

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS**

**ÉLLEN CRISTINA SOARES GOMES**

**MORANGOS COM COBERTURAS COMESTÍVEIS:  
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,  
MICROBIOLÓGICA, ANÁLISE SENSORIAL E  
VIDA DE PRATELEIRA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
AMBIENTAL**

**DOURADOS/MS  
DEZEMBRO/2017**

**ÉLLEN CRISTINA SOARES GOMES**

**MORANGOS COM COBERTURAS COMESTÍVEIS:  
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,  
MICROBIOLÓGICA, ANÁLISE SENSORIAL E  
VIDA DE PRATELEIRA**

**ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dra. KELLY CRISTINA DA SILVA  
BRABES**

**CO-ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dra. SILVIA MARIA MARTELLI**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia na área de concentração em Ciência Ambiental.

**DOURADOS/MS  
DEZEMBRO/2017**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

G633m	<p>Gomes, Éllen Cristina Soares.</p> <p>Morangos com coberturas comestíveis : caracterização físico-química, microbiológica, análise sensorial e vida de prateleira. / Éllen Cristina Soares Gomes. – Dourados, MS : UFGD, 2017.</p> <p>66f.</p> <p>Orientadora: Prof. Dra. Kelly Cristina da Silva Brabes.</p> <p>Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Morango. 2. Cobertura comestível. 3. Óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i>. 4. Vida de prateleira. I. Título.</p>
-------	--

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.**

**©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

---

### Termo de Aprovação

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: **“Caracterização de morangos com revestimentos comestíveis”**, de autoria de **ÉLLEN CRISTINA GOMES**, apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

Dr. Kelly Cristina da Silva Brabes  
Presidente da banca examinadora

Dra. Anelise Samara Nazari Formagio  
Membro Examinador (FUNDECT/UFGD)

Dra. Maria Cristina Correa de Souza  
Membro Examinador (UFGD/FCS)

Dourados/MS, 30 de Setembro de 2015.

*Aos meus pais João e Maria por todo incentivo e amor. A minha princesinha Ana Clara. E a todos que acreditaram e fez possível mais uma realização de um sonho.*

***Dedico.***

## **AGRADECIMENTOS**

Este trabalho é resultado do incentivo e apoio que recebi de meus amigos e familiares durante os últimos dois anos.

Em primeiro lugar agradeço a Deus, pois me proporcionou a oportunidade de estar viva e com saúde para a realização de mais um sonho. És o meu refúgio e fortaleza.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, da Universidade Federal da Grande Dourados, por ter proporcionado a realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes, pela concessão da bolsa.

Aos professores Fábio Negrão e Julio Croda por permitirem a utilização do Laboratório de Pesquisa em Ciências da Saúde (LPCS) para a realização das análises. Muito obrigada pela confiança.

A profa. Dra. Kelly Cristina da Silva Brabes pela orientação, compreensão, ensinamentos transmitidos e paciência ao longo do mestrado. Obrigada pelas conversas e puxões de orelha, pois me fizeram enxergar além do que meus olhos poderiam ver.

A profa. Dra. Silvia Maria Martelli por tão grande ajuda e carinho para a conclusão deste trabalho. Aqui fica meu muito obrigada.

A profa. Dra. Farayde Matta Fakhouri pela disponibilidade e paciência em transmitir seus conhecimentos, esclarecendo dúvidas e sugestões para o melhor andamento e aperfeiçoamento do trabalho.

Aos professores do programa pelos conhecimentos transmitidos e momentos de descontração.

A meus pais João Adilson e Maria Gomes que sempre me incentivaram e me apoiaram em momentos difíceis e de “desespero” ao longo do experimento, e hoje compartilham da minha felicidade. Sem dúvidas, são meu bem maior, meu porto seguro e os amores da minha vida. Amei ontem, Amo hoje e Amarei para todo o sempre.

A meu maninho Elias Gomes pelos puxões de orelha, conselhos, apoio e ajuda. Amo esse menino com todo meu coração.

Ao meu esposo Antonio João, que ao final desta etapa compreendeu meu estresse. Muito obrigada meu amor por estar ao meu lado. Te amo.

A minha pequenina princesa Ana Clara que desde o ventre pode acompanhar a correria para a realização de mais um sonho. Obrigada minha pequena por estar comigo desde o começo, essa vitória é nossa. Te amo mais que tudo.

Aos meus amigos/irmãos de laboratório que fizeram meus dias mais alegres e divertidos. Agradeço por toda ajuda, ensinamentos, risadas, brincadeiras, companheirismo, e por toda contribuição para meu crescimento profissional e pessoal. Cada um, a sua maneira e jeitinho, me ensinou a ser uma pessoa melhor. Adriana Costa por toda ajuda e companheirismo, você foi meu braço direito, agradeço de coração pela sua colaboração e paciência; Simone Kinjo obrigada por sua amizade, levarei para sempre você em meu coração; Cibelli Mazzucato por toda ajuda e conselhos dados para o melhor desempenho durante o mestrado; Thiago Silvério por toda paciência e disponibilidade para ensinar a irmã que estava completamente perdida, obrigada por todos os ensinamentos transmitidos; Nani obrigada pelas placas semeadas, pelas conversas na cozinha durante o almoço, pelo carinho de todos os dias e pela companhia agradável; Maisa e Késia pelos momentos de descontração e comentários da nossa série The Walking Dead, obrigada meninas; Laís uma pessoa amável e meiga que tive o privilégio de conhecer. Você tem uma alma encantadora e um jeito todo especial que é só seu, obrigada por todos os ensinamentos.

As técnicas de laboratório, Lujan nossa técnica/amiga fit, que com esse jeito sincero nos faz rir e admira-la. Obrigada pela ajuda, pelos conselhos e pelo crescimento pessoal, você é fantástica. Flora, a menina/mulher que procura e acha tudo que deixamos fora do lugar, acredite, ela encontra qualquer coisa que não esteja em seu devido lugar. Obrigada por tornar momentos tensos em risadas.

As técnicas Lígia, Adriana e Giza que disponibilizaram tempo e conhecimento para a realização das análises. Obrigada por toda ajuda e paciência.

Agradeço a todos os estagiários que me ajudaram para a conclusão deste trabalho, sou imensamente grata a todos vocês, Bruna Moura, Andriane Rizalde, Natiely Bueno, Yasmim Barbosa, Kelly, Nayra Oliveira, Mayara Ferreira e Monica Alencar.

Que Deus derrame ricas bênçãos a cada um de nós, nos proporcionando a oportunidade de conhecer pessoas e realizar sonhos.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>g</b>	Grama
<b>mg</b>	Miligrama
<b>h</b>	Hora
<b>min</b>	Minutos
<b>cm</b>	Centímetros
<b>m</b>	Metro
<b>mm</b>	Milímetros
<b>µm</b>	Micrometro
<b>s</b>	Segundo
<b>m/s</b>	Metro por segundo
<b>mL</b>	Mililitros
<b>µL</b>	Microlitro
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b><i>S.aureus</i></b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>CPP</b>	Contagem Padrão em Placas
<b>MC</b>	Morango Controle
<b>MNH</b>	Morango Não Higienizado
<b>M10%</b>	Morango revestido com cobertura comestível e adição de 10% de óleo essencial de orégano
<b>M20%</b>	Morango revestido com cobertura comestível e adição de 20% de óleo essencial de orégano
<b>M30%</b>	Morango revestido com cobertura comestível e adição de 30% de óleo essencial de orégano
<b>OE</b>	Óleo essencial
<b>Ppm</b>	Partes por milhão
<b>S/H</b>	Sem higienização
<b>10%OEO</b>	Concentração de 10% do óleo essencial de orégano
<b>20%OEO</b>	Concentração de 20% do óleo essencial de orégano
<b>30%OEO</b>	Concentração de 30% do óleo essencial de orégano
<b>°C</b>	Grau Celsius



## LISTA DE SIGLAS

<b>ANVISA</b>	Agência Nacional da Vigilância Sanitária
<b>AOAC</b>	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
<b>APHA</b>	<i>American Public Health Association</i>
<b>ATCC</b>	<i>American Type Culture Collection</i>
<b>CG/MS</b>	Cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massa
<b>CIELAB</b>	<i>Comission Internationale de Eclairage</i>
<b>CLSI</b>	<i>Clinical and Laroratory Standards Institute</i>
<b>EMB</b>	Eosina Azul de Metileno
<b>FDA</b>	Fibras em detergente ácido
<b>FDN</b>	Fibras em detergente neutro
<b>FTIR</b>	Infravermelho por transformada de Fourier
<b>HCl</b>	Ácido clorídrico
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido sulfúrico
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>LIA</b>	Lisina Ferro
<b>N</b>	Nitrogênio
<b>NaOH</b>	Hidróxido de sódio
<b>NMP</b>	Número Mais Provável
<b>PCA</b>	Plate Count Ágar
<b>TSI</b>	Tríplice Açúcar Ferro
<b>UFC</b>	Unidade Formadora de Colônia

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morangos sendo higienizados. Fonte: Arquivo pessoal .....	22
Figura 2. Secagem dos morangos. Fonte: Arquivo pessoal .....	23
Figura 3. Imersão dos morangos. Fonte: Arquivo pessoal .....	24
Figura 4. Secagem dos morangos. Fonte: Arquivo pessoal .....	24
Figura 5. Morangos acondicionados em recipientes separados. Fonte: Arquivo pessoal .....	24
Figura 6. Corte da base (A) e da coroa (B). Fonte: Arquivo pessoal .....	28
Figura 7. Morangos antes (A) e após (B) a pré-secagem. Fonte: Arquivo pessoal .....	29
Figura 8. Cartucho extrator de papel filtro comum. Fonte: Arquivo pessoal .....	31
Figura 9. Viragem do indicador misto (verde para rosa). Fonte: Arquivo pessoal .....	32
Figura 10. Valores de perda de massa (%) dos tratamentos armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 15 dias. MC - morango controle. Concentrações de 10, 20 e 30% de óleo essencial de orégano (OEO), adicionadas ao revestimento. ....	41
Figura 11. Morangos 'Camino Real' revestidos com cobertura comestível com adição de 10 (A), 20 (B) e 30% (C) de óleo essencial de orégano no 6º dia de armazenamento. ....	45
Figura 12. Morangos controle 'Camino Real' no 6º dia de armazenamento. ....	46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Compostos identificados na amostra do OE de orégano .....	34
Tabela 2: Valores da CIM em $\mu\text{g/mL}$ do óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i> avaliadas pelas técnicas de diluição em microplaca.....	36
Tabela 3: Logaritmo da contagem de mesófilos aeróbios e psicrotróficos em morangos ‘Camino Real’ revestidos com cobertura comestível e adição do óleo essencial de orégano, armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 15 dias. ....	38
Tabela 4: Deterioração fúngica (log) em morangos ‘Camino Real’ tratados com e sem revestimento comestível, armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 15 dias. ....	40
Tabela 5: Perda de massa (%) de morangos ‘Camino Real’ armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 15 dias. ....	42
Tabela 6: Textura (N) de morangos ‘Camino Real’ revestidos com cobertura comestível e adição do óleo essencial de orégano, armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 15 dias. ....	44
Tabela 7: Sólidos solúveis totais (°Brix) em morangos ‘Camino Real’ revestidos e armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 12 dias. ....	44
<b>Tabela 8:</b> Análise sensorial dos morangos ‘Camino Real’ revestidos com e sem o óleo essencial de orégano, armazenados a $5^\circ\text{C} \pm 1$ durante 15 dias.....	47
Tabela 9: Luminosidade ( $L^*$ ) e Tonalidade da cor $a^*$ e cor $b^*$ de morangos revestidos com e sem cobertura comestível à base de gelatina e amido com adição de óleo essencial de orégano, armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 15 dias. ....	49
Tabela 10: Composição centesimal ( $\text{g}/100\text{g}^{-1}$ ) dos morangos tratados nos dias 1 e 12. ....	51
Tabela 11: Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos .....	66

## RESUMO

Os morangos possuem curta vida útil pós-colheita devido à rápida deterioração causada por fungos, mesmo quando armazenadas sob refrigeração, tornando a comercialização desafiadora. O presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito da cobertura comestível à base de biopolímeros com e sem OE de *Origanum vulgare* em morangos (*Fragaria x ananassa*) da variedade “Camino Real” armazenados a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  por 15 dias. Os morangos foram testados em três concentrações do OE de orégano nas proporções de 10, 20 e 30%. Foi realizada a caracterização do OE de orégano através da análise cromatográfica, sendo carvacrol (63,63%), p-Cimeno (6,09%),  $\gamma$ -Terpineno (6,08%), cariofileno (4,52%) e timol (3,52%) os compostos majoritários. As análises microbiológicas sanitárias deram ausência de *Salmonella* sp. e *E.coli* para todos os tratamentos. Com relação ao crescimento microbiano de psicrófilos, mesófilos aeróbios e fungos, os tratamentos com 10, 20 e 30% do OE de orégano apresentaram reduções significativas com relação aos tratamentos S/H e Controle. Análises de textura, sólidos solúveis e cor não obtiveram diferença significativa entre todos os tratamentos. Na avaliação de perda de massa o tratamento com 20% de OE de orégano apresentou menor perda ao final do armazenamento, com 8,12%. Na análise sensorial os tratamentos com concentrações de OE de orégano apresentaram resultados significativos com relação ao controle a partir do 6º dia de armazenamento, dando destaque ao parâmetro odor que obteve nota 7,20 a 5,33 durante todo o armazenamento, ou seja, não alterando as características naturais do fruto. Os resultados encontrados neste trabalho refletem a capacidade que os revestimentos comestíveis agem como uma barreira de proteção do fruto, mantendo a qualidade do mesmo e possibilitando a vida de prateleira.

**Palavras-chave:** Morango, Cobertura comestível, Óleo essencial de *Origanum vulgare*, Vida de prateleira.

## ABSTRACT

Strawberries have short post-harvest shelf life due to rapid deterioration caused by fungi, even when stored under refrigeration, making commercialization challenging. The objective of this work was to study the effect of edible coating based on biopolymers with and without EO of *Origanum vulgare* on strawberries (*Fragaria x ananassa*) of the “Camilo Real” variety stored at  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  for 15 days. Strawberries were tested at three concentrations of EO of oregano in proportions of 10, 20 and 30%. The characterization of EO of oregano was performed by chromatography, with carvacrol (63.63%), p-Cymene (6.09%),  $\gamma$ -Terpinene (6.08%), caryophyllene (4.52%) and thymol (3.52%), being the major compounds. Sanitary microbiological analyzes gave absence of *Salmonella* sp. and *E.coli* for all treatments. With respect to the microbial growth of psychrotrophic, aerobic mesophiles and fungi, treatments with 10, 20 and 30% of EO of oregano presented significant reductions in relation to N/S and control treatments. Texture analysis, soluble solids and color did not obtain significant difference among all the treatments. In the evaluation of mass loss, the treatment with 20% of oregano presented lower loss at the end of the storage, with 8.12%. In the sensorial analysis the treatments with concentrations of EO of oregano presented significant results with respect to the control from the 6<sup>th</sup> day of storage, highlighting the odor parameter, which obtained score from 7.20 to 5.33 during the entire storage, not altering the natural characteristics of the fruit. The results found in this work reflect the ability of edible coatings to act as a protective barrier for the fruit, maintaining its quality and allowing the shelf life.

**Keywords:** Strawberry, edible coating, *Origanum vulgare* essential oil, shelf life.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS .....	iv
LISTA DE SIGLAS .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE TABELAS .....	vii
RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO .....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	16
3. OBJETIVOS .....	21
3.1. Objetivo Geral .....	21
3.2. Objetivos específicos .....	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	22
4.1. Matéria-prima .....	22
4.3. Metodologias para elaboração da cobertura comestível .....	23
4.5. Análises Microbiológicas .....	25
4.5.1. Padrões microbiológicos sanitários para alimentos .....	26
4.5.2. Crescimento microbiano nos diferentes tratamentos dos morangos .....	27
4.6. Análises físicas e químicas .....	28
4.6.1. Perda de massa .....	28
4.6.2. Textura .....	28
4.6.3. Cor .....	28
4.6.4. Sólidos solúveis .....	29
4.6.5. Composição centesimal .....	29
4.7. Análise sensorial .....	32
4.8. Análises da composição química do óleo essencial de orégano .....	33
4.8.1. Cromatografia Gasosa .....	33
4.9. Análise estatística .....	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	34
5.1. Caracterização do óleo essencial de orégano por cromatografia gasosa .....	34
5.2. Concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de orégano .....	35
5.3. Análise microbiológica sanitária dos alimentos nos diferentes tratamentos de morango .....	37

5.4. Caracterização do crescimento microbiano em cada tratamento .....	38
5.5. Caracterização física e química dos morangos revestidos .....	41
5.5.1. Perda de massa .....	41
5.5.2. Textura .....	43
5.5.3. Sólidos Solúveis Totais .....	44
5.5.4. Análise sensorial .....	45
5.5.5. Cor.....	48
5.6. Composição centesimal do morango .....	50
6. CONCLUSÃO .....	53
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54
Anexo I.....	63
Anexo II .....	64
Anexo III.....	65
Anexo IV.....	66

## 1. INTRODUÇÃO

O morango apresenta compostos fitoquímicos com potenciais benéficos à saúde, além de apresentar atributos de qualidade. Porém, sua vida útil é extremamente curta devido à alta deterioração microbiológica, tornando assim um desafio para a comercialização (THOMAS, 2016). Os processos de deterioração ou de oxidação microbiana, alteram características essenciais dos alimentos como o sabor, o odor, e até mesmo a cor do produto, o que promove a perda nutricional devido à destruição de substâncias benéficas, como vitaminas e proteínas (LLANA-RUIZ-CABELLO et al., 2015). Frutas e hortaliças continuam a respirar após colheita, levando a perda de umidade, firmeza e sabor, expressando assim a perda de qualidade. Entretanto, sua qualidade de vida pode ser prolongada por meio da redução da permeabilidade da umidade, temperatura e respiração (THOMAS, 2016).

Uma das principais funções das embalagens desenvolvidas para alimentos é preservar ao máximo a qualidade do produto, agindo como uma barreira a agentes externos, minimizando alterações químicas, bioquímicas e microbiológicas (RAMOS et al., 2008; SOARES et al., 2009).

O consumidor tem se tornado cada vez mais exigente quanto à qualidade, segurança e conveniência nos alimentos acondicionados (DAL BO et al., 2011). Deste modo, o setor de embalagens vem inovando a cada ano investindo em novas tecnologias que visam o aumento de vida útil dos alimentos, favorecendo importantes progressos nesta área. Há indústrias de alimentos que vêm substituindo embalagens tradicionais por compostos biodegradáveis e materiais comestíveis testados para elaboração de filmes e coberturas, no propósito de reduzir o número de descarte de materiais não renováveis ao ambiente (AZEREDO et al., 2008) e que possam contribuir para que os produtos se mantenham saudáveis, aumentando assim sua vida de prateleira (RAMOS et al., 2008; DURANGO, SOARES, ARTEAGA, 2011).

Os materiais utilizados para produzir filmes e coberturas comestíveis e biodegradáveis, podem ser originários de diversas fontes naturais, sendo os biopolímeros os materiais de maior aplicabilidade, destacando - se os polissacarídeos, lipídios e proteínas, ou a combinação entre eles, sendo que cada biopolímero possui características específicas para a manutenção e aumento da vida útil do alimento (FAKHOURI et al., 2007). Os filmes e coberturas atuam como uma barreira à perda de umidade, controlando



a respiração do fruto, evitando contaminação microbiológica e química (KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997; ASSIS e LEONI, 2003), além de melhorar características intrínsecas e a integridade mecânica (FAKHOURI et al., 2007).

Estudos relatam que coberturas comestíveis possuem maior funcionalidade quando incorporados com agentes antimicrobianos (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002; PARK et al., 2005) antioxidantes (ROJAS-GRAU et al., 2007; OMS-OLIU et al., 2008) minerais e vitaminas (HAN et al., 2004; TAPIA et al., 2007), podendo reduzir e/ou inibir o desenvolvimento microbiano, aumentando assim, a vida útil dos alimentos. O antimicrobiano OE de *Origanum vulgare* L., orégano, que apresenta como principais constituintes, o carvacrol, p-cimeno,  $\gamma$ -terpineno, carifiofileno e timol, inibe o crescimento de bactérias e fungos contaminantes de alimentos (LAMBERT et al., 2001; CHI, ZIVANOVIC, PENFIELD, 2006).

Neste contexto, devido a escasso de trabalho para a conservação e aumento de vida de prateleira do morango “Camino Real”, este trabalho foi realizado com objetivo de avaliar os efeitos dos revestimentos à base de gelatina e amido com adição do OE de orégano para a conservação e aumento da vida de prateleira.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Aspectos gerais da cultura do morangueiro**

O morangueiro pertence à família Rosaceae, gênero *Fragaria*, um fruto não climatérico, sendo cultivado em diferentes regiões do mundo (GRAHAM, 2005), caracterizado pelo sabor e altamente desejável pelos consumidores (GOL, PATEL, RAO, 2013). É uma espécie de clima temperado, apresenta plantas herbáceas, perenes e rasteiras que atingem de 15 a 30 cm de altura (SILVA, DIAS, MARO, 2007).

A parte comestível do morango é originária do receptáculo floral que se torna carnoso e suculento, de polpa firme, coloração vermelha e rica em material de reserva (RONQUE, 1998).

As cultivares de morangueiro utilizadas no Brasil provêm dos Estados Unidos (Aromas, Camarosa, Diamante, Oso Grande e Ventana), da Universidade da Califórnia e da Universidade da Florida (OLIVEIRA; NINO; SCIVITTARO, 2005).

A cultivar Camino Real foi desenvolvida na Universidade da Califórnia em 2001, apresentando frutos firmes, grandes e de sabor agradável, além de possuir epiderme e polpa vermelha-escura, sendo recomendada para o mercado *in natura* e industrialização (SHAW; LARSON, 2001).

O morango por apresentar uma alta porcentagem de água e elevado metabolismo, os frutos do morangueiro são poucos resistentes e muito delicados, sendo susceptíveis à perda de água, injúrias mecânicas e apodrecimento (CANTILLANO, 2003). Por isso, no processo da colheita é importante muito cuidado. A época de colheita nas regiões mais frias varia de agosto a dezembro (ANTUNES; DUARTE FILHO, 2005).

#### **2.1.1. Aspectos de qualidade do morango**

As frutas fazem parte da dieta equilibrada e balanceada do ser humano, pois possuem importantes fontes de vitaminas, minerais e nutrientes indispensáveis para uma vida saudável. Dentre as frutas consumidas mundialmente, o morango se encontra numa posição de destaque (FRANÇOSO et al., 2008). Sua produção no Brasil é de aproximadamente 100 mil toneladas por ano. Os estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul, são os principais produtores, representando 80% da produção total (EMBRAPA, 2008).

O morango por ser um fruto não climatérico, ou seja, não ocorre amadurecimento e nem melhoria das características sensoriais após a colheita (CANTILLANO, 2006; CHITARRA, CHITARRA, 2005), deve ser colhido no ponto certo de maturação, para que sua qualidade em termos de aparência, textura, sabor e valor nutricional sejam agradáveis (HERNÁNDEZ-MUNÓZ et al., 2008).

Os morangos têm uma rápida deterioração pós-colheita por ter uma elevada taxa respiratória e aumento da produção de etileno (FRANÇOSO et al., 2008). Outros fatores são atribuídos pela senescência do fruto como, perda de água, amolecimento da textura e deterioração causada por fungos, especialmente *Botrytis cinerea*, que diminui o período de conservação do fruto (FRANÇOSO et al., 2008; GOL, PATEL, RAO, 2013). Além disso, sua contaminação em relação a outros frutos é alta, devido ao elevado nível de açúcares e outros nutrientes, além de pH baixo (VU et al., 2011). A água é o composto mais abundante do morango, que pode atingir 90-95% da parte comestível (GEBHARDT et al., 2002), tornando-o altamente susceptível a deterioração.

Quando se quer obter informações sobre a qualidade do produto, a caracterização física e química dos frutos é de grande importância. O consumidor avalia o produto quanto à coloração, tamanho, forma, ausência de defeitos, entre outros (CHITARRA, CHITARRA, 2005; DOMINGUES, 2000). A qualidade do morango é avaliada pela aparência, sabor, odor e valor nutricional (AABY, SKREDE, WROLSTAD, 2005).

O morango é considerado uma fonte de compostos bioativos, apresentando alto teor de vitamina C e compostos fenólicos, destacando os flavonóides (como antocianinas, ácidos fenólicos e taninos hidrolisáveis) como um dos principais fenólicos (BASU et al., 2014; GIAMPIERI et al., 2012). Tais compostos são benéficos à saúde por apresentar efeitos antioxidantes (LOPES DA SILVA et al., 2007). Estudos de Gasperotti et al. (2015) e Zhu et al. (2015), têm mostrado que o morango apresenta elevada atividade antioxidante, estando relacionada aos compostos fenólicos.

As antocianinas (grupo dos flavonóides) são pigmentos naturais presentes em vegetais sendo amplamente distribuídas na natureza (SILVA, F. et al., 2007). As seis antocianinas mais comuns em plantas comestíveis são a cianidina (50%), pelargonidina (12%), peonidina (12%), delphinidina (12%), petunidina (7%) e malvidina (7%) (KONG et al., 2003). Segundo estudos realizados por Silva, F. et al. (2007), mais de 25 pigmentos antocianínicos foram descritos em morangos, sendo a pelargonidina-3-glicosídeo a mais significativa.

A vida útil do morango em uma temperatura de 0°C é geralmente de 2 semanas e após o armazenamento, o mesmo tem de 3-4 dias de vida de prateleira com temperatura ambiente de 20°C (ROMANAZZI, 2009). Segundo Han et al. (2004) morangos armazenados sob refrigeração de 0 - 4°C é normalmente menor que 5 dias. Deste modo, para manter as características físicas, químicas e microbiológicas dos frutos, apenas a redução da temperatura para o prolongamento da vida útil não é suficiente, sendo necessária a utilização de outras técnicas (BORGES, 2013).

Diferentes fungicidas são utilizados para controlar a deterioração de morangos pós-colheita, mas deixam resíduos e riscos para a saúde do ser humano, além de danificar o meio ambiente (LI, YU, 2000). Sendo assim, substâncias antimicrobianas naturais são alternativas para inibir o crescimento microbiano em morangos (BORGES, 2013). Dentre essas substâncias, os OEs são alternativas naturais para a conservação, podendo ser incorporados em revestimentos comestíveis.

Gol, Patel, Rao (2013) avaliaram morangos com revestimentos comestíveis enriquecidos com quitosana por 12 dias, armazenados a  $11 \pm 1^\circ\text{C}$ . Obtiveram resultados satisfatórios com o revestimento, o qual preservou a qualidade do fruto, uma vez que resultou em um atraso significativo na perda de massa ( $6,89 \pm 0,34$  no 12º dia), sólidos solúveis, pH, acidez titulável e teor de ácido ascórbico, além de manter altas concentrações de fenólicos e antocianinas.

Borges et al. (2013) utilizando revestimentos à base de goma xantana e OE de sálvia em morangos armazenados a 4°C por 12 dias, obtiveram resultados significativos em relação aos frutos controle. O revestimento proporcionou maior firmeza dos frutos, além de indicar menor incidência de fungos ao final do experimento ( $5,8 \times 10^7 \text{UFC g}^{-1}$ ).

Coberturas à base de amido de milho e batata aplicados em morangos obtiveram uma redução no número de frutos contaminados por fungos, além de prolongar a vida útil do produto. Os morangos com cobertura tiveram uma perda de massa menor em relação aos morangos sem cobertura (GARCIA et al., 1998).

Thomas (2016) avaliou morangos Camino Real revestidos com fécula de mandioca incorporado com própolis, armazenados a 4°C durante 16 dias. Dentre os conteúdos avaliados, destaca-se o teor de vitamina C que obteve resultado significativo em relação ao tratamento controle, chegando a  $71,95 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$  com revestimento de 66% de própolis.

Os revestimentos comestíveis são eficientes para estender a vida útil dos frutos, pela capacidade de modificar a atmosfera interna em tecidos (BALDWIN, 2001; KENDRA, 2010).

## 2.2. Óleo essencial

O *Origanum vulgare* L. pertence à família Lamiaceae, uma planta perene que se adapta em solos secos e calcários e vem sendo alvo de estudos quanto às propriedades biológicas de seu OE (CLEFF, 2008; SOUZA et al., 2008; BORGES, 2012).

A maioria das espécies do gênero *Origanum* é nativa do Mediterrâneo, mas também são encontradas na Europa, leste e centro da Ásia e Taiwan. Nas Américas, o principal produtor de orégano é o Chile, seguido da Bolívia e Peru, sendo em menor escala na Argentina e Uruguai (CLEFF, 2008; MITCHELL et al., 2010).

Os principais componentes presentes no OE de orégano são o carvacrol e o timol, porém sua eficácia na atividade bactericida pode variar devido aos teores destes constituintes (SILVA, 2010), que dependem da técnica de cultivo, origem, estágio vegetativo, estação de coleta do material vegetal e o processo de extração.

De acordo com Silva (2010), o efeito inibitório no controle *in vitro* da multiplicação de *Salmonella entérica* ATCC 13076 é eficaz devido aos componentes majoritários presentes no óleo de orégano, carvacrol e timol.

Souza et al. (2008), avaliaram o OE de orégano sobre atividade antimicrobiana exposto a diferentes tratamentos térmicos nas seguintes amostras: *Candida albicans* ATCC 7645, *C. krusei* ATCC 6258, *C. tropicalis* MD 37, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610, *Salmonella entérica* ATCC 6017 e *Serratia marcescens* ATCC 13880 tendo êxito na inibição do crescimento microbiano.

Hosseini et al. (2015) utilizaram OE de orégano em filmes compostos de gelatina de peixe e quitosana, os autores testaram a atividade antimicrobiana desse filme e obtiveram resultados positivos, com halos de inibição de  $34,66 \pm 1,15$  para *S. aureus* e  $32,00 \pm 2,64$  para *E. coli* com concentração de 1,2% de *Origanum vulgare*.

Peretto et al. (2014) avaliaram vapores antimicrobianos de carvacrol e metil cinamato em filmes comestíveis para aumentar a vida útil de morangos. Os frutos foram embalados e mantidos a 10°C durante 10 dias. Os vapores de carvacrol e cinamato de metila liberados dos filmes, ajudaram a manter a firmeza e o brilho dos morangos, além

de aumentar o conteúdo total de fenóis solúveis e a atividade antioxidante da fruta no final do período de armazenamento.

O carvacrol (2-metil-5-(1-metiletil)fenol) é um monoterpênico fenol, também denominado como isopropil-*o*-cresol, *p*-cimen-2-ol, 2-hidroxi-*p*-cimene, 5-isopropil-2-metilfenol ou iso-timol. Possui fórmula química  $C_{10}H_{14}O$  e peso molecular de  $150/22g.mol^{-1}$ . Tal composto foi aprovado pela Food and Drug Administration para o uso alimentar e foi incluído pelo *Council of Europe* na lista de aromas químicos que podem ser adicionados a gêneros alimentícios em níveis que variam de 2 a 25 ppm (DE VINCENZI et al., 2004).

O carvacrol é um composto fenólico e o componente majoritário do OE de orégano (VALERO, SALMENRÓN, 2003) podendo constituir até 80% do óleo (MARINO, BERSANI, COMI, 2001) sendo provavelmente o principal responsável pela atividade antimicrobiana do produto. Azerêdo et al. (2011) avaliaram o OE de orégano e encontraram em sua composição química, 16 compostos em quantidade superior a 0,1g/100g de massa total do óleo, sendo o carvacrol o de maior representatividade com 66,9g/100g. Barros et al. (2011) utilizou em seu trabalho OE de orégano e obteve 57,71 % de carvacrol em sua composição química. Já Sarikurkcü et al. (2015) encontrou o componente carvacrol com 16,11%, sendo o timol o componente majoritário com 58,31%, o óleo foi extraído das folhas. A variedade de concentrações dos componentes do OE de orégano pode ser explicada pelas diferentes estações de colheita, fontes geográficas, clima, processo de secagem e modo de destilação (OUSSALAH, 2007).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Estudar o efeito da cobertura comestível à base de biopolímeros com e sem OE de *Origanum vulgare* em morangos (*Fragaria x ananassa*).

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Determinar atividade antimicrobiana e as concentrações de incorporação do óleo essencial de orégano para elaboração da cobertura comestível em morangos;
- Avaliar a vida de prateleira dos morangos controle e dos tratados com cobertura a base de gelatina e amido adicionados com e sem óleo essencial de orégano em diferentes concentrações, através das análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais;
- Caracterizar o óleo essencial de orégano;

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal da Grande Dourados. As análises microbiológicas e elaboração das coberturas foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Ciência da Saúde, da Faculdade de Ciências da Saúde.

As análises físicas e químicas de sólidos solúveis, textura e análise sensorial, foram realizadas nos Laboratórios da Faculdade de Engenharia. A cor do fruto teve sua análise realizada no Laboratório de Análise de Produtos Agropecuários e a composição centesimal foi analisada no Laboratório de Nutrição Animal, ambos da Faculdade de Ciências Agrárias. A caracterização do OE de orégano foi realizada no Laboratório da Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia e na Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (Dourados).

### 4.1. Matéria-prima

Os morangos ‘Camino Real’ foram obtidos em frutaria local na cidade de Dourados/MS entre agosto e outubro de 2014. Após sua chegada ao Laboratório de Pesquisa em Ciência da Saúde, foi realizada uma seleção cuidadosa dos morangos quanto ao grau de amadurecimento, tamanho, formato e ausência de danos para uniformizar a amostra. Como pré-processamento, os morangos foram lavados e higienizados por imersão durante 3 minutos em uma solução de água destilada e hipoclorito de sódio (Vetec Química fina) a 150 ppm (Figura 1). Após este período os morangos foram retirados da solução, lavados e mantidos em uma temperatura de 18°C para a secagem completa (Figura2). Em seguida foi realizada uma nova seleção para a aplicação da cobertura, sendo excluídos os morangos com qualquer tipo de dano.



**Figura 1.** Morangos sendo higienizados. Fonte: Arquivo pessoal





**Figura 2.** Secagem dos morangos. Fonte: Arquivo pessoal

#### **4.2. Cobertura comestível**

Para a elaboração das coberturas comestíveis, foram utilizados: fécula de batata (YOKI), gelatina do Tipo A (Lenier Davis Gelatin, São Paulo-SP, Brasil) e o OE de orégano (FERQUIMA) adicionado às coberturas nas concentrações de 10, 20 e 30%.

#### **4.3. Metodologias para elaboração da cobertura comestível**

A solução de gelatina foi preparada segundo a metodologia descrita por Fakhouri et al (2007), hidratando 7,5g de gelatina (equivalente a 5%) em 150 mL de água destilada durante 1 hora em temperatura ambiente. Após este período, a solução foi aquecida a 80°C por 10 minutos em banho-maria.

A solução de amido (fécula de batata) foi preparada utilizando-se 4,5g de amido (equivalente a 3%) em 150 mL de água destilada e aquecida a 80°C em banho-maria, mexendo constantemente com a utilização de um bastão de vidro por 8 minutos. Após o preparo, uniram-se as duas soluções. O OE de orégano foi incorporado à solução final sob agitação magnética (BIOMIXER 78HW-1) por 5 minutos até sua homogeneização nas concentrações de 10% (1,2g), 20% (2,4g) e 30% (3,6g) em relação à massa da gelatina (7,5g) e do amido (4,5g), formando assim, três diferentes soluções.

A cobertura foi realizada pela imersão dos morangos durante 1 minuto nas soluções de biopolímeros (Figura 3). Após este processo, os morangos foram mantidos a 18°C por 12 horas até a secagem completa da cobertura (Figura 4). Em seguida, os morangos foram acondicionados em recipientes separados e mantidos a uma temperatura de 5°C (Figura 5).



**Figura 3.**Imersão dos morangos. Fonte: Arquivo pessoal



**Figura 4.** Secagem dos morangos. Fonte: Arquivo pessoal



**Figura 5.** Morangos acondicionados em recipientes separados. Fonte: Arquivo pessoal

#### **4.4. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de orégano**

A Concentração Inibitória Mínima do OE de orégano foi determinada utilizando técnicas de microdiluição, baseada nos procedimentos adotados de acordo com a Norma M7-A8 vol.26 n2 da “Metodologia dos testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactérias de crescimento Aeróbico”- Norma Aprovada – Oitava edição do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) 2009.

Os testes foram realizados em caldo Mueller-Hinton (MH - HIMEDIA) contidos em placa de fundo U de 96 poços estéreis, dispostos em 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H). Os microrganismos avaliados foram *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* sp. ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 19093, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Candida albicans* ATCC 90028.

Para a obtenção estoque do OE de orégano foi utilizado tubo esterilizado contendo 0,025g de OE de orégano, 50µL de Tween 20 para solubilizar e 10mL de caldo MH, obtendo-se concentração estoque de 2000mg/mL. Para os ensaios antimicrobianos o óleo foi utilizado nas seguintes concentrações: 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,6; 7,8µg/mL, para obter a concentração correspondente a CIM do OE de orégano. Foram depositados em cada poço da microplaca 100µL de cada concentração de OE de orégano, em seguida adicionou-se 100µL de inóculo bacteriano. A microplaca foi incubada a 35°C por 24 horas. Foi feito um controle do solvente Tween 20, controle negativo (contendo somente meio de cultura) e controle positivo testando a suspensão bacteriana.

Após as 24 horas de incubação das microplacas utilizou-se 20µL de Rezasurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) a 0,01% um marcador que foi adicionado em cada poço das placas. A leitura foi realizada após 4 horas de incubação. A rezasurina de cor azul é oxidada pela presença de células viáveis a resofurina, já a de cor vermelha indica a presença de crescimento microbiano (PALOMINO et al., 2002). A CIM se definiu como a menor concentração capaz de inibir o crescimento dos inóculos, evidenciado pela coloração ou por bóton formado na microplaca.

Para efeito confirmativo, os resultados negativos foram submetidos à análise de comprovação de seus resultados, retirando 10 µL de cada poço e transferindo-os para placas de Petri contendo ágar Muller-Hinton e incubadas por 24 horas.

#### **4.5. Análises Microbiológicas**

As análises microbiológicas foram realizadas para determinar o desenvolvimento microbiano em cada grupo de amostra de acordo com os parâmetros indicados para frutos

pela Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001). Os morangos foram avaliados por 15 dias em intervalos de 3 dias (1, 3, 6, 9, 12 e 15), totalizando 6 períodos de análises.

#### **4.5.1. Padrões microbiológicos sanitários para alimentos**

Os tratamentos de morango foram avaliados de acordo com a metodologia da *American Public Health Association* (APHA, 2001) a qual é preconizada para análise de alimentos pela Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001). Foram utilizados os padrões microbiológicos sanitários para alimentos representados na legislação para *Salmonella* sp., Coliformes Termotolerantes (45°C), além de contagem total de mesófilos aeróbios, psicotróficos e bolores e leveduras, sendo que estes não apresentam parâmetros na legislação citada.

Para determinar a presença de *Salmonella* sp., pesou-se assepticamente, 25g de cada amostra, as quais foram depositadas em 225 mL de água peptonada tamponada (OXOID) e posteriormente incubadas a 37°C, por 24 horas. Após este período, transferiu-se 1,0 mL da água peptonada tamponada para tubos contendo 9 mL de caldo rappaport-vassilliadi (ISO FAR). Após o período de incubação (37°C/24h), estrias foram feitas com o auxílio de uma alça de platina sendo retirada uma alçada dos tubos que evidenciaram crescimento em placas de Petri contendo ágar salmonella differential (RajHans Medium - HIMEDIA) utilizando a técnica de esgotamento e isolamento de colônias bacterianas. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C. Após incubação, as colônias típicas e isoladas foram transferidas com auxílio de uma agulha de inoculação em tubos inclinados de ágar triplice açúcar ferro (TSI - ISO FAR), ágar lisina ferro (LIA - HIMEDIA) e citrato de simmons (ACUMEDIA) incubados por 24 horas a 37°C, para confirmação preliminar.

Para a avaliação de coliformes a 45°C, foi empregada a técnica do Número Mais Provável (NMP). O inóculo (1g/1mL) foi diluído em uma série de tubos de diluição contendo 9 mL de água peptonada (HIMEDIA) 0,1% (diluição seriada) e transferido 1,0 mL (com auxílio de uma pipeta) para uma série de três tubos contendo caldo lauril sulfato triptose (LST – ISO FAR) e incubados em estufa a 37°C por 48 horas. Dos tubos de caldo LST com turvação e produção de gás no tubo de Durham, foram transferidas alíquotas com uma alçada (alça de platina) para tubos contendo 9 mL de caldo *Escherichia coli* (EC – ISO FAR) e incubados em banho-maria por 48 horas a 45°C. Os tubos com turvação

e produção de gás no tubo de Durhan, foram utilizados para determinar o Número Mais Provável (NMP/g), utilizando-se a tabela do NMP, conforme preconiza a APHA (2001). Em seguida, para o isolamento de *E. coli*, foi estriado uma alçada dos tubos positivos de caldo EC, em placas com ágar eosina azul de metileno (EMB - HIMEDIA) e incubadas a 37°C por 24-48h.

#### **4.5.2. Crescimento microbiano nos diferentes tratamentos dos morangos**

Os morangos foram acondicionados em recipientes separados de acordo com o tratamento recebido e armazenado em um refrigerador doméstico a uma temperatura de 5°C durante 15 dias. As amostras foram submetidas a análises em 6 períodos.

Para a realização da Contagem Padrão em Placas (CPP) de mesófilos aeróbios, psicrotróficos e bolores e leveduras, 25g de cada amostra foram pesadas assepticamente e transferidas para 225 mL de água peptonada tamponada e homogeneizadas. Em seguida foi transferido 1 mL da água peptonada tamponada para tubos contendo 9 mL de água peptonada a 0,1% para a realização da diluição seriada, chegando até a diluição  $10^{-3}$ . Cada diluição foi plaqueada em duplicata, com um total de três repetições completas do experimento.

A contagem de mesófilos aeróbios e psicrotróficos foram realizadas pelo método *Pour Plate* (plaqueamento em profundidade), cuja técnica permite o crescimento não só ao longo da superfície como no interior do ágar. Foram inoculados 1,0 mL das diluições no fundo de uma placa e em seguida adicionados ágar PCA (Plate Count Agar – HIMEDIA), ainda líquido, mantido a cerca de 40-45°C. A homogeneização do inoculo foi feita com movimentos suaves em forma de “8” sobre a bancada.

Para o desenvolvimento de microrganismos mesófilos aeróbios, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Já para o desenvolvimento de psicrotróficos, as placas foram incubadas a 7°C por 7 dias (PONCE et al., 2009).

A contagem padrão de bolores e leveduras foi realizada pelo método *Spread-Plate* (espalhamento em superfície) onde foram adicionados 0,1 mL das diluições em placas de Petri contendo ágar sabouraud dextrose (HIMEDIA). O inóculo foi espalhado pelo ágar com o auxílio da alça de drigalski e armazenados em temperatura ambiente entre 3 e 5 dias (PONCE et al., 2009).

#### 4.6. Análises físicas e químicas

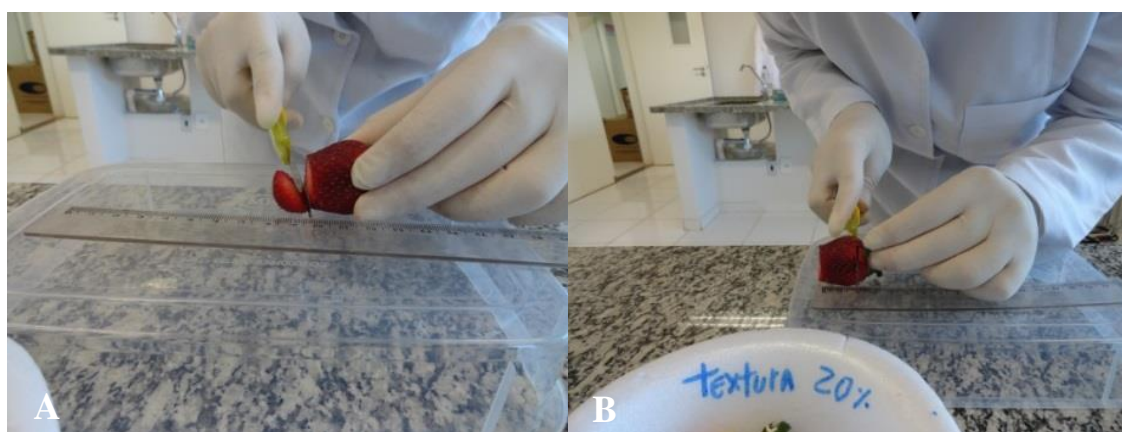
Os morangos foram avaliados nos dias 1, 3, 6, 9, 12 e 15 do armazenamento. Foram realizadas análises de perda de massa, textura, cor, sólidos solúveis e composição centesimal. Tais análises foram submetidas a 3 repetições.

##### 4.6.1. Perda de massa

Os morangos foram armazenados sob temperatura de refrigeração a 5°C, estando divididos em quatro morangos por tratamento. Foram pesados em balança semi-analítica (Marte AD 500-R) para o cálculo da perda de massa.

##### 4.6.2. Textura

A firmeza dos morangos foi medida pelo texturômetro, modelo TAHD1/25 (Texture Analyser, Stable Micro Systems) célula de carga de 25 kg. No teste de compressão foi utilizado uma sonda metálica (probe cilíndrico) de 12 mm de diâmetro com uma distância de 15 mm e velocidade de penetração de 1 mm/s. (metodologia adaptada de BOLZAN et al., 2011). Três morangos de cada tratamento foram utilizados para o teste, sendo estes, preparados para análise. Cada morango teve sua base e coroa (Figura 6) cortados, deixando assim a amostra com 2 centímetros. O parâmetro dureza é representado em Newtons e foi avaliado a cada 3 dias ao decorrer de 15 dias.



**Figura 6.** Corte da base (A) e da coroa (B). Fonte: Arquivo pessoal

##### 4.6.3. Cor

O efeito da adição das coberturas comestíveis na cor das amostras foi avaliado

utilizando o sistema CIELAB (*Comission Internationale de Eclairage*), através de um colorímetro CHROMA METER CR-400 (Konica Minolta). As análises foram feitas da polpa do morango, onde foi posto em direção ao feixe de leitura do equipamento. Para cada amostra foram realizadas três leituras, distribuídas na área do filme.

Este sistema CIELAB permite definir os parâmetros  $L^*$ , que caracteriza a luminosidade, variando do branco ( $L=100$ ) ao preto ( $L=0$ ), o  $a^*$  que indica a intensidade do verde ( $-a^*$ ) ao vermelho ( $+a^*$ ) e o  $b^*$  que fornece a intensidade do azul ( $-b^*$ ) ao amarelo ( $+b^*$ ).

#### 4.6.4. Sólidos solúveis

Para a determinação de sólidos solúveis, as amostras foram avaliadas por refratômetro de bancada manual (MODELO 103) com capacidade de determinação de 0-32 °Brix. Foram utilizadas suco de morango puro (3 gotas) e os resultados expressos em °Brix (AOAC, 2002). As análises foram feitas em triplicata.

#### 4.6.5. Composição centesimal

As análises de matéria seca, cinzas, fibras, extrato etéreo e proteínas foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2006) com algumas adaptações. Foram utilizados 500g de morangos de cada tratamento para a realização das análises.

Para que as análises pudessem ser realizadas, uma pré-secagem foi feita nos tratamentos de morango. Bandejas de alumínio foram utilizadas para armazenar cada tratamento, sendo um total de duas bandejas por amostra, contendo uma média de 250g de morangos por bandeja (Figura 7).



**Figura 7.** Morangos antes (A) e após (B) a pré-secagem. Fonte: Arquivo pessoal

A perda de água que se verifica na pré-secagem tem de ser computada no cálculo da umidade total; portanto, o material, antes de ser colocado em estufa, deve ser pesado em balança analítica. As bandejas foram pesadas separadamente, e em seguida, os morangos foram adicionados.

Para a pré-secagem foi utilizada uma estufa com circulação forçada de ar a 55°/60°C por 72 horas. Após este processo, as bandejas foram retiradas e pesadas logo que a temperatura se equilibrou ao meio ambiente. Após a pesagem, os morangos foram triturados e armazenados.

#### **4.6.5.1. Determinação da Matéria Seca**

Foi depositado 1g da amostra triturada em placa de Petri e a pesagem realizada. Cada recipiente foi transferido à estufa com temperatura de 105°C por 16 horas. Em seguida, os recipientes foram transferidos para o dessecador, permanecendo até seu resfriamento para a pesagem final.

#### **4.6.5.2. Determinação da Cinza**

Cada cadinho foi pesado e 1g de cada amostra foi transferido ao mesmo e levado a mufla (JUNG) a uma temperatura de 600°C por 4 horas. Após este processo, os cadinhos foram transferidos para o dessecador e ali permaneceram até sua temperatura se equilibrar com a do meio ambiente e, em seguida, os cadinhos foram pesados.

#### **4.6.5.3. Determinação da Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA)**

A determinação das fibras FDN e FDA foram determinadas de acordo com os métodos de Weende e de Van Soest (1967).

As amostras foram depositadas em saquinhos de TNT (1g), selados (Selador – BARBA m-300T) e transferidos para o Determinador de Fibras, permanecendo no mesmo por 1 hora. Após este período, os saquinhos foram retirados do equipamento e lavados por duas vezes em água destilada quente. Em seguida, foi adicionada acetona (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO e deixados num recipiente para secar. Após a secagem natural, foram transferidos para a estufa (105°C) por 12 horas e transferidos em seguida para um dessecador até a temperatura baixar para a realização da pesagem final.



#### 4.6.5.4. Determinação do Extrato Etéreo

O extrato etéreo dos tratamentos de morango foi determinado através do aparelho para extração de gordura tipo Soxhlet unidade com seis extratores, equipado com suporte para cartucho de vidro e tubos coletores de éter ou Soxhlet.

O reagente éter de petróleo foi utilizado para a extração pelo método a quente, cujo ponto de ebulição varia entre 40 e 60°C. A extração foi realizada em 4 horas.

Foram pesados 2 g da amostra e colocados em cartucho extrator preparado com papel filtro (tamanho 103) (Figura 8) para a realização da extração de gordura de cada análise.



**Figura 8.** Cartucho extrator de papel filtro comum. Fonte: Arquivo pessoal

#### 4.6.5.5. Determinação do Nitrogênio Total e da Proteína Bruta

O método Kjeldahl (AOAC, 1984) é o método padrão de determinação de nitrogênio (N) e consiste em três passos básicos: 1) digestão da amostra em ácido sulfúrico com um catalisador, que resulta na conversão do nitrogênio em amônia; 2) destilação da amônia em uma solução receptora; e 3) quantificação da amônia por titulação com uma solução padrão.

As proteínas e outros compostos nitrogenados são transformados na presença do ácido sulfúrico concentrado, a quente, com produção de sulfato de amônio. O sulfato de potássio ou de sódio é adicionado, a fim de aumentar o ponto de ebulição do ácido sulfúrico, apressando a digestão.

O sulfato de amônio resultante, na presença da solução concentrada de hidróxido de sódio, libera amônia, que é recebida na solução de ácido bórico, titulada com ácido sulfúrico ou clorídrico; assim, determina-se o teor de nitrogênio da amostra.

Cada tratamento foi depositado 300 mg de amostra seca em tubos de ensaio com orla (25x250mm); adicionou-se cerca de 2 g da mistura digestora (sulfato de cobre e sulfato de sódio) e 5 a 10 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (ácido sulfúrico). A digestão foi iniciada em temperatura moderada e continuou até alcançar temperatura máxima (350°C). A digestão continuou por mais 30 minutos após o clareamento da solução. Após o esfriamento da solução, foi adicionado uma pequena porção de água destilada (20 a 40 mL) e agitado até sua dissolução.

Após o esfriamento da solução, o tubo de ensaio foi transferido imediatamente com a amostra digerida para o conjunto de destilação e adicionado 20 mL de NaOH (hidróxido de sódio). Foi depositado 50 mL de água destilada e 20 mL de ácido bórico a 4% + indicador misto, em erlenmeyer (250 mL).

A destilação foi iniciada por arraste, mantendo o terminal do condensador mergulhado na solução receptora até que toda a amônia fosse liberada. O volume do destilador (TE – 0363) é de aproximadamente 100 mL.

O erlenmeyer foi retirado e a ponta do condensador foi lavada com água destilada e a titulação foi feita com HCl (ácido clorídrico) 0,1 N até a viragem do indicador misto (verde para rosa).



**Figura 9.** Viragem do indicador misto (verde para rosa). Fonte: Arquivo pessoal

#### 4.7. Análise sensorial

Para a avaliação da possível interferência da aplicação da cobertura nas características sensoriais da fruta, os provadores avaliaram quatro tipos de amostras de morango: a) MC; b) M10%; c) M20%; e d) M30%.

A avaliação foi realizada por 50 provadores não treinados na faixa etária de 17-30 anos. Os morangos foram avaliados nos seis períodos de análises. Os atributos analisados foram: cor, odor, aparência e avaliação global. As amostras foram apresentadas em recipientes contendo quatro morangos, os quais foram identificados com três dígitos.

Nas avaliações sensoriais, os provadores avaliaram o quanto gostaram ou desgostaram das amostras, através de uma escala hedônica de nove pontos com os extremos correspondendo a “desgostei muitíssimo” (1) e “gostei muitíssimo” (9) (ANEXO III) (Metodologia modificada de Carpenter, Lyon e Hasdell (2000)), sendo que “nem gostei/nem desgostei” (5) foi considerado bom para os atributos avaliados.

#### **4.8. Análises da composição química do óleo essencial de orégano**

##### **4.8.1. Cromatografia Gasosa**

As análises foram realizadas empregando-se um cromatógrafo gasoso (GC-2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) com detector de massas (GC-MS 2010 Ultra) usando uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (60 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro x 0,25 µm de espessura de filme). As temperaturas do detector e da linha de transferência foram 280°C e 300°C, respectivamente.

As condições de análise foram: volume de injeção de 1 µL, injeção splitless; rampa de aquecimento com temperatura inicial de 50°C alcançando 280°C à 3°C min<sup>-1</sup> e permanecendo na temperatura final por 10 minutos; temperatura do injetor foi de 250°C. As temperaturas do detector e da linha de transferência foram 280°C e 290°C, respectivamente. Os parâmetros de varredura do espectrômetro de massas incluíram voltagem de ionização de impacto de elétron de 70 eV, na faixa de massa de 45 a 650 m/z e com intervalo de varredura de 0.5s. As identificações foram realizadas empregando os índices de retenção calculados usando a mesma mistura de alcanos lineares (C<sub>7</sub>-C<sub>40</sub>) como referência externa (VAN den DOOL, KRATZ, 1963) associadas índices obtidas na literatura e à análise dos espectros de massas das amostras comparados com as bases de dados (NIST21 e WILEY229).

#### **4.9. Análise estatística**

O programa Assistat 7.7 (Campinas, SP) foi usado para calcular as análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey empregado para determinar as diferenças entre as médias no intervalo de 95% de confiança.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Caracterização do óleo essencial de orégano por cromatografia gasosa

A análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS 2010 Ultra) do OE de orégano identificou 21 constituintes descritos na Tabela 1, sendo os compostos majoritários o carvacrol (63,63%), seguido do p – cimeno (6,09%),  $\gamma$  – terpineno (6,08%), cariofileno (4,52%) e timol (3,52%).

**Tabela 1:** Compostos identificados na amostra do OE de orégano

	Compostos	IR	TR	CR (%)
1	Carvacrol	1314	23.668	63.63
2	p – cimeno	1025	11.009	6.09
3	$\gamma$ – terpineno	1060	12.446	6.08
4	Cariofileno	1424	28.326	4.52
5	Timol	1290	22.871	3.52
6	Borneol	1168	17.159	1.75
7	$\beta$ – pineno	977	9.134	1.70
8	1,8 – cineol	1031	11.260	1.61
9	trans-prenil limoneno	1458	29.702	1.46
10	Limoneno	1029	11.159	0.94
11	Canfora	1146	16.189	0.88
12	$\alpha$ – terpineno	1017	10.656	0.70
13	$\alpha$ – phellandrene	1005	10.169	0.25
14	Mirceno	991	9.637	0.24
15	3 – octanone	986	9.468	0.17
16	p - menta - 2,4 (8) dieno	1090	13.687	0.15
17	trans- sabinol	1141	15.973	0.13
18	(E) - $\beta$ – ocimeno	1048	11.948	0.04
19	Cis - hidroto sabineno	1067	12.760	0.03
20	$\delta$ -3 – carene	1011	10.407	0.02
21	p-meteno	1022	10.859	0.02

IR: Índice de Retenção, TR: Tempo de retenção (min), CR: Composição relativa.

Na literatura é relatada a presença do carvacrol como o componente majoritário do OE de orégano. Silva et al. (2010) avaliaram cinco marcas do OE de orégano através da cromatografia gasosa e identificaram quatro componentes majoritários sendo eles o carvacrol (variação entre 61,7 e 93,4%),  $\gamma$ -terpinemo (6,90%), p-cimeno (15,95%) e timol (1,88 a 23,85% de variação), condizendo com os resultados encontrados neste trabalho.

Barros et al. (2011) utilizaram em seus estudos o OE de orégano adquirido na mesma empresa deste trabalho e obtiveram resultados diferentes como carvacrol 57,71%, p-cimeno 10,91% e timol 3,83%, demonstrando que até o mesmo lote de fabricação de um OE pode obter valores diferentes de constituintes, podendo influenciar na concentração dos compostos ativos.

Análise cromatográfica do OE de orégano realizada por Cleff et al. (2010), identificaram 34 constituintes, sendo 4-terpineol (41,17%), timol (21,95%),  $\gamma$ -terpineol (5,91%),  $\alpha$ -terpineol (4,98%), carvacrol (4,71%),  $\beta$ -cariofileno (3,22%) e metilcarvacrol (3,04%) os de maiores concentrações. Segundo a literatura, fenóis como carvacrol, timol,  $\gamma$ -terpeno e p-cimeno, representam 70,2 a 98% dos compostos ativos do OE de orégano (RODRIGUES et al., 2004).

Zavareh, Darvishi e Samandari (2015), utilizaram o OE de orégano como material de revestimento antimicrobiano e através da análise cromatográfica, obtiveram o carvacrol (49,21%) como componente majoritário, sendo acompanhado do timol (12,17%).

Estudando a composição do OE de *Origanum vulgare* subsp. *vulgare*, Sarikurkcü et al. (2015) encontraram o timol (58,31%), carvacrol (16,11%), p-cimeno (13,45%) e  $\gamma$ -terpineno (4,64%) como os compostos majoritários.

Rodriguez-Garcia et al. (2016) utilizaram OE de orégano no revestimento comestível de pectina e os principais compostos voláteis do OE foram o carvacrol (47,41%), p-cimeno (26,44%) e timol (3,02%).

A variedade das diferenças observadas na composição química do OE de orégano pode ocorrer por diferentes fatores geográficos como altitude, tipo de solo, época da colheita, clima, cultivo, processo de secagem, estocagem entre outros, influenciando na composição do óleo (ARANGO, SÁNCHEZ, GALVIS, 2004; OUSSALAH, 2007).

## **5.2. Concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de orégano**

A concentração antimicrobiana do OE de orégano foi determinada através da CIM contra microrganismos patogênicos, cujos resultados estão indicados na Tabela 2. Para efeito de comparação as concentrações 7,8 a 62,5  $\mu\text{g/mL}$  foram consideradas ótimas para efeito antimicrobiano, já para as concentrações 125 a 250  $\mu\text{g/mL}$  efeito intermediário ou médio e de 500 a 1000  $\mu\text{g/mL}$  efeito fraco.

Os resultados da CIM indicam que o OE de orégano apresentou uma média atividade antimicrobiana para os cinco microrganismos testados.

**Tabela 2:** Valores da CIM em  $\mu\text{g/mL}$  do óleo essencial de *Origanum vulgare* avaliadas pelas técnicas de diluição em microplaca.

	OEO	*T 80	Cepa
Microrganismo			
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	$\geq 250$	-	+
<i>E. coli</i> ATCC 25922	$\geq 250$	-	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	$\geq 250$	-	+
<i>Salmonella</i> ATCC 13076	$\geq 125$	-	+
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	$\geq 250$	-	+

Cepa - Espécie com crescimento do microrganismo sem adição de óleo essencial ou antimicrobiano padrão;  
OEO - óleo essencial de *Origanum vulgare*\*Solvente utilizado nas diluições T 80 – tween 80.

Du et al. (2009) estudaram a atividade antimicrobiana dos óleos de pimenta da Jamaica, alho e orégano sobre *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella entérica* e *Listeria monocytogenes* e constataram que a atividade antimicrobiana do OE de orégano ( $231.2 \pm 26.5 \text{ mm}^2$ ) foi maior que a atividade dos demais óleos. Santurio et al. (2007) estudaram a atividade antimicrobiana dos OEs de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella entérica* de origem avícola, e através da CIM, o OE de orégano evidenciou atividade antimicrobiana com uma média de  $529 \mu\text{g/mL}^{-1}$ , seguido do tomilho ( $961 \mu\text{g/mL}^{-1}$ ) e canela ( $1335 \mu\text{g/mL}^{-1}$ ).

Santos et al. (2011) estudando a atividade *in vitro* dos OEs de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole, obtiveram resultados satisfatórios com os OEs de cravo e orégano que apresentaram atividade antibacteriana frente a todas as bactérias analisadas (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonellacholerasuis*), no entanto, o OE de orégano apresentou maiores halos de inibição bacteriana para as cepas de *E.coli* (26,7mm) e *S.aureus* (29,3mm).

Vu et al. (2011) utilizaram revestimento comestível a base de quitosana e OEs para aumentar a vida útil do morango. O tomilho vermelho e o extrato de orégano exibiram forte inibição antimicrobiana em relação aos outros óleos testados, apresentando diâmetro de 43,3 e 32,3 mm respectivamente.

Foram encontrados valores semelhantes de CIM com o presente trabalho nos estudos realizados por Sarikurkcü et al. (2015) para as ATCCs de *S. aureus* com valor de  $106 \pm 37$ , *E. coli*  $213,3 \pm 73,9$  e *Pseudomonas*  $256 \pm 0,01$ , comprovando a ação antimicrobiana do OE de orégano.

Yuan et al. (2015) avaliaram propriedades físicas, antioxidante e atividade antimicrobiana de filmes de quitosana contendo carvacrol (CR) e extrato de casca de romã (ECR). Os filmes de quitosana contendo CR e CR + ECR apresentaram atividade antimicrobiana para os microrganismos *S. aureus* ( $16,50 \pm 0,33$ ) e *E. coli* ( $11,67 \pm 0,88$ ).

Hosseini et al. (2015) avaliaram filmes comestíveis com base biológica de gelatina de peixe e quitosana incorporados com diferentes quantidades de OE de orégano (0,0%, 0,4%, 0,8% e 1,2%) para inibição de quatro microrganismos (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*). No estudo, os filmes incorporados com 1,2% de OE de orégano exibiram maior atividade antimicrobiana, inibindo o crescimento dos microrganismos testados, produzindo halos entre 32,0 e 34,1 mm. De acordo com Corrales et al. (2014), o efeito antibacteriano tem sido atribuído, entre outros fatores, pelos compostos encontrados no orégano como, carvacrol, timol e p-cimeno.

### **5.3. Análise microbiológica sanitária dos alimentos nos diferentes tratamentos de morango**

De acordo com a Resolução RDC nº12, de 2 de Janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), frutas, produtos de frutas e similares (Grupo de alimentos 1, item a) é necessária ausência de *Salmonella* sp. em 25g e, no máximo,  $2 \times 10^3$  UFC/g para Coliformes a 45°C (ANEXO IV).

Todos os tratamentos de morangos foram submetidos a tais análises, verificando as condições sanitárias de tal alimento para o consumo. As análises para a verificação de ausência/presença de *Salmonella* sp. nos testes preliminares com TSI, LIA e Citrato de Simmons, foram negativas, ou seja, dentro dos limites microbiológicos exigido, não representando riscos à saúde, condizendo com os resultados obtidos no estudo realizado por Nascimento e Silva (2010) e Coelho et al. (2015) com morangos.

As análises para verificação de presença de Coliformes a 45°C em cada tratamento, também obteve resultados satisfatórios, onde as amostras apresentaram positividade apenas em tubos contendo caldo LST, ou seja, coliformes totais. Como não houve crescimento em caldo EC, conclui-se ausência de *Escherichia coli* em todos os tratamentos. Ponce et al. (2009) e Reis et al. (2008) também não detectaram presença de coliformes termotolerantes em morangos minimamente processado e higienizados com diferentes sanificantes.

Pérez (2015) em seus estudos com cobertura de fécula de mandioca sobre morango, também obteve ausência de *Salmonella* sp. e *E. coli* no decorrer do experimento.

A contaminação dos alimentos por *Salmonella* sp. e por *E. coli* acontece por meio da água de irrigação, contato com o solo e pela manipulação, sendo assim, a baixa contagem de coliformes totais e a ausência de *E.coli* e *Salmonellanas* amostras de morango podem ser atribuídas ao emprego de boas práticas agrícolas, em especial ao uso de água de boa qualidade.

#### 5.4. Caracterização do crescimento microbiano em cada tratamento

Foi analisado através da contagem padrão em placas (CPP), o crescimento dos microrganismos para cada tratamento durante os períodos de análise. Na Tabela 3, pode-se verificar que a contagem de microrganismos psicrotróficos dos tratamentos que apresentaram 10, 20 e 30% do OE de orégano, não obteve diferença significativa entre si, tendo uma contagem menor de microrganismos com relação aos morangos S/H (sem higienização) e Controle, cujos tratamentos, também não apresentaram diferença significativa. Portanto, os morangos que receberam a cobertura comestível com a adição do OE de orégano, apresentaram uma redução significativa de microrganismos em relação aos tratamentos S/H e Controle.

**Tabela 3:** Logaritmo da contagem de mesófilos aeróbios e psicrotróficos em morangos ‘Camino Real’ revestidos com cobertura comestível e adição do óleo essencial de orégano, armazenados a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  por 15 dias.

Tratamentos	Mesófilos aeróbios	Psicrotróficos
S/H	4,55±0,36 a <sup>1</sup>	4,45±0,36 a
Controle	3,85±0,01 ab	4,47±0,29 a
10% OEO	3,33±0,18 bc	3,40±0,42 b
20% OEO	2,75±0,40 c	3,29± 0,12 b
30% OEO	2,61±0,04 c	2,85± 0,54 b

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. ± desvio padrão. Tratamento: S/H – sem higienização; Concentração de 10,20 e 30% de óleo essencial de orégano (OEO).

Thomas (2016) observaram que os morangos com cobertura à base de fécula de mandioca e própolis, apresentaram uma baixa contagem de psicrotróficos e mesófilos aeróbios ao longo de todo o experimento, não excedendo  $10^3$  UFC g<sup>-1</sup>.



Pérez (2015) ao utilizar cobertura comestível com fécula de mandioca em morangos, obteve um alto valor na contagem de psicrotróficos sob temperatura de 15°C logo no primeiro dia de armazenamento ( $8,5 \times 10^5$  UFC g<sup>-1</sup>).

A ANVISA não estabelece limites quanto à contagem de bolores e leveduras, psicrotróficos e mesófilos aeróbios para frutas, produtos de frutas e similares (morangos frescos e similares “in natura”, inteiras, selecionadas ou não). Entretanto, o crescimento excessivo destes contaminantes, compromete a aparência, o sabor e o aroma do produto, provocando uma redução na aceitação sensorial. Segundo Lee et al. (2003) e Rojas - Grañ, et al. (2007), uma carga microbiana superior a  $10^6$  UFC g<sup>-1</sup> podem produzir substâncias tóxicas, sendo assim, tal carga, foi estabelecida como o limite aceitável.

Com relação aos microrganismos mesófilos aeróbios os tratamentos S/H exibiu um alto desenvolvimento de microrganismos quando comparados aos tratamentos com 20% e 30% do OE de orégano, que apresentaram uma redução de 1,8 log UFC/g e 1,94 log UFC/g respectivamente, cujos tratamentos não expuseram diferença significativa.

A CPP de mesófilos aeróbios é um método eficaz como indicador populacional bacteriano de alimentos, no entanto, não identifica bactérias patogênicas, apenas sugere as condições sanitárias exigidas de cada produto. Deste modo, pode ser observada a elevada contagem de microrganismos no morango S/H.

Guerreiro et al. (2015) estudando revestimento comestível à base de polissacarídeos enriquecidos com OEs para melhorar a vida útil dos morangos, observaram que o morango controle obteve aumento na contagem de microrganismos mesófilos aeróbios durante os 14 dias de armazenamento, mas os tratamentos com a inclusão dos constituintes de OEs, reduziram a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios.

Ponce et al. (2009) verificaram a redução de apenas 0,2 log UFC/g na contagem de mesófilos aeróbios em morangos sanificados com solução clorada (Sumaveg®) não sendo significativa ( $p > 0,05$ ) quando comparada com os morangos lavados apenas com água.

Os estudos apresentados com sanificantes para a redução e/ou inibição de microrganismos nos alimentos, mostram que muitas vezes só a higienização não é suficiente para a “eliminação” dos microrganismos, precisando de agentes antimicrobianos para obter melhores resultados e assim ajudar no aumento da vida útil do alimento. Portanto, pode-se concluir que os tratamentos revestidos com a adição de 20 e

30% do antimicrobiano OE de orégano para a manutenção e estabilidade dos microrganismos, foram eficazes para a redução de microrganismos e manutenção das características naturais do fruto, deixando-o apto para o consumo.

Em relação à deterioração fúngica, a adição do OE de orégano nos tratamentos, obteve um resultado satisfatório quanto à diminuição da UFC no decorrer dos períodos de análise. Pode-se verificar na Tabela 4, a diferença da contagem de microrganismos para os tratamentos S/H e Controle com relação aos tratamentos com adição do OE.

Nota-se que os morangos que receberam os tratamentos com 10, 20 e 30% do OE de orégano obtiveram uma redução entre 1,81 a 1,94 log UFC/g com relação ao tratamento S/H e de 1,1, a 1,23 log UFC/g com o Controle.

**Tabela 4:** Deterioração fúngica (log) em morangos ‘Camino Real’ tratados com e sem revestimento comestível, armazenados a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  por 15 dias.

Dias	Tratamentos				
	S/H	Controle	10% OEO	20% OEO	30% OEO
1	$4,85 \pm 0,35$	$3,55 \pm 1,20$	$2,50 \pm 0,28$	$2,20 \pm 0,28$	$2,00 \pm 0,28$
3	$5,00 \pm 0,14$	$4,60 \pm 0,14$	$2,40 \pm 0,42$	$2,70 \pm 0,42$	$2,35 \pm 0,21$
6	$4,45 \pm 0,21$	$4,15 \pm 2,33$	$3,00 \pm 0,84$	$3,40 \pm 0,28$	$3,05 \pm 0,63$
9	$5,35 \pm 0,21$	$4,10 \pm 0,14$	$3,55 \pm 0,07$	$3,75 \pm 0,21$	$3,70 \pm 0,98$
12	$4,35 \pm 0,21$	$4,55 \pm 1,20$	$3,65 \pm 0,21$	$2,80 \pm 0,14$	$3,45 \pm 0,07$
15	$5,30 \pm 0,56$	$4,10 \pm 0,98$	$3,35 \pm 0,21$	$2,80 \pm 0,98$	$3,20 \pm 0,14$
Médias Tukey	$4,88 \pm 0,04$ a	$4,17 \pm 0,27$ a	$3,07 \pm 0,15$ b	$2,94 \pm 0,01$ b	$2,95 \pm 0,01$ b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.  $\pm$  desvio padrão. Tratamento: S/H: sem higienização. Concentrações 10, 20 e 30% de óleo essencial de orégano (OEO).

Vu et al. (2011) dentre os OEs analisados, o OE de orégano foi classificado como forte agente antifúngico em relação a flora total do morango, confirmando a baixa contagem de bolores e leveduras obtidos no presente trabalho.

Borges et al. (2013) entre os revestimentos testados, os morangos revestidos à base de goma xantana e OE de sálvia, proporcionaram uma menor incidência de fungos.

Pérez (2015) entre os tratamentos observados com e sem a cobertura à base de fécula de mandioca, os morangos sem cobertura a uma temperatura de  $10^\circ\text{C}$  e  $15^\circ\text{C}$  mostraram maior aumento na carga de bolores, sendo o tratamento a  $15^\circ\text{C}$  de maior quantidade ( $8 \times 10^2$  UFC  $\text{g}^{-1}$ ). Nas análises de leveduras, os tratamentos com e sem cobertura a uma temperatura de  $15^\circ\text{C}$  obtiveram maiores valores, sendo o tratamento sem cobertura o de maior valor ( $2,3 \times 10^6$  UFC  $\text{g}^{-1}$ ).

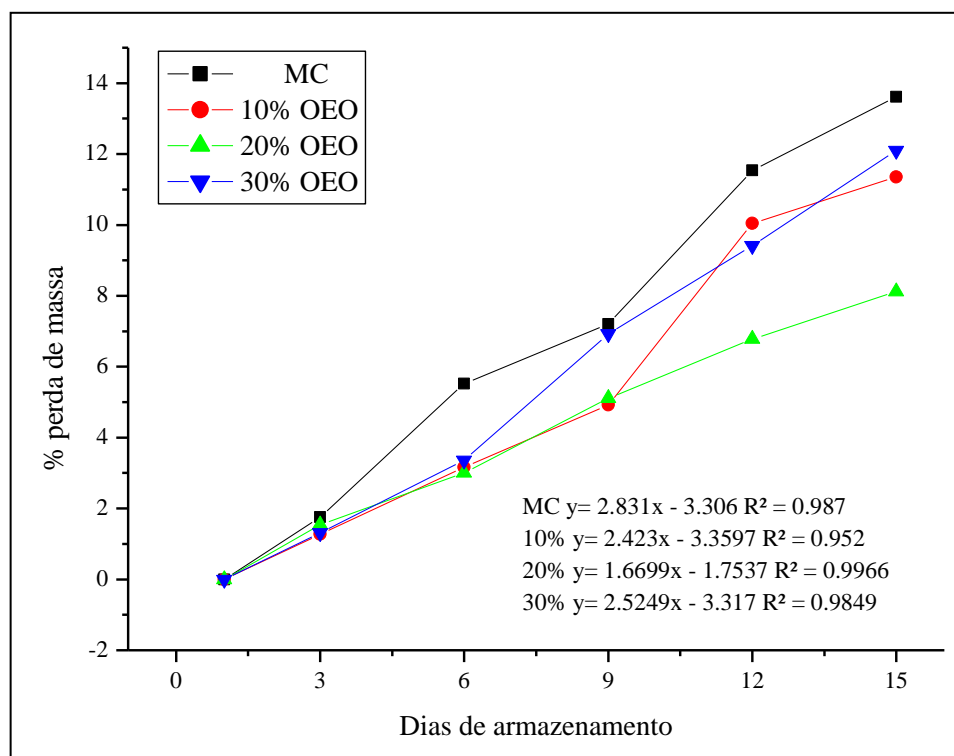
Thomas (2016) analisaram morangos do tipo “Camino Real” e observaram que os tratamentos com cobertura à base de fécula de mandioca e própolis (66%), obtiveram a menor incidência de crescimento microbiano ao final do experimento ( $2,3 \times 10^2$  UFC g<sup>-1</sup>).

Guerreiro et al. (2015) observaram que os morangos controle obtiveram uma alta contagem de leveduras no decorrer dos 14 dias de armazenamento. No entanto, quando os revestimentos comestíveis enriquecidos com OEs foram aplicados nos frutos, o desenvolvimento das leveduras diminuiu, obtendo ao final do experimento o limite desses microrganismos nos alimentos ( $5 \text{ Log}_{10}$  UFC/g) (STANNARD, 1997). Sendo assim, conclui-se que revestimentos comestíveis com adição de OEs, proporcionam resultados satisfatórios para a manutenção e aumento da vida de prateleira sem alterar o produto.

## 5.5. Caracterização física e química dos morangos revestidos

### 5.5.1. Perda de massa

Independentemente dos tratamentos, a perda de massa aumentou significativamente após o terceiro dia de armazenamento como mostra a Figura 10.



**Figura 10.** Valores de perda de massa (%) dos tratamentos armazenados a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  por 15 dias. MC - morango controle. Concentrações de 10, 20 e 30% de óleo essencial de orégano (OEO), adicionadas ao revestimento.

Nota-se na Tabela 5 que para todos os tratamentos, nos dias 1 e 3 do experimento, não houve diferença significativa na perda de massa. Porém, a partir do 6º dia, o MC apresentou um aumento na perda de água significativa com relação aos demais tratamentos.

Dentre os tratamentos revestidos, o morango com 20% de OE de orégano foi o de menor perda de peso no final dos 15 dias, chegando a 8,12%. Entretanto, segundo Ronque (1998), a percentagem máxima de perda de água aceitável para a comercialização do morango, é de 6%. Acima deste patamar, o morango torna-se inaceitável para a comercialização. Sendo assim, verificou-se neste experimento que somente os morangos recobertos com 10 e 20 e 30% do OE de orégano, encontram-se aceitáveis até o 9º dia de armazenamento. Entretanto, o morango recoberto com 20% do OE de orégano, encontra-se aceitável até o 12º dia.

**Tabela 5:** Perda de massa (%) de morangos ‘Camino Real’ armazenados a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  por 15 dias.

Dias	Tratamentos			
	Controle	10% OEO	20% OEO	30% OEO
1	0,00±0,00aC <sup>1</sup>	0,00±0,00aD	0,00±0,00aE	0,00±0,00aE
3	1,75±0,10aC	1,26±0,53aCD	1,53±0,45aDE	1,31±0,31aDE
6	5,51±0,06aB	3,16±0,65bBC	3,00±0,25bCD	3,36±0,22bD
9	7,19±0,31aB	4,91±1,50bB	5,11±0,72bBC	6,93±0,18abC
12	11,54±0,41aA	10,04±1,96aA	6,78±0,08bAB	9,41±0,64aB
15	13,61±1,38aA	11,34±1,93bA	8,12±0,05cA	12,10±0,59abA

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.  $\pm$  desvio padrão. Concentrações 10, 20 e 30% de óleo essencial de orégano (OEO).

Morangos com revestimentos comestíveis enriquecidos com quitosana para melhorar a qualidade e vida de prateleira, foi realizada por Gol, Patel e Rao (2013) armazenados a  $11 \pm 1^\circ\text{C}$  por 12 dias. No 8º dia o controle atingiu mais de 14% de perda da massa, estando inviável para comercialização e consequentemente para o consumo. Dentre os tratamentos com quitosana, o hidroxipropil metil celulose 1% (HPMC) + quitosana 1% foi o tratamento mais eficaz no retardamento da perda de massa, apresentando 6,89% de perda final do experimento, entretanto, estando inviável para a comercialização, segundo Ronque (1998).

Borges et al. (2013) obtiveram resultados satisfatórios pelos baixos valores encontrados até o 12º dia de armazenamento dos morangos tratados com revestimento à base de goma xantana e OE de sálvia, apresentando uma média de 5% de perda de massa. Assim, os resultados da baixa perda de massa obtidos neste estudo, indicam que os

tratamentos foram eficientes para o retardamento da perda de peso dos morangos, podendo ser explicado pela redução da taxa de transpiração do fruto e, por consequência, da perda de água que os tratamentos propiciaram ao fruto.

Prates e Ascheri (2011) avaliaram o efeito da cobertura de amido de fruta-de-lobo e sorbitol na conservação pós-colheita de morangos cv. 'Oso Grande' e não obtiveram resultados satisfatórios, pois o uso da cobertura sob refrigeração não foi eficiente para o controle das transformações físico-químicas da sua maturação durante 10 dias de armazenamento. Os valores de perda de massa entre os morangos estiveram entre 8,67% e 16,26% estando inviáveis para a comercialização e consumo.

Garcia et al. (2012), utilizaram fécula de mandioca e sorbato de potássio em morangos, e observaram que os tratamentos com a cobertura comestível foram eficientes para reduzir a perda de peso nos frutos durante o armazenamento à 5°C.

Pérez (2015) ao utilizar a fécula de mandioca no revestimento dos morangos, observou que não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos, ou seja, a aplicação da cobertura, não proporcionou redução na perda de peso.

Guerreiro et al. (2015), estudaram coberturas comestíveis à base de polissacarídeos enriquecidos com OEs, e não obtiveram resultados satisfatórios na perda de peso, pois os tratamentos com cobertura, não obtiveram redução significativa em comparação as amostras não revestidas.

### **5.5.2. Textura**

Com relação a firmeza do fruto, houve variações durante o armazenamento, mas não diferenciou significativamente entre os tratamentos (Tabela 6). Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Borges et al. (2013), cujos morangos revestidos à base de goma xantana e OE de sálvia não apresentaram perda significativas de firmeza durante os 12 dias de armazenamento.

Guerreiro et al. (2015) ao avaliarem morangos com cobertura comestível, concluíram que a aplicação de alguns revestimentos comestíveis, melhorou a firmeza em relação ao controle, sendo que após 7 dias de armazenamento, tais tratamentos apresentaram maior firmeza.

**Tabela 6:** Textura (N) de morangos ‘Camino Real’ revestidos com cobertura comestível e adição do óleo essencial de orégano, armazenados a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  por 15 dias.

Dias	Tratamentos			
	Controle	10% OEO	20% OEO	30% OEO
1	9,23±0,50	11,68±1,39	12,39±3,45	13,43±0,74
3	18,52±3,42	17,25±2,02	12,37±0,97	17,36±5,21
6	16,90±2,39	19,03±1,18	12,62±2,80	13,38±2,12
9	14,34±1,46	18,28±0,15	13,74±1,64	17,80±1,46
12	16,15±3,30	12,24±0,27	16,24±0,31	12,27±1,06
15	13,03±0,19	10,40±0,53	10,32±1,24	7,41±0,67
Médias de Tukey <sup>1</sup>	14,69±0,54a	14,81±0,30a	12,94±0,06a	13,61±0,79 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey, ± desvio padrão. Concentrações 10, 20 e 30% de óleo essencial de orégano (OEO).

Restrepo e Aristizábal (2010) avaliaram morangos revestidos com mucilagem e cera de carnaúba e apresentaram diferença significativa na firmeza apenas a partir do 10º dia de armazenamento, já os morangos não revestidos apresentaram queda na firmeza, sendo estes danificados pela perda de água e contaminação fúngica. Todavia, os resultados apresentados no presente trabalho podem ser explicados pela leitura realizada em todos os tratamentos, cuja análise ocorreu no interior do fruto e não na parte exterior.

### 5.5.3. Sólidos Solúveis Totais

Com relação ao teor de sólidos solúveis totais (SST), não houve mudança significativa entre os tratamentos (Tabela 7). Resultados semelhantes foram encontrados no estudo realizado por Guerreiro et al. (2015), onde o teor de SST em morangos não foram significativamente afetados pelos revestimentos comestíveis à base de polissacarídeos enriquecidos com OE.

**Tabela 7:** Sólidos solúveis totais (°Brix) em morangos ‘Camino Real’ revestidos e armazenados a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  por 12 dias.

Dias	Tratamentos			
	Controle	10% OEO	20% OEO	30% OEO
1	7,15±0,63	6,95±0,21	6,90±0,42	7,85±2,05
6	7,00±0,98	7,50±0,14	6,75±1,34	6,45±0,63
12	6,95±0,63	6,25±0,35	7,15±1,62	7,65±1,90
Médias Tukey	7,03±0,10a	6,90±0,62a	6,93±0,20a	7,31±0,75a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey, ± desvio padrão. Concentrações 10, 20 e 30% de óleo essencial de orégano (OEO).

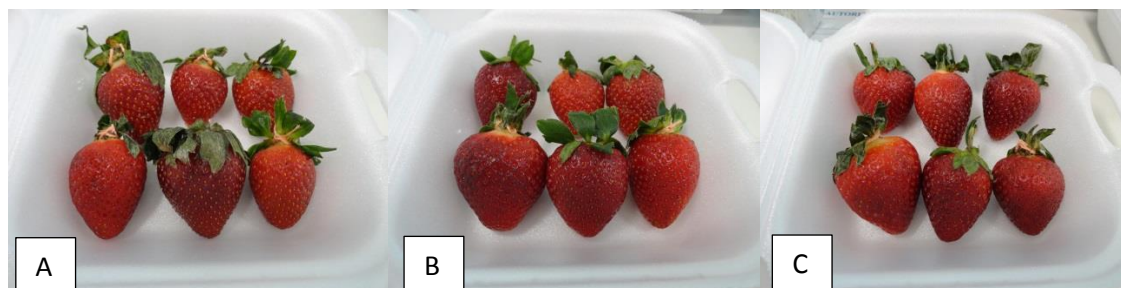
Martinez et al. (2011) também descrevem que o teor de SST não apresentou variações significativas, assim como é relatado por outros autores como Vargas et al. (2006). Entretanto, estes resultados diferem dos dados encontrados por Gol, Patel e Rao

(2013) e Garcia et al. (2012) que mostrou uma redução do conteúdo de SST em morangos, no final do armazenamento, e atribuiu-o à respiração.

Todavia, a não variação de teor dos SST pode ser explicado pelo morango ser um fruto não climatérico, ou seja, ao ser colhido já no seu estágio maduro, o teor de açúcar permaneceu o mesmo no decorrer dos dias de armazenamento. Sendo assim, a aplicação do revestimento não influenciou no teor de SST, apenas manteve as características do fruto.

#### 5.5.4. Análise sensorial

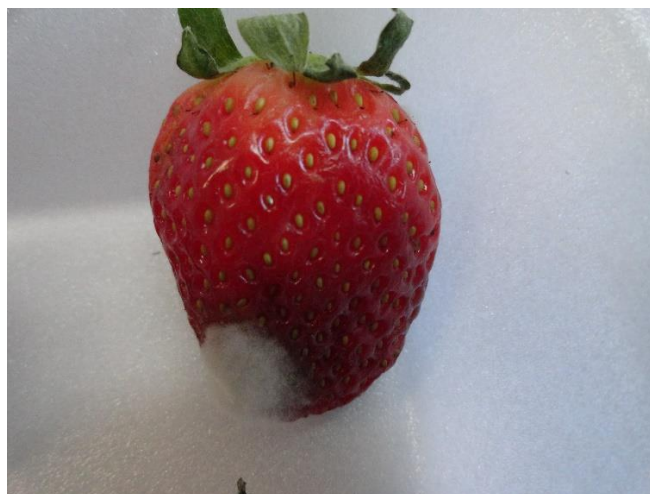
Com relação a análise sensorial, é possível avaliar se os revestimentos à base de gelatina e amido com a adição de OE de orégano, nas proporções de 10, 20 e 30%, obtiveram resultados significativos quando comparados ao controle. Sendo assim, observa-se na Tabela 8, as avaliações dos parâmetros: aparência, cor, odor e avaliação global, onde os morangos tratados com OE apresentaram valores estatisticamente superiores ao tratamento controle a partir do 6º dia de armazenamento em todos os parâmetros avaliados (Figura 11 e 12).



**Figura 11.** Morangos ‘Camino Real’ revestidos com cobertura comestível com adição de 10 (A), 20 (B) e 30% (C) de óleo essencial de orégano no 6º dia de armazenamento.

Ao analisar as avaliações de todos os parâmetros durante os 15 dias de armazenamento, verifica-se que os tratamentos revestidos enriquecidos com 20 e 30% do OE de orégano, encontram-se aceitáveis em todos os aspectos avaliados.

Nota-se também que os tratamentos com adição de OE de orégano não interferiram nos aspectos físicos do morango, principalmente no odor, os quais tiveram uma aceitação pelo público, com variação de 7,20 a 5,33 durante o intervalo de 15 dias de armazenamento, ou seja, a quantidade de 10, 20 e 30% de óleo não interferiu nas características naturais do fruto, não alterando seu cheiro característico.



**Figura 12.** Morangos controle 'Camino Real' no 6° dia de armazenamento.

Gol, Patel e Rao (2013) avaliaram os morangos com coberturas comestíveis enriquecidos com quitosana nos dias 8 e 12 e obtiveram resultados significativos ( $p < 0,05$ ) em todos os parâmetros avaliados com relação ao controle, condizendo com os resultados encontrados no presente trabalho.

Guerreiro et al. (2015) utilizaram revestimentos comestíveis à base de polissacarídeos enriquecidos com OEs, e ao avaliarem os morangos nos parâmetros propostos, observaram que nenhum tratamento foi suscetível ao consumo ao final dos 14 dias de armazenamento, uma vez que, os morangos tiveram uma avaliação máxima da aparência visual de 3 pontos (desagrado suavemente – escala hedônica de 7 pontos). No entanto, após 7 dias de armazenamento ( $0,5^{\circ}\text{C}$ ), o parâmetro de sabor mostrou que a maioria dos tratamentos foram avaliados acima de 4 pontos (nem gosto nem desgosto), que é a pontuação mínima aceitável.

Pérez (2015) ao estudar morangos revestidos com cobertura à base de fécula de mandioca, acondicionado à temperatura de  $10$  e  $15^{\circ}\text{C}$  durante 8 dias, verificou que os tratamentos com e sem cobertura, armazenados a  $10^{\circ}\text{C}$ , obteve as melhores avaliações dos parâmetros analisados (aroma, aparência, sabor, textura e intenção de compra). A avaliação nas notas do consumidor nos morangos com cobertura foi acima da nota aceitável (4,5).



**Tabela 8:** Análise sensorial dos morangos ‘Camino Real’ revestidos com e sem o óleo essencial de orégano, armazenados a  $5^{\circ}\text{C} \pm 1$  durante 15 dias.

Tratamentos	Cor					
	1	3	6	9	12	15
MC	7,36±0,15aA	7,40±0,10aA	4,33±0,15cB	2,46±0,15 cC	2,36±0,15 cC	1,90±0,10 cD
10% OEO	7,10±0,10aA	7,30±0,10aA	5,90±0,10bB	5,90±0,10bB	5,00±0,10bC	4,00±0,10bD
20% OEO	7,16±0,15aA	7,16±0,20aA	6,90±0,10aA	6,13±0,15abB	6,23±0,15aB	5,90±0,10aB
30% OEO	7,20±0,20aA	7,13±0,15aA	6,90±0,10aA	6,63±0,15aB	6,23±0,20aBC	5,86±0,15aD
Tratamentos	Odor					
	1	3	6	9	12	15
MC	7,30±0,10aA	7,40±0,10aA	4,33±0,41cB	2,40±0,10cCD	2,50±0,10 cC	2,00±0,10 cD
10% OEO	7,10±0,10aA	7,10±0,10aA	6,46±0,05abB	6,40±0,10bB	5,83±0,15bC	5,33±0,20bD
20% OEO	7,16±0,05aA	7,00±0,10aA	6,96±0,15aA	7,03±0,25aA	6,76±0,20aA	6,20±0,26aB
30% OEO	7,20±0,20aA	7,30±0,30aA	7,10±0,10aAB	7,16±0,15aAB	6,76±0,25aBC	6,53±0,15aC
Tratamentos	Aparência					
	1	3	6	9	12	15
MC	7,40±0,10aA	7,30±0,10aA	3,90±0,10cB	2,00±0,10 cC	1,90±0,10 cC	1,30±0,10dD
10% OEO	7,10±0,10aA	7,40±0,10aA	5,80±0,10bB	5,50±0,10bB	4,10±0,10bC	4,00±0,10 cC
20% OEO	7,60±0,10aA	7,43±0,20aA	7,00±0,10aB	6,16±0,15aC	6,20±0,10aC	5,66±0,15abD
30% OEO	7,60±0,10aA	7,40±0,10aA	7,26±0,25aB	6,63±0,15aC	6,26±0,20aC	6,00±0,10aCD
Tratamentos	Avaliação Global					
	1	3	6	9	12	15
MC	7,10±0,10bA	7,40±0,10aA	4,20±0,26cB	1,70±0,10dC	1,53±0,15dC	1,40±0,10dC
10% OEO	7,00±0,10bB	7,40±0,10aA	6,20±0,20bC	5,73±0,25 cD	4,80±0,26cE	4,10±0,10cF
20% OEO	7,46±0,25abA	7,50±0,30aA	6,90±0,10aB	6,50±0,10bBC	6,16±0,15bCD	6,00±0,10bD
30% OEO	7,70±0,20aA	7,40±0,20aAB	7,23±0,15aBC	7,40±0,10aAB	6,90±0,10aC	6,83±0,20aC

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. Concentrações 10, 20 e 30% de óleo essencial de orégano (OEO).

Eshghi et al. (2014) estudaram morangos frescos revestidos com bioativos de nanoquitosana com e sem cobre armazenados a 4°C por 16 dias, e relataram que nos primeiros dias não houve diferença significativa na aparência, logo, a partir do dia 8 os morangos sem coberturas tiveram notas abaixo do limite aceitável.

Nota-se que coberturas comestíveis à base de biopolímeros enriquecidos com OEs, tende a obter melhores avaliações nas análises sensoriais, ou seja, melhorando e/ou mantendo a aparência e as características naturais do fruto.

#### **5.5.5. Cor**

Durante os 15 dias de armazenamento, não houve diferença significativa entre o controle e os tratamentos com cobertura à base de OE de orégano com relação à análise de luminosidade ( $L^*$ ), ou seja, o emprego dos revestimentos não influenciou na  $L^*$  dos frutos (Tabela 9), condizendo com o trabalho de Borges et al. (2013), onde morangos revestidos à base de goma de xantana e OE de sálvia não diferenciaram significativamente com o controle. Pérez (2015) em seu estudo com morangos recobertos com fécula de mandioca armazenados à 10 e 15°C por 8 dias, também não foi observada diferença significativa entre os tratamentos, exceto o tratamento à 15°C com cobertura no primeiro dia de armazenamento.

Guerreiro et al. (2015) avaliaram morangos revestidos com polissacarídeos enriquecidos com OEs, e identificaram pequenas mudanças ao longo de 14 dias no valor de  $L^*$ , mudando de 38,97 a 45,65 para os tratamentos enriquecidos com alginato de sódio e de 39,70 a 46,2 para os tratamentos enriquecidos com pectina. Embora tenha ocorrido diferenças significantes entre alguns tratamentos, tais mudanças não excederam 4,5  $L^*$ , ou seja, não alterou significativamente o parâmetro de cor.

Peretto et al. (2014) ao avaliar morangos tratados com vapores antimicrobianos de carvacrol e metil cinamato em filmes comestíveis, observaram que a  $L^*$  foi afetada significativamente durante o tempo de armazenamento, tendo um aumento no período entre o terceiro e sétimo dia e uma diminuição no último dia (dia 10) de armazenamento. Entretanto, os valores de  $L^*$  no final do armazenamento não foram significativos dos dias iniciais, demonstrando que não ocorreram alterações drásticas durante todo o período de armazenamento.

**Tabela 9:** Luminosidade (L\*) e Tonalidade da cor a\* e cor b\* de morangos revestidos com e sem cobertura comestível à base de gelatina e amido com adição de óleo essencial de orégano, armazenados a 5± 1°C por 15 dias.

Tratamento	Luminosidade (L*)					
	1	3	6	9	12	15
MC	31,48±0,26a	31,96±0,29 <sup>a</sup>	28,00±4,06a	26,28±3,06a	30,72±2,94a	28,73±0,53a
10% OEO	30,55±3,31a	30,55±0,74 <sup>a</sup>	27,69±1,88a	27,13±2,10a	31,34±0,42a	27,02±0,52a
20% OEO	30,42±1,82a	29,14±0,49 <sup>a</sup>	30,88±0,57a	27,03±3,56a	30,95±0,02a	30,40±0,06a
30% OEO	28,26±2,21a	33,13±0,52 <sup>a</sup>	27,17±1,79a	25,71±1,86a	28,80±5,03a	30,74±1,21a
Tratamento	Cor a*					
	1	3	6	9	12	15
MC	28,20±1,48a	30,94±2,59 <sup>a</sup>	29,23±1,71a	31,67±0,81a	29,69±2,39a	28,94±3,88a
10% OEO	29,99±0,16a	28,24±1,97 <sup>a</sup>	30,53±0,22a	30,19±0,47a	32,47±2,51a	25,37±1,80a
20% OEO	29,90±2,54a	31,79±0,66 <sup>a</sup>	32,22±0,14a	28,76±3,23a	28,74±0,26a	25,91±0,65a
30% OEO	29,90±2,22a	27,31±6,78 <sup>a</sup>	30,64±0,50a	30,87±1,37a	31,48±0,73a	30,35±2,63a
Tratamento	Cor b*					
	1	3	6	9	12	15
MC	13,21±0,00aAB	11,65±0,00bB	11,69±0,00aB	11,99±0,00aB	12,85±0,00aAB	18,85±0,00aA
10% OEO	16,86±0,00aA	17,87±0,00aA	13,25±0,00aA	14,41±0,00aA	13,36±0,00aA	12,59±0,00bA
20% OEO	12,48±0,00aAB	15,17±0,00abAB	16,84±0,00aA	9,12±0,00aB	14,15±0,00aAB	14,24±0,00abA
30% OEO	14,06±0,00Aa	15,77±0,00abA	13,96±0,00aA	12,64±0,00aA	15,72±0,00aA	15,68±0,00abA

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. ± desvio padrão. Concentrações 10, 20 e 30% de óleo essencial de orégano (OEO).

Cobertura comestível de pululana em morangos camarosa, foram estudados por Eroglu et al. (2014) e observaram que a  $L^*$  (25,23 a 29,67) entre os tratamentos não alteraram significativamente ( $p < 0,05$ ), sendo tal resultado semelhante ao presente trabalho.

Com relação à coordenada  $a^*$  (tonalidade) os resultados encontrados também não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos e o controle, bem como, entre as coberturas durante todo o período de armazenamento (Tabela 9). Resultados semelhantes foram relatados por Del-Valle et al. (2005) que não observaram diferença entre os morangos revestidos com e sem a cobertura de mucilagem.

Peretto et al. (2014) ao avaliar morangos tratados com vapores antimicrobianos de carvacrol e metil cinamato em filmes comestíveis, obtiveram uma redução significativa de  $a^*$  após o terceiro dia de armazenamento para todos os tratamentos, levando o fruto à descoloração. Segundo os autores, a perda da coloração no decorrer do armazenamento, foi resultado da degradação da antocianina (compostos responsáveis pela cor vermelha do morango) e a existência de fungos.

Guerreiro et al. (2015) ao estudarem coberturas de morangos à base de polissacarídeos enriquecidos com OEs, verificaram que não ocorreu mudanças significativas na tonalidade ( $h^\circ$ ) durante os 14 dias de armazenamento em morangos não revestidos. No entanto, alguns tratamentos com revestimento comestível obtiveram mudanças significativas entre si, logo, não significativo em termos de mudança de qualidade.

Entretanto, com relação a tonalidade da cor  $b^*$ , houve diferença significativa no dia 3 e dia 15 de armazenamento com relação ao MC com os demais tratamentos.

Todavia, quando comparados com os resultados obtidos na cor da avaliação sensorial, nota-se uma diferença significativa, sendo que o tratamento controle já não apresentava parâmetros necessários para a comercialização e consumo a partir do dia 6 de armazenamento. Isso pode ser explicado pela metodologia aplicada na análise de cor  $L^*$   $a^*$   $b^*$ , onde foi usada a polpa do fruto para a realização da leitura, levando a obter resultados não significativos entre os tratamentos durante o armazenamento.

## **5.6. Composição centesimal do morango**

O conteúdo de nutrientes nos frutos é um dos fatores mais importantes na determinação da sua qualidade nutricional, dessa forma foram realizadas análises de

umidade, proteínas, cinzas e extrato etéreo em frutos de morango em dois períodos de armazenamento. Na Tabela 10, podemos observar os valores da composição centesimal dos morangos tratados e o controle.

**Tabela 10:** Composição centesimal (g/100g<sup>-1</sup>) dos morangos tratados nos dias 1 e 12.

Dias	Tratamentos			
	MC	10%OEO	20%OEO	30%OEO
Umidade				
1	93,29±0,51	92,43±0,71	92,18±0,21	92,65±0,54
12	93,48±0,13	92,72±0,05	92,58±0,17	92,45±0,11
Média	93,39 a	92,58 a	92,38 a	92,55 a
Proteínas				
1	0,68±0,03	0,84±0,08	0,95±0,02	0,90±0,09
12	0,70±0,04	0,86±0,12	0,71±0,30	0,91±0,00
Média	0,69 a	0,85 a	0,83 a	0,91 a
Cinzas				
1	0,37±0,02	0,43±0,05	0,44±0,04	0,40±0,03
12	0,39±0,03	0,41±0,02	0,43±0,04	0,43±0,00
Média	0,38 a	0,42 a	0,43 a	0,41 a
Extrato etéreo				
1	0,26±0,04	0,27±0,02	0,30±0,01	0,28±0,07
12	0,23±0,02	0,32±0,04	0,52±0,33	0,28±0,02
Média	0,25 a	0,30 a	0,41 a	0,28 a

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. ± desvio padrão. Tratamento: MC – morango controle (sem revestimento); Concentrações 10, 20 e 30% de óleo essencial de orégano (OEO).

Os tratamentos com revestimento comestível não obtiveram diferença significativa entre si e nem com o morango controle, ou seja, não influenciaram nos valores da qualidade nutricional, demonstrando que a mesma não interfere nas características naturais do fruto. Entretanto, ao analisar a Tabela 8 (análise sensorial), nota-se que os tratamentos revestidos com OE de orégano, obtiveram aceitação pelo consumidor até o final do experimento, sendo que o morango controle, deixou de agradar a partir do 6° dia de armazenamento. Isso pode ser explicado pelo crescimento de fungos no fruto, como mostra a Tabela 4 e a Figura 12, que degradam o morango, o tornando inviável para o consumo e comercialização.

De acordo com os dados da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO (UNICAMP, 2011), a quantidade de proteínas em morangos é de 0,90g por 100g de polpa, cinzas é de 0,50g por 100g de polpa, o teor de extrato etéreo é de 0,30g por 100g de polpa e a umidade é de 91,50g por 100g de polpa. Como pode ser observado na Tabela 10, todos os tratamentos estão de acordo com a TACO (UNICAMP, 2011).

Françoso et al. (2008) ao estudar morangos irradiados, o teor de proteínas (0,78g) e extrato etéreo (0,20), obtiveram valores inferiores ao presente trabalho e

consequentemente aos dados da TACO (UNICAMO, 2011). Já para o teor de umidade (93,08g) e cinzas (0,44g), estão de acordo com o referente trabalho.

Garcia (2009), estudando coberturas comestíveis em morangos minimamente processados, identificou os seguintes valores, umidade 89,29g, cinzas 0,33g, lipídios 0,27g e proteína 0,73g por 100g de polpa, também estando de acordo com o presente trabalho.

## 6. CONCLUSÃO

Diante das análises microbiológicas e sensoriais, foi observado que os revestimentos com adição de *Origanum vulgare*, foram eficientes para prolongar a vida útil de morangos ‘Camino Real’ em 10 dias, mantendo os aspectos naturais do fruto, o que se torna uma alternativa para distribuição da fruta em longas distâncias.

Os dados encontrados neste trabalho, refletem a aptidão que os revestimentos comestíveis possuem frente a capacidade de agir como uma barreira de proteção, aumentando a vida útil do morango e mantendo o valor nutricional. Os resultados indicam que os revestimentos e sua combinação com o OE de orégano, obtiveram eficiência no controle do crescimento de microrganismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos e fungos, apresentando maiores reduções decimais, indicando a eficiência do revestimento enriquecido com o OE de orégano.

As coberturas comestíveis contendo OE de orégano, resultaram num atraso significativo na perda de massa. No entanto, o tratamento com 20% do OE de orégano, obteve os melhores resultados na preservação da qualidade do morango, estando aptos para a comercialização ainda após o 12º dia de armazenamento. O tratamento também apresentou resultados satisfatórios na avaliação sensorial, apresentando condições de consumo ao final dos 15 dias de armazenamento.

Os tratamentos revestidos apresentaram os melhores resultados em todos os parâmetros avaliados, todavia, não diferiram significativamente frente a textura, cor e composição química do fruto, logo, foram bem avaliados sensorialmente.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AABY, K.; SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E. Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 53, n. 10, p. 4032- 404, Oct. 2005.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). 2001. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: APHA. 676 p.

ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J. Importância do cultivo. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 2005. (Sistema de Produção, 5).

AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 40 ed. Washington, 1984.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17. ed., Washington, 2002.

APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.3, p. 113-126, 2002.

ARANGO, A. C. Mesa; SÁNCHEZ, J. G. Bueno; GALVIS, L. A. Betancur. Productos naturales con actividad antimicótica. **Rev. Esp. Quimioterap**, [s.l.], v. 17, n. 4, p.325-331, dez. 2004.

ASSIS, O. B.; LEONI, A. M. **Filmes comestíveis de quitosana**. Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento – Edição n. 30, 2003.

AZERÊDO, G. A.; STAMFORD, T. L. M.; NUNES, P. C.; NETO, N. J. G.; OLIVEIRA, M. E. G.; SOUZA, E. L. Combined application of essential oils from *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetable. *Food Research International*, v.44, p.1541-1548, 2011.

AZEREDO, H. M. C.; MATTOSO, L. H. C.; OLSEN, C.; BUSTILLOS, R. J. A.; MCHUGH, T. H. **Caracterização de filmes comestíveis de purê de manga**. In: XX Congresso Brasileiro de Fruticultura. 54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture, 2008, Vitória.

BARROS, H. D, ZAMITH, H. P. S., BAZÍLIO, F. S., CARVALHO, L. J. ABRANTES, S.M.P (2011). Identification of fatty foods with contamination possibilities by plasticizers when stored in PVC film packaging. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 31.

BALDWIN, E. A. (2001). New coating formulations for the conservation of tropical fruits. Disponível em: <http://technofruits2001.cirad.fr/fr/baldwin.htm>. Acesso em: 23. Jul. 2014.

BASU, A. et al. Strawberry as a functional food: an evidence-based review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Cleveland, v. 54, n. 6, p. 790- 806, 2014.



BOLZAN, Renata Padilha; CUQUEL, Francine Lorena; LAVORANTI, Osmir José. Armazenamento refrigerado de *Physalis*. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, Sp, v. 1, p.577-583, 2011.

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

BORGES, A. M.; PEREIRA, J.; CARDOSO, M. G.; ALVES, J. A. LUCENA, E. M. P. **Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.)**. Rev. Bras. PI. Med., Botucatu, v.14, n.4, p. 656-665, 2012.

BRASIL, Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.

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

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

CARPENTER, Roland P.; LYON, David H.; HASDELL, Terry A.. **Guidelines for sensory analysis in food product development**. 2. ed. Gaithersburg, Maryland: An Aspen Publication, 2000. 210 p.

CHI, S.; ZIVANOVIC, S.; PENFIELD, M. P. Application of chitosan films enriched with oregano essential oil on bologna- active compounds and sensory attributes. **Food Science and Technology International**, v. 12, n. 2, p. 111-117, 2006.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2005.

CLEFF, M.B. **Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. frente a fungos de importância em veterinária com ênfase em *Candida spp.*** 2008. 114f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS.

CLEFF, M. B. et al. Atividade inibitória do óleo essencial de orégano em fungos de importância médica e veterinária. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, [s.l.], v. 62, n. 5, p.1291-1294, 10 set. 2010.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: M7-A8, vol. 26 n. 2, 2009.

COELHO, C. C. S.; FREITAS-SILVA, O.; ALCANTARA, I.; SILVA, J. P. L.; CABRAL, L. M. C. **Ozônio em morangos minimamente processados, uma alternativa ao uso do cloro na segurança de alimentos**. Vig Sanit Debate, 2015.

CORRALES, M., Fernández, A., Han, J.H. Antimicrobial Packaging Systems. In: Han, J.H. (Ed.), *Innovations in Food Packaging*. Elsevier Academic Press, San Diego, pp. 133–170, 2014.

DAL BO, M. ; CARDOSO, A. P. G. ; TANCREDO, C. ; MERGEN, I. Z. ; DONELA, R. N. ; NOVAES, A. F. ; FARIA, D.C. **Reciclagem de embalagens poliméricas contendo filme de alumínio metálico via processamento químico**. *Polímeros*, vol.21, n.4, p. 335-339, 2011.

DE VINCENZI, M.; STAMMATI, A.; DE VINCENZI, A., SILANO, M. Constituents of aromatic plants: carvacrol. *Fitoterapia*, v. 75, p. 801-804, 2004.

DEL-VALLE, V; MUÑOZ, P.H; GUARDA, A; GALOTTO, M.J. Development of a cactus mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. **Food Chemistry**, v.91, n.4, p. 751-756, 2005.

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

DU, W-X; OLSEN, C. W.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; LEVIN, C. E.; FRIEDMAN, M. Antibacterial effects of allspice, garlic, and oregano essential oils in tomato films determined by overlay and vapor-phase methods. *Journal Food Science*, Chicago, v. 74, n. 7, p. 390-397, sept. 2009.

DURANGO, A. M.; SOARES, N. F. F.; ARTEAGA, M. R. Filmes y revestimientos comestibles como empaques activos biodegradables em la conservación de alimentos. **Biotechnología em el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, v. 09, 2011.

EMBRAPA (2008). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: [http://www.cpact.embrapa.br/eventos/2008/simposio\\_morango\\_frutas/apresentacoes\\_pdf/Madail.pdf](http://www.cpact.embrapa.br/eventos/2008/simposio_morango_frutas/apresentacoes_pdf/Madail.pdf). Acesso em : 24. Jul. 2014.

ESHGHI, S.; HASHEMI, M. ; MOHAMMADI, A.; BADII, F.; MOHAMMADHOSEINI, Z.; AHMADI, K. (2014). "Effect of Nanochitosan-Based Coating With and Without Copper Loaded on Physicochemical and Bioactive Components of Fresh Strawberry Fruit (*Fragaria x ananassa* Duchesne) During Storage." *Food Bioprocess Technologies*.

EROGLU, E.; TORUN, M.; DINCER, C.; TOPUZ, A. (2014). "Influence of Pullulan-Based Edible Coating on Some Quality Properties of Strawberry During Cold Storage." *Packaging. Technology Science*.

FAKHOURI, F.M.; FONTES, L.C.B.; GONÇALVES, P.V.M.; MILANES, C.R.; STEEL, C.J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. **Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27 (2): 369-375, 2007.

FRANÇOSON, I. L. T.; COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V. **Alterações físico-químicas em morangos (*Fragaria anassa* Duch.) irradiados e armazenados.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 28(3): 614-619, 2008.

GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Plasticized Starch-Based Coatings to Improve Strawberry (*Fragaria x Ananassa*) Quality and Stability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 46, p. 3758-3767, 1998.

GARCIA, Lorena Costa. **Aplicação de coberturas comestíveis em morangos minimamente processados**. 2009. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

GARCIA L. C.; PEREIRA, L. M.; SARANTÓPULOS, C. I. G. L.; HUBINGER, M. D. (2012). "Effect of antimicrobial starch edible coating on shelf-life of fresh strawberries." *Packaging Technology and Science*. 25(7): 413-425.

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

GEBHARDT, S. E.; THOMAS, R. G. **Nutritive Value of Foods**. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory, Beltsville, Maryland, 2002.

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

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

GRAHAM, J. *Fragaria* strawberry. In: LITZ, R.E. (Ed.), **Biotechnology of Fruit and Nut Crops**. Chapter: 24, pp 456-474. CABI Publishing, 2005.

GUERREIRO, Adriana C. et al. The use of polysaccharide-based edible coatings enriched with essential oils to improve shelf-life of strawberries. **Postharvest Biology And Technology**, [s.l.], v. 110, p.51-60, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.06.019>.

HAN, C.; ZHAO, Y.; LEONARD, S.W.; TRABER, M.G. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria x ananassa*) and raspberries (*Rubus idaeus*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, p. 67-78, 2004.

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

HOSSEINI, Seyed Fakhreddin et al. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. **Industrial Crops And Products**, [s.l.], v. 67, p.403-413, maio 2015. Elsevier BV.

KENDRA, K. V. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT – Food Science and Technology* 43 (2010) 381-392.

KESTER, J. E.; FENNEMA, O. R. **Edible films and coatings: A review**. *Food Technology*, v. 10, n. 12, p. 47-59, DEC. 1986.

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

KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. D. **Edible and biodegradable polymer films**. Challenges and opportunities. *Food Technology*, v. 51, n. 2, p. 60-74, Fed. 1997.

LAMBERT, R. J. W. et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 3, p. 453-462, 2001.

LEE, J. Y.; PARK, H. J.; LEE, C. Y.; CHO, W. Y., (2003). "Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents." *LWT- Food Science and Technology*. 36(3): 326-329.

LI, H.; YU, T. **Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit**. *J. Sci. Food Agric*. 81, 269-274, 2000.

LLANA-RUIZ-CABELLO, Maria et al. In vitro toxicological evaluation of essential oils and their main compounds used in active food packaging: A review. **Food And Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 81, p.9-27, 2015.

LOPES DA SILVA, F.; ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.; PÉREZ-ALONSO, J. J.; RIVAS-GONZALO, J. C.; SANTOS-BUELGA, C. **Anthocyanin pigments in strawberry**. *LWT: Food Sci. Technol*. 40, 374-382, 2007.

MARINO, M.; BERNASI, C.; COMI, G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Compositae*. *International Journal of Food Microbiology*, v.67, p. 187-195, 2001.

MITCHELL, T. C.; STAMFORD, T. L. M.; SOUZA, E. L.; LIMA, E. O.; CARMO, E. S. *Origanum vulgare* L. essential oil as inhibitor of potentially toxigenic *Aspergilli*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 30(3): 755-760, 2010.

NASCIMENTO, M. S.; SILVA, N. **Tratamentos químicos na sanitização de morangos (*Fragaria vesca* L)**. *Braz. J. Food Technol*. Campinas, v.13, n.1, p. 11-17, 2010.

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

OMS-OLIU, G.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. **Postharvest Biology and Technology**, v. 50, p. 87-94, 2008.

OUSSALAH, M. (2007) Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157. *Food Control*.18:414-420.

PARK, S.; STAN, S. D.; DAESCHEL, M. A.; ZHAO, Y. Antifungal coatings on fresh strawberries (*Fragaria x ananassa*) to Control Mold Growth During Cold Storage. **Journal of Food Science**, v.70, n.4, p. M202-M207, 2005.

PALOMINO JC, Martin A, CAMACHO M, GUERRA H, SWINGS J, PORTAELS F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002 Aug;46(8):2720-2.

PERETTO, Greta et al. Increasing strawberry shelf-life with carvacrol and methyl cinnamate antimicrobial vapors released from edible films. **Postharvest Biology And Technology**, [s.l.], v. 89, p.11-18, mar. 2014. Elsevier BV.

PÉREZ, Irene Marivel Nolasco. **Efeito da cobertura de fécula de mandioca sobre o morango, armazenado sob temperatura de refrigeração**. 2015. 110 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

PRATES, M. F. O.; ASCHERI, D. P. R. Efeito da cobertura de amido de fruta-de-lobo e sorbitol e do tempo de armazenamento na conservação pós-colheita de frutos de morango. **B. CEPPA**, Curitiba, v.29, n. 1, p. 21-32, jun.2011.

PONCE, A. R.; BASTIANI, M. I. D.; MINIM, V.P.; VANETTI, M. C. D. Características físico-químicas e microbiológicas de morango minimamente processado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2009.

RAMOS, A. M.; QUINTERO, A. C. F.; FARAONI, A. S.; SOARES, N. F. F.; PEREIRA, J. A. M. Efeito do tipo de embalagem e do tempo de armazenamento nas qualidades físico-química e microbiológica de abacaxi desidratado. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, 2008.

REIS, K. C.; SIQUEIRA. H. H.; ALVES, A. P.; SILVA, A. J. D.; LIMA, L. C. O. Efeitos de diferentes sanificantes sobre a qualidade de morangos cv. Oso grande. *Ciência e Agrotecnologia*. Lavras, v.32, n.1, p. 196 – 202, 2008.

RESTREPO, J.; ARISTIZABAL, I. Conservación de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch cv. Camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*Aloe barbadensis* Miller) y cera de carnauba. *Vitae*. 2010 Sep; 17 (3): 252-263.

RIBEIRO; D.S.; MELO, D.B.; GUIMARÃES, A.G; VELOZO, E.S.. Avaliação do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, 2012.

RODRIGUES, M.R.A.; KRAUSE, L.C.; CARAMÃO, E.B. et al. Chemical composition and extraction yield of the extract of *Origanum vulgare* obtained from sub- and supercritical CO<sub>2</sub>. *J. Agric. Food Chem.*, v.52, p.3042-3047, 2004.

RODRIGUEZ-GARCIA, Isela et al. Oregano (*Lippia graveolens*) essential oil added within pectin edible coatings prevents fungal decay and increases the antioxidant capacity of treated tomatoes. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [s.l.], v. 96, n. 11, p.3772-3778, 25 jan. 2016.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; TAPIA, M. S.; RODRÍGUEZ, F. J.; CARMONA, A. J.; MARTÍN-BELLOSO, O. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apples. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 118-127, 2007.

ROMANAZZI, G. Chitosan treatment for the control of postharvest decay of table grapes, strawberries and sweet chetties. *Fresh Produce* 4, 111-115, 2009. Disponível em: [http://www.academia.edu/426166/Chitosan\\_treatment\\_for\\_the\\_control\\_of\\_postharvest\\_decay\\_of\\_table\\_grapes\\_strawberries\\_and\\_sweet\\_cherries](http://www.academia.edu/426166/Chitosan_treatment_for_the_control_of_postharvest_decay_of_table_grapes_strawberries_and_sweet_cherries). Acesso em: 30. Jul. 2014.

RONQUE, E. R. V. **A cultura do morangueiro**. Curitiba: EMATER-PR, p. 183-202, 1998.

SANTOS, J. C.; CARVALHO-FILHO, C. D.; BARROS, T. F.; GUIMARÃES, A. G. Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de oregano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole. *Ciências Agrárias*. Londrina, v.32, n.4, p. 1557 – 1564, 2011.

SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S. H. **Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de oregano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola**. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.37, n.3, p.803-808, 2007.

SARIKURKCU, C. ZENGİN, G. OSKAY, M. UYSAL, S. CEYLAN, R. AKTUMSEK, A. Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two *Origanum vulgare* subspecies (*subsp vulgare* and *subsp hirtum*) essential oils. *Ind. Crop. Prod.* 70: 178–184 (2015).

SHAW, D.; LARSON, K. The camino real strawberry cultivar. Washington: United States Patent Declaration and Description, 2001.

SILVA, J. P. L.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PEREZ, D. V.; FRANCO, B. D. G. M. **Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella Enteritidis***. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas 30: 136-141, 2010.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. *Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3 ed. – Viçosa: UFV, 2006.

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

SILVA, F. L. da et al. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT - Food Science and Technology*, Trivandrum, v. 40, n. 2, p. 374-382, 2007.

SOARES, N.F.F.; SILVA, W.A.; PIRES, A.C.S.; CAMILLOTO, G.P.; SILVA, P.S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, n. 56, 2009.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; BARBOSA FILHO, J. M.; MARQUES, M. O. M. **Interference of heating on the antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 28(2): 418-422, 2008.

TAPIA, M. S.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; RODRÍGUEZ, F. J.; RAMIREZ, J.; CARMONA, A.; MARTÍN-BELLOSO, O. Alginate and gellan-based edible films for probiotic coatings on fresh-cut fruits. **Journal Food Science**, v. 72, n. 4, p. E190-E196, 2007.

THOMAS, Ariela Betsy. **Qualidade físico-química, microbiológica e compostos bioativos de morangos revestidos com fécula de mandioca e própolis.** 105 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas. **Tabela brasileira de composição de alimentos**, 2011. Disponível em: [http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco\\_4\\_edicao\\_ampliada\\_e\\_revisada.pdf?arquivo=taco\\_4\\_versao\\_ampliada\\_e\\_revisada.pdf](http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4_versao_ampliada_e_revisada.pdf). Acesso em: 19. Jul.2017.

VALERO, M. SALMERON, M. C. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology*, v.85, n. 1-2, p. 73-81, 2003.

VAN den DOOL H.; KRATZ, P. D (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J Chromatogr.* 11: 463-471.

VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forragens. **J. Anim. Sci.**, v.26, n. 1, p. 119- 128, 1967.

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

VU, K. D.; HOLLINGSWORTH, R. G.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. **Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries.** *Food Research International*, Barking, v. 44, n. 1, p. 198-203, 2011.

YUAN, G.; LV, H.; YANG, B.; CHEN, X.; SUN, H. Physical Properties, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Chitosan Films Containing Carvacrol and Pomegranate Peel Extract. *Molecules* **2015**, 20, 11034-11045.

ZAVAREH, S.; DARVISHI, F.; SAMANDARI, G.. Preparation and characterization of epoxy/oregano oil as an epoxy-based coating material with both antimicrobial effect and increased toughness. **Journal Of Coatings Technology And Research**, [s.l.], v. 12, n. 2, p.407-414, 23 dez. 2015. Springer Nature.

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



## Anexo I



### LAUDO TÉCNICO Óleo Essencial de Orégano (*Origanum vulgare*)

Lote: 224	CAS Number: 84012-24-8
Fabricação: Junho/2014	Validade: Junho/2016

Itens Controlados	Resultados	Especificações
Aparência	Líquido Límpido	Líquido Límpido
Cor	Marrom	Amarelo Esverdeado a Marrom Escuro
Impurezas	Isento	Isento
Odor	Característico	Característico
Densidade (20°C)	0,954	0,935 – 0,960
Índice de Refração (20°C)	1,511	1,500 – 1,520
Rotação Ótica		[-2° ; +3°]
Data da Análise	19/08/2014	
Resultado	<b>Aprovado</b>	
Origem	Moldávia	
Principais Componente (aprox.)	Carvacrol = 71% Timol = 3% Gama-terpineno = 4,5% Para-cimeno: 3,5% Beta-carfiofileno: 4%	

Recomendações Especiais	
Manuseio	Não ingerir. Evitar contato com a pele, olhos e mucosa. Se isso ocorrer, lavar imediatamente com água limpa em abundância. Em caso de derramamento, absorver o material derramado com material absorvente (areia, terra).
Incêndio	Caso haja fogo, utilizar extintor de pó químico seco e água em forma de neblina, não utilizando jatos de água para não espalhar o produto.
Explosividade	Nenhum perigo em condições normais.
Uso	Este produto destina-se ao uso profissional / industrial e como é elaborado a partir de substâncias naturais pode apresentar pequenas variações de cor e cromatografia sem causar qualquer problema na performance do produto.
Armazenamento	Armazenar em local seco, longe de umidade e do calor, protegido da luz, em recipiente original bem vedado. Não reutilizar a embalagem vazia.
Transporte	Produto não enquadrado na portaria 204/97 em vigor sobre transporte de produtos perigosos.

As informações contidas nesta publicação representam o melhor de nosso conhecimento. Entretanto, nada aqui mencionado deve ser entendido como garantia de uso. Os consumidores devem efetuar seus próprios ensaios para determinar a viabilidade da aplicação.

Engenheira Química Responsável: Alice Lasthaus CRQ: IV 04330754

## Anexo II



**FERQUIMA**

### *Declaração de Pureza*

Vargem Grande Paulista, 03 de Dezembro de 2014.

Declaramos que o óleo essencial de orégano fornecido por nossa empresa é um produto 100% puro e natural.

Sem mais,

Alice Lasthaus  
Eng. Química  
CRQ: IV 04330754

### Anexo III

Nome:

Sexo: M ( ) F ( )

Data:

Estamos avaliando a aceitação de um novo tipo de cobertura comestível relacionada com a aparência do fruto. Por favor, de uma nota para cada amostra e diga se gostou ou desgostou desta de acordo com a escala abaixo.

9 - gostei muitíssimo

8 - gostei muito

7 - gostei moderadamente

6 - gostei ligeiramente

5 - nem gostei/nem desgostei

4 - desgostei ligeiramente

3 - desgostei moderadamente

2 - desgostei muito

1 - desgostei muitíssimo

ATRIBUTOS	157	528	753	625
Cor				
Odor				
Aparência				
Avaliação Global				

Comentários:

---

## Anexo IV

### Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001

**Tabela 11:** Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos

GRUPO DE ALIMENTOS	MICROORGANISMO	Tolerância para Amostra INDICATIVA	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M
1 FRUTAS, PRODUTOS DE FRUTAS e SIMILARES						
a) morangos frescos e similares, "in natura", inteiras, selecionadas ou não.	Coliformes a 45°C/g	2x10 <sup>3</sup>	5	2	2 x 10 <sup>2</sup>	2x10 <sup>3</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-

\*Para fins de aplicação de plano de amostragem entende-se:

m: é o limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável;

M: é o limite que, em plano de duas classes, separa o produto aceitável do inaceitável. Em um plano de três classes, M separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável. Valores acima de M são inaceitáveis;

n: é o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente. Nos casos nos quais o padrão estabelecido é ausência em 25g, como para *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* e outros patógenos, é possível a mistura das alíquotas retiradas de cada unidade amostral, respeitando-se a proporção p/v (uma parte em peso da amostra, para 10 partes em volume do meio de cultura em caldo);

c: é o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M (plano de três classes). Nos casos em que o padrão microbiológico seja expresso por "ausência", c é igual a zero, aplica-se o plano de duas classes.





