performed. sweep and mechanical properties. The films did not differ significantly in thickness, solubility and water permeability, tensile strength, Yong modulus. As for the color incorporation of the oil made the film more yellow, already under microscopy they showed minor imperfections in both matrices. The films showed potential for future use in food packaging as there was no separation between chitosan and essential oil, and further analysis could be performed to further characterize them.

Keywords: natural additive, packaging, coatings.

3.1. INTRODUÇÃO

Grande interesse tem sido despertado sobre o desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis por seu potencial perante a indústria e também por questão da sua biodegradabilidade. Estes são elaborados a partir de proteínas, polissacarídeos, lipídeos e derivados. Exemplos de bons formadores de filmes biodegradáveis são a quitosana, amidos, pectinas, derivados da celulose (ALMEIDA et al., 2013).

A quitosana é um polímero natural extraído do exoesqueleto de animais marinhos. Industrialmente a quitosana é produzida a partir da desacetilação alcalina de quitina (hidrólise alcalina) permitindo a solubilidade em solução aquosa de ácido acético 1% (FRÁGUAS et al., 2015; OLIVEIRA, 2015; YUAN, CHEN e li, 2016).

O óleo essencial de orégano cientificamente pertence à espécie *Origanum vulgare* sendo caracterizado por sua atividade antimicrobiana elevada devido a quantidade de compostos fenólicos presentes na planta, efetivo contra crescimento de bactérias e fungos (OLIVEIRA et al., 2009). O efeito da incorporação desses óleos essenciais em filmes depende da característica de cada óleo e de sua interação com a matriz polimérica (ATARÈS et al., 2010).

A espessura, propriedades mecânicas de barreiras e óticas dependem do tipo de matéria-prima em que o filme foi elaborado influenciando diretamente na capacidade de resistência, absorção e cor (UGALDE, 2014). Pensando nisso, o objetivo com este trabalho foi elaborar, caracterizar e verificar o efeito da adição do óleo essencial de orégano sobre as propriedades dos filmes de quitosana.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Preparo dos filmes

O filme foi preparado com base na metodologia adaptada de Günlü e Koyun (2013). Para o preparo da solução filmogênica adicionou-se quitosana (2%, p/v) ao ácido acético (1%, v/v) e homogeneizou-se durante 1 hora com agitador magnético (Kasvi – Agitador Magnético com Aquecimento, Brasil) até atingir agitação de 1500 rpm. Em seguida, 2% (v/v) de glicerol foi adicionado lentamente à solução como plastificante e levado novamente ao agitador magnético com aquecimento por 10 min a 80°C, sob agitação de 1200 rpm. Para os filmes com adição de óleo essencial de orégano foi adicionado junto com o glicerol 0,5% do óleo e também levado ao agitador magnético com aquecimento por 10 min a 80°C, sob agitação de 1200 rpm.

Para a secagem de ambos os filmes foi utilizado 200 mL da solução filmogênica, sendo esta dispersa em placas de vidro (25x25 cm) encapadas com plástico adesivo, e levadas à estufa (Solab – Estufa de secagem e esterilização SL-100, Brasil) para secagem por ± 20 horas a uma temperatura de 50°C. Após secagem, foram identificadas e levadas para armazenamento

durante 72 horas em dessecadores para uniformizar a umidade até o momento das análises.

3.2.2. Espessura

A espessura foi obtida através da média dos valores coletados de 9 pontos aleatórios em diferentes segmentos do filme, utilizando-se micrômetro digital (Insize, 3109-25A, China, resolução 0,001 mm).

3.2.3. Cor

A análise de cor foi realizada em colorímetro de mão (Konica Minolta, Inc – Chroma Meter CR-400, Japão), operando no sistema CIE (L^* , a^* , b^* , h^* e c^*). Nas amostras foram obtidos os valores de L^* (luminosidade), a^* (coordenada vermelho/verde), b^* (coordenada amarelo / azul), h^* (hue - tonalidade) e c^* (croma - saturação).

3.2.4. Índice de inchamento

Foi determinado de acordo com o método de Rhim et al., (1997), sendo as amostras de filmes cortadas em quadrados de 2x2 cm de dimensão, pesados e colocados em um béquer com água destilada a 25°C por 6 h. Após esse período as superfícies dos filmes foram secas com papel filtro 150 mm por 1 min. O índice de inchamento foi determinado pelo ganho de massa da amostra após a imersão na água e dividido pela massa seca inicial.

$$\frac{(\text{Peso Final} - \text{Peso Inicial}) \times 100}{\text{Peso Final}}$$

3.2.5. Solubilidade em água

Porções de filmes de 2 cm² foram secos em estufa (Solab – Estufa de secagem e esterilização SL-100, Brasil) à 105°C por 24 horas para determinação da matéria seca inicial dos filmes. Após a primeira pesagem as amostras foram imersas em recipientes com 50 mL de água destilada e agitadas lentamente por 24 horas (25°C) em homogeneizador de soluções (Thoth – Incubadora Refrigerada Agitação Orbital – 6430 Touch 2, Brasil). Após este período, as amostras foram removidas e secas em estufa à 105°C por 24

horas para determinar a massa de matéria seca que não dissolveu em água. O percentual de solubilidade dos filmes foi determinado como porcentagem de matéria seca solubilizada (GONTARD et al., 1994).

$$\frac{(\text{Peso Inicial} - \text{Peso Final}) \times 100}{\text{Peso Inicial}}$$

3.2.6. Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada gravimetricamente de acordo com o método E96/E96 da ASTM (ASTM, 2010). As amostras dos filmes foram cortadas na forma de discos e seladas com parafina em cápsulas de permeação feitas de tecnil, contendo cloreto de cálcio anidro seco em estufa à 200°C. As cápsulas de permeação foram acondicionadas em dessecadores contendo solução salina saturada de cloreto de sódio. O vapor de água transferido através do filme foi determinado pelo ganho de massa no sistema sendo as medições realizadas periodicamente em intervalos de 30 minutos durante as primeiras 2 horas, a cada 2 horas durante as 8 horas seguintes e, finalmente, após 24 horas. Mudanças na massa da cápsula de permeação foram registradas e o ganho de massa (g) foi graficado em função do tempo (h), e da reta obtida por regressão linear, foi determinado o coeficiente angular e calculada a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TVA) (Equação 1):

$$TVA = \frac{g}{A}$$

Sendo: TVA a taxa de permeabilidade ao vapor de água (g/h.m²); g/t o coeficiente angular da reta (g/h); A a área de permeação (m²).

3.2.7. Microscopia eletrônica de varredura

As amostras foram colocadas em dessecadores sob vácuo com sílica-gel (0% UR) durante 7 dias para eliminar resíduos de umidade, em seguida, os filmes sofreram fratura criogênica após submetê-los ao congelamento rápido em nitrogênio líquido. As amostras a serem analisadas foram montadas em suporte de alumínio ou *stubs* com fita adesiva dupla-face, e em seguida, foram

colocadas em câmara metalizadora (SCO –040 Marca Balzers), para serem revestidas com uma capa de ouro. A microscopia eletrônica de varredura foi realizada no microscópio eletrônico (JEOL – JSM 6610, Japão), utilizando-se um acelerador de voltagem de 2,5 kV. A análise de MEV foi realizada no laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás (Goiânia/GO).

3.2.8. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram analisadas quanto a tensão na ruptura, alongação e módulo de elasticidade em uma máquina universal de testes mecânicos Instron. Os filmes foram cortados em formato retangular com 100mm de comprimento e 20mm de largura, onde foram submetidos à força de tração com carga de 1kN, a velocidade de 12mm/minuto com o auxílio de uma máquina universal de ensaios Instron (Instron, 3367, Grove City, USA) com controle pneumático de tração, com garras 2732-008 e célula de carga ajustada para capacidade de 500N. Os testes foram realizados no Laboratório MultiUsuário de Análises de Textura, Reologia e HPLC da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (Goiânia/GO).

3.2.9. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise estatística utilizando ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey ao nível de 5% de significância no programa estatístico Minitab.

Na análise de microscopia eletrônica de varredura não houve realização de análise de estatística, devido ser proveniente de imagens.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observando a Figura 2, pode-se notar que a adição o óleo essencial de orégano não afetou na espessura dos filmes de quitosana. Moradi et al. (2012) caracterizou filmes de quitosana adicionados de óleo essencial de tomilho e extrato de semente de uva encontrou valores de espessura sem diferença

estatística com variação entre 0,07 e 0,08 mm. Já Ugalde (2014) relatou diferença estatística nos filmes biopoliméricos de quitosana incorporados com diferentes percentuais de óleo essencial de orégano e cravo-da-índia, variando a espessura entre 0,14 a 0,18 mm. Viegas (2016) relatou espessura de 0,12 mm em filmes de quitosana. Costa et al. (2012) caracterizou filmes produzidos a partir de quitosana e argila, utilizando a mesma técnica de *casting* para o preparo e obteve uma espessura média de 0,0856 mm, estudo este semelhante ao do presente trabalho.

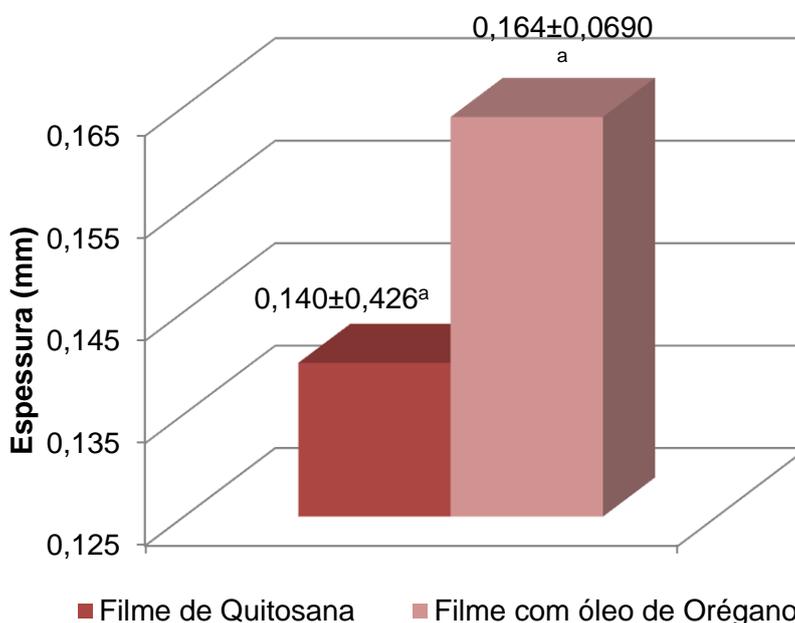


Figura 2. Espessura média (mm) dos filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.

Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

Em relação a luminosidade (coordenada L^*), coordenada a^* (vermelho/verde) e ângulo hue^* (tonalidade), os filmes não apresentaram diferença significativa mesmo com a adição do óleo essencial de orégano (Tabela 6).

A luminosidade dos filmes ficou próximo ao branco em uma escala de 0 a 100, caracterizando-os como transparentes. É desejável em embalagens plásticas, que as mesmas tenham alto brilho e transparência, para uma boa apresentação visual do produto, mas, para muitos alimentos a proteção contra

a incidência de luz é necessária, portanto a cor não é um fator limitante de uso (OLIVEIRA, 1996).

Na coordenada b^* (amarelo/azul) os filmes apresentaram diferença significativa entre eles, sendo que o filme com óleo de orégano se mostrou mais amarelo que o filme de quitosana. Assim como a coordenada b^* , o croma também obteve diferença significativa e o filme com óleo demonstrou maior saturação, significando que ele é um amarelo mais intenso que o filme de quitosana, característica justificada para ambos requisitos visto que o óleo naturalmente possui uma coloração mais amarelada.

Tabela 7. Resultados de cor dos filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.

	L	a^*	b^*	croma	<i>Hue</i>
Filme Quitosana	80,40±3,20 ^a	3,22±1,201 ^a	34,03±2,82 ^b	34,19±2,86 ^b	84,59±1,822 ^a
Filme com óleo	77,08±4,58 ^a	5,33±3,70 ^a	44,16±8,99 ^a	44,54±9,35 ^a	82,37±3,08 ^a
Valor p	≥ 0,221	≥ 0,260	≥ 0,043	≤ 0,045	≥ 0,202

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

No índice de inchamento, conforme apresentado na Figura 3, é possível notar a influência da adição do óleo essencial de orégano, pois quando os filmes foram expostos a um determinado tempo à água o filme com a adição do óleo foi capaz de evitar a absorção, podendo ser explicado pela hidrofobicidade dos óleos em relação a água enquanto o filme de quitosana 10,92% a mais de água.

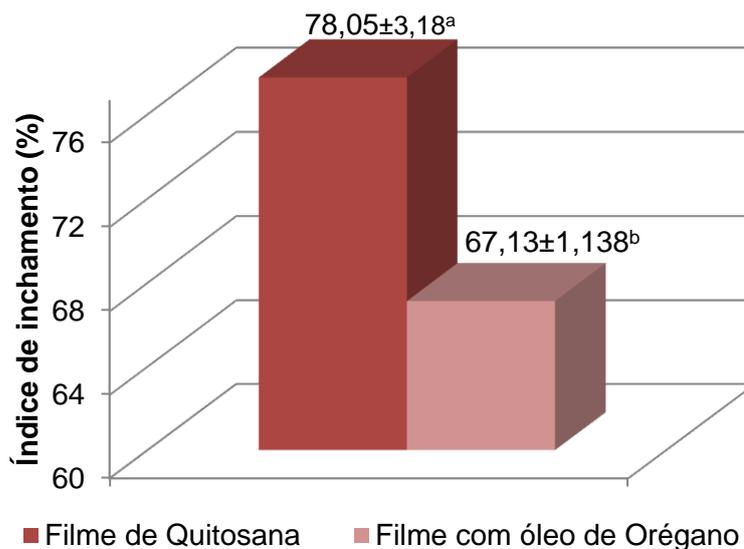


Figura 3 Resultados de índice de inchamento (%) dos filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano. Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

Diferente do índice de inchamento, a solubilidade dos filmes (Figura 4) não apresentou diferença significativa de acordo com a Figura 4, possivelmente porque a porcentagem usada de óleo essencial não foi suficiente para alterar a solubilidade dos filmes. A solubilidade em água define a tolerância do filme a água, a qual é determinada pela estrutura química do mesmo (PLÁCIDO, 2007).

Costa et al. (2012) encontrou valores menores em solubilidade quando trabalhado com filme de quitosana e argila, registrando 13,29% o que foi atribuído a adição da argila para a formação do filme.

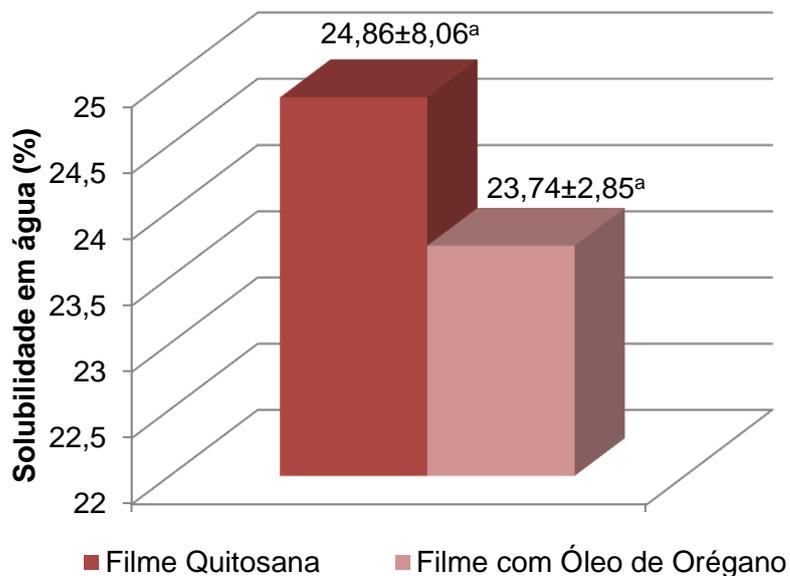


Figura 4 Solubilidade em água (%) dos filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano. Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

A permeabilidade ao vapor de água (Figura 5) não teve diferença significativa, possivelmente a quantidade de óleo adicionada no filme foi pequena para criar uma barreira impermeável. Viegas (2016) descreveu uma permeabilidade de 0,080 gmm/h. m²kPa em sua pesquisa com filmes de quitosana o que se diferencia do encontrado nesta pesquisa, podendo ser justificado através da estrutura que foi formada no momento da secagem e analisada através das imagens fornecidas pela microscopia eletrônica de varredura.

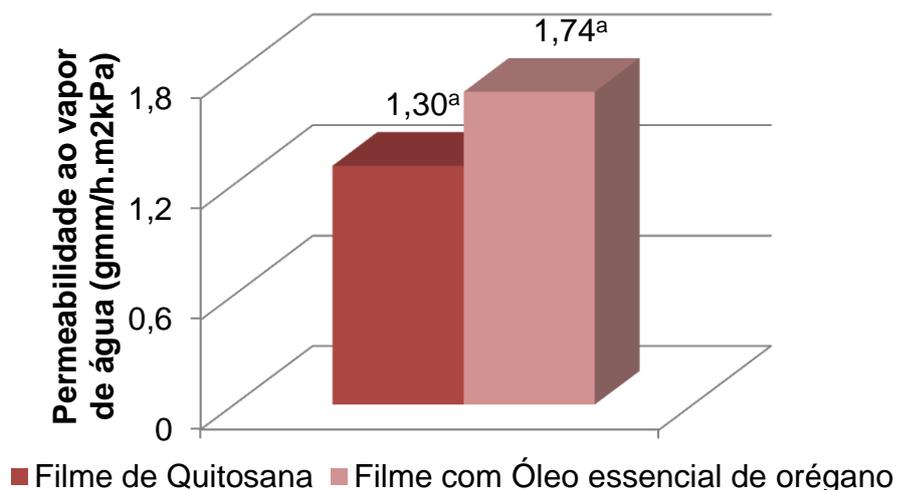


Figura 5 Resultados de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano. Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

Os filmes com óleo de orégano apresentaram estrutura com muitas estrias e micro-ranhuradas, ausência de poros e bolhas formadas no momento da secagem dos mesmos, na superfície do filme observou-se manchas que foram proporcionadas pela adição do próprio óleo.

Já o filme de quitosana, apresentou aspecto de menor quantidade de estrias, além de formação de grânulos que podem ter sido formados pela falha na dissolução da quitosana. Os resultados avaliados pelas imagens retratadas confirmam os resultados de permeabilidade que não tiveram diferença significativa, mostrando que os filmes com óleo de orégano estão mais susceptível a passagem de água do que o filme de quitosana também devido a sua estrutura morfológica.

Os filmes de fécula de mandioca e quitosana descritos por Viegas (2016) apresentaram estrutura compacta, densa e ordenada, sem poros. Bonilla et al. (2013) descreveu que o filme de amido com quitosana adicionado de óleo essencial de tomilho não apresentou separação, e somente na superfície do filme foram expostas gotículas do óleo resultantes da formação de creme durante a secagem do filme.

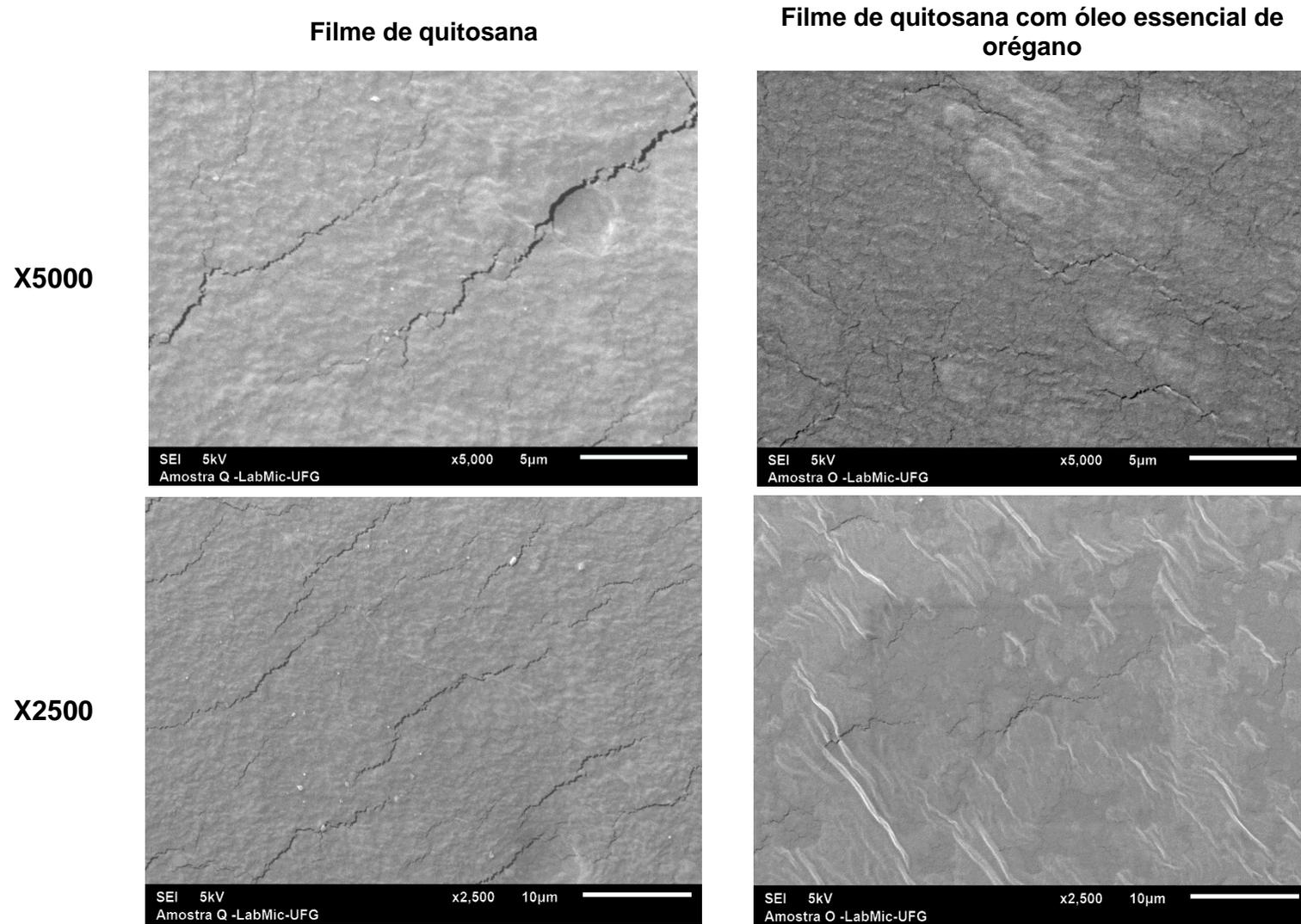


Figura 6. Microscopia eletrônica de varredura da ruptura de filmes de quitosana e filmes de quitosana de óleo essencial de orégano em aumentos de 5000 e 2500x.

Na tensão de ruptura e no módulo de Yong não houve diferença significativa (Tabela 7), possivelmente porque não houve mudança nas proporções de quitosana e glicerol usado para elaboração do filme, havendo apenas a adição do óleo essencial de orégano.

Hosseini et al., (2015) e Galindo (2017) estudaram filmes de gelatina e quitosana adicionados de óleo essencial de orégano e perceberam uma redução na resistência a tração e no módulo de Young, se equiparando a presente pesquisa que também ocorreu redução na resistência a tração quando adicionado o óleo de orégano ao filme.

A resistência a tração e a elongação tiveram diferença significativa (Tabela 12) sendo que o filme de quitosana teve maior porcentagem que o filme com óleo.

Tabela 8. Propriedades mecânicas nos filmes de quitosana e de quitosana adicionados de óleo essencial de orégano

Filme	Tensão de ruptura (Mpa)	Elongação (%)	Módulo de Yong (Mpa)	Resistência a tração (Mpa)
Filme Quitosana	1,09±0,447 ^a	51,41±21,92 ^a	3,19±1,059 ^a	1,09±0,3192 ^a
Filme com óleo	0,82±0,02787 ^a	26,88±6,01 ^b	3,39±1,027 ^a	0,69±0,2868 ^b

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa de acordo com o teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

3.4. CONCLUSÃO

A incorporação do óleo essencial de orégano na matriz dos filmes de quitosana não alterou significativamente a espessura, solubilidade e permeabilidade, tensão de ruptura, módulo de Yong.

Em relação à cor dos filmes, assim como esperado, os que tiveram incorporação de óleo obtiveram uma cor amarela mais intensa do que o filme de quitosana porém, menos elásticos e resistentes à tração. No índice de inchamento foi possível notar a capacidade hidrofóbica do óleo quando ele absorveu menos água.

Diante de todo o exposto os filmes se mostraram com potencial de utilização futura em embalagens de alimentos já que não houve separação entre a quitosana e o óleo essencial, podendo ser realizadas mais análises para aprofundar sua caracterização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, DENISE M.; WOICIECHOWSKI, ADENISE L.; WOSIACKI, GILVAN; PRESTES, ROSILENE A.; PINHEIRO, LUÍS A. Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 23, n. 4, p.538-546, 2013.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials – ASTM E96/E96M-10**. Filadélfia, PA (USA): American Society for Testing and Materials. 2010.

ATARÈS, L.; JÉSUS, C.D.E.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal Food Engineering**. v.99, n. 3, 2010.

BONILLA, J. et al. Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch–chitosan films. **Journal of Food Engineering**. v. 118, 172 n. 3, p. 271-278, 10// 2013.

COSTA, T.L.E.; OLIVEIRA, T. A.; SANTOS, F. K. G. AROUCHA, E.M.M.; LEITE, R. H. L. Avaliação de coberturas comestíveis compostas por quitosana e argila no revestimento em tomates sob refrigeração pelo método dipping. **Revista Verde** (Mossoró – RN), v. 7, n. 5, p. 361 12-19, dez., 2012.

FRAGUAS, M. R.; SIMÃO, A. A.; FARIA, P. V.; QUEIROZ, E. R.; JUNIOR, E. N. O.; ABREU, C. M. P.. Preparo e caracterização de filmes comestíveis de quitosana. **Polímeros: Ciências e Tecnologia**. v. 25, n. spe – dez. 2015.

GALINDO, Marcella Vitoria. **Filmes biodegradáveis de gelatina e quitosana com adição de óleos essenciais na conservação de presunto embalado a vácuo**. 2017. 52 f. TCC (Graduação) - Curso de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017

GONTARD, N.; DUCHES, C. CUQ, J. L. GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 29, n. 1, p. 39-50, 1994.

GUNLU, A; KOYUN, E. Effects of vacuum packaging and wrapping with chitosan-based edible film on the extension of the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets in cold storage (4 °C). **Food and Bioprocess Technology**. v. 6, n. 7, p. 1713-1719, 2013.

HOSSEINI, S. F.; REZAEI, M; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. **Industrial Crops and Products**. v. 67, p. 403–413, 2015.

MORADI, M.; TAJIK, H.; ROHANI, S.M.R.; OROMIEHIE, A.R.; MALEKINEJAD, H.; ALIAKBARLU, J.; HADIAN, M. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, p. 477-484, 2012.

OLIVEIRA, J. L. T. M. de; DINIZ, M. de F. M; LIMA, E. T. de O.; SOUZA, E. L.; TRAJANO, V. N.; SANTOS, B. H. C. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. and *Origanum majorana* L. Essential oils in Inhibiting the Growth of Bacterial Strains Isolated from the Patients with Conjunctivitis. **Brazilian archives of biology and technology**. v. 52, n. 1, p. 45-50, 2009.

OLIVEIRA, L.M.; ALVES, R.M.V.; SARANTÓPOULIS, C.I.G.L; PADULA, M.; GARCIA, E.E.C.; COLTRO, L. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas e flexíveis**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem/ITAL, 216 p, 1996.

OLIVEIRA, P. G.. **BIOATIVIDADE DE QUITOSANA COMO COBERTURA COMESTÍVEL EM QUEIJO DE COALHO NA INIBIÇÃO DE *Listeria***

monocytogenes. 2015. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2015.

PLÁCIDO, Geovana Rocha. **EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E USO DA QUERATINA DE PENAS DE FRANGO PARA A OBTENÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS**. 2007. 128 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

RHIM, J. H.; PARK, J. W.; JUNG, S.T.; PARK, H. J. Formation and properties of corn zein coated k-carrageenan films. **Journal of Food Science and Technology**. v. 29, p.1184-1190, 1997.

UGALDE, M. L. **BIOFILMES ATIVOS COM INCORPORAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS**. 2014. 168 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada, Erechim, 2014.

VIEGAS, Larissa Paiva. **Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de amido com quitosana para aplicação em embalagens de alimentos**. 2016. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2016

YUAN, G.; CHEN, X.; LI, D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. **Food Research International**. v. 89, p. 117–128, 2016.

4. CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS DE QUITOSANA E DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO EM TOMATE

RESUMO

O tomate tem grande importância comercial, seguindo um amadurecimento climatérico. A quitosana é um biopolímero ideal para a produção de filmes ativos comestíveis e permiti a adição de aditivos como o óleo essencial em sua matriz podendo aumentar suas propriedades atividade antioxidante e antimicrobiana, O objetivo foi elaborar e avaliar a aplicação do filme comestível de quitosana adicionado ou não de óleo essencial de orégano em tomates submetidos à temperatura de 25°C. . Os frutos foram embalados com os filmes de quitosana e quitosana a adicionada de óleo essencial de orégano além dos frutos controle, sendo e armazenados por 12 dias sob temperatura controlada por BOD a 25 °C. Os tomates foram analisado em triplicata e a cada três dias de armazenamento quanto à sólidos solúveis, acidez titulável e pH, textura, cor e microbiologicamente quanto a *salmonella staphylococcus aureus* e coliformes totais e termotolerantes. Estatisticamente usou-se por análise de variância e o teste post-hoc de Tukey no programa estatístico Minitab. Os filmes de quitosana tiveram uma boa resistência quando submetidos a temperatura controlada de 25 °C, porém não foi possível evitar o avanço na maturação dos tomates para prolongar o aumento da vida útil quando revestidos no estágio de maturação vermelho rosado.

Palavras-chave: aditivos naturais, embalagens, revestimentos, *Solanum Lycopersicum*.

ABSTRACT

Tomato has great commercial importance, following a climacteric ripening. Chitosan is an ideal biopolymer for the production of edible active films and allowed the addition of additives such as the essential oil in its matrix to increase its antioxidant and antimicrobial activity. of oregano essential oil in tomatoes at 25°C. . The fruits were packed with the chitosan and chitosan films plus the essential oil of oregano in addition to the control fruits and stored for 12 days under BOD controlled temperature at 25 °C. The tomatoes were analyzed in triplicate and every three days of storage for soluble solids, titratable acidity and pH, texture, color and microbiologically for salmonella staphylococcus aureus and total and thermotolerant coliforms. Statistically it was used by analysis of variance and Tukey's post-hoc test in the Minitab statistical program. Chitosan films had good resistance when subjected to a controlled temperature of 25 °C, but it was not possible to prevent the advance of tomato ripening to prolong the shelf life when coated in the red pink ripening stage.

Keywords: natural additives, packaging, waste, *Solanum Lycopersicum*.

4.1. INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum L.*) é uma das culturas vegetais mais cultivadas e consumidas no mundo e, portanto, de grande importância comercial (Azabou et al., 2016; LIZARDO et al., 2018). Caracteristicamente seguem um amadurecimento climatérico, que é controlado pelo etileno envolvendo mudanças físicas, químicas, bioquímicas e fisiológicas (FAGUNDES et al., 2015).

Os filmes comestíveis são obtidos de forma sólida, são pré-formados com camadas finas de materiais comestíveis, e uma vez formados podem ser colocados sobre ou entre os alimentos (McHUGH, 2000). Fornecem uma barreira semipermeável ao redor da superfície de frutas e vegetais reduzindo a

umidade, restringindo o consumo de oxigênio, diminuindo a respiração, e retardando a produção do etileno (GALUS e KADZINKA, 2015; YUAN, CHEN e LI, 2016).

A quitosana é um biopolímero ideal para a produção de filmes ativos comestíveis devido à sua não toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de formação de filme. Esses filmes mostram grande promessa para a aplicação na conservação de alimentos (YUAN, CHEN e LI, 2016).

Além disso, os filmes de quitosana são sistemas promissores para incorporação de óleos essenciais que estão recebendo muita atenção por terem potencial de atividade biológica (MANSO et al., 2014). O óleo essencial de orégano extraído de *Origanum vulgare L.* possui em suas propriedades atividade antioxidante e antimicrobiana (JOUKI et al., 2014).

Assim, o objetivo com este trabalho foi elaborar e avaliar a aplicação do filme comestível de quitosana adicionado ou não de óleo essencial de orégano em tomates submetidos à temperatura de 25°C.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Preparo dos filmes

O filme foi preparado com base na metodologia adaptada de Günlü e Koyun (2013). Para o preparo da solução filmogênica adicionou-se quitosana (2%, p/v) ao ácido acético (1%, v/v) e homogeneizou-se durante 1 hora com agitador magnético (Kasvi – Agitador Magnético com Aquecimento, Brasil) até atingir agitação de 1500 rpm. Em seguida, 2% (v/v) de glicerol foi adicionado lentamente à solução como plastificante e levado novamente ao agitador magnético com aquecimento por 10 min a 80°C, sob agitação de 1200 rpm. Para os filmes com adição de óleo essencial de orégano foi adicionado junto com o glicerol 0,5% do óleo e também levado ao agitador magnético com aquecimento por 10 min a 80°C, sob agitação de 1200 rpm.

Para a secagem de ambos os filmes foi utilizado 200 mL da solução filmogênica, sendo ela dispersas em placas de vidro (25x25 cm) encapadas com plástico adesivo, e levadas à estufa (Solab – Estufa de secagem e esterilização SL-100, Brasil) para secagem por ± 20 horas a uma temperatura

de 50°C. Após secagem, foram identificados e levados para armazenamento durante 72 horas em dessecadores para uniformizar a umidade até o momento das análises.

4.2.2. Aplicação dos filmes nos tomates

Os tomates foram adquiridos na Ceasa/GO no estágio de maturação rosado a vermelho. Foram lavados e sanitizados com hipoclorito de sódio (10 ppm), secos e acondicionados em bandejas de polipropileno. Em seguida separados e cobertos com o filme de quitosana com e sem adição de óleo essencial de orégano. Após este processo os frutos foram mantidos em BOD com temperatura controlada de 25°C.

Os frutos foram analisados em triplicata através da instalação do experimento em 0, 4, 8, e 12 dias de armazenamento. Sendo os seguintes tratamentos:

T1 – tomates sem filmes;

T2 – tomates com filmes de quitosana;

T3 – tomates com filmes de quitosana adicionada de óleo essencial de orégano.

4.2.3. Análises físico-químicas dos tomates

4.2.3.1. Sólidos solúveis

Os sólidos solúveis foram determinados com refratômetro digital portátil (DR301-95 - Kruss – Alpax) segundo a AOAC (2012).

4.2.3.2. Acidez titulável e pH

A acidez titulável foi determinada pelo método da titulação potenciométrica com indicador, sendo titulado com a solução de hidróxido de sódio 0,01 M até uma faixa de pH de 8,2 a 8,4. Enquanto o pH determinado em potenciômetro (AOAC, 2012).

4.2.3.3. Textura

A textura foi realizada no tomate inteiro com o auxílio do texturômetro (Ametek Brookfield – CT3 Texture Analyser, USA) com distância de penetração de 20 mm e velocidade de 2,0 mm/s⁻¹, utilizando ponteira TA9, sendo os resultados obtidos de 5 pontos aleatórios e expressos em Newtons.

4.2.3.4. Cor

A análise de cor foi realizada em colorímetro de mão (Konica Minolta, Inc – Chroma Meter CR-400, Japão), operando no sistema CIE (L^* , a^* , b^* , h^* e c^*). Nas amostras foram obtidos os valores de L^* (luminosidade), a^* (coordenada vermelho/verde), b^* (coordenada amarelo / azul), h^* (hue - tonalidade) e c^* (croma - saturação).

4.2.4. Análises microbiológicas

Foram realizadas análises microbiológicas de Coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus aureus*. As análises de Coliformes totais e termotolerantes foram realizadas com placas petri-film da marca 3M e a metodologia usada foi a do fabricante. As análises de bolores e leveduras, e *Staphylococcus aureus* foram realizadas conforme Silva et al. (2010).

4.2.5. Análise estatística

As amostras foram comparadas no decorrer dos dias e entre os diferentes tratamentos, para isso usou-se Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey no programa estatístico Minitab.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Análises físico-químicas dos tomates

Sólidos solúveis

É possível observar na Tabela 8 que não houve diferença significativa nos tratamentos durante o período de armazenamento. Em relação aos dias de armazenamento nos diferentes tratamentos, observa-se que ao 4º dia de armazenamento os tomates revestidos com filme adicionado de óleo de orégano obteve diferença significativa, já no 8º dia foram os tomates revestidos com filme de quitosana que tiveram diferença significativa. O teor de Brix^o que esta ligado diretamente com a respiração do fruto que consome açúcar.

Tabela 9. Teor de sólidos solúveis (Brix^o) de tomates embalados ou não com filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.

Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	3,53±0,05 ^{Aa}	3,80±0,20 ^{Aa}	3,47±0,0577 ^{Aa}	0,21
4	4,03±0,05 ^{Aa}	4,23±0,05 ^{Aa}	3,37±0,1155 ^{Ab}	<0,001
8	4,20±0,17 ^{Aa}	3,77±0,11 ^{Ab}	4,37±0,1528 ^{Aa}	0,007
12	3,27±0,05 ^{Ac}	3,50±0,00 ^{Ab}	3,80±0,1000 ^{Aa}	<0,001
Valor p	0,181	0,125	0,289	

Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$)

T1= Tomates sem filme; T2= Tomates com filme de quitosana; T3= Tomates com filme de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano.

Mudanças no teor de sólidos solúveis podem indicar a senescência do produto. No geral há um aumento no teor de açúcar após a colheita e a diminuição até o final do armazenamento devido ao uso dos açúcares na respiração da fruta como fonte de energia (MORAIS, 2015).

Bautista-Banos et al (2018) estudou o uso de revestimento elaborado com quitosana, ácido oléico e óleo essencial de limão e quitosana, cera de abelha e óleo essencial de limão que gerou valores semelhantes aos deste trabalho, variando entre 4,80 a 4,88 Brix^o para ambos tratamentos. Além de também terem encontrado teores de 4,72 e 4,87 Brix^o para os tomates armazenados a 25°C num período de 3 semanas.

Acidez titulável e pH

Os resultados de acidez titulável encontram-se na Tabela 9, observa-se que não foram encontradas diferenças significativas para o tratamento controle. Nota-se que os tratamentos ao longo do período de armazenamento tiveram sofreram variações podendo indicar o avanço da maturação.

Segundo Silva et al. (2017) a variação da acidez pode ser um indicativo do estágio de maturação do fruto, já que a acidez decresce em função do avanço da maturação, mas com o amadurecimento os frutos perdem rapidamente a acidez, podendo acontecer um pequeno aumento nos valores

com o avanço da maturação, explicando o aumento ocorrido no 4º dia de armazenamento.

Tabela 10. Teor de acidez titulável (%) de tomates embalados ou não com filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.

Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	0,57±0,05 ^{Aab}	0,75±0,10 ^{Ba}	0,46±0,04 ^{Bb}	0,009
4	0,89±0,13 ^{Aa}	0,95±0,03 ^{Aa}	1,06±0,03 ^{Aa}	0,125
8	0,56±0,06 ^{Aa}	0,53±0,06 ^{Bb}	0,52±0,02 ^{Ba}	0,642
12	0,64±0,07 ^{Aab}	0,54±0,08 ^{ABb}	0,81±0,05 ^{Ba}	0,012
Valor p	0,055	0,013	<0,001	

Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$)

T1= Tomates sem filme; T2= Tomates com filme de quitosana; T3= Tomates com filme de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano.

Os resultados de Mahfoudhi (2012) mostraram que os revestimentos de goma de amêndoa e goma arábica foram capazes de retardar significativamente as mudanças de acidez titulável durante o armazenamento a 20°C em comparação com os tomates controle não revestidos.

De acordo com AOAC (2012), os valores pH em tomates variam entre 3,50 e 4,7, sendo os valores encontrados no presente estudo próximos ao padrão da legislação de acordo com a Tabela 10.

Tabela 11. pH de tomates que foram embalados ou não com filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.

Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	4,80±0,00 ^{Aa}	4,75±0,12 ^{Aa}	4,77±0,00 ^{Aa}	0,629
4	4,58±0,02 ^{Ab}	4,62±0,01 ^{Aa}	4,62±0,00 ^{Aa}	0,010
8	4,63±0,05 ^{Ac}	4,65±0,00 ^{Ab}	4,67±0,00 ^{Aa}	<0,001
12	4,82±0,00 ^{Ab}	5,16±0,02 ^{Aa}	4,59±0,00 ^{Ac}	<0,001
Valor p	0,221	0,232	0,180	

Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$)

T1= Tomates sem filme; T2= Tomates com filme de quitosana; T3= Tomates com filme de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano.

Observa-se que os valores de pH não tiveram diferença significativa durante o passar do período de armazenamento. Os tomates cobertos com o filme de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano, no avanço do período de armazenamento apresentaram menores teores ao fim dos 12 dias de avaliação quando comparados com os outros tratamentos, se mostrando eficiente para retardar o aumento do pH e assim evitar o avanço na maturação.

Textura

Os resultados da análise de textura podem ser observados na Tabela 11, verifica-se que os tomates embalados com filme de quitosana não teve diferença estatística, somente os controle e os tomates com filme com óleo. A força aplicada nos tomates para a ruptura da casca sofreu variações durante todo o período de armazenamento, sendo que no último dia ambos tomates embalados com filme precisaram de uma força maior estatisticamente para que ocorresse tal ruptura.

Tabela 12. Valores médios de força máxima (N) para tomates que foram embalados ou não com filme de quitosana e de filme de quitosana com óleo essencial de orégano.

Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	0,63±0,18 ^{Bb}	1,70±0,39 ^{Aa}	2,17±0,90 ^{Aa}	0,004
4	1,11±0,31 ^{ABa}	1,25±0,60 ^{Aa}	1,27±0,19 ^{Ba}	0,809
8	1,52±0,43 ^{Aa}	0,98±0,32 ^{Aab}	0,92±0,23 ^{Bb}	0,031
12	0,59±0,13 ^{Bb}	0,98±0,28 ^{Aa}	1,25±0,25 ^{Ba}	0,003
Valor p	<0,001	0,049	0,007	

Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$)

T1= Tomates sem filme; T2= Tomates com filme de quitosana; T3= Tomates com filme de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano.

Cor

A coloração dos tomates está relacionada com o estágio de maturação, sendo um fator de grande influência na vida pós-colheita do fruto já que é um

dos principais auxílios de escolha por parte do consumidor (MENEZES et al., 2017). A variação dos parâmetros de cor do tomate estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 13. Resultados de cor dos tomates embalados ou não com filmes de quitosana e de quitosana com óleo essencial de orégano.

L*				
Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	39,88±6,90 ^{Aa}	42,05±5,97 ^{Aa}	44,79±4,20 ^{Aa}	0,364
4	35,69±2,78 ^{Ab}	39,46±1,869 ^{Aab}	39,80±2,93 ^{ABa}	0,026
8	37,96±3,69 ^{Aa}	39,52±2,87 ^{Aa}	37,26±3,22 ^{Ba}	0,489
12	37,92±2,97 ^{Aa}	38,81±2,61 ^{Aa}	40,53±3,13 ^{ABa}	0,316
Valor p	0,456	0,456	0,009	
Croma*				
Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	59,57±7,71 ^{Aa}	53,30±5,83 ^{ABa}	53,81±8,22 ^{ABa}	0,287
4	56,30±6,67 ^{Aa}	47,71±5,35 ^{Ba}	45,89±8,73 ^{Ba}	0,049
8	57,97±8,77 ^{Aa}	62,68±8,34 ^{Aa}	62,16±9,08 ^{Aa}	0,602
12	57,82±9,96 ^{Aa}	59,43±4,59 ^{Aa}	53,48±3,27 ^{ABa}	0,300
Valor p	0,926	0,002	0,015	
Hue*				
Dia	T1	T2	T3	Valor p
0	58,15±7,30 ^{Aa}	55,52±15,19 ^{Aa}	59,13±8,09 ^{Aa}	0,837
4	44,13±3,05 ^{Bb}	48,22±4,13 ^{Aab}	51,34±6,44 ^{ABa}	0,058
8	47,27±5,82 ^{Ba}	47,16±5,02 ^{Aa}	46,29±2,60 ^{Ba}	0,924
12	42,71±2,088 ^{Ba}	44,29±3,35 ^{Aa}	44,29±5,96 ^{Ba}	0,751
Valor p	0,000	0,158	0,002	

Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna e letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com Análise de Variância e o teste post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$)

T1= Tomates sem filme; T2= Tomates com filme de quitosana; T3= Tomates com filme de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano.

Na coordenada L* (luminosidade) os tratamentos controle e o tratamento filme de quitosana não tiveram diferença significativa. Ocorreu uma variação significativa no brilho dos frutos que foram embalados com o filme com óleo de orégano durante os 12 dias de armazenamento, significando que eles ficaram mais escuros com a redução dos valores.

No cromat* (coordenada de saturação), os tomates cobertos com o filme de quitosana aumentaram a saturação, indicando que eles passaram a ter uma

coloração vermelha mais intensa indicando avanço na maturação. Já o controle não teve uma mudança significativa e os tomates cobertos com filme de quitosana com óleo essencial de orégano tiveram variação significativa durante o período de armazenamento, porém no primeiro e último dia essa variação não foi significativa.

O ângulo hue* (tonalidade), os tomates embaladas com filme de quitosana não tiveram diferença significativa enquanto no controle e no filme com óleo de orégano ocorreu diminuição dos valores ao fim do armazenamento, significando uma mudança de faixa na cor dos frutos no 4 dia de armazenamento.

Os resultados de Das et al. (2013) foram satisfatórios usando revestimentos de amido+glicerol+lipídeo+antioxidante, conseguindo retardar as alterações dos parâmetros de cor L, a, b dos tomates revestidos sendo diretamente atribuídas à atividade antioxidante do extrato de chá verde.

4.3.2. Análises microbiológicas

Em relação aos padrões de coliformes que se limita ao máximo de 5×10^2 para coliformes a 45°C/g , nenhum dos tratamentos tiveram contagem. Já os coliformes totais apresentaram contagem dentro do limite no primeiro dia de análise e no restante do período de armazenamento apresentou UFC's (Unidades Formadoras de Colônias) incontáveis. A porcentagem de óleo adicionada aos filmes não foi suficiente para obter ação bactericida, assim não conseguiu evitar a contaminação ao longo do período de armazenamento.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não estabelece limites para contagem de *staphylococcus* em frutos e hortaliças *in natura*, porém, estabelece uma carga microbiana de 10^3 UFC's (Unidades formadora de colônia) por grama de produto como uma população limite aceitável quando a hortaliça são branqueadas ou cozidas (BRASIL, 2001). Em todos os tratamentos foi observado contagem <10 UFC/g em contagem de *staphylococcus* nos tomates.

4.4. CONCLUSÃO

Os filmes de quitosana tiveram uma boa resistência quando submetidos a temperatura controlada de 25 °C mesmo quando adicionado do óleo essencial de orégano na sua matriz.

Microbiologicamente ambos filmes não foram eficientes para evitar o crescimento microbiano mesmo com a adição do óleo essencial, mostrando que o óleo não teve interação suficiente com o alimento.

Não foi possível aumentar a vida útil dos tomates quando revestidos no estágio de maturação vermelho rosado e armazenados a 25 °C, pois o revestimento com filme não evitou o avanço na maturação dos tomates, deixando uma possibilidade de tentativa em outros estádios e temperaturas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the 266 Association of Official Analytical Chemists**. Arlington: A.O.A.C.,2012.

AZABOU, S.; ABID, Y.; SEBII, H.; FELFOUL, I.; GARGOURI, A.; ATTIA, H. Potential of the solid-state fermentation of tomato by products by *Fusarium solani* pisi for enzymatic extraction of lycopene. **Food Science Technology**. v. 68, p. 280–287, 2016.

BAUTISTA-BANOS, S.; RAMOS GARCIA, M. L. Propiedades físicas de películas de quitosano adicionadas con Aceite esencial de limón y su impacto en la vida de anaquel del Jitomate (*Lycopersicon esculentum* L.) **Revista Mexicana de Ingeniería Química** v. 17, n. 1 p.1-11, 2018.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffdd-f6-3767-4527-bfac-740a0400829b > Acesso em: 15 fevereiro 2019.

FAGUNDES, C.; MORAES, K.; PEREZ-GAGOB, M.B.; PALOUB, L.; MARASCHINC, M.; MONTEIRO, A.R. Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. **Postharvest Biology and Technology**. v. 109, p. 73–81, 2015.

GALUS, S.; KADZINSKA, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science & Technology**. v. 45, nº. 2, p. 273-283, 2015.

GUNLU, A; KOYUN, E. Effects of vacuum packaging and wrapping with chitosan-based edible film on the extension of the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets in cold storage (4 °C). **Food and Bioprocess Technology**. v. 6, nº. 7, p. 1713-1719, 2013.

JOUKI, M.; YAZDI, F. T.; MORTAZAVI, S. A.; KOOCHEKI, A. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. **Food Hydrocolloids**. V. 36, p. 9–19, 2014.

LINS, M. S. G. **Revestimento a base de amido de inhame, batata doce roxa e mandioca na conservação de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. 2018. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Sistemas Agroindustriais, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2018.

LIZARDO, C. I.; MATTIUZ, B.-H.; SILVA, J. P.; GALATI, V. C.; VOIGT, V. Hyperbaric pressure at room temperature increases post-harvest preservation of the tomato cultivar “Débora.” **Scientia Horticulturae**. v. 228, p. 103–112, 2018.

MAHFOUDHI, N.; CHOUAIBI, M.; HAMDI, S. Effectiveness of almond gum trees exudate as a novel edible coating for improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruits **Food Science and Technology International** . v. 20, n. 1, p. 33–43, 2012.

MANSO, S.; PEZO, D., GOMEZ-LUS, R.; NERIN, C. Diminution of aflatoxin B1 production caused by an active packaging containing cinnamon essential oil. **Food Control**. v. 45, p.101-108, 2014.

McHUGH, T. H. Protein-lipid interactions in edible films and coatings. **Food**. v. 44, nº. 3, p. 148-151, 2000.

MENEZES, K. R. P.; SANTOS, G. C. S.; OLIVEIRA, O. M; SANCHES, A. G.; CORDEIRO, C. A. M., OLIVEIRA, A. R. G. Influência dos revestimentos comestíveis na preservação da qualidade pós-colheita de tomate de mesa. **Colloquium Agrariae**, v. 13, n.3, p.14-28, Set-Dez, 2017.

SILVA, E. A. N.; SOARES, D. S. B.; OLIVEIRA, T. M.; PINTO, E. G.; VERISSIMO, W. N. SOUZA, A. R. M. Aplicação de cobertura de quitosana em jabuticabas. **Revista Agrarian**, Dourados. v.10, n.38, p. 363-, 2017.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Varela, 4ª ed, 2010.

YUAN, G.; CHEN, X.; LI, D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. **Food Research International**. v. 89, p. 117–128, 2016.

5. CONCLUSÃO GERAL

As coberturas de quitosana tiveram uma boa aderência aos tomates, mesmo quando adicionada do óleo essencial de orégano.

Os filmes de quitosana tiveram uma boa resistência quando submetidos à temperatura controlada de 25 °C mesmo quando adicionou-se o óleo essencial de orégano na sua matriz.

Microbiologicamente os filmes e as coberturas não foram eficientes para evitar o crescimento microbiano mesmo com a adição do óleo essencial, mostrando que o óleo não teve interação suficiente com o alimento.

Os filmes se mostraram com potencial de utilização futura em embalagens de alimentos já que não houve separação entre a quitosana e o óleo essencial, podendo ser realizadas mais análises para aprofundar sua caracterização.