



Universidade do Minho

Escola de Engenharia

Patrícia Pinheiro Cardoso

Desenvolvimento de um revestimento ativo e comestível para melhorar a qualidade e prolongar o tempo de vida da framboesa

Dissertação de Mestrado
Mestrado Integrado em Engenharia Biológica
Ramo Tecnologia Química e Alimentar

Trabalho efetuado sob a orientação do(s)
Professor Doutor António Augusto Vicente
Doutor Óscar Ramos

DECLARAÇÃO

Nome: Patrícia Pinheiro Cardoso

Título da dissertação:

Desenvolvimento de um revestimento ativo e comestível para melhorar a qualidade e prolongar o tempo de vida da framboesa

Orientador(es):

Prof. Doutor António Augusto Vicente

Doutor Óscar Ramos

Ano de conclusão: 2018

Designação do Mestrado: Mestrado Integrado em Engenharia Biológica

Ramo Tecnologia Química e Alimentar

Nos exemplares das teses de doutoramento ou dissertações de mestrado ou de outros trabalhos entregues para prestação de provas públicas nas universidades ou outros estabelecimentos de ensino, e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito legal na Biblioteca Nacional e, pelo menos outro para a biblioteca da universidade respetiva, deve constar uma das seguintes declarações:

1. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE;
2. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA DISSERTAÇÃO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.), APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE;
3. DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA DISSERTAÇÃO

Universidade do Minho, ___/___/_____

Assinatura:

AGRADECIMENTOS

A todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho gostaria de expressar o meu mais sincero obrigada.

Ao Dr. Óscar Ramos por ter encarado este projeto comigo e por toda a ajuda, apoio, otimismo, ensinamentos e disponibilidade.

À Bfruit por me ter recebido, por ter disponibilizado as instalações, equipamentos e recursos necessários à realização deste projeto e especialmente por todo o apoio e companheirismo que recebi.

A todos os colegas, professores e funcionários do Centro de Engenharia Biológica que me forneceram sempre as condições necessárias para a realização deste projeto.

Um agradecimento especial ao Laboratório de Indústria e Processo que me acolheu da melhor forma e cujos ensinamentos e auxílio foram essenciais para o êxito deste estágio.

Ao Pedro Silva por se mostrar sempre disponível, em qualquer altura, para me ajudar.

Ao Vítor Sousa por me ter auxiliado durante o desenvolvimento do projeto.

Por último, mas não menos importante, aos meus Pais e irmã por toda a paciência e ajuda, mas sobretudo por todo o apoio, coragem e otimismo que me transmitiram ao longo desta jornada.

RESUMO

Os pequenos frutos têm surgido cada vez mais no nosso dia-a-dia, pelas suas propriedades organoléticas ou terapêuticas, sendo introduzidas num estilo de vida saudável. A framboesa pertence a este grupo, tendo um elevado valor comercial (6,65 €/kg). No entanto, tem certos problemas associados: é bastante perecível, tem um tempo de prateleira reduzido (4-5 dias), sofre um rápido escurecimento da superfície e é suscetível ao ataque por vários microrganismos que deterioram o fruto.

Como forma de tentar solucionar estas limitações, foram realizados vários estudos com revestimentos edíveis, com o objetivo de permitir um melhor controlo da maturação, aumentar o tempo de prateleira, e evitar a perda ou promover a melhoria das principais características organoléticas do fruto. Assim, como ainda não se encontra disponível comercialmente uma solução edível eficaz, surgiu a motivação para este trabalho. Nele pretende-se avaliar a eficácia de um revestimento ativo e edível na preservação da framboesa tendo em vista a conservação da qualidade e aumento do seu tempo de prateleira. Para tal, foram testadas 3 formulações em framboesas tendo como matriz base os polissacarídeos (quitosano e pectina), usados de forma isolada e combinada (técnica *layer-by-layer*) com concentração de 1,5 % (*w/w*). Posteriormente foi-lhe aplicado um agente antifúngico (benzoato de sódio) para avaliar a sua eficácia contra a proliferação de microrganismos.

Os filmes/revestimentos foram caracterizados isoladamente e após a sua aplicação no fruto durante alguns dias de armazenamento. As soluções de revestimento foram caracterizadas quanto à sua viscosidade, enquanto os filmes foram avaliados em termos de massa volúmica, solubilidade em água, teor de humidade, hidrofobicidade da superfície, propriedades mecânicas, de barreira, cor, opacidade, microestrutura e capacidade antioxidante. Paralelamente a framboesa foi avaliada quanto à sua variação de massa, firmeza, cor, teor de acidez, pH, teor de sólidos solúveis e decaimento. Foi ainda realizada uma análise microbiológica à framboesa revestida ao fim de 5 dias de armazenamento e uma análise sensorial para avaliar a capacidade de deteção do revestimento e melhorias das características do fruto.

Após caracterização físico-química foi possível aferir que o revestimento de pectina e mistura eram os ideais, em termos de filmes, enquanto nas framboesas constatou-se a baixa eficácia da mistura. Na análise sensorial foi o revestimento de pectina que teve os melhores resultados durante o tempo de vida útil do fruto. A nível microbiológico, e com a introdução do antifúngico, foi o revestimento de quitosano que se revelou o mais promissor, permitindo duplicar o tempo de prateleira da framboesa.

PALAVRAS-CHAVE

Quitosano, pectina, mistura, tempo de prateleira, melhoria da qualidade

ABSTRACT

People have been using more and more small fruits in their daily consumption, due to their organoleptic and/or therapeutic properties, as part of a healthy lifestyle. Raspberry belongs to this group and has a high commercial value (6,65 €/kg). However, it has some associated issues: the degree of perishability, with a reduced shelf-life (4 - 5 days), fast color darkening, due to maturation, and increased attack probability by several microorganisms that deteriorate the fruit.

To try solving these disadvantages, several studies with edible coatings have been carried out, in order to control their maturation, increase shelf-life, avoid loss of the main organoleptic characteristics, or even, improve them. Thus, as an effective solution is not yet commercially available, a motivation has emerged for this work. It is intended to evaluate the efficacy of an active and edible coating on the preservation of raspberry in order to preserve quality and increase its shelf life. For that, three formulations were tested on raspberries, using a polysaccharides-based matrix (chitosan and pectin), using them isolated and combined (layer-by-layer technique) at a concentration of 1.5 % (*w/w*). Later, an antifungal agent (sodium benzoate) was applied to study its capacity to prevent the proliferation of micro-organisms.

For this, analyzes were performed on both, film and the raspberry itself, after coating application and later during storage. The film formulation was evaluated in terms of density, water solubility, moisture content, surface hydrophobicity, mechanical and barrier properties, color and opacity, microstructure and antioxidant capacity. The fruit evolution was analysed measuring weight loss, firmness, color, acidity, pH, soluble solids content and decay. A microbiological analysis was also performed on raspberries after 5 days and a sensorial analysis was performed to evaluate the protection capacity of the coating and the possibility of improvement of the characteristics of the raspberry itself.

After the performance of physical and chemical tests, it was possible to verify that pectin and a mixture of pectin and chitosan were the ideal solutions, in term of films alone, while when applied on raspberries the mixture revealed a lower efficacy. In sensorial analysis it was the pectin coating the one showing the best results throughout fruit shelf life. From the microbiological point of view, and after introduction of the antifungal, it was the chitosan which obtained a more promising result, thus allowing to duplicate the shelf life of the raspberry.

KEYWORDS

Chitosan, pectin, mixture, shelf-life, quality improvement

ÍNDICE

Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vii
Índice de Figuras.....	xiii
Índice de Figuras em Anexos	xvi
Índice de Tabelas	xvii
Lista de Abreviaturas e Siglas	xix
Lista de símbolos	xxi
1. Introdução.....	1
1.1 Motivação	1
1.2 Enquadramento Geral e Objetivos.....	1
1.3 <i>Overview</i> do projeto.....	4
1.4 Fundamentos Teóricos	6
1.4.1 Composição química dos frutos	7
1.4.2 Framboesa	7
2. Revestimentos edíveis.....	15
2.1 Definição e aplicações.....	15
2.2 Biomateriais.....	20
2.2.1 Polissacáridos	20
2.2.2 Proteínas.....	21
2.2.3 Lípidos	22
2.3 Propriedades físicas do revestimento.....	22
2.4 Métodos de aplicação e secagem	27
2.5 Legislação.....	28
3. Empresa.....	29
3.1 Contextualização	29
3.2 Controlo de Qualidade.....	30
3.3 Norma BRC – <i>British Retail Consortium Standards</i>	31

4. Materiais e metodologias	33
4.1 Preparação das formulações para filmes e revestimento das framboesas.....	33
4.1.1 Quitosano.....	33
4.1.2 Pectina.....	33
4.1.3 Mistura (Quitosano e Pectina)	34
4.2 Análise das formulações usadas.....	34
4.2.1 Reologia da formulação	34
4.3 Análise dos filmes	35
4.3.1 Massa volúmica.....	35
4.3.2 Teor de humidade	35
4.3.3 Solubilidade.....	36
4.3.4 Hidrofobicidade da superfície.....	36
4.3.5 Propriedades mecânicas.....	36
4.3.6 Cor e opacidade	37
4.3.7 Propriedades de barreira	38
4.3.8 Propriedades antioxidantes	39
4.3.9 Análise da superfície e corte transversal.....	40
4.4 Revestimento e análise das framboesas.....	40
4.4.1 Perda de massa	41
4.4.2 Firmeza.....	42
4.4.3 Análise de cor.....	44
4.4.4 Análise do decaimento.....	44
4.4.5 Medição de pH e acidez titulável	44
4.4.6 Quantificação de sólidos solúveis totais (SST).....	45
4.4.7 Análise sensorial.....	46
4.5 Análise estatística.....	46
4.6 Controlo do decaimento com agente antifúngico	46
4.6.1 Análises microbiológicas	47
5. Resultados e Discussão	49

5.1	Análise das formulações usadas	49
5.1.1	Reologia da formulação	49
5.2	Análises dos filmes.....	51
5.2.1	Quitosano.....	51
5.2.2	Pectina.....	51
5.2.3	Mistura (Quitosano com Pectina)	52
5.2.4	Análise da superfície e corte transversal.....	53
5.3	Análise das framboesas revestidas	54
5.3.1	Perda de massa	54
5.3.2	Firmeza.....	57
5.3.3	Análise de cor.....	60
5.3.4	Análise do decaimento.....	65
5.3.5	Medição do pH e acidez titulável.....	66
5.3.6	Quantificação de sólidos solúveis totais	68
5.3.7	Análise sensorial.....	69
5.4	Controlo do decaimento com agente antifúngico	72
5.4.1	Análises microbiológicas	76
6.	Conclusões e recomendações	79
	Referências Bibliográficas	83
	Anexo I – Exemplar do controlo de qualidade da framboesa	90
	Anexo II – Exemplar do controlo de qualidade da groselha.....	91
	Anexo III – Exemplar do controlo de qualidade do mirtilo	92
	Anexo IV– Ficha de análise sensorial.....	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Importação Europeia de pequenos frutos, por variedade, entre 2012 e 2016 (por 1000 toneladas). Retirado de CBI, 2018.	2
Figura 2. Morfologia da framboesa. Adaptado de: Oliveira, 2007b.	8
Figura 3. Evolução objetiva da cor e do estado de maturação. Retirado de Oliveira, 2007b.	10
Figura 4. Vantagens e propriedades de aplicação de um revestimento edível.	18
Figura 5. Revestimento pelo método layer-by-layer. Adaptado de Bachner et al., 2008.....	19
Figura 6. Estrutura química do quitosano. Retirado de (El-hefian & Yahaya, 2010).....	20
Figura 7. Estrutura química da pectina. Retirado de Chan et al., 2017.	21
Figura 8. Representação esquemática dos diferentes tipos de comportamento de um fluido (El-hefian & Yahaya, 2010).....	26
Figura 9. Tipos de comportamentos dos fluidos não-newtonianos (Vieira & Peres, 2012).	26
Figura 10. Calendário de produção dos frutos pertencentes à Bfruit (“Bfruit,” n.d.).....	30
Figura 11. Evolução dos padrões associados ao BRC (Standards, 2018).	32
Figura 12. Reómetro utilizado na análise da reologia.	34
Figura 13. Micrómetro digital.	35
Figura 14. Representação esquemática da medição do ângulo de contacto pelo método da gota séssil.	36
Figura 15. Texturómetro.	37
Figura 16. Colorímetro.....	38
Figura 17. Cromatógrafo gasoso.	39
Figura 18. Microscópio eletrónico de varrimento	40
Figura 19. Método de imersão em cada solução de revestimento.	41
Figura 20. Teste de perfuração com sonda P2 no texturómetro.	42
Figura 21. Teste de compressão com sonda PA-25 no texturómetro.	43
Figura 22. Potenciómetro.	45
Figura 23. Refratómetro.....	46
Figura 24. Gráfico da viscosidade (η) versus taxa de deformação (γ) para as três formulações, quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1).	50
Figura 25. Filmes de quitosano com diferentes percentagens de concentração: A (1 %), B (1,5 %), C (2 %).	51

Figura 26. Filmes de pectina com diferentes percentagens de concentração: A (1 %), B (1,5 %), C (2 %).	52
Figura 27. Filme da mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) após otimização.	52
Figura 28. Imagens da superfície e do corte transversal dos filmes edíveis: quitosano 1,5 % (w/w) (A1 e A2, respetivamente), pectina 1,5 % (w/w) (B1 e B2, respetivamente) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) (C1 e C2, respetivamente).	53
Figura 29 . Perda de massa das framboesas sem revestimento e com as três formulações: quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p<0,05$).....	55
Figura 30. Perda de massa do revestimento de quitosano 1,5 % (w/w) e pectina 1,5 % (w/w) durante o período de armazenamento.	56
Figura 31. Firmeza das framboesas sem revestimento e com as três formulações: quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p<0,05$).	58
Figura 32. Compressão das framboesas sem revestimento e com as três formulações: quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p<0,05$).	59
Figura 33. Variação da cor em framboesas sem revestimento ao dia 0, 4, 7 e 11 de armazenamento.	60
Figura 34. Variação da cor em framboesas revestidas com 1,5 % de quitosano ao dia 0, 4, 7 e 11 de armazenamento.	61
Figura 35. Variação da cor em framboesas revestidas com 1,5 % de pectina ao dia 0, 4, 7, e 11 de armazenamento.	61
Figura 36. Variação da cor em framboesas revestidas com 1,5 % de quitosano e 1,5 % de pectina ao dia 0, 4, 7, e 11 de armazenamento.	61
Figura 37. Avaliação da tonalidade angular das framboesas sem revestimento e com as três formulações: quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras	

maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).....	63
Figura 38. Avaliação do brilho das framboesas sem revestimento e com as três formulações: quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).....	63
Figura 39. Framboesas revestidas com mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1)....	64
Figura 40. Análise do decaimento nas framboesas sem revestimento e com as três formulações, quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).....	65
Figura 41. Variação do pH das framboesas sem revestimento e com as três formulações, quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).....	67
Figura 42. Variação da acidez titulável, em miliequivalentes de ácido cítrico, das framboesas sem revestimento e com as três formulações, quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).....	68
Figura 43. Variação da quantidade de sólidos solúveis totais (SST) nas framboesas sem revestimento e com as três formulações, quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).....	69
Figura 44. Gráfico radar da análise visual e sensorial das framboesas (sem revestimento, quitosano e pectina) no tempo 0.	70
Figura 45. Gráfico radar da análise visual e sensorial das framboesas (sem revestimento, quitosano e pectina) após 5 dias de armazenamento.....	70

Figura 46. Projeção de variáveis após análise de PCA para as framboesas sem revestimento, com revestimento de quitosano e pectina.	71
Figura 48. Evolução das framboesas sem revestimento (1º linha), com revestimento de quitosano 1,5 % (w/w) (2º linha), quitosano e agente antifúngico 0,05 % (w/w) (3º linha) e quitosano com agente antifúngico 0,1 % (w/w) (4º linha) ao longo dos dias 0,2,5,7,9,11 e 14 de armazenamento.....	73
Figura 49. Evolução das framboesas com revestimento de pectina 1,5 % (w/w) (1º linha), pectina e agente antifúngico 0,05 % (w/w) (2º linha) e pectina com agente antifúngico 0,1 % (w/w) (3º linha) ao longo dos dias 0,2,5,7,9,11 e 14 de armazenamento.	74

Índice de Figuras em Anexos

Figura A 1 Exemplar da folha de controlo de qualidade da framboesa, na empresa Bfruit.	90
Figura A 2 Exemplar da folha de controlo de qualidade da groselha, na empresa Bfruit.....	91
Figura A 3 Exemplar da folha de controlo de qualidade do mirtilo, na empresa Bfruit.....	92

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Produção de frutos pequenos de baga em Portugal Continental	2
Tabela 2. Composição nutricional da framboesa (<i>Full Report (All Nutrients): 09302, Raspberries, raw, 2018</i>).....	9
Tabela 3. Parâmetros específicos de conservação por refrigeração para a framboesa (Oliveira, 2007c)	13
Tabela 4. Aplicação de revestimentos edíveis em frutos e vegetais (Vargas, Pastor, Albors, & Chiralt, 2008).....	15
Tabela 5. Equações dos vários modelos de reologia	27
Tabela 6. Defeitos na categoria de fruta fresca (Bfruit, 2017)	30
Tabela 7. Concentração e quantidades a usar para obtenção dos filmes/revestimentos.....	34
Tabela 8. Parâmetros para o teste de perfuração das framboesas com e sem revestimento.....	42
Tabela 9. Parâmetros para o teste de compressão das framboesas com e sem revestimento	43
Tabela 10. Valores médios e respetivos desvios padrões dos parâmetros dos modelos de viscosidade das formulações utilizadas durante o estudo e valores de viscosidade a duas taxas de deformação diferentes; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)	49
Tabela 11. Valores médios e respetivos desvios padrões da permeabilidade ao vapor de água obtidos como resultado do estudo conjunto realizado pelo aluno Vítor Silva; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)	56
Tabela 12. Valores médios e respetivos desvios padrões da medição dos ângulos de contacto no tempo 0 e após 10 segundos de contacto da gota de água com o filme, obtidos como resultado do estudo conjunto realizado pelo aluno Vítor Silva; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)	57
Tabela 13. Valores médios e respetivos desvios padrões da taxa de alongação e resistência à tração obtidos como resultado do estudo conjunto realizado pelo aluno Vítor Silva; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)	60
Tabela 14. Valores de ΔE entre framboesas revestidas e o controlo durante os vários dias de armazenamento	62
Tabela 15. Valores de ΔE em frutos sem revestimento, ao longo do armazenamento	62

Tabela 16. Valores médios e respetivos desvios padrões da medição da opacidade dos filmes obtidos como resultado do estudo conjunto realizado pelo aluno Vítor Silva; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)	65
Tabela 17. Valores médios e respetivos desvios padrões da permeabilidade ao oxigénio dos filmes, obtidos como resultado do estudo conjunto realizado pelo aluno Vítor Silva; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)	66
Tabela 18. Contribuição das variáveis em cada fator após análise por PCA.....	72
Tabela 19. Contagem de framboesas danificadas/inviáveis ao longo de vários dias de armazenamento, comparativamente ao total de frutos iniciais.....	75
Tabela 20. Valores de unidades formadoras de colónias para as amostras de framboesas sem revestimento, com revestimento de quitosano e com revestimento de quitosano e agente antifúngico a 0,05 % (w/w).....	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- INE – Instituto Nacional de Estatística
- BRC – Consórcio de Retalho Britânico (*British Retail Consortium*)
- GPP – Gabinete de Planeamento e Políticas
- DDR – Dose Diária Recomendada
- CA – Embalagem em atmosfera controlada (*Controlled Atmosphere*)
- MAP – Embalagem em atmosfera modificada (*Modified Atmosphere Packaging*)
- MC – Metilcelulose
- PEG – Polietilenoglicol
- CMC – Carboximetilcelulose
- IPS – Isolado de soro de proteína
- LbL – Camada por camada (*Layer-by-layer*)
- GRAS – Geralmente Reconhecido como Seguro (*Generally recognized as safe*)
- CFR – Código das Regulações Federais (*Code of Federal Regulations*)
- FDA – Administração de Alimentos e Medicamentos (*Food and Drug Administration*)
- GFSI – Iniciativa Global de Segurança Alimentar (*Global Food Safety Initiative*)
- HACCP – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo (*Hazard Analysis and Critical Control Point*)
- APPCC – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo
- AOAC – Métodos de Análise Oficiais (*Official Methods of Analysis*)
- NaOH- Hidróxido de sódio
- HCl- Ácido clorídrico
- SEM – Microscópio Eletrónico de Varrimento (*Scanning Elétron Microscope*)
- EDS – Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raio-X (*Energy Dispersive X-ray Spectroscopic*)
- SST – Sólidos solúveis totais
- PCA – Análise dos Principais Componentes (*Principal Components Analysis*)
- UFC – Unidades formadoras de colónias

LISTA DE SÍMBOLOS

W_e – Capacidade molhante (*wettability*)

W_a – Coeficiente de adesão

W_c – Coeficiente de coesão

WVTR – Taxa de transferência de vapor de água (*Water Vapor Transmission Rate*)

ρ^S – Massa volúmica

δ – Espessura do filme

L – Espessura do revestimento

A – Área exposta

ΔP – Gradiente de pressão de vapor

T_g – Temperatura de transição vítrea

m – Massa inicial

m_f – Massa final

τ – Tensão de rutura

μ_N – Viscosidade Newtoniana

γ – Taxa de deformação

k – índice de consistência

n – Índice de comportamento

τ_{yB} – Tensão de rutura de Bingham

μ_{PL} – Viscosidade plástica

τ_{HB} – Tensão de rutura de Herschel - Bulkley

TH – Teor de humidade

ΔE – Diferença de cor

L_{filme} – Grau de luminosidade do filme

L_{standard} – Grau de luminosidade padrão

a_{filme} – Parâmetro de cor do filme

a_{standard} – Parâmetro de cor padrão

b_{filme} – Parâmetro de cor do filme

b_{standard} – Parâmetro de cor padrão

P_{O_2} – Permeabilidade ao oxigénio

C_{O_2} - Concentração de oxigénio

f - Fluxo

h - Tom de vermelho

m_1 - Massa determinada no dia 0

m_2 - Massa determinada em cada dia de armazenamento

TA - Acidez titulável (*Titratable Acidity*)

V_{NaOH} - Volume de hidróxido de sódio

M_{NaOH} - Massa molar do hidróxido de sódio

$MF_{\text{ácido cítrico}}$ - Fator miliequivalente do ácido cítrico (*Milliequivalent Factor*)

W_{fruto} - Massa do fruto (*weight*)

η_{100} - Valor de viscosidade com tensão = 100 s^{-1}

η_2 - Valor de viscosidade com tensão = 2 s^{-1}

1. INTRODUÇÃO

1.1 Motivação

Cada vez mais os consumidores decidem optar por um estilo de vida saudável, dando preferência a alimentos mais saudáveis e ricos nutricionalmente e que demonstrem efeitos na saúde humana. Um exemplo desses alimentos são os frutos vermelhos onde se insere a framboesa. Este fruto, para além do seu baixo valor calórico, tem outras vantagens a nível de compostos nutricionais - elevados teores de sais minerais, vitaminas C, B1, B2, B6, provitamina A, presença de pectina, celulose e ácido salicílico. Apresenta ainda antioxidantes flavonóides como o ácido cafeico e ferúlico (que ajudam no combate a certas doenças), sendo esta a característica pela qual são maioritariamente reconhecidos e valorizados (*Pequenos Frutos Vermelhos - Mirtilo e Framboesa, Amora e Groselha*, 2018).

Contudo apesar dos benefícios, a framboesa apresenta um tempo de prateleira (tempo entre a colheita e o consumo ou transformação, permanecendo seguro, saudável, salubre, salutar e sob condições recomendadas) reduzido (Garcia & Barrett, 2005), o que torna este fruto perecível num curto espaço de tempo. Este desafio associado ao seu elevado valor comercial (6,65 €/kg) (Carlos Caldeira, 2018) foi o motivo pelo qual se procurou encontrar uma solução para reduzir estas limitações.

1.2 Enquadramento Geral e Objetivos

Hoje em dia é visível a crescente procura pelos pequenos frutos, nomeadamente, amora, mirtilo, framboesa, morango, entre outros. Esta procura deve-se às propriedades que estes frutos possuem, sendo a capacidade antioxidante a mais evidenciada e apreciada, pois está intimamente ligada a um estilo de vida mais saudável. Estudos comprovam que o alto teor em fitoquímicos, essenciais para a melhoria da saúde humana e proteção contra certas doenças, são o principal impulsionador para o crescimento do mercado (Rodríguez-Casado, 2016).

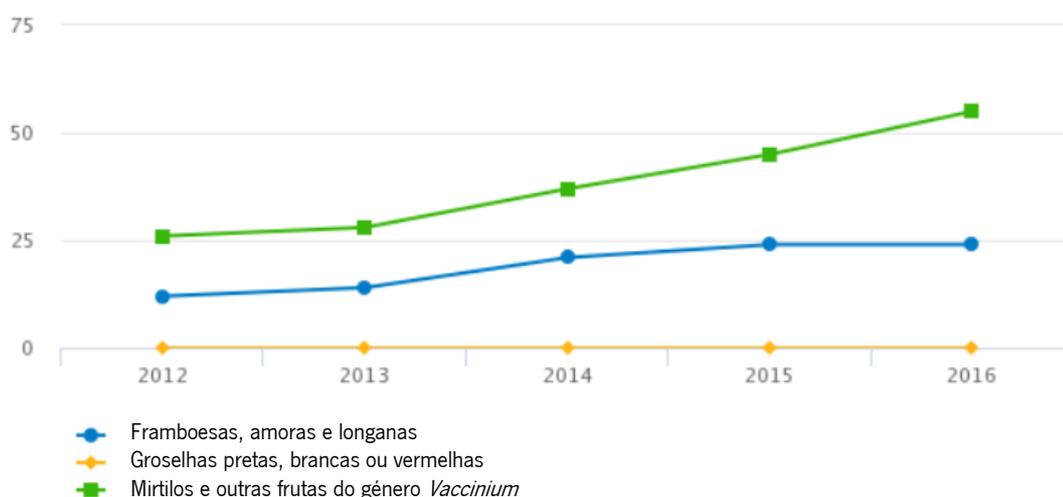
Em Portugal Continental, o consumo de framboesa tem aumentado consideravelmente, quer em fresco, quer na forma de sumos de fruta e sobremesas, entre outros (Almeida, 2012). Segundo o Instituto Nacional de Estatística (INE), a produção de pequenos frutos de baga, ou seja, amora, mirtilo, framboesa e groselha aumentou significativamente entre 2014 e 2017, tendo no caso da framboesa aumentado cerca de 3,8 vezes, como pode ser verificado na Tabela 1 (Instituto Nacional de Estatísticas, 2018).

Tabela 1. Produção de frutos pequenos de baga em Portugal Continental

Frutos pequenos de baga	Superfície				Produção			
	2014	2015	2016	2017	2014	2015	2016	2017
	Hectares				Toneladas			
Amora	44	88	120	126	279	617	752	1 040
Framboesa	450	775	911	1 108	4 697	12 659	16 972	17 880
Mirtilo	823	1 325	1 481	1 703	1 824	4 436	6 572	9 840
Groselha	67	106	107	117	134	221	293	388

As condições climáticas e pedológicas (solos bastante arenosos e bem drenados) que Portugal apresenta, constituem uma mais-valia para a produção destes pequenos frutos, permitindo a sua cultura ao ar livre e durante todo o ano (Kempler, 2004). Contudo, em algumas regiões do litoral norte a sua produção é mais privilegiada na Primavera devido a temperaturas mais amenas e estáveis. Na região centro e sul, com Invernos amenos e temperaturas mais estáveis, o cultivo pode-se efetuar todo o ano, no entanto, utilizam-se frequentemente métodos alternativos ao ar livre (em túnel, por exemplo), de forma a garantir uma produção contínua que permita o abastecimento ao mercado Europeu, que é considerado o consumidor por excelência de pequenos frutos (da Cruz Pereira Batista, 2015; Martins, 2016).

Relativamente à importação de pequenos frutos de baga, esta aumentou consideravelmente entre 2012 e 2016 como é possível constatar na Figura 1 (CBI, 2018).



Source: Market Access Database

Figura 1. Importação Europeia de pequenos frutos, por variedade, entre 2012 e 2016 (por 1000 toneladas). Retirado de CBI, 2018.

Os primeiros ensaios de cultivo foram iniciados em meados da década de 80, tendo as primeiras empresas de cultivo de amora e framboesa surgido poucos anos depois. Atualmente, e com o contínuo crescimento e desenvolvimento do setor alimentar, a produção encontra-se em expansão tendo o mercado externo como o principal destino (Martins, 2016; Teixeira Machado, 2016).

Estes frutos são extremamente perecíveis uma vez que estão facilmente sujeitos a danos físicos, ataque de microrganismos (em particular de fungos) e apresentam uma elevada taxa metabólica, o que contribui para o seu rápido amadurecimento.

No caso do produto fresco, este apresenta um tempo de prateleira relativamente curto (normalmente inferior a duas semanas após colheita), o que dificulta a sua exportação para países que careçam de um tempo de transporte mais prolongado. Para evitar estas limitações, têm sido realizados estudos de métodos de preservação e conservação, para que estes frutos se possam conservar por períodos de tempo superiores, permitindo aumentar o tempo de prateleira e com isto o nível da exportação das empresas produtoras (Almeida, 2012; Teixeira Machado, 2016).

O presente projeto foi realizado em parceria com a empresa Bfruit – Comércio Internacional de frutas, S.A., que forneceu a framboesa para a realização dos estudos. A procura de soluções para o aumento do tempo de prateleira dos seus produtos é algo que a Bfruit tenta implementar, contrariando a elevada perecibilidade. Assim, a Bfruit aceitou a proposta de aplicar um revestimento edível na framboesa, fornecendo as instalações, o fruto e todo o apoio necessário à concretização do estudo.

Numa primeira fase, foram desenvolvidas formulações com diferentes polissacarídeos (quitosano, pectina e mistura de quitosano com pectina) em diferentes concentrações. Com base na análise visual dos filmes, nomeadamente a facilidade com que se destacavam das placas de Petri e a sua fragilidade/quebrabilidade, optou-se por selecionar a concentração de 1,5 % (*w/w*). Tendo ainda em consideração as limitações que a framboesa apresenta, os problemas que a empresa pretende colmatar, a legislação associada aos pequenos frutos (“Regulamento (UE) N° 1129/2011 da Comissão de 11 de Novembro de 2011,” 2011) e os resultados dos testes laboratoriais efetuados ao filme e à framboesa já revestida, desenvolveu-se a formulação final.

Após uma análise ao filme e à framboesa revestida foi realizado um teste de controlo de decaimento da framboesa ao longo do tempo. Para tal, foi avaliado o efeito de um agente antifúngico (benzoato de sódio) adicionado ao revestimento selecionado (pectina e quitosano), em duas concentrações diferentes (0,05 e 0,1 %) de acordo com estudos previamente efetuados onde demonstraram a eficácia deste agente na inibição do crescimento microbiano de *Botrytis cinerea* (Treviño-Garza, García, Flores-González, & Arévalo-Niño, 2015). Com isto pretendeu-se o

desenvolvimento de um revestimento ativo, para além da sua natureza edível. O objetivo deste teste consistiu na avaliação visual da performance deste agente na prevenção do desenvolvimento e proliferação de fungos e conseqüentemente na degradação do fruto. Após este estudo, foram efetuadas análises microbiológicas à framboesa a fim de corroborar os resultados obtidos na avaliação visual feita previamente.

Paralelamente, na área da Qualidade, na empresa Bfruit, foi realizada a revisão da norma BRC - *British Retail Consortium Global Standards* - e o acompanhamento do controlo da qualidade de outros frutos além da framboesa. A norma referida já se encontra implementada, contudo, há certos procedimentos a serem revistos e melhorados, nomeadamente no processo de produção.

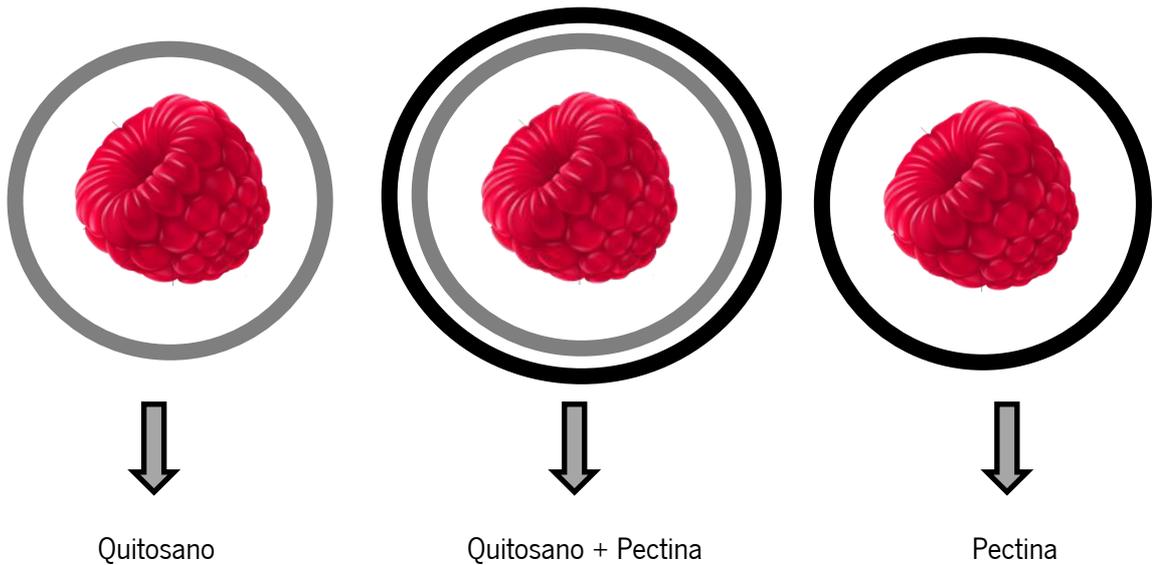
A BRC é um padrão internacional de sistemas de gestão de segurança alimentar, garantindo a padronização da qualidade, segurança e critérios operacionais. Estes padrões são, na maioria das vezes, requisitos fundamentais e que devem ser postos em prática pelos principais produtores ou empresas que façam o manuseamento de produtos alimentares garantindo o cumprimento de todas as obrigações legais e, protegendo desta forma o próprio consumidor (Standards, 2018).

Assim, este trabalho teve como principal objetivo aumentar o tempo de vida da framboesa e, ao mesmo tempo, criar condições para manter ou se possível melhorar a qualidade nutricional e organoléptica deste fruto. De forma indireta, pretende-se que este trabalho possa fomentar a comercialização e consumo da framboesa pela população, por um período de tempo mais alargado ao que se verifica atualmente. Em parceria com a empresa Bfruit, outro objetivo centrou-se na implementação da norma BRC e revisão de alguns procedimentos essenciais ao bom funcionamento da empresa indo de acordo ao estipulado na norma.

1.3 *Overview* do projeto

Todo o processo e passos deste projeto encontram-se especificados e esquematizados abaixo.

1. Teste de várias concentrações em filmes de quitosano, pectina e junção de ambos para posterior aplicação na framboesa (concentrações testadas – 1, 1,5 e 2 %);
2. Seleção, com base em análises visuais (facilidade com que os filmes se destacam das placas de Petri e a sua fragilidade/quebrabilidade), da melhor concentração (1,5 %) de polissacarídeo a usar na framboesa;
3. Aplicação das 3 formulações a 1,5 % (*w/w*) nas framboesas:



4. Realização de vários testes às framboesas revestidas (a-h) e ao filme de cada formulação (i-n):
 - a. Análise de cor;
 - b. Análise de decaimento;
 - c. Perda de peso;
 - d. Compressão;
 - e. Perfuração;
 - f. Variação de pH;
 - g. Análise de sólidos solúveis totais;
 - h. Análise de acidez titulável;
 - i. Massa volúmica, solubilidade e teor de humidade;
 - j. Hidrofobicidade da superfície;
 - k. Propriedades mecânicas;
 - l. Cor e opacidade;
 - m. Propriedades de barreira;
 - n. Propriedades antioxidantes.

5. Escolha do melhor revestimento com base na análise estatística dos resultados obtidos;

6. Seleção e aplicação de um agente antifúngico natural com atividade descrita contra os principais fungos da framboesa;

- Dois revestimentos: Quitosano e Pectina
- Agentes fúngicos disponíveis:
 - Óleos essenciais (por exemplo: ácido oleico)
 - Químicos naturais (por exemplo: sorbato de potássio, metilparabeno, benzoato de sódio, propilparabeno, ácido sórbico)



NOTA: Incorporação do benzoato de sódio como agente antifúngico quer na solução de quitosano quer na de pectina (os testes efetuados ao filme foram realizados paralelamente aos da framboesa revestida).

7. Análise visual do decaimento nas framboesas ao longo de vários dias de amostragem – 0, 2, 4, 6, 8, 10 (...) dias;

DECISÃO: Usar/Não usar o agente antifúngico; qual o melhor revestimento a impedir a proliferação; qual a melhor concentração de agente antifúngico.

a) Análise microbiológica - LabiAgro (amostras sem revestimento, amostras com formulação, amostras com formulação e agente antifúngico; tempo de amostragem = início da proliferação com base no controlo de decaimento feito previamente). **CONCLUSÕES:** Se o revestimento é eficaz na extensão do tempo de prateleira; se é eficaz contra a proliferação de fungos; se é eficaz na melhoria da qualidade do fruto.

1.4 Fundamentos Teóricos

Como já foi referido anteriormente, a demanda por pequenos frutos é algo notório desde que a população se tornou mais consciencializada relativamente à adoção de um estilo de vida saudável.

No geral, os frutos vermelhos são alimentos considerados bastante complexos e com vastos benefícios para a saúde humana, sendo uma excelente fonte de antioxidantes bem como de vitaminas do complexo B (niacina), beta-caroteno precursor de vitamina A, de vitamina C e de minerais como o potássio, ferro e manganês que ajudam a proteger contra doenças de pele, rins, nervos e até mesmo aparelho digestivo (*Pequenos Frutos Vermelhos - Mirtilo e Framboesa , Amora e Groselha*, 2018).

A nível nacional, e uma vez que o país possui excelentes condições de solo e clima, tem havido uma vasta produção de pequenos frutos ao longo dos anos.

1.4.1 Composição química dos frutos

A composição química destes pequenos frutos torna-os universalmente reconhecidos, afetando a intensificação do sabor, aroma e propriedades benéficas para a saúde.

Os constituintes químicos podem sofrer variações de fruto para fruto, uma vez que são influenciados pelo método de cultivo, localização, estado de maturação, formas de colheita e armazenamento. Os pigmentos de antocianinas são os responsáveis pelas cores apelativas destes frutos que variam desde vermelho ao roxo e até ao preto, em conjunto com sabores únicos e aromas distintos. Do mesmo modo, a sua composição em micronutrientes, como a vitamina C ou o ácido fólico, tem sido vastamente apreciada pelos consumidores pois são considerados excelentes fontes de fibras dietéticas. Contudo, mais recentemente a atenção tem-se focado nos designados compostos fitoquímicos, ou seja, componentes produzidos pela planta com propriedades bioativas podendo atuar sobre várias doenças crónicas. Os frutos como framboesa, amora, mirtilo e morango são ricos nestes componentes, particularmente, nos designados compostos fenólicos, onde estes demonstraram já ter capacidade para atuar contra o cancro e doenças cardiovasculares (Talcott, 2007).

1.4.2 Framboesa

As plantas de framboesa pertencem à família *Rosaceae*, sendo o seu nome científico *Rubus idaeus*. A sua produção ocorre nos cinco continentes com maior distribuição no hemisfério Norte, nomeadamente Ásia, Europa e América do Norte (Oliveira, 2007a).

Em Portugal, a ocorrência de zonas com condições edafo-climáticas, embora com área reduzida de produção, tornam o país líder europeu na criação de framboesas (Oliveira, 2007c). Este fruto apresenta características que o tornam muito procurado como a sua frescura, aparência, sabor e aroma, bem como o ponto de vista nutricional pois contém elevados teores de sais minerais, vitaminas C, B1, B2, B6, provitamina A, presença de pectina, celulose, ácido salicílico e antioxidantes flavonoides como o ácido cafeico e ferúlico.

Por estes motivos, o consumo da framboesa tem vindo a aumentar, contudo o seu consumo pela população em Portugal é ainda reduzido comparativamente ao resto do Mundo. Este é o principal motivo que leva as empresas produtoras deste pequeno fruto a apostarem mais na exportação, essencialmente para o Norte e Centro da Europa como é relatado nos dados do Gabinete de Planeamento e Políticas – GPP (*Pequenos Frutos Vermelhos - Mirtilo e Framboesa , Amora e Groselha*, 2018).

a. Caracterização botânica e morfológica

Do ponto de vista botânico, a framboesa corresponde a um agregado de drupéolas que se encontram unidas por um receptáculo comum. Como cada drupéola é, por si só, um fruto perfeito podemos dizer que a framboesa forma um fruto múltiplo de drupéolas, como se observa na Figura 2. No geral, apresenta uma forma cónica arredondada. Cada drupéola tem na sua constituição uma semente dura que se encontra envolvida por polpa (Oliveira, 2007a, 2007b).

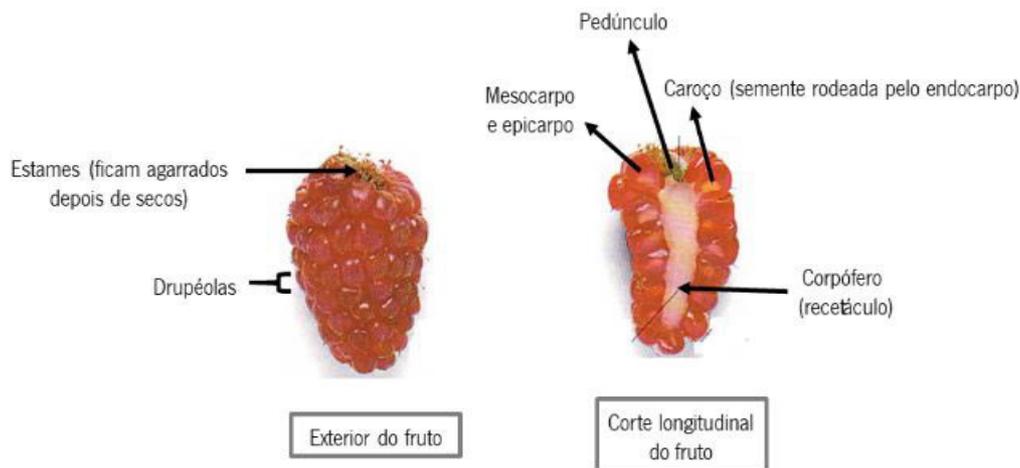


Figura 2. Morfologia da framboesa. Adaptado de: Oliveira, 2007b.

b. Composição nutricional e características bioquímicas

A framboesa é um fruto rico em micronutrientes e compostos bioativos como fenólicos, antocianinas, ácidos orgânicos, minerais e contém uma elevada quantidade de antioxidantes, o que as torna tão apreciadas e com elevado valor nutricional.

Este fruto é constituído essencialmente por água, aproximadamente 83-85 %, é pobre em teor lipídico, mas com uma boa quantidade de fibra. Apresenta ainda um valor de pH entre 3,22 e 3,95 e um valor de atividade da água superior ou igual a 0,98 (Bfruit, 2016). Nos frutos em estado de maturação avançado, predominam a água e os açúcares como frutose, glucose e sacarose, embora a maltose

também possa ser encontrada. A composição nutricional da framboesa, por 100 g de produto, está representada de forma detalhada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição nutricional da framboesa (*Full Report (All Nutrients): 09302, Raspberries, raw, 2018*)

Nutriente	Valor	Unidade
Água	85,750	g
Energia	220,000	kJ
Proteína	1,200	g
Lípidos	0,650	g
Cinzas	0,460	g
Hidratos de Carbono	11,940	g
Fibras	6,500	g
Açúcares	4,420	g
Sacarose	0,200	g
Glucose	1,860	g
Frutose	2,350	g
Minerais	Valor	Unidade
Cálcio	25,000	mg
Ferro	0,690	mg
Magnésio	22,000	mg
Fósforo	29,000	mg
Potássio	151,000	mg
Sódio	1,000	mg
Zinco	0,420	mg
Cobre	0,090	mg
Manganésio	0,670	mg
Selênio	0,200	µg
Vitaminas	Valor	Unidade
Vitamina C	26,200	mg
Tiamina	0,032	mg
Riboflavina	0,038	mg
Niacina	0,598	mg
Ácido pantoténico	0,329	mg
Vitamina B6	0,055	mg
Colina	12,300	mg
Betaína	0,800	mg
Vitamina A	2,000	µg

Caroteno, α	16,000	μg
Caroteno, β	12,000	μg
Luteína + Zeaxantina	136,000	μg
Vitamina E	0,870	mg
Tocoferol, β	0,060	mg
Tocoferol, γ	1,420	mg
Tocoferol, δ	1,040	mg
Vitamina K	7,800	μg
Lípidos	Valor	Unidade
Ácidos gordos saturados	0,019	g
Ácidos gordos insaturados	0,064	g

O desenvolvimento dos frutos inicia-se com a formação dos gomos e, estende-se até à fase de maturação. Durante o seu desenvolvimento ocorre uma série de reações que alteram as características da framboesa, como por exemplo a mudança de cor (Figura 3). Assim, um produtor que pretenda frutos de qualidade durante a comercialização e exportação poderá selecionar entre o estado S_1 e S_2 . No caso da venda próxima do local de produção selecionará frutos no estágio S_3 (Oliveira, 2007b).

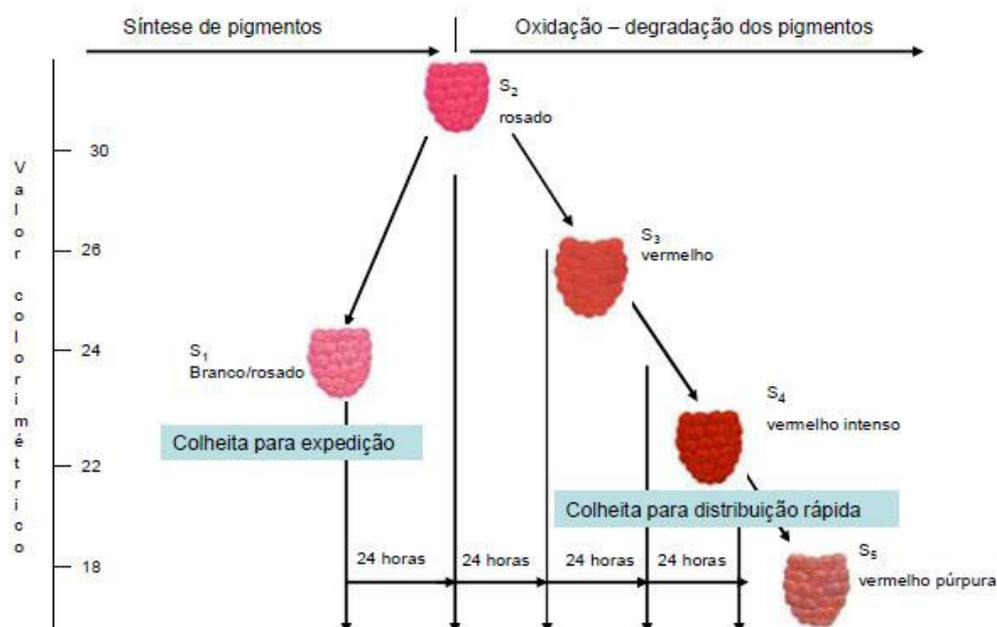


Figura 3. Evolução objetiva da cor e do estado de maturação. Retirado de Oliveira, 2007b.

Após o pleno desenvolvimento do fruto inicia-se o processo de maturação, onde ocorrem transformações mais intensas em várias características como a textura, sabor, cor, acidez, desaparecimento de adstringência e formação de açúcares.

Os ácidos orgânicos, essencialmente o cítrico e o málico, são os responsáveis pelo aroma e sabor dos frutos e são o segundo maior grupo que contribui para a quantidade de sólidos solúveis. Para além destas características, os ácidos orgânicos ainda afetam o pH celular e originam o aparecimento de diferentes pigmentos no interior dos tecidos. Ao longo da maturação da framboesa, a quantidade destes ácidos tende a diminuir pois são usados como fonte de energia na respiração e de carbono para a síntese de açúcares (Oliveira, 2007b).

A relação que existe entre açúcares e ácidos influencia o paladar do fruto, uma vez que ao longo da maturação estes evoluem de forma inversa, podendo ser um fator de distinção do estado de maturação em que está a fruta. Contudo, este não é necessariamente um indicador para aferir a qualidade gustativa do fruto, uma vez que um baixo teor de açúcares não implica a existência de alto teor de ácidos, o que por si só indicaria fraca qualidade da framboesa.

Ao longo do processo de maturação também se desenvolvem compostos voláteis, responsáveis pelo aroma, e não voláteis, como os constituintes fenólicos, com especial atenção para as antocianinas pelo seu poder antioxidante (Oliveira, 2007b).

De todas as qualidades e efeitos benéficos da framboesa já mencionadas, destacam-se ainda as seguintes vantagens:

- baixo valor calórico (49 kcal por 100 g);
- boa quantidade de sais minerais onde por cada 100 g de framboesa é possível encontrar 150 mg a 220 mg de potássio, 25 mg a 41 mg de cálcio, 22 mg de magnésio e 0,5 mg a 1,2 mg de ferro;
- rica em vitamina C tendo um valor de aproximadamente 30 % da dose diária recomendada (DDR);
- um elevado teor de fibras onde 4 g a 7 g por 100 g de produto;
- as suas folhas são ricas em taninos, pectinas, óleos essenciais e ácido cítrico que, quando cozinhadas, têm um efeito descongestionante;
- combatem a retenção de líquidos, protegem o cabelo, as unhas e a pele, e ainda contribuem para a libertação de toxinas pelo organismo ("Framboesa," 2016; Oliveira, 2007b).

c. Problemas associados aos pequenos frutos

Os frutos são considerados tecidos vivos até ao momento em que são consumidos frescos, cozinhados ou processados para preservação. Após a colheita, e durante o armazenamento, ocorrem várias alterações físicas e químicas, como o aumento da taxa de respiração, produção de etileno e transpiração.

A respiração ocorre por conversão do oxigénio em dióxido de carbono e durante este processo, os compostos orgânicos do fruto, essencialmente hidratos de carbono, convertem-se em água e dióxido de carbono, sendo ao mesmo tempo libertada energia permitindo manter a produção eficaz (Bai & Plotto, 2012). Esta atividade está dependente da temperatura de armazenamento, do processamento, da razão entre oxigénio e dióxido de carbono e ainda do valor absoluto da concentração de oxigénio (Pavlath & Orts, 2009).

Relacionada com a taxa de respiração, está a classificação dos frutos em climatéricos ou não-climatéricos. Os primeiros são frutos em que o processo de maturação e amadurecimento ocorre de forma constante mas gradual, ao contrário do outro tipo que, após serem colhidos, o processo de amadurecimento ocorre rapidamente por mudanças nos constituintes hormonais (Bai & Plotto, 2012). Esta taxa aumenta dependendo do decaimento do fruto, do seu processamento e ainda da temperatura à qual é armazenada (Garcia & Barrett, 2005). Outro fator responsável pelo aumento da taxa de respiração e, conseqüentemente um rápido amadurecimento e senescência do fruto, é a produção do gás etileno. Este é responsável por regular o crescimento, mas também reduzir o tempo de vida útil dos frutos, escurecer e diminuir a firmeza das superfícies e ainda aumentar a sensibilidade, quer a danos físicos, quer a ataques por patogénicos.

Por fim, outro aspeto fisiológico é a transpiração, ou seja, perda de água através dos tecidos. Se não for repostada, provoca uma diminuição no peso (valor comercial) e alteração da aparência dos frutos. Danos no fruto, estado de maturação e fatores ambientais como temperatura e humidade, são alguns dos fatores que influenciam a transpiração (Azevedo, 2007).

Todos estes aspetos fisiológicos acabam por ter conseqüências nas características dos frutos, como perda de firmeza, sabor e escurecimento na superfície, acabando por diminuir a sua qualidade e tempo de prateleira.

No que diz respeito aos pequenos frutos existem ainda alguns aspetos a considerar que podem influenciar o seu tempo de vida. Um destes é a temperatura, que deve ser regulada para valores de 0 °C, para a maioria dos pequenos frutos, embora se possa atingir aos 5 °C. A baixas temperaturas, a taxa de respiração e a atividade enzimática diminuem e, no geral, a taxa metabólica também sofre uma

redução permitindo aumentar o tempo de vida, motivo pelo qual a temperatura ideal para conservação destes frutos seja próxima de 0 °C.

O uso de atmosferas controladas (CA) ou embalagens com atmosferas modificadas (MAP) que controlam a percentagem de gases como o oxigénio e o dióxido de carbono, também podem contribuir para aumentar o tempo de vida útil dos frutos, pois permitem um maior controlo sobre a taxa respiratória. A humidade relativa é também outro fator importante, e deve rondar os 90 % para minimizar as perdas de água e consequentemente diminuição de turgescência celular (Watada, Ko, & Minott, 1996).

A framboesa, como é considerada um fruto bastante perecível e com elevada taxa de respiração, necessita de uma refrigeração adequada durante o armazenamento. Na Tabela 3 são apresentadas as condições de conservação por refrigeração ideais para a framboesa (Oliveira, 2007b).

Tabela 3. Parâmetros específicos de conservação por refrigeração para a framboesa (Oliveira, 2007c)

Temperatura de refrigeração	Humidade Relativa	Duração de conservação	Calor de respiração	Ponto de congelação
(°C)	(%)	(dias)	(kcal/dia)	(°C)
0	90 a 95	3 a 5	970 a 1900	-0,6 a 1,0
20	-	-	7000 a 15000	-

Após a colheita, as framboesas perdem firmeza facilmente e esta perda de firmeza é influenciada pelo tamanho do fruto, número e dimensão das drupéolas e tamanho da cavidade do recetáculo. Durante o armazenamento, este fruto também sofre alteração da cor, escurecendo e ganhando uma tonalidade mais azulada, em vez da cor vermelha pela qual são reconhecidas. Tal deve-se à produção de antocianinas e diminuição do valor de pH.

Devido à perda de água durante o armazenamento, a quantidade de sólidos solúveis aumenta enquanto a acidez titulável diminui, ou seja, o balanço entre a quantidade de açúcares e de acidez afeta a qualidade sensorial deste tipo de fruto. Outro aspeto a considerar após colheita é o ataque por patogénicos que origina o decaimento do fruto. Neste caso, o patogénico mais comum é *Botrytis cinerea* sendo facilmente identificado por uma massa cinzenta e de consistência mole que se desenvolve sobre a framboesa. Todos os pequenos frutos têm peles macias o que facilita o ataque por patogénicos. A framboesa tem uma estrutura bastante frágil devido à cavidade do recetáculo, que se encontra aberta, permitindo a entrada e ataque dos patogénicos. Para controlar o decaimento, após colheita, deve ser feito um resfriamento rápido e completo, seguido de um armazenamento com as condições adequadas – Tabela 3. Os esporos de *Rhizopus* também podem contaminar estes frutos, pois estão presentes no

ar e facilmente se espalham, contudo, este fungo não cresce a temperaturas abaixo dos 5 °C sendo este o fator que melhor permite controlar a sua proliferação.

Para além destes microrganismos também pode ocorrer contaminação por *Cladosporium herbarum* que causa manchas pretas sobre a superfície do fruto ou lesões que diminuem a vida útil do mesmo (Barkai-Golan, 2001). *Arthuriomyces peckianus* causa o efeito ferrugem, ou seja, umas manchas amarelas nas folhas que podem proliferar para o fruto. Durante os processos pós-colheita e armazenamento também podem ocorrer perdas em termos nutricionais, devido a tempos prolongados de armazenamento, altas temperaturas, baixos valores de humidade relativa e danos físicos (Mitcham, 2007).

Para obviar todos estes problemas associados à pós-colheita e, como forma de aumentar o tempo de vida útil dos pequenos frutos, várias técnicas têm sido desenvolvidas como a CA e MAP, já referidas, evitando as perdas de qualidade e quantidade. Contudo, os revestimentos edíveis são uma boa alternativa aos anteriores, pois conseguem modificar e controlar a atmosfera do fruto onde são aplicados (Dhall, 2016). Isto é conseguido pelo facto de o revestimento conferir uma barreira semipermeável à passagem de água e gases, regulando assim a taxa de transferência de humidade e gases, como o oxigénio e o dióxido de carbono, retendo os componentes responsáveis pelo aroma e sabor no alimento e melhorando as propriedades mecânicas dos produtos alimentares durante o processamento (Lin & Zhao, 2007).

2. REVESTIMENTOS EDÍVEIS

2.1 Definição e aplicações

Um revestimento edível pode ser definido como um embalamento primário feito de componentes edíveis. Este pode ser aplicado diretamente no alimento (revestimento) ou através de uma película (filme) formada por secagem da solução de bio polímero preparada separadamente do alimento e sendo posteriormente aplicando, tendo a opção de a remover na hora do consumo (Pinheiro et al., 2010). Os principais objetivos destes revestimentos são a melhoria das propriedades de barreira à humidade e a trocas gasosas, das propriedades mecânicas, das perceções sensoriais e ainda a proteção contra ataques microbianos, tendo em vista o aumento do tempo de prateleira dos produtos (Pascall & Lin, 2013).

Os revestimentos podem ainda ser usados como transportadores de compostos bioativos, como agentes antimicrobianos, anti-escurecimento, corantes, melhoradores de textura, entre outros (Dhall, 2016). Na Tabela 4 encontram-se resumidas várias aplicações de revestimentos utilizadas em frutos e vegetais.

Tabela 4. Aplicação de revestimentos edíveis em frutos e vegetais (Vargas, Pastor, Albors, & Chiralt, 2008)

Tipo de Revestimento	Composição	Aplicação	Principais resultados
Polissacárido	Quitosano e Tween 80	Frutos: morangos, framboesa, cereja, tomate, uvas passas, litchi, pêssigo, kiwi; vegetais: cenoura, alface	Redução da infeção por fungos, retenção da firmeza do fruto e extensão do tempo de prateleira
Polissacárido	Alginato Alginato e glicerol	Frutos (maçã), vegetais (cogumelos, cebolas)	Extensão do tempo de prateleira, redução das perdas de água e melhoria da aparência
Polissacárido	Extrato de mucilagem de cacto e glicerol	Frutos (cereja, uvas passas)	Extensão do tempo de prateleira mantendo as propriedades sensoriais
Polissacárido	Gel de <i>Aloe vera</i>		Extensão do armazenamento

Proteína	Proteína de soja, glicerol, ácido málico, ácido láctico	Frutos: maçã	Nenhum efeito significativo na qualidade sensorial
Proteína-Polissacarídeo	Carboximetilcelulose (CMC), isolado de proteína de soro (IPS), caseína e glicerol	Frutos: morangos	Redução da proliferação de bolores
Polissacarídeo	Metilcelulose (MC) e glicerol	Frutos: morango e abacate	Atraso da senescência
Polissacarídeo	Médio ou alto conteúdo de amido de milho e glicerol	Frutos: morango	Atraso da senescência e melhoramento nas condições organolépticas gerais
Polissacarídeo	Metilcelulose (MC), ácido esteárico, ácido palmítico e polietilenoglicol (PEG)	Frutos: morango; vegetais: feijão	Redução da perda de peso
Polissacarídeo	Quitosano, MC, Tween 80	Frutos: morango	Atraso na senescência
Polissacarídeo – Lípido	Pullulan, éster de ácido gordo de sucrose não-iônico e sorbitol	Frutos: Morango, kiwi	Redução do oxigênio interno, retenção da firmeza e cor; aumento do etileno interno nos kiwis
Polissacarídeo – Lípido	Maltodextrina, carboximetilcelulose (CMC), estéres de ácidos gordos Benzoato de sódio	Frutos: manga	Extensão do armazenamento pós-colheita
Polissacarídeo – Lípido	Hidroximetilpropilcelulose, goma-laca, ácido esteárico e glicerol	Frutos: ameixa	Efeitos apenas no longo tempo de armazenamento
Polissacarídeo – Lípido	MC, PEG, ácido esteárico, ácido cítrico e ácido ascórbico	Frutos: alperce; vegetais: pimento verde	Diminuição da perda de água
Polissacarídeo – Lípido	Quitosano, ácido oleico e Tween 80	Frutos: morangos	Atraso na senescência e na infecção por fungos

Polissacarídeo – Lípido	CMC, cera de parafina, cera de abelha, óleo de soja, ácido oleico e oleato de sódio	Frutos: mandarina, pêssego e pêra	Atraso na perda de ácido ascórbico na mandarina e aumento do tempo de prateleira
Polissacarídeo – Lípido	IPS, caseinato de sódio, cera de abelha e glicerol	Vegetais: pimento verde	Nenhum efeito significativo na perda de água, taxa de respiração ou cor
Polissacarídeo – Lípido	Glúten de trigo, glicerol, ácido esteárico, ácido palmitico e cera de abelha	Frutos: Morango	Lípidos reduzem a perda de peso e preservam as propriedades mecânicas

A aplicação destes revestimentos em fruta fresca pode ter vários objetivos (Figura 4), como já referido anteriormente, no entanto visam obviar as desvantagens e desafios que este tipo de fruto apresenta.

Os potenciais benefícios do uso de revestimentos incluem (Olivas & Barbosa-Cánovas, 2005):

- ✓ Produzir uma atmosfera modificada no fruto;
- ✓ Reduzir a deterioração;
- ✓ Retardar a maturação;
- ✓ Reduzir perda de água;
- ✓ Retardar escurecimento e alterações da cor;
- ✓ Melhorar a aparência;
- ✓ Reduzir perda de aroma;
- ✓ Reduzir trocas de humidade entre frutos;
- ✓ Transporte e libertação controlada de agentes que melhorem a textura e a capacidade antioxidante;
- ✓ Transporte e libertação controlada de precursores voláteis;
- ✓ Potenciar cor e sabor;
- ✓ Transporte e libertação controlada de compostos nutricionais.

Contudo, existem algumas limitações relacionadas com uso de revestimentos como sejam a fraca adesão à superfície hidrofílica do fruto, degradação do componente antimicrobiano que foi incorporado ou inadequadas taxas de difusão. Como forma de contornar estas limitações tem sido utilizada a técnica de revestimentos com multicamadas através da deposição do material camada-a-camada (*Layer-by-Layer* – LbL) (Brasil, Gomes, Puerta-gomez, Castell-perez, & Moreira, 2012).

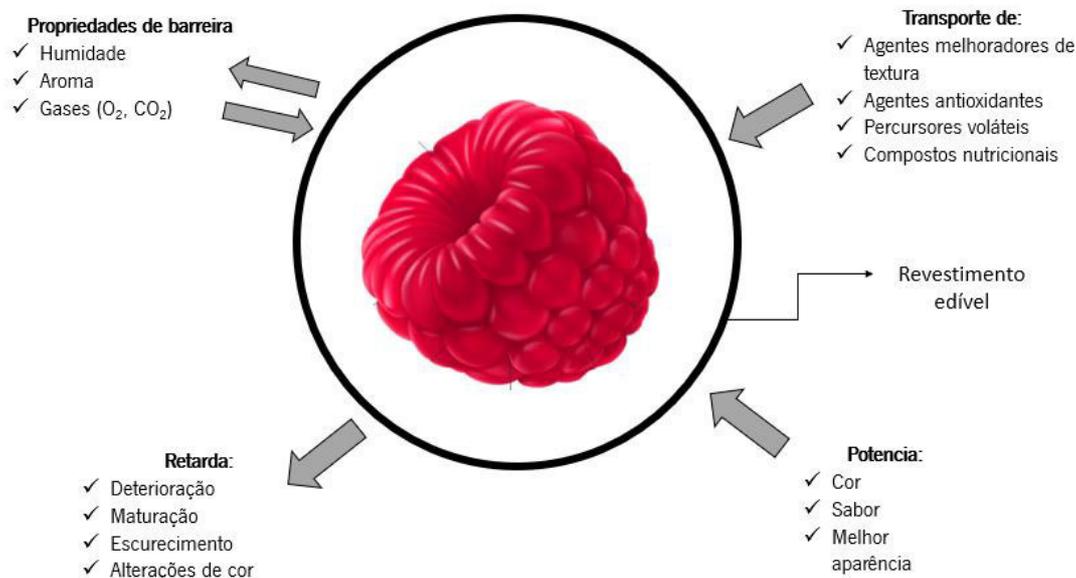


Figura 4. Vantagens e propriedades de aplicação de um revestimento edível.

Iler, em 1966, foi o primeiro a demonstrar este mecanismo por deposição alternada de partículas coloidais carregadas positivamente e negativamente. Primeiramente o substrato com superfície carregada positivamente é imerso numa solução anfipática, carregada negativamente, originando a adsorção da primeira camada por interação eletrostática e alterando assim a carga da superfície. Na fase seguinte, o substrato é imerso numa solução com um polieletrólito carregado positivamente e uma nova camada é formada voltando a ser restabelecida a carga positiva da superfície, como se verifica na Figura 5. Esta técnica é vantajosa pois é um método simples que não necessita de equipamentos sofisticados, permite incorporar vários constituintes dentro da multicamada, e é independente do tamanho ou forma do substrato a usar (Zhang, Chen, Zhang, & Chen, 2007).

Em termos de produção e formulação, os revestimentos edíveis podem ser obtidos utilizando uma larga variedade de matérias-primas de grau alimentar como os polissacáridos, proteínas e os lípidos.

Adicionalmente, podem ser introduzidos alguns plastificantes (glicerol, sorbitol, ...) à formulação do revestimento como forma de melhorar a flexibilidade e alongação das substâncias poliméricas ou introduzir surfactantes e emulsionantes para reduzir a perda de humidade e diminuir a atividade da água nos alimentos (Baldwin & Nisperos-Carriedo, 1993).

Como referido previamente, um revestimento pode também ter incorporação de agentes antifúngicos que o tornam, além de edível como um revestimento ativo, atuando contra os principais

fungos que possam danificar o fruto e que são responsáveis por, aproximadamente, cerca de 40 a 50 % de perdas alimentares, dentro das várias categorias de alimentos (Salas & Valence, 2017).

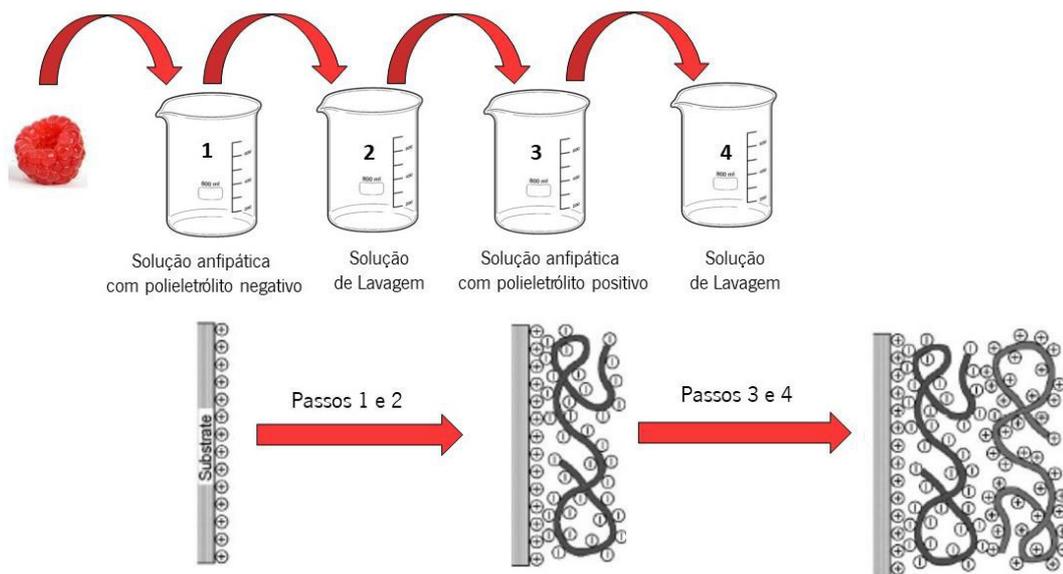


Figura 5. Revestimento pelo método *layer-by-layer*. Adaptado de Bachner et al., 2008

Na maioria dos produtos processados ou frescos, o maior foco de contaminação por microrganismos ocorre à superfície dos mesmos. Deste modo, uma boa opção consiste em criar revestimentos que incorporem antimicrobianos ou agentes bioativos protegendo, mais eficazmente, a superfície dos alimentos e assim aumentando a sua qualidade e tempo de prateleira (Treviño-Garza et al., 2015).

Existem várias categorias de antimicrobianos que podem ser introduzidos em filmes e revestimentos edíveis, como por exemplo, ácidos orgânicos, ácidos gordos, óleos essenciais provenientes de plantas, nitritos, sulfitos, entre outros. Apesar de os seus métodos de atuação ainda não tenham sido vastamente estudados e explorados, o facto de introduzir estes compostos diretamente no revestimento, tem uma vantagem relativamente à introdução do antimicrobiano diretamente na superfície do alimento, onde os agentes ativos iriam ser rapidamente neutralizados e difundidos desde a superfície até ao alimento em questão limitando o seu efeito. Neste caso, aplicando na formulação do revestimento vê-se aumentado os seus efeitos inibitórios, uma vez que é possível manter as concentrações de agente, consideradas efetivas, na superfície dos alimentos por mais tempo (Rojas-grau, Soliva-fortuny, & Martí, 2009).

2.2 Biomateriais

2.2.1 Polissacáridos

Os revestimentos feitos através de polissacáridos (celulose, pectina, amido, alginato, quitosano, carragenano, entre outros) têm características similares aos revestimentos com base em proteínas. Geralmente apresentam uma boa barreira gasosa aderindo também facilmente à superfície de vegetais e frutos cortadas, mas a sua natureza hidrofílica torna-os uma fraca barreira à humidade (Baldwin & Nisperos-Carriedo, 1993).

Neste projeto, os biomateriais selecionados para produzir o revestimento edível foram o quitosano e a pectina. Estes materiais para além de terem revelado propriedades bastante promissoras como revestimentos quando aplicados em pequenos frutos (por exemplo o morango) em estudos previamente efetuados, apresentam cargas opostas o que permite o seu uso pela técnica *layer-by-layer*.

a. Quitosano

O quitosano, ou β -1,4-N-acetilglucosamina, é um derivado desacetilado da quitina obtida da estrutura esquelética de crustáceos (como por exemplo, camarões, lulas e caranguejos), mas também de insetos, cogumelos e parede celular dos fungos. Este polissacárido é carregado positivamente devido aos grupos amino que apresenta em pH ácido, sendo que a intensidade da carga depende do seu grau de desacetilação e, por isso, é classificado como polieletrólito catiónico. A sua estrutura química está representada na Figura 6 (El-hefian & Yahaya, 2010; Hwang & Shin, 2000).

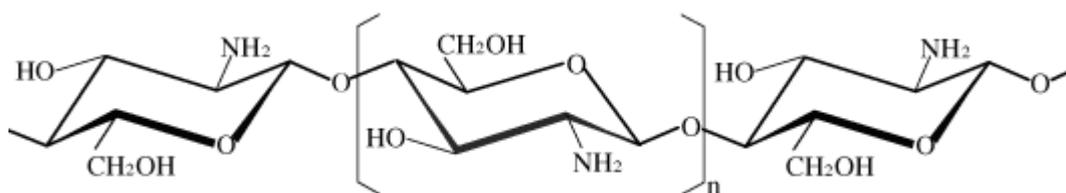


Figura 6. Estrutura química do quitosano. Retirado de (El-hefian & Yahaya, 2010)

No geral, as propriedades das soluções de quitosano são influenciadas por vários fatores como pH, o grau de desacetilação, a força iónica, concentração, temperatura, concentração e tipo de ácido e ainda, a forma como os grupos acetilo se distribuem ao longo da cadeia (El-hefian & Yahaya, 2010).

O quitosano e os seus derivados têm sido alvo de vários estudos nas duas últimas décadas, em particular devido às suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes, para além de outras propriedades biológicas, o que tem despertado o interesse também para fins medicinais, na indústria

alimentar e até mesmo na agricultura (Hwang & Shin, 2000; Park & Kim, 2010; Sudha, Gomathi, & Aisverya, 2015).

b. Pectina

A pectina é um polissacarídeo de alto peso molecular fazendo parte da sua estrutura celular de praticamente todas as plantas. Pectina é um termo que abrange um variado número de polímeros que se diferenciam entre si de acordo com o peso molecular, configuração química e conteúdo em açúcares neutros que apresentam, sendo que plantas diferentes produzem pectina com diferentes propriedades funcionais (Flutto, 2003).

Este complexo polissacarídeo aniônico é vastamente utilizado como emulsionante, agente gelificante, estabilizante e/ou espessante em aplicações comerciais. Contudo, todos estes termos se agrupam num único, designado “modificador de reologia” pois a pectina é um modificador da reologia de muitos alimentos, engrossando as suas matrizes alimentares embora tenha também a capacidade de reduzir a viscosidade do sistema onde é aplicada (Chan, Choo, Young, & Loh, 2017).

A sua estrutura química, representada na Figura 7, consiste numa cadeia de ácidos galacturónicos juntos por ligações glicosídicas onde a cadeia de ácido galacturónico é parcialmente esterificada como ésteres de metilo.

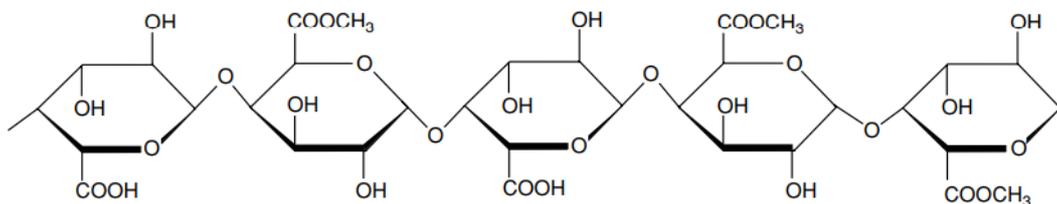


Figura 7. Estrutura química da pectina. Retirado de Chan et al., 2017.

2.2.2 Proteínas

As proteínas são polímeros com uma cadeia de aminoácidos e apresentam diferentes estruturas consoante a ordem sequencial dos mesmos originando estruturas secundárias, terciárias e quaternárias. Os filmes e revestimentos que contêm proteína como componente base são edíveis ou biodegradáveis, dependendo da formulação, do método de obtenção e dos tratamentos feitos para os modificar. Os materiais proteicos usados em formulações podem ser de origem animal ou vegetal, sendo que os mais usados neste tipo de fruto são a caseína e proteína do soro (Baldwin & Nisperos-Carriedo, 1993; Pérez-Gago, 2012).

Os revestimentos proteicos apresentam alguma suscetibilidade à quebra derivado da forte densidade de energia de coesão entre os polímeros. Assim, a adição de plastificantes compatíveis irá ajudar a melhorar a viscoelasticidade dos mesmos evitando a quebra. Contudo, estes plastificantes são normalmente hidrofílicos o que, juntamente com a hidrofobicidade intrínseca das proteínas, torna estes revestimentos com deficientes características de barreira à água (Lin & Zhao, 2007).

2.2.3 Lípidos

Os lípidos são usados em revestimentos com o objetivo de introduzir hidrofobicidade para reduzir a perda de humidade nos alimentos. Contudo, e uma vez que não são polímeros, estes apresentam pobres propriedades mecânicas.

Para a formulação destes revestimentos baseados em lípidos podem ser usados lípidos neutros, ácidos gordos, ceras e resinas, onde a maior parte dos ácidos gordos provêm de óleos vegetais. Estes são considerados substâncias GRAS (*Generally Recognized as Safe*), ou seja, são reconhecidas como seguras (Dhall, 2016). Como vantagem, os revestimentos tendo por base lípidos apresentam uma boa compatibilidade com outros agentes formadores de revestimentos e uma boa capacidade de barreira ao vapor de água e a trocas gasosas, quando comparadas com revestimentos com base em proteínas ou polissacáridos. Apesar disto, apresentam a desvantagem de originar uma superfície gordurosa e propriedades organoléticas indesejáveis (Lin & Zhao, 2007).

2.3 Propriedades físicas do revestimento

A funcionalidade e o comportamento dos filmes e revestimentos edíveis dependem, principalmente, das suas propriedades mecânicas e de transporte, que por sua vez são afetadas pela composição do filme, processo de formação e aplicação no produto em questão (Pinheiro et al., 2010). Há ainda certos requisitos funcionais a ter em consideração, que apesar de dependerem do alimento a aplicar (fruto) e dos seus processos metabólicos, são necessários alcançar, tais como propriedades sensoriais – transparentes, sem sabor e inodoros, e propriedades de barreira – tendo uma permeabilidade adequada a solutos e vapor de água e seletiva a compostos voláteis e gases (Vargas et al., 2008).

Neste projeto, a formulação do revestimento tem como objetivo principal colmatar, dentro do possível, a maioria das limitações associadas à framboesa (e referenciadas anteriormente) e problemas que a própria empresa (Bfruit) tem no seu processamento, e que conseqüentemente acabam por originar perdas de produto, diminuindo os rendimentos e produtividade.

Quando um revestimento é aplicado sobre um alimento, há duas forças que se desenvolvem: as de coesão das moléculas dentro do revestimento e as de adesão, que ocorre entre o revestimento e o fruto (Olivas & Barbosa-Cánovas, 2005). Assim, antes de se proceder à formulação de uma solução deve-se primeiramente garantir que esta é a ideal para o alimento em questão. Para tal deve ser avaliada a capacidade molhante, as propriedades mecânicas, de transporte, a cor e a solubilidade, e a viscosidade através do estudo da reologia do revestimento (Pinheiro et al., 2010).

a. Efeito molhante

A eficiência dos revestimentos edíveis depende, maioritariamente, da capacidade molhante da solução usada. Uma má adesão do revestimento ao produto pode originar uma descamação do revestimento, e além disso comprometer a proteção mecânica que ele oferece (Felton, 2007).

Os revestimentos devem molhar e espalhar-se uniformemente por todo o alimento. Após a secagem devem apresentar uma durabilidade adequada.

A capacidade molhante (W_a) é determinada com base nas forças de adesão do líquido no sólido (W_a – coeficiente de adesão) e nas forças coesivas do líquido (W_c – coeficiente de coesão) (Pinheiro et al., 2010).

A penetração do líquido na superfície também é um fator importante a considerar. Os ângulos de contato entre a solução do revestimento e as superfícies fornecem informações sobre a capacidade molhante do substrato onde, teoricamente, quanto mais molhável estiver a superfície, melhores interações superficiais são produzidas e, conseqüentemente, maior adesão (Felton, 2007).

A energia de superfície ou tensão superficial é também um fator de controlo onde, para melhorar a capacidade molhante, pode ser adicionado um surfactante como o Tween 80 reduzindo a tensão e aumentando o coeficiente de espalhamento (Pinheiro et al., 2010).

b. Barreira

O potencial dos revestimentos depende também de uma combinação de propriedades como barreiras ao vapor de água, oxigénio, dióxido de carbono, aroma, sabores e cor. As propriedades de transporte são influenciadas por uma série de características dos filmes, como a estrutura do polímero, o grau de polaridade, o espaço intersticial entre as moléculas do polímero (volume livre), a mobilidade das cadeias (cristalinidade) e o alinhamento das ramificações do polímero na cadeia principal (orientação) (Pinheiro et al., 2010).

A capacidade de os revestimentos atuarem como barreiras ao vapor de água depende da humidade relativa e da temperatura do meio ambiente. Contudo, caso se pretenda uma boa barreira ao vapor de água, a formulação do revestimento deve incluir componentes hidrofóbicos como por exemplo os lípidos (Olivas & Barbosa-Cánovas, 2005).

O estudo da permeabilidade a gases como oxigénio e o dióxido de carbono é de extrema importância pois permite observar quais os efeitos destes revestimentos em alimentos onde ocorre troca de gases com a atmosfera, como é o caso dos frutos. Assim como no caso da permeabilidade ao vapor de água, o controlo pode ser realizado com a adição de plasticizantes (Pinheiro et al., 2010). A medição pode ser feita aplicando o permeado a um dos lados do filme, a elevada pressão, ou estabelecendo um gradiente de concentração do permeado através do filme mantendo a pressão igual em ambos os lados (Baldwin & Hagenmaier, 2012).

c. Mecânicas

As propriedades mecânicas mais estudadas dentro deste grupo são a resistência à tração, alongação, módulo elástico e compressão.

A importância das propriedades mecânicas dos materiais usados em formulações assenta na capacidade de os revestimentos não quebrarem ou originarem fissuras durante o processamento, embalagem e distribuição dos produtos.

O teste de resistência à tração consiste em aplicar uma faixa do filme entre duas garras e, a uma taxa constante, estender até ao ponto de rutura (Felton, 2007). Nesse momento, o equipamento tem a capacidade de quantificar a força que aplicou para o filme quebrar, bem como a alongação que ele sofreu.

Estudos demonstraram que a presença e aumento da concentração de plasticizante levam ao aumento dos valores de alongação e à diminuição da resistência à tração e do valor de transição vítrea (Pinheiro et al., 2010).

d. Solubilidade em água

A solubilidade fornece informações sobre a integridade dos filmes em sistemas aquosos, resistência à água e pode indicar a biodegradabilidade do filme. De acordo com a utilização final do produto, esta característica é estudada, uma vez que se o objetivo é preservar os alimentos com grande quantidade de água e libertar agentes antimicrobianos, então o ideal será um filme que tenha baixa

solubilidade em água. Uma solubilidade moderada também pode ser considerada vantajosa quando se pretende cozinhar alimentos revestidos (Pinheiro et al., 2010).

e. Opacidade e cor

A opacidade é uma propriedade ótica do material que corresponde ao inverso da quantidade de luz que atravessa o filme, isto é quanto maior for o seu valor, menor é a quantidade de luz que incide no alimento. A medição de cor pode ser feita recorrendo a um colorímetro. Ambas as características estão relacionadas com a aparência do filme produzido e, conseqüentemente, a aceitação por parte do consumidor (Pinheiro et al., 2010).

f. Reologia

A reologia consiste no estudo da deformação e fluxo da matéria, correspondendo à relação entre tensão, stress e tempo. Quando são aplicadas forças externas, os materiais sólidos irão deformar-se enquanto os líquidos acabam por fluir (Chan et al., 2017).

A eficácia de processos industriais depende, na maior parte das vezes, dos requisitos específicos que o fluxo tem de ter e, por essa razão, quando se pretende obter certas características num determinado fluxo de material aplica-se um modificador de reologia, que altera a composição fluída do mesmo.

O comportamento reológico pode dividir-se em dois tipos: comportamento elástico, onde o fluido recupera a sua forma inicial após a força externa cessar, ou comportamento viscoso/plástico (como os fluidos Newtonianos), onde contrariamente ao anterior, a deformação termina, mas o material não restabelece a forma original.

O esquema da Figura 8 e 9 permitem observar os diferentes tipos de comportamentos que um fluido pode apresentar (El-hefian & Yahaya, 2010; Vieira & Peres, 2012).

Os modelos de reologia podem ainda ser descritos por equações empíricas estando estas representadas na Tabela 5 (Vieira & Peres, 2012).

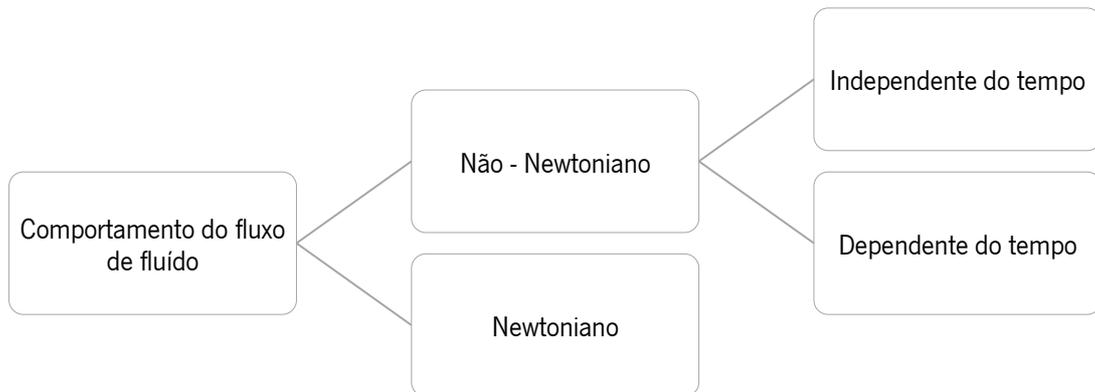


Figura 8. Representação esquemática dos diferentes tipos de comportamento de um fluido (El-hefian & Yahaya, 2010).

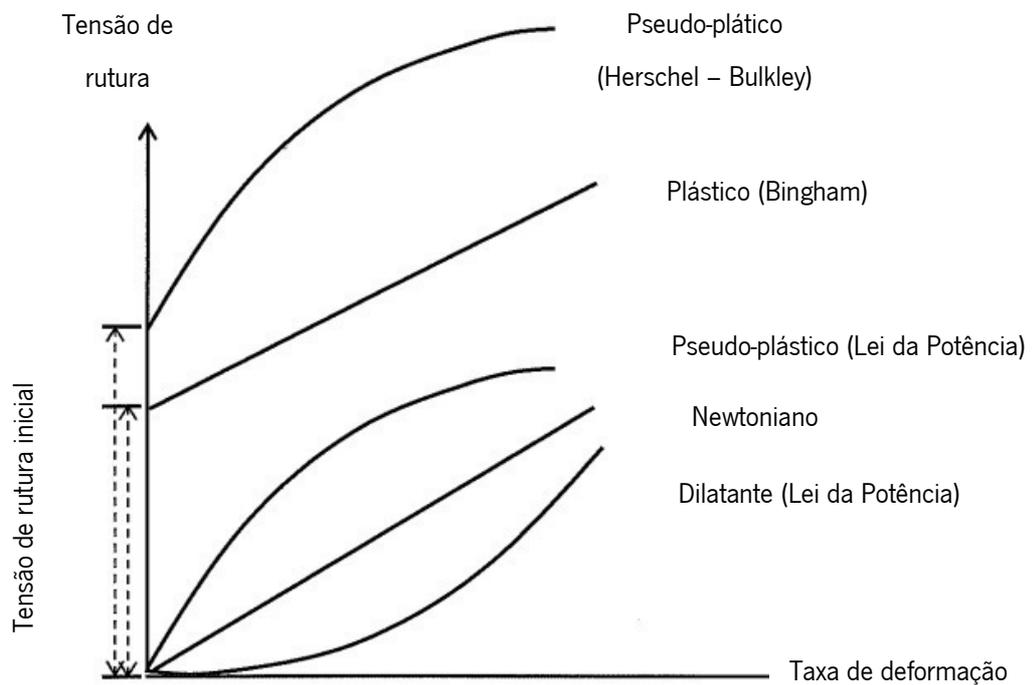


Figura 9. Tipos de comportamentos dos fluidos não-newtonianos (Vieira & Peres, 2012).

Tabela 5. Equações dos vários modelos de reologia

Modelo	Equação
Newtoniano	$\tau = \mu_N \times \dot{\gamma}$
Lei da Potência	$\tau = k\dot{\gamma}^n$
Equação plástica Bingham	$\tau = \tau_{YB} + \mu_{PL}\dot{\gamma}$
Modelo Herschel-Bulkley	$\tau = \tau_{HB} + k\dot{\gamma}^n$

Onde, τ é a tensão de rutura; $\dot{\gamma}$ é taxa de deformação; μ_N corresponde à viscosidade Newtoniana; k é o índice de consistência; n é o índice de comportamento, relacionado com o comportamento Newtoniano ($n=1$) ou não-newtoniano; τ_{YB} é a tensão de rutura de Bingham; τ_{HB} é a tensão de rutura de Herschel- Bulkley; e μ_{PL} é a viscosidade plástica.

2.4 Métodos de aplicação e secagem

Após o desenvolvimento dos revestimentos edíveis estes podem ser aplicados nos produtos alimentares de variadas formas: imergir o produto, escovar ou pulverizar com a solução e, deste modo aplicar o revestimento diretamente na superfície do produto ou, por outro lado, criar um filme isolado a partir de uma solução para posteriormente cobrir a superfície do alimento. A aplicação do revestimento por imersão é colocada diretamente na superfície do alimento, e após secagem, forma uma fina camada que constitui uma barreira física protetora do alimento (Pavlath & Orts, 2009).

A pulverização é utilizada quando se pretende aplicar um revestimento uniforme sobre toda a superfície. É um dos métodos mais frequentemente usados tendo em conta a facilidade de controlo e uso a uma escala superior, quando comparado ao de imersão (mergulho). Contudo, requer que a parte inferior do fruto seja revestida numa operação à parte da aplicação do revestimento inicial e após ter sido realizada a secagem do composto aplicado inicialmente. Para tal é necessário expor a superfície inferior do fruto. Por estes motivos este método é o mais comumente utilizado em alimentos com elevadas áreas superficiais.

O método de imersão é ideal para alimentos com formas irregulares sendo que múltiplas imersões podem ser necessárias para garantir uma boa cobertura do produto alimentar (Dangaran, Tomasula, & Qi, 2009).

Após aplicação do revestimento este tem de passar por um processo de secagem para garantir a boa adesão ao alimento. Dos vários métodos usados destacam-se a secagem natural ou forçada. A primeira consiste em deixar o produto secar à temperatura ambiente, após aplicação do revestimento,

sem auxílio de qualquer equipamento, enquanto a segunda, consiste no uso de equipamentos, como ventoinhas, para tornar o processo de secagem mais rápido e eficaz, controlando a humidade relativa (Pavlath & Orts, 2009; Teixeira Machado, 2016).

2.5 Legislação

Todas as substâncias que são usadas nas formulações de revestimentos, quer para alimentos ou produtos farmacêuticos, são considerados aditivos alimentares mesmo quando não são consumidos. Essas substâncias devem estar discriminadas no grupo de aditivos alimentares com as características técnicas individuais, ou num grupo separado para regulação, como por exemplo, Food and Drug Administration (FDA) ou Code of Federal Regulations (CFR) ou European Food Safety Authority (EFSA) (Cheng & Baldwin, 2012).

O regulamento associado aos aditivos alimentares da União Europeia está sujeito ao regulamento (CE) 1331/2008 onde nele são estabelecidos os princípios e requisitos gerais relacionados com a legislação alimentar. O regulamento (CE) 1333/2008 aplica-se a todos os aditivos alimentares exceto a substâncias que sejam usadas para conferir sabor ou aroma, para fins nutricionais ou que sejam usados como auxiliares tecnológicos. De acordo com este regulamento, os revestimentos edíveis são definidos como aditivos alimentares intencionalmente adicionados para conferir uma determinada característica, como por exemplo, conservação do género alimentício (Parlamento Europeu, 2008). O CFR afirma que a quantidade de ingredientes usados nas formulações de revestimentos edíveis deve ser apenas a necessária para alcançar o fim a que se destinam, ser seguros, ou seja, considerados GRAS e estar listados nesse mesmo código regulamentar.

Segundo o regulamento da União Europeia (UE) No. 1129/2011, para tratamento da superfície de frutos frescos, apenas podem ser usados ésteres de ácidos gordos, embora vários testes com o quitosano já tenham revelado resultados promissores (“Regulamento (UE) N° 1129/2011 da Comissão de 11 de Novembro de 2011,” 2011). No que diz respeito aos agentes de transporte, o regulamento (UE) No. 1129/2011 mostra que muitos dos compostos que não podem ser usados como aditivos, podem ser incorporados como agentes de transporte, como por exemplo o glicerol, sorbitol, entre outros (“Regulamento (UE) N° 1129/2011 da Comissão de 11 de Novembro de 2011,” 2011).

3. EMPRESA

3.1 Contextualização

A Bfruit, empresa onde foi desenvolvida uma parte do estágio, é uma organização de produtores de pequenos frutos e kiwi com o objetivo de prestar auxílio aos produtores de mirtilo, framboesa, amora, groselha, morango, kiwi e *babykiwi* durante as suas fases de produção e comercialização. Nesta empresa foram realizadas duas tarefas essenciais no departamento da qualidade. Uma consistiu em avaliar todos os frutos que chegavam ao entreposto, utilizando uma folha de requisitos pré-definidos (Anexos I, II e III), dando origem a uma determinada categoria. Outra questão esteve relacionada com procedimentos que a norma BRC, já implementada na empresa, pedia e os quais era necessário atualizar conforme a legislação em vigor.

A empresa rege-se por um requisito fundamental no que toca à comercialização da fruta, a certificação GlobalG.A.P., onde apenas os produtores que sejam portadores desta poderão ver a sua fruta comercializada através da Bfruit.

O GlobalG.A.P é uma organização privada que estabelece um conjunto de normas de carácter voluntário para a certificação de produtos agrícolas e, com isto, consegue-se estabelecer uma norma de Boas Práticas Agrícolas que pode estender-se a toda a comunidade agrícola mundial. Os produtores que tenham a sua fruta certificada garantem um conjunto de parâmetros, originando um produto que seja seguro e de reconhecimento global (Bfruit, 2017).

Os produtores associados à Bfruit devem garantir boas práticas na fase de colheita e boas condições de refrigeração durante o processo até ao momento de colocar no entreposto para se proceder ao embalamento, armazenamento e, posteriormente, expedição.

A zona de embalamento e pesagem deve situar-se o mais próximo possível dos locais de colheita, sendo também uma zona com sombra e refrigerada, apresentando-se organizada e limpa. No momento de chegada da fruta à Bfruit, a mesma deve ser separada e pesada conforme as categorias em causa. Fruta fresca é pesada em cusetes, sem tampa, enquanto a fruta designada indústria tem um peso de 4 kg e é acondicionada em caixas com saco da Bfruit. Nesta categoria, a fruta é aceite mesmo tendo coloração mais avançada e alguns frutos pisados (Bfruit, 2017).

Após este processo todos os frutos, para além das framboesas, sofrem um controlo de qualidade. Neste projeto, a framboesa foi o fruto selecionado para objeto de estudo, pelas razões apontadas anteriormente e por ter produção ao longo de todo o ano – conforme se observa na Figura 10, permitindo assim matéria-prima disponível para realizar as análises necessárias. É possível verificar o calendário de

produção de todos os frutos que chegam ao entreposto da empresa (“Bfruit,” n.d.) . Neste estudo a aplicação do revestimento ocorreu previamente ao embalamento, e foi efetuado pelo método de imersão, seguido de secagem natural.

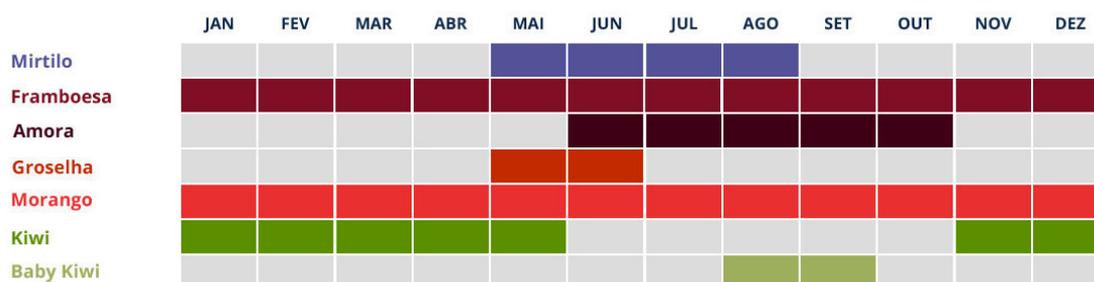


Figura 10. Calendário de produção dos frutos pertencentes à Bfruit (“Bfruit,” n.d.).

3.2 Controlo de Qualidade

Toda a fruta tem de passar por um processo de controlo de qualidade, contudo, os próprios produtores também são responsáveis por garantir essa qualidade, cumprindo certos parâmetros, quer na categoria de fresco quer na categoria indústria.

Estes parâmetros consistem nos designados gerais, como o fruto ter maturação/coloração adequada e uniforme, percentagem muito reduzida de drupéolas partidas, elevado calibre, e isento de corpos estranhos, pragas e doenças. Para além destes, há outros defeitos designados defeitos maiores na fruta fresca e os menores – Tabela 6 - em que no seu conjunto irão estabelecer diferentes grupos dentro da categoria de fruta fresca (extra, 1.1 e 1.2).

Tabela 6. Defeitos na categoria de fruta fresca(Bfruit, 2017)

Defeitos maiores na fruta fresca	Defeitos menores na fruta fresca
Fruta muito madura	Fruta danificada/partida
Fruta completamente verde	Fruta deformada
Presença de fungos (podridão)	Presença de pedúnculo
Presença de corpos estranhos (terra, folhas, insetos, outros)	Fruta molhada (p.ex. chuva)
Presença de fumo	Fruta sem calibre
	Fruta esbranquiçada (falta de cobertura-sol direto)

Na categoria de indústria, os defeitos identificados poderão ser: focos de fungos (bolor) ou indícios de fermentação (decomposição); presença de corpos estranhos; fruta completamente pisada e com

grande acumulação de sumo; com danos provocados pelo sol; fruta seca e podre; frutos verdes, amassados ou quebrados; e ainda mistura de várias variedades de framboesa.

Nos Anexos I, II e III encontram-se exemplares da folha de Excel utilizada durante o controlo de qualidade.

3.3 Norma BRC – *British Retail Consortium Standards*

As empresas de distribuição, cujo objetivo era desenvolver a marca revendedora, sofreram com o passar dos anos, uma redefinição das suas abordagens organizacionais por parte das próprias empresas de venda a retalho. Estas empresas começaram assim a exigir, aos fornecedores, um conjunto de inspeções como forma de averiguar a conformidade com as obrigações estipuladas contratualmente. Foi assim, que na década de 90 por um conjunto de cadeias de distribuição do Reino Unido, surgiu uma norma incluindo requisitos de higiene e segurança, garantias de qualidade e respeito pelo ambiente desenvolvido no trabalho. Caso isto fosse cumprido, acabaria por garantir às empresas de distribuição a conformidade desejada em todas as atividades inerentes ao processo produtivo em questão. O objetivo primordial desta norma era ir ao encontro da legislação em vigor, contudo as vantagens e benefícios para os fornecedores de produtos no Reino Unido, eram muito superiores acabando por crescer o interesse, a nível internacional, sobre o modo de implementação desta norma (Arfini & Mancini, 2014).

A BRC é assim um padrão internacional de sistema de gestão de segurança alimentar, reconhecido pelo *Global Food Safety Initiative* - GFSI. Com o sucesso e aceitação geral da *BRC Global Standard for Food Safety*, a BRC decidiu publicar outros referenciais destinados a produtores de embalagens e aos seus materiais (*BRC Packaging and Packaging Materials Standard*), armazenamento e distribuição de produtos alimentares (*BRC Standard for Storage and Distribution*), indústrias de bens de consumo não alimentares (*BRC Consumer Products Standard*) e ainda, para empresas que prestam serviços de compra, importação ou distribuição na indústria alimentar ou de materiais de embalagem (*BRC Standard for Agents and Brokers*) (“About BRC Global Standards,” n.d.), como se verifica na linha do tempo apresentada na Figura 11.



Figura 11. Evolução dos padrões associados ao BRC (Standards, 2018).

4. MATERIAIS E METODOLOGIAS

4.1 Preparação das formulações para filmes e revestimento das framboesas

4.1.1 Quitosano

As soluções de quitosano foram preparadas colocando em agitação 100 mL de água destilada ao qual se adicionou lentamente o quitosano de acordo com o estabelecido na Tabela 7. Após dissolução completa foi adicionado ácido láctico glacial 1 % (v/v) (Bourbon, Pinheiro, Cerqueira, Rocha, Avides, Quintas e Vicente, 2011). O pH foi, posteriormente, acertado a 4,5 e após filtração, a solução foi colocada num banho a 40 °C (Rubilar, Cruz, Silva, Vicente, Khmelinskii e Vieira, 2013) com glicerol a 1 % (v/v) e sob agitação magnética durante 30 minutos (Bourbon et al., 2011). De seguida foi adicionado o Tween 80 ficando a solução em agitação por 15 minutos. A aplicação do glicerol e do Tween 80 teve o intuito de serem usados, respetivamente, como plastificante e surfactante/emulsionante auxiliando no momento do revestimento do fruto.

Posteriormente, procedeu-se á desgaseificação da solução e, no caso dos filmes, 25 mL da solução foi colocada em placas de Petri de 45 mm de diâmetro e deixadas a secar até evaporação da solução, numa estufa a 30 °C durante aproximadamente 16 horas. Por fim, destacou-se o filme da placa com auxílio de uma espátula.

4.1.2 Pectina

Para as formulações de pectina a dissolução foi feita de acordo com o estabelecido na Tabela 7 em 100 mL de água destilada, num banho a 70 °C, com agitação durante 1 hora, para completa solubilização da pectina (Brasil et al., 2012). Após este período, a solução foi acertada a pH 4,5, sendo posteriormente filtrada e colocada, novamente, num banho a 70 °C para adição de glicerol e Tween 80, pelas mesmas razões já referidas. De seguida foi feita a desgaseificação da solução, recorrendo a um exsiccador e durante 15 minutos, para remover todo o ar que se encontrava em solução e que, posteriormente, daria origem pequenas bolhas e poros nos filmes. No caso dos filmes, 25 mL da solução foi colocada em placas de Petri de 45 mm de diâmetro e deixadas a secar até evaporação da solução, numa estufa a 30 °C durante aproximadamente 16 horas. Por fim, destacou-se o filme da placa com auxílio de uma espátula.

Tabela 7. Concentração e quantidades a usar para obtenção dos filmes/revestimentos

Concentração (%)	Quantidade de Quitosano/Pectina adicionada (g)
1,0	1,0
1,5	1,5
2,0	2,0
3,5	3,5

4.1.3 Mistura (Quitosano e Pectina)

Para a criação dos filmes com a mistura de quitosano e pectina, as soluções foram preparadas independentemente, como se descreve nos pontos 4.1.1 e 4.1.2, apenas com a alteração do pH, que foi ajustado a 1,5 para cada uma das soluções. De seguida procedeu-se à junção das soluções na razão de 1:1, ficando de seguida sob agitação durante aproximadamente 16 horas. Posteriormente, adicionou-se o glicerol e após 30 min, o Tween 80, mantendo em agitação por 15 minutos. De seguida foi feita a desgaseificação da solução durante 15 minutos e no caso dos filmes, 25 mL da solução foi colocada em placas de Petri de 45 mm de diâmetro e deixadas a secar até evaporação da solução, numa estufa a 30 °C durante aproximadamente 16 horas.

4.2 Análise das formulações usadas

4.2.1 Reologia da formulação

A viscosidade das soluções de revestimento foi avaliada com recurso a um reómetro (TA Instruments HR1, EUA), Figura 12, fazendo três réplicas de cada formulação usada. Através desta análise obteve-se os parâmetros de tensão inicial, o índice de consistência (k), índice de comportamento (n) e valor de viscosidade quando a tensão atingia o valor de 100 s^{-1} e 2 s^{-1} .



Figura 12. Reómetro utilizado na análise da reologia.

4.3 Análise dos filmes

Após secagem os filmes foram destacados das placas com recurso a espátula e colocados num exsicador a temperatura (25 °C) e humidade relativa controlada (53 %) para estabilização por um período de 48 horas. Os filmes foram posteriormente analisados visualmente e para cada um dos parâmetros descritos abaixo. Esta tarefa foi efetuada em estrita colaboração com o aluno Vítor Sousa, no decurso do trabalho que desenvolveu no âmbito do seu projeto final de Licenciatura. Os resultados obtidos destas análises foram incorporados nos que se obtiveram aquando da análise das framboesas revestidas.

4.3.1 Massa volúmica

A espessura dos filmes foi, previamente, determinada com recurso a um micrómetro digital (Figura 13) segundo o procedimento previamente descrito (Bourbon et al., 2011). Foram realizadas 4 medições em locais aleatórios do filme.



Figura 13. Micrómetro digital.

Posteriormente, a massa volúmica foi calculada através do peso e dimensões do filme recorrendo à equação 1.

$$\rho^s = \frac{m}{A} \times \delta \quad \text{Equação 1}$$

Onde A é a área do filme (cm^2), m é a massa (g) e δ a espessura (cm). Para cada tipo de filme foram analisadas cinco amostras.

4.3.2 Teor de humidade

O teor de humidade foi determinado após secagem dos filmes a 105 °C, sob circulação do ar forçada (Ramos et al., 2013). Pequenos fragmentos de, aproximadamente, 0,2 g foram pesados e a diferença de peso, antes (m_i) e após (m_f) o processo de secagem, determinou a percentagem de água presente no filme, onde o teor de humidade é calculado pela equação 2.

$$TH = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

4.3.3 Solubilidade

A solubilidade dos filmes em água foi determinada após a imersão em 50 mL de água sob agitação (150 rpm) durante 24 horas, de acordo com o procedimento descrito (Costa et al., 2018). Após este tempo, as amostras foram colocadas a secar numa estufa a 105 °C durante 24 horas. A diferença de peso antes e após o processo corresponde à solubilidade do filme. Este parâmetro pode ser obtido segundo a equação 3.

$$\text{Solubilidade em água (\%)} = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

4.3.4 Hidrofobicidade da superfície

A hidrofobicidade da superfície foi avaliada com base no ângulo de contacto ótico, através do método da gota séssil – Figura 14 - e de acordo com o procedimento descrito (Fernandes et al., 2018; Kwok & Neumann, 1999; Ramos et al., 2013). O ângulo de contacto foi obtido com um medidor de ângulos de contacto facial onde se depositou 2 µL de água ultrapura na superfície do filme, com o auxílio de uma seringa de precisão de 500 µL. Para cada filme foram executadas 10 medições.

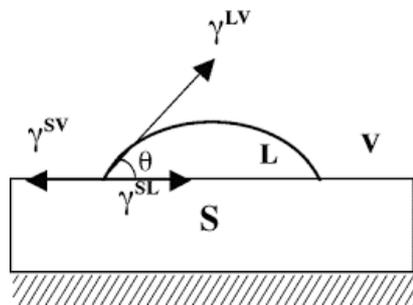


Figura 14. Representação esquemática da medição do ângulo de contacto pelo método da gota séssil.

4.3.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas, resistência à tração e à alongação que o filme sofre até ao ponto de quebra, foram analisadas de acordo com o procedimento descrito (Ramos et al., 2013) e com recurso a um texturómetro TA-TX2 *Texture Analyzer* (Stable Micro Systems, United Kingdom), representado na Figura 15.



Figura 15. Texturómetro.

Os filmes foram colocados entre duas garras sendo sujeitos a diferentes forças até que se rompam. Nesse momento o equipamento quantifica a força que aplicou para o filme quebrar, bem como a sua elongação. Foram analisados filmes com dimensões de 10 cm x 2 cm e foram realizadas 4 amostras para cada tipo de filme.

4.3.6 Cor e opacidade

A cor foi obtida com um colorímetro (Konica Minolta Chroma Meters CR-300 series, Japão), Figura 16, onde foi medido o grau de luminosidade (L), de vermelho ($+a$), de verde ($-a$), amarelo ($+b$) e azul ($-b$) e foi calculada a diferença de cor relativamente às condições padronizadas, segundo a equação 4.

$$\Delta E = [(L_{filme} - L_{standard})^2 + (a_{filme} - a_{standard})^2 + (b_{filme} - b_{standard})^2]^{1/2} \text{ Equação 4}$$

Onde, L_{filme} é o grau de luminosidade do filme, $L_{standard}$ é o grau de luminosidade padrão, a_{filme} , $a_{standard}$, b_{filme} e $b_{standard}$ são os valores dos parâmetros de cor do filme analisado e dos valores padronizados, respectivamente.



Figura 16. Colorímetro.

A opacidade foi medida com recurso ao mesmo equipamento e, conforme previamente descrito (García & Sobral, 2005) foi usado o método de Hunterlab, onde a opacidade foi determinada pela divisão entre a opacidade no standard preto e a opacidade no branco.

4.3.7 Propriedades de barreira

As propriedades de barreira foram avaliadas gravimetricamente de acordo com o procedimento estipulado (Bourbon et al., 2011; Fernandes et al., 2018).

A permeabilidade ao vapor de água, normalmente, é medida usando uma variação de 100 % a 0 % do gradiente de humidade relativa, podendo ser utilizadas também diferentes temperaturas. O declive do gráfico da variação da massa ao longo do tempo é a taxa de transferência do vapor de água (*WVTR*) e a constante de permeabilidade pode ser calculada pela equação 5:

$$P_{erm} = \frac{WVTR \times L}{A \times \Delta P} \quad \text{Equação 5}$$

Onde L é a espessura do revestimento (m), A a área exposta (m²) e ΔP o gradiente de pressão de vapor.

A permeabilidade ao oxigénio foi determinada de acordo com a norma ISO 15105-2:2003 tal como descrito na literatura e o cálculo está evidenciado na equação 6 (Fernandes et al., 2018).

$$P_{O_2} = \frac{f \times C_{O_2} \times \delta}{A_{filme} \times P_{atm}} \quad \text{Equação 6}$$

Onde f é o fluxo registado aquando da recolha da amostra do gás (mL min^{-1}), C_{O_2} é a concentração de oxigénio que atravessou o filme (%), δ é a espessura do filme (m), A a área do filme (m^2) e P_{atm} a pressão atmosférica à temperatura ambiente.

Para esta análise, os filmes foram selados entre duas câmaras verticais, cada uma com dois canais. Na câmara superior foi fornecido oxigénio de controlo (fluxo de 25 mL min^{-1}), por forma a manter a pressão constante no compartimento. Na câmara inferior foi introduzido nitrogénio (fluxo de 5 mL min^{-1}) atuando como gás de arraste para o oxigénio. Para quantificar a concentração de oxigénio recolheu-se $500 \mu\text{L}$ do fluxo de nitrogénio que saía da câmara inferior e injetou-se num cromatógrafo gasoso (Scion 486 Bruker) representado na Figura 17.



Figura 17. Cromatógrafo gasoso.

4.3.8 Propriedades antioxidantes

Por fim, a atividade antioxidante foi medida através do método de ABTS conforme os procedimentos descritos na literatura (Fabra, Falcó, Randazzo, Sánchez, & López-Rubio, 2018; Liang et al., 2017; Liu et al., 2017; Rufino et al., 2007; Singh, Gaikwad, & Lee, 2018). Preparou-se uma solução radical de ABTS através da junção de 5 mL de solução stock de ABTS 7 mmol.L^{-1} com $88 \mu\text{L}$ de uma solução de persulfato de potássio 140 mmol.L^{-1} . Após a junção, aguardou-se 16 horas para posteriormente se dissolver 1 mL da solução em álcool etílico até obter uma absorvância constante de 0,700 a um comprimento de onda de 734 nm . De modo avaliar as propriedades antioxidantes dos filmes, dissolveu-se uma porção de filme numa cuvette com 2 mL de solução de ABTS, e 2 horas após a adição, avaliou-se a percentagem de redução da absorvância inicial provocada pela adição dos filmes.

4.3.9 Análise da superfície e corte transversal

A morfologia das superfícies e corte transversal dos filmes foram analisados com recurso ao microscópio eletrónico de varrimento (SEM), Figura 18, juntamente com análise de espectroscopia de dispersão de energia por raios X (EDS) (Phenom ProX com detetor EDS (Phenom-World BV, Netherlands)). Todos os resultados foram obtidos utilizando o software ProSuite integrado ao software Phenom Element Identification, permitindo a quantificação da concentração dos elementos presentes nas amostras, expressos em peso ou concentração atómica. Previamente à análise, os filmes foram adicionados a pinos de alumínio com fita de carbono condutora de energia e o excesso retirado usando ar comprimido. As amostras sofreram um recobrimento com ouro (espessura aproximadamente de 10 nm) para melhorar a condutividade. (Rubilar et al., 2013). O suporte pino de alumínio foi então colocado dentro de um suporte apropriado, e diferentes pontos aleatórios para cada amostra foram analisados para composição elementar. A análise EDS foi realizada a 10 kV com mapa de intensidade.



Figura 18. Microscópio eletrónico de varrimento

4.4 Revestimento e análise das framboesas

O revestimento das framboesas foi realizado através do método de imersão, Figura 19, nas três formulações escolhidas, ou seja, quitosano (1,5 % *w/w*), pectina (1,5 % *w/w*) e mistura de ambos numa razão de 1:1 pelo método *layer-by-layer*. Os revestimentos de quitosano e pectina foram preparados de acordo com o descrito anteriormente no ponto 4.1. A aplicação do revestimento foi efetuada imergindo cada framboesa na respetiva solução de polissacarídeo, de acordo com o descrito previamente na literatura (Brasil et al., 2012; Guerreiro, Gago, Faleiro, Miguel, & Antunes, 2015), com alteração apenas do tempo de imersão para 5 minutos e o de secagem também para 5 minutos à temperatura ambiente (25 °C), com o objetivo de otimizar a adesão do revestimento ao fruto.



Figura 19. Método de imersão em cada solução de revestimento.

Para a produção da mistura, pela técnica *layer-by-layer*, foi realizada a imersão, primeiramente, na solução de quitosano durante 5 minutos. Posteriormente, e após secagem durante 5 minutos à temperatura ambiente, a framboesa foi imersa na solução de pectina durante 5 minutos sendo novamente colocada a secar por 5 minutos à temperatura ambiente. Por fim, as framboesas foram imersas numa solução de cloreto de cálcio para permitir a reticulação de ambos os revestimentos, de acordo com o procedimento descrito por Brasil *et al.* (Brasil et al., 2012). Entre as fases de imersão e secagem, foi tido em conta o facto do recetáculo do fruto conter excesso de revestimento, tendo sido feito um bom escorrimento do mesmo.

Em ambos os casos, as framboesas utilizadas passaram por um processo de seleção prévio. De entre várias cuvetes, selecionaram-se os frutos que apresentavam características (forma, tamanho, cor e maturação) similares por forma a evitar a variabilidade de resultados ao longo das análises.

4.4.1 Perda de massa

A evolução da perda de massa pelas framboesas foi avaliada 24 horas após aplicação do revestimento (dia 0) e nos dias 4, 7 e 11 de armazenamento, através da determinação da massa das framboesas numa balança analítica (modelo ABS-N/ABJ-NM) com a precisão de ± 0.0001 g. A variação de massa ao longo do armazenamento foi calculado pela equação 7, expressando-se em percentagem de massa perdida, tendo sido realizadas 9 réplicas para cada amostra.

$$\% \text{ massa perdida} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad \text{Equação 7}$$

Onde m_1 corresponde à determinação de massa medida no dia 0 e m_2 à medida em cada dia de armazenamento.

4.4.2 Firmeza

O teste de firmeza foi efetuado com um texturómetro TA-TX2 (Stable Micro Systems, United Kingdom) onde foi feita a perfuração, no centro geométrico da framboesa, com recurso a um pistão cilíndrico – sonda P2 (Figura 20) – e as condições utilizadas estão resumidas na Tabela 8. Para cada tipo de revestimento foram realizadas 5 análises.

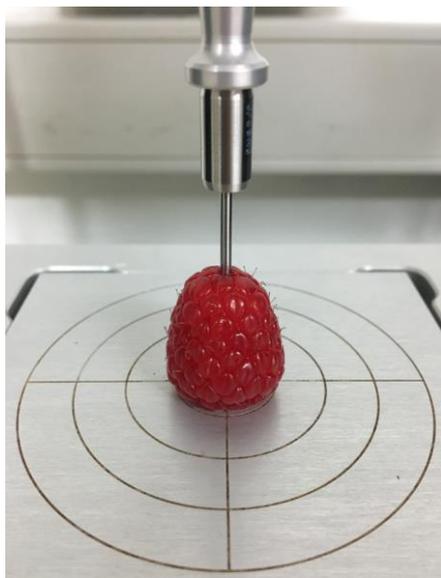


Figura 20. Teste de perfuração com sonda P2 no texturómetro.

Tabela 8. Parâmetros para o teste de perfuração das framboesas com e sem revestimento

Parâmetro	Valor	Unidade
Velocidade pré-teste	0,50	mm/s
Velocidade do teste	1,00	mm/s
Velocidade pós-teste	10,00	mm/s
Modo Alvo	Distância	
Distância	10,000	mm
Tipo de tensão	Automático (força)	
Força de tensão	5,0	g
Modo de quebra	Off	
Ponto de paragem	Posição inicial	
Modo de tara	Automático	
Opções avançadas	On	

A compressão foi realizada com o mesmo aparelho, mas com recurso a uma sonda diferente (PA-25) e fazendo a leitura da tensão necessária para comprimir 75 % da altura da framboesa – Figura 21.



Figura 21. Teste de compressão com sonda PA-25 no texturómetro.

As condições do ensaio estão especificadas na Tabela 9. O teste de compressão foi realizado após o teste de firmeza utilizando as 5 framboesas previamente usadas, logo o número de réplicas foi igual ao anterior.

Tabela 9. Parâmetros para o teste de compressão das framboesas com e sem revestimento

Parâmetro	Valor	Unidade
Velocidade pré-teste	0,50	mm/s
Velocidade do teste	1,00	mm/s
Velocidade pós-teste	10,00	mm/s
Modo Alvo	Tensão	
Tensão	75	%
Tipo de tensão	Automático (força)	
Força de tensão	5,0	g
Modo de quebra	Off	
Ponto de paragem	Posição inicial	
Modo de tara	Automático	
Opções avançadas	On	

4.4.3 Análise de cor

As alterações na cor da framboesa foram medidas com recurso a um colorímetro (Konica Minolta Chroma Meters CR-300 series, Japão) calibrado com uma placa refletora branca. Para cada framboesa, num total de 9 frutos, contendo cada um dos revestimentos, foram realizadas 3 medições em sítios aleatórios. Os valores de L^* , a^* , b^* representam, respetivamente, a luminosidade da cor, ou seja, brilho, em que 0 corresponderá à cor preta e 100 à branca, o valor máximo de a^* indica cor vermelha ($+a^*$) e o mínimo a cor verde ($-a^*$), e por fim os valores de b^* variam entre amarelo ($+b^*$) e azul ($-b^*$). Quando se observam cores neutras, os valores de a^* e b^* aproximam-se de 0 aumentando sempre que a coloração se tornar mais intensa. Neste caso, a diferença de cor (ΔE) foi calculada pela equação 4 (ponto 4.3.6), o tom de vermelho (h) foi calculado de acordo com a equação 8, e o brilho (L^*) foi retirado diretamente do colorímetro.

$$h = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad \text{Equação 8}$$

Onde \arctan é o arco tangente, b^* e a^* são os valores retirados diretamente do colorímetro.

Este parâmetro permite ver a alteração da cor no fruto, uma vez que uma tonalidade reduzida significa que há alteração de cor de vermelho para azul.

4.4.4 Análise do decaimento

Para cada conjunto de 9 framboesas, com ou sem revestimento, foram contabilizados o número de framboesas inviáveis para consumo. Esta análise foi realizada ao longo do tempo enquanto as framboesas se encontravam armazenadas em cuvetes próprias e num frigorífico à temperatura de aproximadamente 5 °C. A análise do decaimento era assim obtida em termos de percentagem de decaimento após comparação com o número de framboesas inviáveis que havia inicialmente ($t=0$), conforme se verifica na equação 9.

$$\% \text{ decaimento} = \frac{\text{n}^\circ \text{ framboesas inviáveis}_{t=x \text{ dias}}}{\text{n}^\circ \text{ framboesas inviáveis}_{t=0 \text{ dias}}} \times 100 \quad \text{Equação 9}$$

4.4.5 Medição de pH e acidez titulável

O valor de pH foi medido em 3 homogenatos, obtidos por trituração do fruto, de cada revestimento com recurso a um potenciómetro (Hanna Instruments HI-2213, United Kingdom), Figura 22, de acordo com o método específico para o processamento de frutos (AOAC 981.12).



Figura 22. Potenciômetro.

Quanto à determinação da acidez foi utilizado o método AOAC 942.15 (“Official Methods of Analysis,” 2005) onde se dissolveu 5 g de homogenato em 50 mL de água destilada. Esta mistura foi colocada a centrifugar (Beckman Allegra X155) a 4000 *g* durante 10 minutos. O sobrenadante obtido foi depois titulado com uma solução 0,1 mol.L⁻¹ de NaOH até o pH atingir o valor de 8,1. Em cada dia de análise de amostras foram realizadas 3 réplicas para cada ensaio. O valor foi expresso em mg de ácido cítrico por 100 g de homogenato sendo calculado pela equação 10.

$$\frac{\text{mg}_{\text{ácido cítrico}}}{100 \text{ g}_{\text{homogenato}}} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times M_{\text{NaOH}} \times MF_{\text{ácido cítrico}}}{W_{\text{fruto}}} \quad \text{Equação 10}$$

Onde V_{NaOH} é o volume gasto na titulação, M_{NaOH} é a massa molar do hidróxido de sódio, $MF_{\text{ácido cítrico}}$ é o fator miliequivalente do ácido cítrico (=0.064) e W_{fruto} é o peso do fruto, neste caso, do homogenato.

4.4.6 Quantificação de sólidos solúveis totais (SST)

Para quantificação de sólidos solúveis totais (SST) das framboesas, utilizou-se 2 g de cada homogenato e após centrifugação (centrifuga EBA 20 Hettich, Alemanha), a quantidade de açúcares foi medido com um refratômetro (PCE Instruments, Spain), Figura 23, sendo expresso em graus Brix. As análises foram efetuadas em triplicado.



Figura 23. Refratómetro.

4.4.7 Análise sensorial

As análises sensoriais foram realizadas por painel de provadores especializado composto por 10 trabalhadores da empresa Bfruit de ambos os géneros (5 mulheres e 5 homens) e com idade compreendida entre os 20 e os 40 anos. Nesta análise foi avaliada o aroma, cor, sabor, doçura, textura e aceitação geral no tempo 0 (1 dia após aplicação do revestimento) e após 5 dias. A escala utilizada foi de 1 a 7 onde o valor 1 corresponde ao fruto com ausência completa de cor, sem sabor, sem doçura, com má textura e não aceite e o valor 7 a todo o fruto que apresentasse o oposto ao referido anteriormente e, fosse considerada excelente. Uma cópia da ficha de diagnóstico entregue aos colaboradores encontra-se no Anexo IV.

4.5 Análise estatística

Todos os resultados obtidos foram submetidos a uma análise estatística, avaliados por um teste fatorial ANOVA seguido do teste de Tukey HSD com significância de $p < 0,05$. Os dados foram avaliados estatisticamente usando o software STATISTICA versão 10.0 (StatSoft Inc. 2011). Tentou-se perceber se existiam diferenças estatísticas entre as formulações dos revestimentos/filmes e ao longo do armazenamento, para casa um dos métodos analisados. Para os resultados da análise sensorial foi efetuada uma análise dos principais componentes ou PCA – *Principal Components Analysis*.

4.6 Controlo do decaimento com agente antifúngico

Com o intuito de verificar o potencial antifúngico do revestimento a aplicar nas framboesas, incorporou-se um agente antifúngico (benzoato de sódio) a duas concentrações (0,05 e 0,1 %) avaliou-se o decaimento das framboesas ao longo de 14 dias de armazenamento a 5 °C, aproximadamente no frigorífico, reproduzindo deste modo as condições de armazenamento que as framboesas estarão sujeitas

nos supermercados. A introdução do benzoato de sódio foi realizada na fase anterior à medição e acerto do pH, aquando da criação da formulação para revestimento.

4.6.1 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas às framboesas foram realizadas com o intuito de avaliar se a aplicação do revestimento era eficaz na prevenção do desenvolvimento e proliferação de fungos e bolores. Estas análises foram efetuadas num laboratório externo e acreditado, o LabiAgro, juntamente com outras amostras que a empresa envia anualmente para avaliar/controlar a proliferação de fungos e bolores. Para este fim, as amostras foram preparadas de acordo com a ISO 6887 - *Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination*. A contagem de microrganismos a 30 °C foi realizada de acordo com a ISO 4833-1:2013, e a de bolores e leveduras a 25 °C de acordo com o método NP 3277-1:1987.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise das formulações usadas

5.1.1 Reologia da formulação

As 3 formulações: quitosano 1,5 % (*w/w*), pectina 1,5 % (*w/w*) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) foram caracterizadas quanto à tensão inicial (τ_0), índice de consistência (k), índice de comportamento (n) e valor de viscosidade (η) quando a tensão atingia o valor de 100 Pa s⁻¹ e 2 Pa s⁻¹. Os valores médios e os respectivos desvios padrão estão representados na Tabela 10, tendo sido obtidos com recurso à ferramenta *Solver* do Excel.

Tabela 10. Valores médios e respetivos desvios padrões dos parâmetros dos modelos de viscosidade das formulações utilizadas durante o estudo e valores de viscosidade a duas taxas de deformação diferentes; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)

Formulações	Parâmetros				
	τ_0 (s ⁻¹)	k	n	η_{100} (Pa s ⁻¹)	η_2 (Pa s ⁻¹)
Quitosano	0,000 ±		0,947 ±		0,096 ±
1.5%	0,000 ^a	0,089 ± 0,008 ^a	0,007 ^a	0,069 ± 0,004 ^a	0,004 ^a
Pectina	0,000 ±		1,0036 ±		0,039 ±
1.5%	0,000 ^b	0,010 ± 5,598 × 10 ^{-5b}	0,002 ^b	0,011 ± 1,735 × 10 ^{-18b}	0,001 ^b
Quitosano +	0,000 ±		0,702 ±		0,402 ±
Pectina	0,000 ^a	0,524 ± 0,024 ^c	0,001 ^c	0,133 ± 0,006 ^c	0,016 ^c

Como se pode observar, nenhuma das formulações necessita de uma tensão inicial, por isso não se enquadram nos modelos de Herschel-Bulkley nem no modelo plástico de Bingham. Contudo, apenas a formulação de pectina tem valor de índice de comportamento (n) igual a 1, ou seja, é o único fluido newtoniano. As duas restantes formulações, a de quitosano e a de mistura, são designadas pseudo-plásticas e regem-se pelo modelo da Lei da potência, pois apresentam valores de n diferentes da unidade.

Foi também determinado o valor de viscosidade para uma taxa de tensão de 100 Pa s⁻¹ (usado em processos industriais), e para um valor de 2 para taxa que se considerou como sendo a taxa de tensão de repouso. Esta última, permite inferir acerca do fluido com melhor capacidade de escoamento após

a imersão. Observando o valor de viscosidade para uma taxa de tensão de 100 Pa s^{-1} e no repouso, foi possível verificar que a mistura é a formulação mais viscosa, o que pode ser explicado pela junção das duas formulações. Após análise estatística foi possível verificar que surgem diferenças significativas $p < 0,05$ entre os valores dos índices e de viscosidade para as três formulações aplicadas, sendo que a de pectina apresenta um valor de viscosidade significativamente inferior $p < 0,05$, daí se poder inferir que a formulação de pectina tenha um tempo de secagem (após imersão) inferior, o que pode representar uma vantagem competitiva no revestimento das framboesa originando um revestimento menos espesso (Cisneros-Zevallos & Krochta, 2003).

Os gráficos de viscosidade *versus* taxa de deformação para as três formulações, quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1), encontram-se representadas na Figura 24.

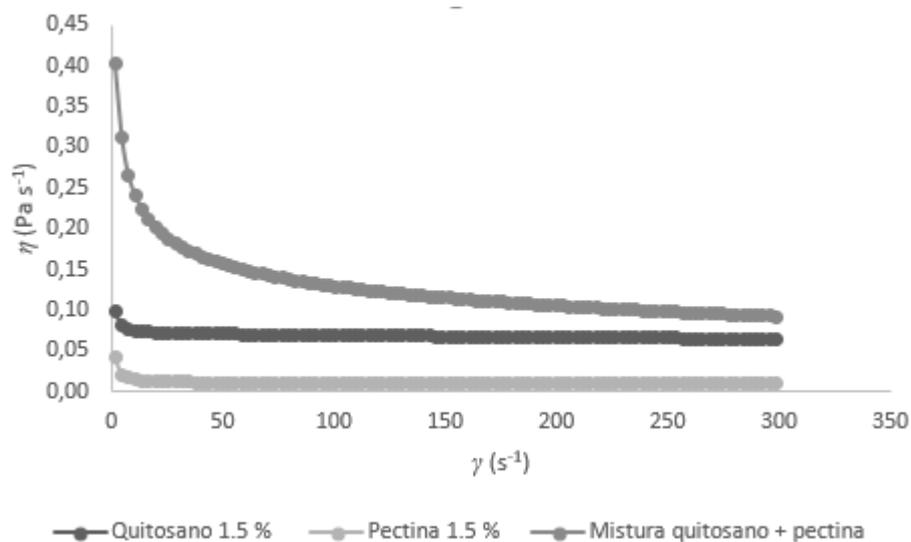


Figura 24. Gráfico da viscosidade (η) versus taxa de deformação (γ) para as três formulações, quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1).

Após observação destes resultados é possível observar os comportamentos descritos anteriormente, e verificar que se encontram de acordo com a literatura, nomeadamente que o quitosano tem um comportamento newtoniano a muito baixas taxas de deformação, acabando por se transformar em pseudo-plástico, para taxas de deformação superiores (aproximadamente 10 Pa s^{-1}) onde a viscosidade depende da taxa de deformação utilizada (Hwang & Shin, 2000). A formulação de pectina, conforme se verifica na Figura 19, está praticamente constante logo desde início daí ser considerada um fluido Newtoniano, indo de encontro ao reportado na literatura onde referencia que para valores de

concentração de pectina inferiores de 3 % (*w/w*) a solução tem um comportamento newtoniano (Chan et al., 2017).

A mistura das duas soluções tem um comportamento idêntico ao da formulação de quitosano, verificando-se serem ambas pseudo-plásticas.

5.2 Análises dos filmes

5.2.1 Quitosano

Foram desenvolvidos vários filmes com quitosano em diferentes concentrações, com o objetivo de determinar a melhor concentração a usar na formulação do revestimento para o fruto. A Figura 25 mostra os filmes obtidos para as diferentes concentrações de quitosano estudadas. A seleção recaiu para a concentração de 1,5 $\text{g}_{\text{quitosano}}/100 \text{ g}_{\text{solução}}$, tendo em conta o facto de os filmes a esta concentração serem mais resistentes e menos quebradiços que os obtidos a concentração inferior (1,0 %) e menos espessos e mais maleáveis que os obtidos para uma concentração superior (2,0 %).

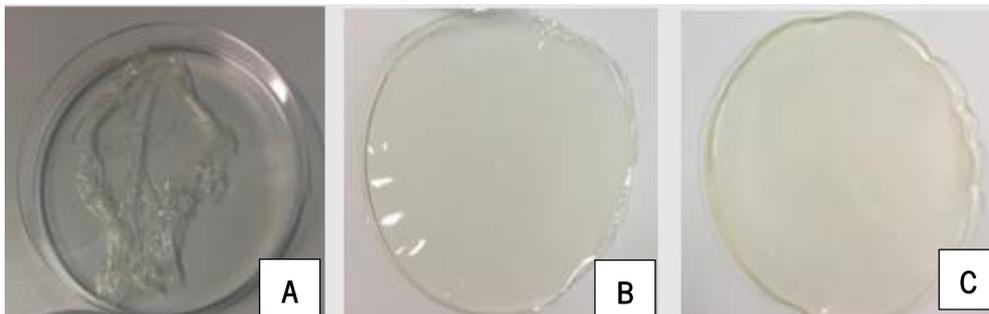


Figura 25. Filmes de quitosano com diferentes percentagens de concentração: A (1 %), B (1,5 %), C (2 %).

5.2.2 Pectina

Relativamente aos filmes de pectina o mesmo foi realizado testando as diferentes concentrações de pectina na solução final, como se verifica na Figura 26. A seleção recaiu para a concentração de 1,5 $\text{g}_{\text{quitosano}}/100 \text{ g}_{\text{solução}}$, tendo em conta o facto de os filmes a esta concentração serem mais resistentes e menos quebradiços que os obtidos a concentração inferior (1,0 %) e menos espessos e mais maleáveis que os obtidos para uma concentração superior (2,0 %) e além disso não apresentavam coloração amarela muito intensa, o que poderia ser um fator eliminatório aos olhos do próprio consumidor aquando do consumo do fruto.

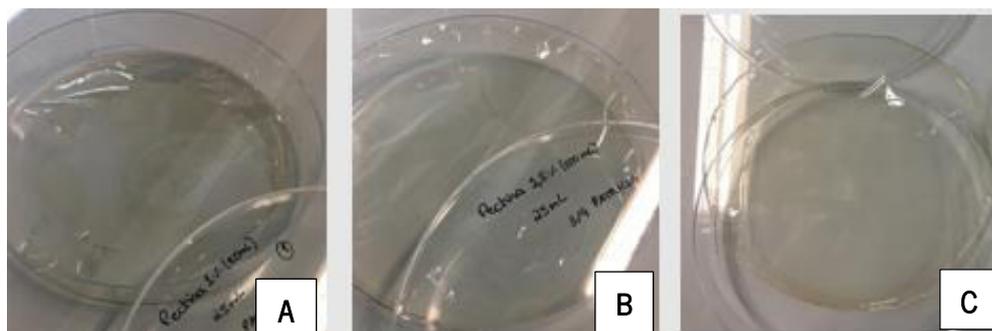


Figura 26. Filmes de pectina com diferentes percentagens de concentração: A (1 %), B (1,5 %), C (2 %).

5.2.3 Mistura (Quitosano com Pectina)

Os filmes da mistura constituídos por quitosano-pectina foram preparados separadamente (como descrito anteriormente no ponto 4.1.3) e misturados na razão de 1:1. Verificou-se que os dois polímeros não se misturavam uniformemente, pois para além do pH de cada uma delas separadamente ser diferente, o quitosano é carregado positivamente e a pectina negativamente. Assim a mistura originou complexos polieletrólitos através das interações electrostáticas, acabando por formar grumos na mistura que eram completamente insolúveis. Assim, foi necessário ajustar o pH a 1,5 de cada uma das soluções em separado para garantir a completa homogeneização das soluções para posterior formação dos filmes. Desta forma, a pectina ficava não ionizada e as tais interações eletrostáticas seriam suprimidas evitando a formação dos complexos (Chan et al., 2017; Ghaffari, Navaee, Oskoui, Bayati, & Rafiee-Tehrani, 2007). Na Figura 27 verifica-se o filme final obtido após otimização da mistura.

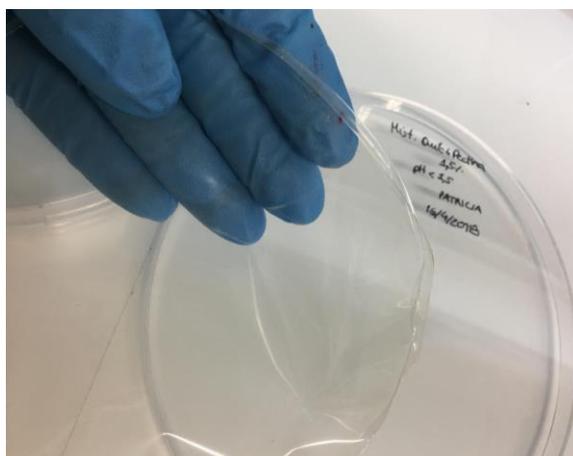


Figura 27. Filme da mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) após otimização.

5.2.4 Análise da superfície e corte transversal

Relativamente às análises no SEM, a Figura 28, mostra a superfície (Figura 28 A1, B1 e C1) e respetivo corte transversal (Figura 28 A2, B2 e C2) de cada uma das formulações usados para revestir as framboesas.

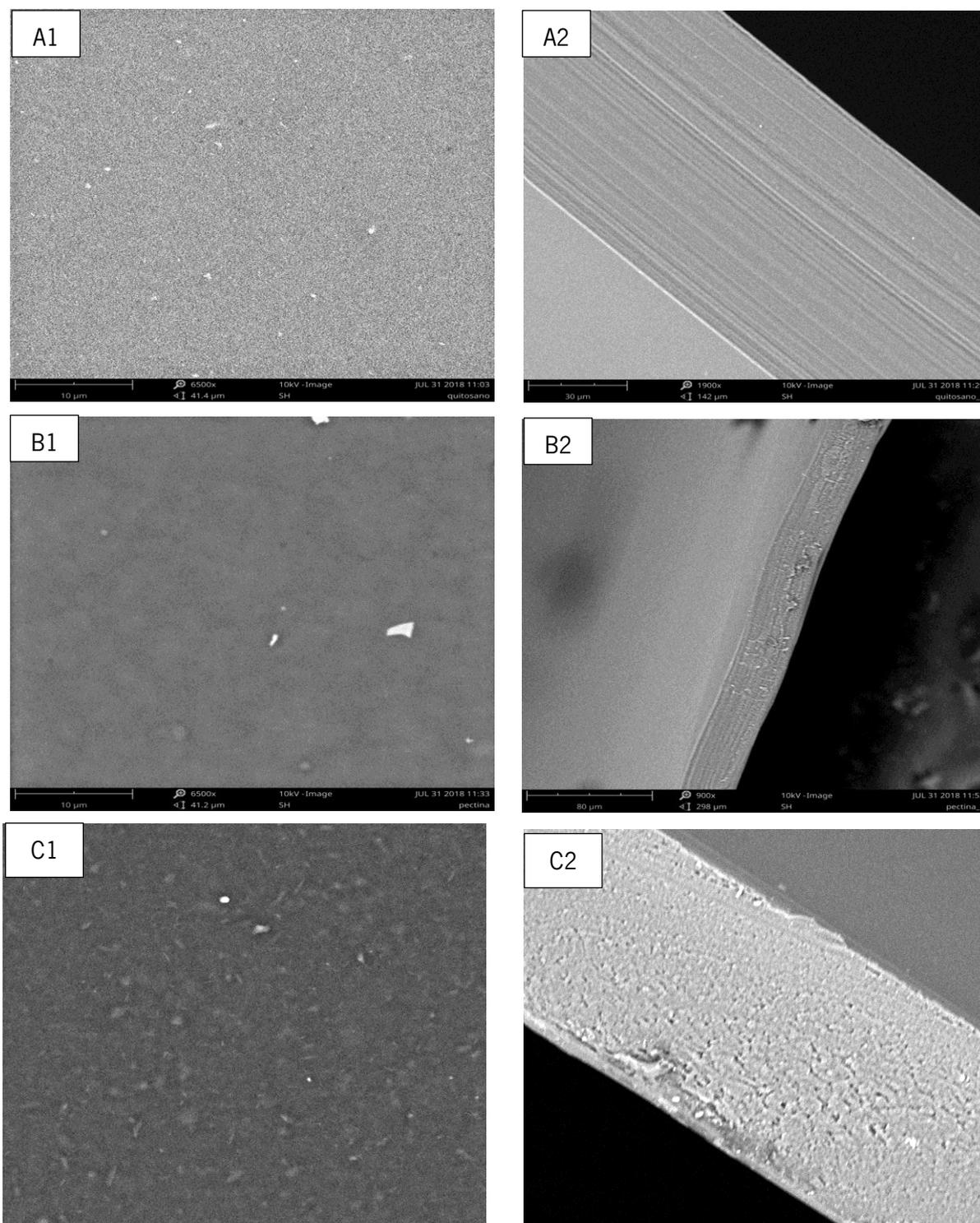


Figura 28. Imagens da superfície e do corte transversal dos filmes edíveis: quitosano 1,5 % (*w/w*) (A1 e A2, respetivamente), pectina 1,5 % (*w/w*) (B1 e B2, respetivamente) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) (C1 e C2, respetivamente).

A morfologia dos filmes edíveis reflete o nível de interação que existe entre os componentes. Este pode ser afetado pela temperatura de secagem, que por sua vez, influenciará as propriedades físicas do material resultante. As análises efetuadas aos filmes demonstraram algumas dificuldades com o método implementado pois as amostras eram bastante sensíveis, acabando por se deteriorar quando o foco do SEM aumentava. Contudo, foi possível observar que o quitosano apresenta uma estrutura densa, coesa e relativamente homogênea, sendo isto perceptível também no corte transversal. Isto pode dever-se à boa interação estabelecida entre o polímero e o glicerol, dando origem a uma estrutura homogênea como se verificou em resultados anteriores (Homez-Jara et al., 2018).

Relativamente aos filmes de pectina verificou-se que estes apresentaram algumas irregularidades no corte transversal o que se pode dever a variações na forma como foi realizado o corte dos pedaços de filme para análise. Relativamente à formulação constituída pela mistura de ambos os polissacarídeos, e uma vez que foi possível, após otimização, juntar ambas as soluções, não se verificam duas camadas distintas. No entanto, foi possível observar a presença de alguns aglomerados irregulares dispersos por todo o filme onde, após análise elementar, constatou-se que esses mesmos aglomerados correspondiam a cloro, o que se pode justificar pelas elevadas quantidades de ácido clorídrico (HCl) adicionadas para diminuir o pH para valores próximos de 1,5.

5.3 Análise das framboesas revestidas

As framboesas revestidas com as três formulações, conforme especificadas no ponto 4.4, foram analisadas e avaliadas em vários parâmetros e os resultados encontram-se descritos abaixo. As conclusões obtidas da análise dos filmes, conforme se especifica no ponto 4.3, foram incorporadas e relacionadas com os resultados obtidos nas framboesas alvo de estudo, quando assim o justificava, por forma a consolidar o que será discutido.

5.3.1 Perda de massa

A variação de massa nas framboesas revestidas com as três formulações, quitosano 1,5 % (*w/w*), pectina 1,5 % (*w/w*) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) foi avaliada ao longo do tempo e os resultados estão apresentados na Figura 29.

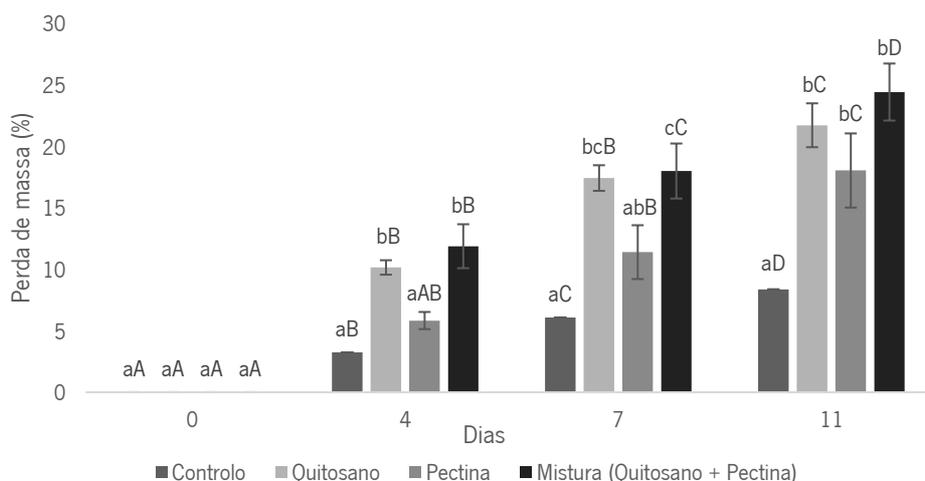


Figura 29 . Perda de massa das framboesas sem revestimento e com as três formulações: quitosano 1,5 % (*w/w*), pectina 1,5 % (*w/w*) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).

Observando os resultados obtidos é notória a perda de massa crescente no controlo e no revestimento de mistura onde sofrem variações estatísticas significativas, durante todo o armazenamento. Contudo, é o controlo o que apresenta menos perda de massa. A pectina não sofre variações significativas ao longo dos 7 dias de armazenamento, contudo entre o 7º e 11º dia já ocorre um aumento considerável e acima do observado no controlo. Isto pode ser atribuído ao efeito que o próprio revestimento tem sobre as células da framboesa que, por serem muito sensíveis, acabam por ficar danificadas com o método de imersão originando maior perda de massa ao longo dos dias. Esta conclusão vai de encontro ao que surge na literatura pois, apesar de os polissacarídeos apresentarem geralmente uma boa adesão a frutos, têm uma natureza hidrofílica que origina uma fraca barreira à humidade (Baldwin & Nisperos-Carriedo, 1993). A perda de peso a baixa temperatura, também se revelou algo expectável, tal como aconteceu durante o procedimento reportado (Guerreiro, Gago, Miguel, & Antunes, 2013; Krüger, Dietrich, Schöppllein, Rasim, & Kürbel, 2011; Shin, Ryu, Liu, Nock, & Watkins, 2008; Vicente, Martínez, Civello, & Chaves, 2002).

Para poder concluir, mais assertivamente, que a perda de massa estava relacionada com o próprio fruto, um outro teste foi realizado. Nele pesou-se, ao longo do mesmo tempo de armazenamento, os revestimentos isoladamente, sem estarem em contacto com o fruto, em copos de amostra perfurados e armazenados no mesmo frigorífico, mantendo assim as condições a que as framboesas estiveram

sujeitas. O revestimento de mistura (quitosano + pectina) não foi avaliado uma vez que a aplicação é feita pela técnica *layer-by-layer* e não fazendo a imersão numa solução conjunta dos dois biomateriais.

Os resultados estão expressos na Figura 30 e nela verifica-se a crescente perda de massa ao longo do tempo, querendo isto dizer que, possivelmente, a perda de massa que se constatou, anteriormente no fruto, pode estar relacionado com a própria secagem/evaporação do polissacarídeo. Contudo, ainda é possível constatar que o revestimento de pectina se revelou mais vantajoso do que o de quitosano pois os valores de perda de massa, para o mesmo dia de armazenamento, foram sempre inferiores.

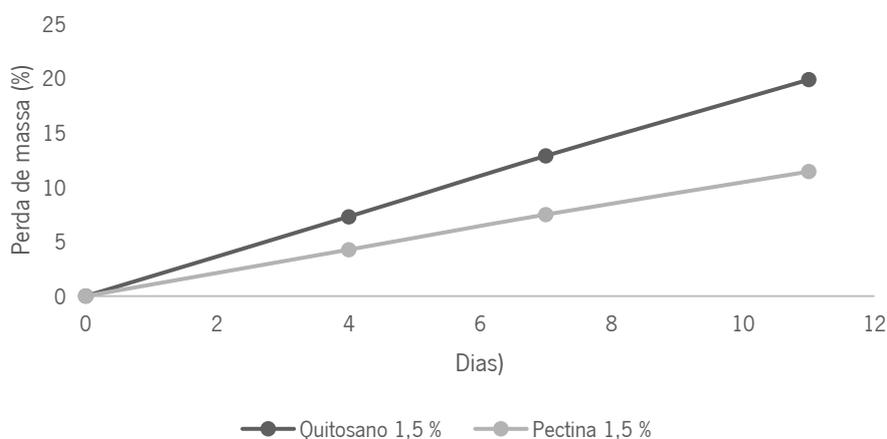


Figura 30. Perda de massa do revestimento de quitosano 1,5 % (*w/w*) e pectina 1,5 % (*w/w*) durante o período de armazenamento.

Um dos testes efetuados aos filmes foi a permeabilidade ao vapor de água. Este parâmetro está inteiramente ligado à perda de peso por parte das framboesas, uma vez que relaciona a quantidade de água que é transferida entre o alimento e o exterior, e devendo tomar valores mais baixos quanto possível. A pectina e a mistura de soluções apresentavam os menores valores, conforme se verifica na Tabela 11, logo seriam as ideais para prevenir perda de massa nas framboesas.

Tabela 11. Valores médios e respetivos desvios padrões da permeabilidade ao vapor de água obtidos como resultado do estudo conjunto realizado pelo aluno Vítor Silva; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)

Tipo de Filmes	Permeabilidade ao vapor de água ($\text{g m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$)
Quitosano 1,5 %	$1,22 \times 10^{-9} \pm 4,63 \times 10^{-10}$ ^a
Pectina 1,5 %	$3,74 \times 10^{-10} \pm 0,00$ ^b
Mistura (Quitosano + Pectina)	$5,01 \times 10^{-10} \pm 1,73 \times 10^{-10}$ ^b

Comparando estes dados com os obtidos durante o trabalho verificou-se que ao longo do tempo, no revestimento de pectina, não surgem diferenças estatísticas significativas $p > 0,05$ até ao 7º dia de armazenamento quando comparadas com o controlo, contudo, entre o 7º e o 11º dia é a formulação que originou maior percentagem de perda de peso, contrariando o que se obteve na análise dos filmes.

Foi ainda avaliada a hidrofobicidade da superfície onde, através da medição de ângulos de contacto, foi possível verificar qual das formulações tinha maior ou menor afinidade com a água, uma vez que quanto maior fosse o valor do ângulo, mais hidrofóbica era a superfície. Valores de ângulo acima de 65º correspondem a superfícies hidrofóbicas enquanto valores abaixo deste número correspondem a superfícies hidrofílicas (Ramos et al., 2013). Os resultados estão expressos na Tabela 12 onde foi possível constatar que a pectina era muito hidrofílica, sendo o oposto do quitosano, e tendo a mistura atingido valores intermédios. Tal pode ser visto como uma vantagem da pectina sobre os restantes revestimentos, uma vez que apesar de ser muito hidrofílica apresenta valores de permeabilidade baixos.

Tabela 12. Valores médios e respetivos desvios padrões da medição dos ângulos de contacto no tempo 0 e após 10 segundos de contacto da gota de água com o filme, obtidos como resultado do estudo conjunto realizado pelo aluno Vítor Silva; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)

Tipo de Filme	0 s	10 s
Quitosano 1,5 %	90,5° ± 3,1 ^a	75,4° ± 5,1 ^a
Pectina 1,5 %	41,3° ± 3,4 ^b	28,4° ± 3,9 ^b
Mistura (Quitosano + Pectina)	61,9° ± 5,6 ^c	56,5° ± 5,2 ^c

5.3.2 Firmeza

A análise à firmeza e compressão das framboesas com revestimento foi realizada por forma a saber o quanto o revestimento poderia afetar a firmeza do fruto durante a mastigação. Estes são dos fatores físicos mais importantes na manutenção da qualidade da framboesa no pós-colheita. Nas Figuras 31 e 32 apresentam-se os resultados obtidos.

Relativamente à firmeza, e apesar de pelo gráfico se verificar variações, não há diferenças estatísticas $p > 0,05$ entre os tratamentos com quitosano e o de mistura logo, nestes casos, nada se pode concluir acerca do efeito do revestimento na firmeza do fruto. Contudo, observando apenas um determinado tempo (0, 4, 7 ou 11 dias) e avaliando a influência dos 4 revestimentos aplicados, é possível constatar-se que o de mistura surge sempre como o revestimento que apresenta uma diferença

estatística significativa $p < 0,05$ relativamente aos restantes. Assim, pode-se inferir que este revestimento é o mais afetaria influenciaria, de forma negativa, a firmeza do fruto aquando da sua aplicação.

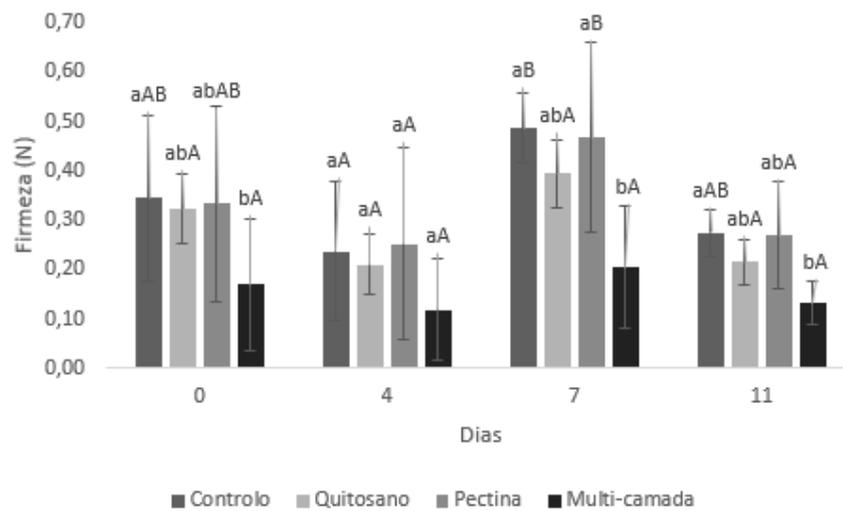


Figura 31. Firmeza das framboesas sem revestimento e com as três formulações: quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).

Através da análise do gráfico é também perceptível que a pectina sofre variações logo após o 4º dia de armazenamento embora não apresente uma variação constante. Isto pode ser explicado pela grande variabilidade das framboesas utilizadas nesta análise entre dias de amostragem, uma vez que sendo este teste destrutivo, as framboesas ficavam danificadas e inviáveis para posterior utilização. Deste modo, outros fatores como diferentes graus de maturação, formas e tamanhos entre as framboesas usadas nos diferentes tempos de amostragem poderiam afetar significativamente os resultados obtidos.

Relativamente ao teste de compressão, quando observamos os resultados verificamos que seguem a tendência dos resultados obtidos para a firmeza. No entanto, são possíveis de observar diferenças significativas $p < 0,05$ no controlo, quitosano e mistura a partir do 4º dia, embora surjam novamente discrepâncias para os diferentes tempos de amostragem, que acreditamos deverem-se aos motivos referenciados anteriormente (diferentes graus de maturação, formas e tamanhos).

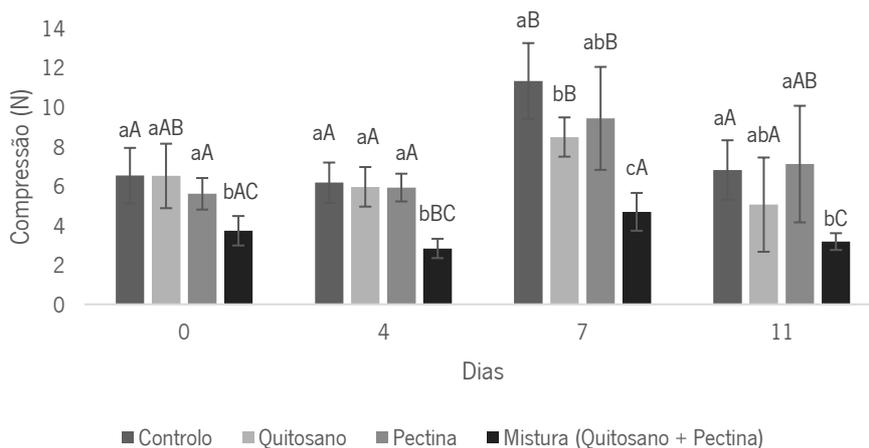


Figura 32. Compressão das framboesas sem revestimento e com as três formulações: quitosano 1,5 % (*w/w*), pectina 1,5 % (*w/w*) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).

Incidindo apenas no último dia de armazenamento ($t = 11$), o revestimento de mistura é o que mais se destaca, originando valores de força de compressão baixos, e estatisticamente inferiores $p < 0,05$ dos restantes. Isto demonstra que este revestimento não só não protegeu a framboesa, como a tornou menos resistente (mais mole) ao longo do período de armazenamento, contrariamente ao que se pretendia. Como explicado previamente, isto pode dever-se ao próprio método de imersão danificar as drupéolas das framboesas e neste caso, como sofre três passos de imersão – quitosano, pectina e solução de cloreto de cálcio - aumenta a probabilidade de fragilizar o fruto.

No geral, e tendo em conta os resultados de ambos os gráficos, a conclusão principal remete para a ineficácia do revestimento de mistura na manutenção da firmeza do fruto. É ainda possível observar que a aplicação de revestimentos não afeta significativamente a firmeza das framboesas, tal como foi constatado previamente para outras formulações de revestimentos (Han, Zhao, Leonard, & Traber, 2004; Tezotto-Uliana, Fargoni, Geerdink, & Kluge, 2014).

Tendo em conta os resultados obtidos da análise das propriedades mecânicas dos filmes, Tabela 13, confirmou-se o que se tinha inicialmente observado durante o manuseando dos filmes, ou seja, os de quitosano eram mais elásticos, mas os de pectina mais resistentes à quebra.

Tabela 13. Valores médios e respectivos desvios padrões da taxa de alongação e resistência à tração obtidos como resultado do estudo conjunto realizado pelo aluno Vítor Silva; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)

Tipo de Filme	Elongação (%)	Resistência à tração (MPa)
Quitosano 1,5 %	58,9 ± 11,5 ^a	0,6 ± 0,4 ^a
Pectina 1,5 %	2,6 ± 1,0 ^b	5,7 ± 1,5 ^b
Mistura (Quitosano + Pectina)	2,2 ± 1,0 ^b	3,1 ± 1,2 ^b

Estes resultados estão de acordo com o previamente publicado (Bourbon et al., 2011; Lorevice, Otoni, de Moura, & Mattoso, 2016). Contudo, foi verificou-se uma pequena diferença nos valores dos de mistura, tal como observado quando a formulação foi aplicada à framboesa, obtendo-se valores de alongação mais baixos do que os restantes.

5.3.3 Análise de cor

A cor é um dos parâmetros mais importantes para a aceitação de um alimento pelo consumidor. Este parâmetro foi avaliado ao longo dos vários dias de armazenamento com recurso a um colorímetro e retirou-se os seguintes valores de L^* , a^* e b^* . Estes foram transformados em códigos RGB, usando a função `lab2rgb` do programa MATLAB (exemplo: `lab2rgb([1 2 15], 'OutputType','uint8')`). Após obter os códigos RGB, estes foram convertidos em códigos de cor originando um conjunto de imagens que evidenciam como a cor variou com o tempo de armazenamento para os 3 revestimentos efetuados, comparando com o controlo (sem revestimento) – Figuras 33, 34, 35 e 36.

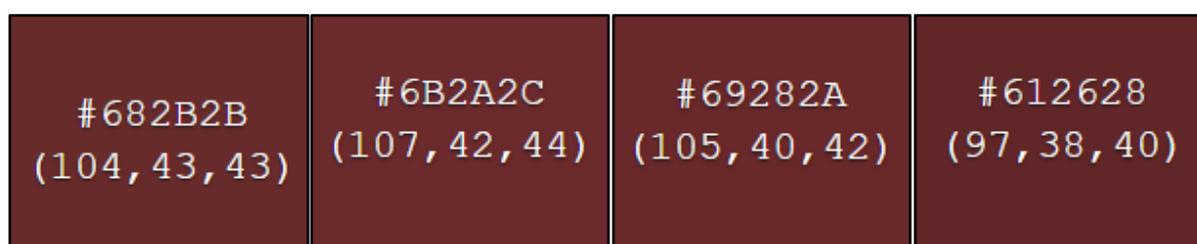


Figura 33. Variação da cor em framboesas sem revestimento ao dia 0, 4, 7 e 11 de armazenamento.

#612425 (97, 36, 37)	#693031 (105, 48, 49)	#632C2D (99, 44, 45)	#642627 (100, 38, 39)
-------------------------	--------------------------	-------------------------	--------------------------

Figura 34. Variação da cor em framboesas revestidas com 1,5 % de quitosano ao dia 0, 4, 7 e 11 de armazenamento.

#5D2627 (93, 38, 39)	#5E2B2D (94, 43, 45)	#632A2B (99, 42, 43)	#602527 (96, 37, 39)
-------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------

Figura 35. Variação da cor em framboesas revestidas com 1,5 % de pectina ao dia 0, 4, 7, e 11 de armazenamento.

#5B2727 (91, 39, 39)	#682F30 (104, 47, 48)	#643032 (100, 48, 50)	#5F2F31 (95, 47, 49)
-------------------------	--------------------------	--------------------------	-------------------------

Figura 36. Variação da cor em framboesas revestidas com 1,5 % de quitosano e 1,5 % de pectina ao dia 0, 4, 7, e 11 de armazenamento.

Como é possível observar pelas imagens acima, não existe uma diferença visual significativa quando comparamos as 4 condições e os 4 dias de amostragem. Posto isto realizou-se uma análise à diferença de cor entre cada revestimento e os de controlo, estando os valores ao longo dos dias representados na Tabela 14.

Este parâmetro quantifica apenas a diferença de cor entre ter ou não revestimento, ou seja, não é possível retirar conclusões acerca do benefício ou prejuízo que o próprio revestimento iria ter aos olhos do consumidor final. Tendo em conta a tabela acima o quitosano é, no geral, o que apresenta valores mais baixos, logo possivelmente seria este o mais eficaz para minimizar as diferenças de cor entre frutos. Uma vez que alguns dos resultados apresentaram variabilidade, calculou-se também o ΔE mas entre dois grupos de amostras semelhantes, neste caso apenas dos frutos sem revestimento, e assim era

possível determinar a diferença de cor que está naturalmente presente nas framboesas ao longo do tempo - Tabela 15.

Tabela 14. Valores de ΔE entre framboesas revestidas e o controlo durante os vários dias de armazenamento

Tempo (dias)	ΔE		
	Controlo/Quitosano 1,5 %	Controlo/Pectina 1,5 %	Controlo/Mistura (Quitosano 1,5 % + Pectina 1,5%)
0	2,74	4,26	5,52
4	2,74	4,26	5,52
7	4,91	4,10	6,99
11	1,56	0,64	6,44

Tabela 15. Valores de ΔE em frutos sem revestimento, ao longo do armazenamento

Valores de ΔE			
0 d	4 d	7 d	11 d
1,22	2,52	3,19	37,65

Através da análise da Tabela 15 é possível constatar que a partir do 4º dia um observador inexperiente já notaria a diferença de cor entre dois frutos aparentemente idênticos, logo quando se observa os resultados, após aplicação do revestimento, conclui-se que parte dessas diferenças podem advir do revestimento mas outra parte da alteração de cor do próprio fruto com o tempo (Mokrzycki & Tatol, 2011). Observando também o comportamento do fruto sem revestimento, após 11 dias de armazenamento, é claramente notória a diferença de cor, onde o ΔE toma valor de 37,65. Isto permite concluir que após vários dias do fruto estar armazenado, os revestimentos são eficazes em minimizar as mudanças de cor uma vez que tomam valores bastante inferiores, como se verifica pela Tabela 14.

Outra análise efetuada, ainda dentro deste parâmetro de cor, foi respetivamente à tonalidade e ao brilho, Figuras 37 e 38, que as framboesas sem revestimento e com as três formulações, quitosano 1,5 % (*w/w*), pectina 1,5 % (*w/w*) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1), apresentavam ao longo do armazenamento.

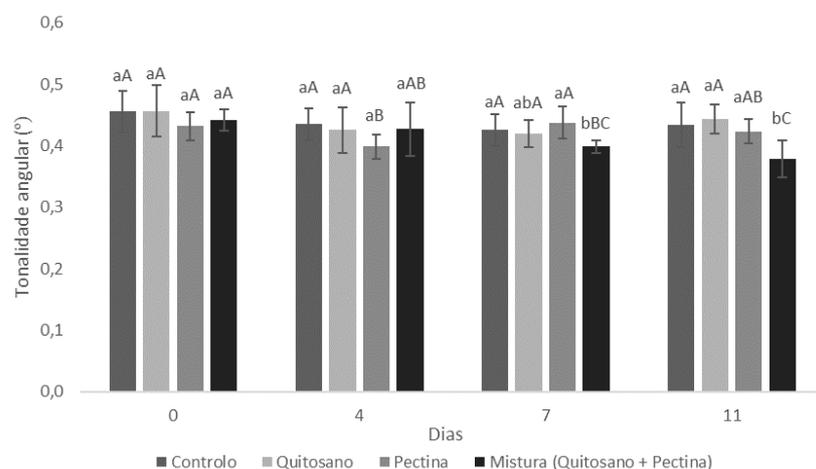


Figura 37. Avaliação da tonalidade angular das framboesas sem revestimento e com as três formulações: quitosano 1,5 % (*w/w*), pectina 1,5 % (*w/w*) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).

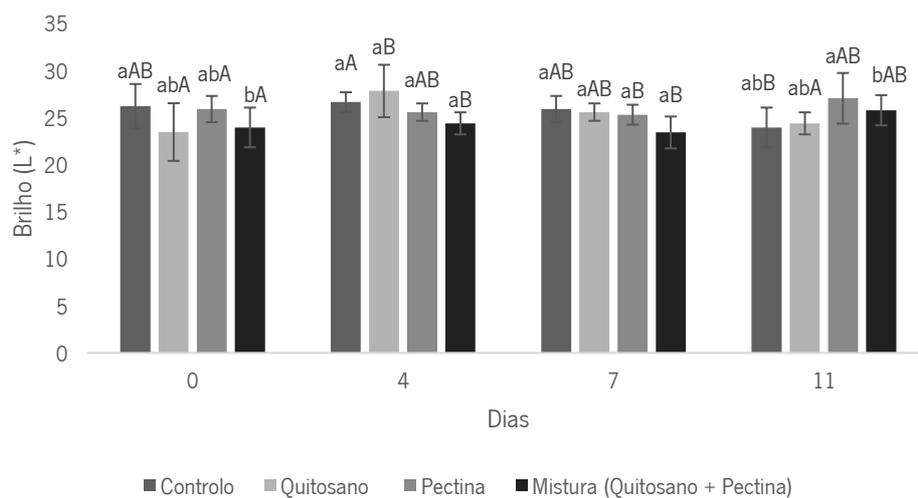


Figura 38. Avaliação do brilho das framboesas sem revestimento e com as três formulações: quitosano 1,5 % (*w/w*), pectina 1,5 % (*w/w*) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).

O gráfico da tonalidade angular mostra que não existem diferenças estatísticas $p > 0,05$ entre os revestimentos de quitosano e de mistura e em relação ao de controlo, ao longo dos 11 dias de armazenamento. Ao dia 11 já foi possível verificar que o controlo (sem revestimento), quitosano e pectina diferiam do de mistura, tomando este último revestimento um valor mais baixo, o que significa menos tonalidade.

O ideal seria que o revestimento aumentasse a tonalidade do fruto, tornando-o mais aceitável aos olhos do consumidor final, logo neste parâmetro, é possível perceber que o revestimento de mistura origina um maior escurecimento da superfície do fruto. Isto pode ser explicado através do que foi observado ao longo da atividade experimental, pois no caso do revestimento de mistura, após secagem, observava-se a formação de uma espécie de película semi-transparente envolvendo a framboesa, Figura 39, o que pode ter influenciado a variação de cor neste revestimento edível.



Figura 39. Framboesas revestidas com mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1).

Observando o gráfico do parâmetro L^* , brilho da framboesa, não surgem diferenças estatisticamente significativas $p > 0,05$ entre o controlo e o revestimento de pectina ao longo do tempo. Estas diferenças são apenas visíveis no revestimento de quitosano e no de mistura entre os 0 e 4 dias de armazenamento, onde o aumento do brilho é mais evidenciado nas framboesas revestidas por quitosano. Em suma, e uma vez que a variação não foi constante ao longo do tempo, nada se pode concluir acerca do benefício ou prejuízo da aplicação do revestimento do fruto.

Segundo a literatura, os filmes de quitosano são os menos influenciadores da cor natural dos frutos, e os de pectina os que mais se evidenciam, estando os de mistura entre estes dois revestimentos (Baron, Pérez, Salcedo, Córdoba, & Sobral, 2017), contudo isso não é evidenciado nos gráficos acima pois não existem diferenças estatísticas $p > 0,05$ relevantes entre eles.

Analisando os resultados obtidos no estudo da opacidade dos filmes, Tabela 16, verificou-se que os filmes de pectina e os de mistura tinham valores de opacidade mais elevados. Embora possa ser uma desvantagem aos olhos do consumidor, poderá também ser uma mais-valia na medida em que protege contra a luz evitando perdas de atividade antioxidante, como se verificou, posteriormente, em testes efetuados à atividade antioxidante destes filmes.

Tabela 16. Valores médios e respetivos desvios padrões da medição da opacidade dos filmes obtidos como resultado do estudo conjunto realizado pelo aluno Vítor Silva; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)

Tipo de Filme	Opacidade
Quitosano 1,5 %	5,3 ± 1,5 ^a
Pectina 1,5 %	10,6 ± 1,9 ^b
Mistura (Quitosano + Pectina)	9,8 ± 1,7 ^b

5.3.4 Análise do decaimento

A proliferação de fungos e bolores ao longo do tempo, Figura 40, foi analisada com base na percentagem de decaimento comparativamente ao dia 0, dia de revestimento das framboesas.

Relativamente ao decaimento, não se verificam diferenças estatísticas $p > 0,05$ entre tratamentos para o mesmo tempo de armazenamento. Em relação à evolução do decaimento ao longo do armazenamento, notou-se um aumento do número de frutos danificados entre o dia de revestimento ($t=0$) e o 4º dia de armazenamento nas framboesas, e no controlo e no revestimento de mistura entre o 4º e 7º dia. Entre o revestimento de quitosano e pectina não surgiu diferenças estatísticas significativas $p > 0,05$ com o decorrer do armazenamento, logo nada se pode concluir sobre a sua eficácia no controlo da proliferação de fungos.

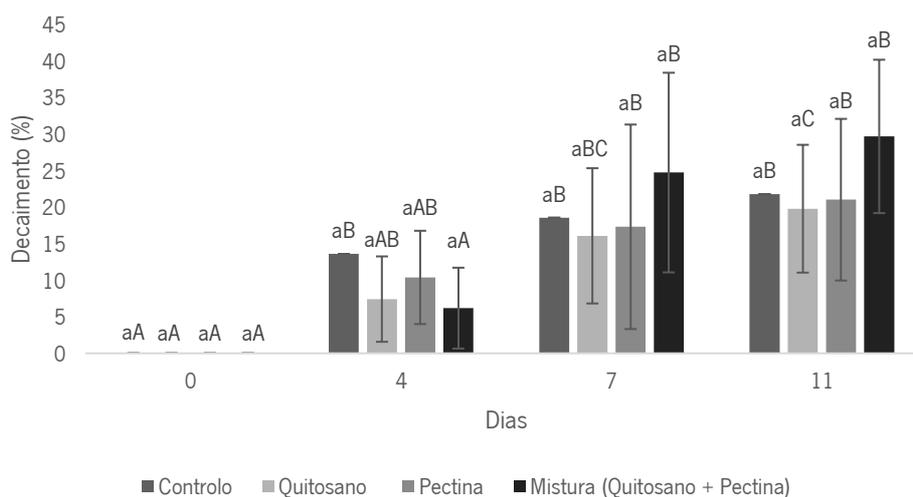


Figura 40. Análise do decaimento nas framboesas sem revestimento e com as três formulações, quitosano 1,5 % (w/w), pectina 1,5 % (w/w) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).

O expectável seria não ocorrer qualquer tipo de crescimento entre o dia 0 e 4, pois o tempo de prateleira da framboesa varia entre 4/5 até 7 dias, como já foi referenciado. Uma vez que se verificou um crescimento logo entre o dia 0 e o 4º dia, poderá ter ocorrido alguma contaminação no decorrer da análise ou algum erro durante o armazenamento. Uma alteração na temperatura do frigorífico onde se armazenaram as cuvets ou até mesmo o facto de ser um frigorífico partilhado no laboratório por vários investigadores sendo aberto várias vezes por dia, e que pode ter originado a proliferação de fungos. Contudo, e comparando com os restantes tratamentos, o controlo foi o único a ter uma diferença estatística relevante na percentagem de decaimento, mas uma vez que os desvios padrões são bastante elevados não é possível retirar conclusões relevantes.

Uma das propriedades analisada nos filmes, e que está relacionada com estes resultados, é a permeabilidade ao oxigénio (Tabela 17), uma vez que este gás pode originar oxidação, e posteriormente deterioração do fruto, logo é importante que o revestimento seja eficaz na barreira a este gás.

Contudo a diferença estatística entre os filmes não foi significativa, pelo que nada se pode concluir sobre esta propriedade nos filmes analisados.

Tabela 17. Valores médios e respetivos desvios padrões da permeabilidade ao oxigénio dos filmes, obtidos como resultado do estudo conjunto realizado pelo aluno Vítor Silva; diferentes letras minúsculas indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$)

Tipo de Filme	Permeabilidade ao Oxigénio ($\text{m}^3 \text{s}^{-1} \text{m}^{-1} \text{Pa}^{-1}$)
Quitosano 1,5 %	$9,80 \times 10^{-16} \pm 4,10 \times 10^{-16} \text{ a}$
Pectina 1,5 %	$5,68 \times 10^{-15} \pm 4,54 \times 10^{-15} \text{ a}$
Mistura (Quitosano + Pectina)	$2,52 \times 10^{-15} \pm 1,72 \times 10^{-15} \text{ a}$

5.3.5 Medição do pH e acidez titulável

O pH e a acidez titulável, Figuras 41 e 42, respetivamente, foram medidos ao longo do tempo de armazenamento e sendo os resultados evidenciados abaixo.

No geral, o valor do pH não varia ao longo dos vários dias de armazenamento, notando-se apenas uma diferença estatística $p < 0,05$ nos revestimentos de pectina e de mistura, que variam entre o dia 0 e o 4º dia e novamente entre o 7º e 11º dia, sofrendo um aumento em ambos os casos. Relativamente ao revestimento de pectina, o seu valor de pH é relativamente abaixo do que seria expectável para a framboesa, conforme especificado na ficha técnica da framboesa fornecida pela Bfruit (pH = 3,22 –

3,95) (Bfruit, 2016). Contudo, o revestimento de mistura como sofreu uma diminuição de pH para valores próximos de 1,5 já seria de esperar que estivesse abaixo do valor estipulado para este fruto.

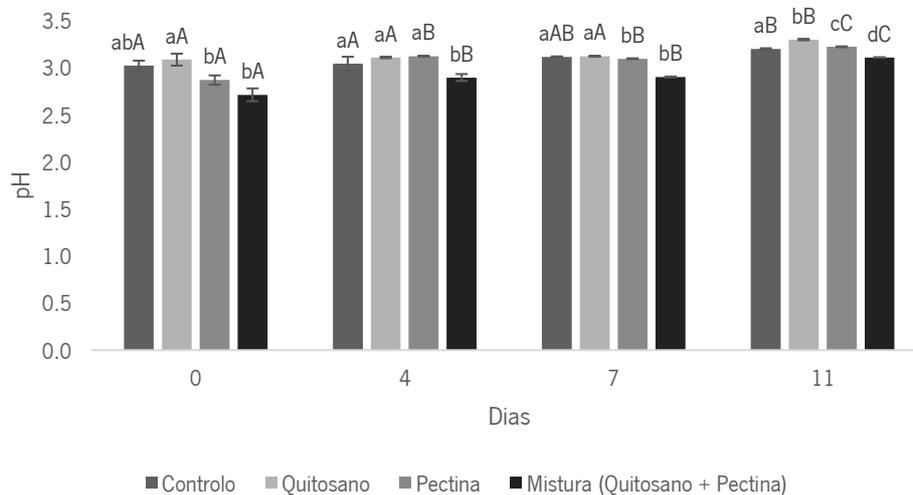


Figura 41. Variação do pH das framboesas sem revestimento e com as três formulações, quitosano 1,5 % (*w/w*), pectina 1,5 % (*w/w*) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).

Observando o último intervalo de tempo (7-11 dias), onde todos os revestimentos apresentam diferenças estatísticas $p < 0,05$ entre si, verifica-se um aumento nos três revestimentos aplicados. Isto pode significar um atraso da senescência do fruto, tal como está reportado na literatura (Gol, Patel, & Rao, 2013). Tendo em conta apenas os 11 dias de armazenamento é possível observar que o revestimento de quitosano tem um valor de pH mais próximo do valor referenciado ideal para a framboesa, e deste modo, possivelmente, poderá ser o revestimento mais adequado para aplicar na framboesa.

Segundo o gráfico da acidez titulável, verifica-se que todos os revestimentos originam uma diminuição deste parâmetro relativamente ao controlo, que por si só, também diminui com o tempo.

Contudo, verifica-se que há diferenças significativas $p < 0,05$ entre o 4º e 7º dia, quer para o controlo quer para o revestimento de quitosano e de mistura. A diminuição observada no revestimento de quitosano foi estatisticamente ($p < 0,05$) menos acentuada, ou seja, pode-se afirmar que o quitosano consegue atrasar a senescência do fruto, uma vez que provoca menor diminuição entre dias de amostragem (Han et al., 2004).

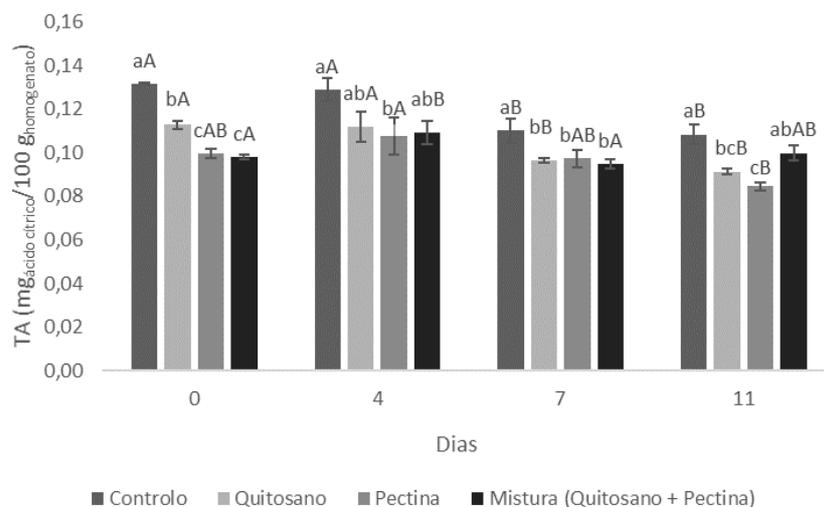


Figura 42. Variação da acidez titulável, em miliequivalentes de ácido cítrico, das framboesas sem revestimento e com as três formulações, quitosano 1,5 % (*w/w*), pectina 1,5 % (*w/w*) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).

Segundo a literatura, a acidez titulável está diretamente relacionada com a quantidade de ácidos orgânicos presentes no fruto, onde uma redução neste parâmetro pode ser expectável uma vez que resulta de alterações metabólicas, contudo, também pode dever-se ao uso destes ácidos orgânicos no processo de respiração como fonte de energia e na síntese de açúcares como fonte de carbono, por parte do próprio fruto (Gol et al., 2013).

5.3.6 Quantificação de sólidos solúveis totais

O conteúdo em sólidos solúveis totais presentes nas framboesas e a sua evolução com o tempo de armazenamento foi avaliado podendo os resultados serem vistos na Figura 43.

Sendo as framboesas um fruto não-climatérico, ou seja, apresentam um declínio leve e constante na sua taxa respiratória após a colheita, seria expectável que surgissem apenas leves alterações na quantidade de sólidos solúveis totais, o que se verifica (Guerreiro et al., 2015).

É também possível observar uma variação estatística $p < 0,05$ entre dias de armazenamento para o mesmo revestimento, embora em intervalos de tempo diferentes. É de notar que o controlo e o revestimento de quitosano sofrem alterações entre 0 e 4 dias, mas posteriormente não sofrem variações significativas.

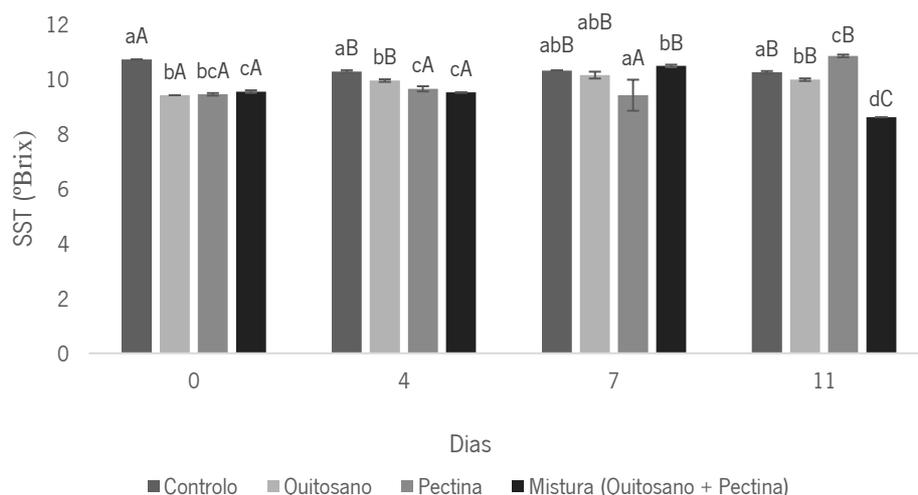


Figura 43. Variação da quantidade de sólidos solúveis totais (SST) nas framboesas sem revestimento e com as três formulações, quitosano 1,5 % (*w/w*), pectina 1,5 % (*w/w*) e mistura (quitosano 1,5 % com pectina 1,5 % na razão 1:1) durante o período de armazenamento; diferentes letras minúsculas no mesmo tempo, e diferentes letras maiúsculas no mesmo revestimento indicam uma diferença estatística significativa (teste Tukey HSD, $p < 0,05$).

Observando os valores ao fim de 11 dias de armazenamento, verifica-se que a framboesa com o revestimento de pectina é a que apresenta um maior teor de sólidos solúveis, comparativamente ao controlo, logo é possível constatar que, o de pectina será o mais indicada para manter o nível de açúcares do fruto sendo também a que demonstra ter uma evolução mais lenta do metabolismo de açúcares (respiração) (Guerreiro et al., 2015). Contudo, esta variação não é similar em todos os tratamentos e intervalos de tempo. O que poderá estar a afetar esta discrepância nos dados tem a ver com o facto de as framboesas serem relativamente diferentes entre si quer na forma, tamanho e até no próprio estado de maturação. Como não foi possível garantir que todas as framboesas usadas apresentavam o mesmo estado de maturação, na altura da aplicação do revestimento, este fator poderá ser a causa para a variabilidade dos resultados obtidos.

5.3.7 Análise sensorial

Os resultados da análise visual e sensorial feita às framboesas revestidas com quitosano e pectina, e às framboesas sem qualquer tipo de revestimento (controlo), encontram-se apresentados nos gráficos radar abaixo (Figura 44 e 45 para o dia 0 e 5, respetivamente) após revestimento dos frutos e armazenamento no frigorífico. As framboesas foram avaliadas para 6 parâmetros sendo eles o aroma, a cor, o sabor, a doura, a textura e por fim, a aceitação geral do fruto.

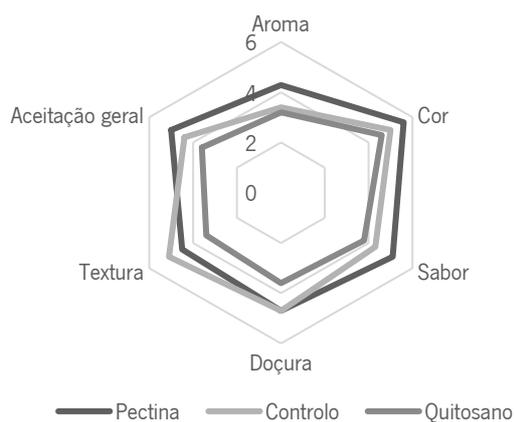


Figura 44. Gráfico radar da análise visual e sensorial das framboesas (sem revestimento, quitosano e pectina) no tempo 0.

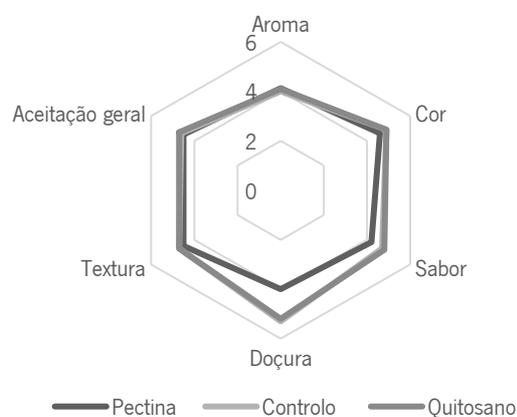


Figura 45. Gráfico radar da análise visual e sensorial das framboesas (sem revestimento, quitosano e pectina) após 5 dias de armazenamento.

Observando os gráficos radar acima, é possível constatar, numa primeira análise, que o tempo influencia a forma como as framboesas são avaliadas pelos provadores. O dia após a aplicação do revestimento (dia 0) demonstra muito mais diferenças entre as análises de cada provador, quando comparadas com as análises obtidas após 5 dias de armazenamento, onde neste caso os dados são relativamente similares entre si. O que se verificou no dia 0 foi que grande parte do painel assumiu como sendo a pectina o revestimento ideal para framboesas, uma vez que teve a melhor pontuação em grande parte dos parâmetros analisados. Além disto, referiram algumas desvantagens relativamente ao revestimento de quitosano tais como: sensação de pegajoso ao toque e um cheiro a substância química mais forte que os restantes, acabando por ter um paladar desagradável. Este aspeto relacionado com o odor pode advir do facto deste revestimento, comparativamente à pectina, ser mais viscoso e daí demorar mais tempo a secagem do solvente intensificando a sua perceção. Contudo, após os 5 dias de

armazenamento, o mesmo não se verifica, e neste caso, já não é notória essa diferença entre revestimentos e o controlo. Isso pode ocorrer pois com o decorrer do tempo o próprio fruto acaba por se degradar e o que se verifica é que o revestimento com pectina, que inicialmente era o preferencial, passa a ser relativamente similar aos outros. Assim, e através destes resultados, podemos afirmar que o revestimento de pectina será melhor num período inicial, mas após 5 dias de armazenamento, tem uma performance idêntica aos restantes.

Uma análise estatística, recorrendo a um PCA, foi realizada por forma a determinar qual dos parâmetros tinha uma maior influência nas diferenças observadas entre as amostras.

Os resultados do PCA mostram que 85,64 % da variação é representada pelos fatores 1 e 2, sendo que o fator 1 é responsável por 72,30 % da variação das amostras e o fator 2 apenas responsável por 13,34 %.

Na Figura 46 é possível ver-se as variáveis projetadas no gráfico após a análise PCA.

É possível constatar, pela Figura 46 e Tabela 18, que os parâmetros de sabor e aceitação geral são os que mais influenciam o fator 1 enquanto o fator 2 é maioritariamente influenciado pela cor e em menor grau pela textura.

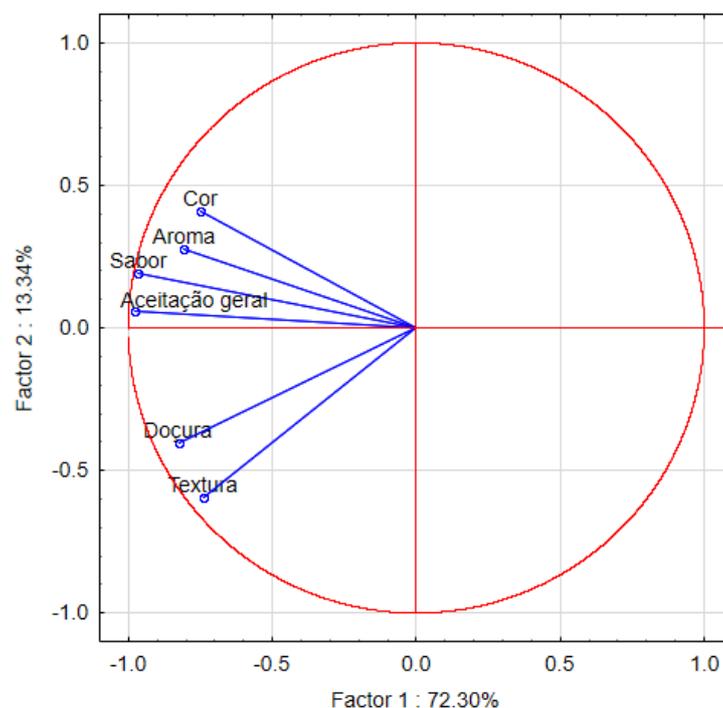


Figura 46. Projeção de variáveis após análise de PCA para as framboesas sem revestimento, com revestimento de quitosano e pectina.

Tabela 18. Contribuição das variáveis em cada fator após análise por PCA

Variável	Factor 1	Factor 2
Aroma	-0,807	0,277
Cor	-0,752	0,408
Sabor	-0,965	0,191
Doçura	-0,827	-0,404
Textura	-0,741	-0,595
Aceitação Geral	-0,978	0,061

5.4 Controlo do decaimento com agente antifúngico

O estudo baseou-se em uma análise visual do número de fungos que se iam desenvolvendo nas framboesas ao longo de vários dias de armazenamento, com o objetivo de perceber qual a concentração de agente antifúngico (benzoato de sódio) era mais eficaz na prevenção da proliferação de fungos.

O maior problema detetado neste teste foi o surgimento de *pinkcells*, o facto de as framboesas terem tamanho reduzido e em alguns casos drupéolas partidas e terem estados de maturação diferentes o que pode ter influenciado o controlo do decaimento. As *pinkcells* são classificadas como danos menores para a framboesa, no controlo de qualidade, contudo como são drupéolas fragilizadas rapidamente podem ficar pisadas, moles ou originar proliferação de fungos. Foi também observado que as framboesas revestidas, apresentavam-se mais moles ao toque, do que as de controlo podendo aferir-se que o próprio método de imersão pode causar algum amolecimento do fruto, como constatado previamente.

O controlo do decaimento foi efetuado com várias concentrações de benzoato de sódio (0,05 % e 0,1 %) durante os dias 0, 2, 5, 7, 9, 11 e 14 nos revestimentos de quitosano e pectina, uma vez que o de mistura tinha demonstrado, até então, a pior performance para os parâmetros analisados. As Figuras 47 e 48 permitem observar a evolução da framboesa ao longo do tempo de armazenamento.

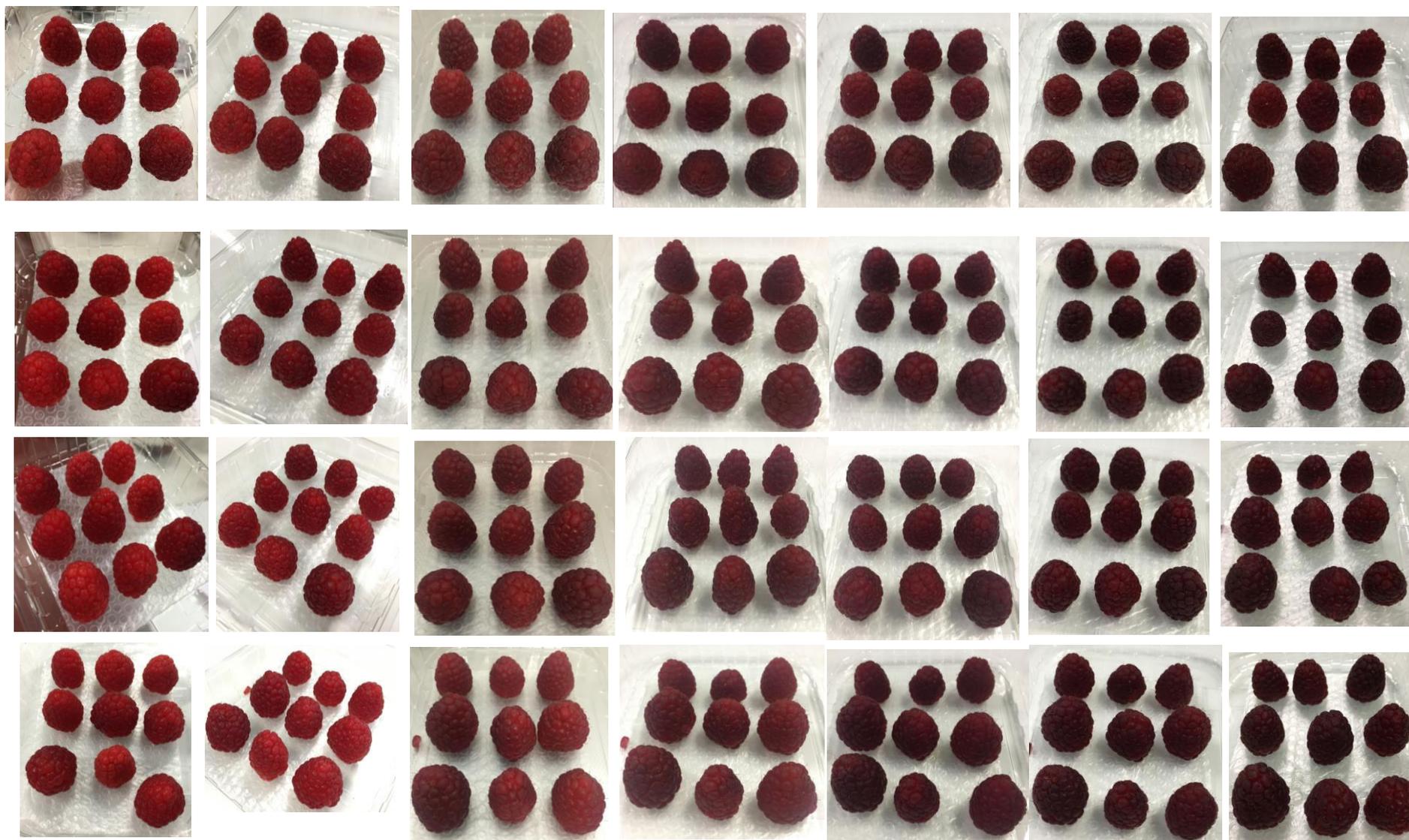


Figura 47. Evolução das framboesas sem revestimento (1° linha), com revestimento de quitosano 1,5 % (*w/w*) (2° linha), quitosano e agente antifúngico 0,05 % (*w/w*) (3° linha) e quitosano com agente antifúngico 0,1 % (*w/w*) (4° linha) ao longo dos dias 0,2,5,7,9,11 e 14 de armazenamento.

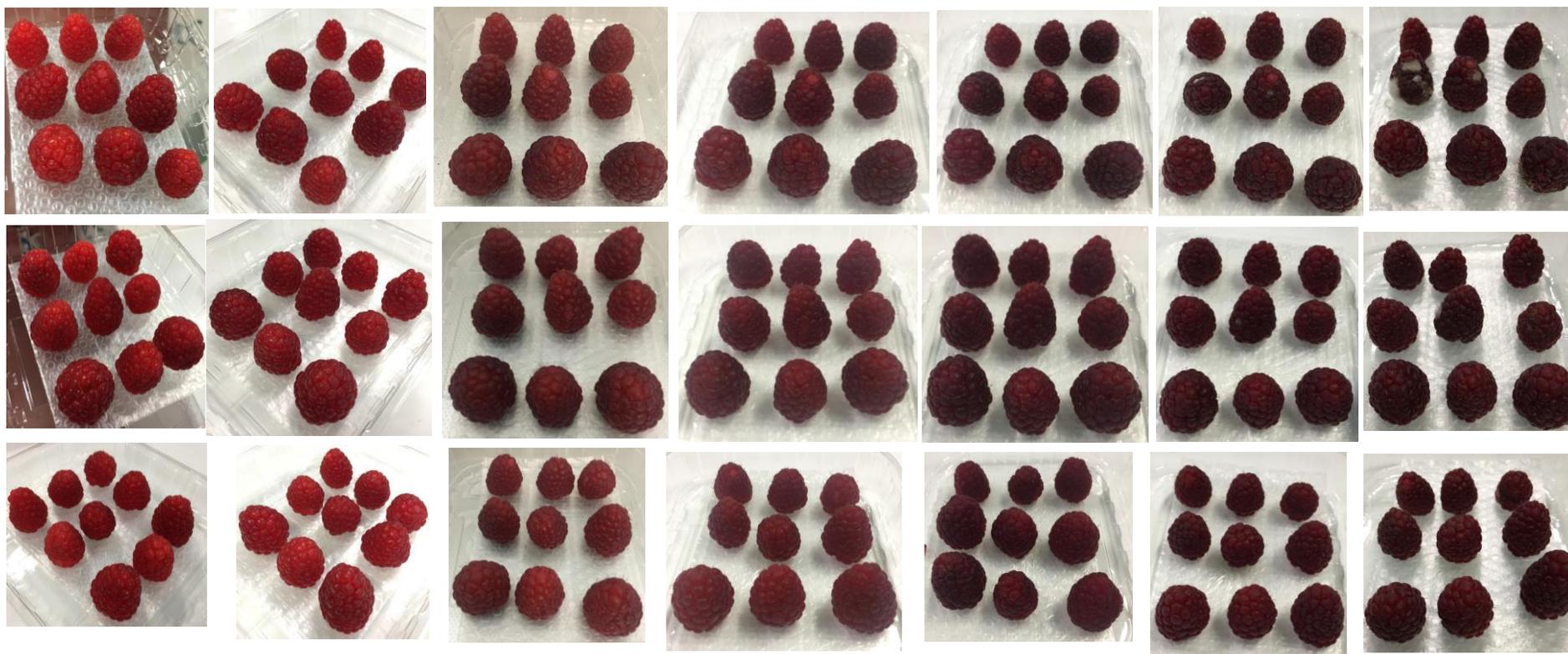


Figura 48. Evolução das framboesas com revestimento de pectina 1,5 % (w/w) (1° linha), pectina e agente antifúngico 0,05 % (w/w) (2° linha) e pectina com agente antifúngico 0,1 % (w/w) (3° linha) ao longo dos dias 0,2,5,7,9,11 e 14 de armazenamento.

Observando as Figuras acima e as seguintes pode-se verificar que ao longo do tempo foram surgindo modificações quer na cor, mas também no tamanho das framboesas. Ao dia 0 (1 dia após a aplicação dos revestimentos) todas as framboesas apresentavam uma cor avermelhada viva que se foi tornando cada vez mais escura com o passar dos dias, e o mesmo se verificou para a perda de massa, um aumento deste parâmetro com o tempo.

Esta alteração de cor levou a que o número de danos mensuráveis, nomeadamente o as designadas *pinkcells* tivessem diferentes contagens ao longo do tempo de armazenamento, pois o escurecimento da superfície dificultava a sua visualização. Outro aspeto que se verificou nas framboesas revestidas com quitosano após 2 dias de armazenamento e até ao fim do estudo, foi a sensação de pegajoso ao toque, o que demonstra que o quitosano tem mais dificuldades em secar e aderir à superfície, o que pode levar a uma rejeição por parte dos consumidores no momento do consumo.

Todos os parâmetros observados ao longo do estudo do decaimento estão expressos na Tabela 19, onde a contagem foi feita em cuvetes de 9 framboesas para cada revestimento, contabilizando o número de framboesas inviáveis para consumo comparativamente ao total e os resultados foram expressos em percentagem.

Tabela 19. Contagem de framboesas danificadas/inviáveis ao longo de vários dias de armazenamento, comparativamente ao total de frutos iniciais

Formulação	Tempo (dias)						
	0	2	5	7	9	11	14
Sem revestimento	0 %	0 %	0 %	0 %	11 %	55 %	77 %
Quitosano 1,5 %	0 %	0 %	11 %	11 %	33 %	55 %	66 %
Quitosano 1,5 % + antifúngico 0,05 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	11 %
Quitosano 1,5 % + antifúngico 0,1 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	33 %
Pectina 1,5 %	0 %	0 %	0 %	11 %	22 %	55 %	77 %
Pectina 1,5 % + antifúngico 0,05 %	0 %	0 %	0 %	0 %	11 %	55 %	77 %
Pectina 1,5 % + antifúngico 0,1 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	22 %	55 %

Este teste teve como principal objetivo selecionar o revestimento com maior atividade contra o desenvolvimento e proliferação de fungos.

Conforme se observa na tabela acima, o revestimento com quitosano é claramente o que demonstra uma melhor performance contra a proliferação de fungos, o que poderá estar relacionado com as suas características intrínsecas, nomeadamente a reconhecida atividade antifúngica. Além disso, e tendo aliado um agente natural antifúngico, verifica-se que a menor concentração deste é eficaz e acrescenta uma maior atividade contra os fungos, tornando o revestimento mais ativo.

5.4.1 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas ao 6º dia de armazenamento e apenas para os revestimentos que demonstraram uma melhor performance contra o crescimento e desenvolvimento de fungos, isto é para os revestimentos de quitosano sem agente antifúngico e com agente antifúngico (0,05 %). Os resultados obtidos para a análise microbiológica realizada por um laboratório acreditado (LabiAgro), encontram-se na Tabela 20.

Tabela 20. Valores de unidades formadoras de colónias para as amostras de framboesas sem revestimento, com revestimento de quitosano e com revestimento de quitosano e agente antifúngico a 0,05 % (*w/w*)

Tipo de Revestimento	Contagem de bolores e leveduras a	Contagem de microrganismos a 30 °C
	25 °C (nº UFC/g)	(nº UFC/g)
Controlo (sem revestimento)	$1,8 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
Quitosano	$8,2 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$
Quitosano com agente antifúngico 0,05 % (<i>w/w</i>)	$3,3 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$

A proliferação de microrganismos corresponde a uma das principais causas de deterioração dos frutos, incluindo a framboesa. Como se pode verificar pelos resultados presentes na Tabela 18, é possível constatar que a análise microbiológica veio corroborar os resultados obtidos para a análise do decaimento, em que o revestimento de quitosano por si só tem atividade antifúngica, quando comparada com o controlo, mas que essa atividade foi incrementada com a adição do agente antifúngico.

Vários estudos publicados previamente demonstraram a eficácia do quitosano em inibir o crescimento de diversos fungos, pois induz a quitinase, uma enzima de defesa, que atua contra os microrganismos (Ghaouth, Arul, Ponnampalam, & Boulet, 1991; Stössel & Leuba, 1984). Contudo, é claramente evidente que a atuação do agente antifúngico permitiu uma redução maior na quantidade de

fungos, bolores e leveduras que surgiram na framboesa. Assim, é possível concluir que o revestimento da framboesa controla o decaimento, podendo ser um controlo mais eficaz quando se procede à introdução de um agente antifúngico à formulação inicial.

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Esta dissertação teve como principal objetivo colmatar as limitações que a framboesa apresenta, quer em termos de qualidade, quer em termos de tempo de prateleira.

Ao longo do projeto foram extensivamente caracterizadas várias formulações, tanto na forma de filme como na forma de revestimento aplicado à framboesa, por forma a encontrar um conjunto de condições que permitissem otimizar uma formulação, tendo em vista a sua aplicação à framboesa e a consequente melhoria da sua qualidade e tempo de vida útil, promovendo desta forma a comercialização de um fruto com um elevado valor comercial.

Os filmes foram obtidos após secagem em estufa e as framboesas fornecidas pela Bfruit, foram revestidas com a percentagem escolhida de cada polissacarídeo (1,5 %), sendo posteriormente armazenadas em cuvetes num frigorífico à temperatura de 5°C, aproximadamente, por forma a mimetizar as condições a que estariam sujeitas num hipermercado.

Os testes efetuados ao filme revelaram ser a pectina ou a mistura de quitosano e pectina, os mais promissores na conservação da qualidade, aumento do tempo de prateleira e até mesmo na manutenção das propriedades naturais da framboesa. Estes resultados foram incorporados na discussão dos resultados obtidos após análise às framboesas.

Relativamente aos parâmetros físico-químicos analisados no fruto previamente revestido foi possível observar, em grande parte dos testes, a baixa eficácia do revestimento obtido por multi-camada (quitosano e pectina).

Através da análise sensorial realizada constatou-se que durante o tempo de armazenamento (aproximadamente 5 dias) os frutos com revestimentos de pectina foram os mais apreciados pelo painel de provadores, embora a diferença entre framboesas com os revestimentos de quitosano e de pectina tenha sido atenuada ao longo do tempo.

Sendo o tema do projeto o desenvolvimento de um revestimento edível, mas também ativo contra a proliferação de microrganismos, introduziu-se um agente antifúngico. Primeiramente foi realizada uma análise visual da evolução do decaimento, com duas concentrações diferentes, tendo-se notado que o revestimento de quitosano foi aquele que demonstrou uma melhor performance contra o crescimento e desenvolvimento de fungos, quer isoladamente, quer aliado a uma concentração de 0,05 % de benzoato de sódio. Posteriormente, estes resultados foram corroborados com o que se obteve pelas análises microbiológicas realizadas num laboratório externo (LabiAgro).

Em suma, a criação de um revestimento edível para melhorar a qualidade e aumentar o tempo de vida da framboesa foi, em parte, conseguida. Por um lado, verificou-se a melhoria na qualidade do fruto, com revestimento de pectina, embora apenas durante o seu tempo de vida útil e através do obtido pela análise sensorial. Por outro lado, constatou-se que o quitosano foi o que apresentou as melhores propriedades contra fungos e bolores, e de certa forma influenciou o tempo de prateleira da framboesa. Contudo, o expectável seria que o revestimento resultante da mistura de hidrocolóides surgisse como o revestimento ideal por garantir a junção das vantagens de ambos, mas tal não se verificou.

Ao longo deste trabalho surgiram várias dificuldades, principalmente com o próprio fruto, o que pode ter causado algumas das discrepâncias de resultados. Posto isto, e consoante todas as conclusões obtidas ao longo do projeto surgem assim algumas sugestões de trabalho futuro.

Em termos de matéria-prima, ou seja, as framboesas, o ideal seria ter acesso a cusetes sempre do mesmo produtor, garantindo-se assim que todos os frutos apresentavam os mesmos tratamentos no campo e ao longo do seu desenvolvimento, uniformizando os resultados obtidos. Isto não foi possível desde início uma vez que a produção foi escassa, pelas bruscas alterações de clima e baixa procura de mercado, criando várias limitações na execução contínua dos procedimentos. Relativamente aos parâmetros físico-químicos seria interessante estudar a capacidade molhante, mas desta vez, do revestimento no próprio fruto e não apenas do filme e ainda alterar, na fase de formulação do revestimento de mistura de ambos os polissacarídeos, a razão de quitosano relativamente à de pectina, visto que se alcançou resultados favoráveis com este biomaterial.

O tempo de imersão e secagem também devem ser otimizados bem como o método de aplicação do revestimento em que se poderia, por exemplo testar o método de *spray*.

A nível da análise sensorial, esta poderia ser feita com recurso a um painel mais alargado de provedores e até mesmo realizar esta análise em framboesas revestidas com o agente antifúngico podendo assim aumentar os dias de amostragem, uma vez que foi possível concluir que a introdução do agente permitia alargar o tempo de vida útil do fruto.

Relativamente à análise microbiológica do agente antifúngico, seria interessante avaliar mais do que um dia de amostragem, para ser possível comparar como se comporta a evolução da proliferação. Além disso, poderiam ser testadas novas concentrações de agente, usar extratos naturais como alternativa aos químicos, ou até mesmo, observar a capacidade conjunta do benzoato de sódio com outro agente que fosse também ele um químico natural por forma a evitar a alteração das características intrínsecas ao produto final.

Paralelamente a este trabalho de investigação foi também realizado, na empresa Bfruit, várias tarefas na área do controlo de qualidade. Uma consistiu na avaliação e controlo de qualidade dos frutos que chegavam ao entreposto para posterior embalamento e expedição, garantindo desta forma que só eram comercializados frutos que estivessem dentro dos parâmetros pré-definidos pela Bfruit. Outra parte consistiu em revisão de alguns procedimentos que eram pedidos por parte da norma BRC, tornando-os assim aptos e atualizados para a auditoria que se iria realizar meses mais tarde.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- About BRC Global Standards. (n.d.). Retrieved January 16, 2018, from <https://www.brcglobalstandards.com/>
- Almeida, L. H. de. (2012). *QUALIDADE DE MORANGO E FRAMBOESA: Efeito de diferentes práticas culturais , datas de colheita e estabilidade durante conservação sob congelação*. Universidade Técnica de Lisboa.
- Arfini, F., & Mancini, M. C. (2014). *British Retail Consortium (BRC) Standard : a New Challenge for Firms Involved in the Food Chain . Analysis of Economic and Managerial Aspects*. Parma, Itália.
- Azevedo, S. M. da C. (2007). *Estudo de Taxas de Respiração e de Factores de Qualidade na Conservação de Morango Fresco*. Universidade Aberta.
- Bachner, M., Poh, Y. C., Serbowicz, T., Vozar, S., Prof, S., Kotov, N. A., ... Arbor, A. (2008). The “ Spin-Grower ”: A Machine for Rapid Layer-by-Layer Assembly of Nanostructured Materials Final Report. *Research Gate*, (April).
- Bai, J., & Plotto, A. (2012). Coatings for fresh fruits and vegetables. In E. A. Baldwin, R. Hagenmaier, & J. Bai (Eds.), *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality* (2nd ed., pp. 186–242). CRC Press.
- Baldwin, E. A., & Hagenmaier, R. D. (2012). Introduction. In E. A. Baldwin, R. Hagenmaier, & J. Bai (Eds.), *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality* (2nd ed., pp. 1–12). CRC Press.
- Baldwin, E. A., & Nisperos-Carriedo, M. O. (1993). Edible Coatings for Lightly Processed Fruits and Vegetables. *HortScience*, 28(5), 472. <https://doi.org/10.1017/CB09781107415324.004>
- Barkai-Golan, R. (2001). *Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables: Development and Control* (1st ed.). Elsevier.
- Baron, R. D., Pérez, L. L., Salcedo, J. M., Córdoba, L. P., & Sobral, P. J. do A. (2017). Production and characterization of films based on blends of chitosan from blue crab (*Callinectes sapidus*) waste and pectin from Orange (*Citrus sinensis* Osbeck) peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 676–683. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.004>
- Bfruit. (n.d.). Retrieved June 4, 2018, from <http://www.bfruit.pt/>
- Bfruit. (2016). *Ficha Técnica da Framboesa*.
- Bfruit. (2017). *Caderno de Encargos da Qualidade da Framboesa*.
- Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Cerqueira, M. A., Rocha, C. M. R., Avides, M. C., Quintas, M. A. C., & Vicente, A. A. (2011). Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating

- bioactive compounds of different molecular weight. *Journal of Food Engineering*, 106(2), 111–118.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.024>
- Brasil, I. M., Gomes, C., Puerta-gomez, A., Castell-perez, M. E., & Moreira, R. G. (2012). Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya. *LWT - Food Science and Technology*, 47(1), 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.005>
- Carlos Caldeira. (2018). Cotações – Frutos Frescos – Informação Semanal – 17 a 23 Setembro 2018. *Agricultura e Mar*. Retrieved from <http://agriculturaemar.com/cotacoes-frutos-frescos-informacao-semanal-17-a-23-setembro-2018/>
- CBI. (2018). *Exporting fresh berries to Europe*.
- Chan, S. Y., Choo, W. S., Young, D. J., & Loh, X. J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate Polymers*, 161, 118–139.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.12.033>
- Cheng, G. A., & Baldwin, E. A. (2012). Regulatory aspects of coatings. In E. A. Baldwin, R. Hagenmaier, & J. Bai (Eds.), *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality* (pp. 383–416). CRC Press.
- Cisneros-Zevallos, L., & Krochta, J. M. (2003). Dependence of coating thickness on viscosity of coating solution applied to fruits and vegetables by dipping method. *Journal of Food Science*, 68(2), 503–510. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05702.x>
- Costa, M. J., Marques, A. M., Pastrana, L. M., Teixeira, J. A., Sillankorva, S. M., & Cerqueira, M. A. (2018). Physicochemical properties of alginate-based films: Effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio. *Food Hydrocolloids*, 81, 442–448.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.014>
- da Cruz Pereira Batista, A. (2015). *Estratégia de Internacionalização dos Frutos Silvestres (Pequenos Frutos)*. Universidade do Algarve.
- Dangaran, K., Tomasula, P. M., & Qi, P. (2009). Structure and Function of Protein-Based Edible Films and Coatings. In M. Embuscado & K. C. Huber (Eds.), *Edible Films and Coatings for Food Applications*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1>
- Dhall, R. (2016). Application of edible Coatings on Fruits and Vegetables. In A. Tiwari, A. Galanis, & M. D. Soucek (Eds.), *Biobased and Environmental Benign Coatings*. Scrivener Publishing.
- El-hefian, E. a, & Yahaya, A. H. (2010). Rheological study of chitosan and its blends: An overview. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 4(02), 210–220.
- Fabra, M. J., Falcó, I., Randazzo, W., Sánchez, G., & López-Rubio, A. (2018). Antiviral and antioxidant properties of active alginate edible films containing phenolic extracts. *Food Hydrocolloids*, 81, 96–

103. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.026>
- Felton, L. A. (2007). Characterization of Coating Systems. *AAPS PharmaSciTech*, 8(4), 9.
- Fernandes, C., Calderon V., S., Ballesteros, L. F., Cerqueira, M. A., Pastrana, L. M., Teixeira, J. A., ... Carvalho, S. (2018). Carbon-based sputtered coatings for enhanced chitosan-based films properties. *Applied Surface Science*, 433, 689–695. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.10.088>
- Flutto, L. (2003). Pectin|Properties and Determination. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 4440–4449). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00901-9>
- Framboesa. (2016). Retrieved February 15, 2018, from <http://www.sonatural.pt/fichastecnicas.php>
- Full Report (All Nutrients): 09302, Raspberries, raw.* (2018).
- Garcia, E., & Barrett, D. M. (2005). Fresh-Cut Fruits. In *Processing Fruits Science and Technology* (2nd ed.). CRC Press.
- García, F. T., & Sobral, P. J. D. A. (2005). Effect of the thermal treatment of the filmogenic solution on the mechanical properties, color and opacity of films based on muscle proteins of two varieties of Tilapia. *LWT - Food Science and Technology*, 38(3), 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.06.002>
- Ghaffari, A., Navaee, K., Oskoui, M., Bayati, K., & Rafiee-Tehrani, M. (2007). Preparation and characterization of free mixed-film of pectin/chitosan/Eudragit?? RS intended for sigmoidal drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 67(1), 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.01.013>
- Ghaouth, A. El, Arul, J., Ponnampalam, R., & Boulet, M. (1991). Chitosan Coating Effect on Storability and Quality of Fresh Strawberries. *Journal of Food Science*, 56(6), 1618–1620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb08655.x>
- Gol, N. B., Patel, P. R., & Rao, T. V. R. (2013). Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.008>
- Guerreiro, A. C., Gago, C. M. L., Faleiro, M. L., Miguel, M. G. C., & Antunes, M. D. C. (2015). Raspberry fresh fruit quality as affected by pectin- and alginate-based edible coatings enriched with essential oils. *Scientia Horticulturae*, 194, 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.004>
- Guerreiro, A. C., Gago, C. M. L., Miguel, M. G. C., & Antunes, M. D. C. (2013). The effect of temperature and film covers on the storage ability of Arbutus unedo L. fresh fruit. *Scientia Horticulturae*, 159, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.04.030>

- Han, C., Zhao, Y., Leonard, S. W., & Traber, M. G. (2004). 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*, *33*(1), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.01.008>
- Homez-Jara, A., Daza, L. D., Aguirre, D. M., Muñoz, J. A., Solanilla, J. F., & Váquiro, H. A. (2018). Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures. *International Journal of Biological Macromolecules*, *113*, 1233–1240. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.057>
- Hwang, J. K., & Shin, H. H. (2000). Rheological properties of chitosan solutions. *Korea-Australia Rheology Journal*, *1244*(3), 175–175. Retrieved from <http://www.cheric.org/PDF/KARJ/KR12/KR12-3-0175.pdf>
- Instituto Nacional de Estatísticas. (2018). *Estatísticas Agrícolas - 2017*. Retrieved from https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=320461359&PUBLICACOESmodo=2
- Kempler, C. (2004). Out-of-season greenhouse production of raspberry and strawberry. *Acta Horticulturae*, *633*, 459–465. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.633.57>
- Krüger, E., Dietrich, H., Schöppllein, E., Rasim, S., & Kürbel, P. (2011). Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *60*(1), 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.12.001>
- Kwok, D. Y., & Neumann, a. W. (1999). *Contact angle measurement and contact angle interpretation. Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 81). [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(98\)00087-6](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(98)00087-6)
- Liang, J., Yan, H., Zhang, J., Dai, W., Gao, X., Zhou, Y., ... Puligundla, P. (2017). Preparation and characterization of antioxidant edible chitosan films incorporated with epigallocatechin gallate nanocapsules. *Carbohydrate Polymers*, *171*, 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.081>
- Lin, D., & Zhao, Y. (2007). Innovations in the Development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *6*, 60–75.
- Liu, J., Liu, S., Chen, Y., Zhang, L., Kan, J., & Jin, C. (2017). Physical, mechanical and antioxidant properties of chitosan films grafted with different hydroxybenzoic acids. *Food Hydrocolloids*, *71*, 176–186. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.019>

- Lorevice, M. V., Otoni, C. G., de Moura, M. R., & Mattoso, L. H. C. (2016). Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films. *Food Hydrocolloids*, *52*, 732–740. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.003>
- Martins, J. (2016). A rota dos frutos vermelhos e pequenos frutos em Portugal. *WordPress*. Retrieved from <https://roteiroseeventos.wordpress.com/a-rota-dos-frutos-vermelhos-e-pequenos-frutos-em-portugal/>
- Mitcham, E. (2007). Quality of berries associated with preharvest and postharvest conditions. In Y. Zhao (Ed.), *Berry Fruit: Value - added Products for Health Promotion* (pp. 207–228). CRC Press.
- Mokrzycki, W., & Tatol, M. (2011). Color difference Delta E - A survey Colour difference ΔE - A survey Faculty of Mathematics and Informatics. *Machine Graphics and Vision*, *20*(4), 383–411. <https://doi.org/10.1007/s10817-009-9143-8>
- Oficial Methods of Analysis. (2005). Retrieved February 19, 2018, from <http://www.eoma.aoac.org/methods/info.asp?ID=15499>.
- Olivas, G. I., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). Edible Coatings for Fresh-Cut Fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *45*, 657–670. <https://doi.org/10.1080/10408690490911837>
- Oliveira, P. B. de. (2007a). *A planta de framboesa: Morfologia e fisiologia*.
- Oliveira, P. B. de. (2007b). *Framboesa: Qualidade pós-colheita*.
- Oliveira, P. B. de. (2007c). *Framboesa: Tecnologias de Produção*.
- Park, B. K., & Kim, M. M. (2010). Applications of chitin and its derivatives in biological medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, *11*(12), 5152–5164. <https://doi.org/10.3390/ijms11125152>
- Parlamento Europeu. (2008). Regulamento (CE) N.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo aos aditivos alimentares. *Jornal Oficial Da União Europeia*, *2007*, 16–33.
- Pascall, M. A., & Lin, S. (2013). The Application of Edible Polymeric Films and Coatings in the Food Industry. *Food and Processing Technology*, *4*(2). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000e116>
- Pavlath, A. E., & Orts, W. (2009). Edible Films and Coatings : Why , What , and How ? In M. E.Embuscado & K. C. Huber (Eds.), *Edible Films and Coatings for Food Applications* (pp. 1–24). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1>
- Pequenos Frutos Vermelhos - Mirtilo e Framboesa , Amora e Groselha*. (2018).
- Pérez-Gago, M. B. (2012). Protein-based films and coatings. In E. A. Baldwin, R. Hagenmaier, & J. Bai (Eds.), *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality* (2nd ed., pp. 14–77). CRC Press.
- Pinheiro, A. C., Cerqueira, M., Souza, B., Martins, J., Teixeira, J., & Vicente, A. (2010). Utilização de

- revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares. *Boletim de Biotecnologia, Sociedade Portuguesa de Biotecnologia*, 18–28.
- Ramos, Ó. L., Reinas, I., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Cerqueira, M. A., Pereira, R. N., ... Malcata, F. X. (2013). Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 110–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.05.001>
- Regulamento (UE) N° 1129/2011 da Comissão de 11 de Novembro de 2011. (2011). *Jornal Oficial Da União Europeia*, (6).
- Rodriguez-Casado, A. (2016). The Health Potential of Fruits and Vegetables Phytochemicals: Notable Examples. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(7), 1097–1107. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.755149>
- Rojas-grau, A., Soliva-fortuny, R., & Marti, O. (2009). Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits : a review, 20, 438–447. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.05.002>
- Rubilar, J. F., Cruz, R. M. S., Silva, H. D., Vicente, A. A., Khmelinskii, I., & Vieira, M. C. (2013). Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 466–474. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.07.009>
- Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., Brito, E. S. de, Morais, S. M. de, Sampaio, C. de G., Pérez-Jiménez, J., & Calixto, F. D. S. (2007). Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS+. *Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*, 1–4. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Salas, M. L., & Valence, F. (2017). Antifungal Microbial Agents for Food Biopreservation – A Review, 1–35. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030037>
- Shin, Y., Ryu, J. A., Liu, R. H., Nock, J. F., & Watkins, C. B. (2008). Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 49(2), 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.02.008>
- Singh, S., Gaikwad, K. K., & Lee, Y. S. (2018). Antimicrobial and antioxidant properties of polyvinyl alcohol bio composite films containing seaweed extracted cellulose nano-crystal and basil leaves extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1879–1887. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.057>
- Standards, B. G. (2018). About the BRC Global Standards. Retrieved January 10, 2018, from <https://www.brcglobalstandards.com/about/>

- Stössel, P., & Leuba, J. L. (1984). Effect of Chitosan, Chitin and some Aminosugars on Growth of Various Soilborne Phytopathogenic Fungi. *Journal of Phytopathology*, *111*(1), 82–90. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1984.tb04244.x>
- Sudha, P., Gomathi, T., & Aisverya, S. (2015). Recent Research in the Applications of Chitin, Chitosan and Oligosaccharides. In *Green Polymers and Environmental Pollution Control* (pp. 303–333). <https://doi.org/10.1201/b19772-11>
- Talcott, S. T. (2007). Chemical components of berry fruits. In Y. Zhao (Ed.), *Berry Fruit: Value - added Products for Health Promotion* (pp. 51–68). Boca Raton: CRC Press.
- Teixeira Machado, T. J. (2016). *Aplicação de um novo revestimento e análise dos efeitos produzidos no tempo de prateleira dos frutos vermelhos*. Universidade do Minho.
- Tezotto-Uliana, J. V., Fargoni, G. P., Geerdink, G. M., & Kluge, R. A. (2014). Chitosan applications pre- or postharvest prolong raspberry shelf-life quality. *Postharvest Biology and Technology*, *91*, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.12.023>
- Treviño-Garza, M. Z., García, S., Flores-González, M. del S., & Arévalo-Niño, K. (2015). Edible Active Coatings Based on Pectin, Pullulan, and Chitosan Increase Quality and Shelf Life of Strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Food Science*, *80*(8), M1823–M1830. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12938>
- Vargas, M., Pastor, C., Albors, A., & Chiralt, A. (2008). Development of Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables : Possibilities and Limitations. *Fresh Produce*, *2*(2), 32–40.
- Vicente, A. R., Martínez, G. A., Civello, P. M., & Chaves, A. R. (2002). Quality of heat-treated strawberry fruit during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*, *25*(1), 59–71. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00142-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00142-9)
- Vieira, M., & Peres, A. (2012). Effect of Reagents on the Rheological Behavior of an Iron Ore Concentrate Slurry. *International Journal of Mining Engineering and Mineral Processing*, *1*(2), 38–42. <https://doi.org/10.5923/j.mining.20120102.03>
- Watada, A. E., Ko, N. P., & Minott, D. A. (1996). Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, *9*, 115–125.
- Zhang, X., Chen, H., Zhang, H., & Chen, H. (2007). Layer-by-layer assembly : from conventional to unconventional methods. *The Royal Society of Chemistry*, 1395–1405. <https://doi.org/10.1039/b615590a>

ANEXO I – EXEMPLAR DO CONTROLO DE QUALIDADE DA FRAMBOESA



Relatório Controlo Qualidade **FRAMBOESA**

Mod. 014.03
16-04-2018

Produtor (nº_nome) **35 1 Kero Tropical Outeiro**
 GGN Sim
 Guia(s) de Entrada **6874**
 Data do Controlo **18/06/2018**
 Temperatura (°C) | -
 Responsável pela operação **CQ4**



Parâmetros	Quantificação				
Informação Geral					
Classificação	EXTRA/1.1	1.2	INDÚSTRIA		
Lote	2407035	2407035 1.2	2407035 Ind	0	0
Variedade	Kweli	Kweli	Kweli		
Quantidade rececionada (kg)	174,0	4,5	28,0	0,0	0,0
Média peso por unidade (kg)	0,140	0,138			
Qualidade					
Defeitos Críticos %					
Fungos e Pragas	0,00	0,00			
Podridão	0,00	0,00			
Total	0,00	0,00			
Defeitos Maiores %					
Sobrematuração	3,73	8,00			
Corpos estranhos	0,00	0,00			
Frutos pisados / Sumo	0,00	1,07			
Total	3,73	9,07			
Defeitos Menores %					
Deformações	2,13	1,07			
Frutos partidos	0,00	1,07			
Frutos verdes	0,00	0,00			
Calibre reduzido	0,00	0,00			
Danos de vento, sol e outros	3,20	4,27			
Total	5,33	6,40			
Defeitos Totais	9,07	15,47			
Peso Médio do Bago	0,0040	0,0040			
Observações					

Classificações

Até 8% de defeitos maiores, até 12% de defeitos totais e até 1% de defeitos críticos	EXTRA/1.1
Até 12% de defeitos maiores, até 20% de defeitos totais e até 1,5% de defeitos críticos	1.2
Acima de 8% de defeitos maiores, acima de 20% de defeitos totais ou acima de 1,5% de defeitos críticos	INDÚSTRIA

Elaborado por: Técnico Qualidade

Aprovado por: CA

Página 1 de 1

Figura A 1 Exemplar da folha de controlo de qualidade da framboesa, na empresa Bfruit.

ANEXO II – EXEMPLAR DO CONTROLO DE QUALIDADE DA GROSELHA



Relatório Controlo Qualidade GROSELHA

Mod. 015.03

DATA: 16-04-2018

Produtor (nº_nome) 13 Catarina Andreia S. Ferreira/ Pedro Perei
 GGN Sim
 Guia(s) de Entrada 3855
 Data do Controlo 06/06/2018
 Temperatura (°C) 19
 Responsável pela operação CQ4



Parâmetros	Quantificação				
Informação Geral					
Classificação	EXTRA/1.1				
Lote	2303013	0	0	0	0
Varietade	Junifer				
Quantidade rececionada (kg)	205,5	0,0	0,0	0,0	0,0
Média peso por unidade (kg)	0,147				
Qualidade					
Defeitos Críticos		%			
Fungos e Pragas	0,00				
Podridão	0,00				
Total	0,00				
Defeitos Maiores		%			
Sobrematuração	0,00				
Pisados/ Sumo	0,90				
Corpos estranhos	0,00				
Verdes	1,00				
Total	1,90				
Defeitos Menores		%			
Cachos com espaços entre bagos	0,00				
Desidratados	0,00				
Danos vento, sol e outros	1,70				
Total	1,70				
Defeitos Totais	3,60				
Outros					
Nº bagos por cacho (5+; 4-)	5+	0,00	0,00	0,00	0,00
Disposição dos cachos (A-alinhados; NA-não alinhados)	A	0,00	0,00	0,00	0,00
Observações					
Classificações					
Até 8% de defeitos maiores, até 12% de defeitos totais, até 1% de defeitos críticos e cachos com mais de 5 bagos					EXTRA/1.1
Até 12% de defeitos maiores, até 20% de defeitos totais, até 1,5% de defeitos críticos e cachos até 4 bagos					1.2
Acima de 8% de defeitos maiores, acima de 20% de defeitos totais e acima de 1,5% de defeitos críticos					INDÚSTRIA

Elaborado por: Técnico Qualidade

Aprovado por: CA

Página 1 de 1

Figura A 2 Exemplar da folha de controlo de qualidade da groselha, na empresa Bfruit.

ANEXO III – EXEMPLAR DO CONTROLO DE QUALIDADE DO MIRTILO



Relatório Controlo Qualidade MIRTILO

Mod. 016.03
DATA : 16-04-2018

Produtor (nº_nome) 1 Bioberço - Sociedade Agrícola, Lda
GGN Sim
Guia(s) de Entrada 4033
Data do Controlo 28/06/2018
Temperatura (°C) -
Responsável pela operação CQ4



Parâmetros	Quantificação				
Informação Geral					
Classificação	EXTRA/1.1				
Lote	2603001	0	0	0	0
Varietade	Duke				
Quantidade rececionada (kg)	111,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Média peso por unidade (kg)	3,289				
Qualidade					
Defeitos Críticos %					
Fungos e Pragas	0,00				
Podridão	0,00				
Total	0,00				
Defeitos Maiores %					
Moles / Sobremaduros	1,17				
Rebentados	0,29				
Danos (riscos, golpes, feridas e cicatrizes)	0,59				
Total	2,05				
Defeitos Menores %					
Verdes	4,40				
Desidratados	0,00				
Presença de pedúnculo	0,00				
Calibre reduzido	0,00				
Ausência de pruina	0,00				
Presença de corpos estranhos	0,00				
Total	4,40				
Defeitos Totais	6,45				

Observações

Classificações	
Até 5% de defeitos maiores, até 10% de defeitos totais e até 1% de defeitos críticos	EXTRA/1.1
Até 12% de defeitos maiores, até 20% de defeitos totais e até 1,5% de defeitos críticos	1.2
Acima de 12% de defeitos maiores, acima de 20% de defeitos totais ou acima de 1,5% de defeitos críticos	INDÚSTRIA

Elaborado por: Técnico Qualidade

Aprovado por: CA

Página 1 de 1

Figura A 3 Exemplar da folha de controlo de qualidade do mirtilo, na empresa Bfruit.

ANEXO IV– FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL

Ficha de análise sensorial à framboesa

Nome: _____

Departamento: _____

Escala - 1 (bastante desagradado - péssimo), 2 (desagradado), 3 (ligeiro desagradado), 4 (nem gosto nem desgosto), 5 (gosto ligeiramente), 6 (gosto) e 7 (gosto bastante - excelente)

Dia da Amostra	Parâmetro	Avaliação						
		1	2	3	4	5	6	7
0	Aroma							
	Cor							
	Sabor							
	Doçura							
	Textura							
	Aceitação Geral							
	TOTAL (média)							
5	Aroma							
	Cor							
	Sabor							
	Doçura							
	Textura							
	Aceitação Geral							
	TOTAL (média)							