



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**AÇÃO DO REVESTIMENTO COMESTÍVEL CONTENDO  
AMIDO E NISINA NA CONSERVAÇÃO DE SALADA DE  
FRUTAS MINIMAMENTE PROCESSADAS.**

**HYRLA GRAZIELLE SILVA DE ARAÚJO COUTO**

**2016**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**HYRLA GRAZIELLE SILVA DE ARAÚJO COUTO**

**AÇÃO DO REVESTIMENTO COMESTÍVEL CONTENDO AMIDO E NISINA NA  
CONSERVAÇÃO DE SALADA DE FRUTAS MINIMAMENTE PROCESSADAS.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

**Orientador:**

**Prof. Dr. Marcelo A. G. Carnelossi**

**Co-orientadora:**

**Ana Andréa Teixeira Barbosa**

SÃO CRISTÓVÃO  
SERGIPE – BRASIL  
2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA SISTEMA DE BIBLIOTECAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

C871a Couto, Hyrla Grazielle Silva de Araújo  
Ação do revestimento comestível contendo amido e nisina na  
conservação de salada de frutas minimamente processadas /  
Hyrla Grazielle Silva de Araújo Couto ; orientador Marcelo A. G.  
Carnelossi. – São Cristóvão, 2016.  
47 f. : il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade)–  
Universidade Federal de Sergipe, 2015.

1. Frutas – Conservação. 2. Bacteriocinas. 3. Colheita. 4. *L.  
monocytogenes*. I. Carnelossi, Marcelo A. G., orient. II. Título.

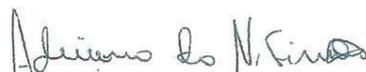
CDU 631:664.853

**HYRLA GRAZIELLE SILVA DE ARAÚJO COUTO**

**UTILIZAÇÃO DE REVESTIMENTO COMESTÍVEL CONTENDO AMIDO E  
NISINA NA CONSERVAÇÃO DE SALADA DE FRUTAS MINIMAMENTE  
PROCESSADAS.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 23 de fevereiro de 2016



---

Prof. Dr. Adriano do Nascimento Simões  
UAST/UFRPE

---

Prof. Dr. Luiz Fernando Ganassali de O. Junior  
UFS

---

Prof. Dr. Marcelo Augusto G. Carnelossi  
UFS  
(Orientador)

**SÃO CRISTÓVÃO  
SERGIPE – BRASIL  
2016**

*“ Ao Deus poderoso que me cobre com sua infinita bondade”*

***Dedico***

## AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente que me deu forças, saúde e sabedoria para chegar até aqui. Ao meu marido por sempre me apoiar, entender os meus dias de stress, e as vezes que tive que me ausentar por muito tempo de casa em virtude dos inúmeros experimentos, te amo! Aos meus pais e meus irmãos, em especial a minha mãe e minha irmã pelas orações, apoio, e palavras de incentivo.

Aos meus professores e orientadores Marcelo Carnellosi, e Ana Andréa Barbosa pelos ensinamentos e acima de tudo, por sempre acreditarem no meu potencial. Aos meus amigos e companheiros de laboratório pelas conversas, risadas, saídas para tirar o stress, e por toda ajuda que me deram. Amo vocês! irmãos do LabFruitH (Alida, Mayra, Uelisson). Edie e Paty o que falar de vocês? que ficaram comigo todo esse tempo e me ajudaram tanto que nem sei como agradecer. Amo vocês também! Ao meu amigo Ramon que sempre fez questão de estar presente em todos os momentos importantes da minha vida, sempre me apoiando e me fazendo sorrir em qualquer situação.

A minha sogra e minhas cunhadas pelo apoio e incentivo. Aos meus vizinhos do DVN, em especial a minha amiga Tânia pela amizade e companheirismo. Enfim a todos que contribuíram de alguma forma para minha formação acadêmica e execução deste trabalho, Deus abençoe vocês!

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1. SALADA DE FRUTAS.....	3
2.2. PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS.....	3
2.3. USO DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS.....	4
2.4. NISINA.....	6
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	8
4. ARTIGO: EFEITO DE NISINA INCORPORADA A REVESTIMENTO COMESTÍVEL A BASE DE AMIDO NA CONSERVAÇÃO DE SALADA DE FRUTAS MINIMAMENTE PROCESSADAS.....	16
4.1. INTRODUÇÃO.....	17
4.2. MATERIAL E MÉTODOS .....	18
4.2.1. PROCESSAMENTO MÍNIMO DA SALADA DE FRUTAS .....	18
4.2.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS.....	19
4.2.3. ESTABILIDADE DA NISINA NO REVESTIMENTO .....	19
4.2.4. PRODUÇÃO DE REVESTIMENTOS.....	20
4.2.5. CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS DETERIORANTES EM SALADAS DE FRUTAS .....	20
4.2.6. INOCULAÇÃO DE PATÓGENOS EM SALADA DE FRUTAS.....	20
4.2.7. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	20
4.2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.3.1. ATIVIDADE E ESTABILIDADE DA NISINA NOS REVESTIMENTOS.....	21
4.3.2. CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS DETERIORANTES EM SALADAS DE FRUTAS .....	24
4.3.3. INIBIÇÃO DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS INOCULADAS EM SALADA DE FRUTAS .....	25
4.3.4. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	27
4.4. CONCLUSÕES .....	30
4.5. REFERÊNCIAS.....	31

## LISTA DE FIGURA

Figura	Pág
1. Estabilidade da atividade antimicrobiana da nisina no revestimento comestível acrescido de nisina e EDTA (formulação 1). A formulação foi preparada e após 0,5,10,15 e 30 dias de armazenamento ( $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) amostras foram retiradas e testadas quanto a atividade antimicrobiana utilizando <i>L. monocytogenes</i> como microrganismo indicador. ....	23
2. Atividade antimicrobiana de revestimentos comestíveis a base de amido de milho e nisina (formulação 1) contra <i>L. monocytogenes</i> ATCC7644. A atividade dos revestimentos foi avaliada pelo método de difusão em ágar em placas inoculadas previamente com $10^6$ CFU/mL, nos intervalos de 0,5,10,15 e 30 dias de armazenamento dos revestimentos a $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ e as placas encubadas a $37^{\circ}\text{C}$ por 24h. ....	23
3. Efeito do uso de revestimentos a base de amido de milho e nisina na contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos. Tratamento controle sem imersão em revestimento (barras brancas), aplicação de revestimento de amido de milho sem nisina (barras cinzas), aplicação de revestimento de amido de milho com nisina (barras pretas), em saladas de frutas minimamente processadas armazenadas por 12 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Amostras retiradas a cada 3 dias, para realização de diluições seriadas e posteriormente plaqueadas em meio PCA.....	24
4. Efeito do uso de revestimentos a base de amido de milho e nisina na contagem de bolores e leveduras. Tratamento controle sem imersão em revestimento (barras brancas), aplicação de revestimento de amido de milho sem nisina (barras cinzas), aplicação de revestimento de amido de milho com nisina (barras pretas), em saladas de frutas minimamente processadas armazenadas por 12 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Amostras retiradas a cada 3 dias, para realização de diluições seriadas e posteriormente plaqueadas em meio BDA. ....	25
5. Atividade antimicrobiana de revestimento de amido de milho incorporado com nisina (barras pretas), contra <i>L. monocytogenes</i> inoculadas em saladas de frutas minimamente processadas. Tratamento controle sem imersão em revestimento (barra branca), e tratamento com revestimento de amido de milho sem nisina (barra cinza), também foram realizados. As amostras foram armazenadas por 12 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ , e acontagem de células viáveis em meio sólido foi realizada a cada 3 dias .....	26
6. Efeito do uso de revestimentos na perda de peso (A), teor de sólidos solúveis (B), e Vitamina C (C) em salada de frutas minimamente processadas estocadas a $5^{\circ}\text{C}$ por 12 dias. --◆-- Controle) sem revestimento, ( -■-) revestimento de amido sem nisina, ( —●—) revestimento de amido com nisina.....	27

## LISTA DE TABELAS

Tabela.....	Pág.
1. Formulações dos revestimentos a base de alginato de sódio e amido de milho. .....	19
2. Atividade antimicrobiana das formulações de revestimentos comestíveis listadas na Tabela 1 contra diferentes microrganismos. ....	22
3. Efeito de revestimento comestível a base de amido de milho e nisina, nas características físico-químicas de salada de frutas minimamente processadas. Tratamento controle (sem revestimento), revestimento a base de amido de milho sem nisina, e revestimento a base de amido de milho com nisina.....	29

## RESUMO

COUTO, Hyrla Grazielle Silva de Araújo. **Utilização de revestimento comestível contendo amido e nisina na conservação de salada de frutas minimamente processadas.** São Cristóvão-UFS, 2016. 47p. (Dissertação-Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).\*

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a ação do revestimento comestível a base de amido de milho incorporado com a bacteriocina nisina, na conservação de salada de frutas minimamente processadas. As saladas foram compostas por manga, mamão e abacaxi. Após processamento o mínimo as saladas foram submetidas aos seguintes tratamentos: salada de frutas sem revestimento (controle); revestimento de amido de milho sem Nisina; e revestimento de amido de milho com nisina. Todos os produtos foram acondicionados em embalagens de tereftalato de polietileno (PET) por 12 dias a  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$  e 80% UR. Nos tempos 0, 3, 6, 9, 12 foram realizadas análises físico-químicas de teor de sólidos solúveis, pH, acidez titulável, teor de ácido ascórbico, compostos fenólicos, carotenoides, cor, perda de massa fresca e atividade da enzima polifenol oxidase. As análises microbiológicas incluíram contagem de aeróbios mesófilos, bolores e leveduras, e a análise da sobrevivência de *Listeria monocytogenes*, previamente inoculadas nas saladas de frutas minimamente processadas acrescida do revestimento comestível adicionado ou não de nisina. As saladas de frutas tratadas com revestimento comestível e nisina apresentaram perda de massa significativamente menor, e maior teor de vitamina C quando comparadas com as amostras do tratamento controle. Frutos revestidos apresentaram também, teores significativamente menores de sólidos solúveis e menor atividade da enzima polifenol oxidase. Não foi observada variação significativa em relação às análises de pH, acidez, carotenoides e cor entre os tratamentos estudados. Foi verificado aumento na contagem de microrganismos aeróbios mesófilos em todas as amostras porém, em amostras revestidas com amido e nisina, verificou-se que população microbiana foi estatisticamente menor que nos demais tratamentos. Amostras de salada de fruta revestidas com amido de milho, apresentaram contagens significativamente menores de bolores e leveduras até o 6º dia de armazenamento. A presença da nisina resultou em redução significativa no número de células viáveis da bactéria *L. monocytogenes* inoculada em salda de frutas, comportamento não verificado nas amostras dos demais tratamentos durante os 12 dias de estocagem a  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a utilização de revestimento de amido de milho e nisina, associado a boas práticas de processamento mínimo e controle das condições de armazenamento (temperatura e umidade), foi eficiente na conservação de saladas de frutas minimamente processadas. Uma vez que interferiu positivamente nos parâmetros físico-químicos avaliados, e obteve os melhores resultados em relação a manutenção da qualidade microbiológica das saladas por até 12 dias.

**Palavras-chave:** bacteriocina, atividade antimicrobiana, *L. monocytogenes*, pós-colheita.

---

\* Comitê Orientador: Marcelo Augusto G. Carnelossi – UFS (Orientador), Ana Andrea T. Barbosa – UFS (co-orientadora).

## ABSTRACT

COUTO, Hyrla Grazielle Silva de Araújo. **Use of edible coating starch and nisin in the conservation of fresh cut fruit salad.** São Cristóvão-UFS, 2016. 47p. (Dissertação-Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).\*

The aim of this study was to evaluate the action of edible coating the corn starch-based embedded with the bacteriocin nisin in the conservation of fresh cut fruit salad. The salads were composed of mango, papaya and pineapple. After processing the minimum salads were submitted to the following treatments: uncoated fruit salad (control); Corn starch coating without Nisin; and corn starch coating with Nisin. All samples were packed in polyethylene terephthalate (PET) packages for 12 days at  $5 \pm 1$  ° C and 80% RH. At 0, 3, 6, 9, 12 physicochemical analysis of soluble solids content were held, pH, titratable acidity, ascorbic acid content, phenolic compounds, carotenoids, color, loss of weight and Polyphenol oxidase activity of enzymes. The microbiological analysis included aerobic mesophilic count, molds and yeasts, and survival analysis of *Listeria monocytogenes* inoculated in minimally processed fruit salads plus the added edible coating or not nisin. The fruit salads treated with edible coating nisin and showed significantly less mass loss, and increased vitamin C content when compared with control treatment samples. Coated fruits showed also significantly lower levels of soluble solids and lower activity of polyphenol oxidase. There was no significant variation in relation to the analysis of pH, acidity, carotenoids and color among treatments. It was observed increase in mesophilic aerobic count in all samples but, on samples coated with starch and nisin, it was found that the microbial population was statistically lower than the other treatments. Samples of fruit salad coated with corn starch, had significantly lower counts of yeasts and molds until the 6th day of storage. The presence of nisin resulted in significant reduction in the number of viable cells of the bacterium *L. monocytogenes* inoculated in output of fruit, unchecked behavior in samples of other treatments during the 12 days of storage at 5 ° C. The results of this study demonstrate that the use of corn starch coating and nisin combined with good processing practices and minimum control of storage conditions (temperature and humidity) was effective in preserving minimally processed fruit salads. Once a positive influence on the physical and chemical parameters evaluated, and obtained the best results in relation to maintaining the microbiological quality of salads for up to 12 days.

**Key-words:** bacteriocin, antimicrobial activity, *L. monocytogenes*, postharvest.

---

\* Comitê Orientador: Marcelo Augusto G. Carnelossi – UFS (Orientador), Ana Andrea T. Barbosa – UFS.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A preferência dos consumidores por produtos com maior facilidade de preparo tem aumentado nos últimos anos devido principalmente, aos compromissos do dia-a-dia e redução do tempo livre. Além disso, segundo dados do Censo 2010, cerca de 12% dos domicílios brasileiros são habitados por uma única pessoa, ou seja, são mais de 22 milhões de pessoas morando sozinhas no Brasil (IBGE, 2012). Dessa forma, há a necessidade de parte dessas pessoas otimizarem seu tempo, a fim de poder conciliar as atividades profissionais e pessoais com as demandas de sua moradia.

A crescente busca pela melhoria da qualidade de vida tem sido evidenciada pelo aumento do consumo de serviços e produtos saudáveis (VENTURA, 2009). Grande parte da população tem buscado uma dieta mais equilibrada, produtos de sabor natural, sem adição de conservantes, e com aparência fresca (SOUZA, 2014). Por esta razão, nos últimos anos o consumo de produtos minimamente processados tem aumentado significativamente (SIROLI et al., 2015), diante desta nova preferência dos consumidores por frutas prontas para o consumo e com qualidade, a indústria de alimentos, tem investido na produção e na tecnologia de frutas minimamente processados.

Os produtos minimamente processados são aqueles que passaram por operações como seleção, lavagem, classificação, corte (fatiamento), sanitização, centrifugação, embalagem e refrigeração, obtendo-se produtos comestíveis frescos e que não necessitam de preparo subsequente (TIRPANALAN et al. 2011; RICO et al., 2007). Uma definição mais precisa, descreve os métodos de processamento mínimo como técnicas que preservam os alimentos, e procura manter a qualidade nutritiva e as características sensoriais do produto (OLSEN et al., 2012; RYBAUDI-MASSILIA et al., 2013).

A praticidade, a qualidade e a aparência de frutas são fatores importantíssimos para os consumidores na hora de adquirir um produto minimamente processado. No entanto, devido ao processamento frutas minimamente processadas podem ter vida útil mais curta do que o produto intacto. Segundo RICO et al. (2007), os principais responsáveis pela redução da durabilidade são as reações bioquímicas nos tecidos cortados, e o crescimento microbiano, que podem ainda provocar o aumento do risco de surgimento de doenças transmitidas por alimentos (DTA's). Além disso, o dano celular causado pelo descascamento e corte permite que a ação de enzimas (LIMBO e PIERGIOVANNI, 2007), como polifenoloxidase que está relacionada com o escurecimento e pectinametilesterase com a perda de firmeza (SAYYARI et al., 2011; BRAVO e OSÓRIO, 2016)

O uso de revestimentos comestíveis tem sido reconhecido como um meio eficaz para evitar o escurecimento e aumentar a vida útil de produtos minimamente processados, pois protege a superfície do alimento cortado, diminuindo assim, o escurecimento e mantendo a aparência fresca do produto por mais tempo. Além disso reduz as trocas gasosas do produto com o meio. Além disso, a incorporação de agentes antimicrobianos reduz o crescimento microbiano garantindo a qualidade microbiológica do produto. Nos últimos anos o uso de revestimentos comestíveis é um dos métodos mais utilizados na conservação de produtos minimamente processados como, por exemplo, em melão (MIGUEL et al., 2008), kiwi (BENÍTEZ et al., 2013), maçã (PIZATO et al., 2013) e mamão (BESINELA JÚNIOR, 2010).

A associação de revestimentos comestíveis a agentes antimicrobianos também tem se mostrado eficiente para a conservação de produtos minimamente processados. Dentre os antimicrobianos testados em revestimentos comestíveis, bacteriocinas tem se mostrado uma alternativa promissora (NARSAIAH et al., 2015; SÁNCHEZ-ORTEGA et al., 2016). Bacteriocinas são substâncias antimicrobianas de natureza proteica (denominadas peptídeos), produzidas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas com espectro de ação variado (ZACHAROF et al., 2012). Quase todos microrganismos produzem algum tipo de bacteriocina, entretanto, as produzidas por bactérias lácticas tem sido mais estudadas e mostrado

ampla aplicação industrial, reduzindo o crescimento de patógenos em alimentos (DEEGAN et al., 2006; TRIAS et al., 2008).

Dentre as bacteriocinas conhecidas, a nisina possui autorização pela Food and Drug Administration EUA, para ser utilizada como aditivo alimentar seguro em mais de 50 países. A Nisina tem sido usada principalmente em produtos lácteos, alimentos enlatados, e produtos cárneos (FDA, 1988).

O uso de bacteriocinas, como a nisina, foram eficientes na conservação de kiwis minimamente processados (LU et al., 2010), revestimento comestível a base de alginato de sódio incorporado com a bacteriocina pediocina inibiu o crescimento microbiano, e manteve as características físico-químicas de mamões minimamente processados (NARSAIAH et al. 2015). Estudos tem demonstrado que bacteriocinas apresentam grande potencial para melhorar a segurança alimentar e estender a vida de prateleira destes produtos, inclusive para produtos minimamente processados como foi demonstrado por Barbosa et al. (2013). Estes autores verificaram que filmes de acetato de celulose incorporados com Nisina garantiram a qualidade microbiológica de manga minimamente processada. No entanto, o uso de bacteriocinas na conservação de produtos de origem vegetal ainda é incipiente. Portanto estudos para verificar os efeitos da incorporação de nisina em revestimento comestível, para a conservação de salada de frutas minimamente processadas são de suma importância.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. Salada de frutas**

As frutas apresentam em sua constituição quantidades significativas de vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes contribuindo assim para uma dieta saudável (MARTINS, 2012). Além de saudáveis elas podem facilmente adquiridas pelos brasileiros, já que o Brasil é um grande produtor de frutas devido ao clima e solo favoráveis (ABIR, 2009), segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2012), o Brasil produz cerca de 40 bilhões de toneladas de frutas por ano.

Diante da disponibilidade de frutas no Brasil, um estudo de mercado foi realizado para verificar o interesse dos consumidores pelo consumo de salada de frutas (ROSADO et al., 2008). Segundo dados da pesquisa, 80% dos entrevistados consomem salada de frutas, por se tratar de um produto mais saudável comparativamente a outros alimentos. Ainda de acordo com esta pesquisa, as frutas mais frequentemente utilizadas para produção de salada de frutas são: banana (87,2%), laranja (86,2%); maçã (63,5%); mamão (56,1%), abacaxi (41,4%) e manga (22,2%).

Com o aumento refeições fora de casa, produtos frescos prontos para consumo estão desempenhando um papel cada vez maior no setor de “food service” dos Estados Unidos. As vendas de produtos minimamente aumentaram em valor de US\$ 3,3 bilhões em 1999 para US\$ 15,5 bilhões em 2007 (COOK, 2009). Saladas de frutas e legumes cortados mostraram uma tendência de crescimento nos últimos anos, enquanto a venda de frutas frescas diminuiu (JAMES e NGARMSAK, 2010).

A aceitação dos consumidores ao consumo de saladas de frutas, mostra uma alternativa viável para a cadeia de processamento mínimo, considerando a praticidade oferecida ao consumidor que pode adquirir uma diversidade de frutas prontas para consumo, e assim se beneficiar da mistura de sabores e componentes nutricionais em um só produto (MARTINS, 2012).

Silva (2014) avaliou o tempo de vida útil de saladas de fruta minimamente processadas, composta por manga, mamão e abacaxi, armazenadas em embalagens de tereftalato de polietileno (PET) a  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 8 dias. De acordo com os parâmetros físico-químicos, fisiológicos e bioquímicos avaliados, o tempo de vida útil estimado para a salada de fruta foi de até 4 dias. Dessa forma estudos visando o aumento da vida útil de salada de fruta minimamente processada contendo abacaxi, manga e mamão, tornam-se importantes uma vez que são frutas de grande aceitação popular, ricas em nutrientes e substâncias antioxidantes, porém como vida útil curta quando comparado a frutos inteiros.

### **2.2. Processamento mínimo de frutas**

Frutas minimamente processadas representam um componente importante para uma dieta saudável e são uma forma eficiente de aumentar o consumo de produtos frescos (SIROLI et al., 2014). O processamento mínimo de frutas no Brasil apresenta-se como um nicho de mercado em crescimento e consolidação para um perfil específico de consumidor. Um produto minimamente processado é um produto com maior valor agregado, quando comparado às frutas e hortaliças in natura. Apresenta ainda vantagens para o consumidor como a conveniência e 100% de aproveitamento do produto adquirido (EMATER, 2012). Segundo pesquisas de mercado, grande parte dos consumidores afirmam que gostam da conveniência e facilidade oferecida por produtos prontos para o consumo ou minimamente processados, desde que a qualidade percebida pelo consumidor seja maior ou igual à do produto inteiro (ROSADO, 2008).

Devido as operações unitárias envolvidas na produção de produtos minimamente processados (MP), como lavagem, descascamento, e corte, estes produtos tendem a possuir em sua maioria menor vida de prateleira quando comparados a produtos inteiros (GOYENECHÉ et al., 2014). De acordo com Fontes et al. (2008), a vida útil pode ser

reduzida devido as alterações por deterioração fisiológica nos MP que ocorrem especialmente devido às injúrias nos tecidos vegetais, pois promovem contato maior entre as enzimas e substratos induzindo reações enzimáticas indesejáveis. Além disso, devido ao processamento estes produtos possuem maior susceptibilidade a contaminação e crescimento de microrganismos (MUKHERJEE et al., 2004; ABADIAS et al., 2008; BOTELHO et al., 2010;)

Dentre os efeitos bioquímicos, causados pelo processamento mínimo, destaca-se o aumento da atividade de enzimas do metabolismo vegetal, tais como: peroxidase (MATTOS et al., 2007; MEDEIROS, 2009), polifenol oxidase (SOUZA, 2010; MATTOS et al., 2007, MEDEIROS, 2009), e fenilalanina amônia-liase (CANTOS et al., 2002; MEDEIROS, 2009). A aceleração de reações bioquímicas é responsável por mudança de cor, odor, textura e qualidade nutricional dos produtos, reduzindo a sua vida útil (AMARO et al., 2012).

A enzima polifenoloxidase (PPO) é responsável pelo escurecimento enzimático e está presente em muitas frutas e vegetais minimamente processados (LUPETTI et al., 2003; KIRALP et al., 2004). A peroxidase (POD) induz mudanças negativas de sabor durante o armazenamento de vegetais, esta enzima é do grupo das oxidoredutases, é capaz de catalisar um grande número de reações oxidativas em plantas usando peróxido como substrato, ou, em alguns casos, oxigênio como um acceptor de hidrogênio (FREITAS et al., 2008).

Estas perdas de qualidade e de segurança em produtos minimamente processados reduzem drasticamente a vida de prateleira, aumentam os custos, além de afetar a aceitação do consumidor (OMS-OLIU et al., 2010). Assim, métodos adequados para estender a vida útil, e evitar efeitos prejudiciais à qualidade dos produtos minimamente processados, trazem benefícios para consumidores e produtores (MIGUEL et al., 2010). Métodos como o uso de temperaturas de refrigeração (SILVA et al., 2013), embalagens com atmosfera modificada (SANDHYA, 2010; MASTROMATTEO et al., 2011), sanitização (OLIVER et al., 2012), antioxidantes (GOYENECHÉ et al., 2014), e revestimentos antimicrobianos (BENÍTEZ et al., 2013; SANCHÍS-ORTEGA et al., 2016) aliados a qualidade inicial do produto, tem sido utilizados com sucesso na manutenção da qualidade e prolongamento da vida útil de frutos minimamente processados (SOUZA et al., 2007).

### **2.3. Uso de revestimentos comestíveis**

Revestimentos comestíveis tem como função cobrir o produto e atuar como uma barreira à perda de umidade, controlar a respiração e evitar contaminações microbiológicas e químicas (STULP et al., 2012). Além disso, podem ser usados para inibir a migração da aromas e lipídeos, e introduzir aditivos como antioxidantes e antimicrobianos, melhorando assim as características intrínsecas e a integridade mecânica dos vegetais recobertos (BOTREL et al., 2010). As películas comestíveis não devem interferir na aparência natural da fruta, devem possuir boa aderência a fim de evitar sua remoção facilmente no manuseio e não podem promover alterações no gosto ou odor original (LUVIELMO e LAMAS, 2012; ASSIS et al., 2009).

A utilização de revestimentos comestíveis tem sido bastante explorada na conservação de frutas e hortaliças frescas, visando minimizar a perda de umidade e reduzir as taxas de respiração, além de conferir aparência brilhante e atraente (STULP et al., 2012). Os compostos mais utilizados na elaboração e revestimentos comestíveis são as proteínas (gelatina, caseína, ovo albumina, glúten de trigo, zeína e proteínas miofi brilares), os polissacarídeos (amido e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados, alginato e carragena), os lipídios (monoglicérides acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácido graxo) ou a combinação destes compostos, o que permite utilizar vantajosamente as distintas características funcionais de cada classe (LUVIELMO e LAMAS, 2012).

Atualmente fécula de mandioca, alginato, pectina, caragena, quitosana e derivados da celulose, são os polissacarídeos mais utilizados na elaboração de revestimentos comestíveis em frutas. A película formada por revestimentos a base de polissacarídeos, por exemplo, possui baixa permeabilidade a gases, reduzindo assim a taxa de escurecimento enzimático, que ocorre devido à ação das enzimas polifenoloxidasas. (LUVIELMO e LAMAS, 2012). Pizato et al. (2013), avaliaram os efeitos da aplicação de diferentes gomas (tara, xantana e alginato de sódio) associado com ácido cítrico, ascórbico e cloreto de cálcio, em relação as características químicas, físicas e microbiológicas na conservação de maçãs 'Royal Gala' minimamente processadas quando armazenadas a  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ , e verificaram que os diferentes revestimentos utilizados neste trabalho foram eficientes na conservação de maçãs minimamente processadas, quando comparado a amostra controle.

Além das tecnologias tradicionais para a conservação e segurança dos alimentos (secagem, aquecimento, resfriamento, acidificação, salga, adição de açúcar ou de substâncias antimicrobianas). Tecnologias alternativas têm sido desenvolvidas, como utilização de embalagens ativas, aditivos antimicrobianos naturais e biopreservação também tem sido empregadas na conservação de produtos alimentícios (MELO et al., 2005).

O termo biopreservação refere-se à extensão da vida de prateleira e melhoria da segurança dos alimentos, utilizando microrganismos e/ou seus metabólitos (ROSS et al., 2002). Bacteriocinas de bactéria do ácido láctico, como a nisina, tem sido amplamente propostas para serem utilizadas na biopreservação de alimentos, uma vez que são conservantes naturais, evitando assim a adição de compostos sintéticos e prejudiciais à saúde em alimentos (COTTER et al., 2005; CARVALHO et al., 2007a; CARVALHO et al., 2007b).

O amido também tem sido muito estudado no desenvolvimento de revestimentos comestíveis nos últimos anos (SILVA et al., 2011; FURTADO, 2013; ALVES et al., 2011). O revestimento comestível a base de amido pode ser uma alternativa viável para uso, devido a seu baixo custo, alta produção, biodegradabilidade, comestibilidade e fácil manipulação (MALI et al., 2010). Além disso, são insípidos e inodoros e transparentes, não alterando o sabor, aroma e aparência do produto (CHIUMARELLI et al., 2010; GARCIA et al., 2010 e PARETA e EDIRISINGHE, 2006). Mangas tratadas com as concentrações de 2% de fécula de mandioca e 4% de amido de milho apresentaram qualidades mais satisfatórias com relação à conservação pós-colheita (DOS SANTOS et al., 2011).

Em um estudo da ação de revestimento comestível a base de amido e antioxidantes na conservação de inhame minimamente processado foi verificado, por exemplo, que em até 12 dias de armazenamento os produtos dos tratamentos com revestimento comestível obtiveram menor perda, e que o revestimento comestível foi eficaz em reduzir a taxa respiratória do produto durante o período de armazenamento (FURTADO, 2013). Botrel et al. (2010) também avaliaram a influência do revestimento de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada, e verificaram que amostras de pêra revestidas permaneceram significativamente mais firmes que as amostras controle e com inibição do escurecimento enzimático. Dessa forma, os autores afirmam que a vida de prateleira de pêra minimamente processada pode ser mantida por mais tempo com o uso desse revestimento.

A alta aplicabilidade do amido na produção de filmes e revestimentos se baseia nas propriedades, químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis e filmes (MALI et al., 2010). As moléculas de amilose em solução, devido a sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se e formando ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes (MALI et al., 2010). Devido ao caráter hidrofílico, os filmes ou revestimentos a base de amido apresentam baixas propriedades de barreira ao vapor de água, por isso, é necessário o desenvolvimento de estratégias para melhorar a estabilidade destes filmes e revestimentos (PETERSEN et al., 1999).

Plastificantes estão sendo incorporados a revestimentos a base de amido nos últimos anos a fim de melhorar o efeito de barreira a gases (SOUZA et al., 2000; GODBILLOT et al.,

2006; ALVES, 2007). Os plastificantes mais indicados para serem empregados em filmes de amido são os polióis, como o glicerol e o sorbitol, que vão proporcionar a estes materiais uma melhoria nas suas propriedades mecânicas. Assim, quanto maior a concentração do plastificante nos revestimentos menor a permeabilidade ao vapor de água (MALI et al., 2010).

O uso de amido e plastificante para a elaboração de revestimentos comestíveis em frutos inteiros é usual (AMARIZ et al., 2008; SOARES, 2011). A influência de revestimentos de fécula de mandioca no amadurecimento foi avaliada em de mamões inteiros, tipo Carica papaya L., durante 14 dias de armazenamento, onde formulações de 1%, 3% e 5% de fécula de mandioca foram utilizadas, foi verificado que os revestimentos de 3% e 5% reduziram a perda de massa fresca mantendo a coloração verde durante o armazenamento (CASTRICINI et al., 2012). O uso de revestimento de fécula de mandioca na manutenção da qualidade pós-colheita de goiabas *Psidium guajava* imersas nas concentrações de 2%, 3% e 4% foram estudadas por Vila et al. (2007). Segundo os autores, o biofilme nas concentrações de 3% e 4% mostrou-se efetivo em retardar o amadurecimento de goiabas proporcionando maior teor de vitamina C e menores teores de açúcares totais, açúcares redutores, pectina solúvel, percentual de solubilização e também menor atividade das enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase (VILA et al., 2007).

Neste contexto, o uso de revestimento a base de amido também pode ser uma opção para aumentar a vida de prateleira de frutos minimamente processados, pois, podem atuar como barreira a gases e vapor de água, diminuindo a degradação do produto. Além disso, compostos com ação antimicrobiana podem ser incorporados a sua formulação, como por exemplo, a nisina (UKUKU, et al., 2005; RANDAZZO et al., 2009), garantindo também a qualidade microbiológica.

Dessa forma, torna-se importante verificar o efeito da aplicação de revestimento comestível, a base de amido, em salada de frutas minimamente processadas, pois o mesmo poderá proporcionar melhor conservação do produto, prolongando a sua vida útil e mantendo o estado fresco do produto.

#### 2.4. Nisina

A carga microbiana total tem sido usada por departamentos de controle de qualidade na indústria de alimentos, como um indicador da qualidade de produtos frescos intactos, e de frutas minimamente processadas (BARTH et al., 2009). Isto se deve ao fato que, esses possuem grande risco de contaminação devido às operações de corte e fatiamento, nas quais patógenos presentes na superfície da matéria-prima ou nas mãos dos manipuladores migram para o produto. Além disso, o aumento da superfície de contato devido ao processamento e a disponibilidade de nutrientes celulares favorece o crescimento microbiano (PINTO, 2007).

A nisina é uma bacteriocina produzida por certas linhagens de *Lactococcus lactis*, cujo nome é derivado do termo "N-inhibitory substances"(NiS) adicionado ao sufixo INA (DAVIES, et al. 1998; CLEVELAND, et al. 2001). De acordo com Harris et al. (1992), essa bacteriocina foi descrita pela primeira vez por Rogers (1928), como uma substância inibidora do crescimento do *Lactobacillus bulgaricus*. Posteriormente, chegou-se à conclusão de que a nisina inibe o crescimento de bactérias Gram-positivas e o crescimento de esporos de *Clostridium* e *Bacillus* (KLAENHAMMER, 1988; KLAENHAMMER, 1990). Atualmente é encontrada comercialmente como Nisaplin™ (SETTANNI, 1998) entre outras.

A nisina é a única bacteriocina aprovada para utilização como conservante em alimentos pelo FDA Food and Drug Administration (FDA, 1988), e nos últimos anos a única bacteriocina comumente usada, como substância purificada, na preservação de alimentos (GÁLVEZ et al., 2007). No Brasil, a nisina é aprovada para uso em todos os tipos de queijo no limite máximo de 12,5 mg/kg (ANVISA, 1996), na superfície externa de salsichas o MAPA autorizou em 1998 a utilização do produto comercial Nisaplin (200ppm de nisina em solução de ácido fosfórico) (MARTINS, 2012).

Altamente ativa contra bactérias Gram-positivas tais como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus plantarum*, *Micrococcus luteus*, e *Micococcus flavus*, a nisina é inodora, incolor, sem sabor, e possui uma baixa toxicidade (HAMPIKYAN, 2009; PERIAGO e MOEZELAR, 2001; SEVERINA et al., 1998). Além disso, a nisina é resistente a altas temperaturas, suportando assim autoclavagem (121°C/15 min) em pH 2,5, sem perder atividade (MELO et al.,2005).

Após testes toxicológicos e estudos de resistência cruzada, a nisina foi considerada aditivo seguro, pois é digerida pelo sistema digestivo humano pela enzima  $\alpha$ -quimotripsina (CLEVELAND, 2001). Estudos de toxicidade em ratos revelaram que o valor de dose letal para 50% (LD50) é comparável ao de sais comuns, ou seja, cerca de 7g.kg<sup>-1</sup> de peso corpóreo (TOLEDO, 2000). Quanto à ingestão diária aceitável (IDA), há controvérsias entre os autores, pois Cleveland et al. (2001) citam 2,9mg/pessoa/dia e Moreno et al. 1999 citaram valores cerca de vinte vezes maior como IDA. Menezes et al. (2013), ao avaliar a influência da ingestão regular em humanos de 5.62mg/dia de nisina por seis semanas, verificaram que o consumo regular da nisina melhorou o funcionamento intestinal, e não foram observadas modificações negativas nos parâmetros bioquímicos de voluntários humanos saudáveis, confirmando que a nisina é segura para a saúde humana.

A nisina apresenta ação eficaz contra muitos microrganismos gram-positivos, porém não é eficaz contra microrganismos gram-negativos (FRANCO et al., 2006). A resistência de bactérias gram-negativas à ação da nisina é atribuída a sua parede celular, que apresentam menor permeabilidade em relação às bactérias gram-positiva por apresentar composição mais complexa. Porém, a utilização de agentes quelantes, choque osmótico ou congelamento, pode tornar a parede celular permeável a esta bacteriocina (DELVES-BROUGHTON,2005).

Vários trabalhos na literatura mostram a eficiente ação microbiana da nisina em queijos e carnes (MEIRA et al.,2016; LU et al., 2010), porém poucos estudos exploram esta ação em vegetais minimamente processados (CÉ et al., 2012; RANDAZZO et al., 2009). A nisina e natamicina foram utilizadas em revestimento de quitosana em kiwis e morangos minimamente processados, e verificou-se que os filmes de revestimento com quitosana, com a adição de natamicina e de nisina foram úteis para a proteção contra infecções bacterianas e fúngicas em kiwis minimamente processados para armazenamento até 14 dias (CÉ, 2009). Em mangas minimamente processados Barbosa et al. (2013) verificaram também, que a nisina inibiu o crescimento de *L. monocytogenes* e *S. aureus* sem interferir nas características organolépticas e físico-químicas do produto por até 12 dias a 5±1 °C.

Dessa forma, observa-se que a nisina apresenta potencial para ser utilizada na conservação de frutas minimamente processadas. Portanto torna-se importante verificar o efeito desta bacteriocina incorporada a um revestimento comestível para inibir o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes em salada de frutas minimamente processadas.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIAS, M., USALL, J., ANGUERA, M., SOLSON, C., VIÑAS, I., Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. **International Journal of Food Microbiology**, v.123, p. 121–129, 2008.

ABIR, Associação Brasileira Das Industrias De Refrigerantes e De Bebidas Não Alcoólicas. Mercado de sucos/éctares de frutas. In: **Hortifruit- Brasil**, ano 8, n.81, 2009.

ALVES, A. I.; SARAIVA, S. H. S.; LUCIA, S. M. D.; TEIXEIRA, L. J. Q.; JUNQUEIRA, M. S. Qualidade de morangos envolvidos com revestimento comestível antimicrobiano à base de diferentes fontes de amido. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.7, n.13, p.1519-1526, 2011.

ALVES, V. D. **Produção e caracterização de biomateriais a partir de fibras naturais e amidos com polibutileno adipato co-tereftalato (PBAT)**. 2007. 186f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina-PR, 2007.

AMARIZ, A.; LIMA, M. A. C.; TRINDADE, D. C. G; RIBEIRO, T. P.; COSTA, A. C. S. Recobrimento de mangas ‘tommy atkins’ com suspensões à base de dextrina, carboximetilcelulose e amido de milho. XX Congresso Brasileiro de Fruticultura. **54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**. Vitória-ES, 2008.

AMARO, A. L.; FUNDO, J. F.; OLIVEIRA, A. A.; BEAULIEU, J. C.; FERNANDEZTRUJILLO, J. P.; ALMEIDA, D. P. F. 1-Methylcyclopropene effects on temporal changes of aroma volatiles and phytochemicals of fresh-cut cantaloupe. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.93, p.828–837, 2012.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria DETEN/MS nº 29, de 22 de Janeiro de 1996**. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/29\\_96.html](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/29_96.html)> Acesso em 04 de nov. 2015.

ASSIS, O.B.G.; BRITO, D.; FORATO, L.A. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas in natura e minimamente processadas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. São Carlos, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 23p., 2009.

BARBOSA, A. A. T.; ARAÚJO, H. G. S.; MATOS, P. N.; CARNELOSSI, M. A. G.; CASTRO, A. A. Effects of nisin-incorporated films on the microbiological and physicochemical quality of minimally processed mangoes. **International Journal of Food Microbiology**, v.164, p.135-140, 2013.

BARTH, M., HANKINSON, T.R., ZHUANG, H., BREIDT, F. Microbiological spoilage of fruits and vegetables. In: Sperber, W.H., Doyle, M.P. (Eds.), **Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages**. Springer, New York, p.135–183, 2009.

BENÍTEZ, S.; ACHAERANDIO, I.; SEPULCRE, F.; PUJOLÀ. Aloe vera based edible coatings improve the quality of minimally processed ‘Hayward kiwifruit’. **Postharvest Biology and Technology**. V.81, p.29–36, 2013.

- BESINELA JÚNIOR, E; MONARIM, M. M. S.; CAMARGO, M.; MAHL, C. R. A.; SIMÕES, M. R.; SILVA, C. F. Efeito de diferentes biopolímeros no revestimento de mamão (Carica Papaya L) minimamente processado. **Varia Scientia Agrárias**, v. 1, n. 1, p. 131-142, 2010.
- BOTELHO, M.C., LEME, S.C., LIMA, L.C.O., ABRAHÃO, S.A., SILQUEIRA, H.H., CHITARRA, A.B. Qualidade de palmito pupuha minimamente processado: aplicação de antioxidantes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, p.1312–1319, 2010.
- BOTREL, D. A.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; FERNANDES, R. V. B. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. **Ciência Rural**, v.40, n.8, 2010.
- BRAVO, K.; OSORIO, E. Characterization of polyphenol oxidase from Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruit. **Food Chemistry**, v.15, p.185–190, 2016.
- CANTOS, E.; TUDELA, J.A.; GIL, M.I.; ESPÍN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh-cut potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3015-3023, 2002.
- CARVALHO, A.A.T.; COSTA, E. D.; MANTOVANI, H.C.; VANETTI, M.C. Effect of bovicin HC5 on growth and spore germination of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolated from spoiled mango pulp. **Journal of Applied Microbiology**, v.102, p.1000–1009. 2007a.
- CARVALHO, A.A.T.; MANTOVANI, H.C.; VANETTI, M.C. Bactericidal effect of bovicin HC5 and nisin against *Clostridium tyrobutyricum* isolated from spoiled mango pulp. **Letters in Applied Microbiology**, v.45, p.68–74, 2007b.
- CASTRICINI, A.; CONEGLIAN, R. C. C.; DELIZA, Rosires. Starch edible coating of papaya: effect on sensory characteristics. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.32, n.1, p.84-92, 2012.
- CÉ, N. **Utilização de filmes de quitosana contendo nisina e natamicina para cobertura de kiwis e morangos minimamente processados**. Porto Alegre, RS. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 95 p, 2009.
- CÉ, N.; NOREÑA, P. Z.; BRANDELLI, A. Antimicrobial activity of chitosan films containing nisin, peptide P34, and natamycin. **CyTA- Journal of Food**, v. 10, n.1, p.21-26, 2012.
- CHIUMARELLI, M.; PEREIRA, L. M. R.; FERRARI, C.C.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; HUBINGER, M.D. Cassava starch coating and citric acid to preserve quality parameters of fresh-cut “Tommy Atkins” mango, **Journal of Food Science**, v. 75 , p. 297–304, 2010.
- CLEVELAND, J.; MONTVILLE, T.J.; NES, J. F. & CHIKINDAS, L. M. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. **International Journal of Food Microbiology**, v.71, p.1-20, 2001.
- COOK, R. **Trends in the marketing of fresh produce and fresh-cut products**. Available at <http://www.agecon.ucdavis.edu/people/faculty/facultydocs/Cook/Articles/freshcut2009Cook090922.pdf>, 2009.

COTTER, P.D.; HILL, C.; ROSS, R.P. Bacteriocins: developing innate immunity for food. **Nature Reviews**, v.3, p.777–788, 2005.

DAVIES, E. A.; BEVIS, H. E.; POTTER, R.; WILLIAMS, G. C.; DELVES-BROUGHTON, J. Research note: the effect of pH on the stability of nisin solution during autoclaving. **Applied Microbiology**, v. 27, n. 3, p. 186-187, 1998.

DEEGAN, L. H.; COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, P. Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. **International Dairy Journal**, v.16, p. 1058–1071, 2006.

DELVES-BROUGHTON, J. Nisin as a food preservative. **Food Australia**, v. 57, p. 525-527, 2005.

DOS SANTOS, A. E. O., ASSIS, J. S. DE, BERBERT, P. A. B., SANTOS, O. O. DOS, BATISTA, P. F., GRANINA, G. DE A. Influência de biofilmes de fécula de mandioca e amido de milho na qualidade pós-colheita de mangas ‘Tommy Atkins’. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.3, 2011.

EMATER-DF. Agroinforme. Pesquisa de mercado. Disponível em <http://www.emater.df.gov.br/sites/200/229/00001396.pdf>. Acesso em 21 de novembro de 2014.

FDA, Nisin preparation: Affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient. **Federal Register**, v. 54, p. 11247-11251, 1988.

FONTES, L.; BRIGATTO, C.; SARMENTO, S. B. S.; SPOTO, M. H. F.; DIAS, C. T. S. Conservação de maçã minimamente processada com o uso de películas comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.4, p.872-880, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; MARTINIS, E. C. P.; ALVES, V. F. **Bacteriocinas de bactérias lácticas e sua aplicação em produtos cárneos**. Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes. Sao Paulo: Varela Editora e Livraria Ltda, v. 1, p. 63-71, 2006.

FREITAS, A.A.; FRANCELIN, M.F.; HIRATA, G.F.; CLEMENTE, E.; SCHMIDT, F.L. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciência e tecnologia de alimentos**. V.28, n.1, 2008.

FURTADO, M. DE C. **Ação de revestimento comestível a base de amido e de antioxidante na conservação de inhame (*Dioscorea spp.*) minimamente processado**. 77f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão –SE, 2013.

GÁLVEZ, A.; ABRIOUEL, H.; LÓPEZ, R.L.; BEN OMAR, N. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. **Internacional Journal Food Microbiology**, v.120, p.51–70, 2007.

GARCIA, L.C.; PEREIRA, L.M.R.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; HUBINGER, M.D. Selection of an edible starch coating for minimally processed strawberry. **Food Bioprocess and Technology**, v.3, p.834–842, 2010.

GODBILLOT, L.; DOLE, P.; JOLY, C.; ROGÉ, B.; MATHLOUTHI, M. Analysis of water binding in starch plasticized films. **Food Chemistry**, Oxon, v. 96, n. 3, p.380-386, 2006.

GOYENECHÉ, R.; AGÜERO, M. V.; ROURA, S.; Scala, K. D. Application of citric acid and mild heat shock to minimally processed sliced radish: Color evaluation. **Postharvest Biology and Technology**, v.93, p.106-113, 2014.

HAMPIKYAN, H. Efficacy of nisin against *Staphylococcus aureus* in experimentally contaminated sucuk, a Turkish-type fermented sausage. **Journal Food Protection**, v.72, p.1739–1743, 2009.

HARRIS, L.J., FLEMING, H.P., KLAENHAMMER, T.R. Characterization of two nisin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strains isolated from a commercial sauerkraut fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.58, p.1477-1483, 1992.

IBGE, Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal**. Culturas temporárias e permanentes, v. 37, 91.p, 2012.

KIRALP, S.; TOPPARE, L.; YAGCI, Y. Determination of phenolic compounds in wines with enzyme electrodes fabricated by immobilization of polyphenol oxidase in conducting copolymer. **Designed Monomers and Polymer**, v. 7, n. 1-2, p. 3-10, 2004.

KLAENHAMMER, T. R. Bacteriocins of lactic acid bacteria. **Biochimie**, v. 70, p. 337-349, 1988.

LIMBO, S., PIERGIOVANNI, L., Minimally processed potatoes: Part 2. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acid on loss of some quality traits. **Postharvest Biology Technology**, v.43, p.221–229, 2007.

LU, F.; DING, Y.; YE, X.; LIU, D.; Cannamon and nisin in alginate-calcium coating maintain quality of fresh northern snakehead fish fillets. **LWT - Food Science and Technology**. n.43, p.1331-1335, 2010.

LUPETTI, K.O.; RAMOS, L.A.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação enzimática de dopamina em formulações farmacêuticas utilizando sistema de análise por injeção de fluxo com extrato bruto de abacate (*Persea americana*). **Química Nova**, v.26, n.2, p. 197-201, 2003.

LUVIELMO, M. M.; LAMAS, S. V.; **Revestimentos comestíveis em frutas**. Estudos Tecnológicos em Engenharia. Pelotas. Vol.8, N.1, p.8-15, 2012.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção propriedades e potencial de utilização. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MARTINS, E. M. F. **Viabilidade do uso de salada de frutas minimamente processada como veículo de micro-organismos probióticos**. 2012. 84f. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa-MG, 84 p., 2012.

MASTROMATTEO, M.; MASTROMATTEO, M.; CONTE, A.; NOBILE, M. A. D. Combined effect of active coating and MAP to prolong the shelf life of minimally processed kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward). **Food Research International**, v.44, p.1224–1230, 2011.

MATTOS, L.M.; MORETTI, C.L.; CHITARRA, A.B.; PRADO, ET. Qualidade de alface crespa minimamente processada armazenada sob refrigeração em dois sistemas de embalagem. **Horticultura Brasileira**, v.25, n.4, 2007.

- MEDEIROS, E. A. A. **Deterioração pós-colheita de mandioca minimamente processada**. 2009. 101 p. Tese (Doutorado – Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2009. 2015.
- MEIRA, S. M. M.; ZEHETMEYER, G.; SHEIBEL, J. M.; WERNER, J. O.; BRANDELLI, A. Starch-halloysite nanocomposites containing nisin: Characterization and inhibition of *Listeria monocytogenes* in soft cheese. **LWT - Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.68, p.226-234, 2016.
- MELO, N. R., SOARES, N. F. F; GONÇALVES, M. P. J. C.; Nisina: Um conservante natural para alimentos. **Revista Ceres**, v.52, n.303, p.921-938, 2005.
- MENEZES, E. W. DE; GIUNTINI, E. B.; SOUZA, G. S; GOMES, M. L. P. A.; FRANCO, B. D. G. M. Avaliação de parâmetros bioquímicos e funcionamento intestinal após ingestão de nisina. **Revista Nutrire**. v. 38, p. 1-475, 2013.
- MIGUEL, A. C. A.; ALBERTINI, S.; BEGIATO, G. F.; DIAS, J. R. P. S., SPOTO, M. H. F. Sensory profile and consumer acceptance of minimally processed melon submitted to chemical treatment. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v.30, n.3, p.589-598, 2010.
- MIGUEL, A. C. A.; BEGIATO, G.F.; DIAS, J. R. P. S.; ALBERTINI, S.; SPOTO, M. H. F. Efeito de tratamentos químicos na respiração e parâmetros físicos de melão ‘Amarelo’ minimamente processado. **Horticultura Brasileira**, v.26, n.4, p.458-463, 2008.
- MORENO, I.; VIALTA, A.; LERAYER, A.L.S. & LEITÃO, M. F. F., Nisina no controle de bactérias esporogênicas em produtos lácteos. **Associação Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.33, n.2, p.215-28, (Boletim SBCTA) 1999.
- MUKHERJEE, A.; SPEH, D.; DYCK, E.; DIEZ-GONZALEZ, F., Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. **Journal of Food Protection**, v.67, p.894–900, 2004.
- NARSAIAH, K.; WILSON, R. A.; GOKUL, K., MANDGE, H. M., JHA, S. N., BHADWAL, S., ANURAG, R. K., MALIK, R. K., VIJ, S. Effect of bacteriocin-incorporated alginate coating on shelf-life of minimally processed papaya (*Carica papaya* L.), **Postharvest Biology and Technology**, p.212-218, 2015.
- OLIVER, J. C.; GERMANO, J. L. VEIGA, S. M. O. M. Eficiência de sanificantes alternativos sobre frutos contaminados artificialmente com *Escherichia coli*. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 10, n. 2, p. 351-359, 2012.
- OLSEN, N.V., MENICHELLI, E., SØRHEIM, O., NÆS, T. Likelihood of buying healthy convenience food: an at-home testing procedure for ready-to-heat meals. **Food quality and preference**, v.24, n.1, p. 171–178, 2012.
- OMS-OLIU, G.; ROJAS-GRAU, M.A.; GONZALEZ, L.A.; VARELA, P.; SOLIVA-FORTUNY, R.; HERNANDO, M.I.H.; MUNUERA, I.P.; FISZMAN, S.; MARTIN-BELLOSO, O. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: a review. **Postharvest Biology Technology**, v.57, p.139–148, 2010.
- PARETA, R.; EDIRISINGHE, M. J. A novel method for the preparation of starch films and coatings. **Carbohydrate Polymers**, p.63, p. 425–431, 2006.

- PERIAGO, PM; MOEZELAAR, R. Combined effect of Nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus*. **International Journal of Food Microbiology**, v.68, p.141–148, 2001.
- PETERSEN, K.; VAEGGEMOSE, N.P.; BERTELSEN, G.; LAWATHER, M.; OLSEN, M. B.; NILSSON, N. H.; MORTENSEN, G. Potential of biobased materials for food packaging. **Trends in Food Science and Technology**, Kidlington Oxford, v. 10, n. 2, p. 52-68, 1999.
- PINTO, D. M. **Qualidade de produtos minimamente processados comercializados em diferentes épocas do ano**. 2007. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2007.
- PIZATO, S.; CORTEZ-VEJA, W. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; BORGES, C. D. Efeito da aplicação de diferentes revestimentos comestíveis na conservação de maçãs ‘Royal Gala’ minimamente processadas. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v.34,n.1,p.253-264, 2013.
- RANDAZZO, C. L., PITINO, I., SCIFÒ, G. O., CAGGIA, C. Biopreservation of minimally processed iceberg lettuces using a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* wild strain. **Food control**, v.20, p. 756-763, 2009.
- RAYBAUDI-MASSILIA, R., CALDERÓN-GABALDÓN, M.I., MOSQUEDA-MELGAR, J., TAPIA, M.S. Inactivation of *Salmonella enterica* ser. Poona and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut “Maradol” red papaya (*Carica apaya* L) treated with UV-C light and malic acid” **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, p. 1–8, 2013.
- RICO, D.; MARTÍN-DIANA, A. B.; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 373-386, 2007.
- ROGERS, L. A. The inhibitory effect of *Streptococcus lactis* on *Lactobacillus bulgaricus*. **Journal of Bacteriology**, v. 16, n. 2 , p. 321-325, 1928.
- ROSADO, O. L.; PIRES, M. M.; PEREZ, R. Frutas processadas sob a forma de salada: preferências dos consumidores e suas implicações no Mercado. IN: **Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**, XLVI, Rio Branco- Acre, 2008.
- ROSS, R.P.; MORGAN, S.; HILL, C. Preservation and fermentation: past, present and future. **International Journal of Food Microbiology**, v.79, p.3–16, 2002.
- SÁNCHEZ-ORTEGA, I., GARCÍA-ALMENDÁREZ, B. E., SANTOS, E. M. L., GONZÁLEZ, L. R. R., REGALADO, C. Characterization and antimicrobial effect of starch-based edible coating suspensions. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 906-913, 2016.
- SANDHYA, K. V. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. **LWT - Food Science and Technology**, v.43, p.381–392, 2010.
- SAYYARI, M.; BABALAR, M.; KALANTARI, S.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; GUILLÉN, F.; SERRANO, M.; VALERO, D. Vapor Tratamentos com salicilato de metila OU metil jasmonato aliviado Danos cabelo frio e Maior potencial antioxidante Durante o armazenamento pós-Colheita de Romãs. **Food Chemistry**, v.124, p. 964-970, 2011.

SETTANNI, L.; CORSETTI, A. Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation, **International Journal of Food Microbiology**, v.121, p.123–138, 2008.

SEVERINA E, SEVERIN A, TOMASZ A. Antibacterial efficacy of nisin against multidrug-resistant Gram-positive pathogens. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.41, p.341–347, 1998.

SILVA, A. A. L.; BONOMO, R. C. F.; CHAVES, M. A.; REBOUÇAS, K. H.; SANTOS, T. D. R.; OLIVEIRA, A. A. C. L. O. Efeitos de revestimentos de amido gelatinizado no armazenamento refrigerado de banana prata (musa aab). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.13, n.3, p.235-241, 2011.

SILVA, A. V. C.; MUNIZ, E. N.; YAGUIU, P.; LEDO, A. S. Armazenamento de manga ‘Tommy atkins’ minimamente processada. **Scientia Plena**, v. 9, n.4, 2013.

SILVA, L. B.; **Desenvolvimento de salada de fruta composta por manga, abacaxí e mamão minimamente processados**. 2014. 74f. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Sergipe-UFS, São Cristóvão- SE, 2014.

SIROLI, L., PATRIGNANI, F., SERRAZANETTI, D. I., TABANELLI, G., MONTANARI, C., TAPPI, S., ROCCULI, P., GARDINI, F., LANCIOTTI, R. Efficacy of natural antimicrobials to prolong the shelf-life of minimally processed apples packaged in modified atmosphere. **Food Control**, v.46, p. 403- 411, 2014.

SIROLI, L.; PATRIGNANI, F., SERRAZANETTI, D. I.; GARDINI, F., LANCIOTTI, R. Innovate strategies based on the use of bio-control agents to improve the safety, shelf-life and quality of minimally processed fruits and vegetables. **Trends in Food Science e Technology**, v.46, p. 302-310, 2015.

SOUZA, E. C.; BOAS, E. V. B.V.; BOAS, B. M. V.; RODRIGUES, L. J.; PAULA, N.R. F., Qualidade e Vida útil de Pequi minimamente Processado armazenado sob atmosfera modificada. **Ciência e agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1811-1817, nov./dez., 2007.

SOUZA, J. F. **Utilização de luz ultravioleta contínua (uv-c) e luz pulsada para conservação de mangas cv. tommy atkins minimamente processadas**. 2010. 116f. Tese (Doutorado em Agronomia, Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, 2014.

SOUZA, J.F. **Alterações bioquímicas e fisiológicas de salada mista minimamente processada composta por alface americana, alface roxa e acelga**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2010.

SOUZA, R. C. R; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Paulo, v. 10, n. 1, p.24-30, 2000.

STULP, M.; CLEMENTE, E.; OLIVEIRA, D.M.; GNAS, B.B.B. Conservação e qualidade de mirtilo orgânico utilizando revestimento comestível a base de fécula de mandioca. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Ponta Grossa, v. 6, n. 1, p. 713-721, 2012.

TIRPANALAN, O.; ZUNABOVIC, M.; J., DOMIG K.; KNEIFEL, W. Mini review: antimicrobial strategies in the production of fresh-cut lettuce products. 2011. **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**, v.1, 2011.

TOLEDO, M. M., **Crescimento de *Lactococcus lactis* Subsp. *Lactis* NCK 400 e produção de nisina em meio à base de extratos vegetais.** (Dissertação de mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 66p, 2000.

TRIAS, R., BAÑERAS, L., BADOSA, E., & MONTESINOS, E. Biopreservation of golden delicious apples and iceberg lettuce against food-borne bacterial pathogens by lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, 123, p. 50-60, 2008.

UKUKU, D. O.; BARI, M.L. , KAWAMOTO, S., ISSHIKI , K. Use of hydrogen peroxide in combination with nisin, sodium lactate and citric acid for reducing transfer of bacterial pathogens from whole melon surfaces to fresh-cut pieces. **International Journal of Food Microbiology**. v.104, p.225– 233, 2005.

VENTURA, R. Mudanças no perfil do consumo no Brasil: principais tendências nos próximos 20 anos. **Macroplan–Prospectiva, Estratégia & Gestão**, Rio de Janeiro, 2009.

VILA, M.T.R.; LIMA, L.C.O.; BOAS, E.V.B.V.; HOJO, E.T.D.; RODRIGUES, L.J.; PAULA, N.R.F. Caracterização química e bioquímica de goiabas armazenadas sob refrigeração e atmosfera modifi cada. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.5, p.1435- 1442, 2007.

ZACHAROF, M. P.; LOVITT, R.W. Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria. **APCBEE Procedia**, v.2, p.50-56, 2012.

#### 4. ARTIGO: Efeito de nisina incorporada a revestimento comestível a base de amido na conservação de salada de frutas minimamente processadas.

Periódico a ser submetido: **Applied Microbiology and Biotechnology**

##### RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do uso de revestimento comestível a base de amido de milho com adição de nisina nas características físico-químicas, e microbiológicas de saladas de frutas minimamente processadas compostas por manga, mamão e abacaxi. O uso de revestimentos de amido e nisina em saladas de frutas minimamente processadas, resultaram em menor perda de massa, e maior teor de vitamina C quando comparadas com amostras dos demais tratamentos. O revestimento a base de amido de milho e nisina mostrou atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, e *Escherichia coli*. As saladas de frutas minimamente processadas foram inoculadas com *L. monocytogenes* ( $10^6$  UFC/g). Amostras revestidas com amido de milho e nisina apresentaram redução de até 75% no número de células viáveis de *L. monocytogenes*, enquanto amostras revestidas com amido sem nisina apresentaram redução de apenas 3% e amostras controle aumento de 34% no número de células viáveis desta bactéria. Em amostras revestidas com amido e nisina, verificou-se população microbiana de microrganismos aeróbios mesófilos estatisticamente menor que nos demais tratamentos durante os 12 dias de armazenamento. Amostras de salada de fruta revestidas com e sem nisina, apresentaram contagens significativamente menores de bolores e leveduras até o 6º dia de armazenamento, quando comparadas a amostras do tratamento controle. Nisina incorporada a revestimento a base de amido de milho aplicados em salada de frutas minimamente processadas, possui atividade antimicrobiana e não interfere negativamente nas características físico-químicas do produto.

**Palavras-chave:** atividade antimicrobiana, bacteriocina, *L. monocytogenes*, pós-colheita.

## ABSTRACT

**Título: Effect of nisin incorporated into the coating edible starch based on the conservation of minimally processed fruit salad.**

The aim of this study was to evaluate the effects of using edible coating the corn starch base with the addition of nisin on the physicochemical characteristics and microbiology of minimally processed fruit salads composed of mango, papaya and pineapple. The use of starch coatings and nisin in minimally processed fruit salads, resulting in less loss of mass, and higher content of vitamin C when compared to samples of other treatments. The coating corn starch base and nisin showed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, and *Escherichia coli*. The minimally processed fruit salads were inoculated with *L. monocytogenes* ( $10^6$  CFU / g). Samples coated with corn starch and nisin showed 75% reduction in the number of viable cells of *L. monocytogenes*, whereas the samples coated with starch without nisin decreased only 3% and the control sample 34% increase in the number of viable cells of this bacterium. In samples coated with starch and nisin, there was microbial population of aerobic microorganisms mesófilos statistically lower than the other treatments during 12 days of storage. Samples of fruit salad coated with and without nisin, showed significantly lower counts of yeasts and molds to the 6th day of storage when compared to control treatment of samples. Nisin incorporated into the coating of corn starch-based applied to fresh-cut fruit salad, has antimicrobial activity and not interfering negatively on the physicochemical characteristics of the product.

**Key-words:** antimicrobial activity, bacteriocin, *L. monocytogenes*, postharvest.

### 4.1. Introdução

As frutas apresentam em sua constituição quantidades significativas de vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes contribuindo assim para uma dieta saudável (MARTINS, 2012). Frutas minimamente processadas representam uma opção para uma dieta saudável pois, são uma forma eficiente de aumentar o consumo de produtos frescos (SIROLI et al., 2014). Os consumidores compram geralmente frutas minimamente processadas pela facilidade, frescor, nutrição, segurança. A demanda dos consumidores por estes atributos tem, de fato, levado a considerável inovação e diversificação na indústria de minimamente processados. Além de apresentar ao consumidor uma gama de opções de cortes frescos em um único pacote, as saladas de frutas reduzem o desperdício a medida em que permitem ao consumidor obter apenas a quantidade de frutas necessária para consumo (JAMES e NGARMSAK, 2010).

O aumento do consumo de saladas de frutas minimamente processadas, está associado à busca por conveniência na vida atual o que conduziu à produção de amplo número de produtos, que são oferecidos para consumo imediato (PAULA et al., 2009; BEUCHAT, 2002). No processamento mínimo, as barreiras para eliminação de microrganismos incluem, principalmente, a lavagem, o uso de sanitizantes, as embalagens em atmosfera modificada e a refrigeração (PAULA et al, 2009).

Apesar dos benefícios derivados de uma alimentação rica em frutas e vegetais, a segurança desses produtos frescos e minimamente processados tem sido discutida, em razão da incidência de casos de microrganismos patogênicos como veículos de algumas doenças (BASTOS, 2006). O consumo desses produtos já foi associado a casos de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) (BEUCHAT, 2002; MUCKHERJEE et al., 2006; OLAIMAT & HOLLEY, 2012; ROSA & CARVALHO, 2000). Segundo dados, doenças

transmitidas por alimentos são responsáveis por cerca de 55 mil hospitalizações e quase 1,5 mil mortes por ano nos Estados Unidos (SCALLAN et al., 2011). No Canadá a presença de patógenos em alimentos são responsáveis por cerca de 4 milhões de doenças a cada ano (THOMAS et al., 2013).

Um dos métodos de prolongar a vida útil de frutas é o uso de revestimentos comestíveis (NARSAIAH et al., 2015). Atualmente fécula de mandioca, alginato, pectina, caragena, quitosana e derivados da celulose, são os polissacarídeos mais utilizados na elaboração de revestimentos comestíveis para vegetais (MASTROMATTEO et al., 2011; CASTRICINI et al., 2010; PIZATO et al., 2013). A película formada por revestimentos a base de polissacarídeos, por exemplo, possui baixa permeabilidade a gases (LUVIELMO e LAMAS, 2012), reduzindo as trocas gasosas do alimento com o meio externo e promovendo uma atmosfera menos favorável ao crescimento de microrganismos.

A fim de prolongar a vida útil de frutas, e manter a segurança microbiológica, aos revestimentos comestíveis podem ser incorporados compostos de interesse como agentes antioxidantes, e agentes antimicrobianos naturais (VALENCIA-CHAMORRO et al., 2011; SIPAHI et al., 2013; SIROLI et al., 2015). Dentre os agentes microbianos naturais encontram-se as bacteriocinas como a nisina, que são proteínas ou complexos proteicos biologicamente ativos que apresentam atividade antimicrobiana, e não interferem nas características físico-químicas e organolépticas do alimento (BARBOSA et al., 2013; DE OLIVEIRA JUNIOR et al., 2015). A nisina possui autorização pela Food and Drug Administration EUA, para ser utilizada como aditivo alimentar seguro em mais de 50 países, e tem sido usada principalmente em produtos lácteos, alimentos enlatados, alimentos de proteína vegetal e carnes curadas (FDA, 1988).

Vários trabalhos na literatura mostram a eficiente ação microbiana da nisina em queijos e carnes (MEIRA et al., 2016; LU et al., 2010), porém poucos estudos exploram esta ação em vegetais minimamente processados (CÉ et al., 2012; RANDAZZO, 2009). Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo verificar a ação da nisina incorporada a revestimentos comestíveis a base de amido de milho, na conservação físico-química e microbiológica de salada de frutas composta por manga, mamão e abacaxi minimamente processados.

## 4.2. Material e Métodos

### 4.2.1. Processamento mínimo da salada de frutas

As saladas de frutas minimamente processadas compostas por manga (*Mangífera indica* L.) cv. *Tommy Atkins*, abacaxi (*Ananas comosus*) cv. pérola, e mamão (*Carica papaya* L.) cv. formosa obtidos com 1/3 da maturação completa. O processamento mínimo foi realizado de acordo com metodologia descrita por DONADON et al. (2007) com alterações de SILVA (2014) seguindo as seguintes etapas: Recepção; seleção; lavagem em tanque com detergente neutro (20 mL.L<sup>-1</sup>) por 3 minutos; sanitização com 200 ppm de cloro ativo em água a 10±1°C por 10 minutos; descasque e corte em cubos de aproximadamente 1cm de espessura; enxágüe com 3 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo durante 10 minutos e em seguida escorridas em peneiras.

As amostras de saladas de frutas minimamente processadas foram imersas nos dois tipos de revestimentos a base de amido de milho com e sem nisina por três minutos, em seguida drenadas em peneiras e secas a temperatura ambiente (17±2°C) por dez minutos. Para o tratamento controle não foram utilizados revestimentos. Em seguida cerca de 100g de salada de frutas foram acondicionados em embalagens de polipropileno atóxico (PP) com tampa e com capacidade para 220mL. Após embaladas as amostras foram armazenadas em expositor vertical a 5±1°C por 12 dias, e a cada três dias (0, 3, 6, 9,12) foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas.

#### 4.2.2. Atividade antimicrobiana de diferentes revestimentos comestíveis

Foi realizado um teste preliminar com dois revestimentos comestíveis amido de milho e alginato de sódio, a fim de verificar a atividade antimicrobiana destes revestimentos quando incorporados com nisina em diferentes formulações. Foram testadas 12 formulações de revestimentos a base de alginato de sódio e amido e duas soluções de água destilada e nisina, conforme listados na Tabela 1. A atividade antimicrobiana dos revestimentos foi testada contra quatro microrganismos: *Staphylococcus aureus* ATCC 8095, *Bacillus cereus* ATCC 4504, *Escherichia coli* ATCC 23226 e *Listeria monocytogenes* ATCC 4504.

Soluções aquosas com os componentes de cada formulação (Tabela 1) dissolvidas em água destilada, foram gelatinizadas em forno micro-ondas com 700W de potência por 10 minutos, para a dissolução completa do amido e obtenção de uma solução de revestimento comestível com aspecto gelatinoso e homogêneo, que em seguida foi resfriada até a temperatura de  $19\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**Tabela 1:** Formulações dos revestimentos a base de alginato de sódio e amido de milho.

	Amido	Alginato	EDTA	Glicrol	Nisina
1	4%	---	0,15µg/mL	2%	500mg/100mL
2	4%	---	---	2%	500mg/100mL
3	4%	---	0,15µg/mL	2%	---
4	4%	---	---	2%	---
5	---	4%	0,15µg/mL	---	500mg/100mL
6	---	4%	---	---	500mg/100mL
7	---	4%	0,15µg/mL	---	---
8	---	4%	---	---	---
9	4%	---	0,15µg/mL	2%	5mg/100mL
10	4%	---	---	2%	5mg/100mL
11	---	4%	0,15µg/mL	---	5mg/100mL
12	---	4%	---	---	5mg/100mL
13	---	---	---	---	500mg/100mL
14	---	---	---	---	5mg/100mL

\* (---) componente não adicionado na formulação.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos revestimentos foi utilizado o método de difusão descrito por Barbosa et al., (2013). Células dos microrganismos das linhagens de *S. aureus* ATCC 8095, *B. cereus* ATCC 4504, *L. monocytogenes* ATCC 7644 e *E. coli* ATCC 23226 foram cultivadas por aproximadamente 16 horas em meio de crescimento próprios para cada cultura. Aproximadamente  $10^6$  UFC/mL dessas culturas foram inoculadas em meio sólido fundido e vertido em placas de Petri. Após a solidificação do meio, foram adicionadas às placas microgotas (30µL) do revestimento antimicrobiano. As placas foram encubadas em temperatura de refrigeração por 12 h para difusão da bacteriocina, e depois na temperatura de crescimento dos microrganismos (37°C) por 24 horas. Após a incubação, as placas foram avaliadas quanto à presença de zonas de inibição ao redor das microgotas.

#### 4.2.3. Estabilidade da nisina no revestimento

De acordo com os resultados obtidos no teste preliminar descrito no item anterior, foi testada a estabilidade da nisina apenas no revestimento comestível a base se amido de milho (formulação 1-Tabela1), os mesmos foram mantidos sob temperatura de refrigeração, e testados quanto a sua atividade antimicrobiana após 0, 5, 10, 15 e 30 dias de incubação. Nos dias de avaliação, alíquotas dos revestimentos (30µL) foram assepticamente retiradas e submetidas ao

teste de atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar, descrito no item 4.2.2. utilizando *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 como microrganismo indicador.

#### 4.2.4. Produção de revestimentos

Em virtude dos resultados obtidos no teste preliminar, foram preparadas soluções aquosas de revestimento comestível contendo 4% de amido de milho e 2% de glicerol (FURTADO, 2013), e 0,15 µg/mL do agente quelante EDTA (LU et al., 2010) dissolvidos em água destilada. A concentração de nisina nos revestimentos, seguiu a legislação brasileira para queijos que é de até 12,5mg/kg de produto, já que ainda não existe legislação vigente no Brasil para alimentos de origem vegetal (BRASIL, 1997). Foram preparados revestimentos com e sem nisina, para o tratamento controle não foram utilizados revestimentos. Os revestimentos foram preparados segundo metodologia descrita no item 4.2.2.

#### 4.2.5. Crescimento de microrganismos deteriorantes em saladas de frutas

A cada três dias, a qualidade microbiológica das saladas de frutas minimamente processadas foi avaliada pela determinação de bactérias mesófilas, e de fungos e leveduras. Para isso, 25g da salada de fruta minimamente processada foram retiradas assepticamente da embalagem, e homogeneizada em 225mL de solução salina (0,85%), e em seguida foram realizadas diluições decimais seriadas. Após obter as diluições, as mesmas foram submetidas ao teste de atividade antimicrobiana pelo método “*drop plate*” (MORTON, 2001) plaqueadas em meio PCA (Platee Count Agar) para análise de mesófilos. Para a análise de bolores e leveduras, foi utilizada a técnica “*pour plate*”. Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram adicionadas em para placas de Petri estéreis, e um volume aproximado de 15 mL de meio BDA (Batata Dextrose) fundido e resfriado foi vertido sobre a amostra, e em seguida homogeneizado. As placas foram incubadas a 30°C por 3-5 dias e os resultados foram expressos em log<sub>10</sub> UFC(unidade formadora de colônia) g<sup>-1</sup> de amostra. Todas as contagens foram realizadas em três repetições e cada repetição em triplicata.

#### 4.2.6. Inoculação de patógenos em salada de frutas

Após o processamento descrito no item 4.2.1., as amostras foram esterilizadas por exposição em lâmpada UV em câmara de biossegurança por 3 minutos de cada lado, em seguida foram imersas por 5 minutos em solução de peptona a 1% contendo aproximadamente 10<sup>6</sup> células/mL de *L. monocytogenes* (Barbosa et al., (2013). Após a inoculação as saladas de frutas dos tratamentos foram revestidas, e em seguida armazenadas em embalagens de polipropileno atóxico (PP) com tampa, e previamente esterilizadas. O tratamento controle foi inoculado com a bactéria e em seguida armazenado em embalagens sem aplicação de revestimento.

As análises microbiológicas foram realizadas após 0, 3, 6, 9, e 12 dias de estocagem das amostras a 5±1°C. Para isto foram realizadas diluições seriadas obtidas como descrito no item 4.2.5. Alíquotas de 30µL de cada diluição foram assepticamente retiradas, e plaqueadas em meio BHI (Brain Heart Infusion) para o crescimento de *L. monocytogenes*, e em seguida incubadas em estufa a 37°C por 48 horas, os resultados foram expressos em log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup> de amostra.

#### 4.2.7. Análises físico-químicas

As características físico-químicas das saladas três tratamentos durante o período de armazenamento foram realizadas por meio das análises de pH, acidez total titulável (ATT) (met. 942.15 B da A.O.A.C., 1995). O teor de sólidos solúveis (°Brix), Teor de vitamina C (A.O.A.C 39.051 com adaptações de Carnellosi 2000). A perda de massa (%) realizada por meio da diferença entre a massa das amostras no dia do processamento e durante o período de armazenamento, mensurada em balança digital analítica. As análises de cor foram realizadas

utilizando-se um colorímetro (Minolta CR-10) calibrado com a cor branca. Os parâmetros  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$  obtidos foram utilizadas para calcular o Índice de escurecimento (CARNELOSSI, 2000). Os Carotenoides totais foram avaliados segundo métodos descritos por Lichtenthaler (1987) e os resultados expressos em  $\mu\text{g/g}$  de amostra. Atividade da enzima Polifenoloxidase (PPO) foi obtida de acordo com COELHO (2001), e a atividade expressa em unidades de PPO  $\text{min}^{-1} \text{mL}^{-1} \text{g}^{-1}$  massa fresca. Todas as análises foram realizadas em intervalos de três dias durante o período de armazenamento, e em triplicata.

#### 4.2.8. Análise estatística

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial  $3 \times 5$  sendo três tratamentos (2 revestimentos e 1 controle), cinco tempos (0,3,6,9,12 dias) e com três repetições. Todos os dados foram expressos como médias  $\pm$  erros padrão das medias em triplicata e analisados pelo SISVAR versão 5.6. Análise de variância (ANOVA) foi realizada para testar diferenças significativas, e foi aplicado teste de Tuckey a 5% de significância ( $p < 0,05$ ).

### 4.3. Resultados e Discussão

#### 4.3.1. Atividade e estabilidade da nisina nos revestimentos

Em relação as doze formulações de revestimentos utilizadas, foi verificado que nenhuma das formulações do revestimento alginato de sódio apresentou halo de inibição contra os microrganismos. Para as formulações testadas a base de amido de milho, verificou-se halo de inibição nas formulações que continham nisina (Tabela 2).

Os resultados mostraram que atividade antimicrobiana foi observada apenas para as formulações acrescidas de nisina (Tabela 2). A formulação 1 foi eficiente na inibição tanto de bactérias gram-positivas quanto gram-negativas devido a presença de EDTA e a formulação 2 apenas bactérias gram-positivas (Tabela 2). Este resultado foi confirmado pelo teste realizado com solução de água destilada acrescida de 500mg/100g de nisina (formulação 13, Tabela 1 e 2), esta resposta confirma que a atividade antimicrobiana observada foi devido a presença da bacteriocina, e reafirma a eficiência da nisina na inibição de bactérias gram-positivas. A nisina apresenta atividade antimicrobiana para uma vasta gama de bactérias patogênicas gram-positivas de origem alimentar, incluindo *Listeria monocytogenes*, *S aureus*, *Enterococcus*, *Clostridium* e *Bacillus* spp. (RODRIGUEZ, 1996; THOMAS et al., 2002).

**Tabela 2:** Atividade antimicrobiana das formulações de revestimentos comestíveis listadas na Tabela 1 contra diferentes microrganismos.

FORMULAÇÕES	MICRORGANISMOS			
	E. coli	B. cereus	S. aureus	L. monocytogenes
1	+	+	+	+
2	-	+	+	+
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	-	-	-	-
9	-	-	-	-
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	-	-	-	-
13	-	+	+	+
14	-	-	-	+

(-) Ausência de halo de inibição

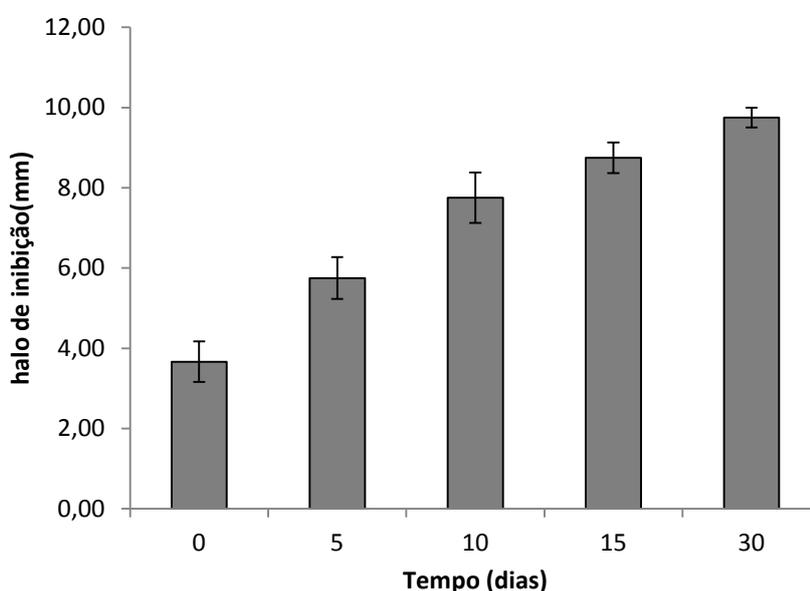
(+) Presença de halo de inibição

Para os tratamentos de revestimento a base de amido de milho com menor teor de nisina em sua constituição 5mg/100g (formulações 9 e 10 respectivamente), verificou-se inibição para bactérias gram-positivas apenas no local da microgota plaqueada, sem apresentar halo de inibição (Tabela 2). Comportamento semelhante foi observado na solução contendo água destilada e 5mg/100g de nisina (formulação 14), o que evidencia que a concentração utilizada não foi suficiente para inibir o crescimento dos microrganismos testados.

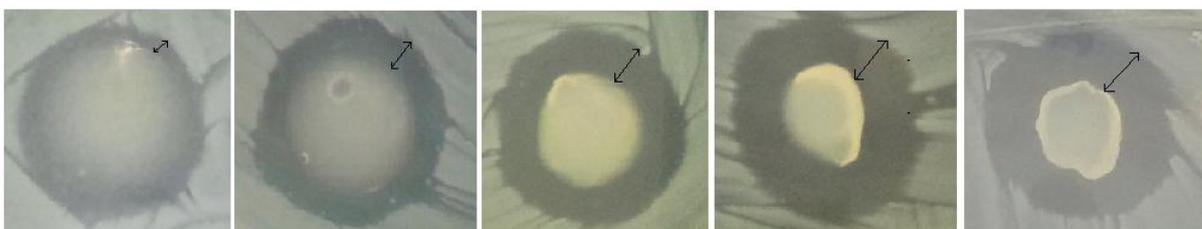
Somente a formulação 1 que continha amido de milho, EDTA, e 500mg/100g de nisina, apresentou halo de inibição para a bactéria gram-negativa *E. coli* (Tabela 2). A solução que continha apenas água destilada e 500mg/100g de nisina (formulação 13), não apresentou halo de inibição para esta bactéria, evidenciando a potencialização da nisina com a presença do EDTA (STEVENS et al. 1991; UKUKU e FETT, 2004). O efeito sinérgico na combinação de EDTA e nisina onde também foram verificados por Kran et al. (2015) e Branen et al. (2004), onde a incorporação de EDTA melhorou a atividade antimicrobiana da nisina contra *L. monocytogenes* e *E. coli*, como observado no presente trabalho. O que pode ser explicado pelo fato que a nisina possui resíduos hidrofóbicos responsáveis por sua ação antimicrobiana, estes resíduos rompem a membrana citoplasmática bactérias gram-positivas pela formação de poros na membrana (SHAI, 1999). Nas bactérias gram-negativas a estrutura exterior de lipopolissacarídeos hidrofílica atua como barreira para a penetração de moléculas

hidrofóbicas (KHAN et al., 2015). Quando presente, o EDTA substitui os cátions divalentes dos sítios de ligação e reduz as interações entre moléculas da camada de lipopolissacarídeos (LPS), com a perda de LPS os fosfolípidos ficam disponíveis na membrana externa e formam canais por onde podem ser difundidas moléculas hidrofóbicas como a nisina (STEVENS et al., 1991; VAARA, 1992; GILL E HOLLEY, 2003).

Com relação à estabilidade da nisina na formulação 1, podemos verificar que o revestimento apresentou potencial inibitório crescente em todo o período avaliado (Figura 1). Desta forma, é possível estabelecer uma relação linear entre a quantidade de dias e o tamanho dos halos de inibição apresentados pelo revestimento a base de amido de milho e nisina da formulação 1 quanto a inibição da bactéria *L. monocytogenes*, pois o revestimento apresentou halos de inibição desta bactéria quase três vezes maiores no final do período de armazenamento de 30 dias a  $5\pm 1^\circ\text{C}$  (Figura 1-2). A nisina também manteve-se ativa quando incorporadas em filmes de acetato de celulose por até 70 dias a  $4\pm 2^\circ\text{C}$  e temperatura ambiente de  $30\pm 2^\circ\text{C}$  (BARBOSA et al. 2013) e dissolvida em sucos de 8 tipos de frutas estocados por até 70 dias a  $4\pm 2^\circ\text{C}$  (DE OLIVEIRA JUNIOR et al., 2015).



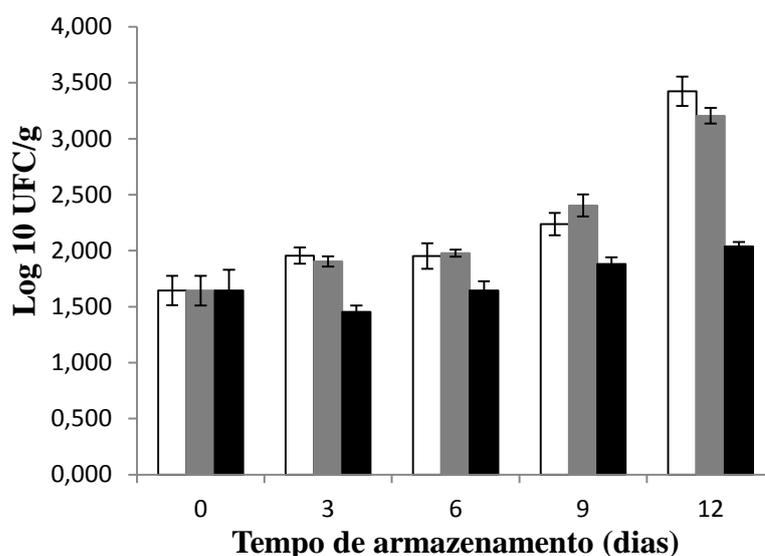
**Figura 1:** Estabilidade da atividade antimicrobiana da nisina no revestimento comestível acrescido de nisina e EDTA (formulação 1). A formulação foi preparada e após 0,5,10,15 e 30 dias de armazenamento ( $7\pm 1^\circ\text{C}$ ) amostras foram retiradas e testadas quanto a atividade antimicrobiana utilizando *L. monocytogenes* como microrganismo indicador.



**Figura 2:** Atividade antimicrobiana de revestimentos comestíveis a base de amido de milho e nisina (formulação 1) contra *L. monocytogenes* ATCC7644. A atividade dos revestimentos foi avaliada pelo método de difusão em ágar em placas inoculadas previamente com  $10^6$  CFU/mL, nos intervalos de 0,5,10,15 e 30 dias de armazenamento dos revestimentos a  $7\pm 1^\circ\text{C}$  e as placas encubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 24h.

### 4.3.2. Crescimento de microrganismos deteriorantes em saladas de frutas

A contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos das saladas de frutas minimamente processadas durante o período de armazenamento, é mostrada na Figura 3. Amostras revestidas com amido de milho e nisina, apresentaram aumento na população de microrganismos aeróbios mesófilos menor que 1 ciclo logarítmico, enquanto amostras revestidas com amido sem nisina e amostras do tratamento controle (sem revestimento) apresentaram aumento de até dois ciclos logarítmicos na contagem de células viáveis destes microrganismos. Verificou-se aumento na contagem de mesófilos em todas as amostras, porém, amostras revestidas com amido e nisina apresentaram menor população microbiana, e diferiram estatisticamente das amostras dos demais tratamentos ( $p < 0,05$ ). Portanto o uso da bacteriocina nisina no revestimento a base de amido de milho inibiu significativamente ( $p < 0,01$ ) o aumento da contagem de bactérias mesófilas em salada de frutas minimamente processadas em 12 dias de armazenamento a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  (Figura 3).



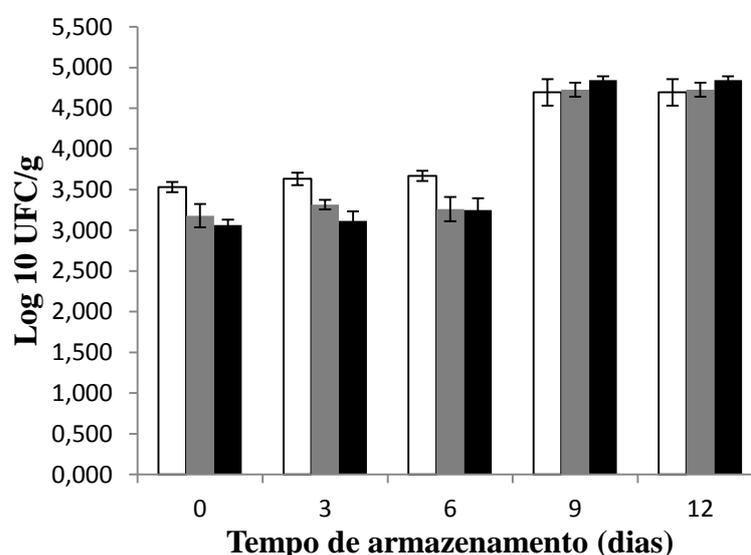
**Figura 3:** Efeito do uso de revestimentos a base de amido de milho e nisina na contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos. Tratamento controle sem imersão em revestimento (barras brancas), aplicação de revestimento de amido de milho sem nisina (barras cinzas), aplicação de revestimento de amido de milho com nisina (barras pretas), em saladas de frutas minimamente processadas armazenadas por 12 dias a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$ . Amostras retiradas a cada 3 dias, para realização de diluições seriadas e posteriormente plaqueadas em meio PCA.

Foram verificadas contagens máximas de  $10^2$  UFC/g para amostras revestidas com amido de milho com nisina, e de até  $10^3$  UFC/g para amostras controle e revestidas com amido de milho sem nisina. Menores populações de bactérias mesófilas em produtos minimamente processados com revestimentos incorporados com bacteriocinas, também foram reportadas em frutas como kiwi e morango, pera, mamão e caqui (CÉ, 2009; CÉ et al., 2012; NARSAIAH et al., 2015; SANCHIS et al., 2016). A inibição do crescimento microbiano em revestimentos incorporados com bacteriocinas evidencia a estabilidade destas em revestimentos, e a manutenção da atividade antimicrobiana (NARSAIAH et al., 2013).

Devido a questões ligadas a saúde humana, a segurança microbiológica é um dos aspectos mais importantes da qualidade de alimentos (NARSAIAH et al., 2015). Frutas com  $\text{pH} > 4,5$  são reportadas como alimentos com alto risco de contaminação microbiológica e além disso, frutas minimamente processadas são mais susceptíveis a deterioração microbiológica, quando comparadas a frutas inteiras, principalmente devido aos danos causados durante o processamento expondo partes internas das mesmas (ROJAS-GRAU et al., 2009).

Microorganismos como aeróbios mesófilos, fazem parte da microbiota normal e têm pouca relação com a qualidade ou a segurança da matéria-prima (SANTOS et al., 2010). O limite internacional de aceitação de contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos para vegetais prontos para consumo é de até  $10^6$  UFC/g (NZFSA, 2005; LEGNANI e LEONI, 2004), porém busca-se populações destes cada vez menores a fim de aumentar a vida de prateleira do produto e oferecer segurança microbiológica aos consumidores.

Amostras de salada de fruta revestidas com amido de milho com e sem nisina, apresentaram contagens significativamente menores de bolores e leveduras em relação as amostras do tratamento controle (sem revestimento), até o 6º dia de armazenamento (Figura 4). A partir do 6º dia houve um aumento significativo na contagem de bolores e leveduras em todos os tratamentos e estes não diferiram entre si até o final do período de armazenamento. Apesar deste aumento nas contagens de bolores e leveduras em todas as amostras a partir do 6º dia, as contagens finais em todos os tratamentos ficaram entre 4,6 e 4,7 LogUFC.g<sup>-1</sup>, contagem abaixo da máxima 6 LogUFC.g<sup>-1</sup>, considerada como limite de aceitação para produtos à base de frutas durante um estudo de vida de prateleira (BIERHALS et al., 2011).



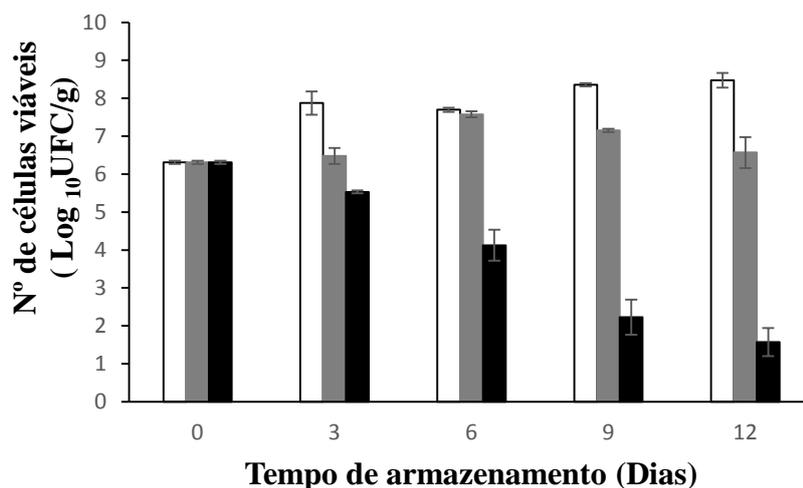
**Figura 4:** Efeito do uso de revestimentos a base de amido de milho e nisina na contagem de bolores e leveduras. Tratamento controle sem imersão em revestimento (barras brancas), aplicação de revestimento de amido de milho sem nisina (barras cinzas), aplicação de revestimento de amido de milho com nisina (barras pretas), em saladas de frutas minimamente processadas armazenadas por 12 dias a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$ . Amostras retiradas a cada 3 dias, para realização de diluições seriadas e posteriormente plaqueadas em meio BDA.

Menores contagens de bolores e leveduras também foram verificados por BENÍTEZ et al. (2013) em kiwis minimamente processados revestidos com aloe vera, e armazenados a  $4^\circ\text{C}$  por até 11 dias, e em maçãs minimamente processadas revestidas com alginato de sódio e goma tara em relação ao tratamento controle nos primeiros 7 dias de armazenamento (PIZATO et al., 2013). Segundo os autores, estes resultados indicam que o revestimento não se tornou substrato para o desenvolvimento de microrganismos, retardando assim o crescimento destes, como observado nos primeiros 6 dias de armazenamento nas amostras revestidas com amido com e sem nisina.

#### 4.3.3. Inibição de bactérias patogênicas inoculadas em salada de frutas

Revestimentos comestíveis a base de amido de milho incorporados com nisina, inibiram o crescimento e reduziram o número de células viáveis de *L. monocytogenes* em

saladas de frutas minimamente processadas por até 12 dias a  $5\pm 1^\circ\text{C}$  (Figura 5). Amostras revestidas com amido de milho e nisina apresentaram redução de 75% no número de células viáveis de *L. monocytogenes*, enquanto amostras revestidas com amido sem nisina apresentaram redução de apenas 3% ao final do período de armazenamento. Em amostras do tratamento controle (sem revestimento), foi verificado aumento de 34% no número de células viáveis de *L. monocytogenes* após 12 dias de armazenamento, resultado significativamente maior quando comparado a amostras dos demais tratamentos no número de células viáveis de *L. monocytogenes*.



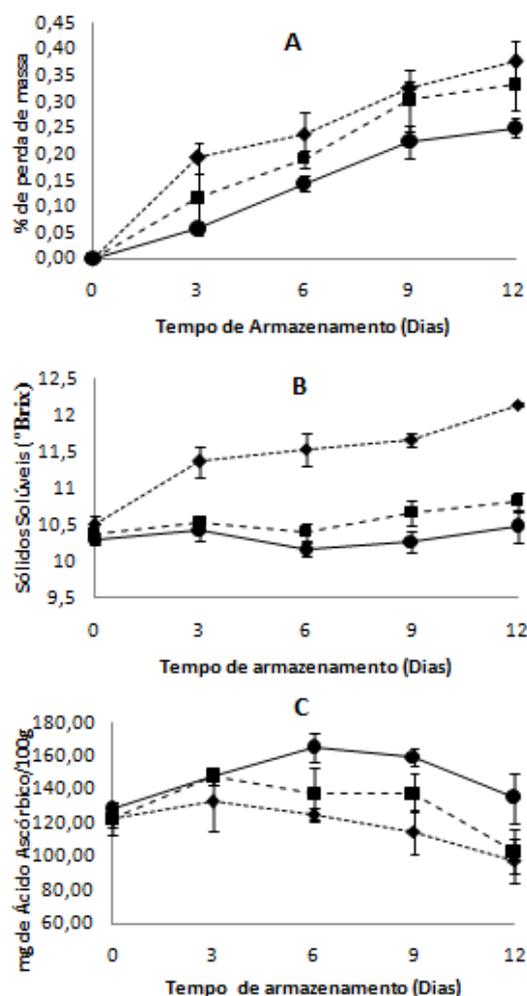
**Figura 5:** Atividade antimicrobiana de revestimento de amido de milho incorporado com nisina (barras pretas), contra *L. monocytogenes* inoculadas em saladas de frutas minimamente processadas. Tratamento controle sem imersão em revestimento (barra branca), e tratamento com revestimento de amido de milho sem nisina (barra cinza), também foram realizados. As amostras foram armazenadas por 12 dias a  $5\pm 1^\circ\text{C}$ , e a contagem de células viáveis em meio sólido foi realizada a cada 3 dias.

*L. monocytogenes* é uma bactéria capaz de sobreviver em frutas frescas e sucos (BARBOSA et al., 2013; BURNETT e BEUCHAT, 2001; MUTAKU et al., 2005), e surtos de listeriose tem sido responsáveis por vários casos de internação, e chegou a causar a morte de 20 canadenses (WARRINER e NAMVAR, 2009). A eficiente ação da nisina incorporada em revestimentos comestíveis contra este tipo de bactéria tem sido citada em caquis revestidos com pectina de maçã e nisina (SANCHÍS et al., 2016), filmes de acetato de celulose e nisina em mangas minimamente processadas (BARBOSA et al., 2013), alfaces minimamente processadas cobertas com solução contendo nisina (RANDAZZO et al., 2009), e peras minimamente processadas revestidas com quitosana e nisina (CÉ et al., 2012).

Surtos de listeriose ocorrem geralmente em populações superiores a  $10^3$  UFC/g ou UFC/mL (TOMPIKIN, 2002). Neste estudo, em amostras revestidas com amido e nisina, a partir do 9º dia de armazenamento foram verificadas populações menores que o limite seguro estipulado, mesmo após a inoculação de  $10^6$  UFC/mL desta bactéria. Enquanto em amostras dos tratamentos controle e revestidas com amido sem adição de nisina, foram verificados números de células viáveis de *L. monocytogenes* maiores que a dose infecciosa, durante todo período de armazenamento.

#### 4.3.4. Análises físico-químicas

Houve aumento da perda de massa durante o período de armazenamento em todos os tratamentos estudados (Figura 6-A). Verificou-se valores de perda de massa significativamente menores ( $p < 0.01$ ) que os demais tratamentos para amostras do tratamento revestido com amido e nisina, a partir do 6º dia (Figura 6-A). A perda de massa é um parâmetro importante para a avaliação da vida útil de produtos minimamente processados (NARSAIAH et al., 2015) pois, cortes ocasionados durante o processamento mínimo, aumentam a produção de etileno, atividade de água e a superfície de contato, levando a perda de água (WAGHMARE e ANNAPURE, 2013). Além disso, durante a estocagem frutas e hortaliças permanecem metabolicamente ativos ou seja, continuam ocorrendo reações de respiração e transpiração dentre outras reações bioquímicas, assim estão susceptíveis a perda de água e consequentemente a perda de massa.



**Figura 6:** Efeito do uso de revestimentos na perda de peso (A), teor de sólidos solúveis (B), e Vitamina C (C) em salada de frutas minimamente processadas estocadas a 5°C por 12 dias. ---◆--- Controle) sem revestimento, (- -■-) revestimento de amido sem nisina, (—●—) revestimento de amido com nisina.

Verificou-se também aumento nos teores de sólidos solúveis (SST) nas amostras em todos os tratamentos, amostras dos tratamentos revestidos com e sem nisina, apresentaram menores teores de sólidos solúveis que amostras do tratamento controle, durante todo o período de armazenamento. Amostras revestidas com amido e nisina apresentaram valores de sólidos solúveis significativamente menores até o final do tempo de armazenamento (Figura 6-B). Comportamento semelhante foi verificado em mamão minimamente processado

revestido com alginato incorporados com a bacteriocina pediocina, entre as amostras analisadas as revestidas com alginato incorporado com bacteriocina apresentaram menor teor de sólidos solúveis e perda de massa em relação ao controle (não revestidos) (NARSAIAH et al., 2015). Este aumento no teor de sólidos solúveis totais nas amostras do tratamento controle, reflete o amadurecimento das frutas devido à solubilização dos hidratos de carbono em estruturas mais simples (Waghmare e Annapure de 2013).

Em relação ao teor de vitamina C, verificou-se perdas de vitamina C estatisticamente menores ( $p < 0.05$ ) para amostras revestidas com amido e nisina, seguidas por amostras revestidas com amido sem nisina e amostras controle respectivamente (Figura 6-C). Perdas de vitamina C ocorrem devido ao fato que o ácido ascórbico pode ser degradado pelo processo oxidativo, que é estimulado na presença de luz, oxigênio, calor, peróxidos e enzimas (PLAZA et al., 2006). No presente estudo, a película formada pelo revestimento pode fornecer proteção ao fruto e barreira a permeabilidade de gases, o que pode ter levado a redução perda de ácido ascórbico (Figura 6-C).

Durante o período de armazenamento não foi verificada variação significativa para os parâmetros de pH e acidez total titulável das amostras de salada de frutas minimamente processadas, submetidas aos diferentes tratamentos (Tabela 3). A mudança dos níveis de acidez do produto é um bom indicador para o monitoramento dos estágios de maturação, uma vez que durante os estágios de amadurecimento e senescência, a teor de ácidos tendem a diminuir por serem importantes substratos para a respiração (VALERO et al., 2013). Porém, taxa respiratória e produção de etileno podem ser controladas pelo uso de baixas temperaturas como utilizadas neste trabalho, em torno de 5°C.

**Tabela 3:** Efeito de revestimento comestível a base de amido de milho e nisina, nas características físico-químicas de salada de frutas minimamente processadas. Tratamento controle (sem revestimento), revestimento a base de amido de milho sem nisina, e revestimento a base de amido de milho com nisina.

Tratamento		Dias de armazenamento (dias)				
		0	3	6	9	12
<b>pH</b>	Controle	4.49 ± 0.03 <sup>Aab</sup>	4.51 ± 0.04 <sup>Aa</sup>	4.54 ± 0.04 <sup>Aa</sup>	4.27 ± 0.01 <sup>Ac</sup>	4.29 ± 0.04 <sup>Ac</sup>
	S/nisina	4.51 ± 0.02 <sup>Aa</sup>	4.52 ± 0.03 <sup>Aa</sup>	4.56 ± 0.07 <sup>Aa</sup>	4.37 ± 0.06 <sup>Ab</sup>	4.38 ± 0.04 <sup>Ab</sup>
	C/nisina	4.39 ± 0.01 <sup>Bb</sup>	4.53 ± 0.08 <sup>Aa</sup>	4.49 ± 0.02 <sup>Aa</sup>	4.27 ± 0.04 <sup>Ab</sup>	4.36 ± 0.03 <sup>Ab</sup>
<b>Acidez (% de ácido cítrico)</b>	Controle	0.25 ± 0.02 <sup>Aa</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>Ab</sup>	0.23 ± 0.02 <sup>Ab</sup>	0.29 ± 0.01 <sup>Aa</sup>	0.25 ± 0.02 <sup>Aa</sup>
	S/nisina	0.23 ± 0.01 <sup>Aa</sup>	0.20 ± 0.02 <sup>Ab</sup>	0.19 ± 0.03 <sup>Bb</sup>	0.26 ± 0.02 <sup>Aa</sup>	0.21 ± 0.02 <sup>Ab</sup>
	C/nisina	0.26 ± 0.01 <sup>Aa</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>Ab</sup>	0.24 ± 0.01 <sup>Aab</sup>	0.29 ± 0.04 <sup>Aa</sup>	0.23 ± 0.02 <sup>Ab</sup>
<b>Carotenoides</b>	Controle	1.55±0.12 <sup>Aa</sup>	1.32±0.03 <sup>Bb</sup>	1.28±0.05 <sup>Ab</sup>	1.31±0.06 <sup>Bb</sup>	1.18±0.07 <sup>Ab</sup>
	S/nisina	1.56±0.04 <sup>Aa</sup>	1.38±0.04 <sup>Aab</sup>	1.34±0.02 <sup>Ab</sup>	1.45±0.09 <sup>Aa</sup>	1.12±0.03 <sup>Ac</sup>
	C/nisina	1.31±0.10 <sup>Bab</sup>	1.46±0.09 <sup>Aa</sup>	1.21±0.03 <sup>Ab</sup>	1.23±0.17 <sup>Bb</sup>	1.15±0.13 <sup>Ab</sup>
<b>IE (índice de escurecimento)</b>	Controle	106.75±7.87 <sup>aA</sup>	110.83±2.04 <sup>aAB</sup>	99.94±5.3 <sup>aA</sup>	112.28±8.01 <sup>aA</sup>	117.00±6.30 <sup>aA</sup>
	S/nisina	118.12±4.38 <sup>abA</sup>	93.92±3.75 <sup>cB</sup>	101.71±6.15 <sup>bcA</sup>	118.85±3.91 <sup>abA</sup>	132.57±4.12 <sup>aA</sup>
	C/nisina	110.97±3.24 <sup>aA</sup>	113.39±4.65 <sup>aA</sup>	95.96±4.11 <sup>abA</sup>	82.33±4.35 <sup>bB</sup>	116.78±10.54 <sup>aA</sup>
<b>PPO</b>	Controle	0.0464±0.00 <sup>Aab</sup>	0.0594±0.00 <sup>Aa</sup>	0.0573±0.00 <sup>Aa</sup>	0.0348±0.01 <sup>Aab</sup>	0.0306±0.02 <sup>Ab</sup>
	S/nisina	0.0154±0.00 <sup>Bb</sup>	0.0377±0.00 <sup>Bab</sup>	0.0131±0.00 <sup>Bb</sup>	0.0263±0.00 <sup>Aab</sup>	0.0420±0.01 <sup>Aa</sup>
	C/nisina	0.0165±0.001 <sup>Bb</sup>	0.0122±0.00 <sup>Cb</sup>	0.0441±0.00 <sup>Aa</sup>	0.0385±0.00 <sup>Aab</sup>	0.0264±0.00 <sup>Aab</sup>

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

Verificou-se em todos os tratamentos avaliados redução no teor de carotenoides, porém amostras dos diferentes tratamentos não diferiram ( $p>0.05$ ) entre si após 12 dias de armazenamento. Amostras do tratamento controle e revestidas com amido sem nisina apresentaram maiores perdas de carotenoides, 37 e 38 % respectivamente, enquanto em amostras revestidas com amido e nisina foram verificadas perdas de 12% de carotenoides após o período de armazenamento (Tabela 3). A utilização de revestimento de amido submetido a altas temperaturas durante a produção, ocasiona a obtenção de um filme mais uniforme e com melhor aderência a superfície do alimento, diminuindo assim a exposição do produto ao oxigênio e consequentemente minimizando a degradação dos carotenoides (LAGO-VANZELA et al., 2013). A incorporação de nisina no revestimento a base de amido de milho pode ter ocasionado uma película ainda menos permeável, resultando em menores perdas de carotenoides.

Verificou-se também que amostras revestidas com amido e nisina apresentaram menor índice de escurecimento, em relação aos demais tratamentos (Tabela 3). Estas amostras apresentaram um aumento de apenas 5,45% no índice de escurecimento, enquanto amostras dos tratamentos controle e revestimento sem nisina apresentaram aumentos de 10,57 e 11,86% respectivamente, ao final do período de armazenamento (Tabela 3). Estes resultados estão de acordo com aqueles verificados na atividade da enzima polifenol oxidase (PPO), onde amostras revestidas com amido e nisina apresentaram menor atividade desta enzima, consequentemente menor escurecimento (Tabela 3). PPO é considerada a principal enzima relacionada a perda de qualidade de produtos minimamente processados, pois sua atividade está diretamente relacionada com o escurecimento enzimático (SANCHIS et al., 2016).

#### **4.4. Conclusões**

Os resultados obtidos neste estudo, sugerem que revestimentos comestíveis a base de amido de milho e nisina podem ser usados como estratégia para aumentar a segurança microbiológica e a vida de prateleira de saladas de frutas minimamente processadas. Pois, nisina incorporada a este revestimento inibe o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes, e contribui para a manutenção da qualidade de salada de frutas minimamente processadas conservado seu teor de vitamina C e diminuindo a perda de massa.

#### 4.5. Referências

- BARBOSA, A. A. T.; ARAÚJO, H. G. S.; MATOS, P. N.; CARNELOSSI, M. A. G.; CASTRO, A. A. Effects of nisin-incorporated films on the microbiological and physicochemical quality of minimally processed mangoes. **International Journal of Food Microbiology**, v.164, p.135-140, 2013.
- BASTOS, M. S. R. **Frutas minimamente processadas: aspectos de qualidade e segurança**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 59 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 103), 2006.
- BENÍTEZ, S.; ACHAERANDIO, I.; SEPULCRE, F.; PUJOLÀ. Aloe vera based edible coatings improve the quality of minimally processed ‘Hayward kiwifruit’. **Postharvest Biology and Technology**. V.81, p.29–36, 2013.
- BEUCHAT, L.R. Ecological factor influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. **Microbes and Infections**, v.4, p. 413–423, 2002.
- BIERHALS, V. S., CHIUMARELLI, M., HUBINGER, M. D. Effect of cassava starch coating on quality and shelf life of fresh-cut pineapple (*Ananas Comosus* L. Merrill cv “Peróla”). **Journal of Food Science**, 76, p. 62-72, 2011.
- Branen, J. K., & Davidson, P. M. Enhancement of nisin, lysozyme, and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lactoferrin. **International Journal of Food Microbiology**, 90(1), p.63-74, 2004.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Regulamento técnico para fixação de Identidade de Qualidade de Requeijão. Portaria nº 359 de 4 de setembro de 1997. **Diário oficial da União**, 1997.
- BURNETT, S. L., BEUCHAT, L. R., Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.**, 27, p.104-110. 2001.
- CARDOSO, W. S.; PINHEIRO, F. A.; PATELLI, T.; PEREZ, R.; RAMON, A. M. Determinação da concentração de sulfito para a manutenção da qualidade da cor em maçã desidratada. **Revista Analytica**, n.29, p.127-132, 2007.
- CARNELOSSI, M. A. G. **Fisiologia pós-colheita de folhas de couve (*Brassicaoleracea* cv. *Acephala*) minimamente processadas**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 83p., 2000.
- CASTRIINI, A.; CONEGLIAN, R.C.C.; VASCONCELLOS, M.A.S. Qualidade e amadurecimento de mamões ‘golden’ revestidos por película de fécula de mandioca. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v.4, p.32-41, 2010.
- CÉ, N. **Utilização de filmes de quitosana contendo nisina e natamincina para cobertura de kiwis e morangos minimamente processados**. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.
- CÉ, N.; BRANDELLI, A.; NOREÑA, C. . Antimicrobial activity of chitosan films containing nisin, peptide P34 and natamycin. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 10, p. 21-26, 2012.

D. LIN, Y. ZHAO. 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**, v.6, pp. 60–75, 2007.

DE MARTINIS, E. C. P.; ALVES, V. F.; FRANCO, B. D. G. M. Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products. **Food Reviews International**, v. 18, n. 2-3, p. 191-208, 2002.

DE OLIVEIRA JUNIOR, A. A., COUTO, H. G. S. DE A., BARBOSA, A. A. T., CARNELOSSI, M. A. G., MOURA, T. R. Stability, antimicrobial activity and effect of nisin on the physico-chemical properties of fruit juices. **International Journal of Food Microbiology**, v.211, p. 38-43, 2015.

DONADON, J. R.; SOUZA, B. S.; DURIGAN, J. F. Processamento mínimo de manga. In: MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, Cap. 14, p. 274-282, 2007.

GILL, A. O., & HOLLEY, R. A. Interactive inhibition of meat spoilage and pathogenic bacteria by lysozyme, nisin and EDTA in the presence of nitrite and sodium chloride at 24 C. **International Journal of Food Microbiology**, v.80(3), p.251-259, 2003.

JAMES, J.B.; NGARMSAK, T. Chapter I. **Fresh-cut products and their market trends**. In: Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. Processing of fresh-cut tropical fruits and vegetables: a technical guide. RAP PUBLICATION 2010/16, Bangkok, Thailand, p. 1–6, 2010.

KHAN, A., VU, K. D., RIEDL, B. LACROIX, M. Optimization of the antimicrobial activity of nisin, Na-EDTA and pH against gram-negative and gram-positive bacteria. **Food Science and Technology**, 61, p. 124-129, 2015.

KRAN, A.; VU, K. D.; RIEDL B.; LACROIX, M. Optimization of the antimicrobial activity of nisin, Na-EDTA and pH against gram-negative and gram-positive bacteria. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, p.124-129, 2015.

LAGO-VANZELA, E. S., DO NASCIMENTO, P., FONTES, E. A. F., MAURO, M. A., KIMURA, M. Edible coatings from native and modified starches retain carotenoids in pumpkin during drying. **LWT- Food Science and technology**, v.50, p.420-425, 2013.

LEGNANI, P. P.; LEONI, E. Effect of processing and storage conditions on the microbiological quality of minimally processed vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, n. 10, p. 1061-1068, 2004.

LICHTENTHALER, H. K. **Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes**. In: Packer, L., Douce, R. (Eds.). *Methods in enzymology*. London: Academic Press, v.148, p.350-381, 1997.

LU, F.; DING, Y.; YE, X.; LIU, D. Cinnamon and nisin in alginatecalcium coating maintain quality of fresh northern snakehead fish fillets. **LWT - Food Science and Technology**, v.43, p.1331-1335, 2010.

LUVIELMO, M. M.; LAMAS, S. V.; **Revestimentos comestíveis em frutas**. Estudos Tecnológicos em Engenharia. Pelotas. Vol.8, N.1, p.8-15, 2012.

- MARTINS, E. M. F. **Viabilidade do uso de salada de frutas minimamente processada como veículo de micro-organismos probióticos.** Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa-MG, 84 p., 2012.
- MORTON, R.D. **Aerobic plate count.** In: **Downes, F.P., Ito, K, Compendium of methods for the microbiological examination of foods,** (4rd ed), (pp.63-67) Washington DC: American Public Health Association, 2001.
- MUKHERJEE, A., SPEH, D., JONES, A.T., BUESING, K.M., DIEZ-GONZALEZ, F. Longitudinal microbiological survey of fresh produce grown by farmers in the upper Midwest. **Journal of Food Protection**, v. 69, p.1928–1936, 2006.
- MUTAKU, I., ERKU, W., ASHENAFI, M., Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 in fresh tropical fruit juices at ambiente and cold temperatures. **Int. J. Science** . 56, p.133-139, 2005.
- NARSAIAH, K., WILSON, R. A.; GOKUL, K., MANDGE, H. M., JHA, S. N., BHADWAL, S., ANURAG, R. K., MALIK, R. K., VIJ, S. Effect of bacteriocin-incorporated alginate coating on shelf-life of minimally processed papaya (*Carica papaya* L.). **Postharvest Biology and Technology**, p.212-218, 2015.
- NARSAIAH, K.; JHA, S. N.; WILSON, R. A. MANDGE, H. M.; MANIKANTAN, M. R.; MALIK, R. K. VIJ, S. Pediocin loaded nanoliposomes and hybrid alginate-nanoliposome delivery system for slow release of pediocin. **Bionanoscience**, v.3, p 37-42, 2013.
- NZFSA. **A Guide to Calculating the Shelf Life of Foods: Information Booklet for the Food Industry.** New Zeland Food safety Authority, P.O. Box 2835, Wellington, New Zeland ISBN 0-478-07865-X, 2005.
- OLAIMAT, A.N., HOLLEY, R.A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. **Food Microbiology** 32, 1–19, 2012.
- PAULA, N. D., BOAS, E. V. B. V., RODRIGUES, L. J., CARVALHO, R. A., & PICCOLI, R. H. Qualidade de produtos minimamente processados e comercializados em gôndolas de supermercados nas cidades de Lavras-MG, Brasília-DF e São Paulo-SP. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.1, p. 219-27. 2009.
- PIZATO, S.; CORTEZ-VEJA, W. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; BORGES, C. D. Efeito da aplicação de diferentes revestimentos comestíveis na conservação de maçãs ‘Royal Gala’ minimamente processadas. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v.34, n.1, p.253-264, 2013.
- PLAZA, L.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; ELEZ-MARTÍNEZ, P.; ANCOS, B.; MARTÍN-BELOSO, O.; CANO, M.P. Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization. **European Food Research and Technology**, v. 233, p. 487-493, 2006.
- RANDAZZO, C. L., PITINO, I., SCIFÒ, G. O., CAGGIA, C. Biopreservation of minimally processed iceberg lettuces using a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* wild strain. **Food control**, 20, p. 756-763, 2009.
- RODRIGUEZ, J. Review: antimicrobial spectrum, structure, properties and mode of action of nisin, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis*. **Food Science and Technology International**, 2, p.61-68, 1996.

ROJAS-GRAU, M. A., SOLIVA-FORTUNY, R. C., MARTIN-BELLOSO, O. Edible coating to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. **Trends Food Science Technology**, v.20, p. 438-447, 2009.

ROSA, O.O., CARVALHO, E.P. Características microbiológicas de frutos e hortaliças minimamente processadas. *Boletim SBCTA*, Campinas, v.34, n.2, p. 84–92, 2000.

SANCHÍS, E.; GONZÁLEZ, S.; GHIDELLI, SHETH, C.; MATEOS, M.; PALOU, L.; PÉREZ-GAGO, M. B. Browning inhibition and microbial control in fresh-cut persimmon (*Diospyros kaki* Thunb. Cv. Rojo Brillhante) by apple pectin-based edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 112, p. 186-193, 2016.

SANTOS, T. B. A.; SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; PEREIRA, J. L. Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. **Brazilian Journal of food technology**, v.13, n.2, p.141-146, 2010.

SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R. M.; ÂNGULO, F. J.; TAUXE, R. V.; WIDDOWSON, M. A.; ROY, S. L. Foodborne illness Acquired in the United States- Major pathogens. **Emerging Infectious diseases**, v. 17, n.1, p.7-15, 2011.

SHAI, Y. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by alpha-helical antimicrobial and cell nonselective membrane-lytic peptides. **Biochimica et biophysica acta**, 1462(1e2), p.55e70, 1999.

SILVA, L. B.; **Desenvolvimento de salada de fruta composta por manga, abacaxí e mamão minimamente processados**. 2014. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-UFS, 2014.

SIPAHI, R. E. PEREZ, M. E. C., MOREIRA, R. G. GOMES, C., CASTILHO, A. Improved multilayered antimicrobial alginate based edible coating extends the shelf life of fresh cut watermelon (*Cittrullus lanatus*). **Food Sci.Technol.-LEB**, v.51, p.9–15, 2013.

SIROLI, L., PATRIGNANI, F., SERRAZANETTI, D. I., TABANELLI, G., MONTANARI, C., TAPPI, S., ROCCULI, P., GARDINI, F., LANCIOTTI, R. Efficacy of natural antimicrobials to prolong the shelf-life of minimally processed apples packaged in modified atmosphere. **Food Control**, v.46, p. 403- 411, 2014.

SIROLI, L., PATRIGNANI, F., SERRAZANETTI, D. I., TABANELLI, G., MONTANARI, C., TAPPI, S., ROCCULI, P., GARDINI, F., LANCIOTTI, R. Efficacy of natural antimicrobials to prolong the shelf-life of minimally processed apples packaged in modified atmosphere. **Food Control**, v.46, p. 403- 411, 2014.

SIROLI, L.; PATRIGNANI, F., SERRAZANETTI, D. I.; GARDINI, F., LANCIOTTI, R. Innovate strategies based on the use of bio-control agents to improve the safety, shelf-life and quality of minimally processed fruits and vegetables. **Trends in Food Science e Technology**, v.46, p. 302-310, 2015.

STEVENS, K. A., SHELDON, B. W.KLAENHAMMER, T. R. Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other gram-negative bacteria. **Appl. Environ. Microbiology**, 57, p.3613-3615. 1991.

THOMAS, L. V., INGRAM, R. E., BEVIS, H. E., DAVIES, E. A., MILNE, C. F., DELVESBROUGHTON, J. Effective use of nisin to control *Bacillus* and *Clostridium*

spoilage of a pasteurized mashed potato product. **Journal of Food Protection**, 65(10), p.1580-1585, 2002.

THOMAS, M. K.; MURRAY, R.; PINTAR, K.; POLLARI, F.; FAZIL, A. Estimates of the foodborne illness in Canada for 30 specific pathogens and unspecified agents, circa 2006. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, n.7, p.639-648, 2013.

TOMPIKIN, R. B. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. **Journal of Food Protection**, v.65, p.709-725, 2002.

TOMPkin, R.B. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. **Journal of Food Protection** 65, 709–725, 2002.

UKUKU, D. O., FETT, W. F., Effect of nisin in combination with EDTA, sodium lactate, and potassium sorbate for reducing *Salmonella* on whole and fresh-cut cantaloupe, **Journal of Food Protection**, 67, p.2143-2150, 2004.

VAARA, M. Agents that increase the permeability of the outer membrane. **Microbiological Reviews**, v.56, n.3, p.395-411, 1992.

VALENCIA-CHAMORRO, S. A. PÉREZ-GAGO, M. B., DEL RIO, M. A., PALOU, L. Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.51, p.872-900. 2011.

VALERO, D.; DÍAZ-MULA, H. M.; ZAPATA, P. J.; GUILLÉN, F.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; CASTILHO, S.; SERRANO, M. Effects of alginate edible coating on preserving fruit quality in four plum cultivars during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.77, p.1-7, 2013.

WAGHMARE, R.B., ANNAPURE, U.S. Combined effect of chemical treatment and/or modified atmosphere packaging (MAP) on quality of fresh-cut papaya. **Postharvest Biology and Technology**, 85, p. 147–153, 2013.

WARRINER, K., & NAMVAR, A. What is the hysteria with *Listeria*? **Trends in Food Science & Technology**, v.20, p. 245-254, 2009.