

## AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PINHÕES MINIMAMENTE PROCESSADOS REVESTIDOS COM QUITOSANA E GELATINA

PÉRSIA BARCELLOS CARRASCO<sup>1</sup>; ÉLDER PACHECO DA CRUZ<sup>2</sup>; VIVIANE SOUZA DE OLIVEIRA<sup>2</sup>; ELIEZER AVILA GANDRA<sup>3</sup>; CARLA ROSANE BARBOZA MENDONÇA<sup>3</sup>; CAROLINE DELLINGHAUSEN BORGES<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação de Nutrição e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – persiaquimica@hotmail.com

<sup>2</sup>Discente do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, Centro de Centro de Ciências, Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – elder-pdc@hotmail.com; viviane-so1@hotmail.com

<sup>3</sup>Docente do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – gandraea@hotmail.com; carlaufpel@hotmail.com; caroldellin@hotmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O pinhão é a semente comestível da *Araucaria angustifolia*, que pertence à família Araucariaceae, sendo encontrado principalmente nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (ZANDAVALLI et al., 2004).

Normalmente, o pinhão é comercializado nas próprias pinhas, ou então a granel, debulhado, envasado em sacos plásticos, refrigerado ou moído congelado (OLIVERA, 2008). Por isso, técnicas de conservação e industrialização do pinhão podem ser desenvolvidas para promover a sua comercialização e consumo (DAVID; SILOCHI, 2010).

Uma técnica que alia conservação, praticidade e incentivo ao consumo é a produção de pinhão minimamente processado. Entretanto, o processamento mínimo causa alterações no tecido do vegetal propiciando alterações físicas, químicas e microbiológicas. Assim, uma forma de reduzir tais alterações é a aplicação de revestimentos comestíveis, os quais atuam, principalmente, como barreira a gases e vapor de água, modificando a atmosfera interna dos frutos, o que reduz as alterações, levando ao aumento da vida útil dos vegetais (MAIA; PORTE; SOUZA, 2000). Para a aplicação dessas, os vegetais são imersos em uma solução formada por carboidrato, proteína, lipídeo, a fim de formar uma fina camada em sua superfície (FALGUERA et al., 2011). Muitas vezes a utilização de um único polímero não propicia as características adequadas para os revestimentos, podendo-se assim utilizar mais de um polímero pela técnica *layer-by-layer*. Por essa técnica ocorre a deposição de camada sobre camada dos revestimentos contendo polieletrolitos com cargas opostas, com o objetivo de resultar em uma melhoria das propriedades físicas, a partir da formação de novas ligações (CHEN et al., 2008; DENAVI et al., 2009).

Assim, objetivou-se com o estudo avaliar a contagem de microrganismos psicrotróficos aeróbios e fungos em pinhões minimamente processados, utilizando como revestimentos quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*.

### 2. METODOLOGIA

As amostras de pinhão (*Araucaria angustifolia*) foram adquiridas de um produtor na cidade de Vacaria-RS (Latitude: 28° 30' 39" Sul, Longitude: 50° 55' 47" Oeste).

Os pinhões foram selecionados visualmente em função da ausência de deterioração ou fungos aparentes. Após, foram lavados com água, sanitizados em solução de hipoclorito de sódio (200 ppm), em pH entre 6,5 e 7,0, por 15 min, enxaguados com água e descascados manualmente. Em seguida, foram novamente sanitizados, enxaguados e centrifugados por 30 seg.

A solução de quitosana (Polymar) foi preparada na concentração de 1,5% (p/v), em solução de ácido acético 1,5% (p/v), sendo homogeneizada em agitador magnético, a temperatura ambiente durante 2 h, após realizou-se aquecimento a 60 °C por 20 min. A solução foi utilizada 24 h após o preparo. O pH final da solução foi de 3,12. A solução de gelatina incolor e sem sabor (Dr. Oetker®) foi preparada por dissolução em água destilada na concentração de 5% (p/v). A solução foi homogeneizada em agitador magnético à 60 °C por 30 min. O pH final da solução foi de 5,76. Após a dissolução, ambas soluções foram adicionadas de glicerol na concentração de 1% (p/v). Os pinhões foram totalmente submersos nas soluções por 1 min e, em seguida drenados por 2 a 3 min, para que o excesso de solução fosse eliminado. Após, foram secos em ar forçado, em temperatura ambiente, em média de 17 °C. As amostras foram acondicionadas em embalagem de polietileno tereftalato, padronizando 20 pinhões por embalagem e armazenadas a 4 °C, durante 10 dias. As análises foram realizadas após 0, 3, 6 e 10 dias de armazenamento. Os seguintes tratamentos foram avaliados: Tratamento A - controle (água deionizada); Tratamento B - quitosana (1,5% p/v) e glicerol (1,0% p/v); Tratamento C - gelatina (5% p/v) e glicerol (1% p/v); Tratamento D - quitosana (1,5% p/v) e glicerol (1% p/v) sob gelatina (5% p/v) e glicerol (1% p/v). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 4 x 4, sendo 4 tratamentos (A, B, C e D) e 4 períodos de avaliação (1, 3, 6 e 10 dias de armazenamento refrigerado), sendo as avaliações realizadas no mínimo em triplicata.

A avaliação da microbiota presente foi realizada através da contagem de psicrotróficos aeróbios e fungos, de acordo com DOWNES; ITO (2001). Para todas as amostras foram realizadas diluições seriadas em água peptonada tamponada 0,1% até a diluição 10<sup>-4</sup> e a partir dessas, as análises foram realizadas em duplicata.

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

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

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

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar, em todos os tratamentos, aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) na contagem de fungos dos pinhões minimamente processados, conforme Figura 1A. Ao término do armazenamento, observou-se que a amostra revestida com

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

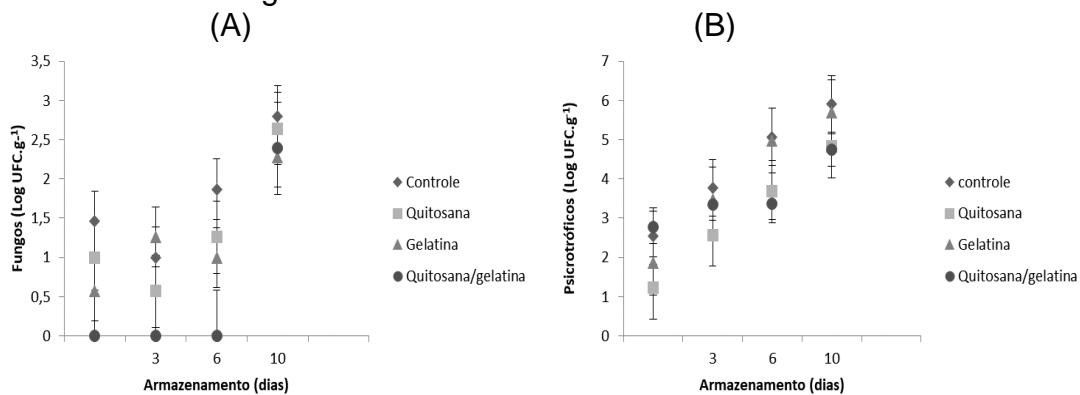


Figura 1: Contagens de fungos ( $\text{Log UFC.g}^{-1}$ ) (A) e psicrotróficos aeróbios ( $\text{Log UFC.g}^{-1}$ ) (B) em pinhões minimamente processados revestidos com quitosana, gelatina e quitosana/gelatina pela técnica *layer-by-layer*, armazenados sob refrigeração a  $4^{\circ}\text{C}$ , por 10 dias. As barras verticais representam o intervalo de confiança a 95%.

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

Os resultados demonstram maior participação da quitosana na redução do crescimento de microrganismos psicrotróficos em relação aos fungos. Pois, a gelatina não apresenta propriedade antibacteriana (POVERENOV et al., 2014). A ação antimicrobiana da quitosana contra bactérias pode ser em função das cargas positivas na molécula, devido a desacetilação, que permite a interação e formação de complexos polieletrolíticos com polímeros da superfície da célula bacteriana (DURANGO; SOARES; ANDRADE, 2006).

#### 4. CONCLUSÕES

A produção de pinhão minimamente processado é uma alternativa de apresentação do produto *in natura*, que tem como benefício a praticidade. A aplicação do revestimento quitosana/gelatina utilizando a técnica *layer-by-layer*, possibilitou a redução do crescimento de fungos e de bactérias psicrotróficas aeróbias.

## 5. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHEN, Z.; MO, X.; HE, C.; HANG, S. Intermolecular interactions in electrospun collagen-chitosan complex nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v.72, n.3, p.410-418, 2008.
- DENAVI, G.A.; PÉREZ-MATEOS, M.; AÑON, C.; MONTERO, P.; MAURI, N.A.; GUILLÉN, C.G. Strutural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. **Food Hydrocolloids**, v.23, n.8, p.2094-2101, 2009.
- DURANGO, A.; SOARES, N.; ANDRADE, N. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. **Food Control**, v.17, p. 336-341, 2006.
- DUTTA, P.K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G.K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, v. 114 p.1173-1182, 2009.
- DAVID, A. A. R.; SILOCHI, R. M. H. Q. Avaliação de métodos para conservação de pinhão. **Revista Faz Ciência**, v.12, n.15, p. 207-216, 2010.
- FALGUERA, V.; QUINTERO, J.P.; JIMENEZ, A.; MUÑOZ, J.A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science and Technology**, v.22, n.6, p. 292-303, 2011.
- MAIA, L.H.; PORTE, A; SOUZA, V.F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. **Boletim do Centro de pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.18, n. 1, p. 105-128, 2000.
- OLIVERA, F. C.; **Estudos tecnológicos e de engenharia para o armazenamento e processamento do pinhão**. 2008. 197 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Escola de Engenharia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- POVERENOV, E.; DANINO, S.; HOREV, B.; GRANIT, R.; VINOKUR, Y.; RODOV, V. Layer-by-Layer electrostatic deposition of edible coating on fresh cut melon made: Antecipated and unexpected effects of alginate-chitosan combination. **Food Bioprocess Technology**, v.7, p.1424-1432, 2014.
- ZANDAVALLI, R. B.; DILLENBURG, L. R.; DE SOUZA, P. V. D. Growth responses of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) to inoculation with the mycorrhizal fungus *Glomus clarum*. **Applied Soil Ecology**, v. 25, n. 3, p. 245-255, 2004.