

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**REVESTIMENTOS BIODEGRADÁVEIS PARA
CONSERVAÇÃO DO COCO ‘ANÃO VERDE’**

JOSANE MARIA RESENDE

CAMPINAS
FEVEREIRO 2007

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**REVESTIMENTOS BIODEGRADÁVEIS PARA
CONSERVAÇÃO DO COCO ‘ANÃO VERDE’**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia Agrícola da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do grau
de «Doutor» em Engenharia Agrícola, área de concentração
Tecnologia Pós-Colheita.

JOSANE MARIA RESENDE
Orientadora: Prof^a Dra. Marlene Rita de Queiroz
Co-Orientadora: Dra. Neide Botrel Gonçalves

CAMPINAS
FEVEREIRO 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

R311r Resende, Josane Maria
Revestimentos biodegradáveis para conservação do
coco 'ANÃO VERDE' / Josane Maria Resende. --
Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientadores: Marlene Rita de Queiroz, Neide Botrel
Gonçalves.

Tese de Doutorado - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola.

1. Água de coco. 2. Armazenamento. 3. Enzimas.
4. Gelatina. 5. Quitosana. I. Queiroz, Marlene Rita de.
II. Gonçalves, Neide Botrel. III. Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Engenharia Agrícola. IV.
Título.

Titulo em Inglês: Biodegradable coatings for the conservation of green coconuts
(ANÃO VERDE variety)

Palavras-chave em Inglês: Coconut water, Storage, Enzymes, Gelatine, Chitosan

Área de concentração: Tecnologia Pós-Colheita

Titulação: Doutor em Engenharia Agrícola

Banca examinadora: Carlos Raimundo Ferreira Grosso, Marcos David Ferreira, Sylvio
Luis Honório, Wilson Menezes Aragão

Data da defesa: 28/02/2007

Programa de Pós Graduação: Engenharia Agrícola

AMAI-VOS

*Amai-vos um ao outro,
mas não façais do amor um grilhão.*

*Que haja, antes, um mar ondulante
entre as praias de vossa alma.*

*Enchei a taça um do outro,
mas não bebais da mesma taça.*

*Dai do vosso pão um ao outro,
mas não comais do mesmo pedaço.*

*Cantai e dançai juntos,
e sede alegres,*

*mas deixai
cada um de vós estar sozinho.*

*Assim como as cordas da lira
são separadas e,
no entanto,
vibram na mesma harmonia.*

*Dai vosso coração,
mas não o confieis à guarda um do outro.*

*Pois somente a mão da Vida
pode conter vosso coração.*

*E vivei juntos,
mas não vos aconchegueis demasiadamente.*

*Pois as colunas do templo
erguem-se separadamente.*

*E o carvalho e o cipreste
não crescem à sombra um do outro.*

Gibran Kahlil Gibran

“Vossos filhos não são vossos filhos.

São os filhos e as filhas da ânsia da vida por si mesma.

Vêm através de vós, mas não de vós.

E embora vivam convosco, não vos pertencem.

Podeis outorgar-lhes vosso amor, mas não vossos pensamentos,

Porque eles têm seus próprios pensamentos.

Podeis abrigar seus corpos, mas não suas almas;

Pois suas almas moram na mansão do amanhã,

Que vós não podeis visitar nem mesmo em sonho.

Podeis esforçar-vos por ser como eles, mas não procureis fazê-los como vós,

Porque a vida não anda para trás e não se demora com os dias passados.

Vós sois os arcos dos quais vossos filhos são arremessados como flechas vivas.

O arqueiro mira o alvo na senda do infinito e vos estica com toda a sua força

Para que suas flechas se projetem, rápidas e para longe.

Que vosso encurvamento na mão do arqueiro seja vossa alegria

Pois assim como ele ama a flecha que voa,

Ama também o arco que permanece estável.”

Gíbran Kahlíl Gíbran

Milimétrica concentração, um longo fôlego, resgaste, inspiração. A palavra arremessada livre, ganha altura, acerta, erra, vive. Esse instante é para meu Anjo da Guarda, meu marido Orivaldo sempre. Para meus filhos Daniel e André, presentes de Deus. Para meus pais Nilza e Daniel, motivações dessa passagem.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus «Ó Senhor Deus, tu me examinas e conheces todos os meus pensamentos. Tu me vês quando estou trabalhando e quando estou descansando; tu sabes tudo o que faço. Antes mesmo que eu fale, tu já sabes o que vou dizer. “Estás em volta de mim, por todos os lados, e me proteges com teu poder” (Salmos 139, 1-5) ».

Todo especial ao pesquisador Antônio Gomes Soares, pela presença constante em todas as etapas do desenvolvimento desta Tese. Pelo carinho e amizade, obrigado.

À Universidade Federal de Lavras e Faculdade de Engenharia Agrícola pela oportunidade concedida para meu crescimento profissional e pessoal.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos (CTAA), pela possibilidade de realização do trabalho e suporte necessário para a realização dos experimentos.

À FAPERJ pelo apoio financeiro ao projeto.

À Prof^a Marlene Rita de Queiroz, pela orientação, carinho, apoio e amizade nos momentos mais difíceis.

À pesquisadora Neide Botrel e Lourdes Maria Correa Cabral, pela orientação, apoio nos momentos de decisão e pela amizade e carinho.

À Henriqueta Talita e Paula Meireles pelo carinho e, sobretudo, amizade.

Aos Pesquisadores Otniel Freitas, Edna Moraes, Antonio Xavier, Ronoel Luiz Godoy, Marcos Fonseca, pelo apoio nos momentos de dúvida e pela amizade.

À Henriqueta Talita, Mário Ferreira, Marco Antunes, Flávio Quitério, Manuela Araújo, Jeane Santos, Aline Leandro, Ivan Alcantara, Epaminondas Simas e José Manoel pela disponibilidade e incomparável colaboração na execução das análises.

À Mazoleni Fagundes, Paulo Alcoforado, Hildomar e Jorge Luiz pela disponibilidade em transportar os cocos e pelas incansáveis viagens a Quissamã e Lavras.

À Marcos Lessa, Marcos Merlim, Luis Otávio (Belo) e Bernardo pelas constantes manutenções nas câmaras frias.

À Ingrid Moraes e Alexandra pela amizade e agradável convívio nos momentos difíceis.

Aos estagiários Lenita Peres, Marcelle do Valle e Hélio Lusquinos e a todos os estagiários, que contribuíram para a realização deste trabalho.

À minha grande amiga Ana Flávia Coelho e Lúcia Ferreira pelo convívio agradável durante o doutorado, pela amizade e companheirismo que levamos para a vida.

A minha sogra Neide Strutzel pelo carinho, ajuda constante e apoio nos momentos de decisão.

Ao Orivaldo pela dedicação, apoio e compreensão nos momentos muito difíceis, aos meus filhos Daniel e André pelo carinho e amor, aos meus irmãos Francisco, Juliano e Luciane pelo apoio e amizade.

Às empresas:

Polymer Indústria Comercio Importação e Exportação Ltda pela doação da quitosana.

Gelita do Brasil Ltda pela doação da gelatina.

Rigesa pela doação das embalagens de papelão.

Cooperativa de produtores de coco de Quissamã pela doação dos cocos.

A todos os contribuintes e produtores rurais que de forma indireta contribuem para as pesquisas no país.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xvi
RESUMO.....	xviii
ABSTRACT.....	xx
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 Aspectos gerais.....	5
2.2 Água de coco verde para consumo ao natural.....	6
2.3 Formação e transformações da água de coco durante o desenvolvimento do fruto.....	8
2.4 Mudanças da água de coco durante o amadurecimento do fruto.....	10
2.5 Vitamina C e minerais.....	16
2.5.1 Importância da vitamina C para o organismo humano.....	17
2.5.2 Teores de vitamina C nos frutos.....	17
2.5.3 Composição mineral durante o desenvolvimento e armazenamento de frutos.....	20
2.5.4 A nutrição da planta e a composição mineral nos frutos.....	21
2.6 Compostos fenólicos.....	24
2.7 Enzimas.....	30
2.7.1 Peroxidase (POD).....	30
2.7.1.1 Características gerais.....	30
2.7.1.2 Efeitos da atividade de peroxidase em frutos e hortaliças.....	33
2.7.2 Polifenoloxidase (PFO).....	34
2.7.2.1 Características gerais.....	34
2.7.2.2 Efeitos da atividade de polifenoloxidase em frutos e hortaliças.....	36
2.7.3 Fenilalanina Amônia-Liase (FAL).....	38
2.7.3.1 Características gerais.....	38
2.7.3.2 Efeitos da atividade da fenilalanina amônia-liase em frutos e hortaliças.....	40
2.8 Microrganismos em frutos e hortaliças.....	41
2.8.1 Contaminação de microrganismos em frutos e hortaliças.....	41
2.8.1.1 Condições físicas.....	42

2.8.1.2 Condições químicas.....	43
2.8.1.3 Condições ambientais.....	44
2.8.2 Bactérias.....	44
2.8.3 Fungos micotoxigênicos.....	45
2.8.4 Prevenção da contaminação de frutos e hortaliças.....	47
2.9 Atmosfera modificada.....	49
2.9.1 Atmosfera modificada por biofilmes.....	51
2.9.2 Respiração.....	54
2.9.3 Etileno.....	55
2.10 Análise Sensorial.....	56
2.10.1 Testes de aceitação.....	57
2.11 Revestimentos biodegradáveis ou biofilmes.....	58
2.11.1 Importância e aplicação dos biofilmes.....	58
2.11.2 Constituintes para biofilmes.....	61
2.11.2.1 Macromoléculas.....	62
2.11.2.1.1 Quitosana.....	62
2.11.2.1.2 Gelatina.....	68
2.11.2.1.3 Carboximetilcelulose (CMC).....	70
2.11.2.2 Plastificantes.....	72
2.11.2.3 Solventes.....	73
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	75
3.1 Matéria prima, tratamentos e aplicação dos tratamentos.....	75
3.2 Obtenção dos biofilmes.....	75
3.2.1 Materiais utilizados.....	75
3.2.2 Elaboração dos biofilmes.....	76
3.3 Ensaio e delineamentos experimentais.....	78
3.3.1 Ensaio EI.....	78
3.3.1.1 Extração da água de coco.....	78
3.3.1.2 Análises.....	78
3.3.2 Ensaio EII.....	84
3.3.3 Ensaio EIII.....	86

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	90
4.1 Características físicas.....	92
4.1.1 Volume de água e turbidez.....	92
4.2 Características físico-químicas e químicas.....	95
4.2.1 Sólidos solúveis totais (SST).....	95
4.2.2 Acidez total titulável (ATT) e pH.....	97
4.2.3 Glicose, frutose e sacarose.....	99
4.2.4 Vitamina C total.....	103
4.2.5 Minerais.....	105
4.2.6 Compostos fenólicos.....	115
4.3 Características bioquímicas.....	120
4.3.1 Peroxidase (POD).....	120
4.3.2 Polifenoloxidase (PFO).....	121
4.3.3 Fenilalanina amônia-liase (FAL).....	123
4.4 Avaliações microbiológicas.....	124
4.4.1 Coliformes a 45 °C e 35 °C.....	124
4.4.2 Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas, fungos filamentosos e leveduras	128
4.4.3 Identificação de fungos filamentosos.....	129
4.5 Análises fisiológicas.....	131
4.5.1 Concentrações de O ₂ , CO ₂ e etileno dos frutos revestidos com biofilmes.....	131
4.6 Avaliação sensorial.....	135
4.6.1 Aceitação do fruto.....	135
4.6.2 Aceitação da água de coco.....	153
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	164
6. CONCLUSÕES.....	166
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	167

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Moléculas do flavonol quercetina, do flavanol catequina e de antocianinas.....	26
Figura 2. Moléculas de ácidos fenólicos, sendo ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico	27
Figura 3. Diferenças entre as estruturas da celulose e da quitina.....	64
Figura 4. Estruturas químicas dos polissacarídeos quitina e quitosana.....	64
Figura 5. Microcâmaras utilizadas na análise da concentração de O ₂ , CO ₂ e etileno na atmosfera durante o armazenamento dos cocos. À esquerda, frutos dispostos nas microcâmaras no início do armazenamento; à direita, amostragem da atmosfera.....	85
Figura 6. Ficha usada para avaliação da aparência do fruto, intenção de compra e expectativa em relação à água de coco verde.....	87
Figura 7. Ficha usada para aplicação do teste de aceitação da água de coco.....	89
Figura 8. Volume médio de água no coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 519,7 - 1,60 x$	93
Figura 9. Turbidez da água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 9,93 + 0,0032 x^2$	94
Figura 10. Sólidos solúveis totais da água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 5,79 - 0,015 x$	96
Figura 11. Acidez total titulável da água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 52,7 - 0,27 x^{1,5} + 0,007 x^{2,5}$	97
Figura 12. Potencial hidrogeniônico (pH) da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B2: $y = 5,52 - 0,051x + 0,0034x^2 - 0,000059x^3$; B3: $y = 5,18 - 0,075x + 0,0078x^2 - 0,00014x^3$; B4: $y = 5,41 - 0,045x + 0,0029x^2 - 0,000045x^3$; B5: $y = 5,25 + 0,0029x^2 + 0,00048x^{2,5}$ e B6: $y = 5,42 - 0,11x + 0,010x^2 - 0,00019x^3$	98
Figura 13. Teor de glicose em água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y = 2,57 - 0,00074e^{(-x/5,76)}$; B2: $y = 2,59 - 0,018x$; B3: $y = 2,84 - 0,019x$; B4: $y = 2,60 - 0,00036x^{2,5} + 0,000056x^3$; B5: $y = 2,61 - 0,0042x$ e B6: $y = 2,91 - 0,013x^{1,5} + 0,000044x^3$	101
Figura 14. Teor de frutose em água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y = 2,54 - 0,000014x^3$; B2: $y = 2,33 - 0,000011x^3$; B3: $y = 2,72 - 0,022x$; B5: $y = 2,44 - 0,0033x^{1,5} + 0,000012x^3$ e B6: $y = 2,82 - 0,0038x^2 - 0,000088x^3$	101

Figura 15. Teor de vitamina C na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=5,25-0,11x$; B2: $y=4,28-0,0023x^2$; B3: $y=4,33-0,013x^{1,5}$; B4: $y=4,49-0,016x^{1,5}$; B5: $y=3,98-0,0022x^2$ e B6: $y=3,85-0,014x^{1,5}$	104
Figura 16. Teor de nitrogênio na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=0,06-0,0012x+0,000072x^2-0,0000012x^3$	107
Figura 17. Teor de fósforo na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=5,05-0,013x+0,0100x^2-0,00017x^3$	107
Figura 18. Teor de potássio na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=198-1,27.10^{-16}e^x$	108
Figura 19. Teor de cálcio na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=24,8-0,93x+0,071x^2-0,0012x^3$	109
Figura 20. Teor de magnésio na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=7,04+0,0045x^{2,5}-0,00068x^3$	110
Figura 21. Teor de cloreto na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=133-1,74x+0,123x^2-0,00204x^3$	111
Figura 22. Teor de zinco na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=27,86-3,069x+0,1742x^2-0,002761x^3$	113
Figura 23. Teor de ferro na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=14,31+0,0297x^{2,5}-0,004523x^3$	114
Figura 24. Fenólicos dímeros na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=4,93+0,549x-0,0322x^2+0,000465x^3$; B2: $y=3,93+0,369x-0,0230x^2+0,000374x^3$; B3: $y=4,36+0,778x-0,0493x^2+0,000768x^3$; B4: $y=4,76+0,530x-0,0380x^2+0,000639x^3$; B5: $y=3,97+0,654x-0,0435x^2+0,000740x^3$ e B6: $y=4,80+0,234x-0,0168x^2+0,000318x^3$	117
Figura 25. Fenólicos oligoméricos na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=5,35+0,553x-0,0334x^2+0,000486x^3$; B3: $y=5,56+0,398x-0,0322x^2+0,000609x^3$; B4: $y=5,01+0,471x-0,0390x^2+0,000742x^3$; B5: $y=5,76+0,392x-0,0318x^2+0,000586x^3$ e B6: $y=5,15+0,317x-0,0202x^2+0,000335x^3$	117

Figura 26. Fenólicos poliméricos na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B2: $y=5,91+0,175x-0,0175x^2+0,000345x^3$; B3: $y=6,32+0,482x-0,0341x^2+0,000573x^3$; B4: $y=6,27+0,488x-0,0394x^2+0,000734x^3$; B5: $y=5,36+0,412x-0,0220x^2+0,000321x^3$ 118

Figura 27. Incremento percentual de fenólicos dímeros, oligoméricos e poliméricos na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes dos 30 para os 40 dias de armazenamento. B1: quitosana; B2: gelatina + CMC; B3: quitosana + gelatina; B4: CMC; B5: gelatina e B6: controle..... 119

Figura 28. Atividade de peroxidase na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 8,71+0,089x$ 121

Figura 29. Atividade de polifenoloxidase na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=9,91+0,0269x^{1,5}$; B2: $y=7,92+0,0297x^2-0,000559x^3$; B3: $y=9,10+0,0448x^2-0,00611x^{2,5}$; B4: $y=9,39+0,0312x^2-0,00393x^{2,5}$; B5: $y=8,49+0,213x^{1,5}-0,0270x^2$ e B6: $y=6,75+0,0436x^2-0,00572x^{2,5}$ 122

Figura 30. Atividade de fenilalanina amônia-liase na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 1,156+0,08287x$ 123

Figura 31. Concentração de O₂ nas microcâmaras contendo cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=27,0+3,29x-0,190x^2+0,0023x^3$; B2: $y=19,2+1,74x-0,102x^2+0,0012x^3$; B3: $y=23,6+2,36x-0,140x^2+0,0017x^3$; B4: $y=20,7+1,94x-0,118x^2+0,0014x^3$; B5: $y=21,3+2,19x-0,130x^2+0,0016x^3$ e B6: $y=1,28+28,26e^{(-0,5((x-9,13)/10,67)^2)}$ 134

Figura 32. Concentração de CO₂ nas microcâmaras contendo cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=-0,31+5,59x-1,633x^{1,5}+0,1207x^2$; B2: $y=-0,42+5,68x-1,703x^{1,5}+0,1294x^2$; B3: $y=-0,46+6,47x-1,910x^{1,5}+0,1421x^2$; B4: $y=-0,33+6,30x-1,881x^{1,5}+0,1424x^2$; B5: $y=-0,36+6,51x-1,978x^{1,5}+0,1518x^2$ e B6: $y=-0,37+3,00x-0,1305x^2+0,00146x^3$ 134

Figura 33. Aparência do coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B2: $y=6,52-0,0017x^2$; B3: $y=5,27+0,0237x$; B4: $y=6,67-0,0020x^2$; B5: $y=5,95+0,0063x$ e B6: $y=5,87-0,629x^{0,5}$ 137

Figura 34. Expectativa da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=6,41+0,00195x-1,3310^{-18}e^x$; B2: $y=6,35-0,0000326x^3$; B3: $y=5,27-0,0397x+0,352x^{0,5}$; B4: $y=6,67-0,0000465x^3$; B5: $y=6,42-0,00000154x^3$ e B6: $y=6,26+0,0675x-1,049x^{0,5}$ 138

Figura 35 Intenção de compra do fruto de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=6,50-1,3210^{-18}e^x$; B2: $y=6,32-0,00164x^2$; B3: $y=5,57-0,0221x$; B4: $y=6,84-0,000360x^{2,5}$; B5: $y=6,14-0,00571x$ e B6: $y=6,16+0,0827x-1,212x^{0,5}$	138
Figura 36. Vista lateral de cocos verdes variedade Anão Verde revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e acondicionados em caixas de papelão armazenadas a 12 ± 2 °C, umidade relativa de 80%, por 40 dias.....	140
Figura 37. Vista do cálice e pedúnculo de cocos verdes variedade Anão Verde revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e acondicionados em caixas de papelão armazenadas a 12 ± 2 °C, umidade relativa de 80%, por 40 dias.....	141
Figura 38. Mapa interno de preferência para a aparência de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. B1: Quitosana; B2: Gelatina + CMC; B3: Quitosana + gelatina; B4: CMC; B5: Gelatina e B6: Controle.....	142
Figura 39. Mapa interno de preferência para intenção de compra de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. B1: Quitosana; B2: Gelatina + CMC; B3: Quitosana + gelatina; B4: CMC; B5: Gelatina e B6: Controle.....	143
Figura 40. Número de respostas à pergunta “O que você mais gostou neste produto?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina + CMC; Biofilme 3: quitosana + gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle.....	145
Figura 41. Número de respostas à pergunta “O que você mais desgostou neste produto?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina + CMC; Biofilme 3: quitosana + gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle.....	147
Figura 42. Número de respostas à pergunta “Porque você acha que NÃO vai gostar da água deste coco?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina + CMC; Biofilme 3: quitosana + gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle.....	149
Figura 43. Número de respostas à pergunta “Porque você acha que VAI gostar da água deste coco?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina + CMC; Biofilme 3: quitosana + gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle.....	151

Figura 44. Sabor da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=6,39+0,000486x^2-3,62 \cdot 10^{-18}e^x$; B2: $y=5,33-1,79/(1+e^{-(x-29,27)/1,055})$; B4: $y=6,67-1,17 \cdot 10^{-17}e^x$; B5: $y=6,67-0,063x$ e B6: $y=6,70-0,0000265x^3$ 155

Figura 45. Intenção de compra da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=6,12+0,000923x^2-5,15 \cdot 10^{-18}e^x$; B2: $y=4,97-1,95/(1+e^{-(x-30,35)/1,364})$; B4: $y=6,64-1,37 \cdot 10^{-17}e^x$; B5: $y=6,68-0,0709x$ e B6: $y=6,65-0,0000299x^3$ 155

Figura 46. Mapa interno de preferência para o sabor da água de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. B1: Quitosana; B2: Gelatina + CMC; B3: Quitosana + gelatina; B4: CMC; B5: Gelatina e B6: Controle..... 157

Figura 47. Mapa interno de preferência para a intenção de compra da água de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. B1: Quitosana; B2: Gelatina + CMC; B3: Quitosana + gelatina; B4: CMC; B5: Gelatina e B6: Controle..... 158

Figura 48. Número de respostas à pergunta “O que você mais gostou neste produto?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial da água de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina + CMC; Biofilme 3: quitosana + gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle..... 160

Figura 49. Número de respostas à pergunta “O que você mais desgostou neste produto?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial da água de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina + CMC; Biofilme 3: quitosana + gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle..... 162

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição físico-química da água de coco ‘Anão Verde’ com sete meses de idade.....	11
Tabela 2. Ingestão diária recomendada de algumas vitaminas e minerais.....	18
Tabela 3. Resumo das análises de variância das variáveis estudadas apresentando o coeficiente de variação para o erro (a) e (b) no delineamento de parcelas subdivididas no tempo e o nível de significância das fontes de variação pelo teste de F.....	90
Tabela 4. Nível de significância pelo teste de F dos desdobramentos do fator biofilme dentro do fator tempo para variáveis que apresentaram interação significativa entre estes fatores.....	91
Tabela 5. Nível de significância pelo teste de F dos desdobramentos do fator tempo dentro do fator biofilme para variáveis que apresentaram interação significativa entre estes fatores.....	91
Tabela 6. Volume e turbidez da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.....	92
Tabela 7. Sólidos solúveis totais, acidez total titulável e pH da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.....	95
Tabela 8. Teores de frutose, glicose, sacarose e vitamina C da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.....	100
Tabela 9. Teores de N, P, K, Ca e Mg na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.....	106
Tabela 10. Teores de Cl, Na, Zn, Fe e Mn na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.....	112
Tabela 11. Teores de fenólicos dímeros, oligoméricos e poliméricos na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.....	116
Tabela 12. Atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.....	120
Tabela 13. Estimativa do número mais provável (NMP) de propágulos de coliformes a 45 °C e coliformes a 35 °C em água de coco tratados com biofilmes e armazenados por até 40 dias a 12 °C.....	126
Tabela 14. Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas e fungos filamentosos e leveduras em água de coco tratados com biofilmes e armazenados por até 40 dias a 12 °C.	129

Tabela 15. Concentração de O ₂ e CO ₂ na atmosfera das microcâmaras contendo cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 50 dias a 12 °C.....	132
Tabela 16. Notas atribuídas à aceitação do coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.....	137
Tabela 17 Notas atribuídas à aceitação da água de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C.....	154

RESUMO

A água de coco verde é extremamente perecível após a colheita dos frutos e sua qualidade está diretamente relacionada às condições do ambiente de armazenagem. Portanto, são necessárias tecnologias que permitam a conservação do coco verde por um período superior a trinta dias para que o fruto possa ser exportado e comercializado mantendo a água em condições apropriadas para o consumo ao natural. O presente trabalho teve o objetivo de desenvolver revestimentos biodegradáveis para prolongar a conservação do coco verde, variedade Anão Verde, propiciando maior tempo para a sua comercialização e consumo da água, sem alterar suas qualidades sensoriais e nutritivas. Cocos foram revestidos com biofilmes a base de quitosana, gelatina e carboximetilcelulose (CMC), nas seguintes formulações: quitosana (B1); gelatina + CMC (B2); quitosana + gelatina (B3); CMC (B4); gelatina (B5) e controle [água] (B6). Depois os frutos foram armazenados a 12 ± 2 °C, com UR de 80%, por até 40 dias. Amostras foram retiradas a cada 10 dias para as análises físicas, físico-químicas, químicas, bioquímicas, microbiológicas e fisiológicas. Para a análise sensorial do fruto e da água foram retiradas amostras no início e aos 26, 33 e 40 dias de armazenamento. As características físicas, físico-químicas e químicas foram mais influenciadas pelo tempo de armazenamento do que pelos tratamentos de biofilmes. O tempo de armazenamento causou redução do volume e aumento da turbidez da água, redução do pH, dos teores de sólidos solúveis, de glicose, frutose e vitamina C, aumento da acidez total titulável, dos minerais, dos compostos fenólicos, da atividade da peroxidase e fenilalanina amônia-liase, mas não teve efeito sobre os teores de sacarose, de Na e Mn. Os biofilmes e o tempo de armazenamento influenciaram a acidez total titulável, teores de glicose e frutose, teores de N e de compostos fenólicos e a atividade da polifenoloxidase, porém as águas dos tratamentos (B1), (B3) e (B5) apresentaram poucas alterações destas variáveis no decorrer do armazenamento. A presença de coliformes a 45 °C e 35 °C, aeróbios mesófilos, fungos filamentosos e leveduras na água foi menor nos frutos revestidos com (B1) e (B3). A contaminação foi maior na água dos frutos revestidos com (B5) e (B6). No entanto os índices de contaminação da água de todos os tratamentos foram considerados aceitáveis para o consumo. As análises fisiológicas mostraram diferenças entre os biofilmes, sendo a concentração de O₂ maior nas microcâmaras contendo frutos revestidos com quitosana e menor nas do controle. A concentração de CO₂ foi maior nas microcâmaras

contendo frutos do controle. As concentrações de CO₂ e de O₂ diminuíram nas microcâmaras ao final do armazenamento. A concentração de etileno foi muito pequena, abaixo do limite de detecção. A aceitação dos frutos diminuiu com o tempo de armazenamento, assim como a intenção de compra e expectativa em relação à água. Frutos revestidos com (B1), (B3) e (B5) tiveram maior aceitação ao final do tempo de armazenamento. A aceitação e a intenção de compra da água também diminuíram com o período de armazenamento. Frutos revestidos com gelatina não apresentaram boa aceitação da água. A água dos frutos revestidos com quitosana manteve a aceitação de sabor até 40 dias de armazenamento. Entre os biofilmes testados, o de quitosana apresentou o melhor desempenho, contribuindo para a manutenção das características nutricionais e sensoriais da água de coco e proporcionando maior aceitação do consumidor e melhor aparência do fruto por 40 dias de armazenamento, o que permite indicar este revestimento para fins de exportação.

Palavras-chave: *Cocos nucifera* L., variedade Anão Verde, revestimentos biodegradáveis, água de coco, armazenamento, quitosana, gelatina, carboximetilcelulose, contaminação microbiana, enzimas, compostos fenólicos, respiração, qualidade sensorial.

ABSTRACT

BIODEGRADABLE COATINGS FOR THE CONSERVATION OF GREEN COCONUTS (ANÃO VERDE VARIETY)

The green coconut water is extremely perishable after harvest and its quality is directly related to storage ambient conditions. Therefore, technologies to allow the preservation of green coconut by a larger period than thirty days are need so that the fruit can be exported and commercialized maintaining the water in adequate conditions for *in natura* consumption. The present study had the objective of developing biodegradable coatings to prolong the conservation of green coconut, Anão Verde variety, to obtain larger time for its commercialization and consumption of water, without changing its sensorial and nutritional qualities. Coconuts were covered with bio-films made from chitosan, gelatin and carboxymethylcellulose (CMC), using the follow formulations: chitosan (B1); gelatin + CMC (B2); chitosan + gelatin (B3); CMC (B4); gelatin (B5) and control [water] (B6). Then the fruits were stored for up to 40 days at $12^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ and RH of 80%. Samples were removed every 10 days for physical, physicochemical, chemical, biochemical, microbiological and physiological analyses. For the fruit and water sensorial analysis, samples were removed in the beginning and at 26, 33 and 40 days of storage. The physical, physico-chemical and chemical characteristics were more affected by storage time than by the treatments with the bio-films. The storage time promoted the decrease of water volume and the increase of water turbidity, reduction of pH and soluble solid contents, glucose, fructose and vitamin C, increase of the total titratable acidity, minerals contents, phenolic compounds contents and the activity of peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase but had no effect on the sucrose content and on some of minerals, such as Na and Mn. The bio-films and storage time affected the total titratable acidity, glucose, fructose contents, N and phenolic compounds contents and the polyphenoloxidase activity, although the water from the fruits coated with (B1), (B3) and (B5) showed little alteration respect to these variables during the storage time. The presence of coliforms at 45 °C and 35 °C, mesophilic aerobics, filamentous fungi and yeasts in the water was lower on the fruits coated with (B1) and (B3). Contamination was highest in the water of fruits coated with (B5) and (B6). However, all the water contamination indexes were considered to be within the acceptable levels for consumption. The physiological analyses

showed differences among bio-films: the concentration of O₂ was larger inside the microchambers containing fruits coated with chitosan and smaller on that containing fruits of the control. The concentration of CO₂ was larger inside microchamber containing fruits of the control. The concentrations of CO₂ and O₂ inside microchambers decreased at the end of storage time. The ethylene concentration was very small, below the detection limit. The acceptance of the fruits decreased with storage time, as did the purchasing intention and expectation respect to the water. Fruits coated with (B1), (B3) and (B5) showed the greater acceptance at the end of the storage time. The acceptance and the purchasing intention of the water also decreased with storage period. Fruits coated with bio-films of gelatin did not present good acceptance of water. The water of the fruits coated with chitosan maintained the flavor acceptance up to 40 storage days. Among the bio-films tested, the chitosan presented the best performance, contributing to maintain the nutritional and sensorial characteristics of the coconut water and providing larger consumer acceptance and better appearance of the fruit for 40 days of storage, indicating this coconut coating for the exportation ends.

Key-Words: *Cocos nucifera* L., Anão Verde Variety, biodegradable coatings, coconut water, storage, chitosan, gelatin, carboxymethylcellulose, microbial contamination, enzymes, phenolic compounds, respiration, sensory quality.

1. INTRODUÇÃO

A Globalização, o Mercosul e o Plano Real são eventos que estão marcando fortemente a economia brasileira, principalmente nestes quatro últimos anos. O setor agropecuário também vem sofrendo grandes modificações em função desta estabilidade econômica e do mercado globalizado, sendo um dos principais responsáveis pelo pequeno, mas consistente, crescimento econômico que o país tem apresentado nos últimos anos.

A premência da criação de novos empregos e a preservação dos já existentes é objetivo fundamental de qualquer governo ou sociedade nos dias atuais. Na agricultura, o custo de criação de um novo emprego é, em média, seis vezes menor do que na indústria. Também é de amplo conhecimento (isto ocorre no mundo todo) que as pequenas e médias propriedades rurais empregam, por área, bem mais que os grandes empreendimentos. Neste sentido, todos os esforços para viabilizar a pequena ou média propriedade agrícola familiar são bem-vindos.

Recentemente, foi lançado no Rio de Janeiro um novo programa de desenvolvimento, de forma articulada entre o governo do Estado (Secretaria de Estado de Agricultura, Abastecimento, Pesca e Desenvolvimento do Interior/SEAAPI; Secretaria Executiva do Gabinete do Governador/SEGAB e Grupo Executivo do Pólo de Fruticultura do Norte/Noroeste Fluminense/GEF) e os órgãos de pesquisa, extensão e desenvolvimento (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro/PESAGRO; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/EMBRAPA, Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado do Rio de Janeiro/EMATER-RIO; Federação das Indústrias Estado do Rio de Janeiro/FIRJAN e Fundação Norte Fluminense de Desenvolvimento Regional/FUNDENOR) voltado principalmente para pequenas e médias propriedades rurais. Este programa chamado FRUTIFICAR vem promovendo uma verdadeira revolução em municípios do Norte e Noroeste do Estado. Trata-se de uma ação que abrange toda a fruticultura irrigada, da produção à comercialização do produto, gerando renda e emprego no meio rural. A fruticultura irrigada é uma atividade que apresenta excelentes perspectivas econômicas, tendo em vista que nas regiões Norte e Noroeste do Estado as condições climáticas são favoráveis e que o mercado consumidor encontra-se em plena expansão. Nestas regiões, principalmente no município de Quissamã, onde mais de 80% das propriedades são de pequenos e médios

produtores, a cultura do coqueiro anão tem apresentado um crescimento expressivo em área cultivada e com grande parte da produção voltada para o consumo da água ao natural. As perspectivas para a cultura são promissoras, pois há um mercado potencial muito grande a ser explorado com a água de coco verde. Segundo dados da ASBRACOCO (Associação Brasileira de Produtores de Coco), a água de coco verde ofertada não é suficiente para atender a demanda do mercado que em 2000 foi de 64 milhões de litros (LEBER, 2001). A expectativa da ASBRACOCO é atingir 5% do mercado de refrigerantes e isotônicos, ou seja, 500 milhões de litros por ano. Além das novas formas de apresentação do produto no mercado interno, a perspectiva da exportação para atender a demanda por água de coco verde durante o verão europeu desponta como alternativa capaz de garantir a rentabilidade da cultura ao longo de todo o ano. Entretanto, tem-se observado uma grande demanda para uma oferta restrita e desorganizada, devido, principalmente, à ausência de tecnologias na pós-colheita e na comercialização do coco (FRUTISÉRIES 3, 1998 e 2000).

As perdas pós-colheita que restringem a qualidade do coco e conseqüentemente a vida útil da água de coco verde são causadas, de acordo com uma visão mais técnica, por injúrias mecânicas, desordens fisiológicas e problemas fitopatológicos, principalmente deteriorações causadas pelo fungo *Lasiodyplodia theobromae* (Pat.) Griff. e Maubl. (= *Botryodyplodia theobromae* Pat.) (BARNET & HUNTER, 1987). Nos frutos, os sintomas deste fungo aparecem na região do cálice, com a formação de um anel de coloração marrom, que se torna mais escuro com a multiplicação elevada de picnídios. O patógeno, além de necrosar o tecido, provoca rachaduras na casca do fruto, em função da pressão elevada, o que ocasiona a exsudação de albúmen líquido com odor desagradável. Em condições favoráveis de alta umidade, o fungo necessita de 2 a 4 semanas para cobrir toda a superfície do fruto, tornando-o inaceitável para comercialização (VIANA et al., 2002; RESENDE et al., 2001).

A água de coco verde, em função de suas características físico-químicas e bioquímicas, é extremamente perecível. Esta perecibilidade está relacionada às condições em que os frutos ficam expostos durante a comercialização. Assim, temperaturas elevadas, danos mecânicos, manuseio e condições inadequadas de armazenamento aceleram o processo de deterioração da água alterando seu sabor, qualidade nutritiva e reduzindo sua vida útil. Desta forma, torna-se necessário o desenvolvimento de tecnologias que conservem o coco verde por

um período superior a trinta dias para que este possa ser exportado e comercializado em tempo hábil para o consumo da água em condições apropriadas.

Para reduzir as perdas no sistema de produção e nos canais de comercialização, colocando um produto competitivo no mercado, tanto os produtores, quanto os distribuidores e os consumidores necessitam de informações relativas à qualidade e técnicas de conservação e armazenamento do coco verde. Portanto, é de fundamental importância a realização de pesquisas que permitam identificar tecnologias mais indicadas para prolongar a conservação do coco verde e ao mesmo tempo manter a qualidade da água aceitável, para ser consumida ao natural, diretamente do fruto.

Pesquisas sobre revestimentos biodegradáveis, também conhecidos como biofilmes, têm estado em evidência nos últimos anos. Em parte, esse interesse surgiu devido ao impacto causado ao meio ambiente pelo descarte de embalagens plásticas flexíveis, elaboradas com polímeros sintéticos, que embora possuam excelentes propriedades funcionais, apresentam como inconveniente o fato de não serem biodegradáveis e de difícil reciclagem (GONTARD & GUILBERT, 1996). Isto as tornam responsáveis pela geração e acúmulo de resíduos sólidos no meio ambiente, o que nos países em desenvolvimento tem assumido proporções perigosas. As embalagens de biofilmes podem ser uma tecnologia importante a ser empregada na proteção de frutos e produtos alimentícios por sua eficiência e por reduzir o acúmulo de resíduos sólidos no meio ambiente. Os biofilmes não geram resíduos sólidos, pois são facilmente degradados pela ação de microrganismos de ocorrência natural no meio ambiente, podendo se tornar a tecnologia mais viável a ser empregada na conservação de frutos nos próximos anos.

Inúmeras aplicações reais e potenciais para a utilização de biofilmes como embalagens para alimentos estão sendo pesquisadas atualmente. Os efeitos positivos de revestimentos biodegradáveis sobre a extensão da vida útil de frutos e hortaliças têm sido amplamente divulgados. Os revestimentos biodegradáveis desempenham funções de conservação semelhantes aos polímeros sintéticos, atuando como barreira física para trocas bidirecionais de O₂, vapor de água, CO₂ e etileno. Os benefícios proporcionados pela aplicação de revestimentos em frutos intactos e minimamente processados incluem redução no processo de amadurecimento e escurecimento, atrasos no desenvolvimento da coloração, do *flavor* e na perda de firmeza, redução na perda de umidade, no metabolismo e nas reações oxidativas.

A adaptação desta tecnologia para a conservação do coco verde poderá ampliar o tempo disponível para comercialização e possibilitar a exportação do fruto, contribuindo para o aumento do mercado do produto. Além disso, agregará valor e aumentará a competitividade do produto perante concorrentes, como refrigerantes e isotônicos, promovendo a expansão do mercado consumidor, gerando novos empregos e beneficiando vários segmentos da cadeia de produção e comercialização.

Desta forma, o presente trabalho teve o objetivo de adaptar e desenvolver revestimentos biodegradáveis para prolongar a conservação do coco verde, variedade Anão Verde, propiciando maior tempo para a sua comercialização e consumo da água, sem afetar suas qualidades sensoriais e nutritivas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais

O gênero *Cocos* é constituído apenas pela espécie *Cocos nucifera* L., que por sua vez é composta por algumas variedades, entre as quais, as mais importantes do ponto de vista agrônomico, sócio-econômico e agroindustrial, são as variedades Typica (Gigante) e Nana (Anão). Os híbridos atualmente disponíveis para o cultivo são resultantes dos cruzamentos entre essas variedades, entretanto, híbridos selecionados de anão x anão, com dupla finalidade, ou seja, para produção de água de coco e albúmen sólido, podem ser importantes a médio prazo para exploração do coqueiro no Brasil (ARAGÃO et al., 2002).

A variedade Anão provavelmente se originou de uma mutação gênica da variedade Gigante (SANTOS et al., 1996), cujas principais características são a precocidade na produção (2 a 3 anos), a produtividade (150 a 200 frutos/planta/ano) e o porte (10 a 12 metros de altura). Esta variedade tem grande importância em programas de melhoramento da cultura e na produção de híbridos. É composta pelas cultivares Amarelo, Vermelho de Camarões, Vermelho da Malásia e Verde, sendo que a cultivar Anão Verde, é a mais utilizada comercialmente no Brasil para a produção de água de coco verde. Esta cultivar contém maior volume de água na cavidade central do fruto entre 6 e 7 meses, é a preferida dos consumidores de água, pois os mesmos julgam que as cultivares Amarelo e Vermelho são a Anão Verde madura e, portanto, passadas para o consumo de água de coco verde (ARAGÃO et al., 2002).

No Brasil o coqueiro constitui-se numa das mais importantes culturas permanentes, principalmente na Região Nordeste, que tem sido a principal fornecedora de coco verde para o país, com uma produção em torno de 300 mil toneladas por ano. Entretanto, a Região Sudeste, principalmente os Estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro, têm expandido novos plantios de coco de cultivares anões e híbridas, por apresentarem grandes vantagens de localização em relação ao Nordeste. Esta região possui melhores condições de mercado, tais como, maior número de consumidores, maior renda percapta, melhores possibilidades de implantação de indústrias processadoras e, ainda, melhores condições de fornecer o fruto ao consumidor final a um preço menor, em razão das curtas distâncias e da facilidade de escoamento da produção e dos insumos por vias melhores (CUENCA et al., 2002).

Segundo informações do Grupo de Coco do Vale (GCV), em relação à variedade Anão, houve um expressivo crescimento na área plantada nos últimos cinco anos, elevando-a para cerca de 57 mil hectares no país. No Rio de Janeiro, a área de plantio e a produção de coco passaram de 603 ha e 4 milhões de frutos para 6 mil ha e mais de 25 milhões de frutos entre 1990 e 1999, respectivamente (REGO FILHO et al., 1999).

O desempenho da cultura nas diferentes regiões do país tem sido heterogêneo. A expectativa é de que a produtividade dos coqueirais cresça com a conscientização da necessidade de se tratarem os novos plantios como empreendimentos comerciais orientados por tecnologias e técnicos especializados. Há que se considerar também maiores investimentos no plantio da cultivar Anão Verde, que é precoce, mais produtiva, mais indicada para a obtenção de água e que pode ser aproveitada para dupla finalidade, produzindo albúmem para indústria alimentícia ou óleos para diversas finalidades, inclusive, bioenergia.

Dados do ano 2000 indicavam que a produção introduzia 280 milhões de cocos verdes por ano no mercado interno, o que equivalia a 420 mil toneladas. Com a entrada em produção de toda área plantada na época, estimava-se o ingresso no mercado de 1,19 bilhões de frutos por safra, ou seja, 1,8 milhões de toneladas por ano (FRUTISÉRIES 3, 2000). Dados do IBGE (2005) indicam que a área colhida em 2005 foi de 290.515 ha, sendo produzida mais de 2,0 milhões de toneladas, com uma produtividade média de 7.157 kg ha⁻¹. Esta produção resultou em valor superior a 575 milhões de reais, o que representa 0,6% de participação no total do valor da produção agrícola brasileira, sendo a 19ª cultura de maior valor produzida no Brasil. Isto é significativo quando se considera que as culturas que estão a frente são as grandes culturas de exportação do país e, em termos de fruticultura, o valor é somente superado pelas culturas da laranja, banana, uva e mamão.

Diante do aumento da oferta de coco verde no mercado, como resultado ocorreu um significativo recuo nos preços, com as atuais condições de comercialização. É necessário que a pesquisa agropecuária e as lideranças deste setor produtivo busquem alternativas de conservação pós-colheita e mercados novos que absorvam a produção crescente.

2.2 Água de coco verde para consumo ao natural

Mundialmente manifestam-se mudanças no consumo de alimentos em função de aspectos sócio-econômicos, tais como maior sensibilidade em relação a fatores naturais,

ecológicos e dietéticos, substituições de bebidas industrializadas por sucos e frutas naturais, maiores demanda por serviços e “produto-serviço” (fáceis de manipular) e o surgimento de um consumidor hedonista, aberto a novidades. A preocupação com a saúde e a forma física tem-se apoiado também nas bebidas naturais que visam repor as perdas de água, vitaminas e sais minerais sofridas durante grande esforço físico no trabalho, esporte e divertimento. Desta forma existe uma atração dos consumidores por novas apresentações dos produtos e uma tendência à busca de sabores exóticos, naturais, ligados a saúde, tais como a água de coco.

Por ser um produto natural, de fácil absorção pelo organismo e que apresenta altos teores de potássio e baixos de sódio, a água de coco tem sido usada para reposição de eletrólitos, após a prática de atividades que exigem grande esforço físico (CAMPOS et al., 1996; ADEODATO, 1995; MACIEL, et al., 1992; JAYALEKSHMY et al., 1986). Além da alimentação humana, a água de coco tem sido utilizada como meio de cultura para fungos, leveduras e bactérias formadoras de ácidos, e quando alcalinizada, para bactérias intestinais. Também em meios de cultura de tecidos de plantas para o desenvolvimento de meristemas vegetativos e florais e em meios para larvas de moscas-das-frutas (LEITE et al., 2000; TOCCHINI, 1998; LEBER & FARIA, 2004). É capaz de manter a longevidade de células de córneas humanas para transplante e, também, é empregada na obtenção de vacinas e conservação e diluição de sêmen de animais (LAGUNA, 1996).

Como alimento, a água de coco é considerada natural e nutricional, ou seja, ligada à prevenção de doenças e do envelhecimento. Além disso, tem adquirido popularidade no mercado mundial e, no Brasil, seu consumo ao natural tem aumentado nos últimos anos, principalmente no Rio de Janeiro, considerado o maior mercado consumidor (SREBERNICH, 1998).

A forma de consumo natural, no próprio coco, é a mais comum e bastante representativa. Cultura tradicional de regiões litorâneas tem sido introduzida intensamente no interior do país, assim como o consumo da água do coco verde. Desta forma, a água de coco passou a ser comercializada em diferentes modalidades, com vistas ao consumo em regiões distantes da sua produção (LEBER, 2001).

Os principais problemas na conservação da água de coco são o aparecimento de turvação, coloração rosada e alteração de sabor, devido à atividade enzimática e/ou fermentação indesejável, além da incorporação de oxigênio, fenólicos e microrganismos

durante a abertura do fruto. O contato da água com o mesocarpo durante a abertura do fruto, que é rico em compostos fenólicos, promove o arraste de substâncias que atuam como substrato para o escurecimento enzimático. Também são arrastados microrganismos deteriorantes que ficam na superfície do fruto cuja sanitização não foi eficiente. Assim, o manuseio para a extração da água e o tempo decorrido entre a abertura do coco e o seu consumo, pode prejudicar a qualidade do produto final (CURSINO et al., 1996; ROSA & ABREU, 2000). Por isso, a maioria dos consumidores prefere ingerir a água de coco diretamente no fruto e preferencialmente aberto na hora.

O interior do fruto é um ambiente estéril que permite a conservação da água por um período de 15 dias à temperatura ambiente (25-30 °C) sem que ocorram alterações no sabor e valor nutritivo, proporcionando uma apreciável vida útil. Entretanto, após sua extração, a água de coco torna-se uma bebida perecível, devido à sua própria composição e seu pH favorável constitui um meio propício para o desenvolvimento de microrganismo e reações oxidativas.

2.3 Formação e transformações da água de coco durante o desenvolvimento do fruto

O desenvolvimento do coco, desde o início da inflorescência até atingir a completa maturação, pode ser dividido em duas fases: a pré-fertilização e a pós-fertilização. A pré-fertilização (polinização e fecundação da flor feminina) leva de 8 a 28 dias depois da abertura da espata, dependendo da variedade. A pós-fertilização dura cerca de 12 meses e caracteriza-se pelo aumento do tamanho do fruto e pelo acúmulo de água e nutrientes na cavidade central até o sexto mês (RESENDE et al., 2002).

Após a fertilização, os frutos iniciam desenvolvimento em espessura e tamanho, atingindo o peso máximo entre o sexto e sétimo mês de idade, independente da cultivar ser híbrida ou variedade. O peso se mantém estável até o nono mês, quando ocorre uma queda em função da perda de umidade do mesocarpo e casca e da redução no volume de água na cavidade central do fruto (ARAGÃO et al., 2002). A água de coco atinge seu volume máximo no sexto mês (300-600 mL), mantendo esse volume constante durante um ou dois meses e diminuindo, posteriormente, até o final do amadurecimento, quando atinge de 100 a 150mL. Segundo ASSIS et al. (2000), o volume de água em frutos de oito meses apresentou redução de 10% em relação aos frutos de seis e sete meses de idade.

A água de coco começa a se formar, em média, aos 2 meses depois da abertura da inflorescência, quando o fruto atinge aproximadamente 5 cm de comprimento. Segundo SHIVASHANKAR (1991), nesta época observa-se o alargamento do saco embrionário que se transformará em cavidade central nos frutos, a qual fica cheia de líquido até seu total desenvolvimento (TOCCHINI, 1998; WOSIACKI et al., 1996). Tecnicamente a água de coco é definida como o endosperma líquido e corresponde a aproximadamente 25% do peso do coco. Esta solução aquosa é composta por 93% de água, é ligeiramente ácida ($\text{pH} \pm 5,5$), incolor (transparente) a pouco turva, não viscosa e com sabor levemente adocicado, sendo constituída principalmente por minerais e açúcares e, em menores quantidades por substâncias nitrogenadas (aminoácidos) e gorduras, além de vitaminas e auxínicos ou substâncias promotoras do crescimento, que ainda não foram identificadas (MEDINA et al., 1980; MACIEL et al., 1992; CAMPOS et al., 1996; SREBERNICH, 1998).

Suspensos nesta solução aquosa encontram-se os núcleos resultantes das divisões múltiplas, que somente entre o 5º e 7º mês depositam-se nas paredes da cavidade. A partir do 5º mês, o albúmen começa a se formar como uma substância gelatinosa e translúcida, primeiramente na extremidade oposta ao pedúnculo, estendendo-se depois por toda cavidade do fruto. A água desempenha um papel importante na maturação do fruto, pois auxilia na formação do albúmen, que é resultante do acúmulo dos nutrientes e sólidos totais existentes na água. Aos 7-8 meses, o albúmen já se desenvolveu por toda a cavidade central do fruto e a água encontra-se com as características sensoriais e nutritivas ideais para o consumo (MAIA & CASTRO, 1985; MEDINA et al., 1980). Nesta fase encontra-se dissolvida a maioria dos sais minerais, das proteínas e dos açúcares redutores (glicose e frutose). À medida que o fruto amadurece, o volume, o valor nutritivo e, conseqüentemente, a qualidade da água diminuem em detrimento da formação do albúmen sólido (ASSIS et al., 2000, MEDINA et al., 1980). O volume da água diminui em virtude da perda por evaporação e absorção pelo albúmen sólido e há uma redução nos teores de açúcares redutores e aumento dos não-redutores (sacarose) e ácidos graxos, tornando a água de coco verde menos nutritiva e saborosa (ARAGÃO et al., 2002; SHIVASHANKAR, 1991).

2.4 Mudanças da água de coco durante o amadurecimento do fruto

Mudanças na composição da água de coco ocorrem durante todo desenvolvimento do fruto por seu papel na formação do albúmen sólido. Além do grau de maturação do fruto, outros fatores como variedade, região e a época do ano, também influenciam nas características físico-químicas da água. A Tabela 1 apresenta a faixa de variação da composição físico-química da água de coco de frutos do coqueiro ‘Anão Verde’ com sete meses de idade obtida de vários autores.

Comercialmente o volume de água em cada fruto é uma característica importante. Para exportação o fruto deve apresentar entre 350 e 450 mL de água e massa de 1500 a 1700 g (ASSIS et al., 2000). O coco possui uma estrutura muito compacta, sendo que protegendo a água existem três camadas, o endocarpo constituído basicamente de lignina e muito rico em compostos fenólicos, o mesocarpo constituído de fibras de celulose com altas concentrações de taninos e o epicarpo (casca), tornando-o uma embalagem altamente protetora. Assim, a redução acentuada da água ocorre apenas aos nove ou dez meses de idade do fruto, quando diminui o volume em detrimento da formação do albúmen sólido. Contudo não existem relatos sobre a forma exata de como a água diminui na cavidade durante o armazenamento. Sabe-se que a quantidade de água diminui continuamente com o avanço do amadurecimento e à medida que o albúmen sólido se forma (RESENDE et al., 2005).

O volume de água na cavidade do fruto independe do tamanho do coco, mas é possível estabelecer uma relação entre o volume de água e a massa do fruto aos sete ou oito meses de idade, dependendo da região. ASSIS et al. (2000) determinaram um fator de conversão de massa (g) para volume (mL) igual a 0,245. Este fator, quando multiplicado pela massa permite estipular o volume aproximado de água no coco. Entretanto o volume de água é dependente do formato do fruto. Cocos elípticos ou ovais, além da menor quantidade de água na cavidade, têm sua comercialização comprometida pela aparência. O formato redondo ou oblongo em que o diâmetro longitudinal é igual ou pouco maior que o transversal é o preferido em virtude do maior volume de água na cavidade central. O formato elíptico e oval é característico de cocos provenientes de cultivos em áreas com comprovada salinidade, como na orla marítima (FERREIRA NETO et al., 2002). Os mesmos autores salientam ainda que o volume de água do coco é um índice mais confiável que o peso do fruto quando se deseja medir produção ou rendimento da cultura.

Tabela 1. Composição físico-química da água de coco ‘Anão Verde’ com sete meses de idade.

Componente	Quantidade
Volume de água (mL)	300-553
Densidade da água (g por 100 mL)	94,20
Turbidez (%)	81,00
Sólidos solúveis totais (°Brix)	5,27- 6,50
Acidez total (mg ácido málico (por 100 mL)	74-162
pH	4,7 - 5,20
Açúcares totais (g por 100 mL)	4,80-5,70
Açúcares redutores (g por 100 mL)	4,00-4,90
Açúcares não redutores (g por 100 mL)	0,40-1,02
Sacarose (mg por 100 mL)	102-280
Glicose (mg por 100 mL)	2378
Frutose (mg por 100 mL)	2400
Vitamina C (mg por 100 mL)	1,2 - 7,41
Proteína (mg por 100 mL)	18,10 - 19,50
Fósforo (mg por 100 mL)	7,40
Cálcio (mg por 100 mL)	17,10
Sódio (mg por 100 mL)	7,05
Magnésio (mg por 100 mL)	4,77
Manganês (mg por 100 mL)	0,52
Ferro (mg por 100 mL)	0,04
Potássio (mg por 100 mL)	156,86
Lipídios (g por 100 mL)	1,26-3,46
Fenólicos totais (mg catequina por 100 mL)	6,86
Cinzas (g por 100 mL)	0,50
Energia (cal. por 100 mL)	27,51

Fonte: ROSA & ABREU, 2000; CAMPOS et al. (1996); JAYALEKSHMY et al. (1986); SANTOSO et al. (1996).

A turbidez é a falta de transparência de um líquido, devido à presença de sólidos em suspensão. Quanto mais sólidos em suspensão mais turva a água e maior será a turbidez. LEBER (2001) avaliou as alterações da turbidez da água de coco refrigerada e congelada e verificou também o aumento da turbidez ao longo do armazenamento. A água de coco foi se tornando mais turva devido às transformações físico-químicas ocorridas, como agregação de proteínas e também atuação das enzimas sobre os compostos fenólicos (catequinas). CAMPOS et al. (1996) observaram correlação negativa entre as concentrações de proteínas, lipídios, sólidos solúveis, compostos fenólicos (catequinas) e pH com a porcentagem de transmitância da água de coco, que é o inverso da turbidez.

A turbidez pode também ser consequência da cor da água. A presença de cor na água deve-se às substâncias dissolvidas, principalmente íons metálicos. Quando a água é exposta ao ar e muito manipulada (filtragem, resfriamento, etc.) os íons metálicos reagem com compostos fenólicos ou atuam como cofatores para enzimas desenvolvendo a coloração da água. A coloração rósea, que é a mais comum, pode ser atribuída à presença de altas concentrações do íon magnésio. Quando a água é rica em ferro a coloração desenvolvida é arroxeada e em manganês é preta. Mesmo quando submetida a tratamentos com irradiação, ultrafiltração em membranas de 10 kDa, tratamento térmico em temperaturas de 138 e 144 °C, houve desenvolvimento imediato da coloração rósea ou no dia seguinte ao processamento (SOUSA, 2006), o que é um indicativo que não são só enzimas que estão envolvidas nesta reação metabólica. A coloração rósea parece ser suprimida pela adição de ácido ascórbico à água. Em estudos realizados pela FAO (2000) utilizando ultrafiltração da água, foi recomendado o uso de 150 mg L⁻¹ de ácido ascórbico para que esta alteração de cor não ocorra.

Entre os ácidos que determinam a acidez da água, o ácido málico é o de maior concentração na água de coco com sete meses, seguido pelo ácido cítrico, tartárico e acético (SANTOSO et al., 1996). TULECKE et al. (1961) e PINTO (1983) relataram que ácido gálico, chiquímico e quínico também foram detectados na água de coco com 6 meses e 12 meses.

Segundo ASSIS et al. (2000), a água dos frutos de coqueiro ‘Anão Verde’ com sete meses de idade apresentou sólidos solúveis totais (SST) e pH em torno de 6,0 °Brix e 5,0, respectivamente, além de conteúdo de açúcares e sais minerais mais equilibrados. Isto lhe confere sabor mais agradável devido à redução na adstringência. Nos frutos de seis meses, os valores de SST e pH da água foram mais baixos (5,4 °Brix e 4,5, respectivamente), tornando a água mais ácida e adstringente. Geralmente, os teores de sólidos solúveis aumentam gradativamente à medida que o coco amadurece, até um máximo de 6,0 °Brix, por volta dos sete meses, diminuindo em seguida.

Os açúcares predominantes na água de coco até os oito meses de idade são glicose e frutose que representam cerca de 80% dos açúcares totais e a sacarose cerca de 20%. À medida que o fruto amadurece esta proporção é invertida e, com 12 meses a água passa a ter 90% de sacarose e apenas 10% de glicose e frutose (SANTOSO et al., 1996; JAYALEKSHMY et al., 1986). A glicose e frutose são facilmente absorvidas pelo trato

intestinal, enquanto a sacarose é um açúcar de absorção mais lenta, além de fermentar no intestino. Dentre os componentes da água de coco, os açúcares são os mais importantes, não só por desempenharem um papel fundamental durante o amadurecimento do fruto, mas também por serem os principais responsáveis pelas características sensoriais da água. No início do desenvolvimento do fruto, apresentam-se na forma de açúcares redutores (glicose e frutose), cuja concentração alcança 5% entre o sexto e o sétimo mês, momento em que também a quantidade de água é maior. Por isso é o momento mais indicado para a colheita do coco verde para o consumo da água (RESENDE et al., 2002; LEBER, 2001). Com o amadurecimento, a concentração de açúcares redutores diminui até 1%, porém são formados açúcares não redutores (sacarose) e, no final do amadurecimento, o teor de açúcares totais é de aproximadamente 2% (MEDINA et al., 1980).

Na água de coco, as mudanças nos açúcares são mais marcantes em relação a alguns outros constituintes. A queda no conteúdo de açúcares da água é acompanhada por um aumento no acúmulo de ácidos graxos no endosperma sólido durante o amadurecimento, refletindo a intensa atividade bioquímica envolvida. Para o desenvolvimento do endosperma, estes açúcares poderão ser utilizados como precursores para a síntese de ácidos graxos. O significado fisiológico da conversão de açúcares redutores para sacarose durante o amadurecimento não é claramente entendido. A queda no conteúdo de açúcares pode estar diretamente relacionada com a perda de doçura da água durante o amadurecimento, uma vez que a frutose é mais doce que a sacarose (JAYALEKSHMY et al., 1986).

A glicose é o principal constituinte de soluções de reidratação oral, além dos eletrólitos. A água de coco, devido ao seu elevado teor de eletrólitos, ao seu sabor adocicado e refrescante e composição microbiológica próxima do soro glicosado isotônico, é muito usada para fins terapêuticos, tais como repor perdas eletrolíticas (desidratação), aliviar problemas estomacais, combater verminoses, ajudar a manter o equilíbrio sanguíneo e de líquidos no corpo e regular os mecanismos de contração dos músculos, evitando a desidratação e o desgaste físico (ARAGÃO et al., 2001; LEITE et al., 2000). Entretanto, FAGUNDES NETO et al. (2006) constataram que a ingestão água de coco Anão Verde não pode curar a desidratação, pois ao comparar a água de coco com soluções de reidratação oral, observaram que as concentrações de glicose, sódio, potássio, cloreto e a osmolaridade não atendem às

recomendações da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2001) para soluções de reidratação oral.

O Teor de lipídios no 6º e 7º mês é praticamente insignificante. Segundo TAVARES et al. (1998), o conteúdo de lipídios em frutos com 5, 6 e 7 meses de idade varia de 0,3 a 0,6; 1,6 a 2,2 e 1,1 a 2,7 mg por 100g de polpa, respectivamente. Após o 8º mês há um aumento considerável nos teores de gorduras, a água torna-se opaca e o metabolismo intenso faz com que a mesma adquira um sabor “ardido”. Os consumidores europeus preferem a água de frutos com idade entre 5 e 6 meses em função dos baixos teores de lipídios.

A água de coco é rica em minerais independente da idade do fruto, entretanto há pequenas variações no teor com o decorrer do amadurecimento. As concentrações de fósforo, potássio e de sódio na água de coco aumentam com o decorrer do amadurecimento do fruto ao passo que o cálcio e o magnésio diminuem (TAVARES et al., 1998).

O principal mineral na água de coco é o potássio, que corresponde a 2/3 do total de minerais da água. Kuberski et al. citado por SHIVASHANKAR (1991) encontraram valores de 1,7 e 2,0 g L⁻¹ para cocos com 5 e 10 meses de idade, respectivamente, mostrando um aumento do teor durante o amadurecimento. Os mesmos autores ao trabalharem com a variedade Anão de Fiji, encontraram 1,1 e 2,0 g L⁻¹ para plantios localizados em duas áreas diferentes, demonstrando que o teor de potássio na água pode variar em função da disponibilidade do mineral no solo.

Em relação a concentração de sódio, foram encontrados valores variando de 25,3 a 158,7 mg L⁻¹ para coco da variedade Anão e gigante com 5 e 10 meses de idade, respectivamente (SHIVASHANKAR, 1991). Para a variedade Anão com 7 meses, MACIEL et al. (1992) encontraram valores de 38,8 mg L⁻¹.

O teor de cálcio na água de coco diminui ligeiramente com o aumento da idade do coco. Pue et al. e Jayalekshmy et al. citados por SHIVASHANKAR (1991) encontraram, respectivamente, 520 e 480 mg L⁻¹ no 6º mês; e 460 e 400 mg L⁻¹ aos 11 meses. Os autores observaram ainda que a quantidade de cálcio foi maior que a quantidade de sódio em todos os estádios do amadurecimento e não encontraram diferenças significativas no conteúdo de cálcio em amostras de água de coco provenientes de diferentes localidades.

Em geral, o teor da maioria dos nutrientes minerais é afetado pelo estágio de amadurecimento dos frutos. Isto foi constatado por FAGUNDES NETO et al. (2006) na água

de cocos provenientes de região não litorânea do 6º ao 9º mês de idade. ARAGÃO et al. (2001) também verificaram o mesmo na variedade Anão Verde do 5º ao 12º mês de idade, assim como, SANTOSO et al. (1996) do 6º ao 12º mês de idade e JAYALEKSHMY et al. (1986) do 6º ao 12º mês de idade. Os últimos autores não identificaram a variedade estudada.

Segundo JAYALEKSHMY et al. (1986) enquanto o teor de K diminui com o avanço do amadurecimento, o sódio aumenta. O conteúdo de cálcio aumenta e o de fósforo, magnésio, cloreto e ferro diminui e o cobre se mantém constante na água de coco com o amadurecimento do fruto. FAGUNDES NETO et al. (2006) observaram na água de coco proveniente de regiões não litorâneas uma redução na concentração de potássio, cálcio, magnésio e cloreto do sexto ao nono mês de maturação, e ao longo deste período a água mostrou-se viável para o consumo.

Isto se deve ao fato de que os maiores constituintes químicos da água de coco são os açúcares e minerais e os menores são as gorduras e as substâncias nitrogenadas. O sabor agradável da água de coco é atribuído principalmente aos açúcares e minerais embora os constituintes menores (gorduras, aminoácidos livres, ácidos nucléicos e orgânicos e gases dissolvidos) contribuam para o “flavor” geral e sensação na boca. Mudanças nas suas concentrações durante o amadurecimento tornam a água menos suave e pouco apreciada pelo consumidor. Do ponto de vista fisiológico, a água de coco funciona como um reservatório de precursores para o desenvolvimento do endosperma e, como resultado, a quantidade total de nutrientes presentes na água é substancialmente reduzida durante o amadurecimento, exceto aqueles que são lixiviados para dentro da água do endosperma durante o amadurecimento. A água de coco no estado natural é um alimento notável por não apresentar fatores antinutricionais.

DUARTE (2000) encontrou em água de coco verde valores de atividade de polifenoxidase e peroxidase que variaram de 0,5 a 5,0 U mL⁻¹ e de 0,22 a 0,30 U mL⁻¹ respectivamente. Estes valores apresentam-se muito aquém daqueles encontrados por CAMPOS et al. (1996), os quais foram de 32,1 e 114,3 U mL⁻¹ para atividade de polifenoxidase e peroxidase, respectivamente. As enzimas da família das oxidoreduases (peroxidases e polifenoxidase) são largamente encontradas em frutos e vegetais e estão intrinsecamente relacionadas ao escurecimento enzimático, pois oxidam mono, di e polifenóis na presença de oxigênio molecular (GALEAZZI, 1984). Os produtos iniciais da oxidação são quinonas, que rapidamente condensam para produzir polímeros marrons (melaninas)

relativamente insolúveis. Os principais fatores que determinam a taxa de escurecimento enzimático em frutos e vegetais são a concentração de ambos, atividades das oxidoredutases e compostos fenólicos presentes, além do pH, temperatura e disponibilidade de oxigênio no tecido também são importantes (MARTINEZ & WHITAKER, 1995).

Desta forma, a polifenoloxidase e peroxidase, quando em contato com o oxigênio, desencadeiam reações que alteram a cor e as propriedades sensoriais da água de coco. Estas enzimas geralmente são encontradas no endosperma líquido do fruto e há evidências de que suas atividades são maiores em frutos com 5 a 7 meses de idade, decrescendo com o amadurecimento (GALEAZZI, 1984).

Assim, a qualidade e a vida útil da água de coco verde está diretamente relacionada ao ponto de colheita e às técnicas utilizadas para a conservação do fruto pós-colheita. Estas técnicas além de reduzir o metabolismo do fruto, diminuindo a respiração, a atividade enzimática, a degradação dos açúcares, minerais, vitaminas, devem também manter as características sensoriais da água e garantir a qualidade microbiológica do fruto e da água.

2.5 Vitamina C e minerais

Frutos e sucos de frutas são consumidos e apreciados não só pelo seu sabor, mas também por serem fontes de minerais e vitaminas. Os minerais e vitaminas desempenham suas funções no organismo na forma iônica, em solução nos fluidos corporais e, também, como constituintes de compostos vitais. De modo geral, regulam o metabolismo de diversas enzimas, mantêm o equilíbrio ácido-base e a pressão osmótica, facilitam a transferência de compostos essenciais através da membrana, mantêm a excitabilidade muscular e nervosa e, em alguns casos, fazem parte dos elementos constituintes dos tecidos do organismo. A metabolização dos nutrientes energéticos é comprometida pela deficiência de vitaminas e minerais (OMS, 1998, 1997; TOLONEN, 1990; SILVA & WILLIAMS, 1993).

Para o pleno desenvolvimento e adequado funcionamento, o organismo humano necessita de mais de 50 nutrientes que não podem ser sintetizados pelo corpo. São os minerais, vitaminas, fibras, água, fitocompostos, aminoácidos, ácidos graxos e açúcares. Os elementos minerais reconhecidos como essenciais são comumente divididos entre macroelementos (cálcio, fósforo, potássio, sódio, cloro, magnésio, enxofre) e microelementos (ferro, cobre, cobalto, manganês, zinco, iodo, flúor, molibdênio, selênio, cromo, silício), de acordo com as

quantidades maiores ou menores em que são encontrados no organismo humano. A importância de sua inclusão na dieta tem sido amplamente discutida (SOARES et al., 2004). A ingestão diária recomendada de algumas vitaminas e minerais encontra-se na Tabela 2.

2.5.1 Importância da vitamina C para o organismo humano

As vitaminas são um grupo heterogêneo de substâncias constituintes dos alimentos, essenciais ao metabolismo e à nutrição humana e eficientes em quantidades mínimas. A atividade de uma vitamina é medida pela remissão de uma lesão provocada pela ausência desta no metabolismo. Assim, para a Vitamina C, a atividade vitamínica é medida em termos de ação antiescorbuto e a dose diária média necessária para prevenção do escorbuto é de 46 mg (ARONSON, 2001). No Brasil, a ingestão diária recomendada (IDR) é de 60 mg (BRASIL, 1998) e nos Estados Unidos é de 75-90 mg (Tabela 2). Sua determinação em frutos e hortaliças é importante pela relação entre a ingestão desta na dieta e a saúde humana (GÖKMEN et al., 2000). Recentemente a Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine (IOM) dos Estados Unidos alterou a ingestão diária recomendada (IDR) de muitos nutrientes e estabeleceu novos valores para a vitamina C (IOM, 2001; MURPHY, 2002). Atualmente os valores de IDR são de 90 e 75 mg dia⁻¹, para homens e mulheres adultos, respectivamente (IOM, 2001 e 2000a; GEBHARDT & THOMAS, 2002). Uma dieta saudável inclui o consumo de frutos e hortaliças frescos os quais fornecem mais de 90% da vitamina C necessária ao organismo (LEE & KADER, 2000).

2.5.2 Teores de vitamina C nos frutos

Segundo LEONG & SHUI (2002), em um estudo sobre a capacidade antioxidante dos frutos, constataram que a água de coco apresenta baixos teores de vitamina C (0,7 mg por 100g), contribuindo apenas com 6,1 % da capacidade antioxidante total de ERO da água de coco. A capacidade antioxidante da água de coco foi considerada baixa (11,5 mg por 100g) quando comparada com morango (472 mg por 100g), uva (264 mg por 100g), goiaba (270 mg por 100g) e papaya solo (141 mg por 100g). WANG et al. (1996) sugeriram que a contribuição da vitamina C para capacidade de oxidação das ERO é usualmente menor do que 15%. Entretanto, LEONG & SHUI (2002) encontraram frutos com alta contribuição e citam que esta contribuição pode diferir muito de um fruto para outro em função da presença de outras

substâncias antioxidantes presentes, como compostos polifenólicos e carotenóides. Isto justifica o fato de frutos com alta capacidade antioxidante apresentarem uma baixa porcentagem de contribuição da vitamina C para oxidação das ERO.

Tabela 2. Ingestão diária recomendada de algumas vitaminas e minerais.

Nutrientes	IDR (mg dia⁻¹)
Acido ascórbico	75-90
Vitamina A ($\mu\text{g dia}^{-1}$)	700-900
Fósforo	700
Potássio	4700
Cálcio	1000
Magnésio	320-420
Sódio	1500
Ferro	18,8
Manganês	1,8-2,3
Zinco	8,11
Cobre	0,90
Boro	ND

Fonte: US Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine-IOM (2000a,b, 2001 e 2004), National Academy of Science. Valores para homens e mulheres adultos, idade 19-50 anos.

ND: não determinado.

A vitamina C é a mais importante para a nutrição humana, sendo suplementada por frutos e hortaliças. O ácido L-ascórbico (AA) é a principal forma biologicamente ativa da vitamina C. É oxidado de forma reversível para ácido L-dehidroascórbico (DHA), que também exibe atividade biológica. Oxidação adicional gera ácido dicetogulônico, que não tem função biológica (DAVEY et al., 2000; DEUTSCH, 1998; HERNANDEZ et al., 2006). Uma vez que o DHA pode ser facilmente convertido em AA no corpo humano é importante medir ambos para conhecer a atividade de vitamina C (LEE & KADER, 2000).

Em frutos e hortaliças o processamento, exposição dos tecidos ao oxigênio, luz, altas temperaturas e enzimas afetam os teores de ácido ascórbico; assim, seus teores têm sido usados frequentemente como indicativo da qualidade nutricional e conservação de frutos e hortaliças (ASHOOR et al., 1984). Mesmo interações com outras substâncias presentes podem causar diminuição ou destruição da vitamina C como, por exemplo, a lumiflavina, produto da degradação da riboflavina (vitamina B2) (CHEFTEL & CHEFTEL, 1992), ou presença de aminas. Isto porque reações de escurecimento ocorrem também com ácido ascórbico de forma

semelhante às que ocorrem com a glicose e outros açúcares. O produto destas reações também causa ressecamento e alterações na cor dos frutos e sucos de frutas (PISCHETSRIEDER, 1996).

Além disso, os níveis de ácido ascórbico em frutos são influenciados pela disponibilidade de luz para a cultura e para o fruto individualmente (NAGY & WARDOWSKI, 1988). Isto pode ter causado a variabilidade inicial dos teores de vitamina C nos frutos, embora outros fatores possivelmente também estejam envolvidos. Segundo os mesmos autores, dias longos e alta intensidade de luz podem aumentar a concentração de glicose, precursor do ácido ascórbico em frutos. Excesso de nitrogênio ou fósforo no solo tende a reduzir o conteúdo de ácido ascórbico no fruto, enquanto o excesso de potássio aumenta (NAGY & WARDOWSKI, 1988). Dentro de uma mesma espécie o conteúdo de ácido ascórbico pode ser de 2 a 3 vezes mais alto em função das diferentes cultivares (MOZAFAR, 1994).

Em frutos é importante entender a evolução da produção e perdas de vitamina C durante o desenvolvimento, maturação e senescência, principalmente durante o armazenamento. Estas informações podem determinar o ponto de colheita ideal para se obter maior teor de vitamina C, meios para melhorar sua produção e diminuir as perdas (YAHIA et al., 2001). Uma determinação específica e acurada do conteúdo de nutrientes nos frutos também é importante para avaliar a necessidade de ingestão desta vitamina e seus benefícios a saúde (HERNANDEZ et al., 2006).

Nesse sentido a vitamina C é um importante fator de qualidade e deverá se mantida em níveis apropriados, embora tenha tendência a decrescer durante o armazenamento e processamento de frutos e hortaliças. Em várias cultivares de maçãs e peras armazenadas em atmosfera controlada e atmosfera modificada os teores de vitamina C decresceram (VELTMAN et al., 1999). As peras desenvolveram uma desordem fisiológica conhecida como coração negro, quando os níveis de ácido ascórbico se reduziram abaixo de certo limite (VELTMAN et al., 1999). Este limite depende da cultivar, época da colheita e localização do plantio, sendo que nas cultivares 'Conference' e 'Rocha', variaram entre 2 e 6 mg por 100g mf. As perdas de vitamina C de ambas as cultivares excedeu a 50% dos valores iniciais (VELTMAN et al., 2000).

Com a expansão da produção e evolução do mercado, informações nutricionais são necessárias para o consumidor comprar água de coco. Também dados confiáveis sobre a composição de minerais e vitaminas são necessários para avaliar dietas nutricionais adequadas, e para conduzir pesquisas epidemiológicas acerca de dietas saudáveis. O grande consumo de frutos e hortaliças está associado com a redução no risco de doenças, sendo que em 2005 o Dietary Guide-lines Advisory Committee recomendou na dieta um aumento na quantidade ingerida de vitamina C, A e E, Ca, Mg, K e fibra, o que poderá aumentar o consumo de frutos e hortaliças para 5 a 13 vezes por dia (USDA/HHS, 2004).

2.5.3 Composição mineral durante o desenvolvimento e armazenamento de frutos

Embora exista uma vasta quantidade de dados sobre os teores de vários minerais em frutos maduros e sucos de frutas, existem poucas informações sobre as variações na composição mineral durante o desenvolvimento e armazenamento do fruto (SELVARAJ et al., 1982.) A dinâmica da composição mineral de frutos é uma área de particular importância, pois íons inorgânicos estão envolvidos em vários processos associados ao crescimento e desenvolvimento e, em particular, no amadurecimento, na senescência e em desordens fisiológicas (MONRO & LEE, 1987).

Quanto ao amadurecimento, os minerais podem participar na mudança de textura (MARSCHNER, 1995), de acidez (PERUZZO, 1990), na produção de etileno (RIGNEY & WILLS, 1981), na estabilização de membranas (MORRÉ & BACKER, 1976) e na pigmentação (GOLDSHMIT, 1980). O decréscimo na concentração de cálcio no fruto parece uma etapa essencial na regulação do amadurecimento (CAMPOSTRINI et al., 2005). Há evidências de que o cálcio possui um papel direto sobre o amaciamento do fruto, por meio de seu efeito estabilizador na matriz de pectinas da parede celular atuando na manutenção da estrutura celular (MARSCHNER, 1995). POOVAIAH (1986) sugeriu que o cálcio aumenta o teor de ácido ascórbico, pois, o mesmo atua na manutenção da compartimentalização celular, dificultando a translocação interna de substrato. Assim, a glicose 6-fosfato dirigida à respiração seria desviada para a formação de vitamina C, aumentando seu conteúdo até que o efeito de compartimentalização se anule com a degradação da parede celular, permitindo a oxidação do ácido ascórbico. O potássio, além da função de balanceamento do pH do suco, pode ser importante na manutenção do potencial osmótico vacuolar durante a maturação

(ILAND & COOMBE, 1988). O nitrogênio em altas concentrações pode ter efeito adverso sobre a coloração do fruto durante a maturação (GOLDSHMIDT, 1980).

A conservação pós-colheita também pode ser influenciada pela composição mineral. Em maçã, por exemplo, a deficiência de cálcio no fruto pode ocasionar diversos tipos de desordens fisiológicas durante o armazenamento. Sabe-se que o magnésio e potássio em altas concentrações geralmente agravam os problemas causados pela deficiência de cálcio. O fósforo, quando em baixos teores nos tecidos do fruto, pode levar a um aumento no risco de deterioração promovida pela baixa temperatura e, normalmente, está associado à redução na firmeza. O nitrogênio em excesso pode reduzir a firmeza do fruto e aumentar a susceptibilidade a podridões (SAMS, 1999).

2.5.4 A nutrição da planta e a composição mineral nos frutos

O conteúdo de minerais nutrientes nos frutos é um dos fatores mais importantes na determinação de sua qualidade nutricional, pois sua principal via de entrada no organismo humano é por meio dos alimentos (TANNENBAUM et al., 1993). Entretanto, a composição mineral nos frutos depende grandemente do estado nutricional da planta.

A assimilação dos minerais nos tecidos das plantas depende de suas solubilidades em água e da facilidade de atravessarem as membranas celulares nas raízes (SOARES et al., 2005). A disponibilidade dos minerais para a planta absorver depende das características do solo, por exemplo, acidez, alcalinidade, intensidade de intempérie, teor e tipo de argila, compactação e aeração (SALOMÃO et al., 2004). Em geral, solos muito lixiviados das regiões quentes e úmidas têm menores quantidades de minerais nutrientes que os das regiões frias e secas (TAKAHASHI, 1987).

Segundo SOUZA et al. (1997), o cloro é muito exigido por plantas da família *Areaceae*, sendo que sua importância está relacionada não apenas ao crescimento da planta, mas também à quantidade e qualidade dos frutos. É absorvido na forma iônica, tem funções na fotossíntese e na abertura de estômatos e pressão osmótica

As concentrações elevadas de zinco, cálcio, nitrogênio, fósforo e potássio no solo podem se refletir na planta (FOLONI et al., 2006; TAKAHASHI, 1987). Entretanto, foi observado por FOLONI et al. (2006) que a maior absorção de nitrogênio, fósforo e potássio pela planta nem sempre resulta em teores mais elevados nos frutos. O genótipo e o estágio de

maturação afetam a absorção de determinados minerais do solo. Os minerais no solo competem entre si no processo de absorção pela planta. Alta concentração de cálcio no solo reduz a absorção de outros cátions, enquanto a de fósforo pode diminuir a absorção de zinco (AVILA et al., 2006). Segundo SILVA et al. (2006) altas concentrações de cloreto na solução do solo prejudicam a absorção do N, por inibição competitiva entre ânions de cloreto e nitrato.

TEIXEIRA et al. (2005) constataram que a adubação não influencia nas concentrações de Ca e Mg da água de coco da variedade Anão Verde e que a redução no teor de magnésio foi atribuída à acidificação do solo determinada pela adubação nitrogenada, que diminuiu a disponibilidade deste nutriente.

A composição nutricional de uma espécie de fruto na colheita poderá variar extremamente dependendo da cultivar, do clima e do tipo e fertilidade do solo (LEE & KADER, 2000; WALL, 2006a). A composição mineral de frutos pode refletir traços dos minerais contidos nos solos em uma determinada região geográfica (FORSTER et al., 2002) e variar com as práticas agrícolas de adubação. O excesso de adubações com nitrogênio ou fósforo tende a diminuir o conteúdo de ácido ascórbico no fruto enquanto o excesso de potássio poderá aumentar o conteúdo de vitamina C (WALL, 2006 b).

WALL (2006 a, b) verificou que o teor de um mesmo mineral varia significativamente de uma região para outra dentro da mesma cultivar. As variabilidades nas análises minerais dos tecidos de frutos refletem mais diferenças nos padrões de fertilização do que diferenças inerentes ao tipo solo. Os resultados de alguns minerais (P, Ca, K, Mg) podem ser influenciados pela aplicação de nutrientes no solo mais do que outros (Fe, Mn, Zn).

Tanto os macro como os micro nutrientes vegetais são considerados importantes em relação à incidência ou severidade das doenças porque, além dos efeitos diretos sobre o crescimento e a produtividade, influenciam aspectos nutricionais, bioquímicos, fisiológicos e anatômicos das plantas (MARSCHNER, 1995). Esses elementos minerais participam de diversos eventos responsáveis pelos mecanismos de defesa como cofatores, ativadores, inibidores e moduladores de várias reações do metabolismo primário e secundário dos vegetais (ZAMBOLIM & VENTURA, 1993; MARSCHNER, 1995). Além disso, alguns deles são considerados indutores de resistência, como é o caso de certos metais pesados (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

O Manganês, pela sua importância fisiológica, bioquímica e nutricional, tem sido frequentemente associado com as alterações verificadas na resistência ou tolerância das plantas a certas doenças. O papel do Mn na indução de resistência às doenças está relacionado a vários mecanismos (GRAHAM & WEBB, 1991): i) aumento da síntese de lignina; ii) envolvimento nas rotas de biossíntese de fenóis solúveis e lignina; iii) inibição da indução de aminopeptidases promovida pelo patógeno, para a produção de aminoácidos necessários ao seu crescimento; iv) inibição de exoenzimas, como a pectinametilesterase, produzida por certos fungos para a degradação das paredes celulares do hospedeiro; e v) inibição direta do crescimento do fungo pelo aumento da concentração de Mn^{2+} , chegando a níveis tóxicos para o patógeno. Além desses aspectos, RÖMHELD & MARSCHNER (1991) destacaram a participação do manganês como ativador de enzimas importantes, como a desoxi-D-arabinoheptulose-7-fosfato-sintase (DS), da rota do ácido xiquímico, e a sintetase do caurenol, da via dos isoprenóides, assim como, constituinte da sintetase do fito-heno, outra enzima da rota isoprenóide. A Mn-superóxido dismutase (Mn-SOD), embora não participe da rota de biossíntese dos compostos fenólicos, também é ativada pelo manganês, participando como grupo prostético dessa enzima. De acordo com BOWLER et al. (1992), a Mn-SOD também deve estar envolvida no mecanismo de defesa contra patógenos, devido à, entre outros aspectos, provável participação dos radicais superóxidos e do peróxido de hidrogênio nas reações de hipersensibilidade da célula hospedeira.

Assim, a nutrição das plantas influencia muito a composição mineral dos frutos e, conseqüentemente, suas reações bioquímicas. A composição mineral dos frutos contribui com quantidades significantes de minerais para a dieta humana, sendo de suma importância para o funcionamento normal das células, ativação de enzimas, formação de ossos, composição da hemoglobina, expressão de genes, metabolismo de aminoácidos, lipídios, proteínas e carboidratos.

WALL (2006a) estudando a composição mineral de frutos tropicais e subtropicais constatou que banana prata anã é boa fonte de K, Mg, Cu e Mn e o mamão papaya de Mg e Cu. Uma porção de 100 g de papaya contém 6-8% da ingestão diária recomendada (IDR) de magnésio e 9% da de Cu, mas menos de 3% da IDR de outros minerais (Tabela 2). WALL (2006b) também verificou que frutos subtropicais, como lichia e longan, e tropical, como rambutan, são boas fontes de minerais na dieta. O consumo diário de lichia (100g) fornece de

2-4% da IDR de seis minerais (P, K, Mg, Fe, Zn e Mn) e 22% da IDR para Cu. Longan é rico em K (324,9 mg por 100 g) e Cu (0,26 mg por 100 g) e fornece em média 3-5% da IDR de P, Mg, Fe, Mn e Zn. Os frutos de Rambutan, são boas fontes de Cu e Mn e também podem fornecer de 2-6% da IDR de 5 minerais (P, K, Mg, Fe, Zn).

Na água de coco a quantidade de N total aumenta progressivamente com o amadurecimento do fruto. Geralmente são derivados, em parte, de aminoácidos, ácidos nucléicos e alguns fatores estimulantes do crescimento. A maior contribuição é dos aminoácidos livres. Com 7 a 8 meses de idade as proteínas correspondem a 25,9 % do N total da água de coco e estas proteínas foram reportadas com um perfil de aminoácidos relativamente favoráveis e com valor nutritivo razoavelmente alto, sendo o perfil dominado pelo ácido glutâmico, ácido aspártico e alanina (JAYALEKSHMY et al., 1986; SANTOSO et al., 1996).

2.6 Compostos fenólicos

Os fenólicos representam um dos mais abundantes grupos de compostos encontrados na natureza e são de particular interesse na fisiologia pós-colheita em virtude de seus papéis no desenvolvimento da cor, do sabor e aroma dos frutos e na dieta humana por suas propriedades antioxidantes. Sua síntese depende da incidência de luminosidade, especialmente raios ultravioleta B, pois a formação dos flavonóides é estimulada pela luz. Consequentemente, plantas cultivadas em estufas, onde os raios ultravioletas são bloqueados, têm conteúdo de flavonóides reduzido. Frutos e hortaliças que crescem em países com alta incidência luminosa, como Espanha, são apontados serem mais coloridos e saborosos, possuindo 4 a 5 vezes mais flavonóides que os que crescem em países de baixa incidência luminosa, como no Reino Unido. (AHERNE & O'BRIEN, 2002; BURNS et al., 2001; SELLAPPAN et al., 2002).

Os frutos e hortaliças, em geral, contêm numerosos compostos fenólicos que possuem significativa capacidade antioxidante, sendo por esse motivo, associados à baixa incidência de câncer e aos mecanismos de resistência a várias doenças degenerativas. De acordo com HALLIWELL (2000) “Antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo”.

O grande interesse no estudo dos antioxidantes é devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito deletérios dos radicais livres no organismo. A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo humano e, assim, os radicais livres (hidroxila – o mais deletério, superóxido, peroxila, alcoxila, oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio, ácido hipocloroso, óxido nítrico, óxido nitroso, ácido nitroso, nitritos, nitratos e peroxinitritos) são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica.

Esses radicais livres, cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio, são denominados espécies reativas de oxigênio (ERO) ou espécies reativas de nitrogênio (ERN) (VISIOLI et al., 2000; FINKEL & HOLBROOK, 2000; HALLIWELL, 2000; PIETTA, 2000). Seu excesso causa efeitos prejudiciais, tais como a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA (HUSAIN et al., 1987). Dessa forma, encontram-se relacionados com várias patologias, tais como artrite, choque hemorrágico, doenças do coração, catarata, disfunções cognitivas, câncer e AIDS, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (HALLIWELL, 2006; HALLIWELL et al., 1992).

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou por aqueles provenientes da dieta, como o α -tocoferol (vitamina-E), β -caroteno (pro-vitamina-A), ácido ascórbico (vitamina-C) e compostos fenólicos, onde se destacam os flavonóides e poliflavonóides (PROTEGGENTE et al., 2002; PIETTA, 2000; HALLIWELL et al., 1995). Estudos recentes têm demonstrado que a maioria da atividade oxidante de frutos e hortaliças é originária de flavonóides e outros compostos fenólicos (AWAD & JAGER, 2003; REYES et al., 2006; LEJA et al., 2003; GARCÍA-ALONSO et al., 2004; QI DAÍ et al., 2006; DEL CARO et al., 2004).

Nas plantas, os compostos fenólicos estão distribuídos em dois grandes grupos, os flavonóides e não flavonóides (ácidos fenólicos). Os flavonóides são compostos polifenólicos que apresentam estrutura química de 15 átomos de carbono, distribuídos em 2 anéis de benzeno (anéis A e B) ligados por um grupo pirano (anel C), cuja estrutura é C₆-C₃-C₆. Flavonóis (quercetina, campferol e miricetina); flavanóis ou flavan-3-óis (catequina, epigallocatequina, procianidinas e os taninos) e antocianinas (cianidina, peonidina, delphinidina, malvidina e petunidina) estão incluídas neste grupo (Figura 1), e tem demonstrado atividade

antioxidante, que depende principalmente do número e posição dos grupos hidroxilas dentro da estrutura (GARCÍA-ALONSO et al., 2004; MAMEDE & PASTORE, 2004).

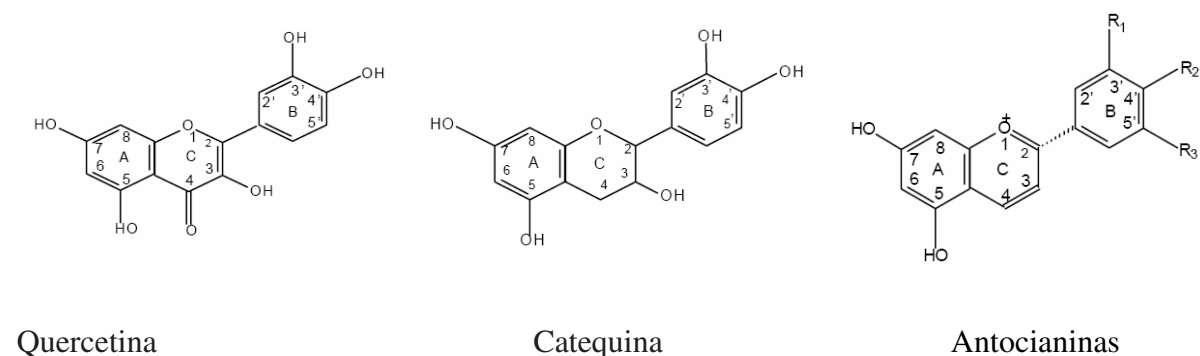


Figura 1. Moléculas do flavonol quercetina, do flavanol catequina e de antocianinas.

Segundo DU TIOT et al. (2001), os flavonóides possuem estrutura ideal para o seqüestro de radicais livres e têm de 2 a 5 vezes mais atividades antioxidante do que as vitaminas C, A e E. A atividade antioxidante dos flavonóides depende da sua estrutura e pode ser determinada por cinco fatores: reatividade como agente doador de H^+ e elétrons, estabilidade do radical flavanoil formado, reatividade frente a outros antioxidantes, capacidade de quelar metais de transição e solubilidade e interação com as membranas (BARREIROS et al., 2006).

Os fenóis em geral são altamente sensíveis à oxidação enzimática e não-enzimática (HRAZDINA et al., 1970). Para que as propriedades desses compostos sejam asseguradas, os frutos e hortaliças devem estar livres de lesões e os produtos pré-processados e processados devem ser armazenados ao abrigo da luz.

Na classe dos ácidos fenólicos (não-flavonóides) estão os derivados dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico (Figura 2), freqüentemente na forma de ésteres de ácido tartárico (BARANOWSKI & NAGEL, 1981). Os fenóis ácidos encontram-se distribuídos na casca e na polpa da maioria dos frutos, mas principalmente nas uvas, e seus teores diminuem com o amadurecimento (MACHEIX et al., 1991; PENNA et al., 2001).

Os ácidos derivados do ácido benzóico sofrem substituições nas posições *meta* e *para*, dando origem, por exemplo, ao ácido gálico. O ácido hidroxicinâmico e seus derivados como *p*-cumárico, caféico, ferrúlico e sinápico são originados do metabolismo da fenilalanina

ou tirosina (RICE-EVANS et al., 1996). Geralmente esses ácidos encontram-se esterificados, assim como o ácido caftárico (ésteres de ácido tartárico com ácidos caféico e *p*-cumárico).



Figura 2. Moléculas de ácidos fenólicos (hidroxicinâmico e hidroxibenzóico).

A atividade antioxidante dos não-flavonóides está relacionada com a posição dos grupos hidroxilas e também com a proximidade do grupo -CO₂H com o grupo fenil. Quanto mais próximo esse grupo estiver do grupo fenil maior será a capacidade antioxidante do grupo hidroxila na posição *meta*. Em geral, a atividade antioxidante dos derivados dos ácidos hidrocinnâmicos é maior do que a dos ácidos hidrobenzóicos. A presença do grupo -CH=CH-COOH na estrutura do ácido cinnâmico aumenta sua capacidade de estabilizar radicais livres (RICE-EVANS et al., 1996).

Os fenólicos são usualmente divididos com base no número de anéis aromáticos (fenólicos), presentes. Os mais simples são os monoméricos (monocíclicos) como os fenóis, o catecol, a hidroquinona e o ácido *p*-OH-cinnâmico. Os dicíclicos são conhecidos por oligoméricos, tais como os flavonóides que têm 2 anéis fenólicos, enquanto que os remanescentes são policíclicos ou polifenóis (LISADA, 1993). De acordo com sua estrutura química e concentração, contribuem para as características de acidez, amargor, coloração e adstringência de frutos e hortaliças (BEERTH et al., 1976). KAYS (1991) sugeriu que apenas as formas oligoméricas são adstringentes. A falta desta característica é uma das principais mudanças que ocorre durante o amadurecimento de frutos, sendo esta propriedade relacionada com o teor de taninos. As moléculas de taninos condensados são constituídas por oligômeros ou polímeros baseados em unidades monoméricas do tipo flavonóide (LAKS, 1991). Dos vários tipos de monoflavonóides que ocorrem na natureza, apenas os flavan-3-óis e os flavan-

3,4-dióis participam na formação dos taninos, já que são os únicos com capacidade de sofrerem reações de polimerização, constituindo-se, assim, os precursores dos taninos condensados (PIZZI, 1992).

HERTOG et al. (1993) e QI DAÍ et al. (2006) têm estimado a ingestão média potencialmente saudável de flavonóides e flavonas como 23 mg dia⁻¹ (expresso como agliconas). Entretanto, afirmam que é praticamente impossível medir a ingestão total de polifenólicos por pessoa e citam o chá, vinho, cacau, uva, maçã, caqui, cebola e sucos de frutas, extraídos sob pressão mecânica e com alta concentração de casca e polpa, como os maiores contribuintes destes compostos na dieta. Contudo, ainda não estão disponíveis dados sobre a quantidade ingerida de outros flavonóides, tais como as catequinas e ácidos fenólicos.

Os flavonóides nos frutos estão localizados principalmente na casca e no córtex e juntamente com os fenólicos determinam características de qualidade para a coloração, aroma e sabor, tais como acidez, amargor e adstringência (AWAD & DE JAGER, 2000; LEJA et al., 2003). Os flavonóides podem ser polimerizados para formas dímeras, oligoméricas e poliméricas para formar os taninos condensados ou proantocianidinas, que são responsáveis pela sensação de adstringência e amargor em vários frutos e hortaliças (BIBI et al., 2007; GARCÍA-ALONSO et al., 2004). Os taninos são capazes de formar complexos razoavelmente fortes com proteínas e outros polímeros, sob condições específicas de concentração e pH. A combinação dos compostos tânicos com as proteínas da saliva produz sensação de secura na mucosa, seguida de contração da membrana, conhecida como adstringência (CLAUDINE et al., 2004; SHAHIDI & NACZK, 2005). Concentrações elevadas destes compostos podem comprometer o sabor e a palatabilidade de frutos destinados ao consumo ao natural e à produção de sucos.

A concentração de flavonóides e ácido clorogênico geralmente decrescem durante o desenvolvimento do fruto e são mais ou menos estáveis durante a maturação e amadurecimento (AWAD et al., 2001). Contudo, as mudanças nos fenólicos durante o armazenamento e vida útil, assim como, os substratos utilizados pelas enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PFO) são variáveis nas diferentes espécies de frutos. Segundo GOLDING et al. (2001), em maçãs os flavonóides são estáveis logo após a colheita, mas ocorrem diferenças significativas no decorrer do armazenamento, sendo que o metabolismo dos fenólicos presentes na casca é relativamente estável e seus benefícios à saúde são

mantidos por longos períodos de armazenamento. Porém, ZHANG et al. (2000) relatou que em lichia os monômeros e dímeros dos flavanóis, além da cianidina 3-glicosídeo, foram os que mais declinaram com o armazenamento ou escurecimento, sendo estes fenólicos, aparentemente, os maiores substratos para oxidação enzimática. De acordo com VAN BUREN (1970), os maiores substratos naturais encontrados para enzimas oxidativas são os estéres de ácido hidrocínâmico e flavanóis monoméricos e dímeros e não os glicosídeos de quercetina. Também, em células intactas, os compostos fenólicos estão localizados nos vacúolos, em cloroplastos e mitocôndrias e, assim, protegidos das enzimas PFO e POD por barreiras físicas. Condições e duração do armazenamento parecem não ser importantes para retenção de ácido clorogênico e flavonóides em maçãs (AWAD & DE JAGER, 2000).

Na maioria dos frutos a biossíntese de diferentes tipos de antocianinas e outros flavonóides continuam após a colheita e durante o armazenamento a baixas temperaturas e em condições escuras, como relatado para mirtilo, pomelo e morango (KALT & McDONALD, 1996; HOLCROFT et al., 1998; TOMAS-BARBERAN et al., 2000). O aumento na concentração de CO₂ ao redor do fruto inibiu o aumento pós-colheita de antocianina, afetando a biossíntese, degradação ou ambos (HOLCROFT & KADER, 1999). Em morangos a concentração de outros fenólicos como ácido egálico, catequina, quercetina e derivados do campferol também aumentaram durante o armazenamento, mas não foram afetados pela concentração de CO₂ na atmosfera (HOLCROFT et al., 1998). TOMAS-BARBERAN et al. (2000) observaram um aumento na concentração de antocianinas em nectarinas, cerejas, uvas e morangos durante o armazenamento, embora os flavonóides e derivados do ácido hidroxicinâmico tenham permanecido constantes, exceto para o resveratrol em uvas e ácido elágico em morangos, que aumentaram.

Os frutos que apresentam coloração vermelha a arroxeada são as fontes mais importantes de compostos fenólicos em dietas alimentares. Especialmente os compostos derivados do ácido hidroxibenzóico e do ácido hidroxicinâmico (antocianinas, flavanóis, catequinas e taninos hidrolisados ou condensados) estão freqüentemente presentes. Muitos destes compostos apresentam uma grande gama de efeitos biológicos, incluindo ações antioxidantes, antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora. Estes compostos fenólicos apresentam diversas funções de defesa nas plantas contra agentes do meio ambiente (luz, temperatura e umidade) e, também, contra fatores internos, incluindo modificações genéticas,

deficiência ou excesso de nutrientes, e contribuindo para a síntese de hormônios. (AHERNE & O'BRIEN, 2002; BURNS et al., 2001; KÄHKÖNEN et al., 2001; SELLAPAN et al., 2002; SLUIS et al., 2001; ZHENG & WANG, 2001). Assim, os processos de oxidação dos compostos fenólicos são uma das principais causas da redução da vida útil de frutos e hortaliças, bem como de produtos alimentícios. Portanto, o conhecimento e compreensão dos mecanismos de reação e de suas formas de controle são de suma importância econômica.

2.7 Enzimas

Várias enzimas presentes em frutos e hortaliças foram relatadas como causadoras de alterações durante o armazenamento. Alguns exemplos são lipases, álcool desidrogenase, peroxidase, fosfolipase D, polifenoloxidase, superóxido dismutase, lipoxigenase, protease, xantina-oxidase e fenilalanina amônia-liase (CHURCHILL & SCOTT, 1986).

Entre essas, a peroxidase, polifenoloxidase e a fenilalanina amônia-liase são amplamente detectadas em muitos frutos e hortaliças e estão intimamente relacionadas com mudanças na cor, com conseqüente perda das propriedades sensoriais e qualidade nutricional (DUARTE et al., 2002).

A velocidade das reações enzimáticas em frutos e hortaliças é influenciada pela temperatura e pelas alterações físicas e físico-químicas que ocorrem durante o armazenamento. As reações catalisadas por enzimas são consideradas limitadas pela capacidade de difusão das moléculas no meio, já que a ocorrência destas reações requer que o substrato entre em contato com a enzima e se reorienta de forma a se encaixar no seu sítio ativo. Os produtos da reação também devem se difundir e se afastar da enzima, de forma que a reação prossiga afetando todo o produto (MANZOCCO et al., 1999).

2.7.1 Peroxidase (POD)

2.7.1.1 Características gerais

A peroxidase (doador: peróxido de hidrogênio oxidoreductase; EC 1.11.1.7) é uma enzima amplamente distribuída no reino vegetal e sua presença foi descrita num grande número de espécies e partes de plantas, incluindo frutos climatéricos e não-climatéricos (CIVELLO et al., 1995).

A atividade de peroxidase está relacionada à presença de isoenzimas catiônicas e/ou aniônicas e um mesmo fruto pode conter ambos os tipos de isoenzimas (LEE et al., 1984; LEE & SOO, 1998). Por exemplo, a peroxidase de raiz forte apresenta 15 isoenzimas identificadas (CARVALHO et al., 2003). Avaliações quantitativas de extratos de tecidos de plantas mostraram que a enzima ocorre na forma solúvel e também na forma ionicamente ligada à parede celular (CIVELLO et al., 1995; VALDERRAMA & CLEMENTE, 2004).

A peroxidase não é uma enzima específica, à custa da redução do peróxido de hidrogênio ou de peróxidos orgânicos, esta enzima é capaz de catalisar a oxidação de um grande número de substratos doadores de hidrogênio, incluindo aminas aromáticas primárias, secundárias e terciárias, fenóis, antocianinas, lignina, vitamina C, clorofila e compostos heterocíclicos como os indóis (BURNETTE, 1977; LOPEZ-SERRANO & BARCELÓ, 1996; FORSYTH et al., 1999; MARTINÉZ et al., 2001).

BURNETTE (1977) sugere que o papel metabólico das peroxidases é a oxidação de componentes potencialmente tóxicos, transformando-os em produtos menos prejudiciais à célula. No entanto, vários outros papéis fisiológicos têm sido atribuídos às peroxidases de plantas, como por exemplo, a síntese de lignina, biossíntese de etileno, degradação da clorofila, eliminação do peróxido de hidrogênio, proteção contra microrganismos fitopatogênicos e metabolismo do ácido indol-3-acético (KASPERA et al., 2001). A enzima também foi associada ao balanceamento hormonal, integridade das membranas e controle dos processos de respiração celular, senescência e degradação fisiológica de frutos e hortaliças (HAARD & TOBIN, 1971).

A Peroxidase (POD) também pode estar envolvida no escurecimento enzimático uma vez que difenóis poderão funcionar como substratos redutores na reação. Entretanto, seu envolvimento poderá ser limitado em função da disponibilidade de peróxido de hidrogênio (MDLULI, 2005). Segundo VALENTINES et al. (2005) a extensão do envolvimento de peroxidases no escurecimento enzimático tem permanecido duvidoso, especialmente por causa da alta afinidade da polifenoloxidase para os substratos naturais e os baixos níveis de peróxido de hidrogênio nos frutos. Considerável atenção tem sido dada a esta enzima, devido ao seu uso para indicar a eficiência de branqueamento em frutos e hortaliças, bem como seu papel na deterioração da qualidade.

Mecanismos de resistência a doenças têm sido descrito para várias espécies de frutos (LATTANZIO et al., 1994). É reconhecido que o peróxido de hidrogênio tem um papel subsequente nas interações planta-patógeno. Além disso, como uma resposta ao estresse, o H_2O_2 inicia a sinalização que envolve a ativação da enzima, expressão de genes, programação da célula para a morte e dano celular (OROZCO-CARDENAS et al., 2001; RAO & DAVIS, 2001). Nas interações, mais especificamente de planta-patógeno, o H_2O_2 poderá estar envolvido em várias respostas à defesa, tais como: oxidação das ligações cruzadas de proteínas da parede celular, efeito antimicrobiano direto, morte da célula hospedeira ou regulação dos genes de defesa do hospedeiro (MEHDY et al., 1996). TORRES et al. (2003) encontrou diferenças significantes nos níveis H_2O_2 entre frutos resistentes e susceptíveis ao processo de ferimento/infecção. Nos frutos resistentes à doença, o aumento no nível de H_2O_2 foi associado com um aumento significativo na atividade da peroxidase-desmutase enquanto as atividades de peroxidase e catalase permaneceram inalteradas. Estas mudanças enzimáticas explicam o aumento nos níveis de H_2O_2 e são evidências de que este é um composto chave na determinação de resistência à doença em frutos.

Em plantas não estressadas, o H_2O_2 é um produto natural das atividades fotossintética e respiratória. Contudo, H_2O_2 pode ser sintetizado pela auto oxidação e oxidação da (+)-catequina catalizada pela tirosinase. O H_2O_2 gerado por esta via pode contribuir para aumentar a atividade da peroxidase e, conseqüentemente, o escurecimento enzimático (VALENTINES et al., 2005).

Associado com H_2O_2 a enzima POD está também envolvida com a lignificação, um mecanismo de defesa que representa um papel importante na hipersensitiva resposta das plantas aos patógenos (VANCE et al., 1980). A lignificação é um processo complexo que envolve vários e diferentes substratos fenólicos e enzimas. A POD representa um papel chave neste processo como uma enzima terminal envolvida na polimerização e síntese da lignina (VALENTINES et al., 2005).

Vários frutos apresentam aumento na atividade da peroxidase ao longo do amadurecimento, como manga, uva, maçã e pêra (HAARD & TOBIN, 1971). Além disso, a atividade de peroxidase aumenta em decorrência das situações de estresses fisiológicos (KWAK et al., 1996).

2.7.1.2 Efeitos da atividade de peroxidase em frutos e hortaliças

Muitas das alterações de sabor em frutos e hortaliças ao natural podem estar relacionadas à atividade de peroxidase. Existem dados empíricos relacionando a atividade da peroxidase à ocorrência de *off-flavors* em alimentos (LAMIKANRA & WATSON, 2000; VALDERRAMA & CLEMENTE, 2004). Além dos efeitos no sabor, foi proposto que a peroxidase também pode afetar a textura de alguns tipos de frutos, por meio da síntese de lignina e da capacidade de catalisar a ligação entre as moléculas de ácido ferrúlico (substituintes na cadeia da pectina) (ADAMS, 1997).

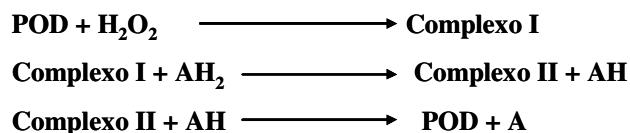
A sua capacidade de oxidar uma grande quantidade de compostos fenólicos distintos, inclusive a clorofila, sugere que a peroxidase também está associada à descoloração dos tecidos de frutos e hortaliças (ONSA et al., 2004; ZHANG et al., 2005). A atividade da peroxidase está intimamente relacionada à perda de sabor de alimentos armazenados, e também a uma série de reações de biodegradação. O escurecimento enzimático de frutos e hortaliças se deve à oxidação de compostos fenólicos naturalmente presentes, que resulta na formação de pigmentos marrons, vermelhos ou negros (VALDERRAMA & CLEMENTE, 2004).

A reação geral das peroxidases pode ser expressa por:



Onde **ROOH** é o aceptor de hidrogênio e **AH₂** é o doador de hidrogênio.

O mecanismo de ação da peroxidase pode ser esquematizado como:



A peroxidase é uma enzima associada a reações oxidativas de deterioração em frutos e hortaliças ao natural e produtos processados. Na reação, o peróxido de hidrogênio ou outro peróxido orgânico, como o peróxido de metila ou o etil hidrogênio, é reduzido, enquanto que um doador de elétrons (AH) é oxidado. O doador de elétrons pode ser ascorbato, fenólicos, aminas ou outros compostos orgânicos. Esta enzima pode causar mudanças indesejáveis no

aroma, sabor, cor, textura e também a perda de nutrientes. A POD pode causar a destruição da vitamina C, catalisar o branqueamento dos carotenóides na ausência de ácidos graxos insaturados e a descoloração de antocianinas. Além de catalisar a reação de ácidos graxos insaturados, produzindo voláteis que alteram o sabor (BRITO et al., 2005).

2.7.2 Polifenoloxidase (PFO)

2.7.2.1 Características gerais

A polifenoloxidase (monofenol, dihidroxi-L-fenilalanina oxigênio oxidoreductase EC 1.14.18.1) é uma enzima que contém o íon Cobre no sítio ativo. É também conhecida como catecol oxidase, catecolase, difenol oxidase, *o*-difenolase, fenolase e tirosinase, em função do seu substrato preferencial. Está presente em fungos, bactérias, na maioria das plantas e em todos os mamíferos (COLAK et al., 2005; OZEN et al., 2004; MARTINÉZ & WHITAKER, 1995).

Esta enzima pode catalisar dois tipos diferentes de reações, ambas envolvendo compostos fenólicos e oxigênio molecular: a hidroxilação de monofenóis a *o*-difenois, pela ação da cresolase e a oxidação de *o*-difenois a *o*-quinonas, pela atuação da catecolase (MARTINÉZ & WHITAKER, 1995; KAVRAYAN & AYDEMIR, 2001, DINCER et al., 2002). Para a reação de cresolase, os substratos comuns são *o*-cresol, L-tirosina, *p*-cresol e ácido *p*-cumárico. Para a reação de catecolase, exemplos de substratos (*o*-difenois) são catecol, 4-metil catecol, catequina e epicatequina, ácido clorogênico, dopamina, ácido caféico, ácido gálico, ácido 3-(3,4 dihidroxifenil) propiônico (DHPPA) e L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) (DINCER et al., 2002).

Em vegetais, foi relatada a existência de polifenoloxidase tanto na forma solúvel quanto na forma ionicamente ligada à membrana (MARTINÉZ & WHITAKER, 1995). Em plantas, a polifenoloxidase localiza-se principalmente nos plastídeos e cloroplastos das células intactas (CONCELLÓN et al., 2004). É amplamente aceito o fato de que a atividade da enzima é maior em frutos verdes, diminuindo ao longo do período de maturação (SERRADELL et al., 2000). Acredita-se que este fato seja causado pela solubilização e proteólise da enzima nos plastídeos durante o amadurecimento e armazenamento, razão pela qual a fração solúvel aumenta na medida em que os frutos amadurecem (CONCELLÓN et al., 2004).

As quinonas formadas pela polifenoloxidase em plantas constituem o primeiro sinal de resposta fisiológica quando ocorrem danos aos tecidos ou ataque de patógenos, e possuem propriedades antimicrobianas efetivas (SERRADELL et al., 2000). Uma vez formada a quinona, as reações subseqüentes ocorrem espontaneamente e não mais dependem da presença da enzima e do oxigênio. Embora as ortoquinonas sejam compostos coloridos (vermelho a marrom-avermelhado), a reação de escurecimento não cessa. Estes compostos participam de reações secundárias, gerando a formação de composto com coloração mais escura (ESKIN et al., 1971). A tonalidade de cor dos compostos formados pode variar dependendo dos compostos fenólicos presentes num dado tecido, resultando em pigmentos marrons, avermelhados, negros e róseo (DINCER et al., 2002, CARBONARO & MATTERA, 2001).

As reações secundárias, considerando-se especificamente o escurecimento enzimático são segundo MATHEW & PARPIA (1971): a) Reações acopladas de outros substratos; as quinonas podem promover a oxidação de substratos, cujo potencial de oxidação-redução é pequeno, de modo que estes compostos não são oxidados diretamente pela polifenoloxidase, dentre eles, temos as antocianinas, os glicosídeos de flavonas, os compostos polifenóis com aminoácidos ou proteínas. b) Complexação com aminoácidos e proteínas; esta é a reação secundária mais importante, pois na maioria dos produtos alimentícios a intensificação da cor durante o escurecimento ocorre após esta complexação. c) Condensação e polimerização de quinonas; ocorre a formação de polímeros amorfos, insolúveis e altamente estáveis.

Frutos e hortaliças possuem uma ampla variedade de compostos fenólicos, entretanto apenas uma parte relativamente pequena serve como substrato para a polifenoloxidase. Os compostos mais abundantes e que são usados como substrato são os monofenóis e *o*-difenois. Os substratos naturais mais importantes em frutos e hortaliças são as catequinas, os ésteres do ácido cinâmico, 3,4 diidroxifenilalanina (DOPA) e tirosina (ESKIN et al., 1971; VÁMOS-VIGYÁZÓ 1981).

A extensão, na qual os substratos fenólicos naturalmente presentes contribuem para o escurecimento enzimático de frutos e hortaliças, depende da localização e concentração do substrato e da especificidade da enzima, assim como da intensidade de cor dos pigmentos macromoleculares obtidos das quinonas. A especificidade pelo substrato depende não apenas do gênero e da cultivar de planta, mas também da localização da enzima dentro do próprio fruto ou hortaliça. O pH em que a atividade é determinada afeta na preferência pelo substrato.

A seletividade da enzima para monohidroxifenóis parece ser maior que para ortohidroxifenóis. Uma diferença fundamental na composição de fenóis de frutos e hortaliças em relação a cogumelos é o fato de que, enquanto as catequinas, proto-antocianidinas e leucoantocianidinas são constituintes comuns da maioria dos frutos e hortaliças, a tirosina e L-DOPA são os substratos principais em cogumelos (VÁMOS-VIGYÁZÓ, 1981).

Em abacate os principais substratos oxidáveis pela polifenoloxidase foram a catequina, proveniente da casca, polpa e semente, e a epicatequina que, embora em baixa concentração, contribuiu grandemente para o escurecimento (PRABHA & PATWARDHAN, 1980). O ácido clorogênico e o catecol foram os substratos que proporcionaram maior atividade para polifenoloxidase, provenientes de manga, segundo PARK et al. (1980). Na casca e polpa de banana o único substrato endógeno sujeito à oxidação foi a dopamina (PRABHA & PATWARDHAN, 1986).

2.7.2.2 Efeitos da atividade de polifenoloxidase em frutos e hortaliças

Considerando as mudanças que ocorrem na pós-colheita, responsáveis por mais de 50% das perdas de frutos e hortaliças ao redor do mundo, o escurecimento enzimático é o que mais contribui para estas perdas. A polifenoloxidase é a maior responsável pelo escurecimento enzimático indesejável durante o manuseio, armazenamento e em tecidos danificados de frutos e hortaliças (MDLULI, 2005; OZEN et al., 2004; KAVRAYAN & AYDEMIR, 2001). A PFO causa também descoloração de pigmentos em frutos e hortaliças (BILLAUD et al., 2004).

A PFO oxida os substratos *o*-fenólicos em *o*-quinonas, que são instáveis (CONCELLÓN et al., 2004) e rapidamente polimerizam-se dando origem a pigmentos escuros (melaninas) (SERRADELL et al., 2000, VALENTINES et al., 2005). Além da formação de pigmentos escuros, as *o*-quinonas formadas também reagem com aminoácidos, peptídeos e proteínas, causando alterações estruturais e funcionais, e conseqüente diminuição do valor nutritivo dos alimentos (ESCRIBANO et al., 1997).

O escurecimento afeta a aceitação do consumidor e é uma das principais causas de rejeição de frutos e hortaliças por problemas de qualidade (SERRADELL et al., 2000). Em tecidos vivos, o substrato e a enzima encontram-se separados dentro das células. Qualquer tratamento que danifique a estrutura celular colocará a enzima em contato com seu substrato, permitindo que a reação ocorra. Isto inclui danos mecânicos e fisiológicos. Alguns frutos e

vegetais originados de regiões tropicais e subtropicais são mais propensos a injúrias fisiológicas pelo frio, mesmo com temperatura acima do congelamento. Neles ocorre o rompimento das paredes celulares quando são armazenados em temperaturas inferiores a 12,5 °C, ocorrendo o escurecimento (CONCELLÓN et al., 2004).

O grau de escurecimento depende da natureza e quantidade de compostos fenólicos endógenos, da presença de oxigênio, substâncias redutoras, íons metálicos, pH, temperatura e atividade da PFO, que é a principal enzima envolvida na reação (CARBONARO & MATTERA, 2001). Em frutos vermelhos, como morango, framboesa e amora, a atividade da polifenoloxidase também pode ser responsável pela degradação das antocianinas, causando perda da cor vermelha (SERRADELL et al., 2000). Em lichia (*Litchi chinensis* Sonn.) o maior problema pós-colheita é o escurecimento do pericarpo, resultando em curta vida útil e reduzindo o valor comercial do fruto. O escurecimento é geralmente associado com a rápida degradação do pigmento vermelho causado pela PFO e POD (ZHANG et al., 2005).

Em peras o escurecimento enzimático está relacionado ao teor de polifenóis, especialmente à concentração de ácido clorogênico e catequina (RANADIVE & HAAR, 1971). De acordo com COSETENG e LEE (1987), de sete cultivares de maçãs estudadas nem todas apresentaram a mesma relação entre o grau de escurecimento e a atividade enzimática. Em algumas cultivares a atividade da PFO estava diretamente relacionado ao grau de escurecimento. Entretanto, em outras o grau de escurecimento foi relacionado ao teor de compostos fenólicos presentes.

A susceptibilidade ao escurecimento ou a tendência ao escurecimento enzimático em frutos e hortaliças tem sido relacionada diretamente ao teor de PFO presente, à concentração de compostos fenólicos endógenos no tecido, ou a uma combinação específica destes. Os dados publicados em literatura divergem em relação a qual dos dois fatores, enzima ou substrato, exerce papel fundamental na determinação da taxa de escurecimento do produto (WALTER & PURCELL, 1980; JAYARAMAN et al., 1982). De acordo com VÁMOS-VIGYÁZÓ et al. (1977), o que determina a taxa de escurecimento de uma determinada cultivar é a relação entre a atividade enzimática e o teor de substrato, portanto está relacionada à atividade enzimática e ao conteúdo de polifenóis. O grau de escurecimento em banana após o corte, foi correlacionado com a atividade de PFO e com a concentração de substratos fenólicos livres (NGUYEN et al., 2003).

A localização da enzima na célula vegetal depende da espécie, idade e grau de maturação. Nas hortaliças folhosas encontram-se principalmente nos cloroplastos. Em maçãs foi localizada quase que exclusivamente nos cloroplastos e mitocôndrias. VÁMOS-VIGYÁZÓ & NADUVARI-MARKUS (1982) verificaram que a distribuição da atividade enzimática nos tecidos se dá de forma não homogênea em várias cultivares de pêra. O mesmo foi verificado para o pêssego, sendo tal desuniformidade relacionada à estrutura fibrosa do mesocarpo. Em banana, segundo MONTGOMERY & SGARBIERI (1975), a atividade da PFO é mais concentrada no interior da polpa e no tecido adjacente às sementes imaturas. Verificaram também que, durante a maturação, de um modo geral, a atividade decresce na polpa e aumenta na casca. De acordo com YANG et al. (2001), a principal PFO na casca da banana é a catecol oxidase (EC1.10.3.1).

A habilidade da PFO para oxidar compostos fenólicos pode, contudo, ser utilizada para aumentar a biodisponibilidade de ferro em frutos e hortaliças com elevada quantidade de taninos condensados, que possuem principalmente o grupo *orto*-dihidroxil que se ligam ao ferro tornando-o indisponível para absorção no trato gastrointestinal (MATUSCHEK & SVANBERG, 2005). A PFO pode não ser capaz de oxidar compostos fenólicos complexos tais como os taninos oligoméricos e poliméricos, exceto na presença de compostos fenólicos mais simples. O ácido hidroxicinâmico, por exemplo, pode desencadear a oxidação de polifenólicos mais complexos por reações redox acopladas. Isto tem sido observado para procianidinas e flavonas. Além disso, taninos condensados também contêm flavonóides e ácidos fenólicos, que podem ser usados como substratos iniciais para a PFO e, assim, contribuir para a oxidação de taninos. As quantidades elevadas de ácidos orgânicos em alguns frutos também têm efeito positivo sobre a absorção de ferro (MATUSCHEK et al., 2001).

2.7.3 Fenilalanina Amônia-Liase (FAL)

2.7.3.1 Características gerais

A enzima fenilalanina amônia-liase (EC 4.3.1.5) está envolvida na via biossintética dos compostos fenólicos; atua no metabolismo secundário dos vegetais, catalisando a conversão de L-fenilalanina a ácido cinâmico e amônia (MINAMIKAWA & URITANI, 1964). A ativação da via metabólica desta enzima tem sido relacionada a estímulos causados

por estresse, como baixas temperaturas, tecidos injuriados e aos mecanismos de resistência do fruto a injúrias e infecções fitopatológicas. Geralmente, este ciclo metabólico conduz à formação do ácido cinâmico que é o principal precursor de inúmeros compostos dos tecidos vegetais, como lignina, flavonóides e outros compostos fenólicos (LATTANZIO et al., 1994).

A FAL é a primeira enzima envolvida na produção de *trans*-cinamato e *trans*-4-hidroxicinamato que podem ser convertidos em compostos fenólicos tais como os derivados de ácido clorogênico e cafeico (NGUYEN et al., 2003). O ácido cafeico é produzido pela fenilalanina via cinamato e *p*-cumarato e conjugado com ácido quinico para formar ácido clorogênico e iso-clorogênico; e com ácido tartárico para formar os ácidos cafeicotartárico e dicafeicotartárico (TOMÁS-BARBERÁN et al., 1997). Estes quatro compostos fenólicos acumulam nos tecidos de frutos e hortaliças e estão associados ao escurecimento do tecido.

Portanto, a partir do aminoácido fenilalanina são sintetizados todos os compostos fenilpropanóides (RHODES, 1983). A FAL parece oferecer o esqueleto carbônico fenilpropano para a síntese de compostos fenólicos, pois o aumento em sua atividade tem sido relacionado paralelamente ao acúmulo destes compostos (MINAMIKAWA & URITANI, 1964). A atividade da FAL depende do genótipo, da idade e do estágio de desenvolvimento, do órgão, do tipo de tecido da planta (LISTER et al., 1996). Assim, a indução do metabolismo fenilpropanóide, que ocorre após condições de estresse, constitui-se em um campo interessante para estudos sobre regulação do metabolismo secundário do vegetal e sua relação com mecanismos de defesa.

Quando alfaces minimamente processadas foram tratadas com etileno, induziu-se um aumento nas atividades da PFO e FAL de 1,2 a 1,7 e 2,5 a 5,3 vezes, respectivamente. A intensidade de escurecimento correlacionou-se com o aumento na atividade da enzima e com a qualidade visual final da alface (MARTINÉZ & WHITAKER, 1995). Resultados similares foram reportados para outros vegetais (LATTANZIO et al., 1994). Isto sugere que a atividade da FAL relaciona-se à biossíntese de compostos fenólicos no local da injúria de frutos e hortaliças sendo, portanto, importante seu controle para prevenir o escurecimento enzimático causado por danos pós-colheita (MARTINÉZ & WHITAKER, 1995).

2.7.3.2 Efeitos da atividade da fenilalanina amônia-liase em frutos e hortaliças

Os fenilpropanóides sintetizados pela FAL são importantes no crescimento vegetal, e atuam também na proteção contra estresses ambientais. Assim, seu metabolismo em plantas superiores tem sido associado à regulação do crescimento, à resistência a doenças, raios ultravioleta, à ativação de genes *vir* de bactérias do gênero *Agrobacterium* e à síntese de componentes da parede celular vegetal (LINTHORST, 1991). A FAL provoca a primeira de uma série de reações metabólicas que geram inúmeros compostos baseados em fenilpropanos ativos na defesa da planta, entre eles, à lignina, pigmentos, protetores contra luz ultravioleta, fitoalexinas, fenóis e ácido salicílico (MILOSEVIC & SLUSARENKO, 1996). A produção da FAL é regulada durante o crescimento vegetal, mas é também induzida em células vizinhas ao local de estresse, como infecção, ferimentos, contaminação por metais pesados, luz e reguladores de crescimento (RYALS et al., 1994; WILSON, 1993).

Desta forma, a FAL é considerada uma enzima chave no controle de doenças de plantas e no seu sistema de resistência. Associada à FAL, a POD participa no processo de construção da parede celular de plantas, pela oxidação de fenóis, lignificação e suberização, durante as reações de defesa contra agentes patogênicos (CHITTOOR et al., 1999). A PFO participa na oxidação de polifenóis em quinonas (que é um composto antimicrobiano) e na lignificação de células durante a invasão microbiana (MOHAMMADI & KAZEMI, 2002). Assim, a acumulação de compostos fenólicos tem sido associada com resistência a doenças em várias interações patógeno-planta. Um alto conteúdo de compostos fenólicos no local da invasão pode restringir ou diminuir o crescimento do patógeno (REIMERS & LEACH, 1999). Pêssegos tratados com BHT (benzo-tiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester) tiveram um aumento na atividade da FAL, PFO e POD, assim como, nos níveis de compostos fenólicos totais e peróxido de hidrogênio, que representam um papel importante na resistência da planta a doenças (LIU et al., 2005).

A atividade da FAL tem sido correlacionada positivamente com a síntese de antocianinas em uvas (KATAOKA et al., 1983), morangos (GIVEN et al., 1988) e maçãs (WANG et al., 2000). A síntese de antocianinas é um processo que envolve muitas etapas desde o precursor primário (fenilalanina) até os produtos finais (glicosídeos de cianidina). A FAL é a primeira enzima a catalisar a eliminação da NH_3 da L-fenilalanina para produzir *trans*-cinamato (LANCASTER, 1992). A resistência de abacates ao fungo *Colletotrichum*

gloeosporioides também está relacionada à atividade da FAL, que produz os flavonóides catequinas e epicatequinas, presentes na casca do fruto e que regulam a atividade da enzima lipoxigenase e, conseqüentemente, o desenvolvimento do fungo (ARDI et al., 1998).

Segundo LAFUENTE et al. (2003), a injúria pelo frio é responsável por perdas substanciais na pós-colheita de muitos frutos tropicais, sendo que as respostas moleculares e fisiológicas à baixa temperatura ainda não são bem entendidas. Sabe-se que temperaturas extremas e uma variedade de fatores ambientais, incluindo irradiação, injúrias, hipoxia, metais pesados, excesso e falta de água, doenças, ataque de insetos são capazes de induzir a biossíntese de etileno e em paralelo o aumento na atividade da FAL (LAFUENTE et al., 2001). É interessante observar que a indução da FAL em resposta a injúria pelo frio, injúrias mecânicas e danos fitopatológicos tem sido dependente do estágio fisiológico do fruto e também da estação do ano (KAMO et al., 2000; LAFUENTE et al., 2003).

2.8 Microrganismos em frutos e hortaliças

2.8.1 Contaminação de microrganismos em frutos e hortaliças

Os frutos e hortaliças frescos são componentes tradicionais na dieta e seu consumo diário tem sido incentivado em diversos países. Conseqüentemente, a importância relativa destes produtos como fontes potenciais de doenças alimentares tem se tornado evidente. No Brasil, não foram encontradas estimativas sobre a prevalência ou incidência de doenças alimentares associadas ao consumo de frutos e hortaliças.

A contaminação dos frutos e hortaliças frescos é preocupante, pois antes de serem consumidos esses produtos não são submetidos a nenhum tratamento, como o cozimento. Esse perigo pode ser maior nos sucos e nos produtos minimamente processados, cujo processamento envolve o contato e manipulação humana, imersão em água, e no caso da água de coco a exposição ao ar e o resfriamento do fruto em meio contaminado (BRACKETT, 1999; BRACKETT & SPLITTSTOESSER, 2001).

A prevenção da contaminação dos frutos e hortaliças por perigos físicos, químicos e principalmente biológicos é um pré-requisito fundamental na garantia da segurança e qualidade do produto ao natural. Entretanto, mesmo nas condições ideais de produção e processamento, a contaminação dos produtos frescos é praticamente inevitável (NACMCF,

1999). Portanto, medidas de controle devem ser tomadas para a descontaminação e prevenção do desenvolvimento de microrganismos patogênicos nos frutos e hortaliças.

Embora a presença de microrganismos patogênicos em frutos e hortaliças sadias seja considerada transiente em relação à microbiota residente, esses produtos são tidos como veículos de perigos biológicos (PARISH, 1997). A epiderme do fruto é a barreira primária contra infecções microbianas, insetos e danos físicos, sendo coberta por multicamadas hidrofóbicas que formam a cutícula (1-15 µm de espessura) (FRANK, 2001). A distribuição dos microrganismos na superfície dos frutos está relacionada a condições físicas, químicas e ambientais.

2.8.1.1 Condições físicas

A molhabilidade da superfície dos frutos é importante na adesão microbiana. Em alface e repolho é parcialmente atribuída às diferenças na capacidade de retenção de água superficial dessas folhosas ou na hidrofobicidade das camadas de cutícula (LUND, 1992). A superfície do fruto, aparentemente lisa, consiste de uma estrutura irregular onde a adesão e colonização microbiana é facilitada por poros (estômatos e lenticelas), irregularidades (tricomos quebrados, fendas na cutícula) e injúrias superficiais (FRANK, 2001). A adesão de células microbianas na superfície do fruto e a sua localização em estruturas protetoras (brácteas e cálice) podem dificultar a sua remoção ou aumentar a sua resistência a tratamentos antimicrobianos (BURNETT & BEUCHAT, 2000). Essa situação pode ser agravada em produtos com uma grande área superficial, como frutos grandes e as verduras (LUND, 1992).

Os microrganismos patogênicos podem sobreviver nas superfícies não injuriadas dos frutos e hortaliças, mas o seu desenvolvimento é raro. Isso é parcialmente atribuído à típica incapacidade dos microrganismos patogênicos em produzir enzimas necessárias à degradação da epiderme vegetal, o que restringe a disponibilidade de nutrientes e água (HARRIS et al., 2003). Entretanto, o desenvolvimento da microbiota residente nos vegetais pode comprometer a integridade da epiderme e alterar o pH do meio, aumentando a probabilidade de sobrevivência e desenvolvimento de microrganismos patogênicos. Em uma análise de *Salmonella* em frutos e hortaliças que estavam sadios e deteriorados, WELLS & BUTTERFIELD (1997) detectaram essa bactéria principalmente nos produtos deteriorados.

A possibilidade de sobrevivência e desenvolvimento de microrganismos patogênicos aumenta consideravelmente quando a barreira protetora da epiderme é rompida. Esse rompimento pode ocorrer por injúrias mecânicas acidentais, por animais (insetos e pássaros), por microrganismos e por cortes propositais, como nos frutos e hortaliças minimamente processados. O corte dos frutos e hortaliças expõe os tecidos vegetais internos, transfere os microrganismos da superfície do produto intacto para os tecidos internos e libera fluidos de células injuriadas (HARRIS et al., 2003).

2.8.1.2 Condições químicas

A superfície dos frutos e hortaliças possui uma microbiota residente que normalmente subsiste em quantidades de traços de nutrientes, incluindo carboidrato, proteína, sais minerais e umidade, oriundos da exsudação vegetal ou da condensação ambiental. Muitos vegetais têm a sua superfície coberta com protuberâncias tubulares denominadas tricomas. As glândulas dos tricomas secretam substâncias químicas na superfície dos vegetais com atividade antimicrobiana e repelente a insetos. Outras substâncias oriundas da poluição ambiental e do controle agroquímico podem interferir na microbiota residente e contaminante na superfície dos vegetais (SPURR, 1994).

Alguns microrganismos similares são geralmente encontrados em frutos e hortaliças. Entretanto, a composição química de cada tipo de vegetal pode diferenciar a microbiota residente e contaminante. Nos vegetais com pH próximo ao neutro, como muitas das hortaliças, as bactérias estão geralmente presentes em grande abundância. Nessas condições, as bactérias tendem a se desenvolver mais rápido que os fungos. Há pouco tempo era de aceitação geral que os frutos de alta acidez e baixo pH apresentassem um risco desprezível. Essa consideração fundamentava-se no efeito antagonista dos ácidos e do pH sobre a maioria das bactérias. Embora essas condições previnam o desenvolvimento de muitos microrganismos patogênicos, o produto pode estar contaminado com perigos biológicos suficientes para causar doenças. Alguns microrganismos patogênicos como *E. coli* (GOODSON & ROWBURY, 1989), *Listeria monocytogenes* (KROLL & PATCHETT, 1992) e *Salmonella Typhimurium* (FOSTER & HALL, 1991) podem se adaptar a condições de acidez que normalmente seriam letais. Além disso, existem evidências de que o desenvolvimento de microrganismos patogênicos em certas condições de pH sub-letais pode

aumentar a sua virulência e desencadear mutações adaptativas que selecionam cepas mais resistentes a outras condições estressantes (ARCHER, 1996).

2.8.1.3 Condições ambientais

As condições ambientais no campo são consideradas tipicamente inóspitas para a sobrevivência e desenvolvimento de muitos microrganismos. Isso é parcialmente atribuído à incidência de radiação luminosa e às flutuações de temperatura e umidade no campo (SPURR, 1994). Após a colheita do fruto e hortalíça, o comportamento dos microrganismos, incluindo os patogênicos, depende basicamente da temperatura, umidade, atmosfera e características intrínsecas do vegetal (HARRIS et al., 2003).

A refrigeração é tipicamente utilizada para retardar a respiração, a senescência, o escurecimento, a perda de umidade e o desenvolvimento microbiano nos produtos ao natural (SEYMOUR & APPLETON, 2001). Entretanto, os microrganismos geralmente sobrevivem a baixas temperaturas, existindo aqueles psicrotróficos que são capazes de se desenvolver sob refrigeração, mesmo que a uma velocidade mais lenta do que à temperatura ambiente. Alguns desses microrganismos são patogênicos, tais como cepas de *Clostridium botulinum* não proteolíticas, *L. monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica* (PARISH et al., 2003).

A utilização de embalagens com atmosfera modificada em conjunto com a refrigeração ainda não é considerada uma tecnologia segura. Assim como na refrigeração, as embalagens com atmosfera modificada podem favorecer o desenvolvimento dos microrganismos patogênicos em detrimento da atividade de outros microrganismos competidores, de modo que o produto não apresente sinais de deterioração e seja consumido (HARRIS et al., 2003). *Clostridium perfringens*, *C. botulinum* e *L. monocytogenes* são pouco afetados por níveis de CO₂ abaixo de 50%. Altos níveis de O₂ (80-90%) estimulam o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, como *E. coli* e *L. monocytogenes* (AMANATIDOU et al., 1999).

2.8.2 Bactérias

As bactérias patogênicas são particularmente preocupantes nos frutos e hortalíças por possuírem a capacidade de se desenvolver antes do consumo do produto fresco (NACMCF, 1999), com a ressalva de que em muitos casos não ocorrem alterações

perceptíveis, mesmo em populações relativamente altas. Já a atividade de uma microbiota diversificada pode fornecer indicações de abuso de temperatura e idade do produto, por meio de deteriorações. Além disso, as bactérias patogênicas podem ser inibidas ou até mesmo eliminadas pela ação da microbiota competidora ou antagonista, que é naturalmente encontrada nos frutos e hortaliças (SCHUENZEL & HARRISON, 2002). Conseqüentemente, especificações requerendo uma contagem muito baixa de bactérias podem comprometer a segurança dos produtos frescos (HARRIS et al., 2003). Entretanto, alta carga microbiana indica condições inadequadas de obtenção, processamento ou acondicionamento dos frutos e hortaliças.

Os grupos de coliformes totais e fecais e a detecção de *E. coli* são comumente utilizados para avaliação da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos. Entretanto, a presença dos grupos de coliformes em frutos e hortaliças é considerada normal, uma vez que fazem parte da microbiota natural das plantas e não pode ser associada a uma contaminação fecal. Nesse caso, recomenda-se a utilização de *E. coli* como indicador mais válido de contaminação fecal (KORNACKI & JOHNSON, 2001). Mas a sua presença, mesmo que em altas concentrações, não significa necessariamente que ocorreu contaminação fecal. *E. coli* pode se desenvolver em vários nichos ecológicos, incluindo o ambiente de processamento, ou se tornar parte da microbiota residente de uma agroindústria, especialmente quando a sanitização é inadequada (COX et al., 1988). Desse modo, uma das aplicações mais importantes dos grupos de coliformes e da análise de *E. coli* é na avaliação de programas de sanitização dos frutos e hortaliças, assim como das condições higiênicas dos ambientes de processamento (KORNACKI & JOHNSON, 2001).

2.8.3. Fungos micotoxigênicos

A contagem de fungos e leveduras é uma das análises realizadas no controle de qualidade de alimentos, com o intuito de estimar a validade de determinado produto alimentício. A presença excessiva destes microrganismos resulta na deterioração ou redução da vida útil do alimento. Embora considerados indicadores de deterioração, quantificar estes fungos é fundamental para avaliar a qualidade de produtos armazenados.

Em alimentos, os fungos são considerados microrganismos que não oferecem risco direto à saúde, embora algumas espécies de bolores produzirem micotoxinas prejudiciais ao

homem. Com relação às leveduras, a ocorrência de espécies patogênicas em alimentos é praticamente desconhecida, sua importância reside muito mais no fato de serem eventuais agentes de deterioração (LAZARETTI et al., 2000).

Os bolores revelaram notável capacidade de adaptação e crescimento sob condições extremamente variáveis, desta forma, qualquer produto alimentício está sujeito à deterioração pelo crescimento destes microrganismos, desde que haja contato com o ambiente atmosférico (LAZARETTI et al., 2000). *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp. são fungos micotóxicos naturalmente encontrados no ambiente agrícola, possuindo a capacidade de se desenvolverem numa variedade de substratos e sob diversas condições de umidade e temperatura. A deterioração fúngica dos frutos pode estar associada à produção de várias micotoxinas, particularmente aflatoxina, ocratoxina A, deoxinivalenol (DON ou vomitotoxina) e patulina (HASAN, 2000). Essas toxinas podem permanecer no alimento mesmo na ausência de sinais visíveis de emboloramento (PITT, 2000). Entretanto, a deterioração ocasionada por espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* é considerada significativa somente após a infecção da plantação por microrganismos fitopatogênicos ou se ocorrer algum tipo de injúria física ou fisiológica no fruto ou hortaliça na pós-colheita (ZIMMERLI & DICK, 1996).

A micotoxina mais relatada em frutos e suco de frutas é a patulina, ressaltando-se que a Organização Mundial de Saúde recomenda uma concentração máxima de 50 mg L⁻¹ no produto. A patulina é produzida por aproximadamente 60 espécies de fungos que pertencem a mais de 30 gêneros (DRUSCH & RAGAB, 2003). Nas maçãs, as regiões deterioradas são as que apresentam as maiores concentrações de patulina. Essa toxina pode se difundir, a partir da área infectada do fruto, até uma profundidade de 2 cm. Conseqüentemente, a remoção dessa parte da maçã reduz significativamente o nível de patulina no produto. Entretanto, em outros frutos como o tomate, a patulina se difunde por todo o tecido interno. Essa diferença de difusão da patulina pelo interior dos alimentos aparentemente está ligada à “viscosidade” do tecido interno do fruto (RYCHLIK & SCHIEBERLE, 2001).

Segundo ROSS et al. (1998), a presença de patulina em maçãs e derivados vem sendo motivo de constantes investigações, devido a freqüente contaminação natural, com relatos atingindo níveis de até 45mg L⁻¹. Estes valores descritos são alarmantes, uma vez que a Organização Mundial de Saúde estabelece 50µg L⁻¹ como limite máximo para suco de maçã (PRIETA et al., 1992; ROSS & HIROOKA, 1996). Tendências atuais sugerem reduções ainda

maiores neste limite, sendo que determinados países adotam níveis entre 20 e 30 $\mu\text{g L}^{-1}$, em produtos destinados à alimentação infantil (FAO, 1996). Tendo em vista a crescente demanda por água de coco no Brasil e no mercado europeu, a avaliação sobre a contaminação com patulina nos frutos comercializados torna-se um fator importante para garantir o fornecimento de água de coco com qualidade aos consumidores.

Além dos fungos deterioradores, as perdas pós-colheita podem ser atribuídas a patógenos vegetais. No coco verde, a qualidade e conseqüentemente a vida útil da água de coco verde são restringidas, entre outros problemas, por deteriorações causadas pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. e Maubl. (BARNET & HUNTER, 1987). Nos frutos, os sintomas aparecem na região do cálice, com a formação de um anel de coloração marrom, que se torna mais escuro com a multiplicação elevada de picnídios. O fungo necrosa o tecido, provocando rachaduras na casca e a exsudação da água com odor desagradável. Em condições favoráveis de alta umidade, em 2 a 4 semanas, o fungo cobre toda a superfície do fruto, tornando-o inaceitável para comercialização (VIANA et al., 2002; RESENDE et al., 2001).

2.8.4 Prevenção da contaminação de frutos e hortaliças

Uma etapa fundamental ao se elaborar uma estratégia para garantia da segurança dos frutos e hortaliças é a investigação da natureza dos contaminantes na cadeia produtiva. Essa etapa deve ser priorizada em detrimento de análises do alimento, considerando-se que a distribuição dos microrganismos patogênicos nos alimentos é tipicamente desuniforme, a sua detecção é pouco freqüente e, quando presente, encontra-se geralmente em baixas concentrações (BRACKETT, 1999).

A prevenção da contaminação fecal dos frutos e hortaliças é geralmente priorizada à medida que as doenças veiculadas por esses produtos são transmitidas, principalmente, pela via feco-oral. Entretanto, deve-se ressaltar que nem todos os microrganismos patogênicos podem ser correlacionados com indicadores de contaminação fecal e existem microrganismos cuja fonte primária não é o ambiente entérico.

A contaminação de frutos e hortaliças pode ocorrer por qualquer material que entre em contato com a sua superfície. No ambiente agrícola, o solo, a água, os animais e os agricultores são particularmente importantes nessa contaminação (NACMCF, 1999). A fertilização do solo com esterco ou biossólidos municipais (esgoto) inadequadamente

estabilizados é considerada uma das principais fontes de contaminação (FDA, 1998). A contaminação fecal do solo pode aumentar se não existirem instalações sanitárias adequadas nas proximidades das áreas de produção (FDA, 1998).

Existem várias fontes de poluição da água, sendo as mais comuns o despejo direto de biossólidos no curso d'água e a lixiviação de solo contaminado. A identificação e o controle de fontes potenciais de contaminação da água devem ser feitas e monitoradas, considerando-se que a água utilizada na agricultura geralmente não é tratada. Além da qualidade da água, outros fatores, como o tipo de irrigação, podem influenciar a contaminação dos frutos e hortaliças. As técnicas de irrigação, como o pivô central, aumentam a probabilidade de contaminação, por expor as plantas em contato direto com a água. (NACMCF, 1999).

Os animais silvestres ou domésticos e as pragas constituem outra fonte potencial de contaminação dos frutos e hortaliças, seja no ambiente agrícola ou na pós-colheita. Porém, enquanto os animais domésticos podem ser evitados nas áreas de produção e manipulação de alimentos, o controle de animais silvestres ou pragas é limitado (HARRIS et al., 2003).

A colheita é uma etapa crítica devido ao potencial de contaminação por meio do contato das mãos com os frutos e hortaliças. A extensão desse contato varia com o tipo de produto e com a tecnologia empregada na colheita e em algumas operações pós-colheita. As boas práticas de higiene pessoal são amplamente preconizadas e devem estar associadas à racionalização de técnicas de manipulação de alimentos, prevenindo o contato direto das mãos com os frutos e hortaliças (ICMSF, 1996). As luvas devem ser utilizadas em etapas específicas e por manipuladores treinados. Outras superfícies que entram em contato com os frutos e hortaliças no momento da colheita (equipamentos, utensílios, recipientes) e no seu transporte devem ser projetadas e construídas de modo a evitar deposições de sujidades e facilitar a sua higienização (SUSLOW et al., 2001).

A contaminação pode aumentar durante o processamento, seja por manipuladores infectados, ou pelo contato com a água, superfícies de trabalho, embalagens ou outros ambientes contaminados. A higienização de frutos e hortaliças deve estar associada ao controle de contaminantes no ar, instalações, equipamentos e utensílios envolvidos na operação e nas etapas subseqüentes do processamento. Como a higienização tipicamente não remove ou inativa completamente os microrganismos patogênicos presentes na matéria-prima, o processamento de um lote contaminado pode resultar na contaminação ambiental e das

superfícies de processamento (VANETTI, 2004). Neste ciclo de contaminações, a água, no estado líquido ou como gelo, pode ser contaminada ou servir com uma fonte importante de microrganismos patogênicos para frutos e hortaliças. A água é amplamente utilizada no processamento da maioria dos frutos e hortaliças, e a contaminação destes produtos pode ocorrer tanto no enxágue quanto em outras operações, como refrigeração, transporte, higienização ou aplicação de ceras, biofilmes e fungicidas (IFT, 2000). Desse modo, a qualidade da matéria-prima, condição fundamental para a segurança do produto final, também implica prevenção de vários tipos de contaminações cruzadas.

2.9 Atmosfera modificada

O armazenamento em atmosfera modificada (AM) é uma tecnologia versátil e aplicável para vários tipos de frutos e hortaliças, sendo relativamente simples e de baixo custo. A utilização da AM, assim como de qualquer outro tratamento pós-colheita, destina-se principalmente a frutos com alto valor comercial agregado que propiciem retorno econômico. A AM pode ser uma perspectiva de ampliação do mercado, principalmente o externo. Outro fator positivo da AM é permitir o manuseio direto do fruto sem resultar em problemas na sua qualidade final (JIANG et al., 2004).

Segundo DEL NOBILE et al. (2007), atmosferas com níveis baixos de O₂ e elevados de CO₂ a baixas temperaturas de armazenamento reduzem a taxa respiratória de frutos e hortaliças limitando as perdas de massa fresca e matéria seca. Tal atmosfera modificada pode ser obtida ativamente pela injeção de misturas específicas de gases dentro da embalagem ou passivamente, como uma consequência da evolução respiratória (O₂ e CO₂) do produto dentro da embalagem e da transferência (permeabilidade) dos gases através da embalagem (FONSECA et al., 2002).

A atividade respiratória na pós-colheita e a perda de água pela transpiração são dois processos fisiológicos básicos e determinantes na qualidade e vida útil de frutos e hortaliças. Tecnologias acessíveis como atmosfera controlada (AC), atmosfera modificada (AM) e atmosfera modificada por embalagens (MAP) podem regular a respiração e transpiração tornando-se alternativas importantes para estender a vida pós-colheita de frutos e hortaliças. Atrasos no amadurecimento e senescência associados a mudanças bioquímicas e fisiológicas como transpiração, respiração, produção de etileno, amaciamento e mudanças na composição

foram relatadas como fatores responsáveis pelo aumento da vida pós-colheita de produtos armazenados sob condições de AC, AM, MAP (KADER & SALTIVEIT, 2003a, b; PECH et al., 2003). Os efeitos da atmosfera modificada em retardar a senescência dos frutos são devidos principalmente a características do produto como: superfície morfológica e anatômica das camadas da epiderme (cicatriz peduncular, estômatos, lenticelas, camada de cutícula e periderme); modificação no micro-ambiente interno ao redor dos frutos favorecendo uma baixa proporção entre CO₂ e O₂ (PAUL & SRIVASTAVA, 2006; KADER & SALTIVEIT, 2003b; AMARANTE et al., 2001a); permeabilidade e seletividade do filme aos gases e vapor de água; equilíbrio na concentração de gases que depende do peso do produto embalado, da área superficial e da temperatura de armazenamento (FONSECA et al., 2002; RESENDE et al., 2003). A combinação adequada destes fatores resulta em uma atmosfera apropriada dentro da embalagem favorecendo a conservação e aumento da vida útil de frutos e hortaliças.

Entretanto, sob condições altas de CO₂, microrganismos aeróbicos responsáveis pela deterioração são inibidos, enquanto o crescimento de patógenos potenciais poderá ser estimulado. Além disso a atmosfera modificada pela embalagem (MAP) poderá induzir a formação de sabor desagradável. Às vezes, concentrações de CO₂ de 10 a 20% resultam na supressão do processo metabólico aeróbico ainda que a presença de O₂ seja suficiente para reduzir a influência negativa sobre a qualidade sensorial (WATKINS, 2000). Também a falta de O₂ poderá induzir o desenvolvimento de *off-flavors* devido a mudança do metabolismo aeróbico para o anaeróbico (fermentativo). Ambas, altas concentrações de CO₂ ou baixa de O₂, poderão indiretamente induzir a formação de *off-flavors* por estimular o crescimento de bactérias homo e hetero-fermentativas e leveduras, que produzem ácidos orgânicos, etanol, ésteres voláteis (BEAUDRY, 2000).

Filmes altamente permeáveis para O₂ e CO₂ são usados para estabelecer atmosfera modificada dentro de embalagens contendo frutos e hortaliças; como produtos da respiração ocorrem redução do O₂ e elevação do CO₂. Neste processo a modificação da atmosfera é passiva, entretanto há a possibilidade de combinações de O₂ e CO₂, devido à permeação natural do gás através da embalagem; uma atmosfera ótima, portanto, poderá não ser alcançada (BEAUDRY, 1999). O uso de atmosfera modificada pela embalagem (MAP) foi essencial para manter a umidade alta e prevenir a perda de água e o escurecimento de lichias (TIAN et al., 2005).

2.9.1 Atmosfera modificada por biofilmes

A modificação da atmosfera, por meio de filmes biodegradáveis, pode retardar o processo de maturação dos frutos em razão da alteração da concentração inicial dos gases presentes na embalagem. A concentração de gases resultante nas embalagens depende de alguns fatores, como: taxa de permeabilidade a gases da embalagem, resistência à ruptura, formação de poros, relação área/volume da embalagem e presença de absorvedores nas formulações.

A temperatura de armazenamento é o melhor meio para conservar a qualidade pós-colheita de frutos e hortaliças. Entretanto, o armazenamento sob condições reduzidas de O₂ e elevada de CO₂ pode promover meios adicionais para reduzir a atividade metabólica e aumentar a vida útil de frutos e hortaliças. Essa tecnologia de revestimentos com biofilmes usada para controlar a atmosfera gasosa ao redor do fruto é chamada de atmosfera modificada pela embalagem (MAP) que é um meio passivo de criar alteração na composição gasosa ao redor do fruto durante o transporte e comercialização (PAUL & CLARKE, 2002).

Segundo PARK (1999), a seleção de um biofilme, que resultará em uma MAP favorável, deve ser baseada na taxa respiratória e nas concentrações ótimas de O₂ e CO₂ para o fruto. Para a maioria dos frutos, exceto aqueles que toleram altos níveis de CO₂, um biofilme adequado deve ser mais permeável ao CO₂ que ao O₂. KADER (2002) ressalta que é necessário preservar uma concentração mínima de O₂ dentro das embalagens para que a respiração aeróbia continue ocorrendo normalmente; entretanto, reduções bruscas na concentração de O₂ podem levar à condição de anaerobiose. Quando um biofilme é corretamente formulado, a composição gasosa no interior interfere na atividade metabólica do produto embalado. Nessa condição, há redução da velocidade do metabolismo, obtendo-se, por conseguinte, um atraso na maturação.

Os efeitos benéficos da aplicação de biofilmes em frutos incluem amadurecimento lento, com atrasos no desenvolvimento da coloração, do *flavor*, na perda de firmeza e de massa. Os biofilmes promovem uma barreira à umidade, a gases e ao movimento de solutos e conseqüentemente, reduz o metabolismo e as reações de oxidação. O uso de biofilmes associado à refrigeração, preserva a qualidade dos frutos, possibilitando melhor manutenção dos atributos sensoriais (LI & BARTH, 1998).

O desenvolvimento de biofilmes para reduzir a transferência de umidade, a oxidação ou a respiração em frutos é importante para prolongar sua conservação. O oxigênio está envolvido em muitas reações de degradação, tais como oxidação de ácidos graxos, crescimento de microrganismos, escurecimento enzimático, perda de vitaminas, formação de radicais livres. Entretanto sob outro aspecto, o oxigênio (O_2) e o dióxido de carbono (CO_2) são essenciais para a respiração de frutos e hortaliças. Assim, biofilmes com permeabilidade e seletividade apropriada a estes gases e ao vapor de água permitem estabelecer uma troca controlada entre o ambiente e a atmosfera ao redor dos frutos e hortaliças embalados e então a conservação destes pode ser prolongada (AYRANCI & TUNC, 2003). A permeabilidade ao O_2 e CO_2 aumenta com o peso molecular do polímero, com a temperatura de secagem e com a quantidade de plastificante adicionado à solução filmogênica. Isto pode ser atribuído à formação de poros na estrutura dos biofilmes. Estes poros são formados especialmente quando se adiciona mais que 15g de plastificante por 100g do polímero. Entretanto o aumento na quantidade de plastificante diminui a permeabilidade ao vapor de água o que é desejável por causa da importância da água na manutenção da aparência e perda de massa do fruto, mas aumenta o número de poros na matriz com o deslocamento das cadeias do polímero durante o processo de secagem o que aumenta a permeabilidade aos gases. Para melhorar as propriedades de barreira ao O_2 e CO_2 , alguns antioxidantes tais como ácido ascórbico e ácido cítrico poderão ser adicionados à composição do biofilme juntamente com o plastificante, pois antioxidantes supostamente diminuem a permeabilidade dos biofilmes a gases (AYRANCI & TUNC, 2003). De acordo com ARVANITTOYANNIS et al. (1998), a preparação e secagem de biofilmes a baixas temperaturas (22 °C) levaram ao desenvolvimento de alta porcentagem de áreas cristalinas (renaturação) da gelatina o que resultou em um decréscimo da ordem de 1 a 2 vezes na permeabilidade ao O_2 e CO_2 de filmes formados com uma mistura de gelatina e quitosana. Entretanto o aumento no conteúdo de plastificante nesta mistura foi proporcional ao aumento na permeabilidade aos gases, indicando maior deslocamento nas cadeias dos polímeros e conseqüentemente maior quantidade de poros na matriz polimérica e também maior flexibilidade do biofilme.

Biofilmes são tradicionalmente usados para melhorar a aparência e conservação dos alimentos. Atuam como barreiras durante o processamento, manuseio e armazenamento, além da habilidade para modificar sob medida a atmosfera ao redor de frutos e hortaliças que são

caracterizados pelo metabolismo ativo mesmo durante o armazenamento refrigerado (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 2006). Vários polímeros como ceras, polissacarídeos, proteínas, celuloses, lipídios, amidos, zeína e alginatos têm sido usados como cobertura comestível para prevenir a perda de massa de vários produtos (CHA & CHINNAN, 2004).

Recentemente na literatura foi constatado que cobertura de *Semperfresh*™ (carboximetilcelulose) reduziu a perda de massa, o amaciamento e aumentou a vida útil de cerejas doces (YAMAN & BAYINDIRH, 2002). A aplicação de revestimentos a base de carboximetilcelulose (CMC) reduziu a taxa respiratória, a perda de massa e inibiu parcialmente o aumento na atividade da polifenoloxidase de pêssegos e peras. Isto implica que a CMC forma uma barreira protetora sobre a superfície dos frutos e reduz o fornecimento de oxigênio (TOGRUL & ARSLAN, 2004), os mesmos autores verificaram que a vida útil e as mudanças de qualidade durante o armazenamento foram dependentes da concentração de CMC na emulsão filmogênica. Abacates revestidos com biofilmes a base de metil-celulose (MC) apresentaram taxa respiratória baixa, cor verde brilhante e alta firmeza quando comparados ao controle (não revestido) durante o armazenamento a 20 °C. O aparecimento de pontos escuros na casca e a descoloração do mesocarpo, associados normalmente com o amadurecimento do fruto, foram retardados nos frutos revestidos com MC (MAFTOONAZAD & RAMASWAMY, 2005). Segundo ALONSO & ALIQUÉ (2004) e MARTÍNEZ-ROMERO et al. (2006) em cerejas doces revestidas com biofilmes derivados de polissacarídeos, ácidos graxos e *Aloe vera* houve redução na taxa respiratória, perda de massa e no processo de amadurecimento. Estes tratamentos foram efetivos como barreira física durante o armazenamento pós-colheita.

JIANG et al. (2005) verificaram que revestimentos de quitosana, além de serem eficientes no controle de fungos e bactérias, são barreiras eficientes ao O₂ e CO₂. Os mesmos autores constataram que a aplicação de quitosana a 2% retardou o escurecimento da casca de lichias, inibiu o crescimento de fungos e manteve elevados os teores de sólidos solúveis e a acidez durante o armazenamento a 2 °C e à temperatura ambiente, sugerindo um aumento na vida útil do fruto. Estudos têm demonstrado que biofilmes a base de quitosana têm potencial para aumentar a conservação e a vida útil de frutos e hortaliças por inibirem o crescimento de microrganismos, reduzirem a produção de etileno, aumentarem o CO₂ interno e diminuir os níveis de O₂ (LAZARIDOU & BILIADERIS, 2002; DURANGO et al., 2006). Biofilmes a

base de gelatina de pele suína foram eficientes em reduzir a perda de água e aumentar em 20 dias a vida útil de goiabas brancas da variedade Kumagi armazenadas a 12 °C, este aumento na vida útil foi atribuído ao controle na taxa respiratória do fruto (FAKHOURI et al., 2003).

2.9.2 Respiração

Após a colheita, a respiração torna-se o principal processo fisiológico do fruto, pois uma vez colhido o mesmo não depende mais da absorção de água e minerais efetuados pelas raízes, da translocação de nutrientes pelo sistema vascular e nem da atividade fotossintética da planta mãe, mas sim de suas próprias reservas de substratos, acumulados durante o crescimento (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

A respiração consiste na decomposição oxidativa de substâncias complexas presentes nas células, como amido, açúcares, lipídios e ácidos orgânicos em moléculas simples, CO₂ e H₂O, para produção de energia (KLUGE, 2002). É um processo determinante na vida útil pós-colheita do fruto. Em função do padrão respiratório, os frutos são classificados em climatéricos e não climatéricos. Nos frutos climatéricos como o coco, a atividade metabólica aumenta muito com o pico climatérico, causando transformações físicas e bioquímicas no fruto e na água. Este processo é iniciado pela síntese endógena de etileno, que é aparentemente autocatalítica, e estimula a respiração e demais processos metabólicos, como degradação de clorofila, redução da acidez da água, aumento dos açúcares, degradação de compostos fenólicos, responsáveis pela adstringência, aumento dos ácidos graxos, etc.

A taxa respiratória depende tanto de fatores internos inerentes ao fruto como a espécie, a cultivar e o estágio de desenvolvimento, quanto externos como temperatura, composição atmosférica (concentrações de CO₂, O₂ e etileno), injúrias e estresses (KLUGE, 2002). A temperatura, associada às concentrações de O₂ e CO₂ durante o armazenamento, são os maiores determinantes da respiração. Com o manejo adequado destes fatores é possível reduzir a respiração a um nível mínimo sem causar injúrias ao fruto. Um aumento de 10 °C na temperatura eleva em 2 a 3 vezes a taxa respiratória aumentando o consumo de substrato e, conseqüentemente, diminuindo a vida pós-colheita do fruto (KLUGE, 2002).

A taxa respiratória é controlada por enzimas cuja atividade é altamente influenciada, ou mesmo determinada, pela temperatura em que o produto encontra-se exposto. Entretanto o aumento na respiração geralmente é uma resposta fisiológica às injúrias mecânicas decorrentes

do manuseio e armazenamento inadequados, sendo que, a espécie, a cultivar, o estágio de maturação no momento da colheita podem alterar esta resposta.

A elevação da taxa respiratória, causada muitas vezes pela concentração de etileno fisiologicamente ativo, resulta na aceleração de reações metabólicas, sendo estas responsáveis por alterações de coloração (escurecimento enzimático), *flavor* (aroma e sabor), textura e qualidade nutricional (BRECHT, 1995).

O₂ e CO₂ são moléculas biologicamente ativas muito importantes nos processos metabólicos primários (respiração, quebra do amido, consumo de açúcares) e secundários (metabolismo de etileno, pigmentos, fenólicos, parede celular e compostos voláteis). Isto tem levado à utilização de ambas para modificar o comportamento dos frutos e hortaliças com o propósito de estender a duração da vida útil. O foco da tecnologia pós-colheita sobre o uso de atmosfera modificada para melhorar a vida útil tem levado à investigação dos efeitos de pressões parciais das baixas concentrações de O₂ e elevadas de CO₂ sobre uma ampla variedade de frutos e hortaliças. Na medida em que fatores biológicos limitam a vida útil de uma variedade de produtos diferentes (ex: nem todos apresentam respostas ao etileno), o sucesso da atmosfera modificada tem sido variado e a faixa recomendada varia extremamente também (BEAUDRY, 1999).

Desta forma, quanto maior a atividade respiratória, maior será a atividade metabólica e mais rápida ocorrerá a transição da fase de maturação para a senescência e, em decorrência, menor será a vida útil do fruto, em virtude da rápida depreciação das características que conferem qualidade ao produto.

2.9.3 Etileno

O etileno (C₂H₄) é um fitohormônio que atua em diversas fases do fruto, como crescimento, desenvolvimento e senescência, mas seu papel principal é no amadurecimento de frutos climatéricos. É uma substância fisiologicamente ativa em concentrações menores do que 0,1µL L⁻¹ (KLUGE, 2002). Segundo JIANG et al. (2004), pequenas quantidades como 0,1ppm de etileno são suficientes para induzir a fase climatérica em bananas. A síntese de etileno pode ser induzida por fatores externos como temperaturas elevadas, injúrias mecânicas, promovendo sua atuação em sítios específicos dentro das células, usualmente ativando ou inibindo enzimas do ciclo metabólico, envolvidas em alterações bioquímicas e fisiológicas dos

tecidos (HAGENMAIER, 2005). Baixas concentrações de O₂ e elevadas de CO₂, em atmosfera controlada, reduzem a síntese de etileno e diminuem a ação deste sobre o metabolismo dos frutos. A sensibilidade à ação do etileno geralmente ocorre em atmosfera com níveis de O₂ acima de 8% e/ou CO₂ abaixo de 1% (KADER, 1995). O etileno está envolvido na aceleração do amadurecimento e senescência de frutos climatéricos. Em determinado estágio da maturação, o etileno se liga ao seu receptor na célula, um complexo protéico-enzimático, desencadeando uma série de eventos que culminam com o amadurecimento e senescência do fruto (PAZ et al., 2005). O amadurecimento de frutos climatéricos é coordenado e induzido e/ou induzido pelo etileno, enquanto que frutos não-climatéricos não apresentam alta produção de etileno, mas podem ser sensíveis a este fitohormônio durante a fase de pós-colheita. O climatério de frutos é acompanhado por mudanças físicas e químicas, como redução na firmeza da polpa e da acidez total titulável, evolução da cor, estas mudanças fazem parte do amadurecimento (ARCHBOLD & POMPER, 2003).

2.10 Análise Sensorial

Os testes sensoriais são tidos como garantia de qualidade por serem uma medida multidimensional integrada possuindo importantes vantagens, tais como: capacidade de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis; definição de características sensoriais importantes de um produto de forma rápida; capacidade de detectar particularidades que não podem ser detectadas por outros procedimentos analíticos. Quando a avaliação sensorial é aplicada, lança-se mão de um recurso poderoso para assegurar a integridade da qualidade de um produto no mercado (MUÑOZ et al., 1992).

O balanço adequado entre açúcares e ácidos e/ou entre os minerais na água de coco constituem o limite básico para o estímulo da gustação e têm associação com o prazer para as espécies animais, incluindo o homem, os quais são biologicamente dependentes de açúcares como fonte de energia metabólica e de vitaminas, minerais e compostos fenólicos para uma alimentação saudável. Como consequência, os nutrientes provenientes de fontes naturais como a água de coco, os frutos e os sucos de frutas naturais devem ser tradicionalmente aceitos como meio para melhorar a palatabilidade dos alimentos e bebidas, preenchendo e satisfazendo uma importante função na alimentação moderna, a de trazer benefícios à saúde.

As percepções de gostos e sabores dependem não somente das propriedades químicas e físicas das substâncias que estimulam os receptores da gustação e olfato, mas também das condições fisiológicas e psicológicas do ser humano (BLUNDELL & ROGERS, 1991).

2.10.1 Testes de aceitação

As análises de aceitação têm como objetivo avaliar a resposta dos indivíduos em relação a quanto gostam ou desgostam de um produto ou das características específicas do produto por meio de consumidores habituais ou potenciais do mesmo (REIS & MINIM, 2006). A utilização de testes aceitação tem aumentando entre as empresas de maior expressão no mercado que conhecem as preferências do consumidor, assegurando assim que sejam atendidas as expectativas do consumidor final (MEILGAARD et al., 1999).

A aceitabilidade de um produto foi definida pela ABNT (1993), como o grau de aceitação de um produto por um indivíduo ou população em termos de propriedades sensoriais. As propriedades sensoriais são influenciadas diretamente pela composição química e propriedades físicas de um produto. São percebidas pelo indivíduo como atributos de aparência, aroma, sabor e textura, os quais influenciam a qualidade e a competitividade entre os produtos (MOLNAR et al., 1992).

Os testes de aceitação que melhor avaliam a aceitabilidade de produtos e serviços são aqueles que utilizam os próprios consumidores desses produtos e os seus resultados proporcionam maiores oportunidades de ação. A análise da aceitação é de extrema importância, pois reflete o grau em que consumidores gostam ou desgostam de determinado produto. É muito utilizada para comparar produtos concorrentes; desenvolvimento de novos produtos e melhoria da qualidade. (STONE & SIDEL, 1993a, b). Pode ser realizada em laboratório de Análise Sensorial, por uma equipe formada por um número de 25 a 50 pessoas, que sejam representativas do público que se deseja atingir (STONE & SIDEL, 1993a).

Para medir a aceitação de um produto a escala hedônica de nove pontos ocupa lugar de destaque em termos de aplicabilidade entre todas as escalas e métodos já testados. A escala foi desenvolvida e descrita com detalhes por JONES et al. (1955), como parte de um grande esforço para avaliar a aceitabilidade de refeições militares; essa pesquisa estudou um número de escalas diferentes variando o comprimento e o número de categorias, bem como procurou selecionar as palavras mais apropriadas para serem usadas como âncora para cada categoria. A

pesquisa proporcionou uma escala de 9 pontos ou categorias, simples para descrever e de fácil uso e compreensão por parte dos consumidores (STONE & SIDEL, 1993b).

A escala hedônica é facilmente entendida por consumidores com o mínimo de instrução. Os resultados têm provado ser notavelmente estável e as diferenças são reproduzidas com diferentes grupos, considerando ainda que a escala é largamente usada por muitas empresas com sucesso em termos de confiabilidade e validade dos resultados. Entre os métodos sensoriais existentes para medir a aceitação e preferência de um grupo de provadores, o que utiliza escala hedônica de nove pontos é o mais aplicado (STONE & SIDEL, 1993a).

Segundo SCHLICH (1995), com a aplicação da análise de aceitação é possível transformar dados subjetivos em objetivos, e obter informações importantes sobre o grau com que as pessoas gostam ou não de um determinado produto. A técnica estatística de análise multivariada de Mapa de Preferência foi originada da psicometria (sensiometria) e baseada em estudos desenvolvidos pelos pesquisadores americanos CARROL & CHANG (1970). Os dados utilizados no Mapa de Preferência podem ser tratados de duas maneiras: análise interna (MDPREF) e análise externa (PREFMAP). No Mapa Interno de Preferência (MDPREF) das amostras somente são considerados os dados de aceitação. Nesse espaço multidimensional cada um dos consumidores é representado por um vetor e as amostras são representadas por pontos no espaço. A ordem de projeção das amostras sobre os vetores permite que se observe a preferência de cada julgador (McFIE & THOMSON, 1988).

O Mapa Externo de Preferência (PREFMAP) utiliza uma regressão para expressar os dados de aceitação de cada indivíduo em relação aos dados de análise descritiva quantitativa (ADQ) da equipe sensorial, obtida através da Análise dos Componentes Principais (ACP) ou dados de análise instrumental (GREENNHOF & McFIE, 1994).

2.11 Revestimentos biodegradáveis ou biofilmes

2.11.1 Importância e aplicação dos biofilmes

Atualmente o conceito tradicional de embalagens flexíveis vem sofrendo grandes modificações. Não basta apenas ser atraente, inviolável ou simplesmente conservar a aparência e o sabor dos alimentos para satisfazer as exigências do consumidor moderno e garantir um lugar no mercado para o produto. A embalagem deve ser também biodegradável ou no mínimo

reciclável para não agredir o meio ambiente. Pesquisas mostram que 70% dos consumidores nos países desenvolvidos, estão dispostos a pagar mais por produtos éticos e acondicionados em embalagens biodegradáveis (FOLHA DE SÃO PAULO, 2003).

A questão do impacto ambiental associado ao alto custo de reciclagem das embalagens plásticas tem favorecido as pesquisas sobre biofilmes, que são filmes flexíveis elaborados com polímeros biológicos, capazes de formar adequadamente uma matriz coesa e contínua (GONTARD & GUILBERT, 1996). O consumidor tem buscado, cada vez mais, alimentos com maior qualidade e com vida útil mais longa, sem desconsiderar os efeitos tóxicos ou prejudiciais que os polímeros sintéticos, hoje muito utilizados como materiais de embalagem provocam no meio ambiente.

Além de desempenharem funções de conservação semelhantes aos polímeros sintéticos, os biofilmes apresentam como grande vantagem o fato de não gerarem resíduos sólidos, pois podem ser consumidos junto com os alimentos ou serem facilmente degradados pela ação de microrganismos de ocorrência natural no meio ambiente (CHANDRA & RUSTGI, 1998). Assim, eles podem ser classificados em comestíveis e/ou biodegradáveis, dependendo dos constituintes utilizados para sua produção e da quantidade das substâncias empregadas (SHIH, 1996).

Os biofilmes podem ser de dois tipos: coberturas, quando são aplicadas diretamente nas superfícies dos alimentos, e filmes, que são películas finas formadas sobre um suporte. Ambos podem ser definidos como uma fina camada contínua formada ou depositada no alimento, preparada a partir de materiais biológicos, que pode agir como barreira a elementos externos (umidade, óleos, gases), protegendo, aumentando sua vida útil e oferecendo integridade estrutural adicional aos alimentos (KROCHTA & MULDER-JOHNSTON, 1997).

Aplicações potenciais e propriedades de biofilmes e coberturas biodegradáveis, bem como seus efeitos sobre a extensão da vida útil de frutos e hortaliças têm sido revisados por muitos autores (BAI et al., 2003; TOGRUL & ARSLAN, 2004; YAMAN & BAYOINDIRLI, 2002; HAGENMAIER, 2002; XU et al., 2001). Algumas vantagens do uso de biofilmes incluem redução da perda de água, atraso no amadurecimento, redução do *chilling* e injúria mecânica, redução da deterioração e aumento do brilho, além do uso como carreadores de ingredientes úteis como, compostos antimicrobianos, aditivos de cor e aroma, compostos antioxidantes ou anti-amadurecimento (CHEN & NUSSINOVITCH, 2000, 2001). As coberturas e

filmes ainda promovem uma barreira semipermeável ao O₂, CO₂, umidade e movimento de solutos, reduzem a respiração e conseqüentemente, o metabolismo e as taxas de reações oxidativas (LEE et al., 2003; AYRANCI & TUNC, 2003; AMARANTE et al., 2001 a,b).

Na última década houve um grande aumento nas pesquisas envolvendo biofilmes para prolongar a vida útil e melhorar a qualidade de alimentos frescos, congelados e industrializados, impulsionadas pela preocupação ambiental, aumento das exigências dos consumidores por alimentos frescos e minimamente processados e oportunidades para a abertura de novos mercados às matérias-primas formadoras de biofilmes (DIAB et al., 2001).

Para frutos muito sensíveis, os biofilmes e coberturas comestíveis desempenham funções de proteção contra danos mecânicos e contaminação microbiana (CARVALHO FILHO, 2000). A aplicação de biofilmes semipermeáveis também tem demonstrado aumentar a vida útil de vários frutos tropicais perecíveis como a lichia (ZHANG & QUANTICK, 1997) e a manga (BALDWIN et al., 1999). Sua utilização visa controlar a migração de água, a permeabilidade ao O₂, ao CO₂, a migração lipídica e manter qualidades desejáveis relacionadas à cor, sabor, aroma, doçura, acidez e textura. Além disto, os biofilmes têm despertado interesses em função das possíveis aplicações adicionais, tais como habilidade em funcionar como suporte de substâncias úteis e embalagens ativas (seletividade a gases e solutos) (HAN, 2000).

O uso de coberturas e filmes comestíveis nem sempre pode substituir uma embalagem sintética não comestível para prolongar o armazenamento. Sua utilização está relacionada a um complemento mais ecológico e econômico aos materiais de embalagem sintéticos (KESTER & FENNEMA, 1986). Por atuarem tanto como embalagens, quanto como componentes do alimento, as coberturas e filmes devem cumprir alguns requisitos específicos para seu uso como: boa qualidade sensorial; propriedades mecânicas e de barreiras eficientes; estabilidades bioquímica, físico-química e microbiológica; inocuidade; não poluente; processamento simples e baixo custo (DEBEAUFORT et al., 1998).

De acordo com GENNADIOS & WELLER (1990), os filmes e coberturas comestíveis apresentam as seguintes vantagens comparadas com embalagens de polímeros sintéticos tradicionais: a) Reduzem a poluição ambiental; b) Podem melhorar as propriedades sensoriais dos alimentos incorporando vários componentes (condimentos, corantes, adoçantes) aos mesmos; c) Melhoram as características nutricionais dos alimentos, particularmente os

filmes a base de proteínas; d) Podem ser aplicados no interior de produtos heterogêneos e e) Podem ser usados como transportadores de agentes antimicrobianos ou antioxidantes.

Entretanto, as informações técnicas envolvidas nas formulações e aplicações de biofilmes estão longe de adequadas, deixando os cientistas com a tarefa de desenvolver filmes e revestimentos específicos para cada tipo de alimento (DONHOWE & FENNEMA, 1994).

2.11.2 Constituintes para biofilmes

Os biofilmes são produzidos a partir de macromoléculas, como proteínas, polissacarídeos ou lipídios, capazes de produzir matrizes contínuas e coesas (GUILBERT et al., 1997). Os biofilmes a base de lipídios (monoglicerídeos, ácidos graxos, ceras naturais, etc) são efetivos como barreira à umidade e troca de gases, devido à hidrofobicidade. Outros, à base de polissacarídeos (celulose, pectina, amido, alginatos, quitosana e gomas), possuem boa barreira a gases (O_2 e CO_2), mas não à água, provavelmente relacionada à alta polaridade dos compostos. Os biofilmes de proteínas apresentam excelentes propriedades de barreiras ao O_2 e CO_2 , mecânicas (resistência à ruptura e deformação) e óticas, entretanto, são altamente permeáveis ao vapor de água devido ao seu caráter hidrofílico. Entre as principais proteínas usadas na elaboração de filmes estão as do soro do leite (caseína), do milho (zeína), do trigo (glúten), da soja, do ovo (albumina) e da gelatina (colágeno) (GUILBERT, 1986).

Dessa forma, muitas coberturas e biofilmes são produzidos atualmente por meio da combinação de várias macromoléculas com compostos hidrofóbicos (BALDWIN et al., 1997), com o objetivo de melhorar as características de permeabilidade, resistência, flexibilidade e valor nutricional (AMARANTE & BANKS, 2001).

A elaboração do biofilme envolve a utilização de pelo menos um agente formador de filme (macromoléculas), solvente (água, etanol, entre outros), plastificante (glicerol, sorbitol, etc) e agente ajustador de pH (ácido acético, NH_4OH , etc). A formação de biofilmes envolve associações inter e intramoleculares ou ligações cruzadas de cadeias de polímeros formando uma rede tridimensional semi-rígida que retém o solvente (THARAHATHAN, 2003). A transformação da solução filmogênica em biofilmes é consequência destas interações intermoleculares (CARVALHO, 2002).

Assim, de acordo com os materiais usados os biofilmes e coberturas podem ser simples, compostos ou ainda serem formados por camadas. Os biofilmes compostos de

macromoléculas e lipídios apresentam a vantagem de reunir os pontos positivos de cada um, apresentando boa barreira ao vapor de água, a gases, além de propiciar boas propriedades mecânicas (AMARANTE & BANKS, 2001).

O processo de produção dos biofilmes a partir da solução filmogênica envolve uma primeira etapa de solubilização da macromolécula em um solvente, ao qual podem ser incorporados diversos aditivos (plastificantes e agentes reticulantes, etc); na segunda etapa, a solução é espalhada sobre um suporte e submetida à secagem (CUQ et al., 1995). Na elaboração dos biofilmes, cada um dos constituintes apresenta uma finalidade específica, conforme descrito abaixo.

2.11.2.1 Macromoléculas

A celulose e a quitina são os dois biopolímeros mais abundantes na face da terra. Suas estruturas lineares, complexas e multifuncionais tornam seus filmes resistentes, flexíveis e transparentes (THARANATHAN, 2003; SHAHIDI et al., 1999). A gelatina é obtida de ossos e ou de pele de suínos e bovinos; no Brasil é produzida em abundância e a baixo custo e com propriedades funcionais adequadas para a fabricação de biofilmes (FERREIRA, 2006).

2.11.2.1.1 Quitosana

A quitosana é um polímero natural obtido pela desacetilação da quitina e apresenta reconhecida propriedade antimicrobiana (bactericida, bacteriostática, fungicida e fungistática) e cicatrizante (CRAVEIRO et al., 1999). É biocompatível e naturalmente degradada no organismo (o monômero e os oligômeros de glucosamina são substâncias que participam de rotas do metabolismo animal). Forma géis em soluções ácidas fracas, o que possibilita sua utilização em formulações de biofilmes para aplicações na conservação de frutos e hortaliças e no controle de doenças fitopatológicas ocasionadas por fungos e bactérias.

A quitina e a quitosana vêm despertando grande interesse de cientistas e tecnólogos como materiais poliméricos com aplicações na área de alimentos. Estes polissacarídeos, além de apresentarem propriedades biológicas adequadas, ainda têm diversas outras características tecnológicas e economicamente relevantes. São resíduos da indústria da pesca produzidos a partir do processamento da carapaça dos crustáceos e apresentam um grande valor comercial

devido a sua alta porcentagem de nitrogênio (6,89%), quando comparada à celulose substituída sinteticamente (1,25%), tornando-os agentes quelantes (RABEA et al., 1993).

Devido à disponibilidade mundial desta matéria-prima, são encontrados na literatura diversos métodos para a extração e a caracterização da quitina, principalmente aquela proveniente da carapaça de crustáceos, além de métodos para a obtenção e a caracterização da quitosana e de biofilmes à base de quitosana.

A quitina é o segundo polímero mais abundante na natureza. É um polissacarídeo constituído por uma seqüência linear de açúcares monoméricos do tipo β -(1-4)2-acetamido-2-deoxi-D-glicose (N-acetilglicosamina), possuindo, assim, estrutura semelhante à das fibras de celulose. A diferença estrutural entre estas duas fibras se deve aos grupos hidroxila, localizados na posição dois, que são substituídos na quitina por grupos acetamino (Figura 3). A principal fonte natural de obtenção é a carapaça de crustáceos (caranguejos, camarões, lagostas e siris), podendo também ser encontrada em insetos, moluscos e na parede celular de fungos. A quitina apresenta grande variedade de usos, principalmente na indústria alimentícia, têxtil e de cosméticos. Entretanto, sua maior aplicação encontra-se na produção de quitosana, utilizada em diversas aplicações na indústria de alimentos, farmacêutica, de cosméticos, médica e no meio-ambiente.

Durante a desacetilação alcalina da quitina, ligações N-acetil do polímero são rompidas, formando-se a D-glicosamina, que contém um grupo amino livre. Entretanto, a quitosana não pode ser considerada uma molécula uniforme e sim um grupo de polímeros parcialmente desacetilados, dos quais, os que apresentam grau de desacetilação acima de 50% podem ser considerados como quitosana (CRAVEIRO et al., 1999). As aplicações e propriedades da quitosana dependem fundamentalmente do grau de desacetilação e do tamanho da cadeia polimérica. Assim sendo, um rígido controle das condições reacionais é essencial em um processo em escala industrial para que se obtenha um polímero de cadeia longa e com grau de desacetilação na faixa desejada. Outra opção de produção industrial de quitosana se faz através da desacetilação microbiológica, utilizando-se enzimas específicas ou microrganismos.

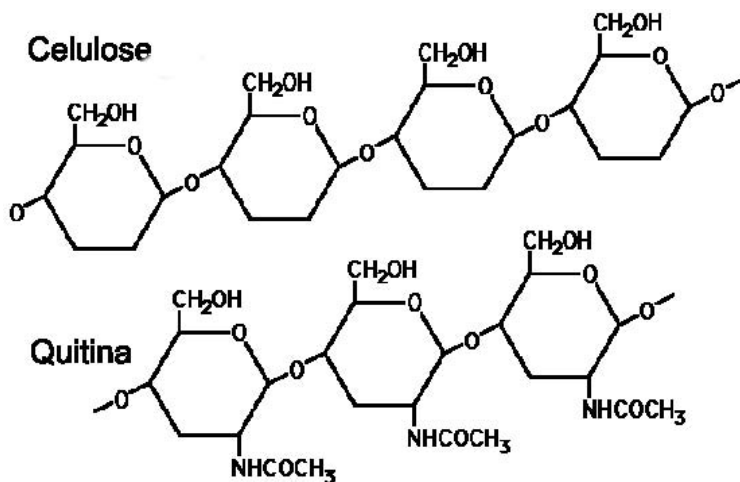


Figura 3. Diferenças entre as estruturas da celulose e da quitina.

A quitosana é uma das poucas fibras naturais solúveis em meio ácido, como por exemplo, suco de limão, vinagre ou suco gástrico. As estruturas químicas da quitina e da quitosana podem ser comparadas na Figura 4.

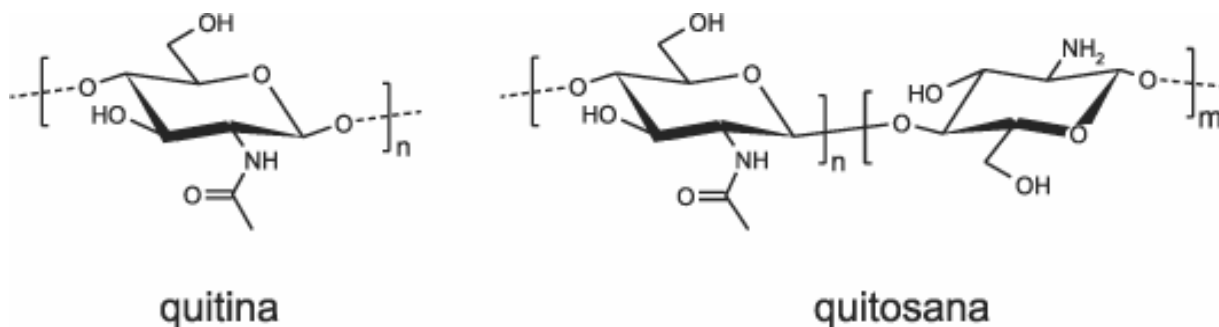


Figura 4. Estruturas químicas dos polissacarídeos quitina e quitosana.

A quitina e a quitosana são biologicamente sintetizadas em um total de aproximadamente um bilhão de toneladas anualmente (CRAVEIRO et al., 1999), sendo biodegradadas sem acúmulo excessivo na natureza, por meio do ciclo da quitina. As enzimas hidrolíticas envolvidas neste processo (lisozima, quitinase, quitina deacetilase e quitosanase) estão largamente distribuídas nos tecidos e fluidos corpóreos dos animais, nas plantas, além de também se encontrarem presentes em microrganismos do solo.

Propriedades e aplicações da quitosana

A quitosana é insolúvel em água, ácidos concentrados, álcalis, álcool e acetona, sendo completamente solúvel em soluções de ácidos orgânicos quando o pH da solução é menor do que seis. Alguns ácidos inorgânicos e diluídos, tais como o nítrico, perclórico ou fosfórico, podem ser utilizados no preparo de soluções de quitosana, entretanto, a solução deve ser mantida sob agitação e aquecimento durante um longo período para que ocorra a completa dissolução do polissacarídeo.

Outra propriedade química importante refere-se à carga da quitosana em meio ácido. Este polímero se comporta como um polieletrólito, ou seja, apresenta uma alta densidade de carga (uma carga positiva por unidade de glicosamina). Uma vez que biomoléculas como proteínas, polissacarídeos aniônicos, ácidos nucleicos e ácidos graxos, dentre outras, podem apresentar cargas negativas em suas superfícies, freqüentemente verifica-se apreciável interação destas com a quitosana, o que justifica sua atividade sobre elas.

A quitosana é um excelente floculante devido à presença do grande número de grupos amino (NH_3^+) em sua estrutura, os quais podem interagir com colóides carregados negativamente. Como exemplo, tem-se a facilidade de aderência da quitosana em polímeros naturais constituídos por proteínas e mucopolissacarídeos com cargas negativas. Outra importante propriedade da quitosana refere-se a sua capacidade de complexação com diversos íons metálicos, sendo, deste modo, útil na quelação do ferro, cobre e magnésio. Tal fato possibilita sua utilização em processos de remoção de íons de metais pesados tóxicos, tais como prata, cádmio, mercúrio, chumbo, níquel e cromo que se encontram em níveis acima dos limites de tolerância e/ou permitidos.

Atualmente, as maiores aplicações da quitosana estão centralizadas na purificação da água, no processamento de alimentos e na quelação de íons metálicos. A tendência atual para aplicações industriais concentra-se em produtos de alto valor agregado, como cosméticos, agentes de liberação de fármacos no organismo, aditivos alimentares, biofilmes semipermeáveis e produtos farmacêuticos. Recentemente, foi relatado o grande potencial da quitosana na área de biotecnologia, podendo ser utilizada na forma de flocos, gel ou membrana na imobilização de células em meios de cultura.

Atividade antimicrobiana

O uso de substâncias bioativas, como a quitosana para o controle de doenças fúngicas na pós-colheita, tem atraído a atenção de muitos pesquisadores nos últimos anos, devido aos problemas iminentes associados com agentes químicos, que incluem resistência dos consumidores aos produtos tratados com fungicidas, aumento do número de patógenos pós-colheita tolerantes a fungicidas e o número de fungicidas que ainda estão sob observação (EL GHAOUTH et al., 1997, 1992a). A quitosana reduz o crescimento de vários fungos *in vitro*, com exceção dos zigomicetos, que a contém como principal componente de sua parede celular (ALLAN & HADWIGER, 1979). Além de formar filmes semipermeáveis a gases, a quitosana tem atividade antimicrobiana e ativa vários mecanismos de defesa (WILSON et al., 1994, 1997; ROMANAZZI et al., 1999). Estes mecanismos de defesa estão associados com o acúmulo de quitinases, quitonases e β -1, 3-glucanases, sínteses de inibidores de proteinases, produção de fitoalexinas e indução à síntese de calos e lignificação (REDDY et al., 1999; FAJARDO et al., 1998; ZHANG & QUANTICK 1998; WILSON et al., 1994; EL GHAOUTH et al., 1992b).

Alguns pesquisadores explicam a atividade antimicrobiana da quitosana por seus grupos amínicos que, uma vez em contato com os fluidos fisiológicos, provavelmente são protonados e se ligam a grupos aniônicos desses microrganismos, resultando na aglutinação das células microbianas e inibição do crescimento (RAVI KUMAR, 2000). Estudos mais recentes, entretanto, revelam que o mecanismo da atividade antimicrobiana da quitosana está intimamente relacionado às propriedades físico-químicas do polímero e às características da membrana do microrganismo. Micrografias eletrônicas de *S. aureus* (bactéria gram-positiva) e *E. coli* (bactéria gram-negativa) na presença de quitosana mostram que a membrana do *S. aureus* foi enfraquecida ou até mesmo fragmentada, enquanto o citoplasma da *E. coli* foi concentrado e o interstício da célula, ampliado (LIU et al., 2006; LIFENG et al., 2004). A atividade antimicrobiana da quitosana é distinta para os dois tipos de bactérias, sendo que nas gram-positivas a atividade antimicrobiana é maior quanto maior a massa molecular do polímero, enquanto que, nas gram-negativas, quanto menor a massa molecular da quitosana, maior a atividade antimicrobiana (ZHENG & ZHU, 2003). Os autores sugerem que a quitosana de alta massa molecular forma películas ao redor da célula das gram-positivas que acabam por inibir a absorção de nutrientes, enquanto que quitosana de baixa massa molecular

penetra mais facilmente nas bactérias gram-negativas, causando-lhes distúrbios no metabolismo.

A atividade fungistática da quitosana tem sido documentada em estudos *in vitro* e *in vivo*. A literatura geralmente relata que o nível de inibição do fungo é altamente correlacionado com a concentração de quitosana, indicando que o desempenho da mesma está relacionado à aplicação de uma taxa apropriada. Acredita-se que a natureza policatiônica deste composto e o comprimento da cadeia polimérica são a chave para suas propriedades antifungo. Além disto, a quitosana poderá interferir na síntese de algumas enzimas fúngicas. Estudos recentes têm demonstrado que a quitosana não é efetiva somente em reduzir o crescimento de patógenos, mas também induz acentuadas mudanças morfológicas, alterações estruturais e desorganização molecular nas células do fungo (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006; AIT BARKA et al., 2004).

A atividade fungistática da quitosana sobre o crescimento de patógenos pós-colheita foi estudada por EL GHAOUTH et al. (2000, 1992a) e REDDY et al. (2000). De acordo com estes autores, a glicoquitosana e a quitosana, respectivamente, reduziram o crescimento radial de *Candida saitoana* em maçã e citrus, e de *Botritis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* em morangos. O mesmo efeito foi observado por ROMANAZZI et al. (2001 e 2003) em cerejas doces tratadas com quitosana.

EL GHAOUTH et al. (1992a) constataram ainda que um grande número de grupos com cargas positivas alternados ao longo do comprimento da cadeia são determinantes para a ação fungistática da quitosana. A *N-O*-carboximetilquitosana tem uma baixa atividade antifungo, quando comparada à própria quitosana em função do reduzido número de cargas positivas ao longo da cadeia.

Em uma pesquisa *in vivo*, EL GHAOUTH et al. (1992b) relataram sinais de infecção em morangos cobertos com quitosana após 5 dias de armazenamento a 13 °C, quando comparados ao primeiro dia do tratamento controle. Após 14 dias de armazenamento, a cobertura de quitosana (15 mg mL⁻¹), reduziu a podridão de morangos causada por *Botritis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* em mais de 60%. Também observaram que os frutos cobertos amadureceram normalmente e não mostraram nenhum sinal aparente de fitotoxicidade. SAVAGE & SAVAGE (1994) relataram que maçãs cobertas com quitosana apresentaram redução de incidência de mofo, por um período superior a 12 semanas. A podridão de raízes

de cenouras causado por *Sclerotinia* foi reduzida de 88% para 28%, quando foram cobertas com soluções contendo 2 ou 4% de quitosana (CHEAH & PAGE, 1997).

Os efeitos das aplicações de filmes e coberturas de quitosana sobre o escurecimento enzimático de lichia (*Litch chinensis* Sonn.), “longan” (*Dimocarpus longan* Lour.) e “water chestnut” (*Eleocharis tuerosa*) foram pesquisados por ZHANG & QUANTICK (1997, 1998); JIANG & LI (2001) e PEN & JIANG (2003), respectivamente. Os autores relataram que este tipo de cobertura reduziu a quantidade de antocianinas, flavonóides e fenólicos totais, além de ter reduzido a atividade da polifenoloxidase (PPO), fenilalanina amônia-liase (FAL) e inibido parcialmente o aumento na atividade da peroxidase (POD). Assim, a extensão do tempo de armazenamento e o melhor controle de podridões em frutos e hortaliças pela aplicação de revestimentos de quitosana têm sido relatados por vários autores (DU et al., 1997; SHAHIDI et al., 1999; LI & YU, 2000; SU et al., 2001). Estes resultados podem ser atribuídos ao decréscimo na taxa de respiração, inibição no desenvolvimento de fungos e atraso no amadurecimento devido à redução do etileno e evolução do CO₂.

As características de compatibilidade, biodegradabilidade e atoxidez, além das propriedades biológicas, antimicrobianas, coagulante, hipocolesterolêmica e regeneradora da quitosana, fazem deste composto um excelente material para a indústria de alimentos e farmacêutica. Além disso, o fato de ser obtida abundantemente em áreas costeiras fornece a viabilidade econômica a sua produção (SILVA et al., 2006; BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006).

2.11.2.1.2 Gelatina

Entre os diversos materiais pesquisados para a produção de biofilmes comestíveis e/ou biodegradáveis, a gelatina tem merecido destaque por ser produzida em abundância, a baixo custo e com propriedades funcionais adequadas para a fabricação de biofilmes (CARVALHO, 1997). A gelatina é uma proteína de origem animal obtida do colágeno por hidrólise ácida ou básica (POPPE, 1997), amplamente utilizada na indústria alimentícia e farmacêutica. É facilmente digerida e contém a maioria dos aminoácidos essenciais, exceto o triptofano. É o principal componente da estrutura de tecidos conectivos brancos e está presente em órgãos, ossos e peles. Assim, constitui-se em quase 30% da proteína total em vertebrados e invertebrados (POPPE, 1997).

As propriedades da gelatina (distribuição de massa molecular, estrutura e composição em sub-unidades) dependem do processo de obtenção e da matéria prima (BELL, 1989). A gelatina é composta de longas cadeias de aminoácidos unidas por ligações peptídicas. É uma proteína solúvel em água (em temperaturas acima de 50°C), obtida por hidrólise (ácida ou básica) do colágeno de ossos, peles bovinas, suínas e de tecidos conectivos. Gelatinas são produzidas através da degradação de grandes estruturas, resultando em uma variedade de espécies peptídicas, pois em geral a degradação não é completamente uniforme, produzindo gelatinas não homogêneas no que se refere à massa molecular (JOHNSTON-BANKS, 1990).

A grande variedade de tipos de gelatina existentes deve-se à complexidade do colágeno e à variedade de tratamentos químicos e enzimáticos que podem ser utilizados para sua obtenção. Gelatinas comerciais podem ser divididas em dois grupos: gelatina do tipo A, obtida por pré-tratamento ácido, possuindo ponto isoelétrico entre 7,0 e 9,0, e gelatina do tipo B, obtida por pré-tratamento básico, com ponto isoelétrico situado entre 4,6 e 5,2 (GENNADIOS et al., 1994). Para a obtenção da gelatina comercial primeiramente faz-se um pré-tratamento para retirar as impurezas (gorduras, mucopolissacarídeos e outros compostos orgânicos) e iniciar o processo de hidrólise, onde o colágeno é desnaturado a 40°C e posteriormente realiza-se a hidrólise (ácida ou básica) para quebra das ligações covalentes (GENNADIOS et al., 1994). Além de serem classificadas pelo seu ponto isoelétrico, as gelatinas são avaliadas pela sua viscosidade, granulometria e poder de geleificação ou *Bloom*, podendo ser encontrada comercialmente entre 50 a 300 *Bloom* (GELITA, 2006).

Estruturalmente a gelatina diferencia-se das outras proteínas pela ausência de ordem interna e pela configuração aleatória das cadeias de polipeptídios em solução aquosa (GENNADIOS et al., 1994). Fisicamente, as principais características da gelatina são sua solubilidade em água e capacidade de formar gel termo-reversível (após aquecimento e resfriamento). O mecanismo de formação do gel envolve interligações iônicas entre grupos amino e carboxil dos aminoácidos com a ajuda de pontes de hidrogênio (KESTER & FENNEMA, 1986). Em termos moleculares, a formação de gel de gelatina em solução envolve a reestruturação (renaturação), ou seja, de um estado molecular desordenado para estruturas de tripla hélice características do colágeno original. A renaturação da tripla hélice age como junções na formação da rede tridimensional e é responsável pelas propriedades mecânicas dos filmes e pela formação do gel (ACHET & HE, 1995). A massa molecular da

gelatina pode variar de 300 a 200.000 (kDa) dependendo do tipo de matéria-prima e do processo de fabricação (GENNADIOS et al., 1994).

A gelatina é comercializada na forma de cristais de coloração amarelo-palha (BIGI et al., 2001), os quais são insolúveis em água fria, mas absorvem água em até dez vezes seu peso, aumentando muito de tamanho. Essa característica depende da área superficial dos cristais por unidade de peso (PRIEBBENOW, 1995).

Assim, a gelatina pode ser dissolvida indiretamente, deixando-se seus cristais em repouso até formar uma massa homogênea, sendo então levados ao aquecimento (50-60°C) até a sua completa dissolução. A dissolução direta é obtida com a adição de água quente (60-80°C) sob forte agitação, o que pode ocasionar a formação de espuma (JONSTON-BANKS, 1990), sendo inconveniente na elaboração de biofilmes comestíveis.

A gelatina tem sido mais utilizada na fabricação de coberturas comestíveis, como barreira à migração de oxigênio, umidade e óleo, ou ainda como meio de fixação de agentes antimicrobianos ou antioxidantes (KROCHTA & MULDER-JOHNSTON, 1997). As características de barreira a umidade de biofilmes feitos com gelatina podem ser melhoradas por meio das interligações dessas proteínas com ácido lático ou tânico (KESTER & FENNEMA, 1986).

Vários trabalhos publicados relatam as propriedades de biofilmes elaborados à base de gelatina. SOBRAL (1999) estudou as propriedades funcionais da gelatina em função da espessura; CARVALHO (2002) verificou as mudanças provocadas nos filmes modificados enzimaticamente e quimicamente em relação às propriedades funcionais dos mesmos. FAKHOURI (2002) e BERTAN (2005) estudaram a adição de substâncias hidrofóbicas nos biofilmes de gelatina e as mudanças provocadas em suas características funcionais.

Em relação à conservação pós-colheita, os filmes de gelatina ampliaram a vida útil de frutos. Goiabas brancas no estágio “verde maturo” revestidas com gelatina, triacetina e ácido láurico, armazenadas a 12° C durante 20 dias, tiveram um aumento de 12 dias na vida útil em relação ao fruto sem cobertura (FAKHOURI, 2002).

2.11.2.1.3 Carboximetilcelulose (CMC)

A celulose é o principal componente estrutural das plantas e também a fonte mais abundante de carboidratos complexos do mundo. O uso da celulose como material para

formação de filmes comestíveis pode ser obtido por meio de modificações químicas apropriadas e sob medida na sua estrutura obtendo-se os éteres-ésteres de metil-celulose (MC), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), hidroxipropilcelulose (HPC) e carboximetilcelulose (CMC) (ARVANITOYANNIS & BILIADERIS, 1999). A maior parte da produção comercial de ésteres de celulose é de carboximetilcelulose e metilcelulose, sendo aproximadamente 83% da produção.

A CMC é um derivado de celulose produzido via reação de Williamson, que consiste no tratamento da celulose com ácido monocloroacético em presença de excesso de hidróxido de sódio; assim a CMC geralmente é isolada e comercializada como sal de sódio, o qual, quando dissolvido, apresenta-se como éter aniônico de celulose. A CMC apresenta algumas vantagens em relação à maioria dos ésteres de celulose: pode ser produzida à pressão atmosférica; apresenta grupos carboxilatos que lhe conferem solubilidade em água quando seu grau médio de substituição (GS) é maior que 0,5; possui grau de polimerização (GP) que lhe confere maior peso molecular e conseqüentemente maior viscosidade quanto maior for o GP e pode ser obtida de biomassa vegetal abundante e barata, como o bagaço de cana-de-açúcar (FUJIMOTO et al., 2002).

A CMC tem excelentes propriedades formadoras de filmes. Biofilmes a base de CMC são flexíveis, transparentes, sem odor; têm resistência moderada à ruptura; são resistentes a óleos e à migração de gorduras; solúveis em água e funcionam como barreira moderada à umidade e ao oxigênio, mas não ao vapor de água (KESTER & FENNEMA, 1986; KROCHTA & MULDER-JOHNSTON, 1997). As propriedades de barreira ao vapor de água podem ser melhoradas com a adição de lipídios na solução formadora de filme (BRAVIN et al., 2006; MAFTOONAZAD & RAMASWAMY, 2005). As propriedades mecânicas e de barreira de biofilmes à base de CMC são dependentes do seu peso molecular, sendo que quanto maior o peso molecular, melhores são as propriedades (KROCHTA et al., 1994).

Várias pesquisas têm sugerido o uso de CMC como uma cobertura apropriada para diversos produtos (DEL-VALLE et al., 2005; DEBEAUFORT & VOILLEY, 1997; AYRANCI & TUNC, 2001) e também têm sido extensivamente aplicada para retardar a perda de qualidade de produtos frescos como tomates, cerejas, feijões frescos, morangos, mangas e bananas (YAMAN & BAYOMDIRH, 2002; KITTUR et al., 2001; BALDWIN et al., 1999; AYRANCI & TUNC, 2003; ZHUANG et al., 1996).

‘Tal-prolong’ e ‘SemperfreshTM’ são duas formulações de coberturas baseadas em CMC, disponíveis no mercado para comercialização (NISPERO-CARRIEDO et al., 1992), que contém ésteres de ácidos graxos de sacarose, sais de sódio de CMC e emulsificantes. São encontradas na forma de pó ou granulares; suas soluções aquosas na concentração de 0,5 a 2% têm sido usadas para estender a vida útil de bananas e outros frutos. Bananas cobertas mostram decréscimos nos níveis de O₂, elevação na produção de etileno durante o climatério e menor perda de clorofila. Cobertura de ‘Tal-prolong’ (1%) aplicada em manga reduziu o amadurecimento e estendeu a vida útil. ‘Nature-seal’ é outra formulação de cobertura a base de celulose que tem sido usada para retardar o amadurecimento em tomates e mangas (THARANATHAN, 2003).

O desempenho do biofilme de CMC depende da composição, condições de armazenamento e tipo de fruto. Biofilmes contendo CMC aumentaram a vida útil de pêssegos e pêras de 12 para 16 dias, sendo que a combinação de CMC (que é um polímero hidrofílico) com cera de abelha (como agente hidrofóbico), trietanolamina e ácido oléico (como agentes emulsificantes) ou com óleo de soja (como agente hidrofóbico) e oleato de sódio (como agente emulsificante) formaram emulsões filmogênicas mais apropriadas para cobertura de pêssegos e pêras, respectivamente (TOGRUL & ARSLAN, 2004).

2.11.2.2 Plastificantes

Os plastificantes são definidos como substâncias com alto ponto de fusão e baixa volatilidade. Quando adicionados a outro material provocam mudanças nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos mesmos (McHUGH & KROCHTA, 1994). Além disso, em sua maioria, apresentam caráter hidrofílico, e, por serem normalmente moléculas pequenas, são facilmente acoplados entre as cadeias poliméricas devido à sua habilidade em reduzir a formação de pontes de hidrogênio entre estas, causando um aumento no volume livre ou na mobilidade molecular do polímero (BODMEIER & PAERATAKUL, 1997).

A incorporação de plastificante em biopolímeros modifica a organização molecular tridimensional, diminuindo as forças de atração intermoleculares e aumentando o volume livre do sistema. Conseqüentemente, a rede torna-se menos densa com decréscimo das forças, melhorando a flexibilidade e extensibilidade dos biofilmes (SOTHORNI & KROCHTA, 2000). Segundo DEBEAUFORT & VOLLEY (1997), o plastificante também pode agir como

lubrificante da cadeia de biopolímeros, garantindo a flexibilidade do biofilme. A habilidade dos plastificantes em mudar as propriedades físicas e de permeabilidade à água do filme depende de sua estrutura química (massa molecular, configuração e o número total de grupos hidroxil funcional) e compatibilidade com o polímero e solvente (FERREIRA, 2006). O plastificante deve ser miscível ao polímero e ao solvente, para evitar a separação prematura no decorrer do processo de secagem, causando uma diminuição da flexibilidade do biofilme. Geralmente, a concentração de plastificante usado na elaboração de biofilmes varia de 10 a 60 g por 100 g de matéria seca de polímero, dependendo da rigidez desejável (GUILBERT, 1986).

Vários plastificantes são utilizados na elaboração de biofilmes e coberturas. Entre eles, os mono, di e oligossacarídeos (glicose, sacarose); polióis (glicerol, sorbitol, derivados da glicerina e gliceróis); lipídios (ácidos graxos saturados, monoglicerídeos e derivados de éster, fosfolipídios e surfactantes) (GUILBERT, 1986) e triacetina (LIN et al., 2000). Em biofilmes de gelatina, os plastificantes mais comumente utilizados são o sorbitol (SAKANAKA, 2002; SOBRAL et al., 2001); glicerol (CARVALHO, 2002; YOSHIDA, 2002) e triacetina (FAKHOURI, 2002).

Os efeitos do tipo de plastificante e de sua concentração interferem diretamente nas características do biofilme, pois com o aumento na mobilidade da cadeia, os coeficientes de difusão também aumentam, resultando em maior permeabilidade aos gases e ao vapor de água (FAIRLEY et al., 1996). Alguns lipídios (acetoglicerídeos, ácidos graxos, monoglicerídeos, fosfolipídios) são usados para aumentar a flexibilidade dos biofilmes. São considerados plastificantes, por enfraquecerem as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas adjacentes, influenciando nas propriedades mecânicas dos filmes (CALLEGARIN et al., 1997). Em biofilmes de proteínas do glúten do trigo e do soro de leite, TALENS & KROCHTA (2005) observaram que a incorporação da cera de abelha produziu um efeito plastificante em diversas propriedades.

2.11.2.3 Solventes

Os solventes mais utilizados na elaboração de biofilmes comestíveis são: água (gelatina), etanol + água (carboximetilcelulose) e água + ácido acético (quitosana) (KESTER & FENNEMA, 1986). A solubilidade do biopolímero está relacionada com a capacidade do

mesmo interagir com o solvente, sendo este um aspecto determinante na formação de biofilmes. A dispersão da proteína em água é possível devido ao grande número de resíduos de aminoácidos polares que interagem com o solvente. Essas interações podem ser melhoradas em função da constante dielétrica do solvente, que é inversamente proporcional à força de atração intermolecular (SGARBIERI, 1996). Solventes com alta constante dielétrica favorecem a solubilidade de proteínas, diminuindo a força de atração entre as moléculas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria prima, tratamentos e aplicação dos tratamentos

Foram utilizados frutos de coqueiro (*Cocos nucifera* L.) da variedade Anão Verde do Brasil de Jequi, procedentes de plantios comerciais localizados no município de Quissamã, região Noroeste do Estado do Rio de Janeiro. Os cachos foram colhidos com oito meses de idade, período em que a água se encontra com as melhores características para o consumo ao natural, e foram transportados para o Laboratório de Fisiologia Pós-colheita da Embrapa Agroindústria de Alimentos, localizada no Rio de Janeiro. Os frutos foram retirados dos cachos com auxílio de uma tesoura de poda e selecionados quanto ao tamanho, presença de cálice e pedúnculo, injúrias mecânicas e lesões causadas por ácaros e fungos ausentes ou reduzidas. Em seguida, estes frutos foram imersos em água à temperatura ambiente com detergente neutro, lavados com auxílio de esponjas e escovas de cerdas macias, enxaguados em água corrente, sanitizados com solução de hipoclorito de cálcio (200 mg L⁻¹ de cloro ativo) por 10 minutos e secos ao ar com auxílio de um ventilador. Posteriormente os frutos foram separados em 6 lotes para aplicação dos tratamentos de cobertura:

- Biofilme 1 – Quitosana 1,5%
- Biofilme 2 – Carboximetilcelulose (CMC) 3% + Gelatina 5%
- Biofilme 3 – Quitosana 1,5% + Gelatina 5%
- Biofilme 4 – CMC 3%
- Biofilme 5 – Gelatina 5%
- Biofilme 6 - controle (água pura)

Cada lote foi imerso na solução formadora do biofilme correspondente por 1 minuto e colocado para secar sobre suportes telados por 24 horas à temperatura ambiente (32 ± 2 °C).

3.2 Obtenção dos biofilmes

3.2.1. Materiais utilizados

Em função da disponibilidade, do baixo custo e das propriedades funcionais adequadas para a formação de biofilmes, os polímeros de CMC, quitosana e gelatina foram selecionados para o desenvolvimento da pesquisa.

• Biopolímeros

- Quitosana da casca de camarão Polymar, com as seguintes especificações: grau de desacetilação 91%; granulometria < 0,18 mm (80 Mesh); viscosidade 205 mPa.s (1% de quitosana em solução de ácido acético 1%, a 20 °C) e pH 6,3.
- Carboximetilcelulose (CMC) Fluka Sigma. Especificações: viscosidade 500-2500 mPa.s (4% em água a 25 °C); grau de substituição 0,60-0,95 e pH 1% em água 6,5-8,0.
- Gelatina alimentícia de pele suína (Tipo A) Gelita. Especificações: bloom 240; granulometria < 0,6 mm (30 Mesh); viscosidade 35-45 mPa.s (6,66% em água a 60 °C); umidade 8-13% e pH 4,5-5,8; ausência de Coliformes fecais, Salmonella e contagem total $\leq 1000 \text{ g}^{-1}$.

• Plastificantes

- Glicerol Chemco, com as especificações: teor em $\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$ mínimo 95%, peso específico a 25 °C de $1,245 \text{ g (cm}^3)^{-1}$, cor e neutralidade de acordo.
- Ácido esteárico Carlo Erba. Especificações: $\leq 90\%$ (GLC), fusão 54°C; índice de iodo 0,5%; índice de acidez 200 a 210 mg KOH g^{-1} , minerais ácidos no limite.
- Polietileno glicol 400 (PEG-400) Spectrum. Especificações: Peso molecular 399; viscosidade 7,1 mPa.s a 98,9 °C; pH (5% a 25 °C) 6,6.

• Solventes

- Água destilada
- Ácido acético glacial Merck

3.2.2 Elaboração dos biofilmes

• Quitosana 1,5%

A solução formadora de biofilme foi obtida dissolvendo-se 1,5g de quitosana em 100 mL de solução de ácido acético a 1% à temperatura ambiente. Posteriormente, sob agitação constante,

acrescentou-se o glicerol e o PEG-400 nas concentrações de 20 e 10%, respectivamente, em relação ao peso da quitosana. A homogeneização completa da solução foi obtida com auxílio de um homogeneizador OMNI-MixerLine, mantendo-se o pH natural da solução.

• **Carboximetilcelulose (CMC) 3%**

A solução formadora de biofilme foi obtida dissolvendo-se 3g de sal de sódio de carboximetilcelulose em 100 mL de água destilada. Em seguida, adicionaram-se os plastificantes, ácido esteárico solubilizado a 85 °C e PEG-400 nas concentrações de 15 e 10%, respectivamente, em relação ao peso da CMC. Para garantir a completa solubilização e incorporação dos plastificantes durante sua adição, a solução foi mantida sob agitação rápida por 30 minutos, utilizando-se o homogeneizador OMNI-MixerLine e aquecimento em banho Maria QUIMIS-Q215-2 a 75 °C. O aquecimento é essencial para a formação das ligações intermoleculares que melhoram as propriedades mecânicas deste filme, particularmente a barreira ao O₂ (McHUGH & KROCHTA, 1994). O pH natural foi mantido.

• **Gelatina 5%**

A solução formadora de biofilme foi obtida hidratando-se 5 g de gelatina em 50 mL de água destilada por 1 hora. Após este período adicionou-se mais 50 mL de água destilada quente e, em seguida, glicerol e PEG-400 nas concentrações de 15 e 10%, respectivamente, com base no peso da gelatina. A solução foi aquecida em banho Maria QUIMIS-Q215-2 a 55 °C por 10 minutos e mantida sob agitação suave com auxílio do homogeneizador OMNI-MixerLine para evitar a formação de bolhas. O pH natural da solução foi mantido.

• **CMC 3% + Gelatina 5%**

A solução formadora de biofilme foi obtida misturando-se as duas soluções previamente preparadas, descritas acima, na proporção de 1:1 v/v. Em seguida a solução foi agitada com auxílio do homogeneizador OMNI-MixerLine até a completa homogeneização.

• **Quitosana 1,5% + Gelatina 5%**

A solução formadora de biofilme foi obtida misturando-se as duas soluções previamente preparadas, descritas acima, na proporção de 1:1 v/v. Em seguida a solução foi agitada com auxílio do homogeneizador OMNI-MixerLine até a completa homogeneização.

3.3 Ensaios e delineamentos experimentais

Para avaliação dos biofilmes foram montados três ensaios experimentais:

3.3.1 Ensaio EI

Foi montado para avaliar o efeito das coberturas sobre as características físicas, físico-químicas, químicas, bioquímicas e microbiológicas da água de coco verde durante o armazenamento. Os frutos revestidos com os biofilmes foram acondicionados em caixas de papelão armazenadas em câmara fria a 12 ± 2 °C com UR de 80% por 40 dias. Durante o armazenamento os frutos foram avaliados a 0, 10, 20, 30 e 40 dias. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 6 x 5 (6 tratamentos de cobertura x 5 tempos de avaliação) com 3 repetições, sendo a unidade experimental composta de dois frutos acondicionados em caixas de papelão ondulado, parede dupla, tipo peça única, com as seguintes dimensões, 660 x 400 x 130 mm, capacidade para 5,5 kg; área de ventilação correspondente a 5% da área da embalagem, diâmetro dos furos de 25 mm.

3.3.1.1 Extração da água de coco

Momentos antes da extração da água dos cocos, estes foram transferidos da câmara fria (12 °C) para uma sala de processamento mínimo sanitizada com hipoclorito de cálcio (300 mg L⁻¹ de cloro) com temperatura controlada de 20 ± 2 °C. Para a manipulação dos cocos e água todos os utensílios utilizados foram sanitizados com cloro (200 mg L⁻¹ de cloro) a cada troca de tratamento, assim como as mãos dos manipuladores com álcool 70%. A água dos cocos foi extraída com um abridor de coco inox semi-manual marca WELBA e filtrada em peneira de aço inox com malha de 1 mm (18 Mesh).

3.3.1.2 Análises

a) Avaliações físicas

- **Volume de água (mL):** Determinado pela média dos dois frutos da parcela, sendo o conteúdo de água medido com o auxílio de uma proveta de 2000 mL.
- **Turbidez da água (%):** Determinada segundo técnica descrita por HORWITZ (1989). Uma alíquota da água foi transferida para cubeta de quartzo de 1 cm e a leitura da absorbância (A) foi realizada em espectrofotômetro de UV Visível, modelo SPECORD 205 Analytikjena a 610 nm utilizando como padrão água destilada. Os valores de transmitância (Tc) foram calculados de acordo com a relação: $Tc = (10^{-A}) * 100$. A turbidez (T) foi calculada a partir de: $T = 100 - Tc$

b) Avaliações físico-químicas e químicas

- **Sólidos solúveis totais (SST):** Determinado por meio de refratômetro digital modelo Atago PR-101 (ATAGO Co. Ltda, Tokyo, Japão), segundo técnica recomendada pelo International Standard - ISO 2173 (1978). Os valores foram expressos em grau Brix (°Brix).
- **Potencial hidrogeniônico (pH):** Determinado pelo titulador automático Titroline 96 Schott (SCHOTT AG, Mainz, Alemanha), após calibração do potenciômetro com solução padrão de pH 4,0 e 7,0 de acordo com a norma International Standard - ISO 1842 (1991).
- **Acidez total titulável (ATT):** Determinada pelo titulador automático Titroline 96 Schott (SCHOTT AG, Mainz, Alemanha), segundo técnica recomendada pelo International Standard - ISO 750 (1998). As amostras foram preparadas pipetando-se 10 mL de água de coco e diluindo-se em 40 mL de água destilada desgaseificada por 30 minutos (500 mL em ultrassom BRASON 2510) e tituladas com solução de NaOH 0,1N, até pH 8,1 (ponto de viragem). Os valores foram expressos em mg de ácido málico por 100 mL de água de coco.
- **Glicose, Frutose e Sacarose:** Os açúcares foram extraídos com água Milli-Q em ultrassom BRASON 2210 por 10 minutos. A solução foi microfiltrada em membranas de acetato de celulose (HA) de 0,45 µm (OE67 Schleider & Schuell). Os açúcares foram

determinados segundo método descrito por MACRAE (1998) que se baseia na separação cromatográfica da amostra em coluna de Fase Reversa e determinação da concentração por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando método de padronização externa. As amostras foram injetadas em cromatógrafo líquido modelo “Waters Modular” com injetor automático WISP 717, detector de índice de refração 410 com temperatura interna 45 °C e Coluna Amino 300 x 4,6 mm (“High Performance Carbohydrate”). A fase móvel utilizada foi Acetonitrila 75% em água, com fluxo de 1,4 mL min⁻¹. Os valores foram expressos em g do açúcar por 100 g de água de coco.

- **Vitamina C total (VTC):** Foi extraída com ácido sulfúrico 0,05 molar em ultrassom BRASON 2210 por 10 minutos. A solução foi filtrada em papel de filtro quantitativo (J. Prolab JP40) e microfiltrada em unidade descartável de Teflon hidrofílico de 0,22 µm (Millex GV) para frascos de vidro âmbar (1,5 mL) com tampa de rosca e septo de teflon (Waters 186001131c) utilizados em injetor automático. A VTC foi determinada segundo método descrito por YUAN & CHEN (1999) adaptado por ROSA (2005). As amostras foram injetadas em cromatógrafo líquido modelo “Waters Alliance 2695”, com injetor automático e câmara de injeção resfriada a 5 °C, detector de arranjo de fotodiodos (PDA) Waters 2996 e coluna de troca iônica ácida Aminex PX 87H (300 x 7,8 mm) BIO RAD constituída de fase estacionária à base de resinas estireno divinil benzeno e grupos trocadores de hidrogênio. A fase móvel utilizada foi ácido sulfúrico 0,05M (pH 1,3) em água Milli-Q, com fluxo de 0,7 mL min⁻¹ e pressão monitorada em torno de 800 libras por polegada quadrada (psi). A calibração do cromatógrafo foi realizada com uma solução padrão de ácido ascórbico na concentração de 1 mg mL⁻¹. Os processos de extração da vitamina C e preparo da solução padrão de ácido ascórbico foram realizados em sala escura, iluminada com luz negra, sem incidência de radiação ultra-violeta direta e com temperatura de 20 °C. Os valores foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 mL de água de coco.
- **Minerais:** Os elementos P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, e Mn foram extraídos em solução de ácido nítrico concentrado à 105 °C e peróxido de hidrogênio 30% de acordo com a AOAC (2000a) utilizando-se um banho seco NOVA ÉTICA. Os elementos foram

quantificados em ICP-OES (Espectroscopia de emissão óptica-plasma acoplado por indução) SPECTROFLAME Modelo P da Spectro, segundo método AOAC (2000b). Os elementos foram injetados em um plasma de argônio e com a alta temperatura (6000-10000 K) os átomos emitem luz, que foi medida simultaneamente de acordo com a curva de calibração multi-elementar usada. Os resultados foram expressos em mg e μg do elemento por 100 mL de água de coco para macro e microelementos respectivamente.

- **Cloreto:** O íon cloro foi quantificado pelo método argento-potenciométrico (AOAC, 2000c) em titulador automático Tritrino 794 Basic da METROHM, usando-se dois eletrodos: um referência de prata e um indicador de cloreto. As amostras foram preparadas pipetando-se 10 mL de água de coco, acidificadas com HNO_3 10% e tituladas com solução de AgNO_3 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Os valores foram expressos em mg de cloreto por 100 mL de água de coco.
- **Nitrogênio Total:** Foi quantificado pelo método Kjeldahl modificado (AACC, 1995), em que, por meio de digestão com ácido sulfúrico concentrado, o nitrogênio da amostra foi transformado em amônio (NH_4^+). Posteriormente foi separado em destilador de nitrogênio TECNAL 036/1 e dosado por titulação em bureta digital BRINKMANN de 25mL com H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados foram expressos em g de N_{total} por 100 mL de água de coco.
- **Compostos fenólicos:** Foram extraídos com metanol absoluto (fenólicos dímeros); metanol a 50% (fenólicos oligoméricos) e água (fenólicos poliméricos), segundo método descrito por GOLDESTEIN & SWAIN (1963). Foram determinados pelo método colorimétrico de Folin-Denis, conforme recomendação da AOAC (1992). A intensidade de cor azul produzida pela redução do reagente de Folin-Denis por fenóis foi medida a 760 nm em espectrofotômetro UV-Visível modelo VARIAN C-50. Para a curva padrão foi usada uma solução de ácido tânico na concentração de $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$. Os resultados foram expressos em mg de ácido tânico por 100 mL de água de coco.

c) Avaliações bioquímicas

- **Peroxidase (POD) e Polifenoloxidase (PFO):** As extrações e as determinações das atividades destas enzimas foram realizadas conforme MATSUMO & URITANI (1972). As enzimas foram extraídas em homogeneizador TECNAL TE-102 com tampão fosfato 0,05 M, pH 7,0. A atividade da enzima POD foi determinada pela incubação do extrato enzimático com guaiacol por 5 min a 30 °C (banho Maria). A reação foi interrompida pela adição de bissulfito de sódio 30% e, em seguida, fez-se a leitura em espectrofotômetro UV-Visível VARIAN C-50 a 470 nm. O extrato enzimático da PFO foi incubado com catecol por 30 min a 30 °C (banho Maria), a reação foi interrompida pela adição de ácido perclórico 2,0 N e a leitura foi feita a 395 nm. As atividades das enzimas foram expressas em unidade por minuto por mL de água de coco ($U \text{ min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$) conforme proposto por TEISSON (1979).
- **Fenilalanina amônia-liase (FAL):** A extração foi realizada pela técnica descrita por RHODES & WOOLTORTON (1971). A enzima foi extraída por um meio extrator, pH 8,0 e incubada com fenilalanina por 1 hora a 40 °C (banho Maria). Atividade enzimática foi definida como sendo a quantidade de enzima que produz aumento na absorção de luz UV de 0,001 desvio óptico (DO) por minuto a 290 nm (ZUCKER, 1965). Desta forma, a cada aumento de 0,001 na leitura de absorbância a 290 nm corresponde 1 unidade por minuto de atividade enzimática. Os resultados foram expressos em unidade por minuto por mL de água de coco ($U \text{ min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$).

d) Avaliações microbiológicas

As avaliações foram realizadas segundo metodologia de diluição em série proposta por VANDERZANT & SPLITTSTOESSER (1992) modificada por SIQUEIRA (1995) e os limites de tolerância estabelecidos pela ANVISA, BRASIL (2001). Foram realizadas em porções de 25 mL de água de coco homogeneizada asepticamente com 225 mL de água peptonada 1 g L⁻¹ (10⁻¹). As diluições sucessivas foram preparadas retirando-se 1 mL da diluição anterior e adicionando-se em 9 mL de água peptonada (1 g L⁻¹) para obter as diluições 10⁻² e 10⁻³.

- **Coliformes a 35 °C e a 45 °C:** Avaliaram-se a população presuntiva de coliformes (teste presuntivo), a população real (teste confirmativo) e a população de coliformes a 45 °C (coliformes de origem fecal). Para o teste presuntivo pipetou-se 1 mL das diluições descritas acima e adicionou-se aos tubos, em triplicata, contendo caldo lauril sulfato triptose (caldo LST) sendo incubados a 35 °C por 48 horas. Quando houve produção de ácidos e gás evidenciados nos tubos de Durham (pequenos tubos de fermentação colocados invertidos dentro do meio), ou no meio (percebido quando o tubo é agitado suavemente) os tubos foram separados para realização dos testes confirmativos (coliformes a 35 °C) e coliformes a 45 °C. Para o teste confirmativo o meio utilizado foi caldo verde brilhante lactose bile 2% (caldo brila) e os tubos foram incubados a 35 ± 2 °C por 48 h. Para coliformes 45 °C foi utilizado o meio caldo EC e os tubos foram incubados a 45 °C por 24 horas. Foram considerados positivos os tubos com presença de gás no interior do tubo de Durham. Os resultados foram quantificados pela técnica do número mais provável (NMP), utilizando a Tabela de NMP citada em BANWART (1989) e expressos por NMP por mL de água de coco.
- **Contagem padrão de aeróbios mesófilos:** Quantificada, conforme DOWNES (2001), pelo método de plaqueamento em profundidade em meio Ágar Padrão para Contagem (PCA), utilizando-se as diluições descritas acima. As placas em duplicatas foram incubadas invertidas a 35 °C por 48 h e a contagem das colônias realizada em lupas QUEBEC- American optical (AO) somente nas placas de mesma diluição que apresentaram de 30 a 300 colônias. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por mL de água de coco (UFC mL⁻¹).
- **Contagem de fungos filamentosos e leveduras:** Quantificada, conforme DOWNES (2001), pelo método de plaqueamento em profundidade em meio Ágar Dichloran-Rose Bengal-Chloranphenicol (DRBC) – DIFCO e com as mesmas diluições sucessivas mencionadas acima. As placas em duplicatas foram incubadas invertidas a 25 °C por 7 dias e a contagem realizada em lupas QUEBEC- American optical (AO) somente nas placas de mesma diluição que apresentaram de 30 a 300 colônias. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por mL de água de coco (UFC mL⁻¹).

• **Identificação de fungos filamentosos:** O isolamento segue a metodologia descrita por PITT & HOCKING (1997) e a identificação foi realizada conforme SAMSON et al. (1995) e SAMSON et al. (2004). Com auxílio de uma alça de platina os fungos foram repicados para placas contendo DRBC pelo método de espalhamento em placa (plaqueamento em superfície). As placas em duplicatas foram incubadas invertidas a 25 °C por 7 dias. Foram feitas lâminas das colônias usando corante lactofenol - azul de anilina. As lâminas foram observadas em microscópio CARL ZEISS STANDARD 20 em aumento de 40X, observando-se as estruturas e frutificações que possibilitaram a identificação dos gêneros dos fungos presentes na água.

e) Análise estatística

Os dados foram testados quanto a sua normalidade e submetidos à análise de variância e ao teste de média Scott Knott 5%, utilizando-se o programa Sisvar (FERREIRA, 1998). Este teste foi escolhido por ser indicado quando há mais de cinco tratamentos, pois ele não permite “duas letras” em uma mesma média, o que facilita a separação das médias. As médias também foram submetidas à análise de regressão utilizando o programa Table Curve 3.0 (Jandell Corporation), ajustando-se regressões polinomiais ou exponenciais em função do tempo de armazenamento.

3.3.2 Ensaio EII

Foi montado para avaliar o efeito das coberturas sobre a produção de O₂, CO₂ e etileno pelo fruto durante o armazenamento. Dois frutos revestidos com os mesmos biofilmes do EI foram pesados e acondicionados em caixas de papelão, especificadas no EI (unidade experimental), colocadas em duplicata em microcâmaras com dimensões de 70 x 52 x 40 cm (145 L) a 12 ± 2 °C e UR de 80%, por 50 dias (Figura 5). Durante o armazenamento a atmosfera das microcâmaras foi avaliada aos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias. Após a retirada dos gases para a leitura as microcâmaras foram abertas e ventiladas para se recompor a atmosfera ambiente. O delineamento experimental utilizado foi em blocos em esquema fatorial 6 x 6 (6 tratamentos de cobertura x 6 tempos de avaliação).



Figura 5. Microcâmaras utilizadas na análise da concentração de O_2 , CO_2 e etileno na atmosfera durante o armazenamento dos cocos. À esquerda, frutos dispostos nas microcâmaras no início do armazenamento; à direita, amostragem da atmosfera.

Análises

• **O_2 , CO_2 e etileno:** Amostras da atmosfera das microcâmaras foram coletadas das microcâmaras através de um septo de silicone, utilizando-se uma microseringa de 1 mL e injetadas em cromatógrafo a gás modelo FINNIGAN 9001, usando padrão externo. Utilizaram-se as seguintes condições cromatográficas: injeção da amostra em injetor para coluna empacotada Carboxen 1000 60/80 mesh, 15 pés X 1/8 pol SUPELCO 1-2390-U (2,1 mm ID); temperatura inicial de 50 °C; tempo inicial de 5 min; taxa de elevação da temperatura de 20 °C min^{-1} ; temperatura final de 200 °C; tempo final de 10 min; temperatura do injetor de 70 °C; temperatura do TCD de 200 °C; temperatura do FID de 205 °C; volume do gás de arraste (H_2) de 30mL min^{-1} ; volume da injeção de 1 mL; detector de condutividade térmica (TCD) para O_2 , CO_2 e N_2 e detector de ionização de chama (FID) para o etileno; gás para chama $N_2 + H_2 + Ar$; tempo de retenção para O_2 de 2,49 a 2,59 min, para o N_2 de 2,60 a 2,63 min, para o CO_2 de 11,41 a 11,42 min e para o etileno de 17,86 a 17,88 min; composição do padrão de 63,87% de N_2 , 21,11% de O_2 , 15,01% de CO_2 e etileno 100 $\mu mol mol^{-1}$. Os resultados foram expressos em mL de O_2 ou CO_2 por kg de coco por hora (mL $kg^{-1} h^{-1}$) e em μL de etileno por kg de coco por hora ($\mu L kg^{-1} h^{-1}$).

Análise estatística

Os dados, testados quanto a sua normalidade, foram submetidos à análise de variância e teste de média (Scott Knott 5%), utilizando-se o programa Sisvar (FERREIRA, 1998).

3.3.3 Ensaio EIII

Foi montado para avaliar o efeito das coberturas sobre a aparência do fruto e as características sensoriais da água durante o armazenamento. Os frutos revestidos com os mesmos biofilmes foram acondicionados em caixas de papelão, especificadas no EI, armazenadas a 12 ± 2 °C e UR de 80% por 40 dias. Durante o armazenamento a aparência dos frutos e a água foram avaliadas aos 0, 26, 33 e 40 dias. O delineamento experimental utilizado foi de blocos completos balanceados em esquema fatorial 6 x 4 (6 tratamentos de cobertura x 4 tempos de avaliação), sendo a equipe constituída por 78 provadores não treinados. Os resultados estatisticamente avaliados por análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott 5%.

a) Avaliação sensorial do fruto

Preparo da amostra

Os frutos revestidos com os biofilmes foram retirados da câmara fria (12 °C) e transferidos para uma sala de processamento mínimo sanitizada com hipoclorito de cálcio (300 mg L⁻¹ de cloro) à temperatura controlada de 20 ± 2 °C, onde permaneceram por ± 2 horas. Em seguida foram levados ao Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

Análise de Aceitação

Os frutos revestidos com diferentes biofilmes foram submetidos a testes de aceitação onde foram avaliados os atributos de aparência global do produto e da expectativa em relação à água, utilizando-se uma escala hedônica de nove pontos (Figura 6), ancoradas nas extremidades pelos termos “desgostei extremamente” e “gostei extremamente” (STONE & SIDEL, 1993). Os provadores responderam ainda a perguntas como: o que mais gostou e

desgostou no produto e porque acha que não vai gostar e que vai gostar da água deste coco? A equipe foi composta por 78 provadores não treinados.

Nome _____			Data _____			Amostra: _____		
Você vai ser solicitado para avaliar coco verde . Por favor, marque na escala abaixo o quanto gostou da aparência do produto.								
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
desgostei extremamente	desgostei muito	desgostei moderadamente	desgostei ligeiramente	não gostei e nem desgostei	gostei ligeiramente	gostei moderadamente	gostei muito	gostei extremamente
O que você mais gostou neste produto? _____								
O que você mais desgostou neste produto? _____								
Você compraria este produto?								
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
certamente não compraria								Certamente compraria
Olhando para esta amostra, qual a sua expectativa em relação à água de coco? O quanto você acha que vai gostar dela?								
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
desgostei extremamente	desgostei muito	desgostei moderadamente	desgostei ligeiramente	não gostei e nem desgostei	gostei ligeiramente	gostei moderadamente	gostei muito	gostei extremamente
Porque você acha que NÃO vai gostar da água deste coco? _____								
Porque você acha que VAI gostar da água deste coco? _____								

Figura 6. Ficha de avaliação da aparência do fruto, intenção de compra e expectativa em relação à água de coco verde.

A intenção dos provadores em relação à compra do produto foi avaliada por meio de uma escala de intenção de compra de 9 pontos (Figura 6), que variava de “certamente compraria” a “certamente não compraria” (MEILGAARD et al., 1999). As avaliações foram realizadas em cabines individuais com luz branca, sendo as amostras codificadas com algarismos de três dígitos e apresentadas aos provadores de forma monádica.

Os resultados dos testes de aceitação da aparência, da intenção de compra e da expectativa em relação à água foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Scott Knott 5%. Para aceitação da aparência e da intenção de compra foram também feitas análises multivariadas de componentes principais (PCA) e agrupamento (“clusters”) e elaborados mapas internos de preferência (MDPREF) (SCHLICH & McEWAN, 1992). Os resultados das perguntas foram avaliados pela frequência das respostas e apresentados na forma de histogramas de frequência.

b) Avaliação sensorial da água de coco

Preparo da amostra

Os cocos foram transferidos da câmara fria (12 °C) para uma sala de processamento mínimo sanitizada com hipoclorito de cálcio (300 mg L⁻¹ de cloro) à temperatura controlada 20 ± 2 °C. Todos os utensílios utilizados no processo de extração e acondicionamento da água foram sanitizados com cloro (200 mg L⁻¹ de cloro), também foi usado álcool 70% para a sanitização das mãos dos manipuladores. A água de coco foi extraída com um abridor de coco inox semi-manual marca WELBA e filtrada em peneira de aço inox com malha de 1 mm (18 Mesh). As amostras foram preparadas com uma hora de antecedência e mantidas a 6 ± 2 °C e servidas, para serem avaliadas sensorialmente, à temperatura de aproximadamente 8 ± 2 °C. A ordem de apresentação das amostras seguiu delineamento de blocos balanceados, conforme descrito por WAKELING & MACFIE (1995), de modo a controlar o efeito denominado “first-order carry-over”. O teste foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

Análise de Aceitação

Setenta e oito provadores não treinados receberam aproximadamente 30 mL de água, em copos plásticos de 50 mL, codificados com números de três dígitos definidos aleatoriamente. As amostras foram servidas aos provadores de forma monádica em cabines individuais com iluminação vermelha, para evitar que possíveis diferenças na aparência influenciassem a avaliação dos consumidores. Foram fornecidos água e biscoito do tipo “cream cracker” para serem ingeridos entre uma amostra e outra como forma de enxaguar a

boca. Foi solicitado aos provadores avaliarem as amostras em relação a quanto gostou em escala hedônica de 9 pontos, ancoradas nos extremo esquerdo por “desgostei extremamente” e no direito “gostei extremamente”, e quanto à intenção de compra, em escala hedônica de 9 pontos que variava de “certamente compraria” a “certamente não compraria” o produto. Além disso, foi solicitado ao provador responder as seguintes perguntas o que mais gostou e mais desgostou no produto, como mostrado na Figura 7.

As respostas hedônicas dos consumidores foram submetidas às seguintes análises estatísticas: i) Análise da Variância (ANOVA, $p \leq 0,05$) com as seguintes fontes de variação: biofilmes; ii) teste de médias Scott Knott ($p \leq 0,05$); e iii) análise multivariada de componentes principais (PCA) e agrupamento (“clusters”), elaborando-se o Mapa Interno de Preferência (MDPREF) (SCHLICH & McEWAN, 1992). Os resultados das perguntas foram avaliados pela frequência das respostas e apresentados na forma de histogramas de frequência.

Nome _____			Data _____			Amostra: _____		
<p>Você vai receber uma amostra de água de coco. Por favor, prove-a e marque na escala abaixo o quanto gostou do produto.</p>								
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
desgostei extremamente	desgostei muito	desgostei moderadamente	desgostei ligeiramente	não gostei e nem desgostei	gostei ligeiramente	gostei moderadamente	gostei muito	gostei extremamente
O que você mais gostou neste produto? _____								
O que você mais desgostou neste produto? _____								
Você compraria este produto?								
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
certamente não compraria								Certamente compraria

Figura 7. Ficha do teste de aceitação da água de coco.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um resumo das análises de variância de todas as variáveis é apresentado na Tabela 3. Para as variáveis que apresentaram interação, os desdobramentos do fator biofilme dentro do fator tempo e de tempo dentro de biofilme encontram-se nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

Tabela 3. Resumo das análises de variância das variáveis estudadas apresentando o coeficiente de variação para o erro (a) e (b) no delineamento de parcelas subdivididas no tempo e o nível de significância das fontes de variação pelo teste de F.

Variável	Coeficiente de variação (%)		Fontes de variação		
	Erro (a)	Erro (b)	Biofilme	Tempo	Biofilme*Tempo
Volume de água	16	16	0,28	0,10 ↓	0,18
Turbidez da água	46	49	0,75	0,04 *	0,14
Sólidos solúveis totais	8	9	0,33	0,00 **	0,19
pH	7	6	0,62	0,00 **	0,05 *
Acidez total titulável	28	27	0,75	0,01 **	0,65
Frutose	14	11	0,18	0,00 **	0,00 **
Glicose	13	10	0,33	0,00 **	0,01 **
Sacarose	88	64	0,33	0,51	0,61
Vitamina C	21	17	0,12	0,00 **	0,13
Fenólicos dímeros	20	20	0,28	0,00 **	0,02 *
Fenólicos oligoméricos	16	18	0,14	0,00 **	0,00 **
Fenólicos poliméricos	24	19	0,10 ↓	0,00 **	0,02 *
Peroxidase	5	8	0,06 ↓	0,00 **	0,34
Polifenoloxidase	12	6	0,01 **	0,00 **	0,00 **
Fenilalanina amônia-liase	17	10	0,16	0,00 **	0,13
Coliformes 35 °C	74	73	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Coliformes 45 °C	94	86	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Aeróbios mesófilos	247	297	0,02 *	0,00 **	0,02 *
Fungos filamentosos e leveduras	160	200	0,01 **	0,01 **	0,61
Teor de N	14	9	0,44	0,00 **	0,02 *
Teor de P	26	20	0,13	0,02 *	0,59
Teor de K	13	10	0,23	0,00 **	0,43
Teor de Ca	13	14	0,12	0,00 **	0,28
Teor de Mg	15	16	0,04 *	0,00 **	0,25
Teor de Na	63	56	0,92	0,12	0,42
Teor de Cl	16	13	0,42	0,07 ↓	0,42
Teor de Zn	64	60	0,84	0,00 **	0,35
Teor de Mn	45	54	0,34	0,13	0,70
Teor de Fe	58	73	0,19	0,00 **	0,30
Evolução de O ₂	10	10	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Evolução de CO ₂	15	10	0,02 *	0,00 **	0,00 **
Aparência do fruto	37	36	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Intenção de compra do fruto	42	43	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Expectativa da água	34	35	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Sabor da água	37	37	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Intenção de compra da água	46	46	0,00 **	0,00 **	0,00 **

↓: F significativo, com probabilidade de erro entre 0,06 a 0,10; *: F significativo, com probabilidade de erro entre 0,02 a 0,05; **: F significativo, com probabilidade de erro menor que 0,01

Tabela 4. Nível de significância pelo teste de F dos desdobramentos do fator biofilme dentro do fator tempo para variáveis que apresentaram interação significativa entre estes fatores.

Variável	Desdobramento de biofilme dentro de tempo					
	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 4	Tempo 5	Tempo 6
pH	0,82	1,00	0,88	0,00 **	0,13	—
Frutose	0,18	0,56	0,69	0,13	0,00 **	—
Glicose	0,26	0,76	0,65	0,07 ↓	0,00 **	—
Fenólicos dímeros	0,66	0,03 *	0,01 **	0,67	0,04 *	—
Fenólicos oligoméricos	0,97	0,07 ↓	0,03 *	0,27	0,00 **	—
Fenólicos poliméricos	0,57	0,02 *	0,05 *	0,31	0,01 **	—
Polifenoloxidase	0,02 *	0,04 *	0,00 **	0,00 **	0,02 *	—
Coliformes 35°C	0,11	1,00	1,00	0,00 **	0,00 **	—
Coliformes 45°C	1,00	1,00	1,00	0,00 **	0,00 **	—
Aeróbios mesófilos	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00 **	—
Teor de N	0,10 ↓	0,54	0,71	0,00 **	0,71	—
Evolução de O ₂	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,82	0,80
Evolução de CO ₂	—	0,09 ↓	0,00 **	0,09 ↓	0,00 **	0,19
Aparência do fruto	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	—	—
Intenção de compra do fruto	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	—	—
Expectativa da água	0,04 *	0,00 **	0,00 **	0,00 **	—	—
Sabor da água	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	—	—
Intenção de compra da água	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	—	—

↓: F significativo, com probabilidade de erro entre 0,06 a 0,10; *: F significativo, com probabilidade de erro entre 0,02 a 0,05; **: F significativo, com probabilidade de erro menor que 0,01 .

—: Nível do fator tempo não analisado.

Tabela 5. Nível de significância pelo teste de F dos desdobramentos do fator tempo dentro do fator biofilme para variáveis que apresentaram interação significativa entre estes fatores.

Variável	Desdobramento de tempo dentro de biofilme					
	Biofilme 1	Biofilme 2	Biofilme 3	Biofilme 4	Biofilme 5	Biofilme 6
pH	0,74	0,78	0,00 **	0,86	0,33	0,00 **
Frutose	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,01 **	0,21	0,00 **
Glicose	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,06 ↓	0,00 **
Fenólicos dímeros	0,00 **	0,21	0,00 **	0,02 *	0,00 **	0,02 *
Fenólicos oligoméricos	0,00 **	0,49	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,27
Fenólicos poliméricos	0,02 *	0,12	0,01 **	0,00 **	0,11	0,40
Polifenoloxidase	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Coliformes 35°C	1,00	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Coliformes 45°C	1,00	1,00	1,00	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Aeróbios mesófilos	1,00	0,98	0,99	0,80	0,93	0,00 **
Teor de N	0,00 **	0,12	0,82	0,03 *	0,82	0,01 **
Evolução de O ₂	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Evolução de CO ₂	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Aparência do fruto	0,71	0,00 **	0,01 **	0,00 **	0,83	0,00 **
Intenção de compra do fruto	0,77	0,00 **	0,05 *	0,00 **	0,93	0,00 **
Expectativa da água	0,74	0,00 **	0,04 *	0,00 **	0,97	0,00 **
Sabor da água	0,18	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **
Intenção de compra da água	0,04 *	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **	0,00 **

↓: F significativo, com probabilidade de erro entre 0,06 a 0,10; *: F significativo, com probabilidade de erro entre 0,02 a 0,05; **: F significativo, com probabilidade de erro menor que 0,01

4.1 Características físicas

4.1.1 Volume de água e turbidez

As médias para volume da água de coco encontram-se na Tabela 6. Não houve interação significativa entre biofilmes e tempos de armazenamento (Tabela 3). Não foram observadas diferenças significativas entre os biofilmes na maioria dos tempos de armazenamento estudados, exceto no tempo de 30 dias onde o controle (B6) apresentou o maior volume de água. O efeito principal do tempo de armazenamento é apresentado na Figura 8. Verifica-se que o volume reduziu linearmente em função do tempo de armazenamento.

Tabela 6. Volume e turbidez da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado durante 40 dias a 12 °C.

Biofilmes	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	10	20	30	40
	Volume de água (mL)				
B1 - Quitosana	453 a	493 a	490 a	466 b	456 a
B2 - Gelatina + CMC	536 a	590 a	501 a	471 b	476 a
B3 - Quitosana + gelatina	540 a	408 a	466 a	435 b	448 a
B4 - CMC	490 a	483 a	540 a	468 b	403 a
B5 - Gelatina	630 a	466 a	430 a	415 b	463 a
B6 - Controle	493 a	520 a	520 a	606 a	465 a
	Turbidez (%)				
B1 - Quitosana	8,6 a	9,4 a	16,0 a	8,2 a	17,3 a
B2 - Gelatina + CMC	10,2 a	7,2 a	7,2 a	13,3 a	16,4 a
B3 - Quitosana + gelatina	6,5 a	16,0 a	10,1 a	16,8 a	12,1 a
B4 - CMC	15,8 a	9,9 a	6,9 a	12,8 a	22,4 a
B5 - Gelatina	8,6 a	11,6 a	11,9 a	18,6 a	7,4 a
B6 - Controle	11,6 a	8,7 a	8,1 a	12,4 a	13,2 a

As médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott 5%

Comercialmente o volume de água em cada fruto é uma característica importante. Para exportação o fruto deve apresentar entre 350 e 450 mL de água e massa de 1500 a 1700 g (ASSIS et al., 2000). Portanto, os volumes de água dos cocos estudados estão acima do estipulado para exportação, pois as médias variaram de 453 a 630 mL por coco durante o armazenamento. O coco possui uma estrutura muito compacta, sendo que protegendo a água existem três camadas, o endocarpo, mesocarpo e epicarpo (casca), tornando-o uma embalagem altamente protetora. Assim, a redução acentuada da água ocorre apenas aos nove ou dez meses

de idade do fruto, quanto diminuí o volume em detrimento da formação albúmen sólido, justificando a pouca redução no volume de água durante o armazenamento.

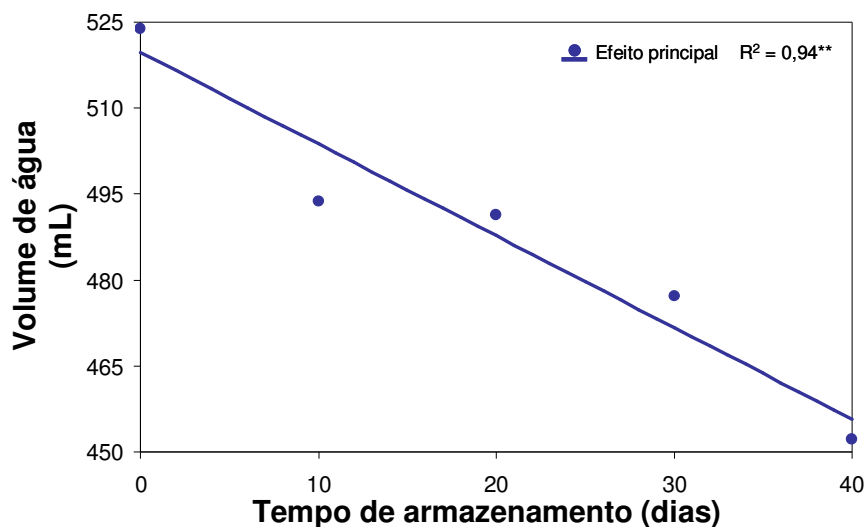


Figura 8. Volume médio de água no coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 519,7 - 1,60 x$.

O volume de água na cavidade do fruto independe do tamanho do coco, entretanto é dependente do formato do fruto. Cocos elípticos ou ovais, além da menor quantidade de água na cavidade, têm sua comercialização comprometida pela aparência. O formato redondo ou oblongo em que o diâmetro longitudinal é igual ou pouco maior que o transversal é o preferido em virtude do maior volume de água na cavidade central. O formato elíptico e oval é característico de cocos provenientes de cultivos em áreas com comprovada salinidade, como na orla marítima (FERREIRA NETO et al., 2002). Os mesmos autores salientam ainda que o volume de água do coco é um índice mais confiável que o peso do fruto quando se deseja medir produção ou rendimento da cultura. Neste estudo os cocos apresentavam formato elíptico e oval característicos de cultivos de áreas próximas à orla marítima como o município de Quissamã, entretanto não foi observado menor volume de água na cavidade central em função do formato do fruto como constatado por FERREIRA NETO et al. 2002.

A turbidez da água de coco é apresentada na Tabela 6 e na Figura 9. Não houve interação significativa e nem efeito dos biofilmes, sendo afetada apenas pelo tempo de

armazenamento (Tabela 3). Houve um aumento na turbidez da água com o decorrer do armazenamento (Figura 9), indicando tendência de concentração de sólidos em suspensão com ao longo do tempo. Na água de coco verde a turbidez pode variar de 5 a 74%. Os valores de turbidez neste estudo permaneceram entre 6,5 e 18,6%, próximos ao citado por CAMPOS et al. (1996) de 19% para água de coco verde.

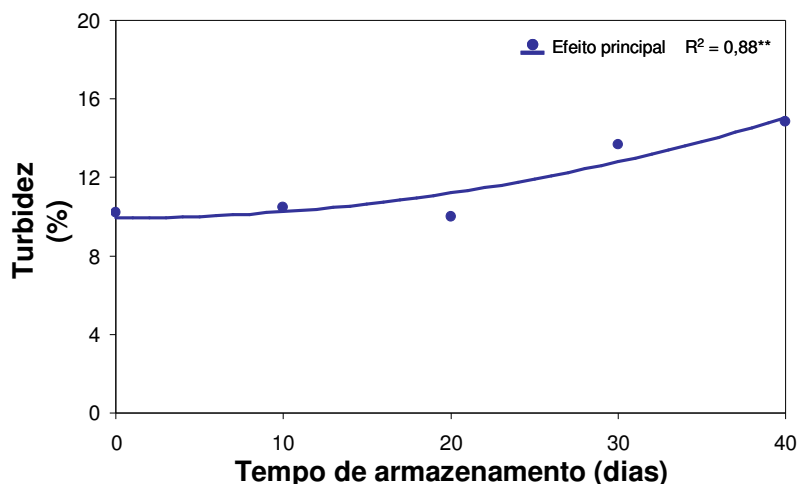


Figura 9. Turbidez da água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 9,93 + 0,0032 x^2$.

A maior turbidez da água com o decorrer do armazenamento pode indicar maior presença de sólidos em suspensão na água (ácidos graxos, íons metálicos, agregação de proteínas e oxidação enzimática) indicativos de um estágio mais avançado de amadurecimento do fruto. Segundo SANTOSO et al. (1996) com o armazenamento ou amadurecimento do fruto ocorre um aumento na quantidade de ácidos graxos, principalmente palmítico e oléico, fazendo com que a água se torne mais turva. Entende-se por turbidez a falta de transparência de um líquido, devido à presença de sólidos em suspensão. Quanto mais sólidos em suspensão mais turva a água se torna e maior será a turbidez. Os taninos, que formam complexos com moléculas de proteínas, a oxidação enzimática e a presença de íons metálicos também ocasionam a turbidez da água de coco. Águas com quantidades elevadas de íons de Fe podem apresentar uma elevação da turbidez quando entram em contato com o oxigênio do ar. A

turbidez é considerada uma boa medida de qualidade da água, quanto mais turva pior será sua qualidade.

4.2 Características físico-químicas e químicas

As médias das análises físico-químicas de sólidos solúveis, acidez total titulável e pH são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7. Sólidos solúveis totais, acidez total titulável e pH da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.

Biofilmes	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	10	20	30	40
Sólidos solúveis totais (°Brix)					
B1 - Quitosana	6,17 a	5,87 a	5,73 a	5,50 a	5,07 a
B2 - Gelatina + CMC	5,70 a	5,37 a	5,30 a	5,40 a	4,87 a
B3 - Quitosana + gelatina	5,67 a	5,60 a	5,13 a	5,70 a	5,13 a
B4 - CMC	5,63 a	5,93 a	5,10 a	5,27 a	5,50 a
B5 - Gelatina	5,40 a	5,67 a	5,67 a	6,27 a	5,17 a
B6 - Controle	6,30 a	5,20 a	5,57 a	4,90 a	5,00 a
Acidez total titulável (mg ac. málico por 100 mL)					
B1 - Quitosana	54,90 a	42,29 a	37,20 a	44,46 a	47,56 a
B2 - Gelatina + CMC	43,97 a	43,42 a	44,51 a	45,60 a	58,03 a
B3 - Quitosana + gelatina	57,63 a	51,61 a	44,96 a	33,52 a	45,52 a
B4 - CMC	54,44 a	57,29 a	47,02 a	49,48 a	54,39 a
B5 - Gelatina	50,34 a	46,38 a	30,36 a	52,90 a	66,45 a
B6 - Controle	49,89 a	49,11 a	36,75 a	36,71 a	64,86 a
pH					
B1 - Quitosana	5,41 a	5,24 a	5,59 a	5,34 b	5,51 a
B2 - Gelatina + CMC	5,51 a	5,31 a	5,39 a	5,52 b	5,22 a
B3 - Quitosana + gelatina	5,13 a	5,25 a	5,41 a	6,37 a	5,69 a
B4 - CMC	5,41 a	5,20 a	5,34 a	5,48 b	5,44 a
B5 - Gelatina	5,28 a	5,33 a	5,62 a	5,46 b	5,05 a
B6 - Controle	5,39 a	5,25 a	5,56 a	6,23 a	5,03 a

As médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott 5%

4.2.1 Sólidos solúveis totais (SST)

Os teores de sólidos solúveis totais da água de coco estão apresentados na Tabela 7. Não foram observadas diferenças significativas para os SST da água entre os biofilmes (Tabela 3), mas com o decorrer do armazenamento houve uma diminuição linear dos teores de SST (Figura 10). Aos 40 dias a água dos frutos do controle (B6) e da formulação gelatina + CMC (B2) tenderam a apresentar menor teor de SST, embora não tenham apresentado

diferenças significativas. Durante o armazenamento os teores de SST variaram muito pouco de 4,87 a 6,30 °Brix (Tabela 7).

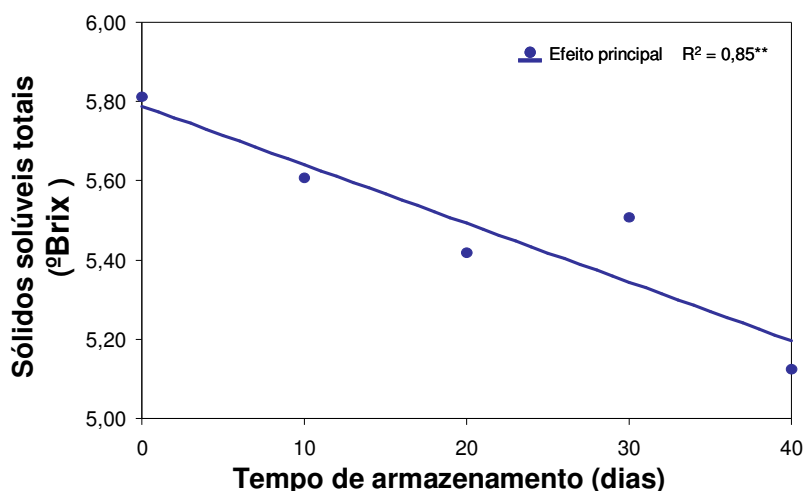


Figura 10. Sólidos solúveis totais da água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 5,79 - 0,015 x$.

Os valores de SST estão dentro da faixa estipulada para o coco Anão Verde de 5 a 6 °Brix (COSTA et al., 2006; SOUSA, 2006; ASSIS et al., 2000; ROSA & ABREU, 2000). Valores semelhantes ao deste experimento foram obtidos por RESENDE et al. (2005) quando cocos da variedade Anão Verde foram revestidos com biofilmes a base de amido e quitosana e armazenados por 45 dias. JAYALEKSHMY et al. (1986) também constataram pouca variação nos teores de SST com o amadurecimento, assim como MACIEL et al. (1992), durante o armazenamento por 35 dias a diferentes temperaturas, com e sem embalagem de polietileno. AROUCHA (2000) encontrou variações no teor de SST em função do estágio de maturação das variedades Anão Verde e Anão Vermelho. Segundo este autor, no 8º mês, o valor dos sólidos solúveis totais foi de 5,4 °Brix para ambas as variedades, semelhante aos observados no presente experimento para cocos Anão Verde com 8 meses. COSTA et al. (2006) observaram uma diminuição dos SST a partir do 9º mês de idade, que está associada à redução nos teores de frutose e de glicose da água, como precursores da síntese de ácidos graxos no albúmen sólido e na própria água (JACKSON et al., 2004; ARAGÃO et al., 2001). Variações

nos teores de SST, ácidos graxos, proteína, acidez e turbidez, em função do estágio de maturação do coco, também foram encontradas por JACKSON et al. (2004).

4.2.2 Acidez total titulável (ATT) e pH

A ATT da água do coco teve efeito isolado do tempo de armazenamento (Tabela 3), mas não foi influenciada pelos biofilmes (Tabela 7). O comportamento médio geral da ATT em função do tempo (Figura 11) foi de redução até o 20º dia de armazenamento e em seguida de aumento, atingindo valores maiores que os iniciais. Em relação aos biofilmes a ATT apresentou maior incremento após o 20º dia nas formulações de gelatina (B5) e do controle (B6). Nos frutos revestidos com B5 a acidez da água passou de 50,34 no tempo inicial para 66,45 mg ácido málico por 100 mL aos 40 dias de armazenamento. No controle de 49,89 para 64,86 mg ácido málico por 100 mL (Tabela 7).

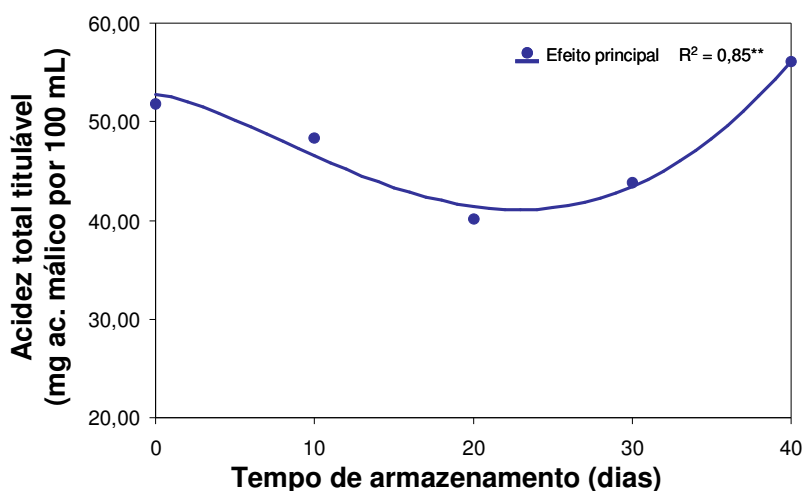


Figura 11. Acidez total titulável da água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 52,7 - 0,27 x^{1,5} + 0,007 x^{2,5}$.

RESENDE et al. (2005) observaram que a ATT da água de coco variedade Anão Verde variou de 65,64 a 127,17 mg ácido málico por 100 mL, para frutos revestidos com fécula de mandioca + quitosana e controle sem revestimento, respectivamente. Estes valores são mais elevados que os observados no presente experimento, sendo que essas diferenças na

acidez da água de frutos de uma mesma variedade podem ser atribuídas a diferentes estádios de maturação ou ainda ao fato dos frutos serem provenientes de diferentes regiões de cultivo.

Segundo ARAGÃO et al. (2002), as diferenças na composição química da água de coco pode ser devido à variedade do coco, idade, fatores ambientais, sanidade e práticas de cultivo, tanto quanto às condições de transporte e armazenamento do fruto. JAYALEKSHMY et al. (1986), ao avaliar água de coco proveniente de diferentes estádios de maturação do fruto, constataram que a ATT foi comparativamente baixa nos primeiros estádios de maturação (6, 7 e 8 meses), mas aumentou ao máximo nos estádios subseqüentes (frutos com 9, 10 e 11 meses de idade) e em seguida houve uma queda significativa nos últimos estádios (12 e 13 meses de idade).

Para o pH da água de coco houve interação significativa entre biofilmes e tempo de armazenamento (Tabelas 3, 4 e 5). A água dos frutos revestidos com as formulações B3 e B6 aos 30 dias ficou menos ácida do que a dos demais biofilmes (Tabelas 7 e Figura 12). Em função do tempo de armazenamento houve diferentes ajustes de regressão para o pH na água dos frutos revestidos com cada formulação (Figura 12).

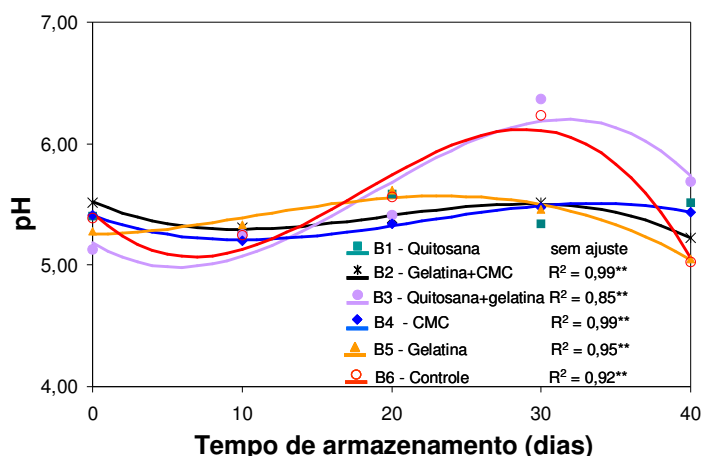


Figura 12. Potencial hidrogeniônico (pH) da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B2: $y=5,52-0,051x+0,0034x^2-0,000059x^3$; B3: $y=5,18-0,075x+0,0078x^2-0,00014x^3$; B4: $y=5,41-0,045x+0,0029x^2-0,000045x^3$; B5: $y=5,25+0,0029x^2+0,00048x^{2,5}$ e B6: $y=5,42-0,11x+0,010x^2-0,00019x^3$.

Na água de coco o pH tem tendência a aumentar nos frutos entre seis e oito meses de idade e diminuir nos estádios subseqüentes (9, 10 e 11 meses), aumentando novamente nos

estádios finais do amadurecimento (12 e 13 meses) quando atinge valores máximos. O pH da água de coco geralmente se encontra na faixa de 4,0 a 6,0. No presente estudo, os valores variam de 5,03 a 6,37 (Tabela 7), sendo que estes valores estão de acordo com os citados por COSTA et al. (2006) e MACIEL et al. (1992) para frutos com 8 meses de idade. Em trabalho realizado por ROSA & ABREU (2000), o pH em frutos colhidos aos sete meses foi igual a 4,9. Para TAVARES et al. (1998), o pH em frutos com 8 meses foi de 4,7 a 4,9. Segundo esses autores, o sabor doce e a adstringência desejável da água de coco são atingidos com valores de pH próximos a 5,6, para frutos colhidos aos 8 meses. Entretanto, FERREIRA NETO (2005), em trabalhos conduzidos na região Nordeste com fertirrigação e água salina, constataram que o pH atingiu 5,8 em frutos colhidos com sete meses de idade e isto não afetou o sabor da água.

O pH mais ácido na água de coco pode ser devido à presença de fragmentos de ácidos orgânicos, aminoácidos livres, CO₂ dissolvido durante a respiração do tecido, assim como, à presença de ácidos graxos. A água de coco verde é reportada estar sob pressão hidrostática que poderia facilitar a dissolução do CO₂ na água. É comum observar efervescência (pequenas bolhas) na água ao abrir o coco. A depleção da água na maturação causa um espaço vazio em que os gases escapam e então a efervescência não é usualmente notada no fruto maduro (JAYALEKSHMY et al., 1986).

As tendências de redução do teor de SST, de aumento da ATT e de redução no pH na água do tratamento controle (B6) pode ser um indicativo do efeito das formulações de biofilmes sobre a conservação da água de coco. A redução nos SST pode indicar um maior metabolismo dos açúcares consumidos pela respiração. O aumento da ATT e redução do pH, conferindo à água sabor mais ácido, são indicativos da deterioração, pois pequenas oscilações nos valores de pH são facilmente percebidos em testes sensoriais. Segundo ASSIS et al. (2000), a água dos frutos de coqueiro Anão Verde com sete meses de idade apresenta SST, ATT e pH em torno de 6,0 °Brix, 74 mg ac. málico por 100 mL e 5,0, respectivamente, e conteúdo de açúcares e sais minerais mais equilibrados, o que lhes confere sabor mais agradável devido à redução na acidez e adstringência.

4.2.3 Glicose, frutose e sacarose

Os teores de glicose e frutose da água de coco apresentaram diferenças significativas para as formulações de biofilmes somente aos 40 dias de armazenamento (Tabela 8), quando

os teores observados para a água dos frutos revestidos com as formulações CMC (B4), gelatina (B5) e controle (B6) apresentavam-se superiores aos das formulações quitosana (B1), gelatina + CMC (B2) e quitosana + gelatina (B3).

Tabela 8. Teores de frutose, glicose, sacarose e vitamina C da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.

Biofilmes	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	10	20	30	40
	Frutose (g por 100 g)				
B1 - Quitosana	2,50 a	2,48 a	— ⁽¹⁾	2,34 a	1,60 b
B2 - Gelatina + CMC	2,38 a	2,24 a	—	2,08 a	1,59 b
B3 - Quitosana + gelatina	2,74 a	2,43 a	—	2,13 a	1,78 b
B4 - CMC	2,34 a	2,62 a	—	2,24 a	2,43 a
B5 - Gelatina	2,45 a	2,35 a	—	2,23 a	2,37 a
B6 - Controle	2,80 a	2,55 a	—	1,75 a	2,35 a
	Glicose (g por 100 g)				
B1 - Quitosana	2,55 a	2,60 a	—	2,44 a	1,80 b
B2 - Gelatina + CMC	2,62 a	2,35 a	—	2,17 a	1,82 b
B3 - Quitosana + gelatina	2,85 a	2,60 a	—	2,36 a	2,01 b
B4 - CMC	2,53 a	2,63 a	—	2,32 a	2,55 a
B5 - Gelatina	2,60 a	2,58 a	—	2,48 a	2,44 a
B6 - Controle	2,92 a	2,54 a	—	1,91 a	2,35 a
	Sacarose (g por 100 g)				
B1 - Quitosana	0,58 a	0,61 a	0,44 a	0,33 a	0,54 a
B2 - Gelatina + CMC	0,75 a	0,61 a	0,33 a	0,92 a	0,71 a
B3 - Quitosana + gelatina	0,08 a	0,49 a	0,27 a	0,63 a	0,38 a
B4 - CMC	0,58 a	0,31 a	0,28 a	0,25 a	0,57 a
B5 - Gelatina	0,39 a	0,37 a	0,50 a	0,42 a	0,53 a
B6 - Controle	0,49 a	0,22 a	0,29 a	0,42 a	0,30 a
	Vitamina C total (mg por 100 mL)				
B1 - Quitosana	5,08 a	3,60 a	3,87 b	1,06 a	1,28 a
B2 - Gelatina + CMC	4,37 a	3,33 a	4,90 a	0,97 a	1,00 a
B3 - Quitosana + gelatina	4,02 b	3,92 a	4,19 b	1,01 a	1,25 a
B4 - CMC	4,53 a	3,56 a	4,16 b	0,83 a	0,79 a
B5 - Gelatina	3,70 b	3,41 a	4,65 a	0,77 a	0,81 a
B6 - Controle	3,94 b	3,19 a	3,31 b	0,64 a	0,76 a

⁽¹⁾: Os dados deste tempo de armazenamento não foram incluídos na análise estatística de glicose e frutose por apresentarem valores discrepantes em relação aos demais tempos.

As médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott 5%

Tanto os teores de glicose quanto os de frutose apresentaram comportamento muito semelhante em função do tempo de armazenamento (Figuras 13 e 14).

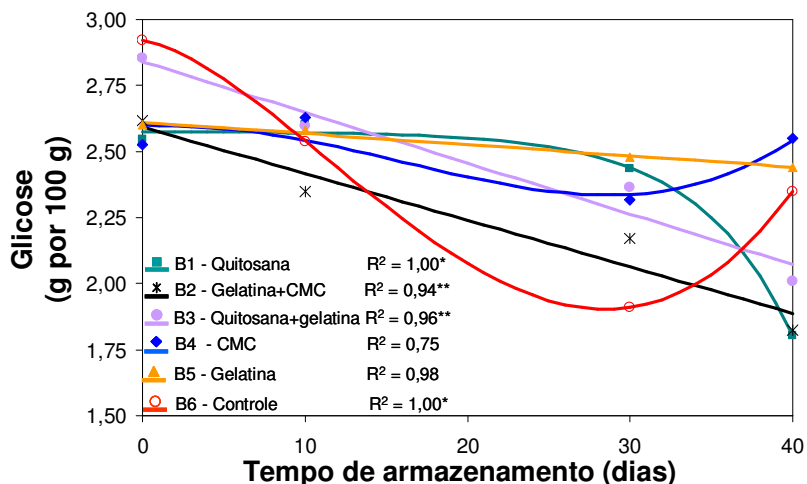


Figura 13. Teor de glicose na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=2,57-0,00074e^{(-x/5,76)}$; B2: $y=2,59-0,018x$; B3: $y=2,84-0,019x$; B4: $y=2,60-0,00036x^{2,5}+0,000056x^3$; B5: $y=2,61-0,0042x$ e B6: $y=2,91-0,013x^{1,5}+0,000044x^3$.

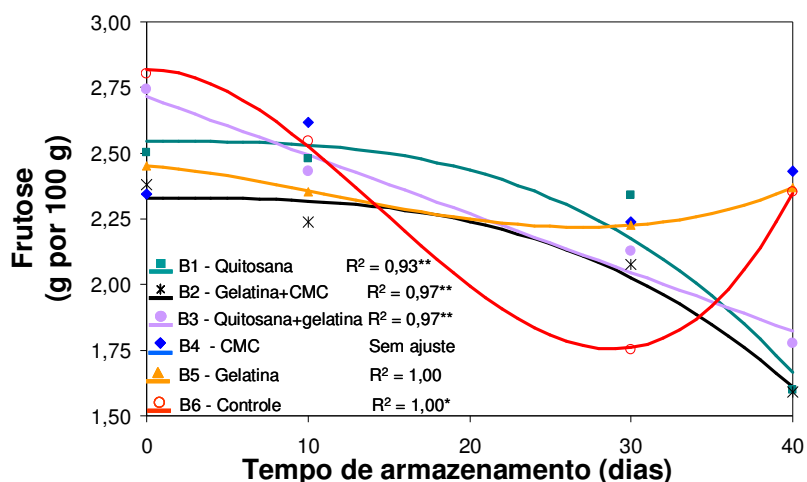


Figura 14. Teor de frutose na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=2,54-0,000014x^3$; B2: $y=2,33-0,000011x^3$; B3: $y=2,72-0,022x$; B5: $y=2,44-0,0033x^{1,5}+0,000012x^3$ e B6: $y=2,82-0,0038x^2-0,000088x^3$.

A água da formulação B1 apresentou tendência de queda acentuada destes açúcares após os 30 dias de armazenamento e a água das formulações B2 e B3 tendência linear de diminuição da glicose (Figura 13). A formulação B5 não promoveu variação marcante nesses açúcares com o armazenamento, não apresentando efeito significativo do tempo (Tabela 5) o que pode ser um efeito positivo na conservação da água. Aos 30 dias de armazenamento a

água dos cocos tratados com o controle (B6) apresentou a maior degradação destes açúcares, embora não tenha apresentado diferença significativa em relação aos demais tratamentos, entretanto, os teores de glicose e frutose na água do controle (B6) voltaram a aumentar aos 40 dias (Figuras 13 e 14), sugerindo que havia alguma degradação do albúmen sólido ou acidificação da água neste tratamento. Analisando-se as Figuras 13 e 14 observa-se que entre os revestimentos usados a gelatina (B5) foi a que menos degradou estes açúcares com o tempo de armazenamento, embora os resultados não tenham sido significativos em relação aos demais tratamentos.

Os biofilmes tiveram um efeito positivo na conservação da água de coco perceptível até os trinta dias de armazenamento, quando a água do tratamento controle (B6) apresentou uma redução acentuada nos teores de glicose e frutose comparativamente à dos demais biofilmes (Figuras 13 e 14), embora não tenha apresentado diferença significativa em relação aos demais tratamentos.

Os valores de glicose e frutose encontram-se abaixo dos citados na literatura, os quais situam-se na faixa de 4 a 4,9 g por 100 g de água (SANTOSO et al., 1996; JAYALEKSHMY et al., 1986). No presente estudo a média geral foi de 2,3 e 2,4 g por 100 g de frutose e glicose na água de coco, respectivamente. Entretanto, RESENDE et al. (2005) trabalhando com cocos da variedade Anão Verde com oito meses encontraram valores semelhantes aos deste estudo. Portanto, esta pode ser uma característica de cocos produzidos na região litorânea do Estado do Rio de Janeiro. Há também variações nos teores de açúcares redutores e não-redutores da água de coco da variedade Anão Verde em função da idade de colheita (ARAGÃO et al., 2001; LEBER & FARIA, 2003).

Em relação à sacarose não houve diferenças significativas entre os biofilmes e nem com o decorrer do armazenamento (Tabela 8). A sacarose apresentou média geral de 0,45 g por 100 g de água de coco, com maior variabilidade no início do armazenamento (Tempo 0) e com tendência de redução com o armazenamento. Aos 40 dias de armazenamento o menor teor de sacarose foi do tratamento controle (B6) e o maior do tratamento gelatina + CMC (B2), embora sem diferença estatística entre eles. A grande variabilidade nos valores de sacarose dos frutos, causando um amplo coeficiente de variação (Tabela 3), não permitiu observar diferenças estatísticas entre as médias.

Dentre os componentes da água de coco, os açúcares são os mais importantes, não só por desempenharem papel de destaque durante o amadurecimento do fruto, mas também por serem os principais responsáveis pelas características sensoriais da água.

4.2.4 Vitamina C total

A interação entre os biofilmes e tempo de armazenamento para os teores de vitamina C foi significativa ao nível de 13% de probabilidade de erro (Tabela 3). Este nível, considerado alto, permite que sejam detectadas algumas diferenças entre os biofilmes no teste de médias (Tabela 8), mas não sejam detectadas diferenças com a análise de regressão em função do tempo (Figura 15). Aos 20 dias de armazenamento a vitamina C de águas de cocos tratados com os biofilmes gelatina + CMC (B2) e gelatina (B5) foram significativamente maiores em relação à água dos frutos dos demais tratamentos (Tabela 8). Em função do tempo, os teores de vitamina C decresceram em todos os tratamentos durante os 40 dias de armazenamento. Essa degradação foi muito acentuada após os 20 dias de armazenamento, principalmente nos frutos do tratamento controle (B6), dificultando o ajuste das regressões, que apresentaram baixo coeficiente de determinação. A diferença significativa para os teores de vitamina C entre os biofilmes no tempo 0 provavelmente se deve a variabilidade natural, pois não houve tempo hábil para os biofilmes causarem efeitos na água de coco. Este efeito aparece devido à alta probabilidade de erro no desdobramento desta interação.

Embora não significativa, a retenção de vitamina C tendeu a ser maior para a água de coco dos frutos tratados com a formulação de quitosana (B1) e quitosana + gelatina (B3), aos 30 e 40 dias armazenamento (Tabela 8). Isso pode ser resultado de uma síntese contínua de ácido L-ascórbico a partir de seu precursor, a glicose 6-fosfato e de efeito aditivo da baixa taxa de respiração do fruto proporcionado por esses biofilmes (RESENDE et al., 2004a).

Apesar dos frutos e vegetais frescos fornecerem mais de 90% da vitamina C necessária ao organismo (LEE & KADER, 2000), a água de coco não é uma boa fonte de vitamina C. Neste estudo foram detectados valores baixos de vitamina C, que no início do armazenamento corresponderam a um valor médio de 5,08 mg por 100 g de ácido ascórbico na água de coco e que reduziram para aproximadamente 0,76 mg por 100 g ao final do armazenamento. ROSA & ABREU (2000) encontraram 1,2 mg por 100 g para coco Anão Verde aos sete meses de idade. Sua determinação em frutos e hortaliças, mesmo que

apresentem baixos teores, tem se tornado importante à medida que pesquisas estabelecem a relação entre a necessidade de ingestão na dieta e a saúde humana (GÖKMEN et al., 2000).

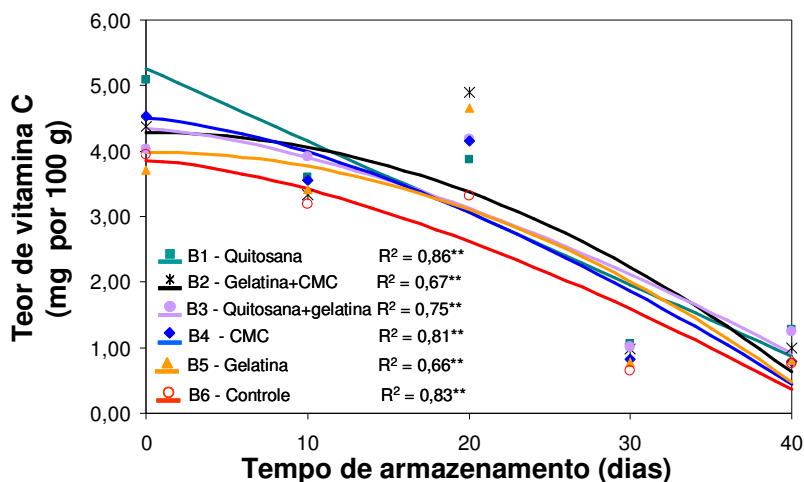


Figura 15. Teor de vitamina C na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=5,25-0,11x$; B2: $y=4,28-0,0023x^2$; B3: $y=4,33-0,013x^{1,5}$; B4: $y=4,49-0,016x^{1,5}$; B5: $y=3,98-0,0022x^2$ e B6: $y=3,85-0,014x^{1,5}$.

Em um estudo sobre a capacidade antioxidante de vários frutos, LEONG & SHUI (2002) também constataram que a água de coco apresenta baixos teores de vitamina C (0,7 mg por 100 g) e esta contribuiu com apenas 6,1 % da capacidade antioxidante total para espécies reativas de oxigênio (ERO) da água de coco, sendo considerada baixa (11,5 mg por 100 g) quando comparada com morango (472 mg por 100 g), uva (264 mg por 100 g), goiaba (270 mg por 100 g) e papaia solo (141 mg por 100 g).

As possíveis razões para a perda de vitamina C na água de coco durante o armazenamento são a auto-oxidação, que ocorre espontaneamente quando esta substância combina com o oxigênio do ar, e a oxidação enzimática, que é catalizada por enzimas oxidativas (GROSS, 1991). Após a abertura do fruto, a água de coco fica exposta ao ar e à luz ocasionando a oxidação da vitamina C. Revestimentos de frutos e hortaliças têm sido reportados retardar a respiração e o metabolismo indicando que a atividade de enzimas envolvidas na oxidação da vitamina C pode ser suprimida ou o substrato (O_2) limitado pela aplicação de biofilmes. Isto pode levar a um decréscimo na perda de vitamina C durante o

armazenamento, como verificado neste estudo e por RESENDE et al. 2004, em que mamão ‘sunrise golden’ revestido com biofilmes apresentou redução na perda de vitamina C.

4.2.5 Minerais

Entre os minerais analisados apenas houve interação significativa entre biofilmes e tempo de armazenamento para o N (Tabelas 3, 4 e 5). Para Mg houve efeito dos biofilmes e do tempo de armazenamento, porém sem haver interação (Tabela 3). Para P, K, Ca, Cl, Zn e Fe houve efeito apenas do tempo de armazenamento, enquanto para o Na e Mn não houve efeitos significativos (Tabelas 3, 9 e 10). Para o Cu foram detectados traços na água apenas até os 10 dias de armazenamento, sendo que os dados não foram suficientes para serem submetidos à análise estatística.

Não houve diferença significativa entre os biofilmes para os teores de N na água de coco na maioria dos tempos de armazenamento estudados (Tabela 4 e 9). Somente aos 30 dias houve diferenças entre os biofilmes, sendo que o biofilme de quitosana (B1) apresentou teor de N superior ao da água dos cocos com as demais coberturas (0,07 g por 100 mL). Entretanto, como em nenhum outro tratamento o valor médio de N atingiu 0,07 g por 100 mL e como este mineral possuía valores muito baixos, no limite da detecção da análise, a diferença observada pode ter sido causada pela variabilidade natural dos dados. Observando o comportamento geral de N em função do tempo de armazenamento, seus teores apresentaram um pequeno decréscimo nos primeiros dias de armazenamento e em seguida mantiveram-se constante, apresentando novamente um pequeno decréscimo depois dos 30 dias de armazenamento (Figura 16).

Entretanto, é relatado que a quantidade de N total na água de coco aumenta progressivamente com o amadurecimento do fruto (JAYALEKSHMY et al., 1986; SANTOSO et al., 1996). Este aumento não foi observado neste estudo, onde os teores de N mantiveram-se constantes durante o armazenamento, indicando conservação da água de coco ou que altas concentrações de cloreto na solução do solo prejudicam a absorção de N, por inibição competitiva entre ânions de cloreto e nitrato, lembrando que estes frutos são provenientes da região litorânea do Estado do Rio de Janeiro, onde os solos apresentam elevadas concentrações de cloreto de sódio.

Tabela 9. Teores de N, P, K, Ca e Mg na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.

Biofilmes	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	10	20	30	40
Nitrogênio (g por 100 mL)					
B1 - Quitosana	0,06 a	0,06 a	0,06 a	0,07 a	0,05 a
B2 – Gelatina + CMC	0,06 a	0,05 a	0,05 a	0,05 b	0,05 a
B3 - Quitosana + gelatina	0,05 a	0,06 a	0,05 a	0,06 b	0,05 a
B4 – CMC	0,06 a	0,05 a	0,05 a	0,05 b	0,05 a
B5 – Gelatina	0,05 a	0,05 a	0,05 a	0,05 b	0,05 a
B6 – Controle	0,06 a	0,05 a	0,06 a	0,05 b	0,05 a
Fósforo (mg por 100 mL)					
B1 - Quitosana	5,51 a	4,92 a	5,38 a	5,67 a	3,90 a
B2 – Gelatina + CMC	4,35 a	4,22 a	5,13 a	5,08 a	3,86 a
B3 - Quitosana + gelatina	4,71 a	5,64 a	4,26 a	5,14 a	4,78 a
B4 – CMC	5,48 a	4,80 a	4,44 a	5,78 a	5,75 a
B5 – Gelatina	4,44 a	3,81 a	3,95 a	5,53 a	4,50 a
B6 – Controle	5,38 a	5,42 a	5,18 a	7,08 a	5,61 a
Potássio (mg por 100 mL)					
B1 - Quitosana	214 a	183 a	189 a	192 a	158 b
B2 – Gelatina + CMC	189 a	182 a	188 a	193 a	133 b
B3 - Quitosana + gelatina	215 a	216 a	179 a	209 a	178 a
B4 – CMC	204 a	209 a	187 a	195 a	184 a
B5 – Gelatina	186 a	201 a	192 a	215 a	171 a
B6 – Controle	214 a	192 a	196 a	207 a	183 a
Cálcio (mg por 100 mL)					
B1 - Quitosana	25,5 a	19,5 a	21,3 a	30,7 a	20,3 b
B2 – Gelatina + CMC	23,0 a	20,1 a	21,1 a	28,7 a	20,2 b
B3 - Quitosana + gelatina	26,5 a	24,0 a	24,3 a	26,0 a	25,7 a
B4 – CMC	25,0 a	26,2 a	22,5 a	28,9 a	24,9 a
B5 – Gelatina	20,7 a	24,6 a	25,2 a	32,2 a	22,4 b
B6 – Controle	25,4 a	21,8 a	22,6 a	30,1 a	27,7 a
Magnésio (mg por 100 mL)					
B1 - Quitosana	6,08 a	8,73 a	8,51 a	12,85 a	7,74 a
B2 – Gelatina + CMC	7,14 a	7,39 a	8,59 a	10,77 b	8,17 a
B3 - Quitosana + gelatina	7,66 a	8,93 a	8,11 a	9,78 b	9,44 a
B4 - CMC	7,39 a	7,09 a	8,82 a	9,80 b	9,22 a
B5 - Gelatina	5,97 a	8,31 a	9,34 a	12,77 a	9,59 a
B6 - Controle	8,04 a	9,00 a	9,03 a	13,68 a	10,50 a

As médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott 5%

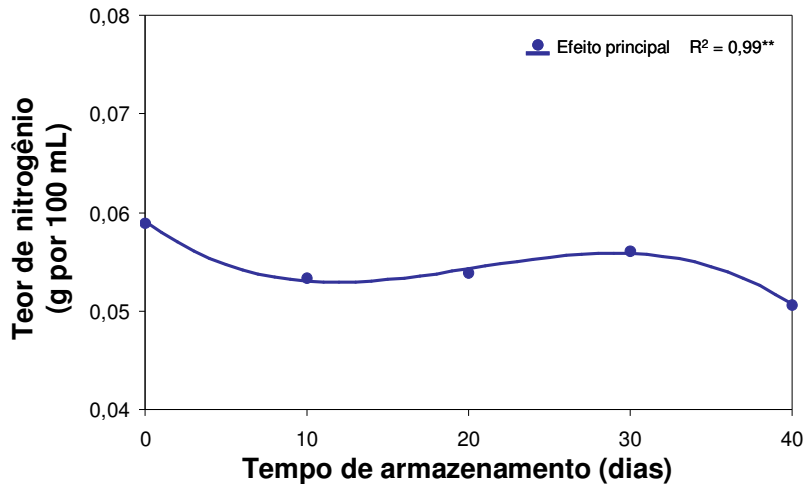


Figura 16. Teor de nitrogênio na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=0,06-0,0012x+0,000072x^2-0,0000012x^3$.

O fósforo está presente em pequena concentração na água de coco (Tabela 9) e apresentou muito pouca variação no decorrer do armazenamento (Figura 17). Não houve efeito dos diferentes biofilmes nos teores de P. As concentrações mínima e máxima de fósforo verificadas na água de coco foram 3,81 e 7,08 mg por 100 mL de água, respectivamente.

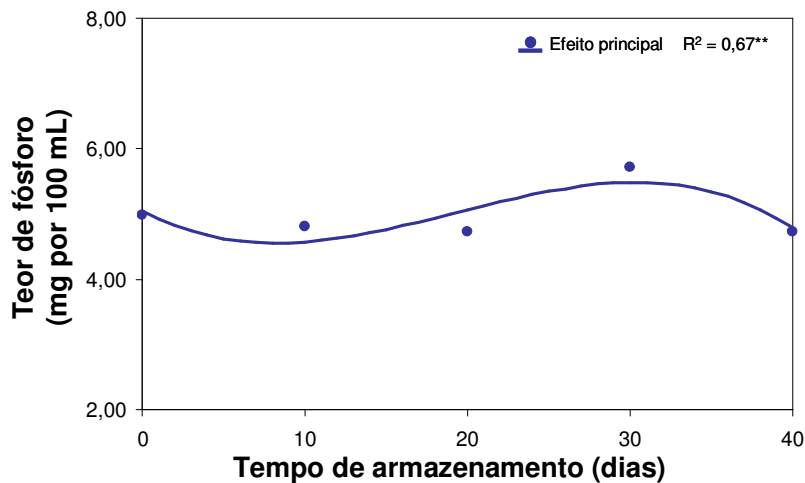


Figura 17. Teor de fósforo na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=5,05-0,013x+0,0100x^2-0,00017x^3$.

Segundo TEIXEIRA et al. (2005), a adubação é um fator importante no aumento do teor de fósforo da água de coco, a cada incremento de 100 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na adubação ocorre um aumento de 0,4 mg por 100 mL no teor de fósforo na água de coco. A adubação fosfatada é freqüentemente relacionada com a redução de compostos fenólicos em plantas e, assim, pode causar alteração no sabor da água de coco.

Quanto aos teores de potássio na água de coco, até os 30 dias de armazenamento houve uma tendência de permanecerem estáveis (Figura 18). Entretanto, com 40 dias houve redução dos teores de potássio em todos os tratamentos, sendo que essa redução foi maior para a água dos frutos revestidos com gelatina + CMC (B2) e quitosana (B1) (Tabela 9).

O potássio foi o eletrólito mais abundante na água dos cocos verdes de 8 meses de idade aqui avaliados. Seus teores variaram entre 133 e 216 mg por 100 mL nos frutos tratados com gelatina + CMC (B2) aos 40 dias de armazenamento e com quitosana + gelatina (B3) aos 10 dias de armazenamento, respectivamente.

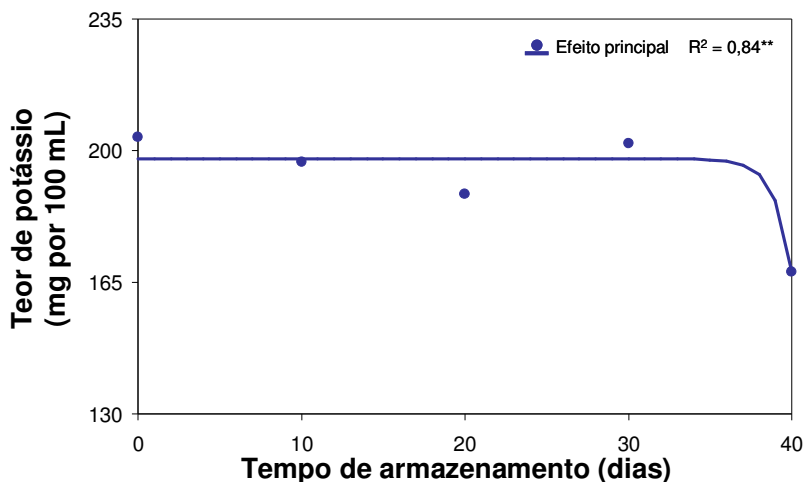


Figura 18. Teor de potássio na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 198 - 1,27.10^{-16}e^x$.

Os teores de potássio encontrados neste trabalho estão acima do encontrado por ROSA & ABREU (2000), que foi de 157 mg por 100 mL de água para a variedade Anão Verde com 7 meses de idade. TEIXEIRA et al. (2005) e SILVA et al. (2006), trabalhando com a variedade Anão Verde, constataram que o teor de potássio na água de coco aumentou com a aplicação de cloreto de potássio durante a prática da adubação. Entretanto, foi observado por

NAKAGAWA & ROSOLEM (2005) que a maior absorção de potássio pela planta nem sempre resulta em teores mais elevados nos frutos. A maior concentração desse elemento no suco celular demanda maior proporção de ácidos dissociados que devem estar presentes para garantir o equilíbrio de cargas negativas e positivas no meio (MALAVOLTA, 1994).

A concentração dos eletrólitos cálcio e magnésio foram praticamente estáveis durante o armazenamento, apresentando uma pequena elevação aos 30 dias de armazenamento e declinando em seguida (Figuras 19 e 20). Aos 40 dias o teor de Ca foi maior na água dos frutos tratados com os biofilmes quitosana + gelatina (B3), CMC (B4) e controle (B6) em relação aos demais tratamentos (Tabela 9). O teor de Mg na água foi afetado pelos tratamentos de biofilmes apenas aos 30 dias de armazenamento, sendo que o controle (B6), quitosana (B1) e gelatina (B5) foram superiores aos demais (Tabela 9). As concentrações de cálcio e de magnésio são cerca de duas vezes superiores às encontradas por ROSA & ABREU (2000) e FAGUNDES NETO et al. (2006). Assim, a água de coco proveniente de frutos das regiões litorâneas do Rio de Janeiro, como os utilizados no presente trabalho, apresenta maior probabilidade para coloração rósea ao entrar em contato com o oxigênio do ar (Observação pessoal).

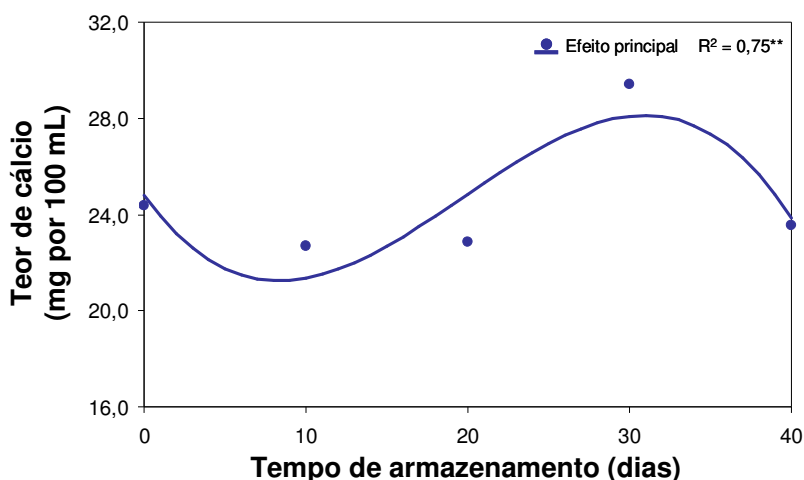


Figura 19. Teor de cálcio na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=24,8-0,93x+0,071x^2-0,0012x^3$.

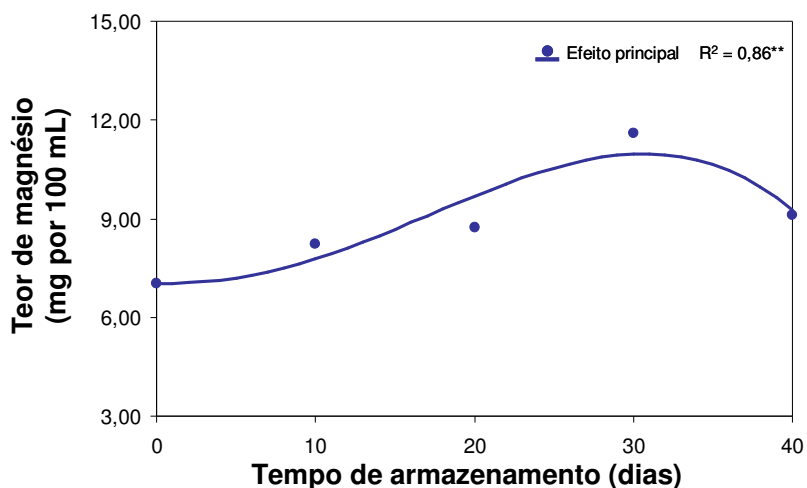


Figura 20. Teor de magnésio na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=7,04+0,0045x^{2,5} - 0,00068x^3$.

FERREIRA NETO (2002) encontrou quantidades de cálcio semelhantes à deste trabalho quando analisou água de frutos da variedade Anão Verde cultivada com água de irrigação salina. Os cocos utilizados no presente trabalho foram provenientes de Quissamã, região litorânea do Estado do Rio de Janeiro, o que aumenta a probabilidade de existir água salobra, o que poderia justificar os teores altos de Ca e Mg encontrados, embora não existam respaldos suficientes na literatura que confirmem esta hipótese.

O íon cloreto, segundo eletrólito em maior concentração na água de coco, foi influenciado apenas pelo tempo de armazenamento (Tabela 10; Figura 21) ao nível de 7% de probabilidade de erro (Tabela 3). Entre os 10 e 20 dias houve uma oscilação nos teores de cloreto, mas no geral os teores variaram pouco entre o início e o fim do período de armazenamento. No início os teores de cloreto foram em média de 134 mg por 100 mL e no final de 131 mg por 100 mL de água. Valores de magnitude semelhante foram obtidos por FAGUNDES NETO (2006), que observou uma redução do íon cloreto com a progressão do amadurecimento para frutos provenientes de região não litorânea, e por FERREIRA NETO et al. (2002), que constataram um aumento na concentração do íon cloreto de 140 a 220 mg por 100 mL na água de coco da variedade Anão Verde devido a um aumento na salinidade da água de irrigação.

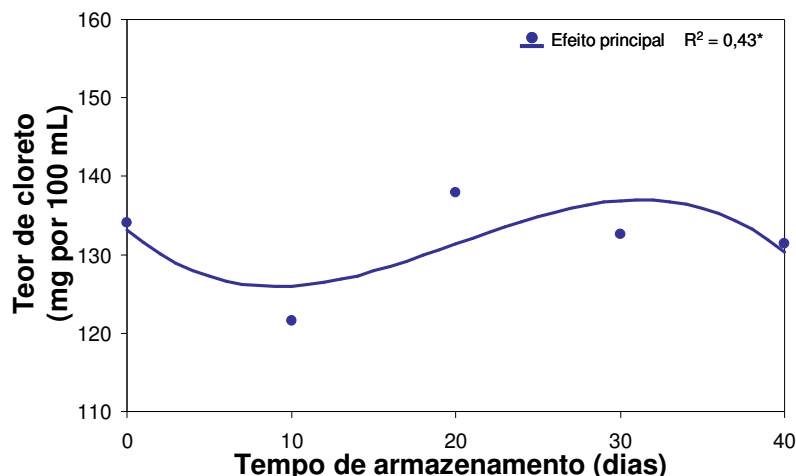


Figura 21. Teor de cloreto na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=133-1,74x+0,123x^2-0,00204x^3$.

O sódio é o eletrólito em menor concentração na água de coco, sendo que no presente estudo seus teores não foram influenciados pelos biofilmes e armazenamento (Tabela 3 e 10). Apresentou muito pouca variação no decorrer do armazenamento, no entanto observa-se uma tendência de diminuição das concentrações aos 40 dias. A concentração máxima de sódio verificada na água de coco foi de 3,79 mg por 100 mL e a mínima foi 0,99 mg por 100 mL.

Segundo FAGUNDES NETO et al. (2006), a água de coco é frequentemente utilizada como solução de reidratação oral para prevenir a desidratação, entretanto a concentração média de sódio na água de coco apresenta-se muito aquém da recomendada pela WHO (2001) para uma solução de reidratação oral. A WHO determina que uma solução de reidratação oral deva conter 75 meq L⁻¹ de sódio; 20 meq L⁻¹ de potássio; 65 meq L⁻¹ de cloreto; 13,5 g L⁻¹ de glicose e osmolaridade de 245 m mol L⁻¹. Comparando com a água de coco observa-se que as concentrações de glicose, sódio, potássio e cloreto não atendem às recomendações da WHO, assim a água de coco só deve ser utilizada para prevenir a desidratação e não para curá-la.

Entretanto, considerando a elevada concentração de potássio, a água de coco pode ser usada para reposição desse eletrólito na dieta, além do que sua ingestão diária pode prevenir deficiências minerais. Assim, embora a água não atenda as exigências para ser uma solução reidratadora num caso de doença, o seu baixo teor de sódio e alto teor de potássio, pode ser ideal para reidratação pós-exercício físico de pessoas com dietas hipossódicas. No presente trabalho, o teor de sódio apresentou-se abaixo dos teores que a maioria dos frutos possui, e houve uma alta razão potássio/sódio, o que também é favorável do ponto de vista

cardiovascular (HADDY & PANNANI 1995). A maioria dos frutos e sucos de frutas ao natural apresenta conteúdo de sódio muito baixo, de 9 a 41 mg por 100 g, o que contribui sobremaneira para uma dieta saudável (SOARES et al., 2004).

Tabela 10. Teores de Cl, Na, Zn, Fe e Mn na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.

Biofilmes	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	10	20	30	40
Cloreto (mg por 100 mL)					
B1 - Quitosana	146 a	128 a	137 a	151 a	119 a
B2 - Gelatina + CMC	124 a	112 a	131 a	127 a	111 a
B3 - Quitosana + gelatina	156 a	110 a	139 a	128 a	135 a
B4 - CMC	125 a	126 a	139 a	125 a	142 a
B5 - Gelatina	122 a	130 a	136 a	128 a	136 a
B6 - Controle	131 a	125 a	147 a	137 a	145 a
Sódio (mg por 100 mL)					
B1 - Quitosana	1,17 a	2,10 a	2,74 a	3,79 a	0,99 a
B2 - Gelatina + CMC	2,39 a	1,98 a	1,94 a	1,79 a	1,34 a
B3 - Quitosana + gelatina	1,99 a	2,00 a	1,23 a	2,67 a	1,40 a
B4 - CMC	3,17 a	2,01 a	1,53 a	2,48 a	2,38 a
B5 - Gelatina	1,41 a	1,85 a	2,57 a	2,66 a	1,71 a
B6 - Controle	3,40 a	1,64 a	1,87 a	1,71 a	1,28 a
Zinco (µg por 100 mL)					
B1 - Quitosana	29,3 a	10,7 a	5,7 a	27,2 a	4,0 a
B2 - Gelatina + CMC	21,7 a	13,7 a	5,4 a	11,9 a	ND ⁽¹⁾
B3 - Quitosana + gelatina	36,7 a	18,7 a	6,5 a	9,3 a	2,6 a
B4 - CMC	19,7 a	15,7 a	10,3 a	14,3 a	ND
B5 - Gelatina	21,7 a	17,0 a	7,4 a	44,5 a	7,8 a
B6 - Controle	29,3 a	23,0 a	7,1 a	23,9 a	ND
Ferro (µg por 100 mL)					
B1 - Quitosana	23,7 a	8,5 a	— ⁽²⁾	58,3 a	20,5 a
B2 - Gelatina + CMC	12,3 a	18,7 a	—	15,2 b	19,6 a
B3 - Quitosana + gelatina	29,3 a	13,0 a	—	32,3 b	22,9 a
B4 - CMC	14,0 a	25,0 a	—	33,2 b	47,7 a
B5 - Gelatina	8,7 a	12,0 a	—	39,6 b	16,4 a
B6 - Controle	18,3 a	13,7 a	—	58,9 a	23,2 a
Mangânes (µg por 100 mL)					
B1 - Quitosana	208 a	235 a	120 a	198 a	61 a
B2 - Gelatina + CMC	129 a	113 a	139 a	145 a	110 a
B3 - Quitosana + gelatina	187 a	203 a	105 a	122 a	83 a
B4 - CMC	148 a	138 a	125 a	142 a	159 a
B5 - Gelatina	137 a	201 a	100 a	171 a	179 a
B6 - Controle	159 a	161 a	150 a	287 a	157 a

⁽¹⁾: ND = Não determinado na análise química

⁽²⁾: Os dados deste tempo de armazenamento não foram incluídos na análise estatística de ferro por apresentarem valores discrepantes em relação aos demais tempos.

As médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott 5%

O teor de zinco foi significativamente influenciado pelo tempo de armazenamento, mas não pelos tratamentos de biofilmes (Tabelas 3 e 10). Nos tratamentos gelatina + CMC (B2), CMC (B4) e controle (B6) seus teores estavam baixos aos 40 dias de armazenamento a ponto de não serem determinados na análise. O tempo de armazenamento reduziu os teores de zinco da água, particularmente após os trinta dias de armazenamento (Figura 22).

O teor de ferro praticamente não foi influenciado pelos tratamentos de biofilmes. Somente aos 30 dias de armazenamento os frutos revestidos com quitosana (B1) e o controle (B6) apresentaram maiores teores de Fe na água que os demais tratamentos (Tabela 10). O teor de Fe foi afetado pelo tempo de armazenamento (Tabela 3). Aumentou até os 30 dias de armazenamento em seguida apresentou uma redução aos 40 dias (Figura 23).

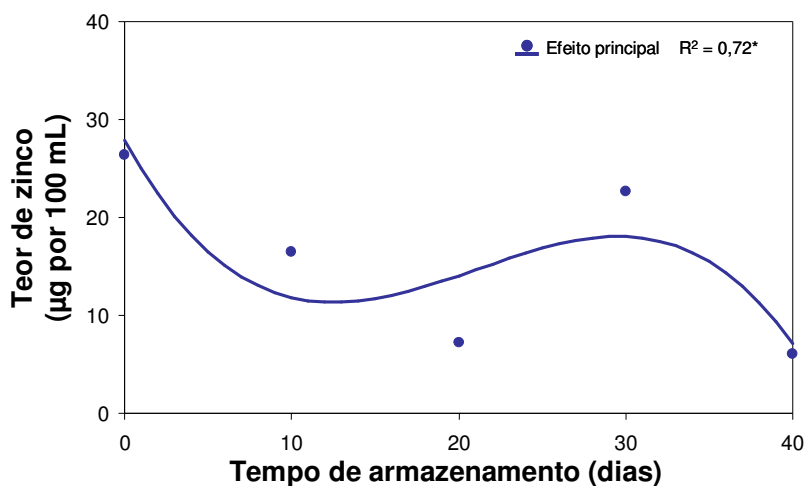


Figura 22. Teor de zinco na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=27,86-3,069x+0,1742x^2-0,002761x^3$.

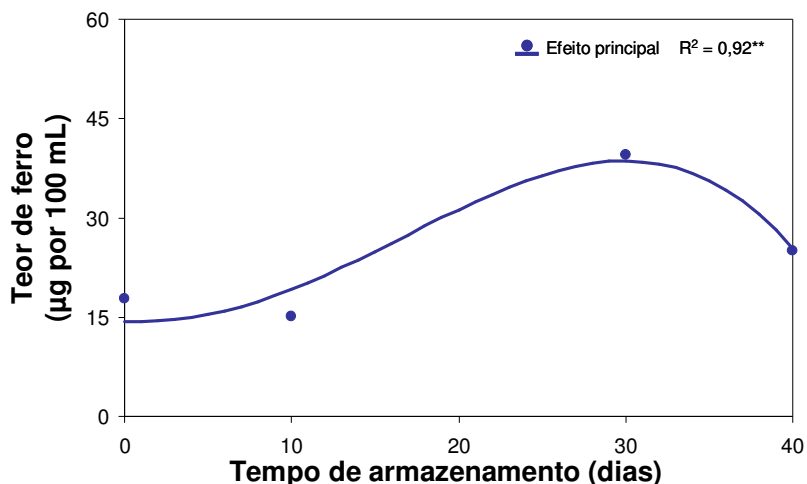


Figura 23. Teor de ferro na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y=14,31+0,0297x^{2,5}-0,004523x^3$.

A concentração de manganês na água de coco durante o armazenamento foi quase constante não havendo efeito dos biofilmes nem do tempo de armazenamento (Tabela 3 e 10). Houve tendência ocorrer redução dos teores de manganês aos 40 dias de armazenamento.

Em relação ao cobre, foram encontrados apenas traços deste nutriente na água de coco, variando de 1 a 3 µg por 100 mL, somente até os 10 dias de armazenamento.

Segundo SANTOSO et al. (1996) e JAYALEKSHMY et al. (1986) os teores de micronutrientes na água de coco tendem a diminuir com o avanço do amadurecimento, com exceção do cobre que tende a aumentar ou manter-se constante. Os teores encontrados de Mn, Fe, Zn e Cu estão abaixo dos encontrados por estes autores que foram de 2,03; 0,4; 1,13 e 0,1 mg por 100 mL de água, respectivamente. Na água de coco avaliada neste experimento a ordem de abundância de eletrólitos foi, em seqüência decrescente, potássio, cloreto, cálcio, magnésio e sódio (Tabelas 9 e 10).

4.2.6 Compostos fenólicos

A análise estatística indicou interação significativa entre biofilmes e tempos de armazenamento (Tabela 3, 4 e 5) para fenólicos dímeros, oligoméricos e poliméricos, sendo suas médias apresentadas na Tabela 11.

Diferenças entre os biofilmes em relação ao teor de fenólicos dímeros na água foram observadas aos 10, 20 e 40 dias de armazenamento (Tabela 4). Aos 10 dias de armazenamento as menores concentrações de compostos dímeros foram observadas na água de frutos revestidos com gelatina + CMC (B2) e controle (B6) em relação aos demais tratamentos. Aos 20 dias os tratamentos com menores teores de fenólicos dímeros foram gelatina + CMC (B2), CMC (B4) e gelatina (B5). Aos 40 dias foram quitosana (B1), gelatina + CMC (B2), quitosana + gelatina (B3) e CMC (B4) que apresentaram menores teores em relação à gelatina (B5) e controle (B6). O teor máximo verificado foi para água do tratamento com quitosana + gelatina (B3) com 7,90 mg de ácido tânico por 100 mL aos 10 dias.

Quanto aos fenólicos oligoméricos, as diferenças entre biofilmes foram observadas aos 20 e 40 dias de armazenamento (Tabela 4). Aos 20 dias de armazenamento a concentração na água foi maior para frutos tratados com quitosana (B1) e controle (B6) (Tabela 11). Aos 40 dias, houve praticamente uma inversão, sendo que os tratamentos quitosana (B1), gelatina + CMC (B2) e controle (B6) passaram a apresentar os menores teores. O teor máximo verificado foi para água do tratamento com CMC (B4) com 8,82 mg de ácido tânico por 100 mL aos 40 dias.

Para os fenólicos poliméricos, houve diferenças entre os biofilmes aos 10 e 40 dias de armazenamento (Tabela 4). Aos 10 dias as concentrações na água foram maiores para frutos tratados com quitosana + gelatina (B3), CMC (B4) e gelatina (B5) e aos 40 dias os teores do tratamento com CMC (B4) foram superiores aos demais, atingindo o teor máximo verificado de 9,74 mg de ácido tânico por 100 mL (Tabela 11).

Em relação ao tempo de armazenamento o comportamento dos três tipos fenólicos foi semelhante. Houve um aumento da concentração de fenólicos durante os primeiros 10 dias de armazenamento em seguida reduziram gradativamente até os 30 dias e no final do armazenamento aumentaram atingindo o máximo aos 40 dias (Figuras 24, 25 e 26), quando se salientaram as diferenças entre os biofilmes.

Tabela 11. Teores de fenólicos dímeros, oligoméricos e poliméricos na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.

Biofilmes	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	10	20	30	40
Fenólicos dímeros (mg de ácido tânico por 100 mL)					
B1 - Quitosana	5,15 a	7,04 a	7,71 a	4,37 a	5,32 b
B2 - Gelatina + CMC	4,01 a	5,57 b	5,30 b	4,25 a	5,81 b
B3 - Quitosana + gelatina	4,46 a	7,90 a	6,51 a	4,02 a	5,86 b
B4 - CMC	4,81 a	6,90 a	5,25 b	3,71 a	6,05 b
B5 - Gelatina	3,83 a	7,68 a	4,40 b	5,21 a	7,73 a
B6 - Controle	4,97 a	5,23 b	6,10 a	4,71 a	7,70 a
Fenólicos oligoméricos (mg de ácido tânico por 100 mL)					
B1 - Quitosana	5,40 a	8,08 a	6,88 a	5,06 a	5,14 b
B2 - Gelatina + CMC	5,12 a	5,51 a	4,55 b	6,14 a	5,65 b
B3 - Quitosana + gelatina	5,41 a	7,67 a	4,41 b	5,70 a	8,77 a
B4 - CMC	5,04 a	6,62 a	4,63 b	4,08 a	8,82 a
B5 - Gelatina	5,77 a	7,23 a	5,36 b	4,86 a	8,03 a
B6 - Controle	5,21 a	6,51 a	6,26 a	5,37 a	6,92 b
Fenólicos poliméricos (mg de ácido tânico por 100 mL)					
B1 - Quitosana	6,67 a	5,59 b	7,79 a	4,74 a	7,28 b
B2 - Gelatina + CMC	5,84 a	6,58 b	4,69 a	5,08 a	6,98 b
B3 - Quitosana + gelatina	6,20 a	8,98 a	5,90 a	6,23 a	7,55 b
B4 - CMC	6,26 a	8,21 a	5,78 a	5,56 a	9,74 a
B5 - Gelatina	5,30 a	8,01 a	6,75 a	7,00 a	7,10 b
B6 - Controle	4,93 a	6,68 b	5,06 a	5,88 a	5,58 b

As médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott 5%

Mudanças nos fenólicos durante o armazenamento e vida útil são variáveis nas diferentes espécies de frutos. Segundo GOLDING et al. (2001), em maçãs os flavonóides são estáveis logo após a colheita, mas ocorrem diferenças significativas no decorrer do armazenamento, sendo que o metabolismo dos fenólicos presentes na casca é relativamente estável sendo mantidos por longos períodos de armazenamento. Porém, ZANG et al. (2000) relataram que em lichia os monômeros e dímeros dos flavonóis, além da cianidina 3-glicosídeo, foram os que mais declinaram com o armazenamento ou escurecimento, sendo estes fenólicos, aparentemente, os maiores substratos para oxidação enzimática. Assim, a tendência dos fenólicos é diminuir com armazenamento, como ocorreu na água de coco até os 30 dias de armazenamento. O aumento posterior dos fenólicos na água de coco pode indicar que já havia alguma degradação no albúmen dos frutos.

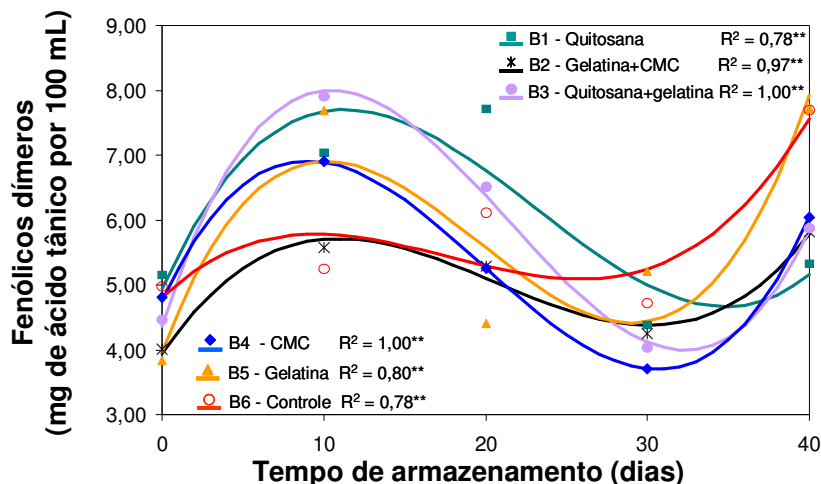


Figura 24. Fenólicos dímeros na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=4,93+0,549x-0,0322x^2+0,000465x^3$; B2: $y=3,93+0,369x-0,0230x^2+0,000374x^3$; B3: $y=4,36+0,778x-0,0493x^2+0,000768x^3$; B4: $y=4,76+0,530x-0,0380x^2+0,000639x^3$; B5: $y=3,97+0,654x-0,0435x^2+0,000740x^3$ e B6: $y=4,80+0,234x-0,0168x^2+0,000318x^3$.

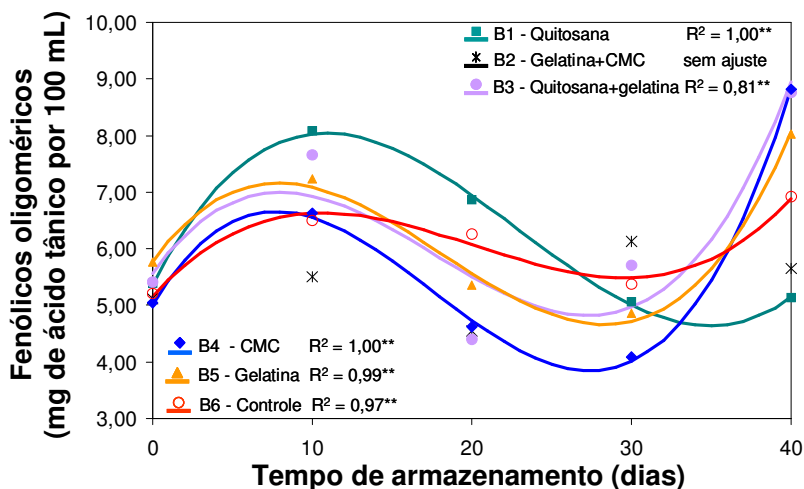


Figura 25. Fenólicos oligoméricos na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=5,35+0,553x-0,0334x^2+0,000486x^3$; B3: $y=5,56+0,398x-0,0322x^2+0,000609x^3$; B4: $y=5,01+0,471x-0,0390x^2+0,000742x^3$; B5: $y=5,76+0,392x-0,0318x^2+0,000586x^3$ e B6: $y=5,15+0,317x-0,0202x^2+0,000335x^3$.

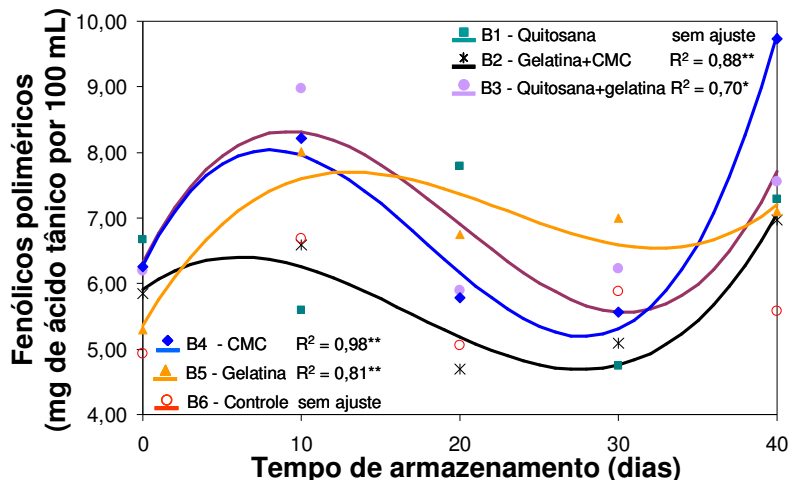


Figura 26. Fenólicos poliméricos na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B2: $y=5,91+0,175x-0,0175x^2+0,000345x^3$; B3: $y=6,32+0,482x-0,0341x^2+0,000573x^3$; B4: $y=6,27+0,488x-0,0394x^2+0,000734x^3$; B5: $y=5,36+0,412x-0,0220x^2+0,000321x^3$.

Embora a quantidade de fenólicos tenha aumentado de forma geral dos 30 para os 40 dias de armazenamento, os aumentos não foram proporcionais entre os três tipos de fenólicos avaliados, variando em função dos biofilmes (Figura 27). A cobertura controle (B6) e cobertura gelatina (B5) promoveram grande aumento de fenólicos dímeros e oligoméricos, porém os teores de poliméricos permaneceram quase sem alteração. A cobertura CMC (B4) promoveu aumento nos três tipos de fenólicos, particularmente de oligoméricos (aumento de 116% em relação aos 30 dias) e poliméricos (aumento de 75%). Quitossana + gelatina (B3) também promoveu aumento dos três fenólicos, porém em menor proporção que CMC (B4). Já as coberturas quitossana (B1) e gelatina + CMC (B2) promoveram aumento moderado dos fenólicos dímeros e poliméricos, mas quase não alteraram os teores de oligoméricos.

Isto pode indicar diferenças entre os biofilmes em promover maior conservação da água até 40 dias. Os flavonóides monoméricos polimerizam-se nas formas dímeras, oligoméricas e poliméricas (LAKS, 1991). Os fenólicos dímeros, como os isoflavonóides, determinam características de coloração, aroma e sabor, tais como acidez, amargor e adstringência durante o amadurecimento (AWAG et al., 2000; LEJA et al., 2003). Os oligoméricos e poliméricos, como os taninos condensados, são responsáveis pela sensação de adstringência e amargor em frutos imaturos (BIBI et al., 2006; GARCÍA-ALONSO et al.,

2004). Desta forma, aumento de fenólicos dímeros pode ser um sinal de aumento de síntese de fenólicos oligoméricos ou poliméricos.

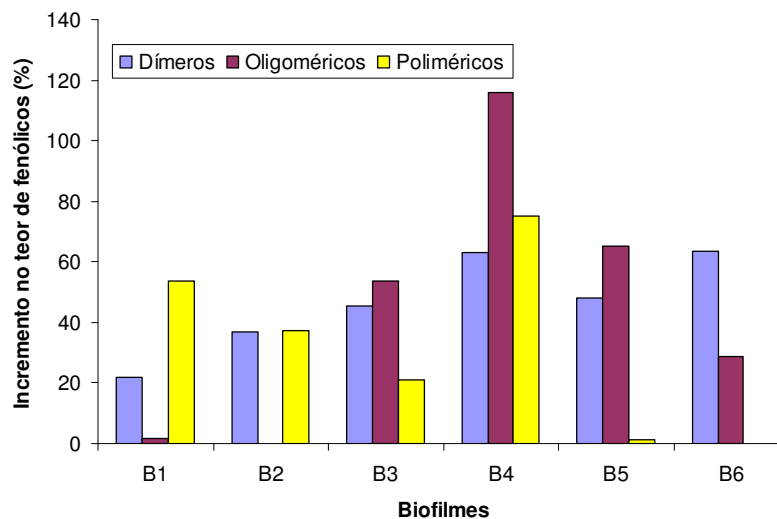


Figura 27. Incremento percentual de fenólicos dímeros, oligoméricos e poliméricos na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes dos 30 para os 40 dias de armazenamento. B1: quitosana; B2: gelatina + CMC; B3: quitosana + gelatina; B4: CMC; B5: gelatina e B6: controle.

Nos frutos, os flavonóides são importantes constituintes localizados principalmente na casca e no córtex, cujas funções são de atração dos dispersores de sementes e repulsão das pragas e doenças. São compostos com atividades antioxidantes extremamente fortes (AWAG et al., 2000; LEJA et al., 2003). Entre os flavonóides, os mais comuns em frutos são as catequinas e as galocatequinas, que existem na forma de monômeros ou podem ser polimerizadas para formas dímeras, oligoméricas e poliméricas para formar os taninos condensados ou proantocianidinas, que são responsáveis pela sensação de adstringência e amargor em vários frutos e hortaliças (BIBI et al., 2006; GARCÍA-ALONSO et al., 2004). Concentrações elevadas destes compostos na água de coco podem comprometer seu sabor e palatabilidade para o consumo ao natural e para a industrialização da água.

4.3 Características bioquímicas

4.3.1 Peroxidase (POD)

Pela análise de variância (Tabela 3) observa-se que houve efeito isolado do tempo de armazenamento sobre a atividade de peroxidase na água do coco. Não houve efeito significativo dos biofilmes sobre a peroxidase em nenhum dos tempos de armazenamento (Tabela 12). Houve um aumento constante na atividade de peroxidase com o decorrer do armazenamento (Figura 28). A menor atividade da enzima foi de 8,33 U min⁻¹ mL⁻¹ na água dos frutos com a cobertura controle (B6) no início do armazenamento e a maior foi de 13,09 U min⁻¹ mL⁻¹ na água de frutos revestidos com quitosana (B1) aos 40 dias de armazenamento (Tabela 12).

Tabela 12. Atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C.

Biofilmes	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	10	20	30	40
Peroxidase (U min ⁻¹ mL ⁻¹)					
B1 - Quitosana	9,04 a	9,31 a	10,85 a	11,80 a	13,09 a
B2 - Gelatina + CMC	8,54 a	9,13 a	9,94 a	10,58 a	12,80 a
B3 - Quitosana + gelatina	8,92 a	9,82 a	11,23 a	10,84 a	12,78 a
B4 - CMC	9,21 a	10,28 a	10,10 a	10,24 a	12,35 a
B5 - Gelatina	8,58 a	9,40 a	10,05 a	11,47 a	12,67 a
B6 - Controle	8,33 a	10,12 a	10,65 a	11,26 a	11,62 a
Polifenoloxidase (U min ⁻¹ mL ⁻¹)					
B1 - Quitosana	9,63 a	11,34 a	11,92 c	14,42 b	16,73 b
B2 - Gelatina + CMC	8,16 b	9,84 a	15,74 b	19,34 a	19,70 a
B3 - Quitosana + gelatina	9,57 a	10,53 a	17,24 a	18,66 a	19,11 a
B4 - CMC	9,78 a	10,36 a	15,77 b	17,52 a	19,58 a
B5 - Gelatina	8,78 a	11,77 a	17,55 a	18,77 a	19,24 a
B6 - Controle	6,83 b	8,90 a	14,63 b	17,29 a	18,75 a
Fenilalanina amônia-liase (U min ⁻¹ mL ⁻¹)					
B1 - Quitosana	1,39 a	1,53 a	1,76 a	2,08 a	2,25 a
B2 - Gelatina + CMC	0,96 b	1,22 b	1,70 a	1,80 a	2,05 a
B3 - Quitosana + gelatina	1,43 a	1,56 a	1,65 a	2,06 a	2,33 a
B4 - CMC	1,03 b	1,57 a	1,82 a	2,23 a	2,39 a
B5 - Gelatina	1,19 b	1,44 a	1,76 a	1,99 a	2,43 a
B6 - Controle	1,02 b	1,18 b	1,76 a	2,04 a	2,31 a

As médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott 5%

A atividade da peroxidase verificada encontra-se próxima dos valores relatados por SOUSA (2006) em torno de $8,35 \text{ U min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$, mas bem aquém daqueles obtidos por CAMPOS et al. (1996) que relataram valores em torno de $114,3 \text{ U min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ de água de coco verde. Os últimos autores também observaram que o pH da água de coco geralmente encontra-se na faixa de 4-6, o que favorece a atividade desta enzima que tem como pH ótimo 5,5. Portanto, a água de coco tem pH favorável para a atividade da peroxidase, mas o aumento na atividade desta enzima com o tempo de armazenamento deve-se também à disponibilidade de substratos específicos na água e a maior quantidade e disponibilidade de peróxido de hidrogênio nas células.

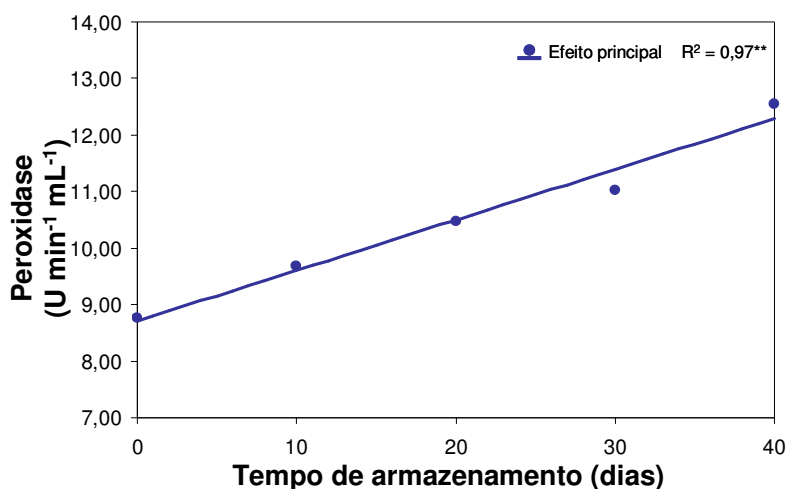


Figura 28. Atividade da peroxidase na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 8,71 + 0,089x$.

4.3.2 Polifenoloxidase (PFO)

Houve interação significativa entre biofilmes e tempo de armazenamento (Tabela 3) para a atividade da polifenoloxidase (PFO). Houve grande variabilidade na atividade da PFO entre o início do armazenamento até 20 dias. A partir deste tempo, o tratamento B1 (quitosana) apresentou sempre menor atividade de PFO que os demais tratamentos, até aos 40 dias (Tabela 12). Em relação ao tempo de armazenamento, a atividade aumentou para todos os tratamentos de biofilmes com o decorrer do armazenamento (Figura 29), mas nos frutos revestidos com quitosana (B1) o aumento foi em menor proporção.

SOUSA (2006) e CAMPOS et al. (1996) sugerem que há uma predominância da atividade da POD sobre a atividade da PFO em água de coco verde ao natural. Entretanto, neste trabalho não foi observado tal comportamento, havendo uma predominância da atividade de PFO. Também no presente trabalho a atividade da PFO na água de coco variou de 6,83 $\text{U min}^{-1} \text{mL}^{-1}$, nos frutos com a cobertura controle (B6) no início do armazenamento, até 19,70 $\text{U min}^{-1} \text{mL}^{-1}$ nos frutos revestidos com gelatina + CMC (B2) aos 40 dias de armazenamento (Tabela 12), enquanto SOUSA (2006) e CAMPOS et al. (1996) relatam atividade de 2,60 e 32,1 $\text{U min}^{-1} \text{mL}^{-1}$, respectivamente.

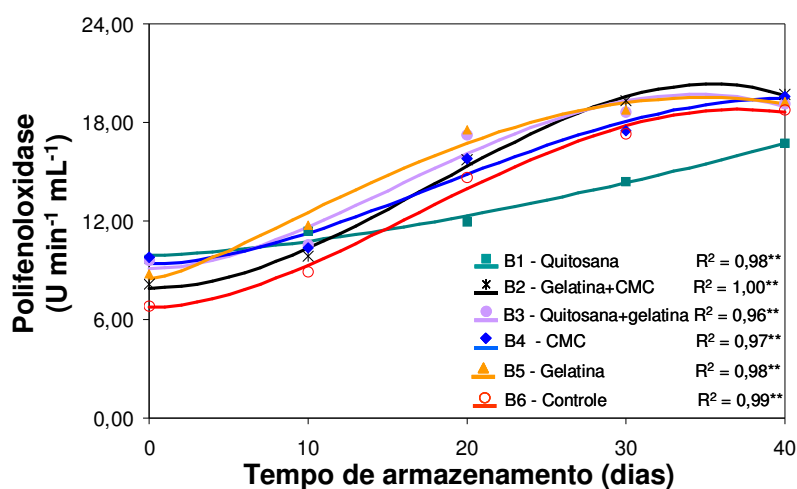


Figura 29. Atividade da polifenoloxidase na água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=9,91+0,0269x^{1,5}$; B2: $y=7,92+0,0297x^2-0,000559x^3$; B3: $y=9,10+0,0448x^2-0,00611x^{2,5}$; B4: $y=9,39+0,0312x^2-0,00393x^{2,5}$; B5: $y=8,49+0,213x^{1,5}-0,0270x^2$ e B6: $y=6,75+0,0436x^2-0,00572x^{2,5}$.

O pH ótimo para a atividade da PFO está em torno de 6,0 (CAMPOS et al., 1996). No presente estudo o pH das águas de cocos tratados com biofilmes ficou na faixa de 5,03 a 6,37, o que pode ter contribuído para a atividade da referida enzima.

No presente trabalho houve aumento da atividade da PFO com o armazenamento, ao contrário do que é amplamente aceito de que a atividade da PFO é maior em frutos verdes, diminuindo ao longo do período de maturação e armazenamento (SERRADELL et al., 2000). Acredita-se que a redução da atividade da PFO durante o amadurecimento e armazenamento seja causada pela solubilização e proteólise da enzima nos plastídeos, razão pela qual a fração

solúvel aumenta na medida em que os frutos amadurecem (CONCELLÓN et al., 2004). Em hortaliças, foi relatada a existência de PFO tanto na forma solúvel quanto na forma ionicamente ligada à membrana (MARTINÉZ & WHITAKER, 1995). Em plantas, a PFO localiza-se principalmente nos plastídeos e cloroplastos das células intactas (CONCELLÓN et al., 2004). Na água de coco não se sabe a localização da PFO, podendo estar localizadas nas células do albúmen gelatinoso.

4.3.3 Fenilalanina amônia-liase (FAL)

A atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) somente foi afetada pelo tempo de armazenamento (Tabela 3), aumentando linearmente com o decorrer do armazenamento (Figura 30). A atividade variou de $0,96 \text{ U min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$, nos frutos com a cobertura gelatina + CMC (B2) no início do armazenamento, até $2,43 \text{ U min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ nos frutos revestidos com gelatina (B5) aos 40 dias de armazenamento (Tabela 12).

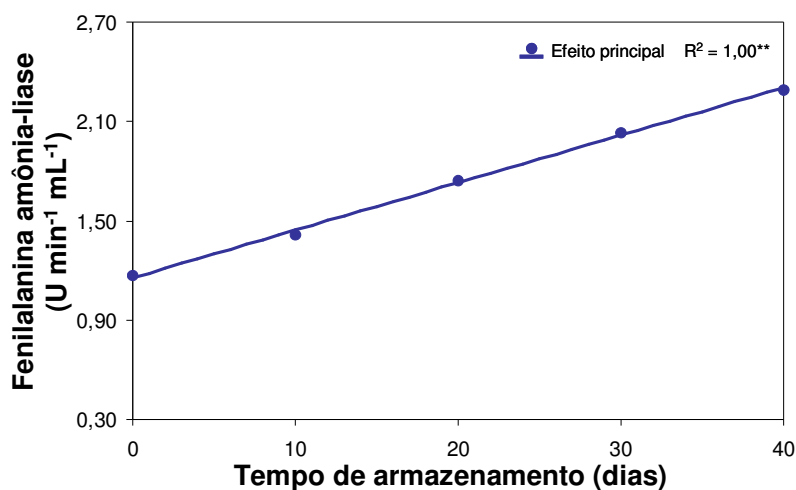


Figura 30. Atividade da fenilalanina amônia-liase na água de coco verde em função do tempo de armazenamento (média de todos os tratamentos de biofilmes). Ajuste de regressão: $y = 1,156 + 0,08287x$.

Embora o efeito dos biofilmes não tenha sido significativo, o teste de médias indicou diferenças entre eles no início e aos 10 dias de armazenamento (Tabela 12). Este efeito possivelmente se deve à água dos cocos apresentarem atividade de FAL com muita

variabilidade no início do armazenamento. Entretanto, com o tempo de armazenamento, as quantidades de FAL foram aumentando e se uniformizando, e não houve mais diferenças entre as coberturas.

Na literatura revisada não foram encontrados dados da atividade de FAL na água de coco. A enzima fenilalanina amônia-liase (EC 4.3.1.5) está envolvida na via biossintética dos compostos fenólicos e atua no metabolismo secundário dos vegetais, catalisando a conversão de L-fenilalanina a ácido cinâmico e amônia (MINAMIKAWA & URITANI, 1964).

A FAL está diretamente ligada ao mecanismo de defesa das plantas. A ativação da via metabólica desta enzima tem sido relacionada a estímulos causados por estresse como baixas temperaturas, tecidos injuriados e aos mecanismos de resistência do fruto a injúrias e infecções fitopatológicas (TENA et al., 1984; LATTANZIO et al., 1994).

A FAL parece oferecer o esqueleto carbônico fenilpropano para a síntese de compostos fenólicos, pois, o aumento em sua atividade tem sido relacionado paralelamente ao acúmulo destes compostos (MINAMIKAWA & URITANI, 1964). Desta forma, o estresse do armazenamento dos cocos pode ser responsável pelo acúmulo de FAL e conseqüentemente pelo aumento dos fenólicos na água. Associado a isto os compostos presentes na casca, mesocarpo e epicarpo do coco são ricos em lignina, e outros compostos fenólicos cuja via metabólica é desencadeada pela FAL. Durante a abertura do fruto estes compostos e a própria enzima são arrastados para a água de coco promovendo maior atividade da FAL.

4.4 Avaliações microbiológicas

Houve interação significativa entre biofilmes e tempo de armazenamento para todas as avaliações microbiológicas, exceto para fungos filamentosos e leveduras que apresentaram efeito isolado dos biofilmes e dos tempos de armazenamento (Tabela 3).

4.4.1 Coliformes a 45 °C e 35 °C

A presença de coliformes a 45 °C (fecais) só foi detectada na água a partir dos 30 dias de armazenamento (Tabela 13) e foi observada na água dos frutos revestidos com CMC (B4), gelatina (B5) e controle (B6). Aos 40 dias, a presença de coliformes foi constatada na água dos frutos tratados com gelatina (B5) e no controle (B6), sendo que a água dos frutos revestidos com gelatina apresentou maior número mais provável (NMP) de coliformes a 45 °C

(11 mL⁻¹ de água de coco). Não foi constatada presença de coliformes a 45 °C na água dos frutos revestidos com quitosana (B1), gelatina + CMC (B2) e quitosana + gelatina (B3).

O índice de coliformes a 45° é empregado como indicador de contaminação e da qualidade das condições higiênico-sanitárias, a população deste grupo é constituída de uma alta proporção de *Escherichia coli*, que tem seu hábitat exclusivo no trato intestinal do homem e animais. Sua presença indica possibilidade de ocorrência de outros microrganismos entéricos no produto (SIQUEIRA, 1995). Entretanto os resultados obtidos neste trabalho estão dentro do limite aceitável de NMP, que é de 100 por mL estabelecidos para esta análise pela resolução RDC nº 12, de 12 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001).

Foi observada presença de coliformes a 35 °C (totais) no início do armazenamento para a água dos frutos revestidos com gelatina + CMC (B2) e CMC (B4) e depois aos 30 e 40 dias de armazenamento. Aos 30 dias de armazenamento não foram observados coliformes a 35 °C na água dos frutos tratados com quitosana (B1) e quitosana + gelatina (B3), porém o tratamento (B6) apresentou contaminação consistente. Aos 40 dias de armazenamento a água dos frutos tratados com quitosana (B1) não apresentou contaminação, mas todos os demais tratamentos apresentaram contaminação consistente, atingindo NMP máximos de 16 (B3), 15 (B5), 11 (B2), 9 (B6) e 7 (B4) mL⁻¹ de água de coco (Tabela 13).

O índice de coliformes a 35 °C geralmente é utilizado para avaliar as condições higiênicas. Altas contagens significam contaminação após a abertura do fruto, limpezas e sanitizações deficientes do próprio fruto, de equipamentos e manipuladores (SIQUEIRA, 1995). A legislação vigente não estabelece padrões microbiológicos específicos para coliformes a 35 °C para água de coco. Contudo, no presente estudo, os valores de NMP de coliformes a 35 °C verificados nos cocos revestidos com biofilmes encontram-se em níveis aceitáveis para o consumo, considerando que a ANVISA (BRASIL, 2001) recomenda que para produtos industrializados instantâneos que serão consumidos após a adição de líquidos por crianças acima de 1 ano de idade o limite de coliformes a 35 °C deve estar entre 3 e 20 mL⁻¹.

Os grupos de coliformes a 35 °C e 45 °C e a detecção de *E. coli* são comumente utilizados para avaliação da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos. Entretanto, a presença dos grupos de coliformes em frutos e hortaliças é considerada normal, uma vez que fazem parte da microbiota natural das plantas e não pode ser diretamente associada a uma

contaminação fecal. Nesse caso, recomenda-se a utilização de *E. coli*, como indicador mais válido de contaminação fecal (KORNACKI & JOHNSON, 2001). Desse modo, uma das aplicações mais importantes dos grupos de coliformes e da análise de *E. coli* é na avaliação de programas de sanitização dos frutos e hortaliças, assim como das condições higiênicas dos ambientes de processamento (KORNACKI & JOHNSON, 2001).

Tabela 13. Estimativa do número mais provável (NMP) de propágulos de coliformes a 45 °C e coliformes a 35 °C em água de coco tratado com biofilmes e armazenado por até 40 dias a 12 °C.

Biofilmes	Armazenamento (dias)	Coliformes a 45 °C (NMP mL ⁻¹)	Coliformes a 35 °C (NMP mL ⁻¹)
B1 - Quitosana	0 dia	ND	ND
B2 - Gelatina + CMC	0 dia	ND	5
B3 - Quitosana + gelatina	0 dia	ND	ND
B4 - CMC	0 dia	ND	4
B5 - Gelatina	0 dia	ND	ND
B6 - Controle	0 dia	ND	ND
B1 - Quitosana	10 dias	ND	ND
B2 - Gelatina + CMC	10 dias	ND	ND
B3 - Quitosana + gelatina	10 dias	ND	ND
B4 - CMC	10 dias	ND	ND
B5 - Gelatina	10 dias	ND	ND
B6 - Controle	10 dias	ND	ND
B1 - Quitosana	20 dias	ND	ND
B2 - Gelatina + CMC	20 dias	ND	ND
B3 - Quitosana + gelatina	20 dias	ND	ND
B4 - CMC	20 dias	ND	ND
B5 - Gelatina	20 dias	ND	ND
B6 - Controle	20 dias	ND	ND
B1 - Quitosana	30 dias	ND	ND
B2 - Gelatina + CMC	30 dias	ND	9
B3 - Quitosana + gelatina	30 dias	ND	ND
B4 - CMC	30 dias	4	7
B5 - Gelatina	30 dias	4	11
B6 - Controle	30 dias	9	26
B1 - Quitosana	40 dias	ND	ND
B2 - Gelatina + CMC	40 dias	ND	11
B3 - Quitosana + gelatina	40 dias	ND	16
B4 - CMC	40 dias	ND	7
B5 - Gelatina	40 dias	11	15
B6 - Controle	40 dias	4	9

Dentre as inúmeras características que distinguem quitina e quitosana dos demais polissacarídeos destaca-se a atividade antimicrobiana. Esses polímeros provocam a inibição do crescimento de microrganismos, como *E. coli*, *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp. (RAVI KUMAR, 2000); *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* (OLSEN et al., 1989); *Shigella dysenteriae*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Vibrio* sp. (SINGLA & CHAWLA, 2001); *Agrobacterium tumefaciens*, *Corynebacterium michiganense*, *Erwinia* sp., *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Xanthomonas campestris*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Drechslera sorokiniana*, *Micronectriella nivalis*, *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani*, *Tricophyton equinum* (SEO et al., 1992) e *Candida* sp. (KOIDE, 1998).

Alguns autores explicam a atividade antimicrobiana da quitosana por seus grupos amínicos que, uma vez em contato com os fluidos fisiológicos, provavelmente são protonados e se ligam a grupos aniônicos desses microrganismos, resultando na aglutinação das células microbianas e inibição do crescimento (RAVI KUMAR, 2000 ; OLSEN et al., 1989).

Estudos mais recentes, entretanto, revelam que o mecanismo da atividade antibacteriana da quitosana está intimamente relacionado às propriedades físico-químicas do polímero e às características da membrana do microrganismo. Micrografias eletrônicas realizadas por LIFENG et al. (2004) de *S. aureus* (bactéria gram-positiva) e *E. coli* (bactéria gram-negativa) na presença de quitosana mostram que a membrana de *S. aureus* foi enfraquecida ou até mesmo fragmentada, enquanto o citoplasma de *E. coli* foi concentrado e o interstício da célula, ampliado. ZHENG & ZHU (2003) demonstraram que a atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas aumenta quanto maior a massa molecular do polímero, enquanto que, para bactérias gram-negativas, quanto menor a massa molecular da quitosana, maior a atividade antimicrobiana. Esses resultados sugerem que os efeitos da quitosana são distintos nos dois tipos de bactérias: no caso das gram-positivas, a hipótese é que a quitosana de alta massa molecular forma películas ao redor da célula que acabam por inibir a absorção de nutrientes, enquanto que a quitosana de baixa massa molecular penetra mais facilmente em bactérias gram-negativas, causando distúrbios no metabolismo dessas. Isto explica porque a água de coco dos frutos tratados com quitosana e quitosana + gelatina apresentou menor contaminação com o decorrer do armazenamento.

4.4.2 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas e de fungos filamentosos e leveduras

O resultado da contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas e de fungos filamentosos e leveduras encontram-se na Tabela 14. Observa-se que houve aumento no número de unidades formadoras de colônia com o decorrer do armazenamento das bactérias aeróbias mesófilas e dos fungos filamentosos e leveduras. O maior número de colônias de aeróbias mesófilas foi observado para água dos frutos revestidos com o controle (B6), CMC (B4) e gelatina (B5) com $1,1767 \times 10^4$; $2,040 \times 10^3$ e $1,487 \times 10^3$ UFC mL⁻¹, respectivamente, aos 40 dias de armazenamento e a menor contagem para água dos frutos tratados com quitosana (B1) e quitosana + gelatina (B3) durante todo período de armazenamento. Em relação aos fungos filamentosos e leveduras o comportamento foi semelhante. Houve um aumento da contaminação com o decorrer do armazenamento, sendo aos 40 dias mais acentuado nas águas dos frutos tratados com o controle (B6), CMC (B4) e gelatina (B5) com $8,48 \times 10^2$; $4,80 \times 10^2$ e $3,37 \times 10^2$ UFC mL⁻¹, respectivamente. As águas dos frutos tratados com quitosana (B1) e quitosana + gelatina (B3) apresentaram pouca contaminação no decorrer do armazenamento, sendo que aos 40 dias apresentaram respectivamente $5,3 \times 10^1$ e $9,2 \times 10^1$ UFC mL⁻¹.

A legislação (BRASIL, 2001) não estabelece limites para a presença de bactérias aeróbias mesófilas e para a contagem de fungos filamentosos e leveduras na água de coco. No presente trabalho, embora tenham sido detectados em todos os tratamentos durante todo o armazenamento, considerou-se que a presença de ambos estão em níveis aceitáveis para o consumo da água, que é um produto natural, uma vez que a ANVISA (BRASIL, 2001) tolera para produtos industrializados como dieta enterais em pó até 1000 aeróbios mesófilos por grama e para purês e doces até 10.000 fungos e leveduras por grama.

A contagem de fungos filamentosos e leveduras é uma das análises realizadas no controle de qualidade de alimentos com o intuito de estimar sua vida útil. A presença excessiva destes microrganismos resulta na deterioração ou redução da vida útil de frutos e hortaliças. Embora considerados indicadores de contaminação, quantificar estes fungos é fundamental para avaliar a qualidade de produtos armazenados. Em frutos e hortaliças, os fungos são considerados microrganismos que não oferecem risco direto à saúde, embora algumas espécies de bolores produzam micotoxinas julgadas prejudiciais ao homem. Com

relação às leveduras, a ocorrência de espécies patogênicas em alimentos é praticamente desconhecida. Sua importância reside muito mais no fato de serem eventuais agentes de deterioração (LEITE et al.; 2000).

Tabela 14. Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas e de fungos filamentosos e leveduras em água de coco tratado com biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C

Biofilmes	Armazenamento	B. aeróbias mesófilas	F. filamentosos e leveduras
	Dias	(UFC mL ⁻¹)	(UFC mL ⁻¹)
B1 - Quitosana	0 dia	2,0x10 ¹	1
B2 - Gelatina + CMC	0 dia	5,1x10 ¹	3
B3 - Quitosana + gelatina	0 dia	3,9 x10 ¹	2
B4 - CMC	0 dia	5,4 x10 ¹	5
B5 - Gelatina	0 dia	1,32 x10 ²	7
B6 - Controle	0 dia	1,02 x10 ²	2,4 x 10 ¹
B1 - Quitosana	10 dias	2,8 x10 ¹	5
B2 - Gelatina + CMC	10 dias	1,81 x10 ²	6
B3 - Quitosana + gelatina	10 dias	6,9 x 10 ¹	5
B4 - CMC	10 dias	3,30 x10 ²	3,9 x 10 ¹
B5 - Gelatina	10 dias	1,71 x10 ²	1,88 x 10 ²
B6 - Controle	10 dias	7,66 x10 ²	6,52 x 10 ²
B1 - Quitosana	20 dias	1,2 x 10 ¹	6
B2 - Gelatina + CMC	20 dias	3,3 x 10 ¹	1,0 x 10 ¹
B3 - Quitosana + gelatina	20 dias	1,1 x 10 ¹	8
B4 - CMC	20 dias	4,5 x 10 ¹	1,1 x 10 ¹
B5 - Gelatina	20 dias	2,5 x 10 ¹	5,4 x 10 ¹
B6 - Controle	20 dias	1,86 x10 ²	8,5 x 10 ¹
B1 - Quitosana	30 dias	3,53 x10 ²	4,8 x 10 ¹
B2 - Gelatina + CMC	30 dias	4,71 x10 ²	2,83 x10 ²
B3 - Quitosana + gelatina	30 dias	3,69 x10 ²	6,8 x 10 ¹
B4 - CMC	30 dias	4,10 x10 ²	6,5 x 10 ¹
B5 - Gelatina	30 dias	4,80 x10 ²	2,09 x10 ²
B6 - Controle	30 dias	8,92 x10 ²	3,67 x10 ²
B1 - Quitosana	40 dias	3,93 x10 ²	5,3 x 10 ¹
B2 - Gelatina + CMC	40 dias	1,053 x 10 ³	1,02 x10 ²
B3 - Quitosana + gelatina	40 dias	7,03 x10 ²	9,2 x 10 ¹
B4 - CMC	40 dias	2,040 x 10 ³	4,80 x10 ²
B5 - Gelatina	40 dias	1,487 x 10 ³	3,37 x10 ²
B6 - Controle	40 dias	1,1767 x 10 ⁴	8,48 x10 ²

4.4.3 Identificação de fungos filamentosos

Durante o armazenamento dos frutos foram identificados apenas três gêneros de fungos na água de coco, *Penicilium*, *Fusarium* e *Paelomyces* sendo, que o gênero *Penicilium*

foi encontrado com mais frequência na água de coco em relação ao *Fusarium* e este em relação ao *Paelomyces*. O gênero *Paelomyces* foi encontrado somente aos 40 dias de armazenamento na água dos frutos tratados com gelatina + CMC (B2) e gelatina (B5). Não foram identificados fungos no início do armazenamento. Com 10 dias apareceram as primeiras contaminações que aumentaram até o final do armazenamento. Durante o armazenamento as águas dos frutos revestidos com os biofilmes gelatina + CMC (B2) e gelatina (B5) foram as que apresentaram maior frequência de contaminação, e as águas dos frutos tratados com quitosana (B1) e quitosana + gelatina (B3) apresentaram menor frequência de contaminação. Aos 40 dias as águas de todos os frutos apresentaram contaminação, sendo observado em maior frequência na água de frutos tratados com gelatina + CMC (B2), gelatina (B5) e controle (B6). A presença de *Fusarium* foi constatada com maior frequência na água de frutos tratados com gelatina + CMC (B2), indicando que este fungo pode ter certa afinidade com biofilmes a base de gelatina + CMC. A maior frequência de fungos (tanto *Penicilium* quanto *Fusarium*) na água dos frutos tratados com biofilmes a base de gelatina (B2 e B5) sugere que a infestação dos frutos por fungos durante o armazenamento é favorecida pela gelatina. A gelatina é uma proteína de origem animal, contendo a maioria dos aminoácidos essenciais, com exceção do triptofano, o que pode ter favorecido o crescimento mais rápido dos fungos. A presença acentuada de fungos também no tratamento controle (B6) pode ter sido pela falta de revestimento nos frutos.

A menor frequência de fungos na água dos cocos tratados com quitosana (B1) e quitosana + gelatina (B3) evidencia o efeito das propriedades antimicrobianas da quitosana sobre o crescimento de *Penicilium* e *Fusarium*. Segundo BAUTISTA-BAÑOS et al. (2006), os mecanismos pelo qual a quitosana afeta o crescimento de vários fungos não foram ainda completamente elucidados, mas várias hipóteses têm sido postuladas. Devido à natureza policatiónica da quitosana, acredita-se que ela interfira com resíduos de macromoléculas carregados negativamente expostos na superfície da célula fúngica. Esta interação leva ao extravasamento de eletrólitos intracelulares e constituintes proteínáceos. Outros mecanismos citados são da interação de produtos da hidrólise da quitosana com o DNA microbiano, que leva à inibição da síntese de mRNA e proteínas, e da ação da quitosana na quelação de metais e nutrientes essenciais ao fungo ou à esporulação.

Penicillium e *Fusarium* são danosos à qualidade do fruto e da água, desse modo, é importante a identificação de metabólitos produzidos por esses fungos, além dos problemas de manejo nas fases de pré e pós-colheita, que permitem a infestação dos tecidos do coco. Estes fungos podem se aproveitar das injúrias provocadas nos frutos para penetrarem e colonizarem os tecidos, servindo como fonte da contaminação da água quando o coco é aberto. Estes fungos, embora não sejam patogênicos ao homem, provocam rápida deterioração do fruto e sugerem um risco de produção de micotoxinas que podem ser prejudiciais à saúde humana.

A água de coco constitui-se em meio adequado e susceptível para a contaminação por patulina, por ser um excelente substrato para *Penicillium* spp. (HOPKINS, 1993). Esta micotoxina é produzida por vários gêneros de fungos como *Penicillium*, *Byssochlamys*, *Paelomyces* e *Aspergillus* (STEIMAN et al.; 1974). Entretanto, salienta-se a importância do *Penicillium*, em vista de sua predominância na água de coco como constatado neste estudo.

É interessante observar que não houve contaminação da água de coco com o fungo *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.), um dos principais responsáveis pelas perdas pós-colheita do coco. Nos frutos, os sintomas deste fungo aparecem na região do cálice, com a formação de um anel de coloração marrom, que se torna mais escuro com a multiplicação elevada de picnídios. O patógeno, além de necrosar o tecido, provoca rachaduras na casca, o que pode ocasionar a exsudação de albúmen líquido com odor desagradável. Em condições de alta umidade, o fungo necessita de 2 a 4 semanas para cobrir toda a superfície do fruto, tornando-o inaceitável para comercialização (VIANA et al., 2002; RESENDE et al., 2002).

4.5 Análises fisiológicas

4.5.1 Concentrações de O₂, CO₂ e etileno de cocos revestidos com biofilmes

As concentrações de O₂ e CO₂ dentro das microcâmaras contendo os cocos revestidos com diferentes biofilmes apresentaram interação significativa entre biofilmes e tempo de armazenamento (Tabela 3). As características fisiológicas da concentração de O₂ e CO₂ durante o armazenamento, avaliadas no ensaio EII, são apresentadas na Tabela 15 e nas Figuras 31 e 32. A concentração de etileno, avaliada no mesmo experimento, não foi apresentada, pois a análise não detectou a presença deste gás durante o armazenamento dos cocos.

A concentração de O₂ dentro das microcâmaras apresentou diferenças de acordo com o biofilme até 30 dias de armazenamento (Tabela 15). A partir dos 40 dias de armazenamento foi reduzida e não houve mais diferenças entre os biofilmes. A microcâmara contendo os frutos revestidos com quitosana (B1) apresentou maior concentração de O₂ nos primeiros 30 dias de armazenamento, mas aos 30 dias, igualou à atmosfera da microcâmara contendo o tratamento quitosana + gelatina (B3). A concentração de O₂ na microcâmara contendo o controle (B6) foi menor que a das demais microcâmaras entre 20 e 30 dias de armazenamento. Isto indica que os frutos revestidos com quitosana (B1) e quitosana + gelatina consumiram menos O₂ com o decorrer do armazenamento, enquanto que os frutos do tratamento controle (B6) consumiram mais rapidamente o O₂, ou seja, apresentaram uma maior taxa respiratória.

A Figura 31 apresenta a concentração de O₂ em função do tempo de armazenamento no interior das microcâmaras, a qual aumentou nos primeiros 10 dias, particularmente nos frutos cobertos com quitosana (B1); a partir deste tempo houve redução, especialmente nos frutos com o tratamento controle (B6). A partir de 40 dias a concentração de O₂ dos frutos revestidos com todos os biofilmes ficou bastante reduzida.

Tabela 15. Concentração de O₂ e CO₂ na atmosfera das microcâmaras contendo cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 50 dias a 12 °C.

Biofilmes	Tempo de armazenamento (dias)					
	0	10	20	30	40	50
Concentração de O ₂ (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)						
B1	27,0 a	44,0 a	35,0 a	15,0 a	3,0 a	3,0 a
B2	20,0 b	25,5 d	25,0 b	11,5 b	1,5 a	1,5 a
B3	23,5 b	36,0 b	26,5 b	14,5 a	1,0 a	1,0 a
B4	21,0 b	29,5 c	24,5 b	11,0 b	1,5 a	1,5 a
B5	22,0 b	30,0 c	28,0 b	10,5 b	1,0 a	1,0 a
B6	21,0 b	29,5 c	18,0 c	5,5 c	2,0 a	1,0 a
Concentração de CO ₂ (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)						
B1	— ⁽¹⁾	16,5 a	13,0 b	8,0 a	3,5 a	3,5 a
B2	—	15,5 a	12,0 b	7,5 a	2,0 b	5,0 a
B3	—	18,5 a	13,5 b	10,0 a	1,0 b	3,5 a
B4	—	18,0 a	13,5 b	7,5 a	4,0 a	5,0 a
B5	—	18,0 a	12,5 b	7,0 a	2,5 b	5,0 a
B6	—	17,0 a	21,5 a	9,0 a	6,0 a	6,0 a

B1: Quitosana; B2: Gelatina+CMC; B3: Quitosana+gelatina; B4: CMC; B5: Gelatina; B6: Controle
As médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott 5%

⁽¹⁾Não detectada a concentração de CO₂ na análise aos 0 dia de armazenamento.

A concentração de CO₂ dentro das microcâmaras contendo os frutos apresentou diferenças entre os biofilmes aos 20 e 40 dias de armazenamento (Tabela 15). Aos 20 dias a microcâmara contendo os frutos com o tratamento controle (B6) apresentaram concentração de CO₂ pelo menos 60% maior que as dos demais tratamentos. Entretanto, aos 40 dias reduziu para 50%, embora neste tempo não diferisse da atmosfera referente aos frutos tratados com quitosana (B1) e CMC (B4).

A Figura 32 apresenta a concentração de CO₂ em função do tempo de armazenamento, ressaltando-se que no início não foi detectada a presença deste gás nas microcâmaras contendo os frutos. A concentração de CO₂ aumentou nos primeiros 10 dias de armazenamento nos frutos da maioria dos tratamentos, exceto nos do controle (B6) em que continuou aumentando até os 20 dias de armazenamento, quando atingiu o máximo verificado. A partir deste tempo a concentração de CO₂ diminuiu.

O coco, sendo um fruto climatérico, tem sua atividade metabólica aumentada com o pico climatérico, causando transformações físicas e bioquímicas no fruto e na água. Nos frutos este processo é iniciado pela síntese endógena de etileno, o qual estimula a respiração e demais processos metabólicos, como degradação de clorofila, redução da acidez da água, aumento dos açúcares, degradação de compostos fenólicos responsáveis pela adstringência, aumento dos ácidos graxos, etc. O etileno (C₂H₄) é um fitohormônio, fisiologicamente ativo em concentrações menores do que 0,1 µL L⁻¹ (KLUGE, 2002). Segundo JIANG et al. (2004) pequenas quantidades de etileno são suficientes para induzir a fase climatérica em bananas. A síntese de etileno pode ser induzida por fatores externos como temperaturas elevadas ou injúrias mecânicas (HAGENMAIER, 2005). Baixas concentrações de O₂ e elevadas de CO₂ no, em atmosfera modificada, reduzem a síntese de etileno e diminuem a ação deste sobre o metabolismo dos frutos. No presente estudo, as altas concentrações de CO₂ no início do armazenamento e as baixas de O₂ ao final podem ter inibido a síntese de etileno resultando em baixa concentração deste gás, inferior ao limite de detecção da análise. Isto sugere que os cocos verdes estudados não atingiram o pico climatérico, o qual, para estes frutos, deve ocorrer em torno dos 10 meses após o florescimento. O climatério de cocos é acompanhado por mudanças físicas e químicas, como ressecamento da casca e degradação da clorofila.

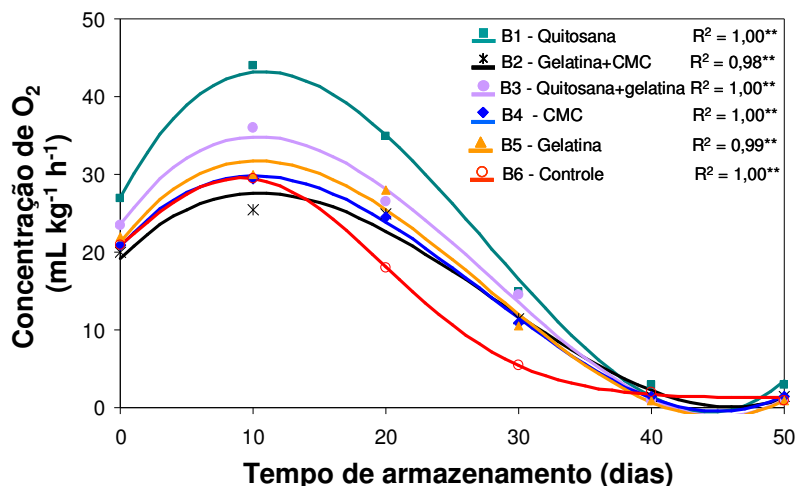


Figura 31. Concentração de O₂ nas microcâmaras contendo cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=27,0+3,29x-0,190x^2+0,0023x^3$; B2: $y=19,2+1,74x-0,102x^2+0,0012x^3$; B3: $y=23,6+2,36x-0,140x^2+0,0017x^3$; B4: $y=20,7+1,94x-0,118x^2+0,0014x^3$; B5: $y=21,3+2,19x-0,130x^2+0,0016x^3$ e B6: $y=1,28+28,26e^{(-0,5((x-9,13)/10,67)^2)}$

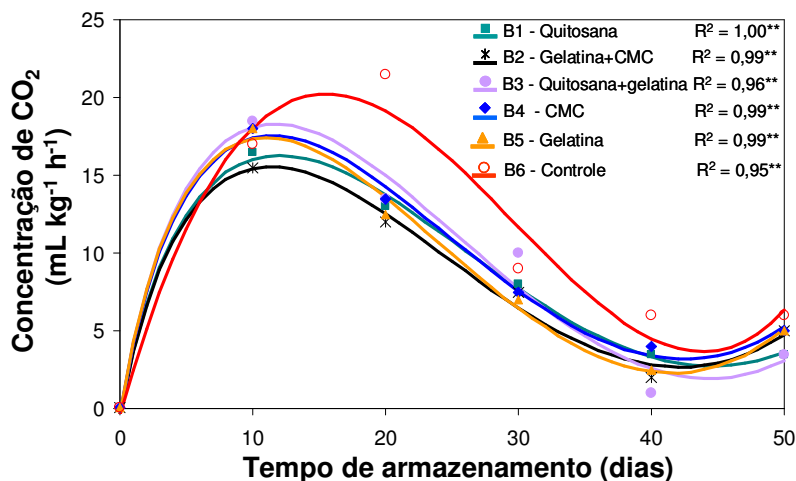


Figura 32. Concentração de CO₂ nas microcâmaras contendo cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=-0,31+5,59x-1,633x^{1,5}+0,1207x^2$; B2: $y=-0,42+5,68x-1,703x^{1,5}+0,1294x^2$; B3: $y=-0,46+6,47x-1,910x^{1,5}+0,1421x^2$; B4: $y=-0,33+6,30x-1,881x^{1,5}+0,1424x^2$; B5: $y=-0,36+6,51x-1,978x^{1,5}+0,1518x^2$ e B6: $y=-0,37+3,00x-0,1305x^2+0,00146x^3$

A taxa respiratória de frutos depende tanto de fatores inerentes ao fruto, como espécie, cultivar e estágio de desenvolvimento, quanto de fatores externos como temperatura, composição atmosférica (concentrações de CO₂, O₂ e etileno), injúrias e estresses (KLUGE, 2002). Quanto maior a atividade respiratória, maior a atividade metabólica e mais rápida a transição da fase de maturação para a senescência. Em decorrência, menor será a vida útil do fruto, em virtude da rápida depreciação das características que conferem qualidade ao produto.

Os filmes biodegradáveis podem retardar o processo de maturação dos frutos atuando como barreira física para trocas bi-direcionais de O₂, vapor de água, CO₂ e etileno, alterando desta forma a concentração de gases no interior das microcâmaras.

Biofilmes de gelatina foram eficientes para reduzir a perda de água e controlar a taxa respiratória de goiabas brancas armazenadas a 12 °C (FAKHOURI et al., 2003). A base de carboximetilcelulose (CMC) reduziu a taxa respiratória e a perda de massa dos frutos formando uma barreira protetora sobre a superfície e reduzindo o fornecimento de oxigênio (TOGRUL & ARSLAN, 2004). Biofilmes de quitosana, além de eficientes no controle de fungos e bactérias, reduziram a produção de etileno, aumentaram o CO₂ interno e diminuíram os níveis de O₂ (LAZARIDOU & BILIADERIS, 2002; DURANGO et al., 2006).

No presente estudo, os frutos revestidos com quitosana permitiram maior concentração de O₂ na microcâmara, ou seja, menor consumo de oxigênio e menor atividade respiratória. Quando misturada com gelatina, a quitosana perdeu parcialmente a propriedade de barreira física. Entre 20 e 30 dias de armazenamento, todos os biofilmes estudados permitiram maior concentração de O₂ nas microcâmaras do que o controle (B6), o que pode indicar menor atividade metabólica e menor atividade respiratória até este tempo. Em relação à concentração de CO₂, todos os biofilmes estudados permitiram menor concentração do que o controle (B6), sugerindo retenção deste gás ou redução da respiração dos cocos verdes.

4.6 Avaliação sensorial

Os resultados das avaliações sensoriais feitas no ensaio EIII, em relação à aceitação dos frutos e da água dos cocos são apresentados a seguir.

4.6.1 Aceitação do fruto

As notas de aceitação do coco pelos consumidores em relação aos atributos de aparência do fruto, intenção de compra e expectativa em relação à água apresentou interação significativa entre os biofilmes e o tempo de armazenamento (Tabela 3, 4 e 5). As médias das notas atribuídas pelos provadores estão apresentadas na Tabela 16.

As notas atribuídas à aparência do fruto no início do armazenamento (tempo zero) foram em torno de 6,0 que corresponde a “gostei moderadamente”. O comportamento foi similar para expectativa em relação à água ainda no interior do fruto e para a intenção de compra do fruto (Tabela 16). Embora a análise estatística aponte diferenças entre os biofilmes no tempo 0 para estas três variáveis de aceitação do fruto, a grande proximidade das médias sugere diferenças pequenas entre os tratamentos no início do armazenamento. A análise estatística indica que no início do armazenamento, logo após a secagem dos biofilmes, os frutos dos tratamentos quitosana + gelatina (B3), gelatina (B5) e controle (B6) foram menos aceitos pelos provadores, resultando em nota pouco abaixo de 6,0 para as três variáveis de aceitação do fruto, exceto para intenção de compra onde os frutos revestidos com gelatina (B5) apresentaram nota 6,1.

No decorrer do armazenamento as diferenças entre os biofilmes se evidenciaram na aceitação dos provadores. Aos 26 dias de armazenamento o controle (B6) foi claramente menos aceito que os demais tratamentos, recebendo nota entre 2,0 e 3,0 (“desgostei muito” e “desgostei moderadamente”, respectivamente), em todas as três variáveis de aceitação estudadas. Aos 33 e 40 dias de armazenamento, além dos frutos com o tratamento controle (B6), os frutos dos tratamentos gelatina + CMC (B2) e CMC (B4) passaram também a ser menos aceitos que os demais. O controle (B6) recebeu notas em torno de 2,0 (“desgostei muito”) e dos tratamentos gelatina + CMC (B2) e CMC (B4) em torno de 4,0 (“desgostei ligeiramente”). Os frutos revestidos com quitosana (B1), quitosana + gelatina (B3) e gelatina (B5) tiveram maior aceitação no decorrer do armazenamento mantendo o nível de aceitação inicial (Tabela 16).

A redução na aceitação do tratamento controle (B6) aos 26 dias de armazenamento e dos tratamentos gelatina + CMC (B2) e CMC (B4) a partir dos 33 dias de armazenamento nas três variáveis de aceitação dos frutos estudadas são claramente visualizadas nas Figuras 33, 34 e 35. Observa-se também que os demais biofilmes não causaram redução na aceitação dos frutos em função do tempo de armazenamento.

Tabela 16. Notas atribuídas à aceitação do coco verde revestido com diferentes biofilmes e armazenado por 40 dias a 12 °C

Biofilmes	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	26	33	40
	Aparência do fruto			
B1 - Quitosana	6,4 a	6,2 a	6,4 a	6,2 a
B2 - Gelatina + CMC	6,5 a	5,6 a	4,3 b	3,9 b
B3 - Quitosana + gelatina	5,3 b	5,9 a	6,0 a	6,2 a
B4 - CMC	6,5 a	6,1 a	3,6 c	3,8 b
B5 - Gelatina	5,9 b	6,1 a	6,2 a	6,2 a
B6 - Controle	5,7 b	2,4 b	2,4 d	2,0 c
	Expectativa em relação à água dentro do fruto			
B1 - Quitosana	6,4 a	6,5 a	6,5 a	6,2 a
B2 - Gelatina + CMC	6,4 a	6,0 a	4,8 b	4,4 b
B3 - Quitosana + gelatina	5,7 b	6,5 a	6,1 a	6,4 a
B4 - CMC	6,6 a	6,4 a	4,2 c	4,0 b
B5 - Gelatina	6,4 a	6,3 a	6,4 a	6,3 a
B6 - Controle	5,9 b	2,6 b	2,6 d	2,3 c
	Intenção de compra do fruto			
B1 - Quitosana	6,5 a	6,5 a	6,5 a	6,2 a
B2 - Gelatina + CMC	6,5 a	5,6 a	4,4 b	4,1 b
B3 - Quitosana + gelatina	5,5 b	6,3 a	6,1 a	6,4 a
B4 - CMC	6,7 a	6,3 a	3,6 c	3,5 b
B5 - Gelatina	6,1 a	6,3 a	6,3 a	6,4 a
B6 - Controle	5,8 b	2,1 b	2,1 d	1,7 c

As médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott 5%

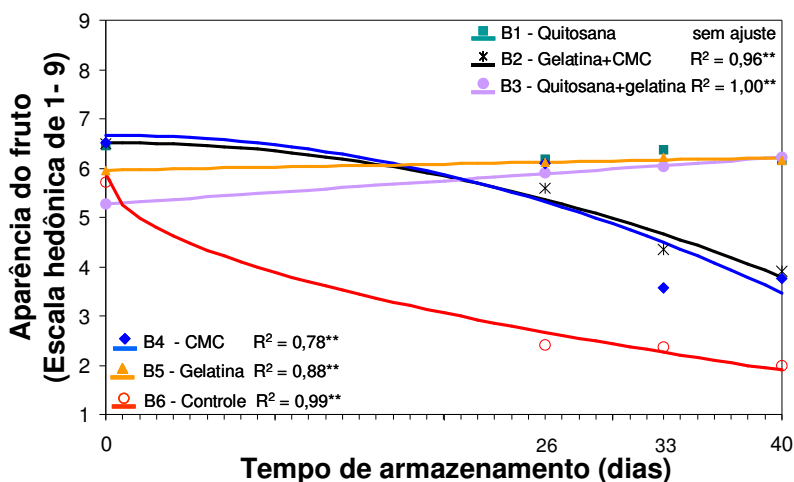


Figura 33. Aparência do coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B2: $y=6,52-0,0017x^2$; B3: $y=5,27+0,0237x$; B4: $y=6,67-0,0020x^2$; B5: $y=5,95+0,0063x$ e B6: $y=5,87-0,629x^{0,5}$.

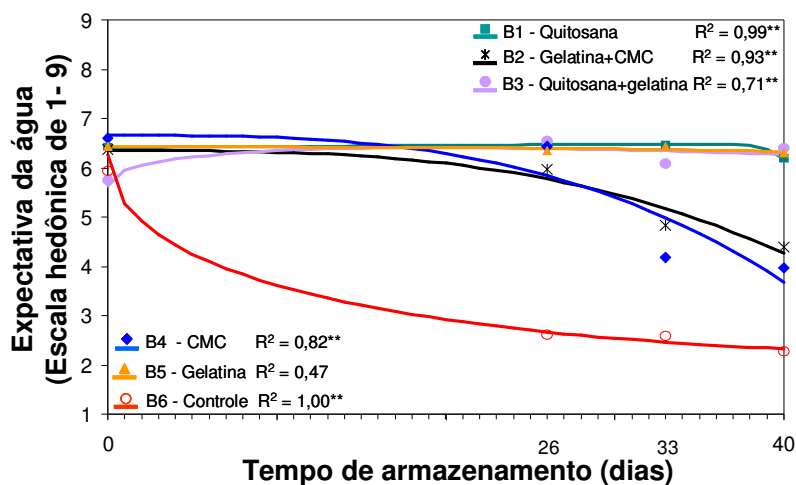


Figura 34. Expectativa da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=6,41+0,00195x-1,3310^{-18}e^x$; B2: $y=6,35-0,0000326x^3$; B3: $y=5,27-0,0397x+0,352x^{0,5}$; B4: $y=6,67-0,0000465x^3$; B5: $y=6,42-0,00000154x^3$ e B6: $y=6,26+0,0675x-1,049x^{0,5}$.

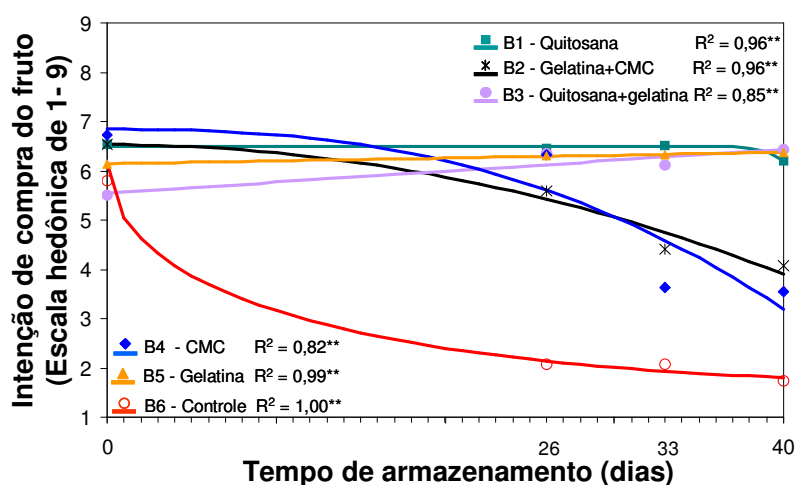


Figura 35. Intenção de compra do fruto de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y=6,50-1,3210^{-18}e^x$; B2: $y=6,32-0,00164x^2$; B3: $y=5,57-0,0221x$; B4: $y=6,84-0,000360x^{2,5}$; B5: $y=6,14-0,00571x$ e B6: $y=6,16+0,0827x-1,212x^{0,5}$.

Estes resultados são corroborados visualmente observando-se as fotos dos frutos aos 40 dias de armazenamento, apresentadas nas Figuras 36 e 37. Observa-se na Figura 36 que os frutos do controle (B6) apresentam-se bastante desidratados e com perda acentuada da coloração verde, enquanto que os frutos tratados com biofilmes, mesmo depois de 40 dias de armazenamento, ainda apresentam-se hidratados, com coloração verde, e aparência brilhante conferida pelo biofilme. Entre os biofilmes, o CMC (B4) foi o que promoveu cobertura com menos brilho.

Verifica-se também que a maioria dos frutos possuía o formato elíptico e oval, característico de cocos provenientes de áreas com salinidade, como na orla marítima (FERREIRA NETO et al., 2002). Cocos elípticos ou ovais, além da menor quantidade de água, têm menor aceitação pela aparência, pois o formato redondo ou oblongo, em que o diâmetro longitudinal é igual ou pouco maior que o transversal, é o preferido e contém mais água na cavidade central.

Na Figura 37 observam-se o cálice e o pedúnculo dos frutos. Observa-se que os frutos do controle (B6) embora desidratados não perderam o cálice e o pedúnculo, o que é desejável. Os frutos dos tratamentos gelatina + CMC (B2) e CMC (B4) apresentaram manchas marrons na casca e tendência de perderem o cálice. Estas manchas marrons não são observadas nos outros tratamentos sem CMC na formulação, os quais apresentam apenas manchas do tipo escoriações, oriundas de lesões provocadas pela colheita e transporte dos frutos. O coco verde sendo um fruto pesado e de difícil manuseio comumente apresenta lesões de escoriações que o consumidor brasileiro geralmente não associa à deterioração da água. Entretanto, para o mercado internacional estas lesões não são toleradas e devem ser evitadas. De acordo com RESENDE et al. (2002) os padrões de qualidade exigidos para exportação são: idade de sete a oito meses, aparência verde brilhante, ausência de manchas, ferimentos e lesões provocadas por ácaros, ausência de fungos e formato arredondado ou oblongo, contendo em torno de 350 a 450 mL de água e massa de 1500 a 1700 g.

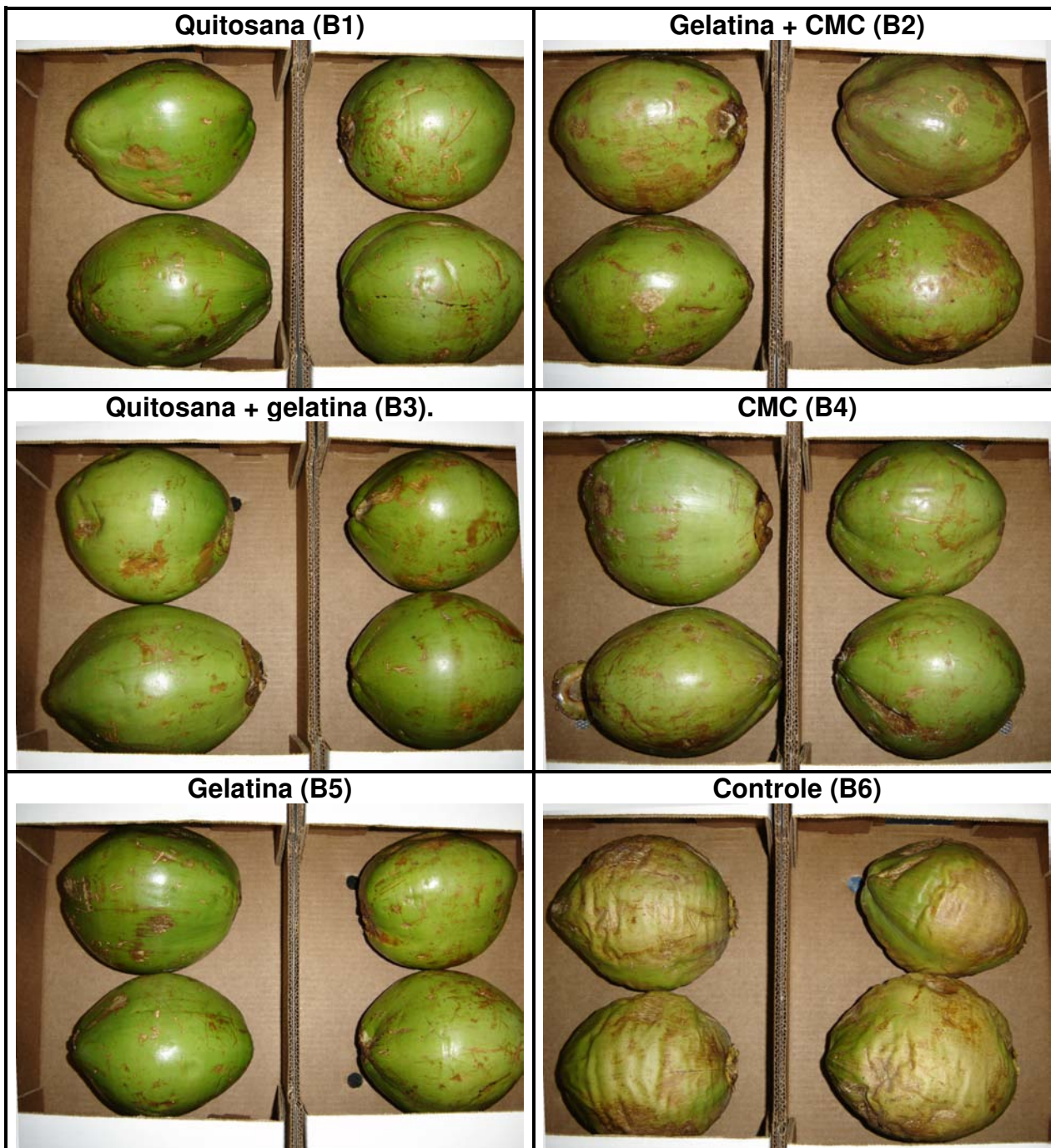


Figura 36. Vista lateral de cocos da variedade Anão Verde revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e acondicionados em caixas de papelão armazenadas a 12 ± 2 °C, umidade relativa de 80%, por 40 dias.

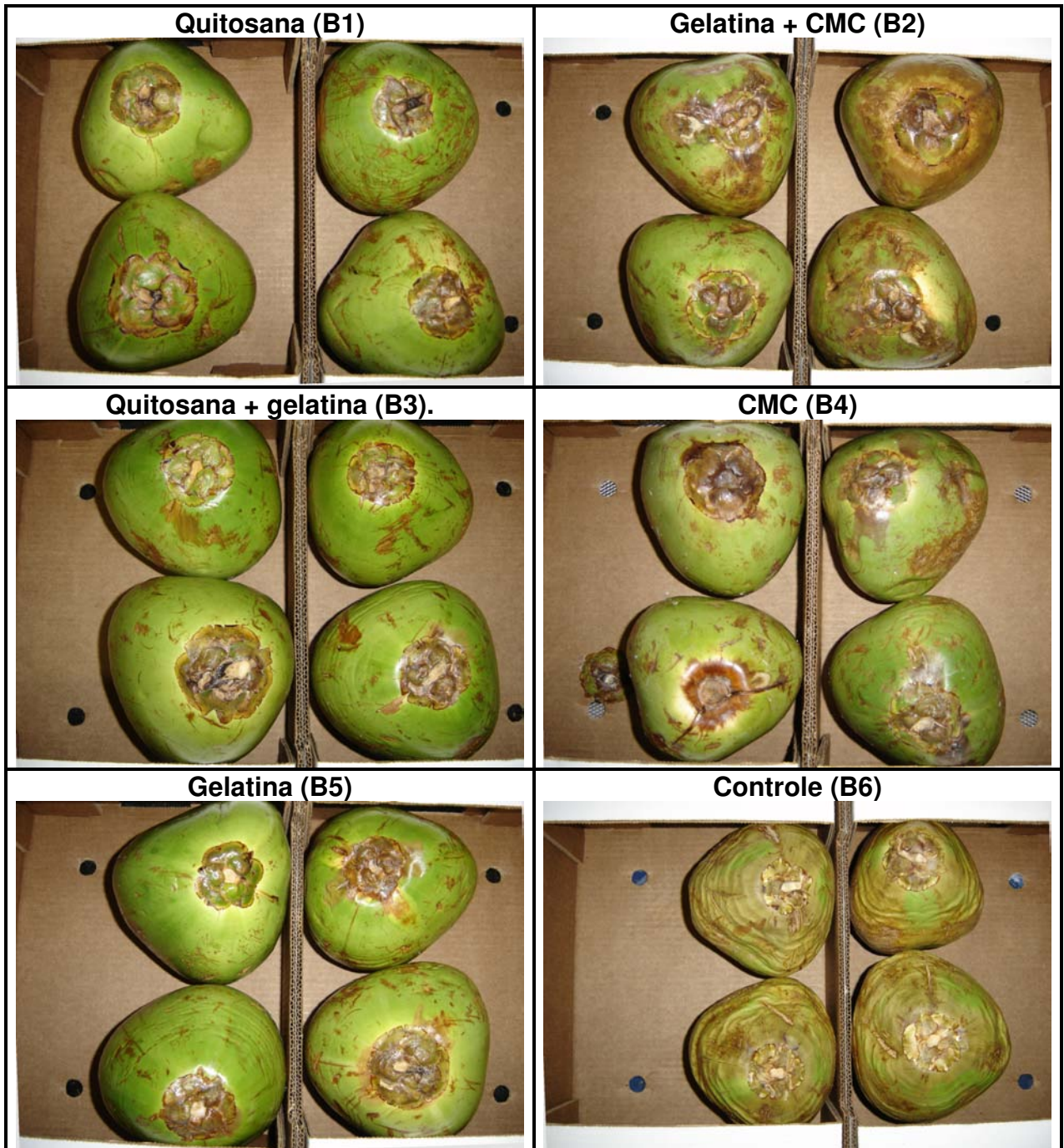


Figura 37. Vista do cálice e pedúnculo de cocos da variedade Anão Verde revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e acondicionados em caixas de papelão armazenadas a 12 ± 2 °C, umidade relativa de 80%, por 40 dias.

Nas Figuras 38 e 39 são apresentados os mapas internos de preferência (MDPREF) para aparência e intenção de compra de coco verde revestido com os diferentes biofilmes nos diferentes tempos de armazenamento. Verifica-se que tanto a aparência quanto a intenção de compra apresentaram resultados muito similares em relação à preferência dos provadores. No início do armazenamento (pontos 1 a 6) todos os tratamentos foram bem aceitos tanto pela aparência quanto para intenção de compra.

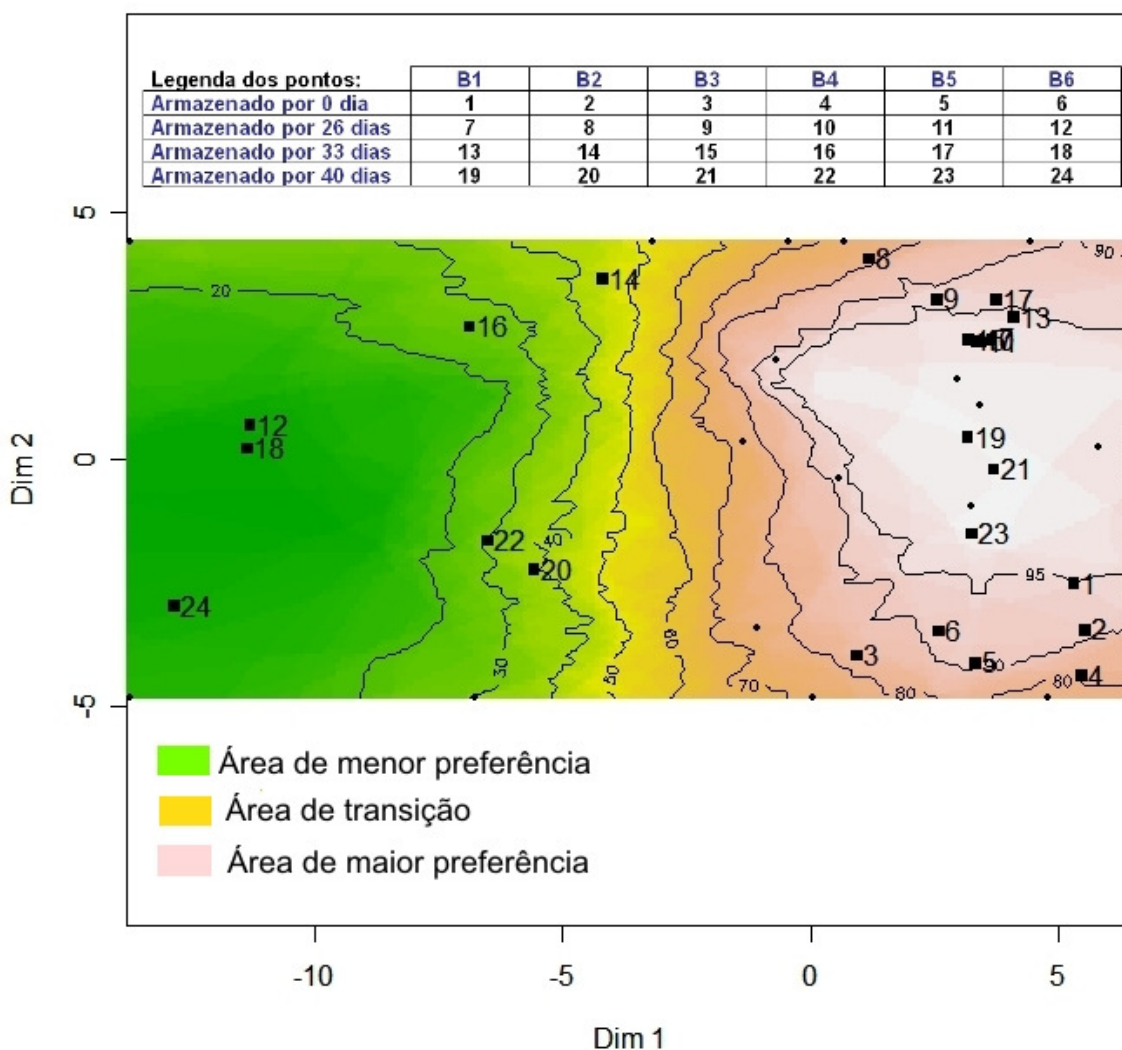


Figura 38. Mapa interno de preferência para a aparência de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. B1: Quitosana; B2: Gelatina + CMC; B3: Quitosana+gelatina; B4: CMC; B5: Gelatina e B6: Controle.

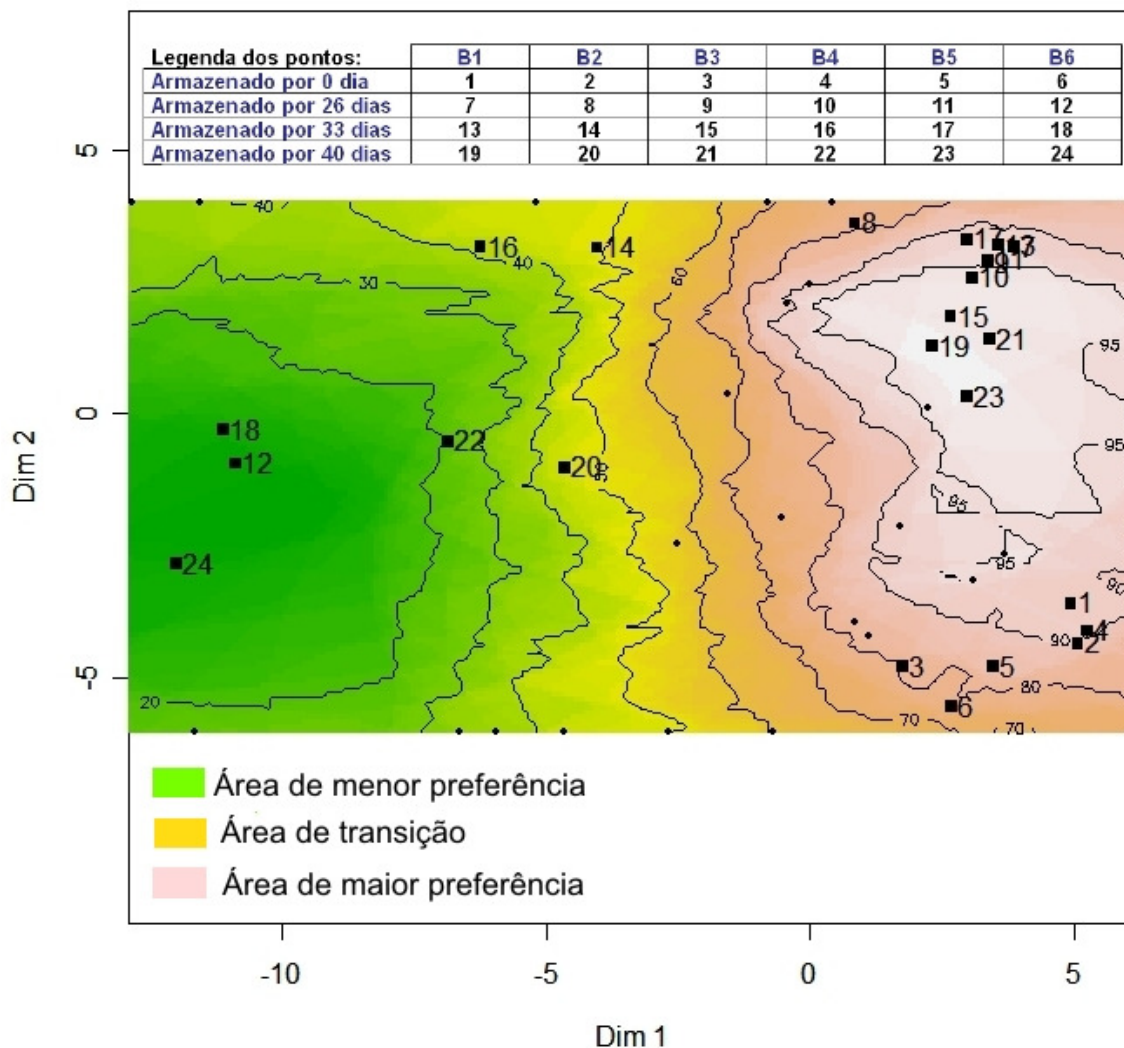


Figura 39. Mapa interno de preferência para intenção de compra de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. B1: Quitosana; B2: Gelatina + CMC; B3: Quitosana + gelatina; B4: CMC; B5: Gelatina e B6: Controle.

Com o decorrer do armazenamento as diferenças entre os tratamentos aumentaram e a maior ou menor preferência pelos tratamentos ficaram mais evidentes. Aos 40 dias de armazenamento os frutos revestidos com quitosana (B1), quitosana + gelatina (B3) e gelatina (B5) (pontos 19, 21 e 23, respectivamente área rosa no mapa) apresentaram melhor aparência e foram bem aceitos pela maioria dos provadores. A maior rejeição foi para os frutos do tratamento controle (B6) a partir de 26 dias até o final do armazenamento (pontos 12, 18 e 24, área verde no mapa). Os tratamentos gelatina + CMC (B2) e CMC (B4) também não tiveram

boa aceitação a partir de 33 dias de armazenamento (pontos 14, 16, 20 e 22 área amarelada no mapa). O comportamento semelhante entre os mapas de preferência da aparência e intenção de compra indica que a aparência do coco verde é um fator muito importante e decisivo no momento da compra. A aparência é o fator de qualidade de maior importância do ponto de vista da comercialização. Exerce papel fundamental na decisão de compra do consumidor, uma vez que é por meio da observação visual que o consumidor seleciona, compra e consome o alimento. Assim, produtos com características visuais desagradáveis não têm aceitação pelo consumidor (RESENDE et al., 2003; RESENDE et al., 2004b).

Os resultados das perguntas contidas na ficha de avaliação da aceitação dos frutos são apresentados a seguir por histogramas de frequência das respostas. O número de respostas à pergunta “O que você mais gostou neste produto?” é apresentado na Figura 40. Além da cor e da aparência dos frutos, verifica-se no início do armazenamento uma boa frequência de respostas referentes ao tamanho e formato do fruto. No decorrer do armazenamento, com os tratamentos se diferenciando com relação a outros atributos, o número de respostas referentes ao tamanho e formato do fruto diminui. Entretanto fica evidente que o tamanho e formato do coco verde são os atributos levados em maior consideração na escolha do produto. Entre as respostas que especificaram a preferência, 64% preferem frutos grandes, enquanto 36% preferem frutos médios. Com relação ao formato, são mais comuns as descrições de preferência pelos frutos “arredondados” e “equilibrados”.

Observa-se na Figura 40 que de forma geral o número de respostas decresce com o tempo, evidenciando menor aceitação do produto com o armazenamento. O número de respostas reduz particularmente nos tratamentos menos aceitos que são gelatina + CMC (B2), CMC (B4) e controle (B6). Entre esses tratamentos, a partir do vigésimo sexto dia de armazenamento do controle (B6) e do trigésimo terceiro dia os outros dois, há um aumento do número de respostas “nada”, indicando grande rejeição ao produto.

O número de respostas à pergunta “O que você mais desgostou neste produto?” é apresentado na Figura 41. Verifica-se que no início do armazenamento o principal fator de rejeição foi a presença de injúrias resultantes da colheita e transporte do coco verde.

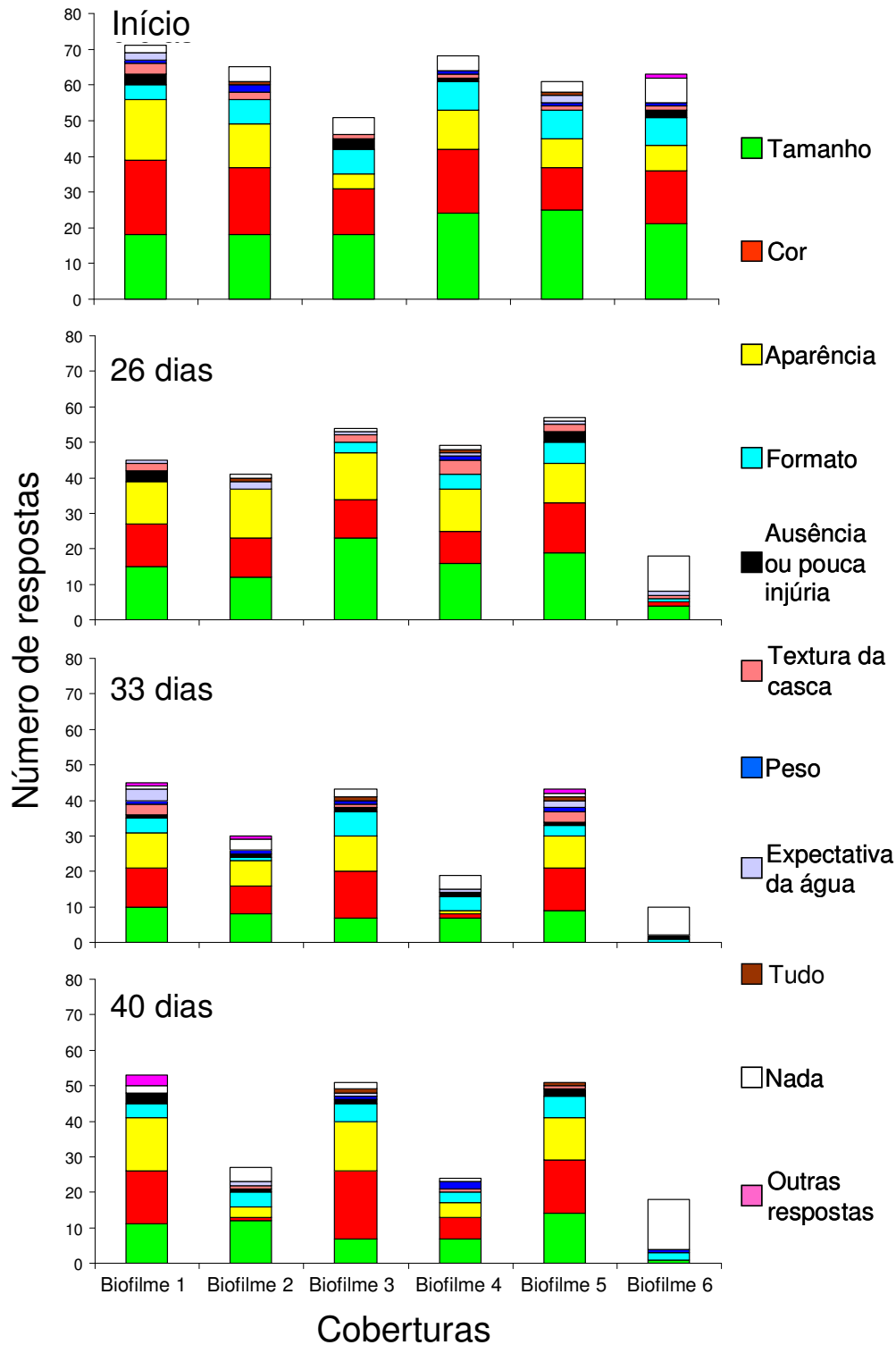


Figura 40. Número de respostas à pergunta “O que você mais gostou neste produto?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina+CMC; Biofilme 3: quitosana+gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle.

Produtores, trabalhadores e mesmo os consumidores consideram o coco verde resistente aos impactos e que os danos não afetam a parte comestível, no caso a água. Este conceito errado é agravado ainda pelo peso do produto que dificulta o transporte e manuseio sem lesão. Entretanto, qualquer tipo de estresse durante a colheita e o manuseio pós-colheita deve ser evitado, pois embora aparente ser resistente, o coco verde é extremamente sensível. Cheio de água, pode, com impacto ou queda, romper o endocarpo, permitindo a migração de substâncias, principalmente fenólicos, do mesocarpo (fibras) e endocarpo para a água, deixando-a mais adstringente e aumentando a possibilidade de contaminação com microrganismos (RESENDE et al., 2002). Este é um aspecto do manejo que terá de ser mudado se o produtor almejar colocar seu produto no mercado internacional ou num mercado nacional mais exigente.

Embora pequeno, houve algum grau de rejeição à percepção do biofilme no fruto. As coberturas mais rejeitadas foram quitosana (B1) e quitosana + gelatina (B3), no início do armazenamento, e gelatina + CMC (B2) e CMC (B4), aos 33 e 40 dias de armazenamento. Esta percepção do biofilme foi causada pela transferência do armazenamento a 12 °C para uma temperatura de 20 °C antes da avaliação sensorial. Isto causou a condensação de vapor d'água na superfície dos frutos e, com o manuseio imediato pelos provadores, houve a ruptura do biofilme. Nas respostas referentes à percepção do biofilme, 88% aludiram que ele estava “descascando” e 12% que estava “melando”, indistintamente ao tratamento de cobertura.

Com o decorrer do armazenamento, os tratamentos gelatina + CMC (B2), CMC (B4) e controle (B6) passaram a ter o maior rejeição à cor e aparência. Isto ocorreu a partir de 26 dias do armazenamento no controle (B6) e a partir de 33 dias nos outros dois tratamentos. A maioria das respostas em relação à aparência designava o fruto como “envelhecido” ou “deteriorado” e em relação à cor como “amarelado”. No controle (B6), as respostas de rejeição referentes à “turgidez” mostram ser este um fator importante, e confirmam a desidratação intensa dos frutos deste tratamento durante o armazenamento, mesmo numa umidade relativa de 80%. A resposta de rejeição relacionada ao “tamanho”, pouco importante no contexto do estudo, mostra um comportamento dos consumidores, que rejeitam o coco por ser pequeno ou muito grande, sendo que 67% rejeitam por ser pequeno e 33% por ser muito grande.

O número de respostas à pergunta “Porque você acha que NÃO vai gostar da água deste coco?” é apresentado na Figura 42. As respostas desta pergunta indicam fatores de

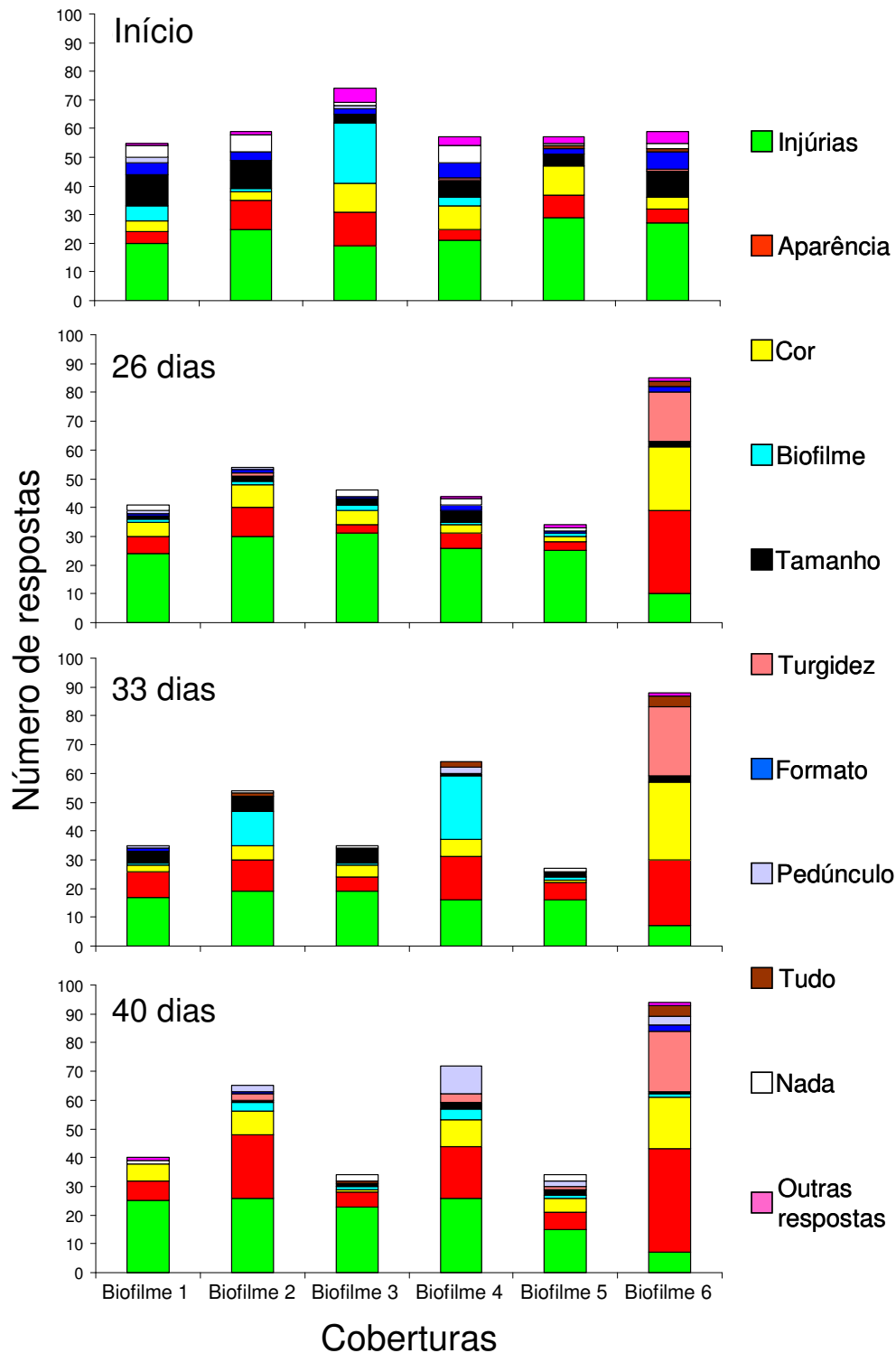


Figura 41. Número de respostas à pergunta “O que você mais desgostou neste produto?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina+CMC; Biofilme 3: quitosana+gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle.

rejeição à água estimados pelos provadores pela aparência do fruto. Verifica-se que o fato dos provadores julgarem o coco verde ter pouca água ou não a ter é um fator importante de rejeição e que esse tipo de avaliação do coco verde aumenta com o tempo de armazenamento, embora não tenha um efeito consistente dos biofilmes. É interessante observar que vários provadores associam a maior quantidade de água no fruto ao fato de se ouvir o barulho da água ao agita-lo, sendo que a ausência do barulho é um fator de rejeição à água considerado na Figura 42. Entretanto, essa avaliação pode ser válida para estimar a quantidade de água ou o maior frescor de coco seco, mas não de coco verde. No caso do coco verde a ausência de barulho está associada ao endocarpo estar completamente cheio de água, portanto com mais água. Ouvir barulho de água em coco verde indica que o coco está menos fresco ou que o coco foi colhido com grau de maturação avançado.

O fator mais importante de rejeição à água foi a aparência do fruto, sendo as expressões “velho” e “deteriorado” as mais citadas. O número de respostas que indicavam rejeição pela aparência aumentou com o tempo de armazenamento, particularmente nos tratamentos gelatina + CMC (B2), CMC (B4) e controle (B6). A rejeição da água pelas injúrias na casca permaneceu sem muita variação com o tempo de armazenamento na maioria dos tratamentos, exceto no controle (B6), em que outros fatores de rejeição se sobrepuseram às injúrias na casca no julgamento dos provadores (Figura 42).

No tratamento controle (B6) a rejeição à água aumentou com o tempo de armazenamento pelos fatores “cor do fruto” e “estado da água”, onde a cor “amarelado” e a água julgada “passada”, “velha” ou “estragada” foram as condições mais citadas nas respostas.

O sabor da água foi um fator de rejeição importante no início do armazenamento em todos os tratamentos, mas tendeu a diminuir com o tempo, exceto no controle (B6). Isto é explicado, pois, no início do armazenamento, os provadores rejeitaram a água por acreditarem que ela estaria “insípida” ou “pouco doce”. Ao final do armazenamento, os provadores rejeitavam a água do controle (B6) por acreditarem que ela estaria principalmente “azedada”, “ácida”, “amarga” ou “rançosa”. Da mesma forma ocorreu com a rejeição da água pelo grau de maturação do fruto. No início todos os frutos foram julgados “muito verde” ou “imaturo”, e no final os frutos do controle (B6) foram considerados “muito maduro” ou “seco”.

O número de respostas à pergunta “Porque você acha que VAI gostar da água deste coco?” é apresentado na Figura 43. Observa-se que de forma geral o número de respostas

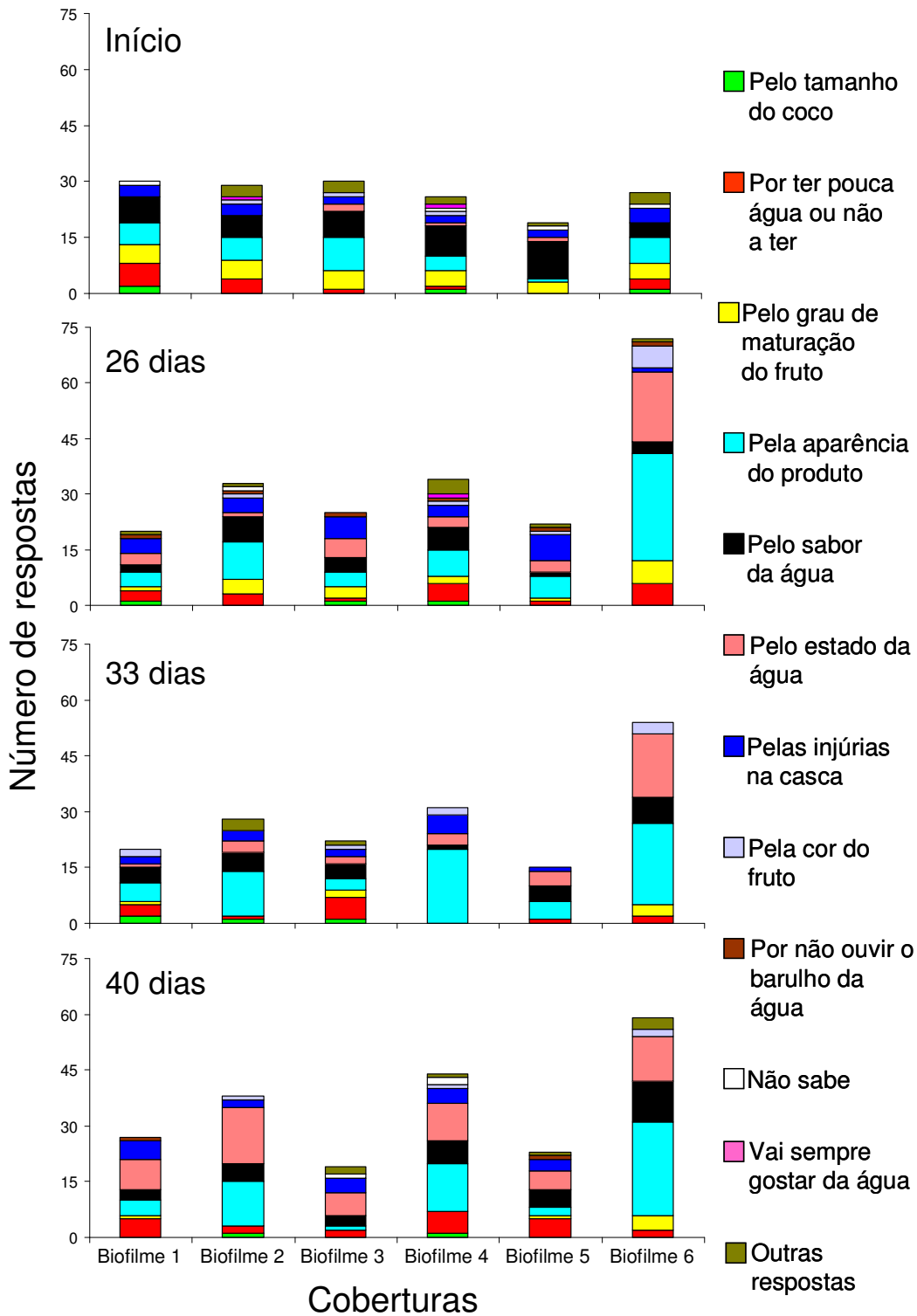


Figura 42. Número de respostas à pergunta “Porque você acha que NÃO vai gostar da água deste coco?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina+CMC; Biofilme 3: quitosana+gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle.

decrece com o armazenamento, evidenciando menos perspectivas em relação à água com o passar do tempo. O número de respostas reduz particularmente no tratamento controle (B6) que aos 26 dias de armazenamento já inspirava muito pouca perspectiva dos provadores gostarem da água. Aos 33 dias, o tratamento CMC (B4) passou a apresentar também uma sensível redução no número de respostas e aos 40 dias de armazenamento juntou-se a estes, o tratamento gelatina + CMC (B2) que nesta época também apresentou redução no número de respostas. Aos 40 dias de armazenamento os tratamentos quitosana (B1), quitosana + gelatina (B3) e gelatina (B5) promoviam ainda um bom número de respostas favoráveis a gostar da água.

Percebe-se na Figura 43 que o fator grau de maturação do fruto foi levado em consideração pelos provadores mais no início e no final do período de armazenamento. A preferência dos provadores se divide em relação a este fator. Um grupo acha que vai gostar da água pelo coco estar verde (imaturo) e outro grupo prefere a água de cocos que julgam mais maduros. É importante salientar que se procurou padronizar o grau de maturação na colheita e na seleção dos frutos para a montagem do experimento. De forma geral as respostas que indicavam preferência pela água dos cocos mais maduros, também indicavam perspectiva de que neste caso a água estaria mais doce. As respostas que iriam gostar da água “pelo coco estar no ponto” não deixa claro qual é a preferência do provador pelo grau de maturação. Há uma tendência de no início do armazenamento o provador preferir os cocos com aspecto mais maduro e, no final do armazenamento, os cocos com aspecto mais imaturo.

A resposta do provador de que iria gostar da água “pelo coco estar fresco” (Figura 43) é comum a todos os tratamentos no início do armazenamento. Entretanto no final dos 40 dias apenas os frutos dos tratamentos quitosana (B1), quitosana + gelatina (B3) e gelatina (B5) ainda foram considerados frescos a ponto de se gostar da água por esse motivo. Comportamento idêntico a este também foi observado na resposta que se gostaria da água “pela cor ou brilho da casca do coco”. No final, apenas estes três tratamentos foram considerados com a cor e o brilho inspiradores de boa qualidade da água.

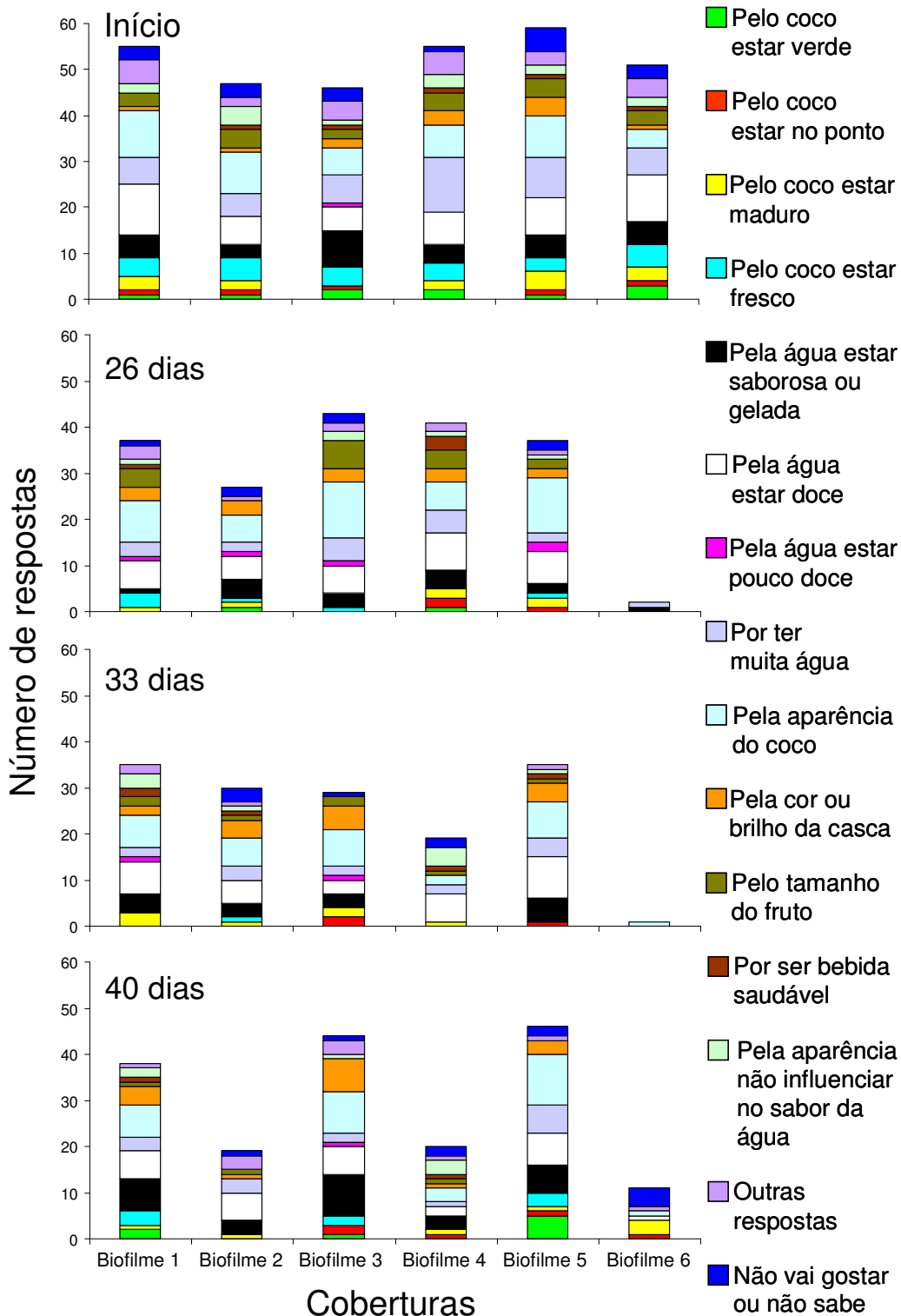


Figura 43. Número de respostas à pergunta “Porque você acha que VAI gostar da água deste coco?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina+CMC; Biofilme 3: quitosana+gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle.

As respostas em relação à perspectiva da doçura da água também dividem os provadores. Havia provadores considerando que iriam gostar da água por estar “pouco doce”, e outros por estar “doce” ou “mais doce”, sendo que 60% das respostas gostariam que a água estivesse mais doce e 40% que estivesse pouco doce.

A resposta que iria gostar da água “pelo tamanho do coco” (Figura 43) é frequente apenas no início do armazenamento, reduzindo com o tempo. Como discutido anteriormente cerca de dois terços das respostas preferem cocos grandes, enquanto que cerca de um terço preferem coco médios ou não muito grandes. Os que preferem cocos grandes geralmente associam o tamanho do fruto com a maior quantidade de água. A preferência por cocos que tenham grande quantidade de água fica evidente na resposta que se iria gostar da água “por ter bastante água” (Figura 43). Esta é respondida desde o início até o final do período de armazenamento, sendo que apenas os frutos do tratamento controle (B6) levaram os provadores acreditar que não conteriam bastante água.

As respostas “pela água estar saborosa ou gelada” e “por ser uma bebida saudável” são típicas de provadores que gostam muito de água de coco e que não levam muito em consideração a aparência do fruto para julgar a qualidade da água. Exceto no controle (B6), estas respostas são encontradas nos demais tratamentos até o final do armazenamento, sem muita distinção entre eles. Alguns provadores, principalmente no início do armazenamento responderam que “a aparência do coco não influencia o sabor da água”. Esta afirmação não é correta, e pela redução do número desta resposta em alguns tratamentos com o armazenamento, percebe-se que para os provadores também é difícil crer nesta afirmação quando a aparência do fruto está muito ruim.

O tratamento controle (B6) praticamente não inspirou respostas indicativas de gostar da água aos 26 e 33 dias de armazenamento. Entretanto, aos 40 dias o número de respostas voltou a aumentar para a pergunta em questão. Isto é explicado pela preferência de alguns provadores por cocos maduros com água bem doce.

As respostas no teste de aceitação do fruto têm a importante vantagem de identificar diferenças sensoriais do coco de forma rápida, como ocorre no momento da compra, cujas particularidades não podem ser detectadas por procedimentos analíticos (MUÑOZ et al., 1992). As percepções do aspecto de um fruto não dependem somente de suas propriedades químicas e físicas, mas também das condições e variabilidade individual dos seres humanos

(BLUNDELL & ROGERS, 1991). Não é possível um consenso, mas é possível observar a preferência da maioria.

4.6.2 Aceitação da água de coco

As notas de aceitação da água de coco pelos consumidores em relação aos atributos de sabor e intenção de compra da água apresentaram interação significativa entre os biofilmes e o tempo de armazenamento (Tabelas 3, 4 e 5). As médias das notas atribuídas pelos provadores estão apresentadas na Tabela 17.

Verifica-se que o sabor da água dos frutos revestidos com os tratamentos gelatina + CMC (B2) e quitosana + gelatina (B3) não foi bem aceito em nenhum dos tempos de armazenamento, sendo as notas sempre inferiores às do tratamento quitosana (B1), cujo sabor da água foi aceito em todos os tempos de armazenamento com notas entre 6 e 7 (“gostei moderadamente” e “gostei ligeiramente”, respectivamente), sendo o único tratamento cuja água não apresentou redução de aceitação com o armazenamento.

No início do armazenamento a água dos tratamentos gelatina + CMC (B2) e quitosana + gelatina (B3) apresentava menor aceitação que a dos demais tratamentos, sendo a nota em torno de 5 (“não gostei nem desgostei”). Aos 26 dias de armazenamento, além destes dois tratamentos, a água do tratamento gelatina (B5) também passou ter menos aceitação que os demais. Aos 33 dias de armazenamento a água do tratamento controle (B6) também passou para o grupo das menos aceitas. Aos 40 dias de armazenamento apenas o tratamento quitosana (B1) ainda apresentava água com o nível de aceitação inicial. Para os demais, o sabor da água obteve notas entre 3 e 5 (“desgostei moderadamente” e “não gostei nem desgostei”, respectivamente).

A intenção de compra da água seguiu basicamente a mesma tendência observada nas notas do sabor, corroborando os resultados, inclusive com as notas apresentando magnitude semelhante às do sabor.

Tabela 17. Notas atribuídas à aceitação da água de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C.

Biofilmes	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	26	33	40
	Sabor da água			
B1 - Quitosana	6,4 a	6,6 a	7,0 a	6,3 a
B2 - Gelatina + CMC	5,3 b	5,3 b	3,6 c	3,5 c
B3 - Quitosana + gelatina	5,7 b	4,2 c	6,4 b	4,7 b
B4 - CMC	7,0 a	6,0 a	6,9 a	3,9 c
B5 - Gelatina	6,7 a	5,6 b	3,6 c	4,6 b
B6 - Controle	6,7 a	6,2 a	5,8 b	5,0 b
	Intenção de compra da água			
B1 - Quitosana	6,2 a	6,6 a	7,2 a	6,4 a
B2 - Gelatina + CMC	5,0 b	4,9 c	3,3 c	3,0 c
B3 - Quitosana + gelatina	5,6 b	3,9 d	6,5 a	4,3 b
B4 - CMC	7,1 a	5,8 b	7,0 a	3,4 c
B5 - Gelatina	6,7 a	5,4 b	3,2 c	4,4 b
B6 - Controle	6,7 a	6,1 a	5,5 b	4,8 b

As médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott 5%

O efeito do tempo de armazenamento sobre a aceitação da água pode ser observado nas Figuras 44 e 45. O sabor da água dos frutos revestidos com os tratamentos gelatina + CMC (B2) e quitosana + gelatina (B3) que foi inferior ao dos demais desde o início do armazenamento apresentaram comportamento distinto durante todo o armazenamento. O sabor da água do tratamento gelatina + CMC (B2) passou a ser ainda menos aceito depois de 33 dias de armazenamento, enquanto que o sabor da água do tratamento quitosana + gelatina (B3) apresentou notas muito variáveis não sendo possível um ajuste de regressão em função do tempo (Figura 44).

A água dos tratamentos gelatina (B5) e controle (B6) apresentaram redução das notas de aceitação do sabor em função do tempo de armazenamento (Figura 44) indicando degradação progressiva. A água do tratamento CMC (B4) apresentou boa conservação do sabor até os 33 dias de armazenamento, mas uma rápida deterioração na semana seguinte. A água do tratamento quitosana (B1) praticamente não teve o sabor alterado pelo armazenamento. Comportamento muito similar ao sabor foi observado para as notas de intenção de compra da água (Figura 45).

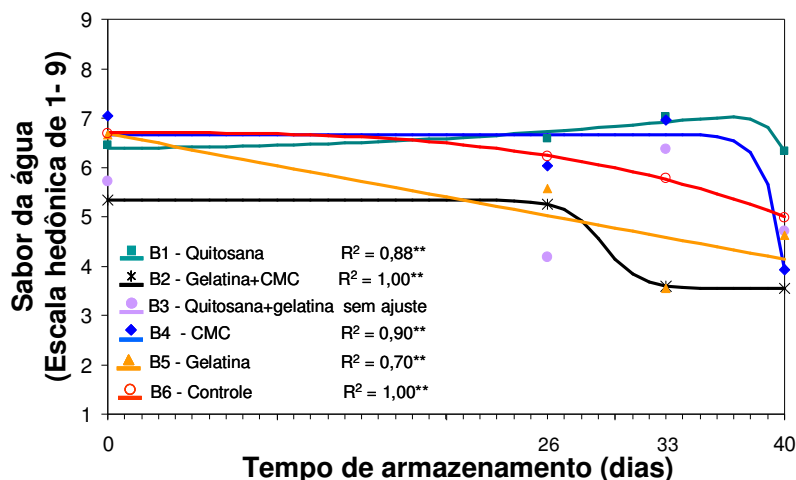


Figura 44. Sabor da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y = 6,39 + 0,000486x^2 - 3,62 \cdot 10^{-18}e^x$; B2: $y = 5,33 - 1,79 / (1 + e^{-(x-29,27)/1,055})$; B4: $y = 6,67 - 1,17 \cdot 10^{-17}e^x$; B5: $y = 6,67 - 0,063x$ e B6: $y = 6,70 - 0,0000265x^3$.

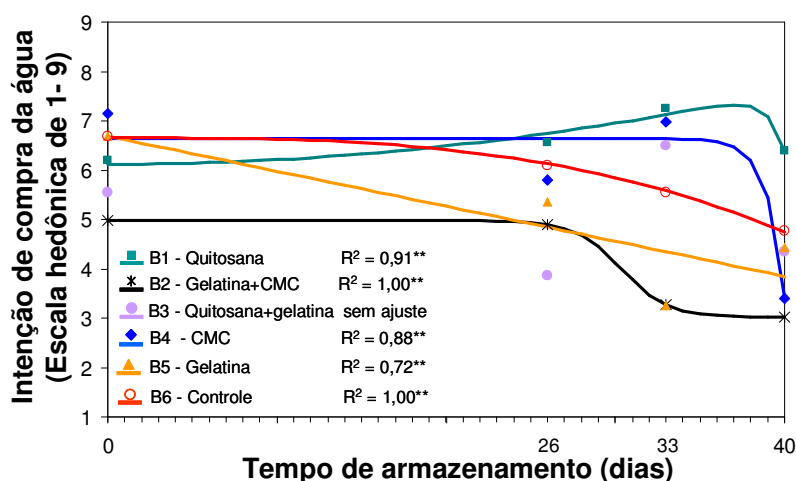


Figura 45. Intenção de compra da água de coco verde revestido com diferentes biofilmes em função do tempo de armazenamento. Ajuste de regressão para B1: $y = 6,12 + 0,000923x^2 - 5,15 \cdot 10^{-18}e^x$; B2: $y = 4,97 - 1,95 / (1 + e^{-(x-30,35)/1,364})$; B4: $y = 6,64 - 1,37 \cdot 10^{-17}e^x$; B5: $y = 6,68 - 0,0709x$ e B6: $y = 6,65 - 0,0000299x^3$.

A diminuição na aceitação do sabor da água de coco durante o armazenamento é resultado de um conjunto de fatores. Os maiores constituintes químicos da água de coco são os açúcares e minerais e os menores são as gorduras e as substâncias nitrogenadas. O sabor agradável da água de coco é atribuído principalmente aos açúcares e minerais, embora os

constituintes menores como gorduras, aminoácidos livres, ácidos nucléicos e orgânicos, fenólicos e gases dissolvidos podem contribuir para o “flavor” geral e sensação na boca. As mudanças nas suas concentrações durante o amadurecimento tornam a água menos suave e pouco apreciada pelo consumidor.

Entretanto no presente trabalho, durante o armazenamento não se observou mudanças amplas nos constituintes químicos analisados que explicassem os resultados de aceitação da água. Os resultados de aceitação da água parecem ter relação com os dados microbiológicos e fisiológicos. Os frutos revestidos com o biofilme de quitosana (B1) que apresentaram menor contaminação microbiana e menor redução da concentração de O₂ (menor atividade respiratória) com o armazenamento, apresentaram a água mais bem aceita até o final do armazenamento. Enquanto os frutos revestidos com biofilmes que apresentaram gelatina na composição tenderam a apresentar a água menos aceita. Mais estudos são necessários para que essas relações sejam esclarecidas, e que a ação da quitosana e da gelatina sobre a fisiologia do fruto e conseqüentemente sobre a água sejam completamente compreendidas.

Nas Figuras 46 e 47 são apresentados os mapas internos de preferência (MDPREF) para aceitação do sabor e da intenção de compra da água dos cocos verdes revestidos com os diferentes biofilmes nos diferentes tempos de armazenamento. Verifica-se que tanto a aceitação do sabor quanto a intenção de compra apresentaram resultados muito semelhantes. No início do armazenamento (pontos 1 a 6), exceto pelo ponto 2 (gelatina + CMC - B2) que se localizou na região de transição (área amarelada) das áreas rosada e verde, os demais tratamentos localizaram-se na área de boa aceitação, tanto pelo sabor, como pela intenção de compra.

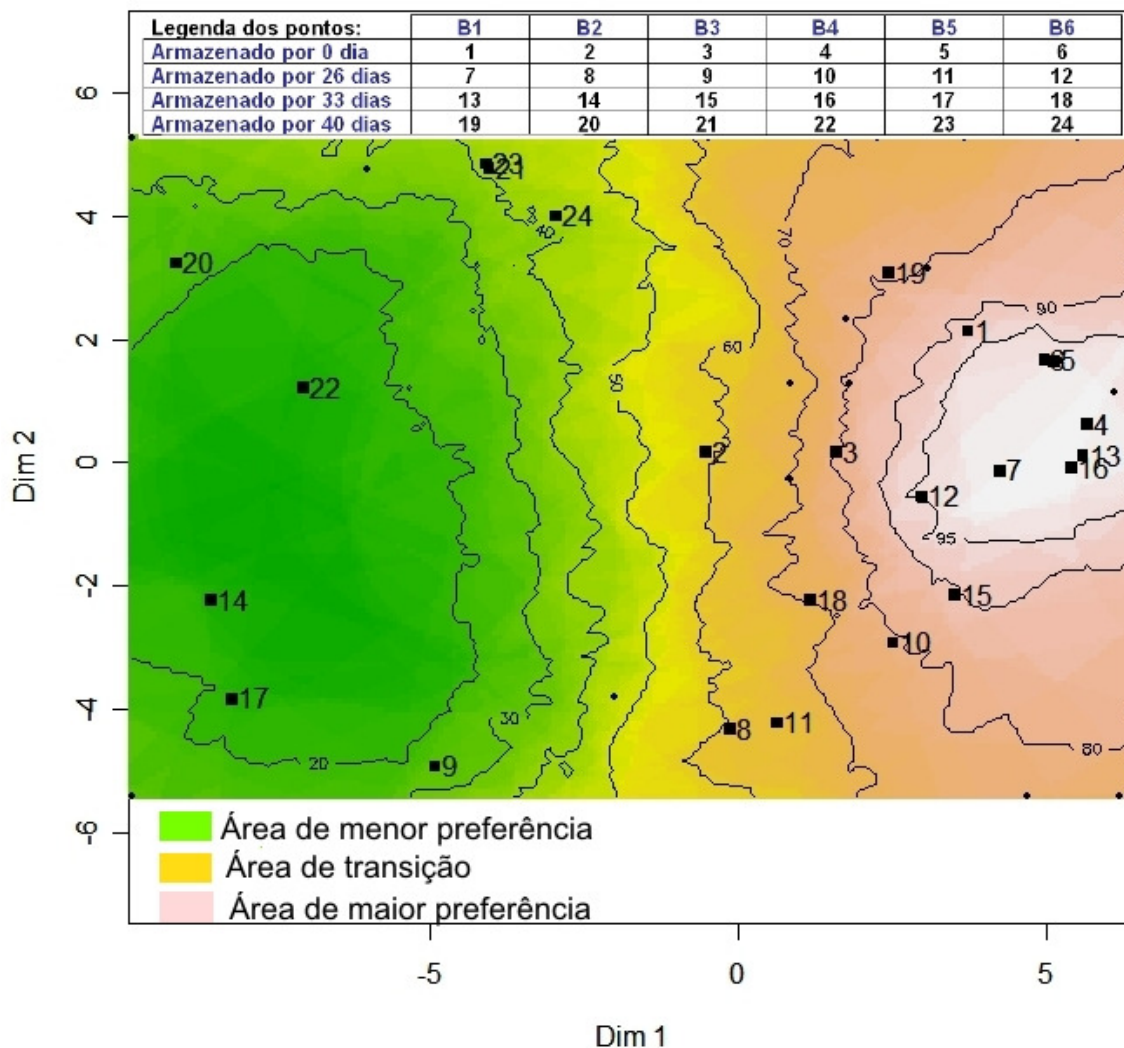


Figura 46. Mapa interno de preferência para o sabor da água de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. B1: Quitosana; B2: Gelatina+CMC; B3: Quitosana+gelatina; B4: CMC; B5: Gelatina e B6: Controle.

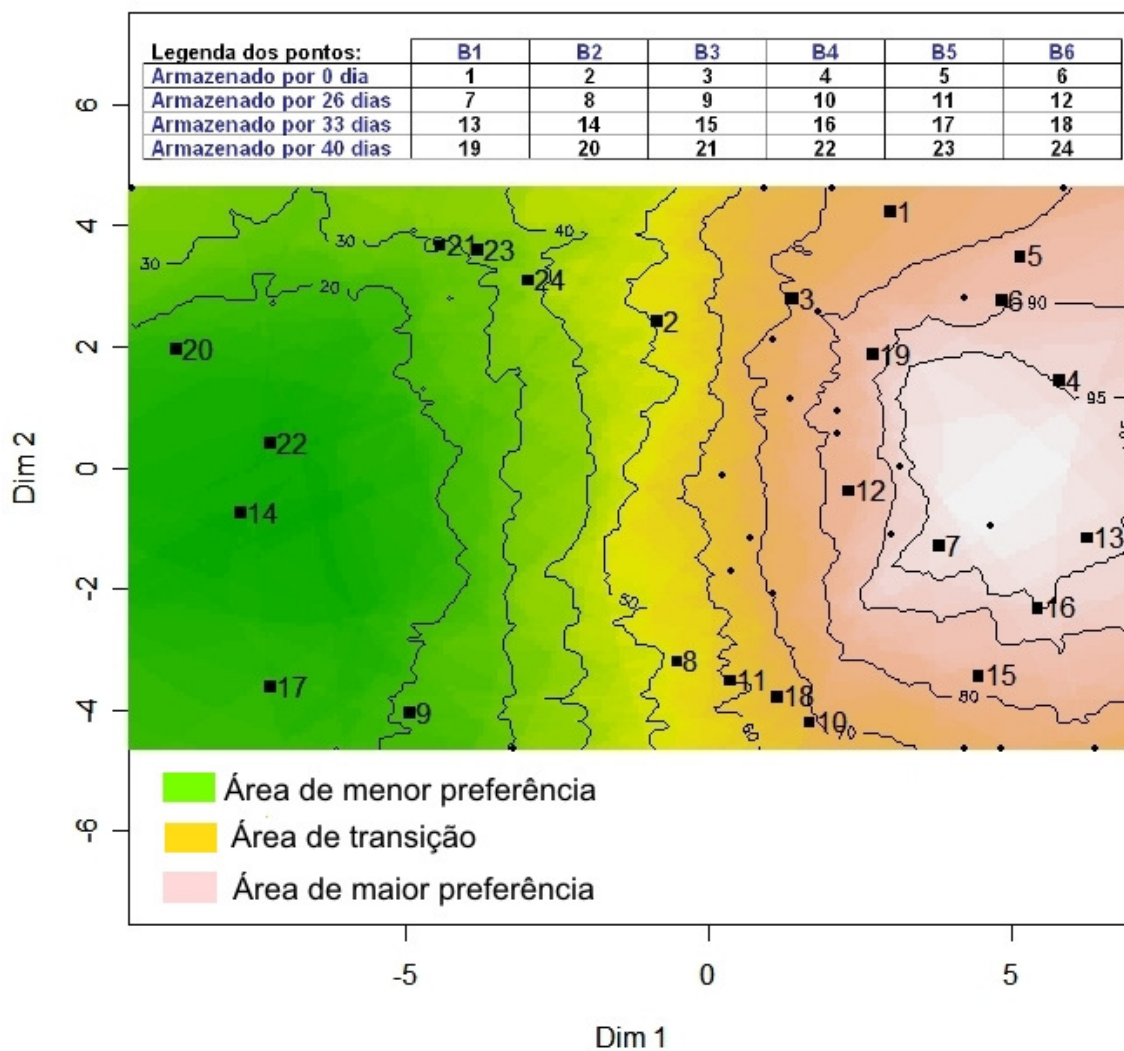


Figura 47. Mapa interno de preferência para a intenção de compra da água de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes (B1 a B6) e armazenados por 40 dias a 12 °C. B1: Quitosana; B2: Gelatina+CMC; B3: Quitosana+gelatina; B4: CMC; B5: Gelatina e B6: Controle.

Com o armazenamento ocorreu aumento das diferenças entre tratamentos e preferência dos provadores. Aos 40 dias de armazenamento o único tratamento na área rosada (de maior preferência) foi a quitosana (B1) (Ponto 19). Os demais tratamentos localizavam-se na área verde de pouca aceitação (Pontos 20, 21, 22, 23 e 24). Aos 33 dias de armazenamento a água dos tratamentos gelatina + CMC (B2) e gelatina (B5) foram muito pouco aceitas (pontos 14 e 17).

O tratamento quitosana + gelatina (B3) apresentou grande variabilidade de aceitação durante o armazenamento (pontos 3, 9, 15 e 21). Este tratamento apresentou boa conservação e aceitação do fruto, mas isto não se refletiu com solidez na aceitação da água. Embora a quitosana tenha promovido a conservação dos frutos deste tratamento, possivelmente o sabor da água foi prejudicado pela gelatina.

Os resultados das perguntas contidas na ficha de avaliação da aceitação da água são apresentados a seguir por histogramas de frequência das respostas. O número de respostas à pergunta “O que você mais gostou neste produto?” é apresentado na Figura 48. Observa-se que o número de respostas a esta pergunta apresentou bastante variabilidade desde o início do armazenamento, mostrando a grande diversidade existente no paladar dos provadores, ao contrário do observado na avaliação sensorial dos frutos, que foi baseada em análise visual.

A maior parte das respostas, em todos os tratamentos, afirmava que se gostou mais do sabor. Houve relativamente poucas respostas de que se gostou de outros atributos, como aparência da água, cor ou transparência. As respostas de que se gostou do aroma foram mais comuns nos dois primeiros períodos de armazenamento.

Houve grande diversidade na percepção de diferentes sabores, embora o número acentuado de respostas não especificasse o que mais se tinha gostado no sabor. O sabor doce ou bem doce é o preferido em relação ao pouco doce. Entretanto observa-se num mesmo tempo de armazenamento, dentro dos mesmos tratamentos, a presença de respostas que atribuem à água sabor “pouco doce” e ao mesmo sabor “bem doce”, mostrando como o paladar de cada provador é uma característica individualizada e própria. O mesmo comportamento é observado nas respostas de “sabor acentuado” e “sabor leve ou suave”.

O sabor “doce” ou “bem doce” e o sabor “característico” ou “acentuado” obtiveram maior número de respostas aos 33 dias de armazenamento, sugerindo nesta época um pico de maior maturação dos frutos colhidos verdes. Aos 40 dias de armazenamento os provadores salientam não ter gostado da água pelo sabor ácido ou amargo, particularmente na água do tratamento controle (B6).

As respostas de sabor “bom ou agradável” estão presentes em todos os tempos de armazenamento e em praticamente todos os tratamentos, mostrando ser típica de provadores que apreciam muito a água ou de que não percebem modificações.

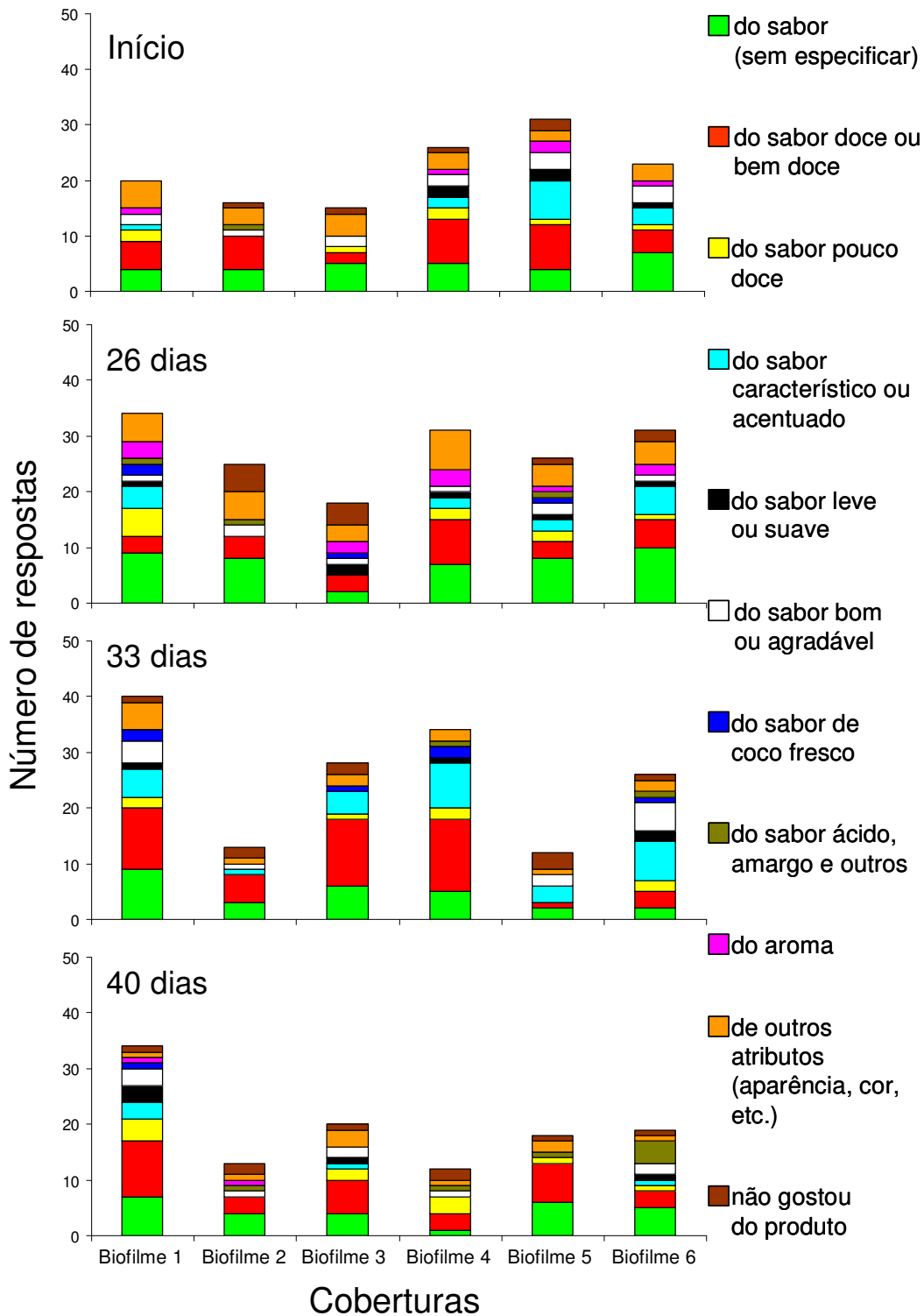


Figura 48. Número de respostas à pergunta “O que você mais gostou neste produto?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial da água de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina+CMC; Biofilme 3: quitosana+gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle.

As respostas de sabor “de coco fresco”, embora poucas, indicam provavelmente o início da percepção do sabor de coco passado na água de alguns tratamentos. Estas respostas aparecem apenas a partir do vigésimo sexto dia de armazenamento, sendo que aos 40 dias de armazenamento, apenas a água do tratamento quitosana (B1) ainda recebeu essa resposta.

Percebe-se também que aos 40 dias de armazenamento, o número total de respostas do tratamento quitosana (B1) é maior que dos demais tratamentos indicando a melhor conservação da água neste tratamento. A queda no número de respostas dos tratamentos gelatina + CMC (B2) e gelatina (B5) torna-se clara aos 33 dias de armazenamento, indicando haver nestes tratamentos deterioração mais rápida do sabor da água. Nos tempos de armazenamento anteriores, a variabilidade das respostas impede a clara percepção do início da perda de sabor da água. O número de respostas que afirmam não ter gostado do produto também é variável, mas apresenta uma tendência de ser um pouco maior nos tratamentos com menor número de respostas e no tempo de 40 dias de armazenamento.

O número de respostas à pergunta “O que você mais desgostou neste produto?” é apresentado na Figura 49. Observa-se também pelas respostas a grande variabilidade existente no paladar dos provadores. Tal como para a Figura 48, aqui também se observa que o número total de respostas mostra diferenças claras entre os tratamentos apenas a partir do trigésimo terceiro dia de armazenamento. Neste tempo de armazenamento, a água dos tratamentos gelatina + CMC (B2), gelatina (B5) e controle (B6) apresentavam maior número de respostas que os tratamentos quitosana (B1), quitosana + gelatina (B3) e CMC (B4), indicando maior rejeição da água dos três primeiros tratamentos. Aos 40 dias de armazenamento apenas o tratamento quitosana (B1) apresentava menor número de respostas, indicando possuir maior aceitação da água.

O desgostar da água pelo sabor de “passado ou estragado” aumenta com o tempo de armazenamento, particularmente no tratamento gelatina + CMC (B2), enquanto que o tratamento quitosana (B1) é o único a não ter o sabor de sua água considerado “passado ou estragado” até o trigésimo terceiro dia de armazenamento. O desgostar pelo sabor “ácido ou azedo” não aparenta ter efeito acentuado dos tratamentos, sendo uma resposta dada em todos os tempos de armazenamento na maioria dos tratamentos, embora possa haver uma tendência desta resposta aumentar no final do armazenamento.

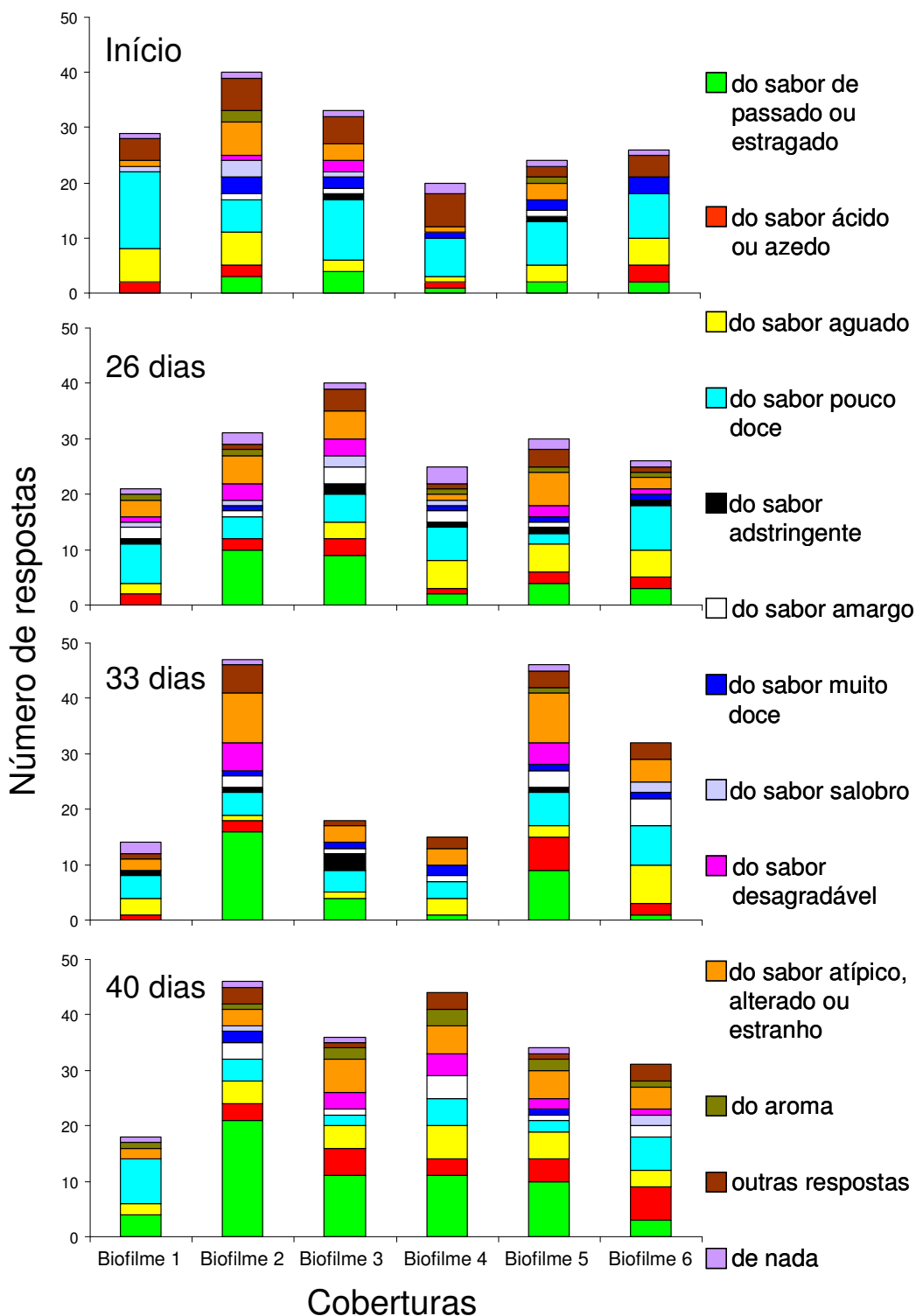


Figura 49. Número de respostas à pergunta “O que você mais desgostou neste produto?” contida na ficha de avaliação da aceitação sensorial da água de cocos verdes revestidos com diferentes biofilmes e armazenados por 40 dias a 12 °C. Biofilme 1: quitosana; Biofilme 2: gelatina+CMC; Biofilme 3: quitosana+gelatina; Biofilme 4: CMC; Biofilme 5: gelatina e Biofilme 6: controle.

As respostas que se desgostou da água por ter sabor “aguado” ou “pouco doce” não mostram tendências claras entre os tratamentos, mas são mais comuns no início do armazenamento, quando os frutos estão mais frescos. Os números destas respostas são bem maiores que o número de respostas que se desgostou da água por ter sabor “muito doce”, evidenciando novamente a preferência da maioria dos provadores por água mais doce.

O desgostar da água pelos sabores “adstringente”, “amargo” e “salobro” também desaprovaram a água de praticamente todos os tratamentos em todos os tempos de avaliação, não mostrando tendência definida. São detalhes do sabor percebidos pela minoria dos provadores e que em geral levaram à rejeição da água, mas é importante salientar que alguns provadores mencionam terem gostado da água por apresentar estes sabores (Figura 48).

O sabor “desagradável” foi atribuído por alguns provadores no início do armazenamento à água dos frutos com gelatina + CMC (B2) e quitosana + gelatina (B3), mas o número de respostas sobre esta característica tendeu a aumentar com o armazenamento na água de alguns tratamentos. Aos 26 dias de armazenamento esta resposta foi atribuída principalmente aos tratamentos gelatina + CMC (B2), quitosana + gelatina (B3) e gelatina (B5) e aos 33 dias de armazenamento aos tratamentos gelatina + CMC (B2) e gelatina (B5). Aos 40 dias de armazenamento ela é atribuída aos tratamentos quitosana + gelatina (B3), CMC (B4), gelatina (B5) e controle (B6). É interessante observar que o tratamento gelatina + CMC (B2), que recebeu esta resposta desde o início do armazenamento, não a apresenta aos 40 dias de armazenamento, sendo que ela possivelmente foi substituída pela resposta de sabor “passado ou estragado”. Novamente a água do tratamento quitosana (B6) recebeu pouca menção de sabor desagradável durante o armazenamento.

As respostas que se desgostou da água pelos sabores “atípico, alterado ou estranho”, pelo “aroma” e por outras respostas são comuns à todos os tratamentos em todos os tempos de armazenamento, mas há uma tendência clara do número delas ser maior nos tratamentos em que a água foi menos aceita e que apresentaram maior número total de respostas. Cabe salientar também que mesmo os tratamentos muito pouco aceitos receberam a resposta de que se desgostou de “nada”, indicando que a água estava aceitável para alguns provadores.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho fica evidente a maior conservação do coco verde e de sua água com o uso de biofilmes. A alteração da água é pouco percebida por análises químicas e físico-químicas. As análises fisiológicas e microbiológicas mostraram diferenças mais acentuadas e indicaram os biofilmes a base de quitosana como inibidores da microbiota contaminante do coco verde e que permitiam maior concentração de O_2 nas microcâmaras (menor atividade respiratória). Entretanto, a maior conservação conseguida com os tratamentos fica realmente evidente apenas com as análises sensoriais do fruto e da água por um painel não treinado de 78 provadores.

A inibição do tratamento quitosana (B1) aos microrganismos e a barreira física à troca bidirecional de gases permitiu maior concentração de O_2 (possivelmente também menor atividade respiratória) e resultou na melhor conservação do fruto e da água deste tratamento. A falta de O_2 pode induzir o desenvolvimento de “off-flavors” devido à mudança do metabolismo aeróbico para o anaeróbico (fermentativo), embora altas concentrações de CO_2 ou baixas de O_2 possam induzir a formação de “off-flavors” e estimular o crescimento de bactérias homo e hetero-fermentativas e leveduras, que produzem ácidos orgânicos, etanol e ésteres voláteis (BEAUDRY, 2000).

O balanço adequado entre açúcares e ácidos e/ou entre os minerais na água de coco constituem o limite básico para o estímulo da gustação e têm associação com o prazer para as espécies animais, incluindo o homem, os quais são biologicamente dependentes de açúcares como fonte de energia metabólica e de vitaminas, minerais e compostos fenólicos para uma alimentação saudável. Como consequência, os nutrientes provenientes de fontes naturais, como a água de coco, os frutos e os sucos de frutos naturais devem ser tradicionalmente aceitos como meio para melhorar a palatabilidade dos alimentos e bebidas, preenchendo e satisfazendo uma importante função na alimentação moderna, o de trazer benefícios à saúde.

A análise sensorial mostrou-se eficiente em evidenciar os melhores tratamentos. As percepções visuais e de gostos e sabores básicos não dependem somente das propriedades químicas e físicas das substâncias, mas também das condições fisiológicas e psicológicas do ser humano. Isto foi essencial para o alcance dos resultados do presente trabalho. As análises de aceitação com o objetivo de avaliar a resposta dos indivíduos em relação a quanto gostaram

ou desgostaram de um produto ou de características específicas do produto levaram a concluir que os atributos de aparência, aroma, sabor foram os mais alterados com os tratamentos de biofilmes e com o armazenamento do coco verde.

Assim os testes de aceitação baseados em escala hedônica ou em perguntas e as análises estatísticas associadas ao mapa interno de preferência (MDPREF) indicaram que os cocos verdes revestidos com quitosana (B1), quitosana + gelatina (B3) e gelatina (B5) se conservaram melhor que os demais tratamentos, particularmente em relação à testemunha não revestida com biofilme. Entretanto a análise sensorial da água rejeitou os biofilmes à base de gelatina, e evidenciou a boa conservação do sabor da água do biofilme de quitosana (B1). Portanto, baseados nestes resultados recomenda-se para revestir o coco verde com biofilme a base de quitosana 1,5%, que permitiu uma boa conservação dos frutos e dos atributos sensoriais da água por 40 dias de armazenamento em câmara fria a $12^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$, UR 80%, tempo suficiente para permitir a sua exportação em containers marítimos.

6. CONCLUSÕES

- O tempo de armazenamento tem influência acentuada sobre as características físicas, físico-químicas e bioquímicas da água de coco da variedade Anão Verde, particularmente depois dos 30 dias de armazenamento.
- Os revestimentos afetaram pouco as características físicas, físico-químicas e bioquímicas da água de coco.
- Os frutos da variedade ‘Anão Verde` revestidos com biofilmes de quitosana (B1), quitosana + gelatina (B3) e gelatina (B5) tiveram maior conservação no decorrer do armazenamento para a maioria das variáveis analisadas.
- O biofilme quitosana (B1) protegeu o coco verde da contaminação microbiana.
- Todos os índices de contaminação microbiana da água do coco verde foram considerados dentro dos níveis aceitáveis para o consumo, segundo a ANVISA.
- Os tratamentos com quitosana (B1) e quitosana + gelatina (B3) proporcionaram melhor preservação da qualidade microbiológica da água de coco para consumo natural, evidenciando o efeito das propriedades antimicrobianas da quitosana sobre o crescimento de microrganismos.
- Os principais fungos identificados na água de coco durante o armazenamento do fruto foram *Penicilium*, *Fusarium* e *Paelomyces*, na seguinte sequência *Penicilium* > *Fusarium* > *Paelomyces*
- O biofilme quitosana (B1) permitiu maior concentração de O₂ e menor de CO₂ na microcâmara.
- O biofilme quitosana (B1) promoveu maior aceitação da água após o armazenamento por 40 dias.
- A aceitação e a intenção de compra dos frutos, assim como a expectativa em relação à água, resultantes de avaliação a partir da aparência do fruto, diminuíram com o tempo de armazenamento.
- A aceitação da água também diminuiu com o armazenamento e conseqüentemente a sua intenção de compra.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHET, D.; HE, X. W. Determination of the renaturation level in gelatin films. **Polymer**, v. 36, n. 4, p. 787-791, 1995.
- ADAMS, J.B. Regeneration and the kinetics of peroxidase inactivation, **Food Chemistry**, v. 60, n. 2, p.201-206, 1997
- ADEODATO, S. O versátil coco. **Revista Globo Ciência**. Maio. p. 31-34, 1995.
- AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.
- AIT BARKA, E., EULLAFFROY, P., CLÉMENT, C., VERNET, G. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. Against *Botrytis cinerea*. **Plant Cell Reports**, v. 22, n. 8, p. 608–614, 2004.
- ALLAN, C.R. and HADWIGER, L.A. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. **Experientia Mycology**, v. 3, p. 285-287, 1979.
- ALONSO, J.; ALIQUÉ, R. Influence of edible coating on shelf life and quality of 'Picota' sweet cherries. **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 6, p. 535-539, 2004.
- AMANATIDOU, A.; SMID, E.J.; GORRIS, L.G.M. Effect of elevated oxygen and carbon dioxide on the surface growth of vegetable-associated micro-organisms. **Journal of Applied Microbiology**, v. 86, n. 3, p. 429-38, 1999.
- AMARANTE, C.; BANKS, N.H. Postharvest physiology and quality of coated fruits and vegetables. In: JANICK, J. (Ed.) **Horticultural Reviews**, New York: John Wiley e Sons, Inc., v. 26, p. 161-238, 2001.
- AMARANTE, C.; BANKS, N.H.; GANESH, S. Characterising ripening behaviour of coated pears in relation to fruit internal atmosphere. **Postharvest Biology and Technology**, v. 23, p. 51-59, 2001b.
- AMARANTE, C.; BANKS, N.H.; GANESH, S. Relationship between character of skin cover of coated pears and permeance to water vapour and gases. **Postharvest Biology and Technology**, v. 21, p. 291–301, 2001a.
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. Método 46-13 modificado. 9 ed. Saint Paul: AACC, 1995.
- ARAGÃO, W.M.; ISBERNER, I.V.; CRUZ, E.M. de. O. **Água-de-coco**. Aracaju: Embrapa - CPATC, 2001. 32p.

ARAGÃO, W.M.; RESENDE, J.M.; CRUZ, E.M.O.; REIS, C.S.; SAGGIN-Jr, O.J.; ALENCAR, J.A.; MOREIRA, W.A.; PAULA, F.R.; LIMA FILHO, J.M.P. Fruto do coqueiro para consumo natural. In: ARAGÃO, W.M. (Ed.). **Coco pós-colheita**. Brasília: Embrapa Tabuleiros Costeiros (Aracaju, SE)/Embrapa Informação Tecnológica, cap. 3, p.19-25 2002. (Frutas do Brasil; 29).

ARCHBOLD, D.D.; POMPER, K.W. Ripening pawpaw fruit exhibit respiratory and ethylene climacterics. **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, n. 1, p. 99-103, 2003.

ARCHER, D.L. Preservation microbiology and safety: evidence that stress enhances virulence and triggers adaptive mutations. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, n. 3, p. 91-95, 1996.

ARDI, R.; KOBILER, I.; JACOBY, B.; KEEN, N.T.; PRUSKY, D. Involvement of epicatechin biosynthesis in the activation of the mechanism of resistance of avocado fruits to *Colletotrichum gloeosporioides*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 53, n. 5, p. 269-285, 1998.

ARONSON, J.K. Forbidden fruit. **Nature Medicine**, v. 7, n. 1, p. 29-30, 2001.

AROUCHA, E.M.M. **Avaliação das principais características físicas e físico-químicas do endosperma líquido e sólido das cultivares de coco anão (*cocos nucifera* L) verde e vermelho em diferentes estádios de maturação**. 2000. Dissertação (Mestrado - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias)- Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos de Goytacazes.

ARVANITOYANNIS, I.; BILIARDERIS, C.G. Physical properties of polyol-plasticized edible blends made of methyl cellulose and soluble starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, p. 47-58, 1999.

ARVANITOYANNIS, I.S.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, n. 4, p. 371-382, 1998.

ASHOOR, S.H.; WOODROW, C.M.; WELTY, J. Liquid chromatographic determination of ascorbic acid in foods. **Journal Association of Official Analytical Chemists**. v. 67, n. 1, p. 78-80, 1984.

ASSIS, J.S.; RESENDE, J.M.; SILVA, F.O.; SANTOS, C.R.; NUNES, F. **Técnicas para colheita e pós-colheita do coco verde**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. 6 p. il. (Embrapa Semi-Árido. Comunicado Técnico, 95).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS-ABNT. NBR12806. **Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas**: terminologia. São Paulo. Comitê Brasileiro de Alimentos e Bebidas, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry**. Método- 971.27 Sodium Chloride in Canned Vegetables (Potentiometric Method). 17ed. Gaithersburg, MD 2000c. 11115p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry**. Método- 999.15D, item 9.2.20A. 17ed. Gaithersburg, MD 2000a. 11115p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry**. Método- 990.08, item 9.2.39, p.46. 17ed. Gaithersburg, MD 2000b. 11115p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry**. 12ed. Washington: A.O.A.C .1992.

ÁVILA, M.R; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A.; MARTORELLI, D.T.; ALBRECHT, L.P.; FACIOLLI, F.S. Qualidade fisiológica e produtividade das sementes de milho tratadas com micronutrientes e cultivadas no período de safrinha. **Acta Science Agronomia**, v. 28, n. 4, p. 535-543, 2006.

AWAD, M. e DE JAGER, A. Flavonoid and chlorogenic acid levels in skin of Jonagold and Elstar apples during and after regular and ultra low oxygen storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p. 15-24, 2000.

AWAD, M. e DE JAGER, A. Influences of air and controlled atmosphere storage on the concentration of potentially healthful phenolics in apples and other fruits. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, p. 53-58. 2003.

AWAD, M.A.; DE JAGER, A.; van DER PLAS, L.H.W.; van DER KROL, A.R. Flavonoid and chlorogenic acid changes in skin of Elstar and Jonagold apples during development and ripening. **Scientia Horticulturae**, v. 90, p. 69-83, 2001.

AYRANCI, E.; TUNC, S. A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. **Food Chemistry**, v. 80, p. 423-431, 2003.

AYRANCI, E.; TUNC, S. The effect of fatty acid content on water vapour and carbon dioxide transmissions of cellulose-based edible films. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 231-236, 2001.

BAI, J.; ALLEYNE, V.; HAGENMAIER, R.D.; MATTHEIS, J.P.; BALDWIN, E.A. Formulation of zein coatings for apples (*Malus domestica* Borkh) **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p. 259-268, 2003.

BALDWIN, E.A.; BURNS, J.K.; KAZOKAS, W.; BRECHT, J.K.; HAGENMAIER, R.D.; BENDER, R.J.; PESIS, E. Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*Mangifera indica* L.) ripening during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 17, p. 215-226, 1999.

BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O.; HAGENMAIER, R.D.; BAKER, R.A. Use of lipids in coatings for food products. **Food Technology**, v. 51, n. 6, p. 56-63, 1997.

BANWART, G.J. **Basic food microbiology**. 2ed. New York: Van Nostrand Reinhold, cap. 7, p. 92-371, 1989.

BARANOWSKI, J.D.; NAGEL, C.W. Isolation and identification of the hydroxycinnamic acid derivatives in white riesling wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 32, n. 1, p. 5-13, 1981.

BARNET, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4° ed. Macmillan Publication, Minneapolis: BPS, 1987. 801p.

BARREIROS, A.B.S.; David, J.M.; David, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; VELÁZQUEZ-del VALLE, M.G.; HERNÁNDEZ-LÓPEZA, M.; BARKA, E.A.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, v. 25, n. 2, p. 108–118, 2006.

BEAUDRY, R.M. Effect of O₂ and CO₂ partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, n. 3, p. 293-303, 1999.

BEAUDRY, R.M. Responses of horticultural commodities to low oxygen: Limits to the expanded use of modified atmosphere packaging. **Horticultural Technology**, v. 10, p. 491-500, 2000.

BEERTH, P.; RAGHURAMAIAH, B.; KRISHNAMURTHY, G.V. Utilization of mango waste peel as a source of pectin. **Journal of Food Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 96-97, 1976.

BELL, A.E. Gel structure and food biopolymer. In: HARDMAN T.M. (Ed): **Water and food quality**. London: Elsevier Applied Science, p. 251-275, 1989.

BIBI, N.; KHATTAK, A.B.; MEHMOOD, Z. Quality improvement and shelf life extension of persimmon fruit (*Diospyros kaki*). **Journal of Food Engineering**, v. 79 n. 4, p. 1359-1363, 2007.

BIGI, A.; COJAZZI, G.; PANZAVOLTA, S.; RUBINI, K.; ROVERI, N. Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. **Biomaterials**, v. 22, p. 763-768, 2001.

BILLAUD, C.; BRUN-MÉRIMÉE, S.; LOUARME, L.; NICOLAS, J. Effect of glutathione and Maillard reaction products prepared from glucose or fructose with glutathione on polyphenoloxidase from apple: Enzymatic browning and enzyme activity inhibition. **Food Chemistry**, v. 84, n. 2, p. 223-233, 2004.

BLUNDELL, J.E.; ROGERS, P.J. Hunger, hedonic and the control satiation and satiety. In: FRIEDMAN, M.I.; TORDOFF, M.G.; KARE, M.R. (Eds.). **Chemical Senses**, v. 4, p. 127-148, 1991.

BODMEIER, R.; PAERATAKUL, O. Plasticizer uptake by aqueous colloidal polymer dispersions used for the coating of solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 152, p. 17-26, 1997.

BOWLER, C.; VAN MONTAGU, M.; INZE D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 43, p. 83-116, 1992

BRACKETT, R.E. Incidence, contributing factors, and control of bacterial pathogens in produce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, n. 3, p. 305-311, 1999.

BRACKETT, R.E.; SPLITTSTOESSER, D.F. Fruits and vegetables. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4 ed. Washington, D.C: 2001. p. 215-520.

BRASIL. Portaria nº 41 de 14 de janeiro de 1998, anexo A. Aprova o regulamento técnico para a rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 28 março 2006.

BRASIL. Resolução nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 28 março 2005.

BRAVIN, B.; PERESSINI, D.; SENSIDONI, A. Development and application of polysaccharide-lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. **Journal of Food Engineering**, v. 76, n. 3, p. 280-290, 2006.

BRECHT, J.K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, v. 30, n. 1, p. 18-22, 1995.

BRITO, C.A.K. de; SATO, H.H.; SPIRONELLO, A.; SIQUEIRA, W.J. Características da atividade da peroxidase de abacaxis (*Ananas comosus* (L.) Merrill) da cultivar IAC Gomo-demel e do clone IAC-1. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 244-249, 2005.

BURNETTE, F.S. Peroxidase and its relationship to food flavor and quality: a review. **Journal of Food Science**, v. 42, p. 1- 6, 1977.

BURNS, J.; GARDNER, P.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G.; LEAN, M.; CROZIER, A. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 5797-5808, 2001.

CALLEGARIN, F; GALLO, J.A.Q; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Lipids and Biopackaging. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 74, n. 10, p. 1183-1192, 1997.

CAMPOS, C.F.; SOUZA, P.E.A.; COELHO, J.V.; GLÓRIA, M.B.A. Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavour quality of green coconut water. **Journal of Food Processing Preservation**, v. 20, p. 487-500, 1996.

CAMPOSTRINI, E.; LIMA, H.C.; OLIVEIRA, J.G.; MONNERAT, P.H.; MARINHO, C.S. Teores de Ca e variáveis meteorológicas: relações com a incidência da mancha fisiológica do mamão. **Bragantia**, v. 64, n. 4, p. 601-613, 2005.

CARBONARO M.; MATTERA M. Polyphenoloxidase activity and polyphenol levels in organically and conventionally grown peach (*Prunus persica* L., cv. Regina bianca) and pear (*Pyrus communis* L., cv. Williams). **Food Chemistry**, v. 72, n. 4, p. 419-424, 2001.

CARROLL, J.D.; CHANG, J.J. Analysis of Individual Differences in Multidimensional scaling via an N-way generalization of "Eckart-Young" Decomposition", **Psychometrika**, v. 35, p. 283-319, 1970.

CARVALHO FILHO, C.D. **Conservação de cerejas (*Prunus avium* L.), cv. Ambrunés, utilizando coberturas comestíveis**. 2000. 108p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola-Tecnologia Pós-Colheita) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CARVALHO, A.S.L.; MELO, E.P.; FERREIRA, B.S.; PETERSEN, M.T.N.; PETERSEN, S.B.; BARROS, M.R.A. Heme and pH-dependent stability of an anionic horseradish peroxidase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 415, p. 257-267, 2003.

CARVALHO, R.A. **Elaboração e caracterização de filmes à base de gelatina modificada enzimática e quimicamente**. 2002. 227p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CHA, D.S.; CHINNAN, M.S. Biopolymer-Based Antimicrobial Packaging: A Review. **Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, n. 4, p. 223-237, 2004.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Progress in Polymers Science**, v. 23, n. 7, p. 1273- 1335, 1998.

CHEAH, L.H. and PAGE, B.B.C. Chitosan coating for inhibition of *Sclerotinia* rot of carrots. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 25, p. 89-92, 1997.

CHEFTEL, J.C.; CHEFTEL, H. **Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1992. v. 1, 333p.

CHEN, S. e NUSSINOVITCH, A. Permeability and roughness determinations of wax-hydrocolloid coatings, and their limitations in determining citrus fruit overall quality. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 127-137, 2001.

CHEN, S. e NUSSINOVITCH, A. The role xanthan gum in traditional coatings of easy peelers. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 319-326, 2000.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e**

manuseio. Lavras: ESAL/FAEPE, 2005, 783 p il.

CHITTOOR, J.M.; LEACH, J.E. e WHITE, F.F. Induction of peroxidase during defense against pathogens. In: DATTA, S.K.; MUTHUKRISHNAN, S. (Eds.). **Pathogenesis: Related proteins in plants.** Boca Raton. Florida: CRC Press, USA. p. 171-193. 1999.

CHURCHILL, H.M.; SCOTT, A.O. A study of the biochemical and chemical causes of quality changes in frozen vegetables. **Food Preservation Research Association**, v. 426, p. 1-45, 1986.

CIVELLO, P.M.; MARTÍNEZ, G.A.; CHAVES, A.R.; AFIÓN, M.C. Peroxidase from strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.): partial purification and determination of some properties. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 43, p. 2596-2601, 1995.

CLAUDINE, M.; AUGUSTINIS, S.; CHRISTINE, M.; CHRISTIAN, R. e LILIANE, J. Review on polyphenol, food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 5, p. 727-747, 2004.

COLAK, A.; ÖZEN, A.; DINCER, B.; GÜNER, S. e AYAZ, F. A. Diphenolases from two cultivars of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) fruits at an early stage of maturation. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 801-807, 2005.

CONCELLÓN, A.; AÑÓN, M.C.; CHAVES, A.R. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. **Food Chemistry**, v. 88, p. 17-24, 2004.

COSETENG, M.Y. e LEE, C.Y. Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 4, p. 985-989, 1987.

COSTA, J.M.C da; ALVES, M.C.S.; CLEMENTE, E.; FELIPE, E.M. de F. Características físico-químicas e minerais de água de coco de frutos da variedade anã amarelo em diferentes períodos de maturação **Acta Science Agronomia**. Maringá, v. 28, n. 2, p. 173-177, 2006.

COX, L.J.; KELLER, N.; SCHOTHORST, M. The use and misuse of quantitative determinations of Enterobacteriaceae in food microbiology. **Journal of Applied Bacteriology, Supplement**, v. 65, p. 237-250, 1988.

CRAVEIRO, A.A.; CRAVEIRO, A.C. e QUEIROZ, D.C. **Quitosana – A fibra do futuro**, Padetec, 1999. 124p.

CUENCA; M.A.G.; RESENDE, J.M.; SAGGIN-Jr, O.J.; REIS, C.S.; Mercado brasileiro do coco: situação atual e perspectivas. In: ARAGÃO, W.M. (Ed.). **Coco pós-colheita**. Brasília: Embrapa Tabuleiros Costeiros (Aracaju, SE)/Embrapa Informação Tecnológica, p. 11-18, 2002. (Frutas do Brasil; 29).

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: Formulation and functional properties. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 6, p. 1369-1374, 1995.

CURSINO, M.M.; SABAA SRUR, A.; LOURENÇO, M.; PEREIRA, W. Contribuição à industrialização da água de coco (*Cocos nucifera*) verde. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 15, 1996, Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas: SBCTA, 1996.

DAVEY, M.W.; VAN MONTAGU, M.; INZE, D.; SANMARTIN, M.; KANELIS, A. SMIRNOFF, N.; BENZIE, I.J.J.; STRAIN, J.J.; FAVELL, D.; FLETCHER, J.P. L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **Journal Science Food Agricultural**, v. 80, n. 7, p. 825-860, 2000.

DEBEAUFORT, F.; GALLO, J.A.Q.; VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.

DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Methycellulose-based edible films and coating: 2. Mechanical and thermal properties as a function of plasticizer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 3, p. 685-689, 1997.

DEL CARO, A.; PIGA, A., VACCA, V.; AGABBIO, M. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. **Food Chemistry**, v. 84, p. 99-105, 2004.

DEL NOBILE, M. A.; LICCIARDELLO, F.; SCROCCO, C.; MURATORE, G.; ZAPPA, M. Design of plastic packages for minimally processed fruits. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 1, p. 217-224, 2007.

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

DEUTSCH, J.C. Oxygen-accepting antioxidants which arise during ascorbate oxidation. **Analytical Biochemistry**, v. 265, n. 2, p. 238-245, 1998.

DIAB, T; BILIADERIS, C.G.; GERASOPOULOS, D.; SFAKIOTAKIS, E. Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 988-1000, 2001.

DINCER, B.; COLAK, A.; AYDIN, N.; KADIOGLU, A.; GÜNER, Characterization of polyphenoloxidase from medlar fruits (*Mespilus germani* L., Rosacea). **Food Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 1-7, 2002.

DONHOWE, I.G.; FENNEMA, O.R. Edible films and coatings: characteristic, formation, definitions and testing methods. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-

CARRIEDO, M.O. **Edible coating and films to improve food quality**, Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc., p. 1-24, 1994.

DOWNES, F. P.; ITO, K. (ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 4 ed. Washington, DC: APHA-American Public Health Association, 2001. 676p.

DRUSCH, S.; RAGAB, W. Mycotoxins in fruits, fruit juices, and dried fruits. **Journal of Food Protection**, v. 66, n. 8, p. 1514-1527, 2003.

DU TOIT, R.; VOLSTEEDT, Y.; APOSTOLIDES, Z. Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents. **Toxicology**, v. 166, p. 63-69. 2001.

DU, J. M., GEMMA, H., e IWAHORI, S. Effects of chitosan coating on the storage of peach, Japanese pear, and kiwifruit. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Sciences**, v. 66, p. 15-22, 1997.

DUARTE, A.C.P. **Caracterização das enzimas peroxidase e tirosinase presentes na água de coco verde**. 2000. 136 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

DUARTE, A.C.P.; COELHO, M.A.Z.; LEITE, S.G.F. Identification of peroxidase and thyrosinase in green coconut water. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 3, n. 5, p. 266-270, 2002.

DURANGO, A.M.; SOARES, N.F.F.; ANDRADE, N.J. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. **Food Control**, v. 17, n. 5, p. 336-341, 2006.

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; ASSELIN, A. and BENHAMOU, N. Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: Induction of morphological and cytological alterations an *Rhizopus Stolonifer*. **Mycology Research**, v. 96, p. 769-779, 1992a.

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; GRENIER, J.; ASSELIN, A. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology**, v. 82, p. 398-402, 1992b.

EL GHAOUTH, A.; SMILANICK, J.L.; WILSON, C.L. Enhancement of the performance of *Candida saitoana* by the addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 19, p. 103 -110, 2000.

EL-GHAOUTH, A.; WILSON C.L.; WISNIEWSKI, M. Antifungal activity of 2-deoxy-d-glucose on *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, and *Rhizopus stolonifer*: ultrastructural and cytochemical aspects. **Phytopathology**, v. 87, n. 7, p. 772-779, 1997.

ESCRIBANO, J.; CABANES, J.; CHAZARRA, S.; GARCIA-CARMONA, F.; Characterization of monophenolase activity of table beet polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 4209-4214, 1997.

ESKIN, N.A.M.; MENDERSON, H.M.; TOWNSEND, R.J. **Biochemistry of foods**. London: Academic Press, 1971. 293p.

FAGUNDES NETO, U.; VIGLIAR, R.; SDEPANIAN, V. L. Biochemical profile of coconut water from coconut palms planted in an inland region. **Journal de Pediatria**, v. 82, n. 4, 2006.

FAIRLEY, P.; MONAHAN, F.J.; GERMAN, J.B; KROCHTA, J.M. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films from whey protein isolate and sodium dodecyl sulfate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 2, p. 438-443, 1996.

FAJARDO, J.E., MCCOLLUM, T.G., MCDONALD, R.E., MAYER, R.T. Differential induction of proteins in orange flavedo by biologically based elicitors and challenged by *Penicillium digitatum* Sacc. **Biology Control** v. 13, p. 143-151, 1998.

FAKHOURI, F.M. **Coberturas comestíveis aplicadas na preservação de goiabas in natura (*Psidium guajava* L.)**, 2002. p.126. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas.

FAKHOURI, F.M.; GROSSO, C. Efeito de coberturas comestíveis na vida útil de goiabas *in natura* (*psidium guajava* L.) mantidas sob refrigeração. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 203-211, 2003.

FAO - **IX International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins** - Abstract Book, Rome, may 1996.

FAO, 2000. **La FAO consigue la primera patente para hacer del agua de coco una bebida energética para los deportistas**. Comunicado de Imprensa 00/51. http://www.fao.org/WAICENT/OIS/PRESS_NE/PRESSPA/2000/prsp0051.htm. Acesso em: 8 de novembro 2006.

FERREIRA NETO, M. **Doses de N e K aplicadas via fertirrigação na cultura do coqueiro-anão (*Cocos nucifera* L.) anão**. 2005. 119 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

FERREIRA NETO, M.; GHEYI, H.R.; HOLANDA, J.S. de; MEDEIROS, J.F. de; FERNANDES, P.D. Qualidade do fruto verde de coqueiro em função da irrigação com água salina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, p. 69-75, 2002.

FERREIRA, A.H. **Efeito da adição de surfactantes e do ajuste de pH sobre filmes a base de gelatina, triacetina, ácidos graxos e ceras de carnaúba e de cana-de-açúcar**. 2006. 220p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas.

FERREIRA, F.D. **Sistema de análise estatística para dados balanceados**. Lavras: UFLA/DEX/SISVAR, 1998. 145p.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, p. 239-247, 2000.

FOLHA DE SÃO PAULO, Econegócios- As “ inovações verde” como oportunidade de negócios, 20 de julho de 2003.

FOLONI, J.S.; ROSOLEM, C.A.; GARCIA, R.A. Efeito da calagem e sulfato de amônio no algodão. II - Concentração de cátions e ânions da solução do solo e absorção de nutrientes pelas plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 3, p. 433-442, 2006.

FONSECA, S.C.; OLIVEIRA, F.A.R.; BRECHT, J.K. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 52, n. 2, p. 99-119, 2002.

FORSTER, M.P.; RODRIGUEZ, E.R.; MARTIN, J.D.; ROMERO; C.D. Statistical differentiation of bananas according to their mineral composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 6130 - 6135, 2002.

FOSTER, J.W.; HALL, H.K. Inducible pH homeostasis and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 16, p. 5129-5135, 1991.

FRANK, J. F. Microbial attachment to food and food contact surfaces. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 43, p. 320-380, 2001.

FRUTISÉRIES 3 **Coco verde- Minas Gerais**. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Brasília: março, 2000.

FRUTISÉRIES 3 **Coco verde- São Paulo**. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Brasília: julho, 1998.

FUJIMOTO, J.; REIS, E.A.O.; PETRI, D.F.S.; CAMPANA FILHO, S.P. Formação de multicamadas de polissacarídeos e proteína. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 757-761, 2002.

GALEAZZI, M.A.M. Comportamento das polifenoloxidasas em alimentos. **Archivos latinoamericanos de nutrición**, v. 34, n. 2, p. 269-289, 1984.

GARCÍA-ALONSO, M.; PASCUAL-TERESA, S., SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. **Food Chemistry**, v. 84, p. 13-18. 2004.

GEBHARDT, S.E.; THOMAS, R.G. **Nutritive value of foods**. U.S. Department of Agriculture Research Service, Home and Garden. 2002. (Bulletin 72).

GELITA DO BRASIL LTDA. **Gelatina**. Disponível em: <<http://www.dgfstoess.com/DGF-portuguese/index.html>>. Acesso em: 26 outubro 2006.

GENNADIOS, A.; McHUGH, T.H.; WELLER, C.L.; KROCHTA, J.M. Edible coating and films based on proteins. In: KROTCHA J.M., BALDWIN E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O. (Eds.) **Edible Coatings and to Improve Food Quality**, Technomic Publishing Company, cap. 9, p. 201-277, 1994.

GENNADIOS, A.; WELLER, C.L. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. **Food Technology**, v. 44, n. 10, p. 63-69, 1990.

GIVEN N.K.; VENIS M.A.; GRIERSON D. Phenylalanine ammonia-lyase activity and anthocyanin synthesis in ripening strawberry fruit. **Journal of Plant Physiology**, v. 133, n. 1, p. 25-30, 1988.

GÖKMEN, V.; KAHRAMAN, N.; DEMIR, N.; ACAR, J. Enzymatically validated liquid chromatographic method for the determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in fruit and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 881, n. 1-2, p. 309-316, 2000.

GOLDESTSTEIN, J.L.; SWAIN, T. Changes in tannins in ripening fruits. **Phytochemistry**, v. 2, n. 1, p. 371-383, 1963.

GOLDING, J.B.; McGLASSON, W.B.; WYLLIE, S.G.; LEACH, D.N. Fate of apple peel phenolics during cool storage. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 2283-3389, 2001.

GOLDSCHMIDT, E.E. Pigment changes associated with fruit maturation and their control. In: K.V. THIMANN, (Ed). **Senescence in Plants**, Boca Raton, USA: CRC Press Inc., 1980, p. 207-217.

GONTARD, N. E; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 3-15, 1996.

GOODSON, M.; ROWBURY, R.J. Habituation to normally lethal acidity by prior growth of *Escherichia coli* at a sublethal acid pH value. **Letters in Applied Microbiology**, v. 8, n. 2, p. 77-79, 1989.

GRAHAM R.D., WEBB M.J. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. In: MORTVEDT, J.J.; COX, F.R.; SHUMAN, L.M. e WELCH, R.M. (eds.). **Micronutrients in agriculture**. 2 ed. Madison: Soil Science Society of America, 1991, p. 329-370.

GREENHOFF, K; McFIE, H.J. H. Preference mapping in practice. In: McFIE, H.J.H e THOMSON, D.M.H. **Measurement of food preferences**. London: Blackie Academic and Professional, 1994. p. 137-165

GROSS, J.; **Pigments in vegetables**. New York: AVI, Van Nostrand Reinhold, 1991.

GUILBERT, S. Technology and application of edible protective films. In: MATHLOUTHI, M. (Ed). **Food packaging and preservation**, New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1986. p. 371-395.

GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. **Food additives and Contaminants**, v. 14, n. 6-7, p. 741-751, 1997.

HAARD, N.F.; TOBIN, L. Patterns of soluble peroxidase in ripening banana fruit. **Journal of**

Food Science, v. 36, p. 854-857, 1971.

HADDY, F.J.; PANNANI, M.B. Role of dietary salt in hypertension. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 14, p. 428-438, 1995.

HAGENMAIER, R.D. A comparison of ethane, ethylene and CO₂ peel permeance for fruit with different coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, n. 1, p. 56-64, 2005.

HAGENMAIER, R.D. The flavor of mandarin hybrids with different coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, p. 79-87, 2002.

HALLIWELL B.; CROSS C.E.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 119, n. 6, p. 598-620, 1992.

HALLIWELL, B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? **Journal of Neurochemistry**, v. 97 n. 6, p. 1634-1658, 2006.

HALLIWELL, B. The antioxidant paradox. **The Lancet**, v. 355, n. 9210, p. 1179-1180, 2000.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LÖLINGER, J.; ARUOMA, O.I. The characterization on antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HAN, J.H. Antimicrobial food packaging. **Food Technology**, v. 54, n. 1, p. 56-65, 2000.

HARRIS, L.J.; FARBER, J.N.; BEUCHAT, L.R.; PARISH, M.E.; SUSLOW, T.V.; GARRET, E.H.; BUSTA, F.F. Outbreaks associated with fresh produce: Incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. In: INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. **Analysis and Evaluation of Preventive Control Measures for the Control and Reduction/Elimination of Microbial Hazards on Fresh and Fresh-Cut Produce**. Chicago, 2003. v. 2. Disponível em: <<http://www.ift.org/cms/?pid=1000384>>. Acesso em: 26 março 2006.

HASAN, H.A.H. Patulin and aflatoxin in brown rot lesion of apple fruits and their regulation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 16, n. 6, p. 607-612, 2000.

HERNÁNDEZ, Y.; LOBO, M.G.; GONZÁLE, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. **Food Chemistry**, v. 96, n. 4, p. 654-664, 2006.

HERTOG, M.G.L.; HOLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B.; KROMHOUT, D. Intake of potentially anticarcinogenic flavonóides and their determinants in adults in the Netherlands. **Nutrition and Cancer**, v. 20, p. 21-29, 1993.

HOLCROFT, D.M.; GIL, M.I.; KADER, A.A.; Effect of carbon dioxide on anthocyanins, phenylalanine ammonia lyase and glucosyltransferase in the arils of stored pomegranates. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 123, p. 136-140, 1998.

HOLCROFT, D.M.; KADER, A.A. Contolled atmosphere-induced changes in pH and acids organics metabolism may affect color stored strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 17, p. 136-140, 1999.

HOPKINS, J. The Toxicological Harzads of Patulin – Information Section. **Food Chemical Toxicological**, v.31, n.6, p. 455-459, 1993.

HORWITZ, W. (ed.). **Official Methods of Association of Official Analytical Chemists**. Association of Official Analytical Chemists. 13th Ed, Washington DC.: p. 1044, 1989.

HRAZDINA, G.; BORZEL, A. J.; ROBINSON, W. B. Studies on the stability of the anthocyanidin-3, 5-diglucosides. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 21, p. 201-204, 1970.

HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. **Phytochemistry**, v. 26, p. 2489-2491, 1987.

ILAND, P. G. e COOMBE, B. G. Malate, tartrate, potassium, and sodium in flesh and skin of Shiraz grapes during ripening: Concentration and compartmentation. **American Journal of Enology and Viticulture**. v. 39, n. 1, p. 71-76, 1988.

INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. **Emerging microbiological food safety issues: Implications for control in the 21 century**. Chicago, 2000. Disponível em: < <http://www.ift.org/cms/?pid=1000377>>. Acesso em: 15 março 2006.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Dietary Reference Intakes for calcium, Phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride**. Washington, DC.: National Academy Press, 2000a.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids**. Washington, DC.: National Academy Press, 2000b.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc**. Washington, DC.: National Academy Press, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Dietary Reference Intakes: water, potassium, sodium, choride, and sulfate**. Washington, DC.: National Academy Press, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: v. 17, n. 10, p. 1-77, 2005.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in foods 5: characteristics of microbial pathogens**. Londres: Blackie Academic & Professional, 1996. 513 p.

ISO 1842: **Fruit and vegetable products: determnation of pH**. 2nd ed. Genève: International Organization for Standardization, 1991.

ISO 2173: **Fruit and vegetable products: determination of soluble solids content: refractometric method.** 1st ed. Genève: International Organization for Standardization, 1978.

ISO 750: **Fruit and vegetable products: determination of titratable acidity.** 2nd ed. Genève: International Organization for Standardization, 1998.

JACKSON, J.C.; GORDON, A.; WIZZARD, G.; MCCOOK, K.; ROLLE, R. Changes in chemical composition of coconut (*Cocos nucifera*) water during maturation of the fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** v. 84, n. 9, p. 1049-1052, 2003.

JAYALEKSHMY, A.; ARUMUGHAN, C.; NARAYANAN, C.S.; MATHEW, A.G. Changes in the chemical composition of coconut water during maturation. . **Journal of Food Science and Technology**, v. 23, n. 4, p. 203-207, 1986.

JAYARAMAN, K.S.; RAMANUJA, M.N.; DHAKNE Y.S.; VIJAYARAGHAVAN P.K. Enzymatic browning in some banana varieties as related to polyphenoloxidase activity and other endogenous factors. **Journal of Food Science and Technology**, v. 19, n. 5, p. 181-186, 1982.

JIANG, W.; ZHANG, M.; HE, J.; ZHOU, L. Regulation of 1-MCP-treated banana fruit quality by exogenous ethylene and temperature. **Food Science and Technology International**, London, v. 10, n. 1, p. 15-20, 2004.

JIANG, Y.; LI, J.; JIANG, W. Effects of chitosan coating on shelf life of cold-stored litchi fruit at ambient temperature. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 7, p. 757-761, 2005.

JIANG, Y.M. e LI, Y.B. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. **Food Chemistry**, v. 73, p. 139-143, 2001.

JOHNSTON-BANKS, F.A. Gelatin, In: **Food gels**, London: Peter Harris, Elsevier Applied Science, 1990. cap. 7, p. 233-289.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. Boca Raton: CRC, 1984. 315p.

KADER, A.A. (Ed.) **Postharvest technology of horticultural crops.** 3.ed. Davis: University of California, 2002. 535p.

KADER, A.A. Regulation on fruit physiology by controlled/modified atmospheres. **Acta Horticulturae**, n. 398, p. 81-91, 1995.

KADER, A.A.; SALTVEIT, M.E. Atmosphere modification. In: BARTZ, J.A.; BRECHT, J.K. (Eds.). **Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables.** Second edition. Revised and expanded. New York: Marcel Dekker, Inc., 2003a, p. 229-246.

KADER, A.A.; SALTVEIT, M.E. Respiration and gas exchange. In: BARTZ, J.A.; BRECHT, J.K. (Eds.). **Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables.** Second edition. Revised

and expanded New York: Marcel Dekker, Inc. 2003b, p. 7-29.

KÄHKÖNEN, M.P.; HOPIA A.I.; HEINONEN, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 4076-4082, 2001.

KALT, W.; McDONALD, J.F. Chemical composition of lowbush blueberry cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 121, p. 142-146, 1996.

KAMO, T.; HIRAI, N.; TSUDA, M.; FUJIOKA, D. e OHIGASHI, H. Changes in the content and biosynthesis of phytoalexins in banana fruit. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 64, n. 10, p. 2089-2098, 2000.

KASPERA, R.; McCUE, P.; SHETTY, K. Partial purification of a basic guaiacol peroxidase from fava bean (*Vicia faba* L.): characterization of enzyme stability following elicitor treatment. **Food Biotechnology**, v. 15, n. 2, p. 99-111, 2001.

KATAOKA, I.; KUBO, Y.; SUGIURA, A. e TOMANA, T. Changes in L-Phenylalanine. Ammonia-lyase activity and anthocyanin synthesis during berry ripening of three grape cultivars. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 52, n. 3, p. 273-279, 1983.

KAVRAYAN, D.; AYDEMIR, T. Partial purification of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). **Food Chemistry**, v. 74, p. 147-154, 2001.

KAYS, J.S. **Postharvest physiology of perishables plant productus**. New York: AVI, 1991. 532p.

KESTER, J.J.; FENNEMA, O.R. Edible films and coatings: a review. **Food Technol**, v. 40, n. 12, p. 47-59, 1986.

KITTUR, F.S.; SAROJA, N.; THARANATHAN, N.R. Polysaccharide-based composite coating formulations for shelf-life extension of fresh banana and mango. **Journal European Food Research and Technology**, v. 213, n. 4-5, 2001.

KLUGE, R.A.; NACHTIGAL, J.C.; FACHINELLO, J.C.; BILHALVA, A.B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. 2.ed. Pelotas: UFPEL, 2002. 216p.

KOIDE S.S. Chitin-chitosan: Properties, benefits and risks. **Nutrition Research**, v. 6, n. 18, p. 1091-1101, 1998.

KORNACKI, J.L.; JOHNSON J.L. *Enterobacteriaceae, coliforms, and Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4 ed. Washington, D.C.: 2001. p. 69-82.

KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A. e NISPEROS-CARRIEDO, M.O. (Eds.). **Edible coatings and films to improve food quality**. Basel: Technomic Publishing Company, Inc. 1994.

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

KROLL, R.G.; PATCHETT, R.A. Induced acid tolerance in *Listeria monocytogenes*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 14, n. 5, p. 224-227, 1992.

KWAK, S.; KIM, S.; PARK, I.; LIU, J. Enhancement of peroxidase activity by stress-related chemicals in sweet potato, **Phytochemistry**, v. 43, p. 565-568, 1996.

LAFUENTE, M.T.L.; ZACARIAS, L.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M.A.; SANCHEZ-BALLESTA, M.T. e GRANELL, A. Phenylalanine ammonia-lyase and ethylene in relation to chilling injury as affected by fruit age in citrus. **Postharvest Biology and Technology**, v. 29, p. 308-317, 2003.

LAFUENTE, M.T.L.; ZACARIAS, L.; MARTINEZ-TELLEZ, M.A.; ZANCHEZ-BALLESTA, M.T. e DUPILL, E. Phenylalanine Ammonia-lyase as related to ethylene in the development of chilling symptoms during cold storage of citrus fruits. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 49, p. 6020-6025, 2001.

LAGUNA, L.E. **Determinação físico-químicas da água-de-coco em duas variedades (*Cocos nicifera*, L) coco-da-praia e anão**. 1996. 50p. Dissertação (Mestrado Ciência dos Alimentos)- Universidade Estadual do Ceara. Fortaleza.

LAKS, P.E., Chemistry of bark, In: HON, D.N.S., SHIRAISHI, N. (Eds.). **Wood and Cellulosic Chemistry**. New York: Marcel Dekker Inc., 1991. Cap. 7. p. 257-330.

LAMIKANRA, O.; WATSON, M.A. Cantaloupe melon peroxidase: characterization and effects of additives on activity. **Nahrung - Food**, v. 44, n. 3, p. 168-172, 2000.

LANCASTER, J.F. Regulation of skin color in apples. **Critical Reviews Plant Sciences**, v. 10, p. 487-502, 1992.

LATTANZIO V.; CARDINALI A.; PALMIERI S. The role of phenolics in the postharvest physiology of fruits and vegetable: browning reactions and fungal diseases. **Italian Journal of Food Science**, v. 6, n. 1, p. 3-22, 1994.

LAZARETTI, K.E.S.; BEUX, M.R.; PIMENTEL, I.C.; TALAMINI, A.; GABARDO, J. Comparação entre os meios de cultura para contagem de fungos no controle microbiológico de erva-mate. **Boletim do CEPPA**, v. 18, n. 2, p. 163-170, 2000.

LAZARIDOU, A.; BILIADERIS, C.G. Thermophysical properties of chitosan, chitosan-starch and chitosan-pullulan films near the glass transition. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, n. 2, p. 179-190, 2002.

LEBER, A.S.; FARIA, J.A.F. Coco verde. Características técnicas e cuidados pós-colheita. **Revista Frutas & Legumes**, n. 18, p. 36-39, 2003.

LEBER, A.S.M.L. **Avaliação da estabilidade de água de coco (*Cocos nucifera*) em garrafas de polietileno tereftalato (PET) estocadas congelada e refrigerada.** 2001. 151p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas.

LEBER, A.S.M.L.; FARIA, J.A.F. Alterações microbiológicas em água de coco (*Cocos nucifera* L) acondicionada em garrafas plásticas. **Higiene Alimentar**, v. 18, n. 119, p. 55-58, 2004.

LEE, C.H.; PENNESI, A.P.; DICKSON, M.H. Characterization of the cauliflower peroxidase isoenzyme, **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 16-21, 1984.

LEE, J.Y.; PARK, H.J.; LEE, C.Y.; CHOI, W.Y. Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol**, v. 36, p. 323-329, 2003.

LEE, M.Y.; SOO, K.S. Inactivation and cleavage of radish peroxidase by various reducing agents. **Phytochemistry**, v. 49, n. 1, p. 23-27, 1998.

LEITE, C.C.; ASSIS, P.N. de; SILVA, M.D. da; SANT'ANNA, M.E.B.; SANTANA, L.R.R. de. Avaliação microbiológica da água de coco produzida e comercializada na cidade de Salvador-BA. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 70, p. 64-66, 2000.

LEJA, M.; MARECZEK, A.; BEN, J. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. **Food Chemistry**, v. 80, p. 303-307, 2003.

LEONG, L.P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, v. 76, n. 1, p. 69-75, 2002.

LI, H., e YU, T. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 269-274, 2000.

LI, P.; BARTH, M.M. Impact of edible on nutritional and physiological changes in lightly-processed carrots. **Postharvest Biology and Technology**, v. 14, p. 51-60, 1998.

LIFENG, Q.; ZIRONG, X.; JIANG, X.; CAIHONG, H.; XIANGFEI, Z. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticle. **Carbohydrate Research**, v. 339, n. 16, p. 2693-2700, 2004.

LIN, S-Y; CHEN, K-S; RUN-CHU, L. Organic esters of plasticizers affecting the water absorption, adhesive property, glass transition temperature and plasticizer permanence of Eudragit acrylic films. **Journal of Controlled Release**, v. 68, p. 343-350, 2000.

LINTHORST, H. J. M. Pathogenesis-related proteins of plants. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 10, p. 123-150, 1991.

LISADA, C. Mango. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. (Eds.). **Biochemistry of Fruit Ripening**. London: Chapman & Hall, 1993. cap. 8, p. 255-266.

LISTER C.E.; LANCASTER, J.E.; WALKER, J.R.L. Phenylalanine ammonia-lyase activity and its relationship to anthocyanin and flavonoid levels in New Zealand-grown Apple cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 121, p. 281-285, 1996.

LIU, H.; JIANG, W.; BI, Y.; LUO, Y. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, n. 3, p. 263-269, 2005.

LIU, N.; CHEN, X.G.; PARK, H.J.; LIU, C.G.; LIU, C.S.; MENG, X.H.; LE-JUN YU, L.J. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli*. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, n. 1, p. 60-65, 2006.

LOPEZ-SERRANO, M.; BARCELÓ, A.R. Purification and characterization of a basic peroxidase isoenzyme from strawberries. **Food Chemistry**, v. 55, n. 2, p. 133-137, 1996.

LUND, B.M. Ecosystems in vegetable foods. **Journal of Applied Bacteriology**, Symposium Supplement, v. 73, n. 21, p. 115S-126S, 1992.

MACHEIX, J.J.; SAPI, J.C.; FLEURIET, A. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 30, n. 1, p. 441-486, 1991.

MACIEL, M.I.; OLIVEIRA, S.L.; SILVA, I.P. Effects of different storage conditions on preservation of coconut (*Cocos nucifera*) water. **Journal of Food Processing Preservation**, v. 16, p. 13-22, 1992.

MACRAE, R. **Food science and technology**: a series of monographs: HPLC in food analysis. 2nd ed. New York: Academic Press, 1998. 77p.

MAFTOONAZAD, N.; RAMASWAMY, H.S. Postharvest shelf-life extension of avocados using methyl cellulose-based coating. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 6, p. 617-624, 2005.

MAIA, G.A. e CASTRO, F.A. Coco – Leite e Coco Ralado. **Série Informações Tecnológicas**. Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial – NUTEC – Fortaleza, Ceará, n. 13, 1985. 48p.

MALAVOLTA, E. Importância da adubação na qualidade dos produtos/função dos nutrientes na planta. In: SÁ, M. C. de.; BUZZETI, S. (Eds.). **Importância da adubação na qualidade dos produtos agrícolas**. São Paulo: Ícone, cap. 1, 1994.p. 19-44.

MAMEDE, M.E. de O. e PASTORE, G.M. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. **Boletim CEPPA**, v. 22, n. 2, p. 233-252, 2004.

MANZOCCO, L.; NICOLI, M.C.; ANESE, M.; PITOTTI, A.; MALTINI, E. Polyphenoloxidase and peroxidase activity in partially frozen systems with different physical properties. **Food Research International**, v. 31, n. 5, p. 363-370, 1999.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2 nd edition. San Diego: Academic Press, 1995. 674p.

MARTÍNEZ, G.A.; CIVELLO, P.M.; CHAVES, A.R.; AÑÓN, M.C. Characterization of peroxidase-mediated chlorophyll bleaching in strawberry fruit. **Phytochemistry**, v. 58, n. 3, p. 379-387, 2001.

MARTÍNEZ, M.V.; WHITAKER, J.R. The biochemistry and control of enzymatic browning, **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, p. 195-200, 1995.

MARTÍNEZ-ROMERO, D.; ALBURQUERQUE, N.; VALVERDE, J.M.; GUILLÉN, F.; CASTILLO, F.; VALERO, D.; D M. SERRANO, D.M. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: A new edible coating. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, n. 1, p. 93-100, 2006.

MATHEW, A.G., PARPIA, H.A.B. Food browning as a polyphenoloxidase reaction. **Advances in Food Research**, v. 19, n. 1, p.75-145, 1971.

MATSUMO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or black rot. **Plant and Cell Physiology**. v. 13, n. 6, p. 1091-1101. 1972.

MATUSCHEK E.; SVANBERG U. The effect of fruit extracts with polyphenol oxidase (PPO) activity on the *in vitro* accessibility of iron in high-tannin sorghum. **Food Chemistry**, v. 90, p. 765-771, 2005.

MATUSCHEK E.; TOWO E.; SVANBERG, U. Oxidation of polyphenols in phytate-reduced high-tannin cereals: Effect on different phenolic groups and on *in vitro* accessible iron. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5630-5638, 2001.

McFIE, H.J.H e THOMSON, D.M.H. Preference mapping multidimensional Scale. In: PIGGOT, J.R. (Eds.). **Sensory Analysis of Food**. 2 ed. New York: Elsevier, 1988. p. 381-409.

McHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Milk-protein-based edible films and coating. **Food Technology**, v. 48, n. 1, p. 97-103, 1994.

MDLULI, K.M. Partial purification and characterisation of polyphenol oxidase and peroxidase from marula fruit (*Sclerocarya birrea* subsp. Caffra). **Food Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 311-323, 2005.

MEDHY, M.C., SHARMA, Y.K., SATHASIVAN, K. e BAYS, N.W. The role of activated oxygen species in plant disease resistance. **Physiologia Plantarum**, v. 98, p. 365-374, 1996.

MEDINA, J.C.; GARCIA, J.L.M.; DE MARTIN, Z.J.; KATO, K.; TERVO, P.; TURRATI, J.M.; SANTOS L.C.dos; SILVA, M.T.C.; CANTO, W.L. do; BICUDO NETO, L.C.; MORETTI, V.A. **Coco – da cultura ao processamento e comercialização**. Série Frutas Tropicais 5. Campinas, ITAL. 1980, 285p.

MEILGAARD, M; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 3 ed. Florida: CRC Press, Inc. 1999. 281p.

MILOSEVIC, N.; SLUSARENKO, A.J. Active oxygen metabolism and lignification in the hypersensitive response in bean. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 49, n. 3, p. 143-158, 1996.

MINAMIKAWA, T.; URITANI, I. Phenylalanine deaminase and tyrosine deaminase in sliced or black rot-infected sweet potato roots. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 108, n. 3, p. 573-574, 1964.

MOHAMMADI M.; KAZEMI H. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. **Plant Science**, v. 162, n. 4, p. 491-498, 2002.

MOLNAR, P.; TOTH, M.; BOROSS, M, F. Sensory evaluation of select fruit juices and nectars by a panel group and by consumers. **Food Control**, v. 3, n. 4, p. 213-217, 1993.

MONRO, J.A., LEE, J. Changes in elements, pectic substances and organic acids during development of boysenberry fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 38, n. 3, p. 195- 207, 1987.

MONTGOMERY, M. W. e SAGARBIERI, V. C. Isoenzymes of banana polyphenoloxidase. **Phytochemistry**, v. 14, n. 5/6, p. 1245-1249, 1975.

MORRÉ, D.J. e BRACKER, C.E. Ultrastructural alteration of plant plasma membranes induced by auxin and calcium ions. **Plant Physiology**, v. 58, p. 544- 547, 1976.

MOZAFAR, A. **Plant vitamins: Agronomic, physiological and nutritional aspects**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1994.

MUÑOZ, A.M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation in quality control**. New York: Van NostrandReinhold, 1992. 240p.

MURPHY, S.P. Dietary reference intakes for the US and Canada: update on implications for nutrient databases. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 411-417, 2002.

NAGY, S.; WARDOWSKI, W.F. Effects of agricultural practices, handling, processing and storage on fruits. In: KARMAS, E.; HARRIS, R.S. (Eds.). **Nutritional evaluation of food processing**. New York: Van NostrandReinhold/AVI, 1988, p. 73-100.

NAKAGAWA, J.; ROSOLEM, C.A. Teores de nutrientes na folha e nos grãos de aveia-preta em função da adubação com fósforo e potássio. **Bragantia**, v. 64, n. 3, p. 441-445, 2005.

NATIONAL ADVISORY COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL CRITERIA FOR FOODS. Microbiological safety evaluation and recommendations on fresh produce. **Food Control**, v. 10, n. 2, p. 117-143, 1999.

NGUYEN, T.B.T.; KETSA, S.; van DOORN, W. G. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, n. 2, p. 187-193, 2003.

NISPEROS-CARRIEDO, M.O.; BALDWIN, E.A. e SHAW, P.E. Development of edible coating for extending post-harvest life of selected fruits and vegetables. **Proceedings of Florida State Horticultural Science**, v. 104, p. 122-125, 1992.

OLSEN, R.; SCHWARTZMILLER, D.; WEPPNER, W.; WINANDY, R. Biomedical application of chitin and derivatives. In: SKJAK-BREAK, G.; ANTHOSEN, T.; SANDFORD. (Eds.). **Chitin and Chitosan: sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications**. London: Elsevier Science Publishers Ltd. 1989, p. 813-828.

ONSA, G.H.; SAARI, N.; SELAMAT, J.; BAKAR, J. Purification and characterization of membrane-bound peroxidases from Sago Log (*Metroxylon sagu*). **Food Chemistry**, v. 85, n. 3, p. 365-376, 2004.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Elementos-traços na nutrição e saúde humana**. São Paulo: Roca, 1998. 297p.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD/ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. **Conocimientos actuales sobre nutricion**. 7 ed. Washington, DC.: ILSI Press 1997. 731p. (Publicación científica, 565).

OROZCO-CÁRDENAS, M.L.; NARVÁEZ-VÁSQUEZA, J. e RYAN, C.A. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. **Plant Cell**, v. 13, p. 179-191, 2001.

ÖZEN, A.; COLAK, A.; DINCER, B. e GÜNE, S. A diphenolase from persimmon fruits (*Diospyros kaki* L., Ebenaceae). **Food Chemistry**, v. 85, n. 3, p. 431-437, 2004.

PARISH, M.E. Public health and nonpasteurized fruit juices. **Critical review in microbiology**, v. 23, n. 2, p. 109-119, 1997.

PARISH, M.E.; BEUCHAT, L.R.; SUSLOW, T.V.; HARRIS, L.J.; GARRETT, E.H.; FARBER, J.N.; BUSTA, F.F. Methods to Reduce/Eliminate Pathogens from Fresh and Fresh-Cut Produce In: INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. **Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce**. Chicago: 2003. v.2. Disponível em: <<http://www.ift.org/cms/?pid=1000384>>. Acesso em: 16 março. 2006.

PARK, H.J. Development of advanced edible coatings for fruits. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, n. 8, p. 254-260, 1999.

PARK, Y. K.; SATO, H. H.; ALMEIDA, T. D.; MORETTI, R. H. Polyphenoloxidase of mango (*Mangifera indica* var. Haden). **Journal of Food Science**, v. 45, n. 6, p. 1619-1621, 1980.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, cap. 22, p. 417- 453.

PAUL, D.R.; CLARKE, R. Modeling of modified atmosphere packaging based on designs with a membrane and perforations. **Journal of Membrane Science**, v. 208, n. 1-2, p. 269-283, 2002.

PAUL, V.; SRIVASTAVA, G.C. Role of surface morphology in determining the ripening behaviour of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 110, n. 1, p. 84-92, 2006.

PAZ, H.M.; GUILLARD, V.; REYNESA, M.; GONTARD, N. Ethylene permeability of wheat gluten film as a function of temperature and relative humidity. **Journal of Membrane Science**, v. 256, n. 1-2, p. 108-115, 2005.

PECH, J.C.; BOUZAYEN, M.; LATCHE, A.; SANMARTIN, M.; AGGELIS, A.; KANELIS, A.K. Physiological, biochemical and molecular aspects of ethylene biosynthesis and action. In: BARTZ, J.A.; BRECHT, J.K. (Eds.). **Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables**. Second edition. Revised and expanded. New York, NY: Marcel Dekker, Inc. 2003a, 266p.

PEN, L.T.; JIANG, Y.M. Effects of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut chinese water chestnut. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol**, v. 36, p. 359-364, 2003.

PENNA, N.G.; DAUDT, C. E.; HENRIQUES, J. A. P. Comportamento de ésteres hidrocínâmicos durante a vinificação de vinhos brancos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 7, p. 983-989, 2001.

PERUZZO, E.L. **Efeitos do sombreamento e da área foliar na produção e qualidade do fruto de *Vitis labrusca* L. cv. Niagara Rosada**. 1990, 69p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidant. **Journal of natural products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PINTO, G.P. Unpublished data. Considerações sobre a água de coco anão da praia (*Cocos nucifera* L.). (1983).

PISCHETSRIEDER, M. Reaction of L-ascorbic acid with L-arginine derivatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 8, p. 2081-2085, 1996.

PITT, J. I. Toxigenic fungi and mycotoxins. **British Medical Bulletin**, v. 56, n. 1, p. 184-92, 2000.

PITT, J. L.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. London Publisher: Springer, 2 edition, 1997. 593 p.

PIZZI, A., Tannin Structure and the Formulation of Tannin-Based Wood Adhesives. In: HEMINGWAY, R.W. AND LAKS, P.E. (Eds.). **Plant Polyphenols**. New York: Plenum Press, 1992. p. 991-1003.

POOVAIAH, B.W. Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. **Food Technology**, v. 40, p 86-89, 1986.

POPPE, J. Gelatin, In: **Thickening and gelling agents for food**, New York: Ed. Alan Imeson, Blackie Academic & Professional, cap. 7, p. 144-168, 1997.

PRABHA, T. N.; PATWARDHAN, M. V. Endogenously oxidizable polyphenols of mango, sapota and banana. **Acta Alimentaria**, v. 15, n. 2, p. 123-128, 1986.

PRABHA, T. N.; PATWARDHAN, M. V. Polyphenols of avocado (*Persia Americana*) and their endogenous oxidation. **Journal of Food Science and Technology**, v, 17, n. 5, p. 215-217, 1980.

PRIEBBENOW, R. Propriedades funcionais da gelatina. In: **Seminário de Uso e Aplicações da Gelatina na Indústria Alimentícia**. Leiner Davis Gelatin, 1995.

PRIETA, J.; MORENO, M.A.; BLANCO, J.L.; et al. Determination of patulin by diphasic dialysis extraction and thin layer chromatography. **Journal of Food Protection**, v.55, n.2, p.1001-1002, 1992.

PROTEGGENTE A.R.; PANNALA A.S.; PAGANGA G.; VAN BUREN L.; WAGNER E.; WISEMAN S.; VAN DE PUT F.; DACOMBE C.; RICE-EVANS C.A.; 2002. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. **Free Radical Research**, v. 36, n. 2, p. 217-233, 2002.

QI DAÍ, Q.; BORENSTEIN, A.R.; WU, Y.; JACKSON, J.C.; LARSON, E.B. Fruit and vegetable juices and alzheimer's disease: The Kame Project. **The American Journal of Medicine**, v. 119, p. 751-759, 2006.

RABEA, E.I.; BADAWY, M.E.T.; STEVENS, C.V.; SMAGHE, G. e STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 6, p. 1457-1465, 1993.

RANADIVE, A.S. e HAAR, N.F. Changes in polyphenolics on reopening of selected pear varieties. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 22, p. 86-90, 1971.

RAO, M.V. DAVIS, K.R. The physiology of ozone induced cell death. **Planta**, v. 213, n. 5, p. 682-690, 2001.

RAVI KUMAR, M.N.V. A review of chitin and chitosan applications, **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27, 2000.

REDDY, B.M.V.; BELKACEMI, K.; CORCUFF, R.; CASTAIGNE, F.; ARUL, J. Effect of pre-harvest chitosan sprays on post-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p. 39-51, 2000.

REDDY, B.M.V.; CORCUFF, R.; KASAAI, M.R.; CASTAIGNE, F.; ARUL, J. Induction of resistance against gray mold rot in carrot roots by chitosan. **Phytopathology**, v. 98, S6, p. 1999.

RÊGO FILHO, L.M.; BARROS, J.C.S.M.; CELESTINO, R.C.A.; SOUZA FILHO, B.F.; SILVA, J.A.; FERNANDES, S.G.; SARMENTO, W.R.M.; COSTA, R.A.; OLIVEIRA, L.A.A.; CARVALHO, S.M.P.; CUNHA, H. **A cultura do coco verde- perspectivas, tecnologias, viabilidade**. Niteroi: Pesagro, 1999. (documento, 47).

REIMERS, P.J.; GUO, A.; e LEACH, J.E. Race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* conferred by bacterial blight resistance gene Xa-10 in rice (*Oryza sativa*) involves accumulation of a lignin-like substance in host tissues. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 38, p. 39-55, 1999.

REIS, R.C.; MINIM, V.P.R. Testes de aceitação In: MINIM, V.P.R. (Ed.). **Análise Sensorial. Estudo com consumidores**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. cap. 3, p. 67-83.

RESENDE, J.M.; ASSIS, J.S. de; REIS, C.S.; ARAGÃO, W.M. Colheita e manuseio pós-colheita. In: ARAGÃO, W.M. (Ed.). **Coco pós-colheita**. Brasília: Embrapa Tabuleiros Costeiros (Aracaju, SE)/Embrapa Informação Tecnológica, p. 35-41 2002. (Frutas do Brasil; 29).

RESENDE, J.M.; BOTREL, N.; CABRAL, M.C.; GODOY, R.L.O.; SOARES, A.G.; SAGGIN-JR, O.J.; FREITAS, O.; QUEIROZ, M.R. de. Conservação do coco 'Anão Verde' pela aplicação de biofilmes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA DE FRUTOS TROPICAIS, 1, João Pessoa, 2005. **Anais do...** João Pessoa-PB, Embrapa Agroindústria Tropical, 2005 CD-ROM (resumo expandido).

RESENDE, J.M.; BOTREL, N.; SAGGIN-JR, O.J.; BARBOZA, H.T.G.; GODOY, R.L.O. Aplicação de biofilmes na conservação de mamão 'sunrise golden' minimamente processado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18, Florianópolis, 2004. **Anais do...** Florianópolis-SC 2004a CD-ROM (resumo expandido).

RESENDE, J.M.; CASTRO, E.C. de; COELHO, A.F.S.; SAGGIN-Jr, O.J.; BENEDETTI, B.C. Alterações sensoriais em abacaxi minimamente processado e armazenado sob refrigeração. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE INTERAMERICANA DE HORTICULTURA TROPICAL (ISTH), 49, Fortaleza, 2003. **Anais da...** Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2003, Documento 67, p. 162 CD-ROM.

RESENDE, J.M.; COELHO, A.F.S.; CASTRO, E.C. de; SAGGIN-Jr, O.J.; NASCIMENTO, T. do; BENEDETTI, B.C. Avaliação sensorial de cenoura minimamente processada em diferentes cortes. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.1, p. 147-150, 2004b.

RESENDE, J.M.; VILAS BOAS, E.V.B.; CHITARRA, M.I.F. Uso de atmosfera modificada na conservação pós-colheita do maracujá amarelo. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n.1, p. 159-168, 2001.

REYES, L.F., VILLARREAL, J.E. e CISNEROS-ZEVALLOS, L. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 1254-1262, 2007.

RHODES, M. J.C. Enzyme activities and post harvest change. In: LIEBERMAN, M. (ed.). **Postharvest Physiology and Crop Preservation**, New York: Plenum Press, 1983. p. 111-121. 1971.

RHODES, M.J.C.; WOOLTORTON, L.S.C. Changes in the activity of enzymes of phenylpropanoid metabolism in tomatoes stored at low temperatures. **Phytochemistry**, v. 16, n. 6, p. 655-659, 1971.

RICE-EVANS, C.; NICOLAS, J.; MILLER, J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 20, p. 933-956, 1996.

RIGNEY, C.J., WILLS, R.B.H. Calcium movement, a regulating factor in the initiation of tomato fruit ripening. **HortScience**, v. 16, p. 550-551, 1981.

ROMANAZZI, G.; IPPOLITO, A.; NIGRO, F. Activity of glycol chitosan on postharvest strawberry rot. Proc.: VII SIPaV meeting. **Journal Plant Pathology**, v. 81, p. 237, 1999.

ROMANAZZI, G.; NIGRO, F.; IPPOLITO, A. Chitosan in the control of postharvest decay of some Mediterranean fruits. In: MUZZARELLI, R.A.A. (Ed.), **Chitin Enzymology**, Italy: Atec 2001, p. 141-146.

ROMANAZZI, G.; NIGRO, F.; IPPOLITO, A. Short hypobaric treatments potentiate the effect of chitosan in reducing storage decay of sweet cherries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 29, p. 73-80, 2003.

RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. Function of micronutrients in plants. In: MORTVEDT, J. J.; COX, F.R.; SHUMAN, L.M. e WELCH, R.M. (Eds.). **Micronutrients in agriculture**. 2 ed. Madison: Soil Science Society of America, 1991, p. 297-328.

ROSA, F.M.; ABREU, P.A.F. **Água de coco: Métodos de conservação**. Fortaleza: Embrapa-CNPAT/ SEBRAE/CE, 2000. 40 p. (Documento, 37).

ROSA, J. **Desenvolvimento de um método rápido Para análise de vitamina C por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando coluna de troca iônica**. 2005. 84p.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

ROSS, G.U.; HIROOKA, E.Y. Patulin: Factors affecting production and risk of contamination through consume of apple (*Malus domestica* B.) cultivar Gala and Fuji. **IUPAC**, p.296, Rome, 1996.

ROSS, G.U.; TANIWAKI, M.H.; SABINO, M.; VIZONI, T.; HIROOKA, E.Y. Production of patulin in apples (*Malus domestica* Borkhausen) Gala and Fuji cultivars inoculated with *Penicillium* spp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n. 1, p. 63-67, 1998.

RYALS, J.; UKNES, S. e WARD, E. Systemic acquired resistance. **Plant Physiology**, v. 104, p. 1109-1112, 1994.

RYCHLIK, M.; SCHIEBERLE, P. Model studies on the diffusion behavior of the mycotoxin patulin in apples, tomatoes, and wheat bread. **European Food Research and Technology**, v. 212, n. 3, p. 274-278, 2001.

SAKANAKA, L.S. **Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada**. 2002. 175p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas.

SALOMÃO, L.C.C.; PUSCHMANN, R.; SIQUEIRA, D.L. DE; NOLASCO, C.A. Acúmulo e distribuição de nutrientes em banana 'Mysore' em desenvolvimento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 2, p. 290-294, 2004.

SAMS, C.E. Preharvest factors affecting postharvest texture. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, p. 249-254, 1999.

SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S. e FRISVAD, J. C. **Introduction to Food- and airborne Fungi**. 7th edition Baarn: CBS, 2004. 389 p. <<http://www.cbs.knaw.nl/>>. Acesso em: 10 dez. 2006.

SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C. e FILTENBORG. I Identification of the common food-borne fungi. In: SAMSON, R.A. (Ed.). **Introduction to food-borne fungi**. Wageningen: CBS- Centraal Bureau Voor Schimmcultures, 1995. 4. ed. cap. 1, p. 3-232.

SANTOS, G.; BATUGAL, P.A.; OTHAM, A.; BAUDOWIN, L.; LABOUISSÉ, J.P. **Manual on standardized research techniques in coconut breeding**. Roma: IPGRI, 1996. 45p.

SANTOSO, U.; KUBO, K.; OTA, T., TADOKORO, T.; MAEKAVA, A. Nutrient composition of kopyor coconuts (*Cocos nucifera* L.) **Food Chemistry**, v. 57, n. 2, p. 299-304, 1996.

SAVAGE, P.J. e SAVAGE, G.P. The effect of coating apples on the quality of stored apples. **Proceedings of the Nutrition Society of New Zealand**, v. 19, p. 129-133, 1994.

SCHLICH, P. Preference mapping: relating consumers preferences to sensory or instrumental

measurements. In: ETIEVANT, P.; SCHREIER, P. (Eds.). **Bioflavour 95: analysis/precursor studies/biotechnology**. Versailles- France: INRA Editions, 1995. p. 135-150.

SCHLICH, P., McEWAN, J. A., Preference mapping . A Statistical Tool for the Food Industry, **Science des Aliments**, n. 12, p. 339-355, 1992.

SCHUENZEL, K.M.; HARRISON, M.A. Microbial antagonists of foodborne pathogens on fresh, minimally processed vegetables. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 12, p. 1909-1915, 2002.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, n. 8, p. 2432-2438, 2002.

SELVARAJ, Y.; PAL, D.K.; SUBRAMANYAM, M.D. e IYER, C.P. Changes in the chemical composition of four cultivars of papaya (*Carica papaya* L.) during growth and development. **Journal Horticultural Science**. v. 57, p. 135-143, 1982.

SEO, H.; MITSUHASHI, K.; TANIBE, H.E. Antibacterial and antifungal fiber blended chitosan. In: BRINE, C.; SANDFORD, P.A.; ZIKAKIS, J. P. (Eds.). **Advances in Chitin and Chitosan**, London: Elsevier Applied Science Publishers Ltd. 1992. p. 34-40.

SERRADELL, M. A.; ROZENFELD, P. A.; MARTINÉZ, G. A.; CIVELLO, P. M.; CHAVES, A. R.; AÑON, M. C. Polyphenoloxidase activity from strawberry fruit (*Fragaria ananassa*, Duch., cv Selva): characterization and partial purification. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1421-1427, 2000.

SEYMOUR, I.J.; APPLETON, H. Foodborne viruses and fresh produce. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 5, p. 759-773, 2001.

SGARBIERI, V. **Proteínas em Alimentos Protéicos: Propriedades, degradação e modificação**. São Paulo: Ed. Varela, p. 84, 1996.

SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J.K.V. e JEON, Y.J. Food applications of chitin and chitosans. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 37-51, 1999.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Phenolic in food and nutraceuticals. Book Reviews in **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, p. 171-176, 2005.

SHIH, F.F. Edible films from rice protein concentrate and pullulan. **Cereal Chemistry**, v. 73, n. 3, p. 406-409, 1996.

SHIVASHANKAR, S. Biochemical changes during fruit maturation in coconut. **Journal of plantation Crops**, v. 19, n. 2, p. 102-119, 1991.

SILVA, H.S.R.C; SANTOS, K.S.C.R.; FERREIRA, E.I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.

SILVA, J.J.R.F.; WILLIAMS, R.J.P. **The biological chemistry of the elements: The inorganic chemistry of life**. New York: Oxford University Press, 1993. 561p.

SILVA, R.A. da; CAVALCANTE, L.F.; HOLANDA, J.S. de; PEREIRA, W.E.; MOURA, M.F. de; FERREIRA NETO, M. Qualidade de frutos do coqueiro-anão verde fertirrigado com nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 310-313, 2006.

SINGLA, A. K.; CHAWLA, M. Chitosan: Some pharmaceutical and biological aspects-an update, **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, p. 1047-1067, 2001.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA-SPI; Rio de Janeiro: Embrapa-CTAA. 1995. 159p.

SLUIS, A.A.; DEKKER, M.; JAGER, A.; JONGEN, W.M.F. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 3606-3613, 2001.

SOARES, A.G.; TRUGO, L.C.; BOTREL, N.; SOUZA, L.F. da S. Reduction of internal browning of pineapple fruit (*Ananas comusus* L.) by preharvest soil application of potassium. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, n. 2, p. 201-207, 2005.

SOARES, L.M.V.; SHISHIDO, K.; MORAES, A.M.M. Composição mineral de sucos concentrados de frutas brasileiras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 202-206, 2004.

SOBRAL, P.J.A. Propriedades funcionais de gelatina em função da espessura. **Jornal de Ciência e Engenharia**, v. 8; n. 1; p. 60-67, 1999.

SOBRAL, P.J.A; MENEGALLI, F.C.; HUBINGER, M.D e ROQUES, M. A Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 423-432, 2001.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J.M. Plasticizer effect on oxygen permeability of β -lactoglobulina films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 6298-6302, 2000.

SOUSA, C.R.de. **Avaliação de processo de produção de água de coco (*Cocos nucifera*) por ultrafiltração e envase asséptico em garrafas de vidro**. 2006. 138p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SOUZA, C.A.S.; CORREA, F.L. de O.; CUNHA, R.L. da; LIMA, S.F. de; CARVALHO, J.G. de. O nutriente cloro em três palmeiras cultivadas. **Agrotrópica**, Ilhéus, v. 9, n. 3, p. 83-98, 1997.

SPURR, H.W.J. The microbial ecology of fruit and vegetable surface: Its relationship to postharvest biocontrol. In: WILSON, C.L.; WISNIEWSKI, M.E. (Eds.). **Biological Control of Postharvest Diseases: theory and practice**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 11-23.

SREBERNICH, M. S. **Caracterização física e química da água de fruto de coco (*Cocos nucifera*), variedade gigante e híbrido PB-121, visando o desenvolvimento de uma bebida com características próximas às da água de Coco.** 1998. 189p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas.

STEIMAN, R.; EIGLE, M.L.S.; KRIVOBOK, S. Production of patulin by mycomicetes. **Mycophatology**, v.28, n.4, p.589-593, 1974.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices.** 2. ed. Florida: Academic Press, Inc. 1993b. 338 p.

STONE, H.; SIDEL, J.L. The role of sensory evaluation in the industry. **Food Quality and Preference**, v. 4, p. 65-73, 1993a.

SU, X. G.; ZHENG, Y. H.; ZHANG, L.; WANG, F. & ZHANG, Y. M. Effects of chitosan coating on postharvest quality and decay of vegetable soybean pods. **Acta Phytophysiologica Sinica**, v. 27, p. 467-472, 2001.

SUSLOW, T.V.; ORIA, M.P.; BEUCHAT, L.R.; GARRETT, E.H.; PARISH, M.E.; HARRIS, L.J.; FARBER, J.N.; BUSTA, F.F. Production practices as risk factors in microbial food safety of fresh and fresh-cut produce. In: INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. **Analysis and Evaluation of Preventive Control Measures for the Control and Reduction/Elimination of Microbial Hazards on Fresh and Fresh-Cut Produce.** Chicago, 2003. v. 2. Disponível em: <<http://www.ift.org/cms/?pid=1000384>>. Acesso em: 16 junho 2006.

TAKAHASHI, H.W.; DECHEN, A.R.; CARMELLO, Q.A.; HAAG, H.P. Nutrição mineral de hortaliças. Doses de cálcio afetando o crescimento e concentração de macro e micronutrientes de salsaõ (*Apium graveolens* L. var. Dulce) nas cultivares ‘Golden Detroit’ e ‘Cornell 6-19’. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba**, v. XLIV, p. 1473-1501, 1987.

TALENS, P.; KROCHTA, J. M. Plasticizing effects of beeswax and carnauba wax on tensile and water vapor permeability properties of whey protein films. **Food Engineering and Physical Properties**, v. 70, n. 3, p. 239-243, 2005.

TANNENBAUM, S.R.; YOUNG, V.R.; ARCHER, M.C. Vitaminas y minerales. In: FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos.** 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993. p. 537-613.

TAVARES, M.; CAMPOS, N.C.; NAGATO, L.A.F.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.L.; CARVALHO, M.F.H.; ARAGÃO, W.M. Estudo da composição química da água de coco anão verde em diferentes estágios de maturação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16, Rio de Janeiro, 1998. **Anais do...** Rio de Janeiro, SBCTA, 1998. v. 2, p. 1262-1265 CD-ROM.

TEIXEIRA, L.A.J.; BATAGLIA, O. C.; BUZETTI, S.; FURLANI JÚNIOR, E. Adubação com NPK em coqueiro-anão verde (*cocos nucifera* L.) – atributos químicos do solo e nutrição da planta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, p. 115-119, 2005.

THARANATHAN, R.N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, p. 71-78, 2003.

TIAN, S.; LI, B.; XU, Y. Effects of O₂ and CO₂ concentrations on physiology and quality of litchi fruit in storage. **Food Chemistry**, v. 91, n. 4, p. 659-663, 2005.

TOCCHINI, R. **Água de coco**. Apostila de curso de Tecnologia de Bebidas. Frutotec. ITAL. Campinas, set. 1998.

TOGRUL, H.; ARSLAN, N. Extending shelf-life of peach and pear by using CMC from sugar beet pulp cellulose as a hydrophilic polymer in emulsions **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 215-226, 2004.

TOLONEM, M. **Vitamins and minerals in health and nutrition**. London: Ellis Horwood, 1990. 231p.

TOMAS-BARBERAN, F.A.; CANTOS, E.; FERRERES, F. UV-irradiation as a method to increase phenolics content and improve quality and health-promoting properties of harvest fruits. In: MARTENS, S., TREUTTER, D., FORKMANN, G. (Eds.). **Polyphenols Communications**, Germany: Freising-Weißenstephan. v. 11-15, september, 2000, p 487-488.

TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GIL, M.I.; CASTAÑER, M.; ARTÉS, F. e SALTVEIT, M.E. Effect of Selected Browning Inhibitors on Phenolic Metabolism in Stem Tissue of Harvested Lettuce. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, n. 3, p. 583 -589, 1997.

TORRES, R.; VALENTINES, M.C.; USAL, J.; VIÑAS, I.; LARRIGAUDIÈRE, C. Possible involvement of hydrogen peroxide in the development of resistance mechanisms in 'Golden Delicious' apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, n. 3, p. 235-242, 2003.

TULECKE, W.; WEINSTEIN, L.A.; RUTNER, A. e LAURENCOT, H.J. The biochemical composition of coconut water (coconut mil) as related to its use in plants tissue culture. **Boyce Thompson Institute for Plant Research Incorporation**, v. 21, p. 115-127, 1961.

US Department of Agriculture and US Department of Health and Human Services (USDA/HHS). **2005 Dietary Guidelines Advisory Committee Report**. 2004. Disponível em: <www.health.gov/dietaryguidelines/dga2005/report>. Acesso em: 28 novembro 2006.

VALDERRAMA, P.; CLEMENTE, E. Isolation and thermostability of peroxidase isoenzymes from apple cultivars Gala and Fuji. **Food Chemistry**, v. 87, n. 4, p. 601-606, 2004.

VALENTINES, M.C.; VILAPLANA, R.; TORRES, R.; USALL, J. e LARRIGAUDIÈRE, C. Specific roles of enzymatic browning and lignification in apple disease resistance. **Postharvest Biology and Technology**, v. 36, n. 3, p.227-234, 2005.

VÁMOS-VIGYÁZÓ, L. e NADUDVARI-MARKUS, V. Enzymatic browning, polyphenol content, polyphenol oxidase and peroxidase activities in pear cultivars. **Acta Alimentaria**, v. 11, n. 2, p. 157-168, 1982.

VÁMOS-VIGYÁZÓ, L. Polyphenoloxidase and peroxidase in fruits and vegetable. **C.R.C. Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 49-127, 1981.

VÁMOS-VIGYÁZÓ, L.; MIHALYI, K.; GAJZAGO, I. e NADUDVARI-MARKUS, V. The role of enzyme-substrate ratio in the enzymatic browning of fruit tissue homogenates. **Acta Alimentaria**, v. 61, n. 4, p. 379-388, 1977.

VAN BUREN J., Fruit phenolics. In: HULME, A.C. (Ed). **The Biochemistry of Fruits and their Products**. New York: Academic Press, 1970, p. 295-291.

VANCE, C.P.; KIRK, T.K.; SHERWOOD, R.T. Lignification as a mechanism of disease resistance. **Annual Review of Phytopatholog**, v. 18, p. 259-288, 1980.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed., Washington: American Public Health Association, 1992, 1219p.

VANETTI, M.C.D. Segurança microbiológica em produtos minimamente processados. In: Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, 3, 2004, Viçosa. **Resumos do...** Viçosa, 2004. p. 30-32.

VELTMAN R.H.; KHO R.M.; van SCHAIK A.C.R.; SANDERS M.G.; OOSTERHAVEN J. Ascorbic acid and tissue browning in pears (*Pyrus communis* L. cvs Rocha and Conference) under controlled atmosphere conditions. **Postharvest Biology and Technology**, v. 19, n. 2, p. 129-137, 2000.

VELTMAN, R.H.; SANDERS, M.G.; PERSIJN, S.T.; PEMPELENBOS, H.W.; OOSTERHAVEN, J. Decreased ascorbic acid levels and brown core development in pears (*Pyrus communis* L. cv. Conference). **Physiologia Plantarum**, v. 107, n. 1, p. 39-45, 1999.

VIANA, F.M.P.; FREIRE, F.C.O.; BARGUIL, B.M.; ALVES, R.E.; SANTOS, A.A.; CARDOSO, J.E. e VIDAL, J.C. Podridão basal pós-colheita do coco verde no estado do Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 5, p. 545, 2002.

VISIOLI, F.; KEANEY J.F.; HALLIWELL, B.; Antioxidants and cardiovascular disease, panaceas or tonics for tired sheep? **Cardiovascular research**, v. 47, n. 3, p. 409, 2000

WAKELING, I. N.; MACFIE, J. H. Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carry-over effect when only a subset of k samples from t may be tested. **Food Quality and Preference**, v. 6, p. 299-308, 1995.

WALL, M.M. Ascorbic acid and mineral composition of longan (*Dimocarpus longan*), lychee (*Litchi chinensis*) and rambutan (*Nephelium lappaceum*) cultivars grown in Hawaii. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 19, n. 6-7, p. 655-663, 2006b.

WALL, M.M. Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* sp.), and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 19, n. 6-7, p. 434-445, 2006a.

WALTER- JR., W. M. E PURCELL, A.E. Effect of substrate levels and polyphenol oxidase activity on darkening in sweet potato cultivars. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, n. 5, p. 941-944, 1980.

WANG H.; ARAKAWA O.; MOTOMURA Y. Influence of maturity and bagging on the relationship between anthocyanin accumulation and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity in 'Jonathan' apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 19, n. 2, p. 123-128, 2000.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R.L. Total Antioxidant Capacity of Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 3, p. 701-705, 1996.

WATKINS, C. Responses of horticultural commodities to high carbon dioxide as related to modified atmosphere packaging. **Horticultural Technology**, v. 10, p. 501-506, 2000.

WELLS, J.M.; BUTTERFIELD, J.E. *Salmonella* contamination associated with bacterial soft rot of fresh fruits and vegetables in the marketplace. **Plant Disease**, v. 81, n. 8, p. 867-872, 1997.

WILSON, C.L.; EL GHAOUTH, A.; CHALUTZ, E.; DROBY, S.; STEVENS,C.; LU, Y.; KHAN, V.; ARUL, J. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plant Disease**, v. 78, p. 837- 844, 1994.

WILSON, C.L.; SOLAR, J.M.; EL GHAOUTH, A.; WISNIEWSKI, M.E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea* . **Plant Disease**, v. 81, p.204 - 210, 1997.

WILSON, T.M.V. Strategies to protect crop plants against viruses: pathogen-derived resistance blossoms. **Proceedings of National Academy of Science**, v. 90, p. 3134-3141, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Reduced osmolarity salts (ORS) formulation**. New York: UNICEF; 2001. (WHO/FCH/CAH/0.1.22).

WOSIACKI, G.; DEMIATE, J. M.; MELLO, F. Nata de coco – O Estado da arte. **Boletim da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 142-155, 1996.

XU, S.; CHEN, X. e SUN, D-W. Preservation of kiwifruit coated with an edible film at ambient temperature. **Journal of Food Engineering**, v. 50, p. 211-216, 2001.

YAHIA, E.M.; CONTRERAS-PADILLA, M.; GONZALEZ-AGUILAR, G. Ascorbic acid content in relation to ascorbic acid oxidase activity and polyamine content in tomato and bell pepper fruits during development, maturation and senescence. **Lebensmittel-Wissenschaft und -Technology**, v. 34, n. 7, p. 452-457, 2001.

YAMAN, Ö.; BAYOINDIRLI, L. Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. **Lebensm.-Wiss. u-Technology**, v.35, p.146-150 2002.

YANG, C.P.; FUJITA, S.; KOHNO, K.; KUSUBAYASHI, A.; ASHRAFUZZAMAN, M.D.; HAYASHI, N. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa sapientum* L.) peel. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1446-1449, 2001.

YUAN, J.; CHEN, F. Simultaneous separation and determination of sugar, ascorbic acid and furanic compounds by HPLC-dual detection. **Food Chemistry**, v. 64, p. 423-427, 1999.

ZAMBOLIM L., VENTURA J.A. Resistência a doenças induzida pela nutrição mineral das plantas In: LUZ, W.C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: RAPP, p. 275-318. 1993.

ZHANG, D. L.; QUANTICK, P. C. Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 73, p. 763-767, 1998.

ZHANG, D. L.; QUANTICK, P. C. e GRIGOR, J. M. Changes in phenolic compounds in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 19, n. 2, p. 165-172, 2000.

ZHANG, D. L.; QUANTICK, P. C. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 12, p. 195-202, 1997

ZHANG, Z.; PANG, X.; XUEWU, D.; JI, Z.; e JIANG, Y. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. **Food Chemistry**, v. 90, n. 1-2, p. 47-52, 2005.

ZHENG, L.Y; ZHU, J.F. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 527-530, 2003.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 5165-5170, 2001.

ZHUANG, R.; BEUCHAT, L.R.; CHINNAN, M.S.; SHEWFELT, R.L.; HUANG, Y.W. Inactivation of *Salmonella* montevideo on tomatoes by applying cellulose-based edible films. **Journal of Food Protection**, v. 59, n. 8, p. 808-812, 1996.

ZIMMERLI, B.; DICK, R. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. **Food Additives and Contaminants**, v. 16, n. 6, p. 655-668, 1996.

ZUCKER, M. Introduction of phenylalanine diaminase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. **Plant Physiology**, v. 40, p. 779-784, 1965.