

PATRICIA MARTINS DE OLIVEIRA

IMPREGNAÇÃO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS EM MELÃO
MINIMAMENTE PROCESSADO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

O48i
2014
Oliveira, Patrícia Martins de, 1990-
Impregnação de bactérias probióticas em melão
minimamente processado / Patrícia Martins de Oliveira. -
Viçosa, MG, 2014.
xii,63f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador : Afonso Mota Ramos.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.
Referências bibliográficas: f.52-63.

1. Melão. 2. *Lactobacillus acidophilus*. 3. *Lactobacillus
plantarum* . I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de
Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
II. Título.

CDD 22. ed. 635.61

PATRICIA MARTINS DE OLIVEIRA

IMPREGNAÇÃO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS EM MELÃO
MINIMAMENTE PROCESSADO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de Magister Scientiae.

APROVADA: 29 DE JULHO DE 2014.

Eliane Maurício Furtado Martins
(Coorientadora)

Érica Nascif Rufino Vieira
(Coorientadora)

Manoela Maciel dos Santos Dias

Afonso Mota Ramos
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado o dom da vida e me proporcionado sabedoria e paciência para chegar até aqui. Agradeço também por estar ao meu lado em todos os momentos.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade da realização do Curso de Mestrado.

Ao meu orientador, professor Afonso Mota Ramos, por ter me apoiado na escolha do tema e pelas palavras de incentivo ao longo do curso. Agradeço também pelos conselhos, ensinamentos, apoio, amizade e compreensão em momentos difíceis.

Às minhas coorientadoras Érica e Eliane obrigada pelas sugestões e análises significativas, além do carinho e amizade que sempre tiveram comigo.

A Manu, que mesmo estando em um momento mágico em sua vida, aceitou participar da minha banca.

Ao professor Cecon, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos meus pais, José Geraldo e Aparecida, obrigada por tudo que vocês me deram e me ensinaram. Obrigada pela generosidade e simplicidade. Pelo amor incondicional, pelo carinho e afeto. A vocês, pais queridos, que, muitas vezes, renunciaram aos seus sonhos para que eu pudesse realizar o meu, partilho a alegria deste momento.

Aos meus avós, Zé Dias e Peinha, e minha irmã Elaine, agradeço pelo apoio e palavras de carinho.

Ao meu amado namorado, Bruno, por ser tão importante na minha vida. Sempre ao meu lado, me pondo para cima e me fazendo acreditar que posso mais que imagino. Graças ao seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pôde ser concretizado. Obrigada por ter feito do meu sonho o nosso sonho. Sem você teria sido impossível chegar até aqui!

Aos amigos, Marcel, Teresa e Ariana, obrigada pelo apoio e auxílio na execução dos experimentos fazendo nossos dias mais felizes. Obrigada também Moniquita, por sempre me lembrar que "no final tudo dá certo!".

Aos amigos de laboratório, Marcela, Aline, Marcos, Marcel, Ariana, Mônica, Dani, Bianca, Carol, Camila e Érick, meu agradecimento pela amizade, apoio e agradável convivência.

Aos demais amigos que fiz ao longo do curso, em especial a Livia e o Victor, sempre presentes, seja na alegria ou na tristeza.

Ao Maurílio, pelos ensinamentos e amizade. Exemplo de esforço e dedicação.

Em especial, à coleguinha Eliane, que desde o curso de graduação, acreditou em meu potencial de uma forma que eu não acreditava ser capaz de corresponder. Sempre disponível e disposta a ajudar, querendo que eu aproveitasse cada segundo dentro do mestrado para absorver algum tipo de conhecimento. Você não foi somente orientadora e coorientadora, mas, em alguns momentos, conselheira, confidente, mãe e amiga. Quando "crescer" quero ser igual a você!

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise, em especial ao Gilmar e a Karla, por terem nos auxiliado nas análises microscópicas.

A todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e para o meu crescimento pessoal e profissional.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	5
LISTA DE TABELAS	7
RESUMO	8
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo geral.....	14
2.2. Objetivos específicos	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. Vegetais Minimamente Processados.....	15
2.1.1. Melão	17
2.2. Probióticos	19
2.3. Impregnação a Vácuo.....	21
2.4. Imersão.....	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1. Esquema do experimento	26
3.2. Matéria Prima.....	27
3.3. Processamento mínimo de melão.....	27
3.4. Bactérias probióticas utilizadas e preparo da solução probiótica.....	27
3.5. Determinação do tempo de impregnação a vácuo (IV).....	28
3.6. Impregnação à vácuo.....	28
3.7. Impregnação a pressão atmosférica (imersão) dos melões em solução probiótica..	29
3.8. Avaliação da viabilidade de <i>L. acidophilus</i> e de <i>L. plantarum</i> em melão minimamente processado	29
3.9. Análises físico-químicas	29
3.9.1. Determinação de pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais	30

3.9.2. Determinação de vitamina C	30
3.10. Determinação de cor	30
3.11. Avaliação da incorporação da solução probiótica após a impregnação	31
3.12. Determinação de firmeza e perda de massa	32
3.13. Determinação das características microbiológicas.....	32
3.14. Microscopia Confocal de Varredura a Laser	33
3.15. Análise Sensorial.....	33
3.16. Delineamento Experimental e Análise Estatística	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1. Determinação do tempo de impregnação a vácuo de <i>L. plantarum</i> em melão minimamente processado	34
4.2. Avaliação da viabilidade de <i>L. acidophilus</i> e de <i>L. plantarum</i> em melão minimamente processado adicionados por impregnação a vácuo e imersão	35
5.3.1. Determinação de pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas.....	37
5.3.2. Determinação de vitamina C em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas	41
5.4. Determinação de cor em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por impregnação a vácuo e imersão	42
5.5. Avaliação da Incorporação de componentes após a impregnação a vácuo e imersão de bactérias probióticas em melão minimamente processado	49
5.6. Determinação de firmeza e de perda de massa de melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por impregnação a vácuo e imersão....	50
5.7. Microscopia Confocal de Varredura a Laser	56
5.8. Avaliação sensorial	60
6. CONCLUSÕES	62
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do processo de impregnação a vácuo. Adaptado de Fito (1994).....	22
Figura 2. "Debonding" (desligamento) e ruptura da parede celular que podem ocorrer em tecidos vegetais (CHIRALT et al., 2001).....	24
Figura 3. Esquema do experimento.....	26
Figura 4. Esquema do equipamento utilizado para realizar a impregnação a vácuo.	28
Figura 5. A. Viabilidade de <i>L. acidophilus</i> em melão minimamente processado ao longo do período de estocagem a 5 °C. B. Viabilidade de <i>L. plantarum</i> em melão minimamente processado ao longo do período de estocagem a 5 °C.....	36
Figura 6. Variação do pH de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas ao longo do período de armazenamento. .	38
Figura 7. Variação da acidez de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo <i>L. plantarum</i> ao longo do período de armazenamento.	39
Figura 8. Variação do teor de vitamina C de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas ao longo do período de armazenamento.	42
Figura 9. Variação da Coordenada L* de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas nos dias 0 e 8 após o processamento.....	43
Figura 10. Variação da Coordenada b* de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas nos dias 0 e 8 após o processamento.....	45
Figura 11. Variação do índice Chroma de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas ao longo do período de armazenamento.	46
Figura 12. Variação da firmeza de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas por impregnação a vácuo (A) e imersão (B) ao longo do período de armazenamento.....	51
Figura 13. Perda de massa (%) de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas ao longo do período de armazenamento. .	54

Figura 14. Fotomicrografias obtidas por MCVL das bactérias probióticas adicionadas ao MMP por impregnação a vácuo, no primeiro (Dia 0) e último (Dia 8) dia de armazenamento. 58

Figura 15. Fotomicrografias obtidas por MCVL das bactérias probióticas adicionadas ao MMP por imersão, no primeiro (Dia 0) e último (Dia 8) dia de armazenamento. 59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudos recentes sobre a utilização de micro-organismos probióticos em matrizes vegetais	21
Tabela 2. Firmeza e contagem de <i>L. plantarum</i> em melão minimamente processado adicionado dessa bactéria nos diferentes tempos de impregnação a vácuo	34
Tabela 3. Variação do ângulo Hue de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas nos dias 0 e 8 após o processamento	47
Tabela 4. Variação do índice de escurecimento (ΔE) de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas nos dias 0 e 8 após o processamento.....	48
Tabela 5. Valores médios do índice de incorporação de componentes (%) após as etapas de impregnação a vácuo e imersão de melões minimamente processados adicionado de bactérias probióticas	49
Tabela 6. Número Mais Provável de coliformes a 30 e 45 °C em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por IV e imersão.....	55
Tabela 7. Contagem de micro-organismos psicotróficos em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por IV e imersão imediatamente após o processamento e após 8 dias de estocagem a 5 °C	56

RESUMO

OLIVEIRA, Patrícia Martins de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2014. **Impregnação de bactérias probióticas em melão minimamente processado.** Orientador: Afonso Mota Ramos. Coorientadoras: Eliane Maurício Furtado Martins e Érica Nascif Rufino Vieira.

A procura por novas matrizes alimentares como veículo de bactérias probióticas está crescendo, assim o objetivo desta pesquisa foi avaliar os métodos de impregnação a vácuo (IV) e imersão na adição de bactérias probióticas em melão minimamente processado (MMP). O tempo de IV (2, 4 ou 6 minutos) foi determinado considerando a contagem de *L. plantarum* e a firmeza do produto. Após a determinação do tempo de IV, *L. acidophilus* e *L. plantarum* foram adicionados ao MMP por IV e imersão. Como controle, os MMP foram submetidos ao mesmo procedimento, sem a presença de probióticos. Os produtos foram armazenados a 5 °C por 8 dias e submetidos as análises de pH, acidez, sólidos solúveis totais (SST), vitamina C, cor, incorporação de componentes, firmeza, perda de massa, coliformes a 30 e 45 °C, contagem de psicotróficos e microscopia confocal (MCVL). O tempo de IV não influenciou a contagem de *L. plantarum* e a firmeza do MMP, sendo definido o tempo de 2 minutos para produção de MMP probiótico. Verificou-se que, logo após o processamento, as contagens de *L. acidophilus* não apresentaram diferença ($p > 0,05$), independente da técnica utilizada (9,90 e 9,62 Log UFC·g⁻¹ para MMP submetido à IV e imersão, respectivamente) e, após 8 dias de estocagem, a técnica de IV foi mais eficiente para manutenção da viabilidade de *L. acidophilus* em MMP (7,98 Log UFC·g⁻¹ para a imersão e 8,61 Log UFC·g⁻¹ para a IV). Constatou-se que a IV resultou em maior contagem de *L. plantarum* em MMP (9,40 Log UFC·g⁻¹) em comparação com a técnica de imersão (8,96 Log UFC·g⁻¹) logo após o processamento e, após 8 dias de estocagem, observou-se que não houve diferença entre as contagens. Os MMP adicionados de *L. plantarum* apresentaram um decréscimo no pH e um aumento na acidez para ambos os métodos. Para SST apenas o MMP adicionado de *L. plantarum* por IV apresentou um aumento no °Brix. O maior conteúdo de vitamina C foi verificado para o MMP adicionado de *L. plantarum* por IV, sendo que, ao longo da estocagem, este teor decresceu para todos os tratamentos. Verificou-se que o método de IV e a presença de *L. plantarum* foram os fatores que mais influenciaram as características de cor dos MMP. Verificou-se que a técnica de

IV incorporou maior quantidade de componentes ao MMP (3,63 vezes mais solução que a imersão). Este resultado justifica as maiores contagens dos micro-organismos probióticos nos MMP submetidos à técnica de IV. Verificou-se que a técnica de IV e a adição de *L. plantarum* promoveram uma redução na firmeza inicial do MMP e resultaram em uma maior perda de massa do produto ao longo da estocagem. Os MMP controles e inoculados com bactérias probióticas estavam de acordo com a legislação quanto as suas características microbiológicas, além de terem apresentado baixas contagens de micro-organismos psicotróficos. Pelas fotomicrografias obtidas por MCVL constatou-se que as culturas probióticas apresentaram boa capacidade de adesão em MMP por ambas às técnicas. Portanto, a técnica de imersão e o micro-organismo *L. acidophilus* promovem menores alterações nas características físico-químicas, de cor e firmeza de MMP. Assim, MMP pode ser usado como veículo de bactérias probióticas, sendo uma alternativa para indivíduos que não consomem derivados lácteos.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Patrícia Martins de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2014. **Impregnation of probiotic bacteria in minimally processed melon.** Adviser: Afonso Mota Ramos. Co-advisers: Eliane Maurício Furtado Martins and Érica Nascif Rufino Vieira.

The demand for new food matrices as a vehicle for probiotic bacteria is growing. The objective of this study was to evaluate the methods of vacuum impregnation (VI) and immersion in the addition of probiotic bacteria in minimally processed melon (MPM). The time of IV (2, 4 or 6 minutes) was determined considering the count of *L. plantarum* and firmness of the product. After determining the time VI, *L. acidophilus* and *L. plantarum* were added to the MPM by VI and immersion, as control, the MPM were submitted the same procedure without the presence of probiotics. The products were stored at 5 °C for 8 days and subjected to counting of probiotic bacteria, pH, acidity, total soluble solids (TSS), vitamin C, color, incorporating components, firmness, weight loss, coliforms at 30 and 45 °C, count of psychrotrophic and confocal microscopy (CLSM). The time of VI did not influence the count of *L. plantarum* and firmness of MPM being defined time of 2 minutes to produce MPM probiotic. It was found that, after processing, the counts of *L. acidophilus* showed no difference independent of the technique used (9.90 and 9.62 log CFU.g⁻¹ for MPM subjected to VI and immersion, respectively) and, after 8 days, the VI technique is most effective for maintaining the viability of *L. acidophilus* in MPM (7.98 log CFU.g⁻¹ for immersion and 8.61 Log CFU.g⁻¹ to VI). It was found that the VI resulted in a greater count of *L. plantarum* in MPM (9.40 log CFU.g⁻¹) compared with the technique of immersion (8.96 log CFU.g⁻¹) after processing and after 8 days of storage, it was observed that there was no difference between the counts. The MPM added of *L. plantarum* showed a decrease in pH and an increase in acidity for both methods. For TSS only MPM added of *L. plantarum* by VI showed an increase in °Brix. The highest content of vitamin C was observed for MPM added of *L. plantarum* by VI and, during the storage, this content decreased for all treatments. It has been found that the IV method and the presence of *L. plantarum* were the factors that most influenced the color characteristics of MPM. It has been found that the technique of VI incorporated higher amount of components to the MPM (3.63 times more the solution that the immersion). This result justifies

the higher counts of probiotic microorganisms in MPM submitted to VI technique. It has been found that the technique of VI and the addition of *L. plantarum* promoted a reduction in the initial firmness of MPM and resulted in a greater weight loss of the product during the storage. The MPM controls and inoculated with probiotic bacteria were in accordance with the legislation for microbiological quality and showed the low counts of psychrotrophic microorganisms. By CLSM photomicrographs it was found that the probiotic cultures showed good adhesion capacity in MPM by both techniques. Therefore, the immersion technique and microorganism *L. acidophilus* promote minor changes in physico-chemical characteristics, color and firmness of MPM. Therefore, MPM may be used as a carrier of probiotic bacteria, as an alternative for individuals who do not consume dairy products.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o consumo de vegetais tem aumentado como forma de buscar uma alimentação saudável a partir de produtos menos processados, com elevada conveniência e frescor, sem cascas ou sementes, em porções individuais e prontos para o consumo. Ao mesmo tempo, os consumidores estão cada vez mais conscientes da relação entre dieta e saúde, com isso a procura por alimentos que contenham ingredientes funcionalmente ativos, como os macro e micronutrientes, prebióticos e probióticos também aumentou.

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação e Organização Mundial da Saúde, probióticos são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro e são amplamente usados como um suplemento alimentar microbiano vivo que pode melhorar o equilíbrio microbiano intestinal (FAO/WHO, 2001; SANDERS, 2003).

Problemas como intolerância e alergia aos derivados lácteos, aumento de indivíduos vegetarianos, dietas com restrição de colesterol, entre outros fez com que a procura por novas matrizes alimentares como veículo de bactérias probióticas em alternativa aos produtos lácteos crescesse. Uma nova matriz para incorporação dessas bactérias na dieta que tem sido amplamente discutida é o uso de vegetais, seja na forma de sucos, patês, minimamente processados, entre outros. Frutas e hortaliças possuem nutrientes que promovem o crescimento de micro-organismos probióticos e não oferecem aos consumidores os empecilhos dos produtos lácteos.

Uma tecnologia com grande perspectiva para aplicação na produção de alimentos funcionais, incluindo vegetais adicionados de bactérias probióticas, é a impregnação a vácuo (IV), que utiliza gradientes de pressão para incorporar componentes funcionais na matriz estrutural de alimentos porosos, sem modificar substancialmente as suas propriedades sensoriais. Diversos estudos já mostraram que a IV é eficiente para incorporar nutrientes em frutas e hortaliças, como vitaminas, sais minerais e micro-organismos probióticos.

Diversas frutas cultivadas no Brasil, tais como melancia, melão, abacaxi, mamão, caqui, conde, laranja, manga e jaca são bem aceitas pelos consumidores, sendo que o melão tem sido apontado como uma fruta bastante promissora para elaboração de produtos minimamente processados, uma vez que seu consumo pode

ser limitado devido ao seu tamanho e a inconveniência do. Assim, o processamento mínimo surge oferecendo praticidade uma vez que os frutos já estarão picados e prontos para consumo.

Diante do exposto, o objetivo principal desse trabalho foi avaliar os métodos de impregnação a vácuo e impregnação a pressão atmosférica ou imersão na adição de bactérias probióticas em melão minimamente processado, a fim de produzir um alimento minimamente processado com alegações de propriedades funcionais.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar os métodos de impregnação a vácuo e impregnação a pressão atmosférica ou imersão na adição de bactérias probióticas em melão minimamente processado.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Avaliar o tempo de pressão de vácuo utilizado na impregnação de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus plantarum* em melão minimamente processado;
- ✓ Avaliar a viabilidade de *L. acidophilus* e *L. plantarum* adicionados por impregnação a vácuo e imersão em melão minimamente processado;
- ✓ Determinar as características físico-químicas (pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, açúcares e vitamina C) de melão minimamente processado adicionado de *L. acidophilus* e *L. plantarum*, por impregnação a vácuo e imersão ao longo do período de armazenamento;
- ✓ Determinar as características de cor e textura de melão minimamente processado adicionado de *L. acidophilus* e *L. plantarum*, por impregnação a vácuo e imersão ao longo do período de armazenamento;
- ✓ Determinar a qualidade microbiológica (coliformes a 30 e 45 °C e contagem de micro-organismos psicrótróficos) de melão minimamente processado adicionado de *L. acidophilus* e *L. plantarum*, por impregnação a vácuo e imersão, no início e no final da sua vida de prateleira;
- ✓ Determinar a aceitabilidade sensorial de melão minimamente processado adicionado de *L. acidophilus* e *L. plantarum*, por impregnação a vácuo e imersão, no primeiro e quarto dia de armazenamento;
- ✓ Verificar por meio de Microscopia confocal de varredura a laser a proporção de células vivas e mortas de *L. acidophilus* e *L. plantarum* adicionados em melão minimamente processado por impregnação a vácuo e imersão.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Vegetais Minimamente Processados

Dados do Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF) mostraram que em 2005 a produção de frutas frescas no país foi maior que 43 milhões de toneladas (IBRAF, 2007) e, em 2008, somente o estado de Minas Gerais produziu, aproximadamente, 2,33 milhões de toneladas de frutas (IBRAF, 2013). Em 2011, o Brasil foi considerado o terceiro maior produtor mundial de frutas, com uma produção superior a 45 milhões de toneladas, ficando atrás apenas da China e da Índia. A base agrícola da cadeia produtiva das frutas abrange 3,0 milhões de hectares e gera 6,0 milhões de empregos diretos, segundo a Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Departamento de Economia Rural (SEAB/DERAL, 2012).

Juntamente com o aumento da produção vêm ocorrendo um aumento do consumo de frutas em detrimento aos produtos industrializados, principalmente, devido às mudanças de hábitos alimentares da população brasileira, preocupada com uma alimentação saudável e de qualidade adequada (FIORAVANÇO, 2000; ALVES et al., 2010).

Frutas e hortaliças são alimentos essenciais na dieta do ser humano e existem evidências consideráveis dos benefícios nutricionais à saúde associados ao seu consumo (RAMOS et al., 2013). Devido à presença de níveis elevados de micronutrientes e fibras, o consumo desses produtos é recomendado pela Organização Mundial da Saúde - OMS, Food and Agriculture Organization - FAO e United States Department of Agriculture - USDA e European Food Safety Authority - EFSA para reduzir o risco de doenças cardiovasculares e câncer (SU; ARAB, 2006).

A população está cada vez mais consciente da relação entre dieta e saúde e, com isso, o consumo de produtos frescos, bem como alimentos funcionais, tem aumentado significativamente. As decisões de compra que se baseavam apenas nos aspectos de variedade, conveniência e estabilidade de preços (CUNHA FILHO, 2005) ao longo dos anos, passaram a envolver avaliações de características intrínsecas do produto, como qualidade, segurança alimentar, aspectos sensoriais e nutricionais.

Diante dessa demanda, a indústria de alimentos desenvolveu tecnologias de conservação caracterizadas por um processamento mínimo desses produtos, objetivando satisfazer a necessidade do consumidor moderno de frutas e hortaliças frescas, adaptando-se à tendência contemporânea, em que o tempo disponível para o preparo das refeições é limitado (VANETTI, 2000; CENCI, 2011).

O processamento mínimo de alimentos é uma tecnologia não térmica com garantia de conservação dos alimentos e das normas de segurança, bem como a manutenção, quando possível, das características de frescor das frutas e hortaliças (ALLENDE; TOMÁS-BARBERÁN; GIL, 2006).

De acordo com Moreti (2007), vegetais minimamente processados são frutas ou hortaliças que tenham sido fisicamente modificadas da sua forma original, mas que sofreram um processamento mínimo, mantendo características de frescor semelhante ao produto na sua forma in natura, com a vantagem de um mínimo ou nenhum processamento adicional antes do consumo (RICO et al., 2007). Além disso, são vegetais que foram submetidos a operações de lavagem, pré-resfriamento, sanitização, descascamento, fatiamento/corte, embalagem e armazenamento sob refrigeração.

Durante a última década, as frutas e hortaliças minimamente processadas tornaram-se populares entre os consumidores europeus (ALEGRE et al., 2010). Como resultado dessa popularização, uma maior variedade de vegetais minimamente processados estão sendo introduzidos no mercado para atender à demanda do consumidor por produtos saudáveis, convenientes e seguros (ALEGRIA et al., 2010).

Entretanto, frutas e hortaliças estão entre os alimentos mais perecíveis do mercado. Eles são ricos em carboidratos e pobres em proteínas, com valores de pH abaixo de 7,0 e exibem uma elevada atividade de água. Estas condições tornam esses produtos habitat adequado para várias bactérias, leveduras e fungos filamentosos (GÓMEZ- LÓPEZ et al., 2005; RAMOS et al., 2013) . A deterioração resultante de frutas e hortaliças é caracterizada por uma coloração marrom, morte do tecido, perda de textura, formação de exsudado e/ou produção de odores ou off-flavors (SANZ et al., 2002; RAMOS et al., 2013).

Assim, os produtos minimamente processados têm uma vida útil limitada devido as operações de processamento que alteram a integridade física destes produtos, acelerando, assim, as reações bioquímicas e aumentando a susceptibilidade destes produtos à contaminação e crescimento microbiano, além da ação enzimática

(MUKHERJEE et al., 2004; ABADIAS et al., 2008; BOTELHO et al., 2010). Esses fatores tornam os vegetais minimamente processados mais perecíveis que as matérias-primas de origem.

Os vegetais in natura tem uma vida útil relativamente longa (algumas semanas dependendo do vegetal), enquanto os vegetais minimamente processados tem uma vida de prateleira curta, de 4 a 7 dias. Sua vida útil depende de vários fatores, tais como a qualidade inicial do vegetal, a tecnologia de produção, do número e interações entre grupos microbianos. Além disso, segundo Ramos et al. (2013), estender a vida de prateleira desses produtos se torna ainda mais difícil devido a produção de etileno, atividade respiratória e escurecimento enzimático e não enzimático que são estimulados por lesões.

Para minimizar esses efeitos, algumas das etapas do processamento merecem destaque. A sanitização, normalmente feita com solução clorada, permite minimizar as perdas pós-colheita de vegetais, por reduzir a perda de massa e a incidência de fungos. O corte deve ser realizado de forma cuidadosa para preservar ao máximo o tecido vegetal, reduzindo a liberação de enzimas que degradam o produto. Além disso, embalagens adequadas e refrigeração retardam ainda mais o acesso de micro-organismos e a taxa metabólica de vegetais (IBRAF, 2008). A refrigeração é considerada o meio mais efetivo para promover a manutenção e o prolongamento do tempo de estocagem, bem como para minimizar os efeitos deletérios ocasionados pelo processamento (SEBRAE, 2008).

2.1.1. Melão

O melão (*Cucumis melo* L.) teve seu cultivo comercial iniciado no Brasil na década de 60 e, desde então, vem ganhando importância econômica. No país, foram produzidos em 2009, aproximadamente, 403 mil toneladas de melão, com fortes tendências de crescimento, em função do consumo interno e das exportações (IBRAF, 2013).

Ele pertence à família *Curcubitacea* e apresenta grande diversidade de variedades. Trata-se de uma espécie polimórfica, cujas formas botânicas diferenciam-se quanto a sensibilidade ao frio, capacidade de conservação, atividade metabólica e, sobretudo em forma, tamanho de fruto e estrutura da casca e da polpa. A casca apresenta variação de coloração em função da cultivar, que vai desde o laranja escuro até branco e verde (ARTÉS et al., 1993). Os principais melões

produzidos comercialmente pertencem aos cultivares *Cucumis melo inodorus* Naud. e *Cucumis melo cantaloupensis* Naud., que correspondem, respectivamente, aos melões inodoros e aromáticos (ALVES, 2000).

Dentre os melões produzidos no Brasil, o amarelo (*Cucumis melo* L.), também chamado de espanhol, pertencente ao grupo dos *Inodorus*, apresenta maior preferência pelos consumidores, uma vez que possui mais resistência ao manuseio pós-colheita, qualidade sensorial considerável e maior vida de prateleira à temperatura ambiente (FRUTISÉRIES, 2003). Os frutos apresentam formato redondo ovalado, casca amarela e levemente enrugada, polpa de cor branca ou branca-creme e textura macia (SENAR, 2007; PAIVA et al., 2008).

Do ponto de vista nutricional, o melão contém 83 g de água; 0,84 g de proteína; 0,30 g de fibra alimentar; 0,10 g de lipídeos; 16 mg de vitamina C e 0,50 mg de niacina, por 100 g de polpa. Comparado a outras frutas e hortaliças, é especialmente rico em elementos minerais como potássio (188 mg), fósforo (12 mg) e magnésio (13 mg), em 100 g de polpa (COSTA, 2008).

O melão tem sido apontado como uma fruta bastante promissora para elaboração de produtos minimamente processados (RUSSO; DAIUTO; VIEITES, 2012; BATISTA; BORGES, 2013), tendo em vista que seu consumo pode ser limitado devido ao seu tamanho e a inconveniência do descascamento (ARRUDA et al., 2007). Assim, o processamento mínimo surge oferecendo praticidade uma vez que os frutos já estarão picados e prontos para consumo.

No entanto, estes produtos se tornam mais susceptíveis às diversas alterações que podem comprometer a sua qualidade, devido principalmente as injúrias mecânicas, causadas nas etapas de descascamento e corte. Dentre as possíveis alterações do melão minimamente processado podem-se citar a perda de água, alteração da coloração e firmeza, aceleração do metabolismo, que ocasionam aumento da taxa respiratória e da produção de etileno e o crescimento de microorganismos (OMS-OLIU et al., 2008). Assim, para que esses produtos sejam consumidos sem nenhum preparo adicional e para que possam ser conservados por mais tempo, sem causar problemas à saúde dos consumidores, deve-se adotar as boas práticas no seu preparo e, como método essencial de conservação, a refrigeração (BATISTA; BORGES, 2013).

2.2. Probióticos

Ao longo das duas últimas décadas, a crescente conscientização dos efeitos da dieta sobre a saúde tem levado os consumidores a procurar por diferentes produtos alimentares que contenham ingredientes funcionalmente ativos (KANMANI; LIM, 2013).

Apesar do termo "alimento funcional" ter sido usado pela primeira vez no Japão na década de 1980 (CHONAN, 2011), até hoje não existe uma definição universalmente aceita. Uma das definições mais completas descreve os alimentos funcionais como sendo aqueles que beneficiam uma ou mais funções no organismo, além da nutrição básica, contribuindo para melhorar o estado de saúde e bem-estar e/ou reduzir o risco de doenças (DIPLOCK et al., 1999).

Existem diversos tipos de alimentos com alegações funcionais, como os fortificados com vitaminas e/ou minerais (vitamina C, vitamina E, ácido fólico, zinco, ferro e cálcio) (SLOAN, 2000); alimentos enriquecidos com micronutrientes como os ácidos graxos ômega-3, fitosteróis, fibras solúveis e aqueles que promovem a boa saúde e previnem doenças como câncer (SLOAN, 2002). Além destes, os alimentos funcionais amplamente promovidos pela mídia nas últimas décadas, e que apresentam estudos multidimensionais para aplicações tecnológicas e industriais, são aqueles que contêm micro-organismos probióticos.

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação e Organização Mundial da Saúde, probióticos são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro e são amplamente usados como um suplemento alimentar microbiano vivo que pode melhorar o equilíbrio microbiano intestinal (FAO/WHO, 2001; SANDERS, 2003).

A maior parte das estirpes de bactérias probióticas pertencem aos gêneros de bactérias do ácido láctico, tais como *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. e *Enterococcus* spp., podendo destacar, na indústria de alimentos, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium* (FERREIRA; SILVA, 2010). As bactérias do ácido láctico representam um grupo de micro-organismos heterogêneos que estão naturalmente presentes na cavidade oral e no trato gastrointestinal de animais e humanos e em alimentos fermentados (HAUKIOJA, 2010).

Os efeitos benéficos dos probióticos são dependentes da dose e da ingestão diária recomendada das estirpes probióticas, que variam entre 10^6 e 10^9 células por grama ou mililitro (GIALAMAS et al., 2010; BRASIL, 2008). Além disso, existem alguns critérios para que um micro-organismo seja classificado como probiótico, como resistência à passagem através do trato gastrointestinal; capacidade de sobreviver no ambiente intestinal (GIRAFFA; CHANISHVILI; WIDYASTUTI, 2010); tolerância ao ácido e a bile; aderência às superfícies epiteliais; atividade antagonista para patógenos intestinais; não apresentar patogenicidade; entre outros (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008).

Vários mecanismos associados às estirpes probióticas e que exercem efeitos sobre a saúde do hospedeiro têm sido relatados, incluindo a produção de substâncias antimicrobianas, melhoria da função de barreira epitelial intestinal, controle da infecção gastrointestinal, melhoria da resposta imune do hospedeiro, inibição de agentes causadores de doenças e aumento da digestibilidade dos alimentos (COLLINS et al., 1998; HAUKIOJA, 2010; JENSEN et al., 2012).

Segundo Blaiotta et al. (2013), devido ao aumento da preocupação pública com questões de saúde e a diversificação de produtos alimentares, a indústria de alimentos funcionais precisa explorar novos processos. Novas categorias de produtos e matérias-primas são certamente a chave da pesquisa e área de desenvolvimento para o mercado de alimentos funcionais, no que diz respeito à tecnologia dos probióticos. Inovações tecnológicas incluem encontrar soluções para problemas como estabilidade e viabilidade dos probióticos em novas matrizes alimentares, como frutas, cereais e outros vegetais (FARNWORTH et al., 2007).

A procura de novas matrizes alimentares como veículo de probióticos em alternativa aos produtos lácteos está crescendo devido a problemas como intolerância e alergia aos derivados de leite, aumento de pessoas vegetarianas, dietas com restrição de colesterol, entre outros (GRANATO et al., 2010). Dessa forma, o uso de vegetais tem sido amplamente discutido como uma alternativa para incorporação de bactérias probióticas na dieta, uma vez que frutas e hortaliças têm nutrientes que promovem o crescimento de micro-organismos probióticos e não oferecem aos consumidores os empecilhos dos produtos lácteos (MARTINS et al., 2013).

Estudos têm demonstrado que as frutas apresentam potencial para atuarem como veículo de probióticos com uma alta viabilidade celular em função das características intrínsecas dos vegetais (MARTINS, 2012). Estas características,

como a presença de prebióticos naturais, parecem proteger os micro-organismos probióticos à medida que passam através do trato gastrointestinal. Alimentos probióticos de origem vegetal incluem sucos fermentados, frutas e hortaliças minimamente processadas, purês, entre outros (MARTINS et al., 2013). Na Tabela 1 estão apresentados alguns estudos recentes sobre a utilização de matrizes vegetais para veiculação de micro-organismos probióticos.

Tabela 1. Estudos recentes sobre a utilização de micro-organismos probióticos em matrizes vegetais

Matriz alimentar	Produto alimentício	Micro-organismo utilizado	Referência
Maçã	Minimamente processado	L. rhamnosus GG	Röble et al. (2010a,b)
Caju	Suco	Lactobacillus johnsonii	Vergara et al. (2010)
Maçã	Minimamente processado	L. rhamnosus GG	Alegre et al. (2011)
Abacaxi, banana, goiaba, maçã, mamão e manga	Salada de frutas minimamente processada	L. rhamnosus, L. acidophilus e L. plantarum	Martins (2012)
Batata	Bebida	L. casei	Kim; Jang; Yoon (2012)
Maçã, suco de maçã, de mandarina e de abacaxi com uva	Snack	Lactobacillus salivarius e L. acidophilus	Betoret et al. (2012)
Maçã	Bebida	L. casei	Ellendersen et al. (2012)
Couve	Minimamente processado	L. acidophilus e L. rhamnosus	Silva et al. (2013)
Goiaba	Minimamente processado	L. acidophilus e L. plantarum	Rodrigues (2013)

Adaptada de Martins (2012) e Martins et al. (2013).

2.3. Impregnação a Vácuo

A impregnação a vácuo (IV) é uma tecnologia que utiliza gradientes de pressão para incorporar componentes funcionais ativos na matriz estrutural de alimentos porosos, sem modificar substancialmente as suas propriedades sensoriais (FITO et al., 1996). A IV tem sido utilizada com sucesso para incorporar nutrientes,

como vitaminas (CORTÉS; OSORIO; GARCIA, 2007), sais minerais (GRAS et al., 2003; XIE; ZHAO, 2003a; XIE; ZHAO, 2003b; BARRERA; BETORET; FITO, 2004) e micro-organismos probióticos (BETORET et al., 2003; BETORET et al., 2012; RODRIGUES, 2013) em frutas e legumes. Um estudo realizado por Watanabe et al. (2011) mostrou o potencial da IV na melhoria da estabilidade da cor e de antocianinas em morangos. Além disso, essa técnica tem sido amplamente utilizada para incorporar diferentes aditivos no tecido de vegetais, como agentes anti-escurecimento, conservantes microbianos e crioprotetores, melhorando, dessa forma, a qualidade final desses produtos (PHOON et al., 2008; BARRERA et al., 2009).

A IV é um método de processamento de alimentos, em que um tecido poroso é imerso em uma solução de impregnação. O vácuo é aplicado ao sistema fazendo com que o ar do interior do tecido flua para o exterior por meio do espaço poroso do alimento (etapa de vácuo). Os espaços, que antes continham ar, são, então, preenchidos por uma solução externa (etapa de impregnação) (Figura 1) (FITO, 1994; LAURINDO et al., 2007).



Etapa 1. Início da penetração da solução pelos poros da fruta, por capilaridade



Etapa 2. Começa a saída do ar preso dos poros pela aplicação de vácuo ($P < P$ atmosférica)



Etapa 3. Entrada da solução nos poros apenas por capilaridade ($P < P$ atmosférica)



Etapa 4. Penetração de maior quantidade de solução nos poros do tecido por capilaridade e pressão externa ($P = P$ atmosférica)

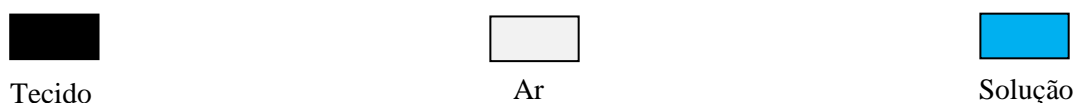


Figura 1. Representação esquemática do processo de impregnação a vácuo. Adaptado de Fito (1994).

No primeiro passo, etapa de vácuo, caracterizado pela duração e nível de vácuo, o produto imerso na solução de impregnação é exposto a pressão de vácuo negativa, promovendo assim a expansão e saída do gás interno do produto pelos poros, em combinação com os fenômenos de deformação e relaxamento da matriz sólida. Quando a pressão interna se iguala à pressão de vácuo aplicada, uma quantidade de líquido penetra os poros, devido à ação das forças capilares. A liberação de gás pelos poros arrasta líquido nativo do produto para o meio externo e quando a pressão atmosférica é restaurada, o gás residual na amostra se comprime devido a diferença de pressão, conduzindo à impregnação dos poros do produto pela solução externa, até que o equilíbrio de pressão seja atingido (FITO, 1994; FITO et al., 2001; BADILLO; SEGURA; LAURINDO, 2011).

O volume de líquido penetrante pode ser representado basicamente pelo volume total do espaço intercelular, que inicialmente estava preenchido com gás (FITO, 1994). Mesmo em processos de imersão de tecidos vegetais porosos em um líquido, essa solução flui pelos poros da superfície devido à ação de forças capilares (ZHAO; XIE, 2004).

As condições de vácuo promovem cinéticas de transferência de massa mais rápidas, devido à ação do mecanismo hidrodinâmico (HDM) acoplado ao mecanismo difusivo. O vácuo é extremamente eficaz para promover o HDM em produtos altamente porosos (CHÁFER et al., 2001; CHÁFER et al., 2003).

O mecanismo hidrodinâmico é o maior responsável pela penetração de uma solução externa no interior dos poros de um material durante o processo de impregnação a vácuo (FITO et al., 1996). No entanto, esse mecanismo pode provocar danos na estrutura das células vegetais. Esses danos estão relacionados com o fenômeno de deformação-relaxamento e se deve a expansão e saída do gás e líquido nativo, na etapa de vácuo. Este líquido, que é arrastado para fora do poro pelo gás que se expande, pode induzir a efeitos irreversíveis devido à força mecânica. Esses efeitos geralmente levam a perda da rigidez da estrutura provocada pelo “debonding” (desligamento) ou ruptura nas junções da parede celular (Figura 2) (MERLIN, 2007).

A intensidade com que estas deformações ocorrem no tecido vai depender da porosidade, propriedades mecânicas, tamanho e forma do alimento, da viscosidade da solução de impregnação ou solução externa, das propriedades físicas e químicas dos compostos fisiologicamente ativos, além da pressão de vácuo e dos tempos de

aplicação do vácuo e restauração da pressão atmosférica (FITO et al., 1996; ZHAO; XIE, 2004; SAUREL, 2004; LAURINDO et al., 2007).

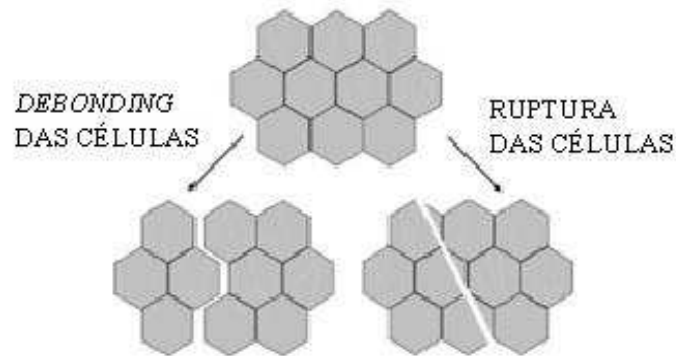


Figura 2. "Debonding" (desligamento) e ruptura da parede celular que podem ocorrer em tecidos vegetais (CHIRALT et al., 2001).

No entanto, é importante notar que o nível de impregnação é o resultado de ambas as variáveis de processo e propriedades mecânicas dos alimentos que afetam grandemente os fenômenos de deformação-relaxamento dos tecidos biológicos (FITO et al., 1996; BARAT et al., 2001; CHIRALT; FITO, 2003).

Uma vez que as frutas não são submetidas a altas temperaturas, mudanças sensoriais de atributos, como cor, sabor, textura e aroma são minimizados (MORAGA et al., 2009).

Este método também tem sido amplamente utilizado como um pré-tratamento em processos de secagem, desidratação osmótica, congelamento, bem como na prevenção do escurecimento oxidativo em frutas, removendo o oxigênio dos poros (MORAGA et al., 2009). A técnica de IV pode ser útil também para introduzir substâncias dissolvidas ou dispersas diretamente na estrutura porosa da matriz dos alimentos, em processos nos quais as operações de sólido-líquido estão presentes (CARCIOFI; PRAT; LAURINDO, 2012), como a salga (CHIRALT et al., 2001; SCHMIDT; CARCIOFI; LAURINDO, 2008), desidratação osmótica (BARAT et al., 2001; MARTÍNEZ-VALENCIA et al., 2011), adição de agentes crioprotetores (MARTÍNEZ-MONZÓ et al., 1998), entre outros.

Dessa forma, o enriquecimento de vegetais com bactérias probióticas pela utilização da impregnação a vácuo é uma alternativa promissora para desenvolver produtos funcionais. Rodrigues (2013) verificou que o enriquecimento de goiaba

minimamente processada com *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus acidophilus* proporcionou um novo produto probiótico com boa aceitação sensorial.

Maçã probiótica desidratada foi produzida por Rêgo et al. (2013) utilizando *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus kefir*. Os pesquisadores verificaram que as culturas se mantiveram viáveis no produto por até 90 dias de armazenamento a 4 °C, mostrando que a técnica de desidratação por IV é eficaz para estender a vida de prateleira do produto.

Assim, a técnica de impregnação a vácuo tem a finalidade de incorporar aos alimentos ingredientes funcionais através da incorporação de compostos fisiologicamente ativos, como vitaminas, minerais, anti-oxidantes, enzimas, reguladores de pH, antimicrobianos, fibra alimentar, probióticos, prebióticos e simbióticos, melhorando as características sensoriais e nutricionais dos alimentos e aumentando sua vida útil (LIN et al., 2006; DEROSI; DE PILLI; SEVERINI, 2010; HIRONAKA et al., 2011).

2.4. Imersão

A técnica de imersão é geralmente usada para lavagem e sanitização de frutas e hortaliças in natura. Neste método, o produto é diretamente imerso em uma solução por determinado período de tempo e, em seguida, o excesso dessa solução é removido por drenagem. Além disso, a técnica pode ser usada para adição de compostos funcionais em vegetais minimamente processados, como antioxidantes, vitaminas, minerais, bactérias probióticas, entre outras.

Em produtos porosos, como é o caso dos vegetais minimamente processados, ocorre a penetração da solução de imersão para o interior do tecido por capilaridade. Isso faz com que uma pequena porção do líquido fique retida no material, mesmo após a drenagem, favorecendo a fixação dos compostos de interesse nesses alimentos.

Martins (2012) usou a técnica de imersão para adicionar micro-organismos probióticos em salada de frutas minimamente processada e, após 5 dias de armazenamento a 8 °C, obteve contagens de *L. plantarum*, *L. acidophilus* e *L. rhamnosus* acima de 10^8 UFC·g⁻¹ do produto. Outro estudo com adição de bactérias probióticas (*L. rhamnosus* GG) em fruta minimamente processada por imersão foi realizado por Rößle et al. (2010a). Esses autores também obtiveram contagens acima

de 10^8 UFC·g⁻¹ do produto, o que comprova a eficácia do uso da técnica de imersão na adição de compostos funcionais, como micro-organismos probióticos em frutas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados na Planta Piloto de Processamento de Frutas e Hortaliças, no Laboratório de Ciência de Produtos de Frutas e Hortaliças, no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) e no Núcleo de Microscopia Eletrônica e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (UFV), campus Viçosa, Minas Gerais.

3.1. Esquema do experimento

Na Figura 3 está esquematizado o experimento.

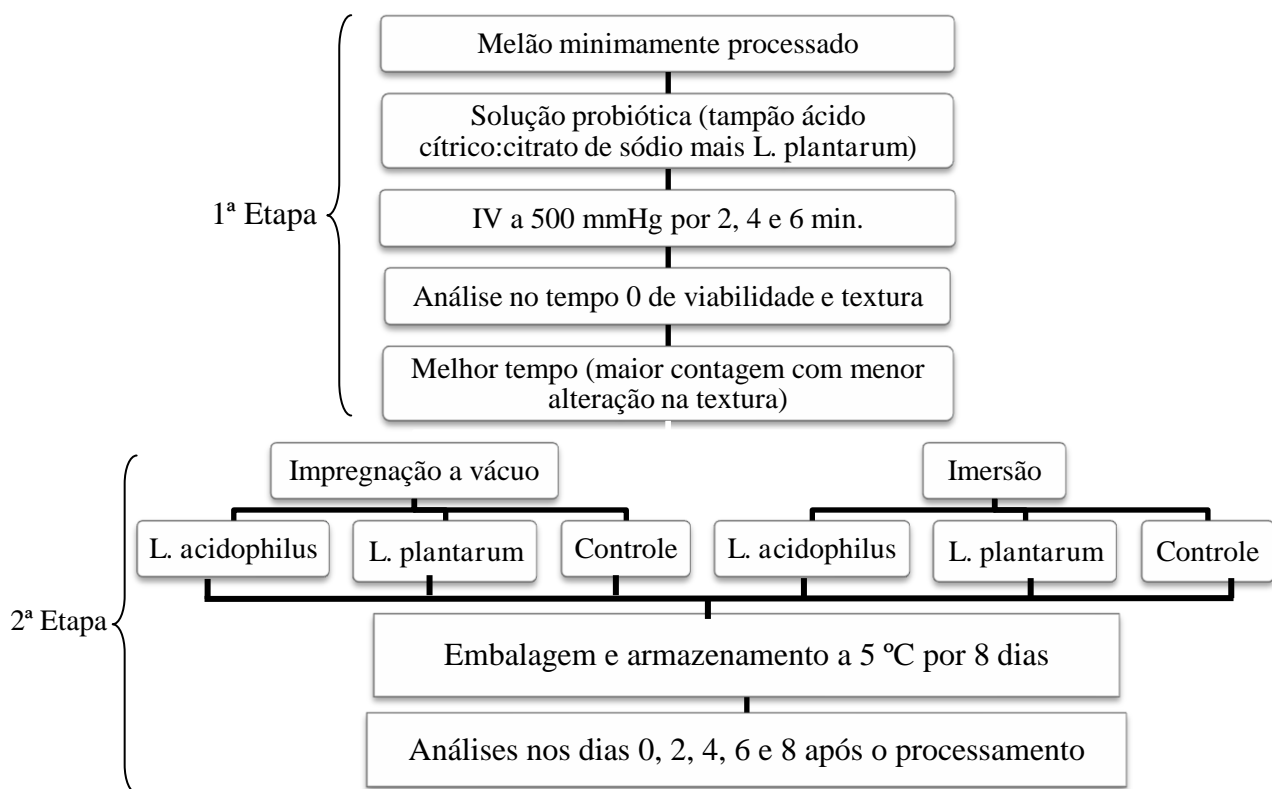


Figura 3. Esquema do experimento.

No estudo da adição de *L. acidophilus* ou *L. plantarum* por impregnação a vácuo e imersão em melão minimamente processado, o experimento foi dividido em

duas etapas. A primeira etapa consistiu na determinação do tempo de impregnação a vácuo, onde foram testados 2, 4 e 6 minutos.

A segunda etapa consistiu da comparação dos métodos de impregnação a vácuo e imersão na adição de micro-organismos probióticos em melão minimamente processado.

Todo o experimento foi realizado em três repetições e as análises microbiológicas e físico-químicas em duplicata.

3.2. Matéria Prima

Os melões do tipo ‘Amarelo’ (*Cucumis melo* L.) foram adquiridos no comércio local da cidade de Viçosa, Minas Gerais, no estado de maturação comercial para o consumo.

3.3. Processamento mínimo de melão

Os melões foram inicialmente lavados em água potável a 5 °C e, em seguida, sanitizados em solução clorada a 200 mg·L⁻¹ de cloro ativo por um período de 15 minutos a 5 °C. Após a sanitização, o produto foi enxaguado em solução clorada a 20 mg·L⁻¹ por 5 minutos e, então descascado, retirando-se as sementes, sendo fatiado e cortado em cubos de, aproximadamente, 2 x 2 cm.

3.4. Bactérias probióticas utilizadas e preparo da solução probiótica

Estirpes liofilizadas de *Lactobacillus acidophilus* LA-3, comercializadas pela Sacco Brasil, e *Lactobacillus plantarum*, comercializadas pela Chr. Hansen®, foram utilizadas para obter melão minimamente processado adicionado de probióticos.

As culturas liofilizadas foram pesadas e diluídas em solução tampão ácido cítrico:citrato de sódio, pH 5,8, na proporção de 1:10, ou seja, para cada grama de células foram adicionados 10 mL da solução tampão a fim de se obter no mínimo 10¹⁰ células por mililitro (RODRIGUES, 2013) e, para obtenção de melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas, para cada grama do produto foi adicionado 1 mL dessa suspensão de células.

3.5. Determinação do tempo de impregnação a vácuo (IV)

Os melões minimamente processados foram imersos separadamente em soluções contendo, aproximadamente, 10^{10} UFC·mL⁻¹ dos lactobacilos. Essa solução, com as frutas imersas, foi submetida a uma pressão de vácuo de 500 mmHg por 2, 4 e 6 min, e, em seguida, a pressão atmosférica foi restabelecida pelo mesmo tempo aplicado na etapa de pressão de vácuo (BETORET et al., 2010).

Após este tratamento, foi realizada no tempo 0 de armazenamento (logo após a impregnação), a determinação de textura e viabilidade dos lactobacilos nos melões minimamente processados impregnados a fim de estabelecer o tempo que seria utilizado na etapa de pressão de vácuo e nos tratamentos por imersão.

3.6. Impregnação à vácuo

Na Figura 4 está o equipamento que foi utilizado para a realização da IV de micro-organismos probióticos em melões minimamente processados.

Após o processamento mínimo, os melões foram imersos na suspensão contendo, aproximadamente, 10^{10} UFC·mL⁻¹ de *L. acidophilus* ou *L. plantarum*. A suspensão probiótica com as frutas imersas foi submetida a uma pressão de vácuo de 500 mmHg pelo período determinado no item 3.5, e, em seguida, a pressão atmosférica foi restabelecida pelo mesmo tempo utilizado na etapa de pressão de vácuo (BETORET et al., 2010).

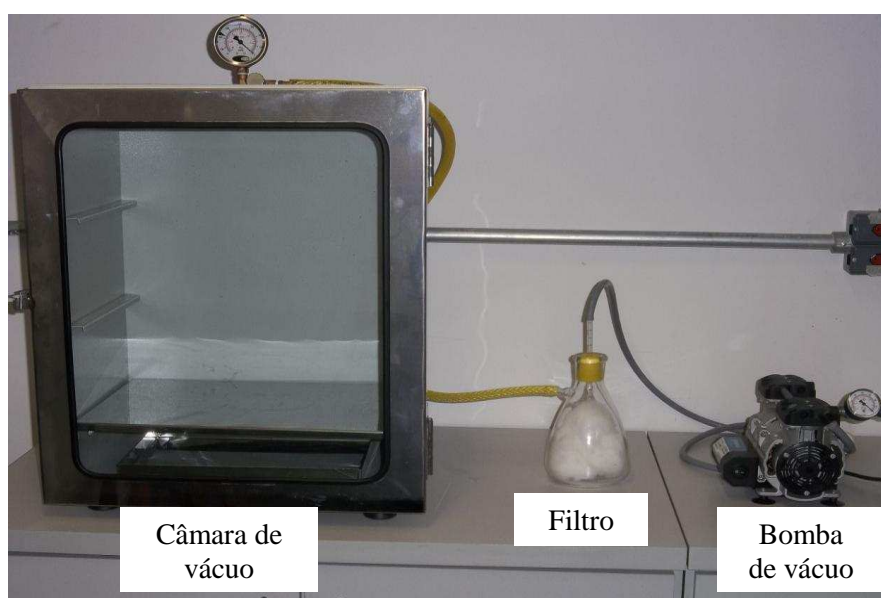


Figura 4. Esquema do equipamento utilizado para realizar a impregnação a vácuo.

Após este tratamento, os melões minimamente processados foram embalados em bandejas de polietileno tereftalato (PET) com tampa do mesmo material e armazenados a 5 °C por 0, 2, 4, 6 e 8 dias para acompanhar a vida de prateleira por meio de análises físico-químicas e microbiológicas. Como controle os melões minimamente processados foram imersos em solução tampão, sem a presença dos probióticos, e submetidos ao mesmo processo de imersão e impregnação a vácuo.

3.7. Impregnação a pressão atmosférica (imersão) dos melões em solução probiótica

Os melões minimamente processados foram imersos na solução probiótica preparada conforme descrito no item 3.4. Para cada grama do produto foi adicionada 1 mL da suspensão de células. O tempo de imersão foi o mesmo tempo definido no item 3.5 para a IV. Em seguida, os melões foram drenados por 1 minuto para remover o excesso de solução probiótica.

Como controle, os melões minimamente processados foram imersos apenas em solução tampão pelo mesmo tempo da IV e, logo após, foram drenados por 1 minuto.

3.8. Avaliação da viabilidade de *L. acidophilus* e de *L. plantarum* em melão minimamente processado

A determinação da viabilidade de *L. acidophilus* e de *L. plantarum* foi estabelecida após 0, 2, 4, 6 e 8 dias de processamento mínimo do melão armazenado a 5 °C, por meio da contagem pela técnica de "pour plate" em meio de cultura Rogosa SL (Himedia) (RICHTER; VEDAMUTHU, 2001). As placas foram incubadas a 37 °C por até 72 horas e, para a contagem das células, foram selecionadas as placas contendo de 25 a 250 colônias. Os resultados foram expressos em número de UFC (unidades formadoras de colônias) por grama do produto.

3.9. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas nos tratamentos adicionados de probióticos por IV e imersão e também nos tratamentos controle.

3.9.1. Determinação de pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais

As análises de pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais foram realizadas nos dias 0, 2, 4, 6 e 8 de armazenamento do produto a 5 °C, conforme metodologia da AOAC (2000). Foram pesados 10 g de amostra e triturados em 100 mL de água destilada. O pH foi determinado por leitura direta em potenciômetro (Tecnopon). Para determinar a acidez, em percentual de ácido cítrico, foram adicionados 3-4 gotas de indicador fenolftaleína sobre o homogenato que foi titulado com uma solução 0,1 mol·L⁻¹ de NaOH até mudança de cor para rósea.

A determinação do teor de sólidos solúveis totais (SST) foi realizada diretamente em refratômetro de bancada modelo ABBÉ, a 25 °C, sendo os resultados expressos em °Brix, de acordo com a AOAC (2000).

3.9.2. Determinação de vitamina C

O teor de vitamina C foi determinado pelo método de Tillmans de acordo com Zenebon; Pascuet (2004) nos dias 0, 2, 4, 6 e 8 de armazenamento a 5 °C. Este método se baseia na redução do corante 2,6 diclorofenol indofenol por uma solução ácida de vitamina C.

O resultado foi expresso em miligramas de ácido ascórbico por 100 g de polpa de fruta de acordo com a fórmula:

$$\text{Ácido ascórbico mg por 100 g de polpa} = \frac{V \times F \times 100}{A}$$

Onde:

V: volume da solução de Tillmas gasto na titulação;

F: fator da solução de Tillmas;

A: g da amostra.

3.10. Determinação de cor

Após 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento do produto a 5 °C, a cor superficial dos melões dos tratamentos controle, impregnados a vácuo e imersos em solução probiótica foi avaliada utilizando-se o equipamento Color Reader CR-10 (Minolta). A determinação de cor foi realizada pela leitura direta de reflectância das

coordenadas L^* , a^* , b^* empregando a escala CIELAB L^* , por ser adotada como padrão pela Comissão Internacional de Iluminação. Para cada amostra foram realizadas três leituras em diferentes pontos do produto a fim de se obter o resultado médio.

Além das coordenadas base, foram medidos o Ângulo Hue (H°), que corresponde à tonalidade e o Índice Chroma (C^*), que expressa a saturação ou intensidade da cor (McGUIRE, 1992) e a Diferença de cor total (ΔE), que compara a amostra com o controle (ADEKUNT et al., 2010).

Foram utilizadas as seguintes equações para o cálculo dessas coordenadas:

- Ângulo Hue (H°):

$$H^\circ = \arctg(b^*/a^*), \text{ onde } a^* > 0 ; b^* > 0$$

$$H^\circ = 180^\circ + \arctg(b^*/a^*), \text{ onde } a^* < 0 ; b^* > 0$$

$$H^\circ = 270^\circ + \arctg(b^*/a^*), \text{ onde } a^* < 0 ; b^* < 0$$

$$H^\circ = 360^\circ + \arctg(b^*/a^*), \text{ onde } a^* > 0 ; b^* < 0$$

- Índice Chroma (C^*):

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

- Diferença de cor total (ΔE):

$$\sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

3.11. Avaliação da incorporação da solução probiótica após a impregnação

A incorporação da solução probiótica após a impregnação foi determinada por meio de pesagem em balança analítica, estabelecendo-se a relação entre o peso dos MMP antes e após a etapa de impregnação. Os resultados foram expressos em porcentagem e foram determinados a partir da equação:

$$IC = \frac{m_1 - m}{m} \times 100 \quad (1)$$

Em que:

IC: índice de incorporação;

m_1 : peso dos melões minimamente processados antes da impregnação (gramas);

m : peso dos melões minimamente processados após a impregnação (gramas).

3.12. Determinação de firmeza e perda de massa

A firmeza dos melões minimamente processados adicionadas de *L. acidophilus* ou *L. plantarum* e do tratamento controle mantidos a 5 °C foram determinadas em texturômetro TA-TX (Texture Technologies Corp./Stable Micro systems), com sonda cilíndrica de 25 mm de diâmetro (Aluminum Cylinder Probe SMS, P/25). As amostras foram comprimidas em 30 % da altura original, em dois ciclos de compressão, com velocidade de 1 mm·s⁻¹ e 0,05 N de força de área. Os índices de firmeza foram calculados a partir das curvas características do perfil de textura gerado no programa Texture Expert Stable Micro Systems.

Além disso, foi determinada a perda de massa dos melões minimamente processados adicionados de bactérias probióticas por IV e imersão por meio de pesagem em balança analítica, estabelecendo-se a relação entre o peso inicial das frutas minimamente processadas após a etapa de impregnação a vácuo e durante o período de armazenamento a 5 °C. A perda de massa foi expressa em porcentagem.

3.13. Determinação das características microbiológicas

As análises microbiológicas de coliformes a 30 °C e coliformes a 45 °C foi realizada pela técnica do Número Mais Provável (NMP) de acordo com Kornacki; Johnson (2001), utilizando-se caldo Lauril Sulfato Triptose para o teste presuntivo, Caldo Bile Verde Brillhante para confirmar coliformes a 30 °C e Caldo EC para confirmar coliformes que fermentam a 45 °C. O resultado foi expresso em NMP por grama de melão.

A contagem de micro-organismos psicotróficos foi determinada segundo Cousin; Jay; Vasavada (2001) utilizando-se Ágar Padrão para Contagem (PCA) e incubação a 7 °C por 10 dias. Para a contagem das colônias de psicotróficos, foram selecionadas as placas contendo de 25 a 250 colônias e os resultados foram expressos em número de UFC (unidades formadoras de colônias) por grama do produto.

As amostras dos tratamentos controle, impregnado a vácuo e imerso em solução contendo *L. acidophilus* ou *L. plantarum* foram analisadas após armazenamento a 5 °C e nos dias 0 e 8, a fim de avaliar as condições microbiológicas do produto no início e no fim da sua vida de prateleira.

3.14. Microscopia Confocal de Varredura a Laser

Os melões minimamente processados adicionados de micro-organismos probióticos (*L. acidophilus* ou *L. plantarum*) foram fatiados em pequenos cubos com, aproximadamente, 1 a 2 mm de espessura. Os cortes foram lavados 2 vezes por imersão em PBS 0,2 M pH 7,2 e corados segundo metodologia de Calish et al. (1979) modificado por Ribeiro (2012). Os cortes foram incubados na ausência de luz por 15 minutos com mistura de iodeto de propídeo (IP) 20 µg·mL e isotiocianato de fluoresceína (FITC) 2 µg·mL em PBS 0,2 M pH 7,2, que foi preparada imediatamente antes do uso. Após incubação, os cortes foram lavados por imersão em PBS 0,2 M pH 7,2 e analisados no Microscópio Confocal de Varredura a Laser, marca Zeiss, modelo LSM 510 META utilizando o laser de argônio (comprimentos de onda 488 e 514 nm). As células com coloração esverdeada foram consideradas vivas e aquelas que se apresentaram amareladas ou avermelhadas foram consideradas mortas (WANG et al., 2012).

3.15. Análise Sensorial

A aceitabilidade sensorial das amostras de melão minimamente processado dos tratamentos controle, impregnados a vácuo e imersos em solução probiótica de *L. acidophilus* e *L. plantarum* foi realizada, nos tempos 0 e 4, por 50 provadores não treinados, em cabines individuais e sob luz branca, usando escala hedônica estruturada de nove pontos, variando de “desgostei extremamente” (1) a “gostei extremamente” (9), segundo Minim (2013).

3.16. Delineamento Experimental e Análise Estatística

Os dados obtidos para determinação do tempo de vácuo que foi utilizado foram interpretados por análise de variância (ANOVA) utilizando teste F e teste de Tukey para comparação de médias ao nível de 5 % de probabilidade.

A outra parte do experimento foi instalada em um esquema de parcela subdivididas, tendo nas parcelas um esquema fatorial 2x2 com dois tratamentos controle e nas sub parcelas os tempos de avaliação (0, 2, 4, 6 e 8 dias após o processamento), no delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições.

Os dados foram analisados por meio de análise de variância e regressão. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão

utilizando-se o teste “t” adotando-se 5 % de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQRegressão}/\text{SQtratamento}$) e no fenômeno em estudo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Determinação do tempo de impregnação a vácuo de *L. plantarum* em melão minimamente processado

Para determinação do tempo de impregnação a vácuo (IV) foram realizadas as análises de firmeza e contagem de *L. plantarum* em melão minimamente processado (MMP). Os procedimentos foram realizados a uma pressão de vácuo de 500 mmHg por 2, 4 e 6 minutos de impregnação a vácuo, sendo que a firmeza e a contagem de *L. plantarum* do melão minimamente processado não foram afetadas significativamente ($p>0,05$) pelo tempo de impregnação (Tabela 2).

Tabela 2. Firmeza e contagem de *L. plantarum* em melão minimamente processado adicionado dessa bactéria nos diferentes tempos de impregnação a vácuo

	Tempo (minutos)		
	2	4	6
Firmeza (N)	5,72 ± 2,62a	5,30 ± 2,02a	5,98 ± 2,64a
Log (UFC.g ⁻¹)	8,22 ± 0,02a	8,22 ± 0,03a	8,23 ± 0,01a

Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os resultados da contagem do micro-organismo probiótico podem ser explicados possivelmente devido a estrutura do vegetal altamente porosa e pouco rígida o que facilitou a entrada da solução probiótica por impregnação no tecido vegetal.

Rodrigues (2012) estudou a adição de *L. plantarum* em goiaba minimamente processada por impregnação a vácuo sob a mesma pressão de vácuo (500 mmHg) utilizando tempos de impregnação maiores (10, 20 e 30 minutos) e obteve máxima contagem do micro-organismo de 8,8 Log UFC.g⁻¹ para o tempo de 30 minutos.

Verificou-se que a matriz vegetal exerce grande importância na adesão da solução e aderência do micro-organismo, portanto, ficou estabelecido, para este experimento, um tempo de 2 minutos para o período de vácuo a uma pressão de vácuo de 500 mmHg e o mesmo tempo foi usado no período de restauração da

pressão atmosférica, uma vez que a contagem de *L. plantarum* foi acima de $8,0 \text{ Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$. Essa quantidade é suficiente para que o melão minimamente processado adicionado de *L. plantarum* seja considerado probiótico, de acordo com a ANVISA (BRASIL, 2008).

4.2. Avaliação da viabilidade de *L. acidophilus* e de *L. plantarum* em melão minimamente processado adicionados por impregnação a vácuo e imersão

Verificou-se que, imediatamente após o processamento, as contagens de *L. acidophilus* não apresentaram diferença, independente da técnica utilizada ($p>0,05$), apresentando contagens de $9,90 \pm 0,36 \text{ Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ para melão minimamente processado submetido à IV e $9,62 \pm 0,20 \text{ Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ para o tratamento por imersão. No entanto, ao longo da estocagem verificou-se que a técnica de impregnação a vácuo promoveu maior manutenção de *L. acidophilus* em melão minimamente processado comparado à imersão (Figura 5A), uma vez que após 8 dias de armazenamento a 5°C a contagem dessa bactéria foi da ordem de $7,98 \text{ Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ no tratamento de imersão e $8,61 \text{ Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ para a IV ($p<0,05$).

Para a incorporação de *L. plantarum* em melão minimamente processado verificou-se que, imediatamente após o processamento, a técnica de impregnação a vácuo resultou numa maior contagem ($9,40 \pm 0,35 \text{ Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$) em comparação com a técnica de imersão ($8,96 \pm 0,25 \text{ Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$) ($p<0,05$). No entanto, ao longo da estocagem quando se comparou as técnicas de adição de micro-organismos probióticos em melão minimamente processados, observou-se que não houve diferença significativa entre as técnicas ($p>0,05$) (Figura 5B). Além disso, ao final da vida de prateleira, ambos os produtos continham quantidades suficientes de bactérias para serem considerados alimentos probióticos.

Desta forma, observou-se que a técnica de impregnação a vácuo proporcionou maior aderência de *L. acidophilus* em comparação com a técnica de imersão, apresentando uma menor redução na contagem deste micro-organismo ao longo do tempo.

De acordo com a ANVISA (BRASIL, 2008), alimentos probióticos devem apresentar contagens superiores a $8,0 \text{ Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, assim deve ser ingerido de 10 a 100 gramas do melão minimamente processado adicionado de *L. acidophilus* por imersão para que se tenha efeito probiótico, visto que obteve contagens menores que $8,0 \text{ Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$. Por outro lado, para se ter o efeito probiótico do melão

minimamente processado adicionado de *L. acidophilus* por IV, basta ingerir um grama do produto, uma vez que este produto contém contagens acima do limite exigido pela legislação.

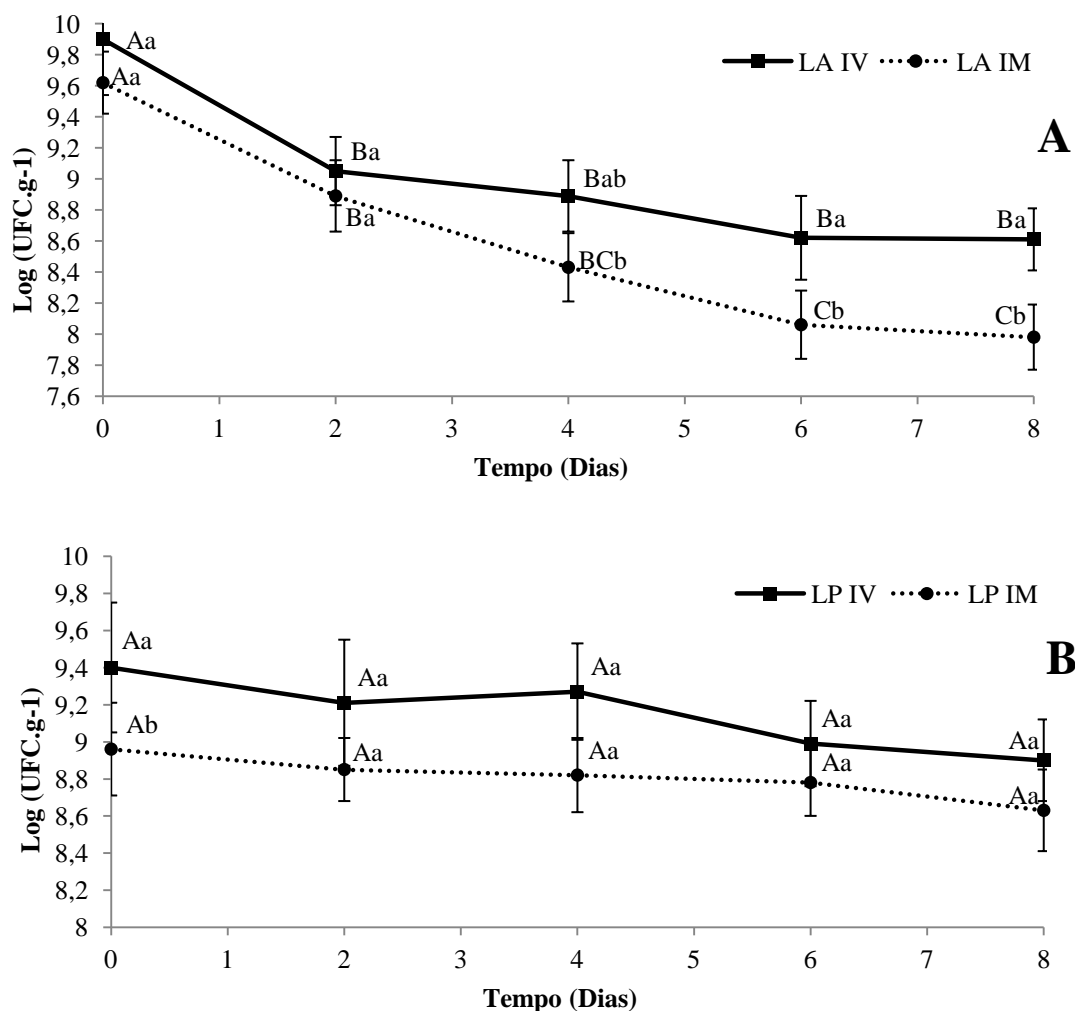


Figura 5. A. Viabilidade de *L. acidophilus* em melão minimamente processado ao longo do período de estocagem a 5 °C. **B.** Viabilidade de *L. plantarum* em melão minimamente processado ao longo do período de estocagem a 5 °C.

LA: *L. acidophilus*; LP: *L. plantarum*; IV: Impregnação a vácuo; IM: Imersão. Letras maiúsculas iguais e letras minúsculas iguais não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey. Letras maiúsculas comparam ao longo do tempo e letras minúsculas comparam os tratamentos.

Ao longo do período de estocagem, verificou-se uma redução significativa na contagem de *L. acidophilus* independente da técnica utilizada ($p < 0,05$). Por outro lado, para contagem de *L. plantarum* não se verificou redução significativa ao longo do tempo para ambas às técnicas. Essa diferença no comportamento das culturas

pode ser explicada pela maior capacidade de adaptação de *L. plantarum* comparado a *L. acidophilus*. De acordo com Kleerebezem et al. (2003), *L. plantarum* possui uma proporção relativamente alta de genes de resistência, os quais exercem um papel importante na interação da bactéria com o seu ambiente. Além disso, possui uma alta tolerância a pH baixo (DAESCHEL; NES, 1995), que é o pH da grande parte dos vegetais, principalmente ao longo da estocagem quando há o decréscimo do pH devido a produção de ácidos a medida que o fruto vai amadurecendo.

5.3. Determinação das características físico-químicas

5.3.1. Determinação de pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas

Imediatamente após o processamento verificou-se que o pH das amostras de melão minimamente processado dos tratamentos não diferiram dos melões minimamente processados adicionados de *L. acidophilus* tanto por impregnação a vácuo como por imersão ($p > 0,05$) (Figura 6). No entanto, para os melões minimamente processados adicionados de *L. plantarum* verificou-se menores valores de pH em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$). Tais diferenças se devem, provavelmente, ao metabolismo versátil deste micro-organismo e a sua capacidade de adaptação em diferentes condições (CAGNO et al., 2009).

Ao longo do período de estocagem, verificou-se que o método de impregnação utilizado não afetou significativamente os tratamentos controle e os MMP adicionados de *L. acidophilus* ($p > 0,05$), sendo os valores médios inicial e final, respectivamente, $6,25 \pm 0,02$ e $6,02 \pm 0,15$, para os tratamentos controle, e $6,26 \pm 0,02$ e $5,90 \pm 0,06$, para os tratamentos adicionados de *L. acidophilus*. No entanto, para o MMP adicionado de *L. plantarum* verificou-se um decréscimo no valor do pH para ambos os métodos ($p < 0,05$). Desta forma, observou-se que *L. plantarum*, mesmo em baixas temperaturas, além de manter sua viabilidade (contagem não difere estatisticamente ao longo do tempo conforme item 4.2), promoveu alterações nos valores de pH pela liberação de íons H^+ no meio, devido a decomposição de ácidos orgânicos presente neste vegetal e atuação do seu próprio metabolismo. Isso pode ser explicado, possivelmente, pela sua capacidade heterofermentativa, característica que possibilita esse micro-organismo atuar e utilizar diferentes vias bioquímicas fermentativas.

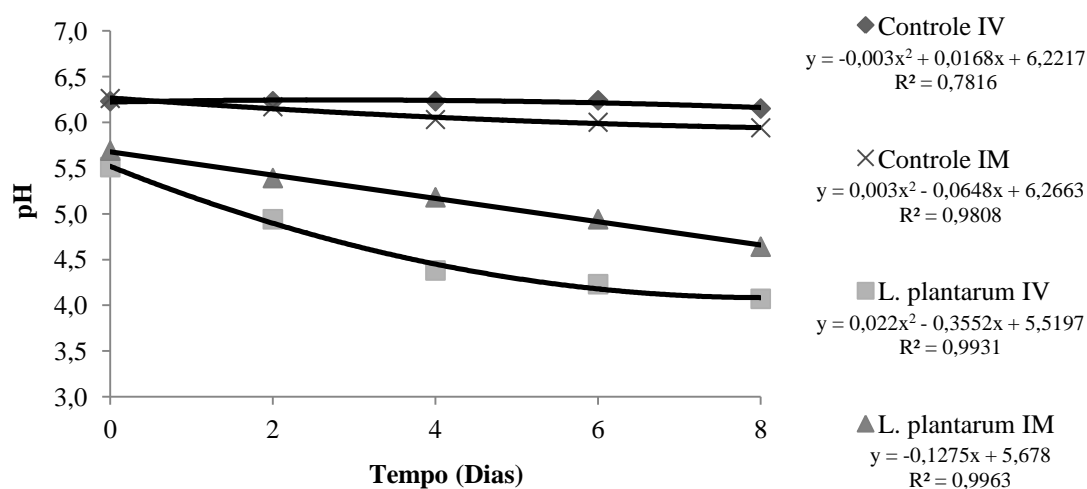


Figura 6. Variação do pH de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas ao longo do período de armazenamento.

IV: Impregnação a vácuo; IM: Imersão. A legenda da figura está seguida da equação de regressão e coeficiente de determinação para cada tratamento.

Para a acidez, como observado também para o pH, verificou-se que os tratamentos controle e os inoculados de *L. acidophilus* por imersão e impregnação a vácuo não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si, tanto imediatamente após o processamento como ao longo do período de estocagem. Também, verificou-se que apenas os tratamentos adicionados de *L. plantarum* apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), tanto após o processamento como ao longo do período de armazenamento (Figura 7), sendo o melão minimamente processado adicionado de *L. plantarum* por IV o tratamento que mais variou ($2,98 \pm 0,32$ mg de ácido cítrico por 100 g de amostra imediatamente após o processo e $7,46 \pm 0,28$ mg de ácido cítrico por 100 g de amostra após 8 dias de armazenamento). Desta forma, evidencia-se que o MMP adicionado de *L. plantarum* por IV além de apresentar o maior aumento na produção de ácido foi também o tratamento que apresentou maior redução no valor de pH conforme visto anteriormente. Além disso, imediatamente após o processamento verificou-se que a contagem de *L. plantarum* em MMP utilizando o método de impregnação a vácuo foi superior em relação ao MMP adicionado do mesmo micro-organismo por imersão, conforme verificado no item 4.2.

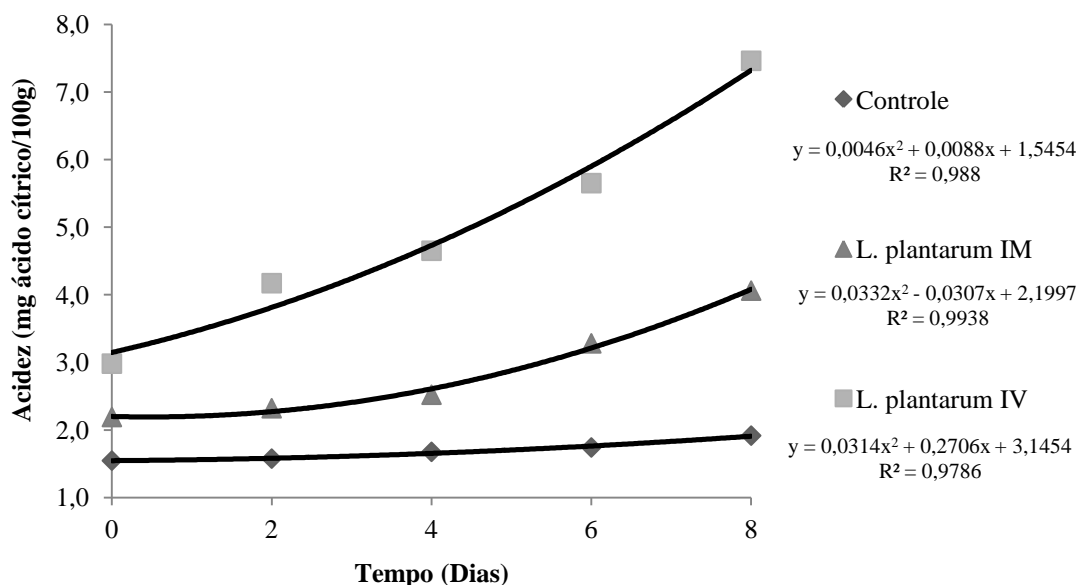


Figura 7. Variação da acidez de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo *L.plantarum* ao longo do período de armazenamento.

IV: Impregnação a vácuo; IM: Imersão. A legenda da figura está seguida da equação de regressão e coeficiente de determinação para cada tratamento.

Assim, destaca-se que o método de impregnação a vácuo favoreceu a manutenção da viabilidade deste micro-organismo em MMP o que proporcionou uma maior alteração nas características físico-químicas de pH e acidez em relação ao método de imersão. No entanto, essas alterações podem ser indesejáveis do ponto de vista sensorial, visto que elas podem afetar as características de aroma, sabor, cor e textura resultando em uma depreciação do produto. Logo, sugere-se a utilização do método de imersão para incorporação de *L. plantarum*, uma vez que no final da estocagem as contagens não diferiram e o micro-organismo manteve sua viabilidade. Portanto o produto pode ser considerado probiótico, sendo que o tratamento por imersão promoveu menores danos às características físico-químicas do melão minimamente processado.

O aumento da acidez titulável dos frutos ao longo do período de armazenamento também pode indicar uma possível síntese de ácidos orgânicos, assim como relatado por Fernandes et al. (2010) em mamão formosa armazenado em atmosfera modificada passiva. De acordo com os autores, o aumento da acidez dos frutos pode ser atribuído à formação do ácido galacturônico no processo de degradação da parede celular, processos que ocorrem durante o amadurecimento dos vegetais. Assim, além da atuação das enzimas microbianas, uma série de reações

enzimáticas e químicas acontecem concomitantemente durante o armazenamento, o que favorece o amadurecimento e senescência do vegetal. Além disso, de acordo com Alves et al. (2010), outro fato que contribui para aumento da acidez em vegetais é o baixo metabolismo respiratório, principalmente a baixas temperaturas, o que gera um acúmulo de ácidos nos vacúolos, à medida que os teores de sólidos solúveis aumentam.

Para o teor de sólidos solúveis totais, verificou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos independente da técnica e do micro-organismo utilizados, apresentando média de $9,77 \pm 0,22$ °Brix. Após 8 dias de armazenamento, somente o melão minimamente processado adicionado de *L. plantarum* por IV apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), variando de $9,97 \pm 0,25$ °Brix imediatamente após o processamento a $11,17 \pm 0,31$ °Brix após 8 dias de estocagem a 5 °C, o que pode ter ocorrido devido a maior penetração de solução no interior do tecido vegetal pelo método de impregnação a vácuo que, conseqüentemente, acelerou o processo de senescência da fruta, devido ao aumento da degradação de sacarose e polissacarídeos de reserva como o amido, aumentando, assim, os sólidos do vegetal.

Em geral, o conteúdo de sólidos solúveis tende a aumentar com o amadurecimento devido ao aumento do teor de açúcares simples do fruto, seja por biossíntese, pela degradação de polissacarídeos ou pela perda de água dos frutos resultando em maior concentração dos mesmos (CHITARRA; CHITARRA, 2005; BENÍTEZ et al., 2013). De acordo com Rodrigues et al. (2006), este aumento pode ser devido a degradação da pectina e da conversão de hidratos de carbono em açúcares simples durante o armazenamento, causada pela atividade metabólica dos tecidos e de enzimas microbianas.

Em trabalho similar, Rößle et al. (2010a) utilizando o método de imersão em uma matriz vegetal, maçã minimamente processada, e a estirpe de *L. rhamnosus* GG, não verificaram diferenças nos parâmetros de pH, acidez e sólidos solúveis totais após 10 dias de armazenamento a 2 e 4 °C.

Por outro lado, Alegre et al. (2011) trabalharam com maçãs minimamente processadas inoculadas com *L. rhamnosus* e observaram diferença significativa na acidez entre as maçãs do tratamento controle e as inoculadas com a bactéria, após 7 dias de armazenamento a 10 °C. Martins (2012) em seu trabalho com salada de frutas minimamente processada adicionada de *L. rhamnosus* não constatou diferença significativa para o pH, acidez e sólidos solúveis durante 5 dias de armazenamento a

8 °C. No entanto, quando a autora comparou entre os tratamentos (controle e adicionado da cultura), constatou-se valores de pH e acidez diferentes das saladas de frutas destes tratamentos. A redução do pH e aumento da acidez do produto se deu, de acordo com a autora, provavelmente, à produção de ácidos, uma vez que *L. rhamnosus* é uma bactéria heterofermentativa. Desta forma, destaca-se que o vegetal, o micro-organismo e a temperatura exercem uma grande influência sobre as alterações físico-químicas do produto.

Como verificado neste trabalho o método empregado para adição de bactérias probióticas em MMP (impregnação a vácuo ou imersão) pode resultar em diferenças nos parâmetros físico-químicos da fruta e na contagem inicial dos micro-organismos estudados.

5.3.2. Determinação de vitamina C em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas

Verificou-se, imediatamente após o processamento, maiores teores de vitamina C para o tratamento adicionado de *L. plantarum* por impregnação a vácuo ($3,85 \pm 0,34$ mg/100g, $p < 0,05$), seguido do mesmo micro-organismo pelo método de imersão ($2,94 \pm 0,39$ mg/100g, $p < 0,05$), destacando novamente que o método de impregnação a vácuo promoveu maior incorporação de substâncias ao vegetal em comparação ao método de imersão. Já os tratamentos controle e os MMP adicionados de *L. acidophilus* não diferiram entre si ($p > 0,05$) apresentando os menores conteúdos de vitamina C ($p < 0,05$) (Figura 8). Acredita-se que o maior conteúdo de vitamina C encontrado nos tratamentos adicionados de *L. plantarum* seja devido a presença de alguma substância na formulação comercial do preparado celular desta bactéria.

Ao longo da estocagem a 5 °C, verificou-se um decréscimo no conteúdo de vitamina C para todos os tratamentos ($p < 0,05$), o que era esperado uma vez que os vegetais estavam em atmosfera não controlada da presença de oxigênio. Além disso, de acordo com Maia et al. (2008) o conteúdo de vitamina C geralmente reduz após o processamento devido a descompartimentalização dos tecidos oriunda do corte dos produtos minimamente processados, podendo ocorrer oxidação direta do ácido ascórbico/vitamina C, por meio da atividade da enzima ácido ascórbico oxidase, ou indireta, devido à atividade de peroxidase, polifenoloxidase e citocromo oxidase (BEAULIEU, 2011). A perda da vitamina C pode ocorrer também junto ao exudado do melão minimamente processado, uma vez que este micronutriente é hidrossolúvel.

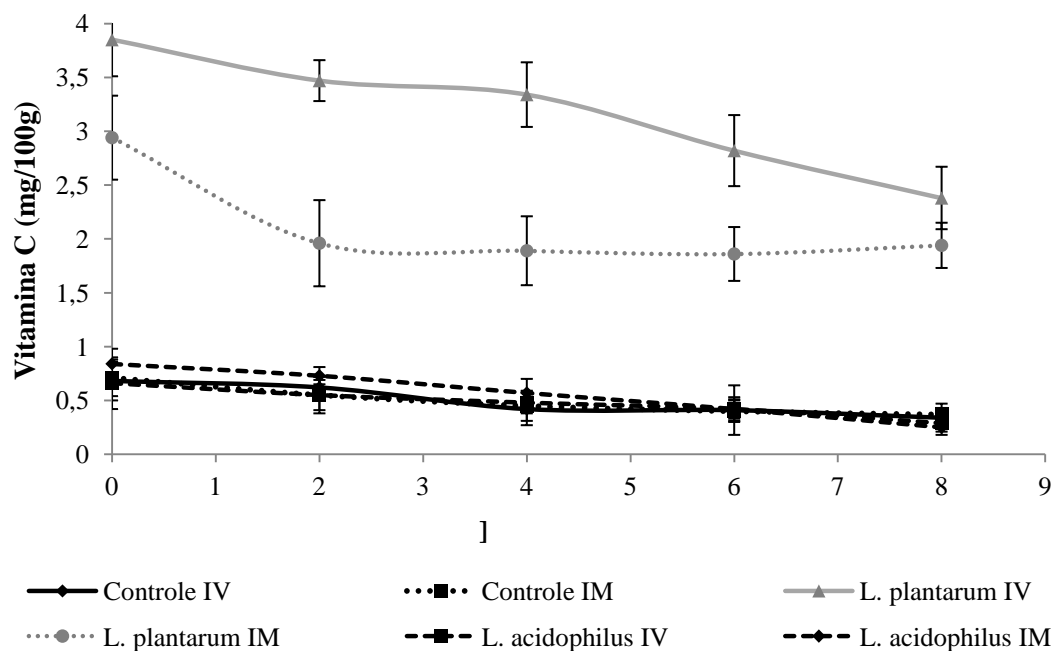


Figura 8. Variação do teor de vitamina C de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas ao longo do período de armazenamento.

LA: *L. acidophilus*; LP: *L. plantarum*; IV: Impregnação a vácuo; IM: Imersão.

Rodrigues (2012) não observou diferença significativa para o conteúdo de vitamina C em goiabas minimamente processadas adicionadas de *L. acidophilus* e *L. plantarum* pela técnica de IV armazenadas em atmosfera modificada passiva sem controle do oxigênio, por 10 dias a 7 °C.

A Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitamina C de acordo com a RDC. n. ° 269 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é de 45 mg/dia (Brasil, 2005). Assim, considerando a legislação brasileira e os resultados obtidos, o consumo de 100 g de MMP adicionado de *L. plantarum* por IV imediatamente após o processamento equivale a 8,44 % da ingestão diária recomendada pela ANVISA, o que mostra que o produto não é uma boa fonte de vitamina C.

5.4. Determinação de cor em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por impregnação a vácuo e imersão

Imediatamente após o processamento verificou-se que os melões que foram submetidos à etapa de imersão não apresentaram diferença entre si quanto a coordenada L* ($p > 0,05$), apresentando médias superiores em comparação com os melões submetidos à etapa de impregnação a vácuo ($p < 0,05$). Os melões

minimamente processados adicionados de *L. plantarum* por IV apresentaram uma luminosidade inferior aos melões adicionados de *L. acidophilus* pela mesma técnica ($p < 0,05$), no entanto não apresentaram-se diferentes do tratamento controle submetido à etapa de impregnação a vácuo (Figura 9).

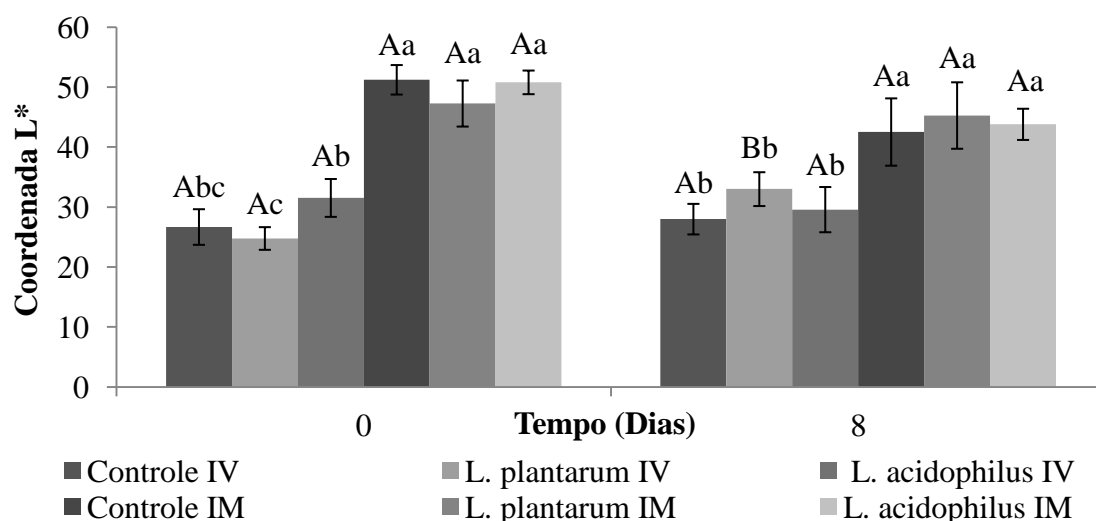


Figura 9. Variação da Coordenada L* de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas nos dias 0 e 8 após o processamento.

IV: Impregnação a vácuo; IM: Imersão.

Letras maiúsculas iguais e letras minúsculas iguais não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Letras maiúsculas comparam ao longo do tempo e letras minúsculas comparam os tratamentos.

Desta forma, destaca-se que a impregnação a vácuo resulta numa redução inicial da luminosidade de MMP uma vez que o elevado nível de vácuo aumenta a porosidade do tecido vegetal, como resultado de uma maior expansão e liberação do gás do interior dos poros dos vegetais. Logo, alto nível de vácuo permite melhor remoção do ar e do líquido nativo a partir da estrutura do tecido. Depois da restauração da pressão atmosférica, um volume maior de líquido penetrará nos poros do vegetal por meio dos fenômenos de impregnação (DEROSSI; PILLI; SEVERINI, 2010). Assim, devido a maior quantidade de solução impregnada no tecido vegetal, menor o número de poros ou bolhas de ar no tecido, o que resulta em uma maior refletância de feixes de luz promovendo a redução da luminosidade do produto. Este resultado pode comprometer a aceitação e intenção de compra deste produto, visto

que a aparência é um dos principais parâmetros utilizados pelos consumidores no momento da compra.

Após 8 dias de estocagem verificou-se que os melões não apresentaram diferença significativa na coordenada L^* em comparação com o tempo zero ($p>0,05$), exceto para o tratamento inoculado com *L. plantarum* por IV ($p<0,05$), que apresentou um aumento dessa coordenada após este período, o que pode ser explicado, possivelmente, pela perda de estrutura do vegetal, devido ao rompimento da célula durante o processo de impregnação a vácuo que, juntamente com a ação do micro-organismo, resultaram em um aumento da liberação de solução do tecido vegetal com conseqüente incremento da luminosidade. No entanto, mesmo com este aumento, os melões submetidos à etapa de imersão mantiveram maiores valores de luminosidade comparados com os tratamentos submetidos ao processo de impregnação a vácuo ($p<0,05$).

Puende; Betoret; Cortés (2009) verificaram que após a impregnação a vácuo fatias de maçã se tornaram mais escuras, ratificando que a impregnação a vácuo reduz a luminosidade das frutas devido à remoção do oxigênio dos poros com o aumento da reflectância.

Para a coordenada a^* dos melões minimamente processados adicionados de bactérias probióticas, verificou-se imediatamente após o processamento que as amostras não apresentaram diferença entre si ($p>0,05$), com valores ligeiramente acima de zero (localizadas mais próximas ao vermelho), com exceção das amostras inoculadas com *L. plantarum* que apresentaram valores negativos (mais próximos ao verde) diferindo das demais amostras ($p<0,05$). Para os MMP adicionados de *L. acidophilus* o valor médio para a coordenada a^* foi de $1,45 \pm 0,41$; para os melões do tratamento controle a média foi $1,38 \pm 0,34$; e, para os tratamentos adicionados de *L. plantarum*, esse valor foi $-10,04 \pm 1,41$. Essa diferença se deve ao corante azul brilhante presente na formulação do produto comercial contendo *L. plantarum*.

Desta forma, destaca-se que para comercialização de MMP adicionado de *L. plantarum* é necessário uma purificação com remoção deste corante, a fim de manter as características de cor deste produto inalteradas. O mesmo resultado foi observado após 8 dias de estocagem, no qual as amostras não apresentaram alteração neste parâmetro, exceto para o MMP adicionado de *L. plantarum* por IV que apresentou uma redução nesta coordenada ($p<0,05$).

Para os resultados da coordenada b* dos melões minimamente processados adicionados de micro-organismos probióticos (Figura 10), verificou-se que os tratamentos controle submetidos à etapa de imersão e o MMP adicionado de *L. acidophilus* também por imersão apresentaram as maiores médias ($p < 0,05$) (valores mais próximos ao amarelo), tanto imediatamente após o processamento como após 8 dias de estocagem. Estes tratamentos foram aqueles que mantiveram as cores características deste produto, sendo mais apreciados visualmente.

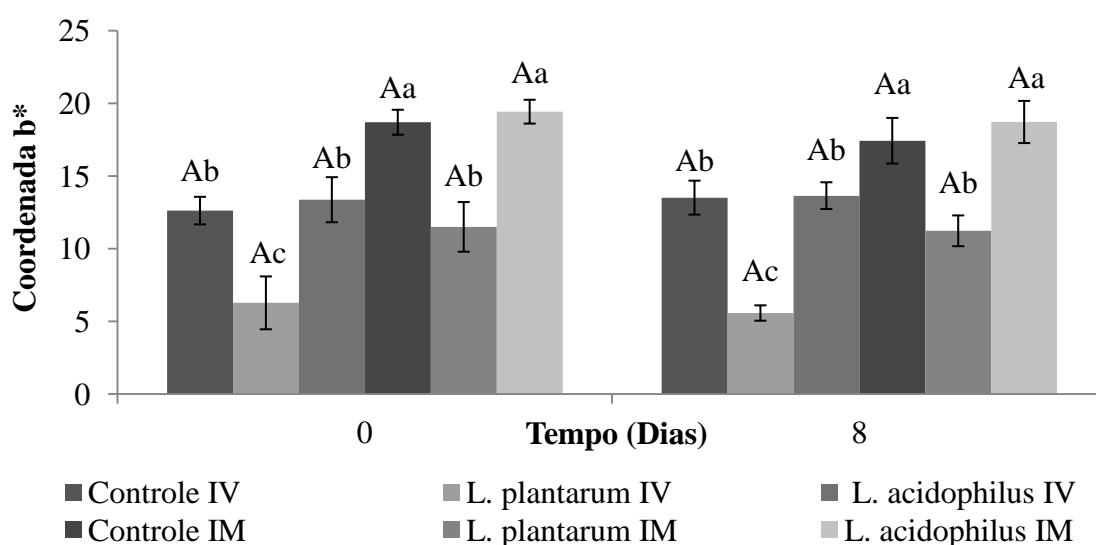


Figura 10. Variação da Coordenada b* de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas nos dias 0 e 8 após o processamento.

IV: Impregnação a vácuo; IM: Imersão. Letras maiúsculas iguais e letras minúsculas iguais não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey. Letras maiúsculas comparam ao longo do tempo e letras minúsculas comparam os tratamentos.

Já o MMP adicionado de *L. plantarum* por imersão apresentou uma redução desta coordenada em comparação com os outros tratamentos da mesma técnica ($p < 0,05$). Novamente, destaca-se como fator negativo a presença do corante presente no produto comercial contendo o micro-organismo que, provavelmente, impactou negativamente, descaracterizando a cor do produto. Observou-se também que o método de impregnação a vácuo resultou em menores valores para esta coordenada em comparação com o método de imersão ($p < 0,05$). Desta forma, destaca-se que, além das alterações promovidas nas características físico-químicas causadas pelo método de impregnação a vácuo, esta técnica também apresentou efeitos indesejáveis nas características de cor de MMP.

Após 8 dias de estocagem não foi verificada alterações significativas da coordenada b^* para cada tratamento ($p > 0,05$), ou seja, as diferenças evidenciadas imediatamente após o processamento entre os tratamentos se mantiveram ao longo da vida de prateleira.

Os resultados dos MMP adicionados de bactérias probióticas para o índice Chroma (C^*) (Figura 11), que descreve sobre a saturação ou intensidade da cor, mostram que após o processamento as amostras controle e adicionada de *L. acidophilus* por imersão apresentaram novamente as maiores médias ($p < 0,05$) sendo, desta forma, consideradas as amostras com cores mais vivas. Segundo Cardoso et al. (2007), valores de C^* menores correspondem ao padrão de cor mais fraco ("aspecto fosco do objeto") e valores mais altos correspondem ao padrão de cor mais forte ("cores vivas"), aspecto desejado para alimentos.

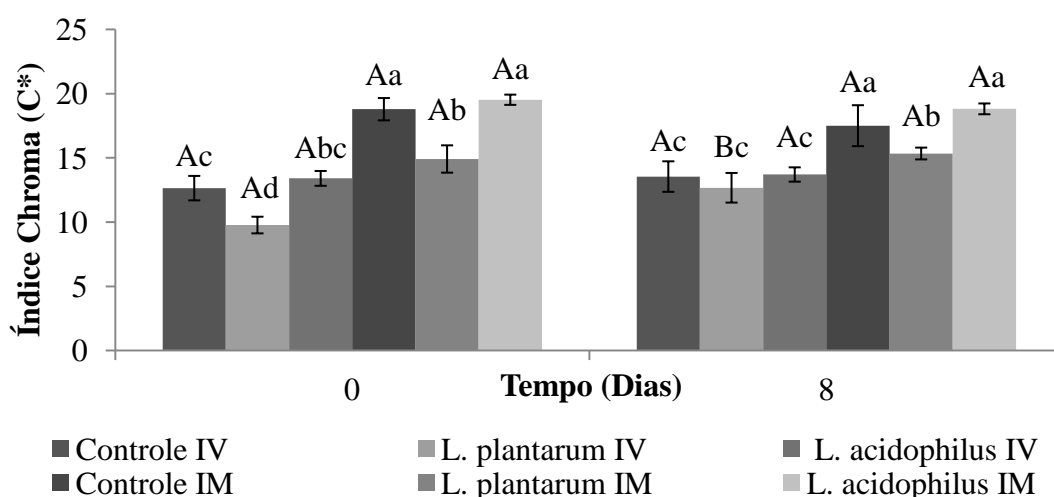


Figura 11. Variação do índice Chroma de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas ao longo do período de armazenamento.

IV: Impregnação a vácuo; IM: Imersão. Letras maiúsculas iguais e letras minúsculas iguais não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey. Letras maiúsculas comparam ao longo do tempo e letras minúsculas comparam os tratamentos.

O mesmo foi observado ao longo do tempo, onde as amostras controle e adicionadas de *L. acidophilus* por imersão mantiveram os maiores valores de C^* ($p < 0,05$). Observou-se que o método de impregnação a vácuo e a presença de *L. plantarum* resultaram numa redução dos valores de C^* . Pode-se destacar que o método de imersão e a adição de *L. acidophilus* mantiveram as características de cor do produto mais próxima ao natural, o que provavelmente aumenta sua aceitabilidade

devido a inserção do apelo probiótico aliado aos benefícios promovidos por esta bactéria ao organismo humano.

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados do Ângulo Hue (H°) de melões minimamente processados adicionados de bactérias probióticas. O H° mostra a localização da cor em um diagrama, onde o ângulo 0° representa o vermelho puro, o de 90° representa o amarelo puro, o ângulo de 180° o verde puro e o de 270° o azul (CHIUMARELLI; FERREIRA, 2004).

Tabela 3. Variação do ângulo Hue de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas nos dias 0 e 8 após o processamento

Ângulo Hue (H°)	Tempo (Dias)	
	0	8
Controle IV	85,92 ± 1,45 Ab	85,56 ± 1,06 Ab
L. plantarum IV	139,30 ± 13,19 Aa	153,69 ± 4,10 Aa
L. acidophilus IV	85,76 ± 1,54 Ab	84,64 ± 1,51 Ab
Controle IM	84,29 ± 0,77 Ab	84,61 ± 0,97 Ab
L. plantarum IM	129,61 ± 5,47 Aa	132,84 ± 4,84 Aa
L. acidophilus IM	84,61 ± 2,39 Ab	84,12 ± 1,20 Ab

IV: Impregnação a vácuo; IM: Imersão.

Letras maiúsculas iguais na linha e minúsculas na coluna não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Letras maiúsculas comparam ao longo do tempo e letras minúsculas comparam os tratamentos.

Observou-se que, tanto imediatamente após o processamento como após 8 dias de estocagem, as amostras adicionadas de L. plantarum apresentaram os maiores valores ($p < 0,05$) resultando em cores mais próximas do verde, sendo que as outras amostras não apresentaram diferença entre si ($p < 0,05$) resultando em cores mais próximas do amarelo. A cor esverdeada pode ser provavelmente devido a presença do corante azul brilhante, o qual promoveu uma mudança na coloração dos melões de amarelo para um tom verde azulado (Figura 13), que conseqüentemente resultou numa mudança do Ângulo Hue.

Os resultados de ΔE dos melões minimamente processados adicionados de bactérias probióticas (Tabela 4) mostram que os tratamentos adicionados de L. plantarum foram os que obtiveram os maiores valores para o ΔE , apresentando,

assim, as maiores diferenças comparados com os respectivos tratamentos controle seja pela técnica de impregnação a vácuo ou pela técnica de imersão. Esse fato também se deve, possivelmente, ao corante contido na formulação do preparado celular comercial deste micro-organismo, o qual pode ter impactado de forma negativa na avaliação do ΔE do produto, promovendo uma descaracterização da cor do melão minimamente processado.

Tabela 4. Variação do índice de escurecimento (ΔE) de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas nos dias 0 e 8 após o processamento

ΔE	Impregnação a vácuo		Imersão	
	Dia 0	Dia 8	Dia 0	Dia 8
Controle	---	2,65 ± 1,61	---	9,32 ± 1,04
L. plantarum	10,67 ± 1,90	15,56 ± 1,76	14,35 ± 1,42	16,06 ± 1,40
L. acidophilus	4,92 ± 1,20	3,91 ± 0,98	1,79 ± 0,98	7,45 ± 1,99

O ΔE mede a diferença de cor entre a fruta processada e o controle. Quanto maior o valor de ΔE , maior a diferença total de cor do produto processado em relação ao tratamento controle avaliado. De acordo com Adekunt et al. (2010), as diferenças na cor podem ser analiticamente classificadas como muito distinta ($\Delta E > 3,0$), distinta ($1,5 < \Delta E < 3,0$) e pouco distinta ($\Delta E < 1,5$).

Por outro lado, verificou-se que o MMP adicionado de *L. acidophilus*, tanto por impregnação à vácuo como por imersão, apresentaram menores valores de ΔE , sendo que o MMP adicionado *L. acidophilus* pela técnica de imersão apresentou o menor valor logo após o processamento. Possivelmente, essa diferença de cor não será diferenciada pelo consumidor em comparação com o tratamento controle. Além disso, o MMP adicionado de *L. acidophilus* por imersão apresentou menor alteração após 8 dias de estocagem em comparação com o tratamento controle após o mesmo período de armazenamento. Assim, verifica-se que o melão minimamente processado adicionado de *L. acidophilus* não promoveu alterações nas características de cor do produto, ampliando o poder de compra desta fruta minimamente processada pela agregação dos benefícios promovidos pela presença do micro-organismo probiótico.

5.5. Avaliação da Incorporação de componentes após a impregnação a vácuo e imersão de bactérias probióticas em melão minimamente processado

Verificou-se que a técnica de impregnação a vácuo incorporou maior quantidade de componentes ao melão minimamente processado comparado com a técnica de imersão em todos os tratamentos, sendo que no processo de impregnação à vácuo houve uma incorporação média de 8,80 %, enquanto para a técnica de imersão essa média foi de 2,42 %, ou seja, 3,63 vezes mais solução foi incorporada pela técnica de impregnação a vácuo (Tabela 5). Esse resultado mostra que uma maior quantidade de componentes, neste caso, micro-organismos probióticos e componentes presentes no tampão (ácido cítrico, citrato de sódio, bactérias probióticas e água) foram incorporados ao MMP utilizando-se a técnica de IV. Como prova desse fato, maiores contagens de micro-organismos probióticos foram observadas nos melões minimamente processados quando adicionados pela técnica de IV.

Tabela 5. Valores médios do índice de incorporação de componentes (%) após as etapas de impregnação a vácuo e imersão de melões minimamente processados adicionado de bactérias probióticas

Tratamentos	Índice de Incorporação (%)
Controle por IV	9,33 ± 1,02 a
Controle por IM	2,04 ± 0,25 b
Inoculado com <i>L. plantarum</i> por IV	8,40 ± 0,82 a
Inoculado com <i>L. plantarum</i> por IM	2,78 ± 0,30 b
Inoculado com <i>L. acidophilus</i> por IV	8,68 ± 0,03 a
Inoculado com <i>L. acidophilus</i> por IM	2,44 ± 0,25 b

Letras minúsculas iguais não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey. IV: impregnação a vácuo; IM: imersão.

De acordo com Fito (1994), quando o vácuo é aplicado ao sistema, o ar do interior do tecido flui para o exterior por meio do espaço poroso do alimento. Esses espaços, que antes continham ar, são, então, preenchidos por uma solução externa (LAURINDO et al., 2007), fazendo com que uma maior quantidade de solução penetre para o interior do tecido vegetal comparado com a técnica de imersão, que não apresenta essa remoção do ar, visto que não há a utilização do vácuo. Desta

forma, ao final do processo de imersão, o produto apresentará maior proporção de poros com ar e menor quantidade de solução no interior do tecido vegetal, como verificado neste estudo.

No estudo realizado por Hironaka et al. (2011) os autores constataram que as batatas que não sofreram ação do vácuo, submetidas a técnica de imersão, tiveram baixa incorporação de ácido ascórbico. Por outro lado, nas batatas que foram submetidas a impregnação à vácuo o conteúdo de ácido ascórbico aumentou significativamente. Desta forma, evidencia-se que a técnica de impregnação à vácuo é mais eficiente para incorporação de componentes em vegetais minimamente processados comparado com a técnica de imersão. Em outro estudo, Rodrigues (2013) trabalhando com goiaba minimamente processada adicionada de bactérias probióticas por IV, observou que as soluções de *L. acidophilus* e *L. plantarum* utilizadas como líquido de impregnação apresentaram uma incorporação média de 20,4%. Com isso, verifica-se que, além das diferenças entre as técnicas utilizadas, a porcentagem de incorporação pode apresentar uma grande variação entre vegetais, o que está relacionado com a porosidade de cada vegetal.

5.6. Determinação de firmeza e de perda de massa de melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por impregnação a vácuo e imersão

Verificou-se que a técnica de impregnação a vácuo promoveu uma redução na firmeza de melão minimamente processado adicionado de micro-organismos probióticos ($p < 0,05$) (Figura 12). As condições de vácuo são extremamente eficazes em produtos altamente porosos, como o melão usado neste estudo, uma vez que o vácuo retira o ar preso no interior dos poros do tecido vegetal durante o processo de impregnação a vácuo e, na restauração da pressão atmosférica, uma maior quantidade de líquido penetra por esses poros (FITO et al., 1996; CHÁFER et al., 2001; CHÁFER et al., 2003). No entanto, a aplicação do vácuo pode provocar danos na estrutura das células dos vegetais pela expansão do gás contido no interior do tecido vegetal. Esse fenômeno pode induzir a efeitos irreversíveis devido à força mecânica. Tais efeitos geralmente levam a perda de rigidez da estrutura provocada pelo “debonding” (desligamento) ou ruptura nas junções da parede celular (MERLIN, 2007), fato esse que explica a maior perda de firmeza e perda de peso dos MMP submetidos à IV.

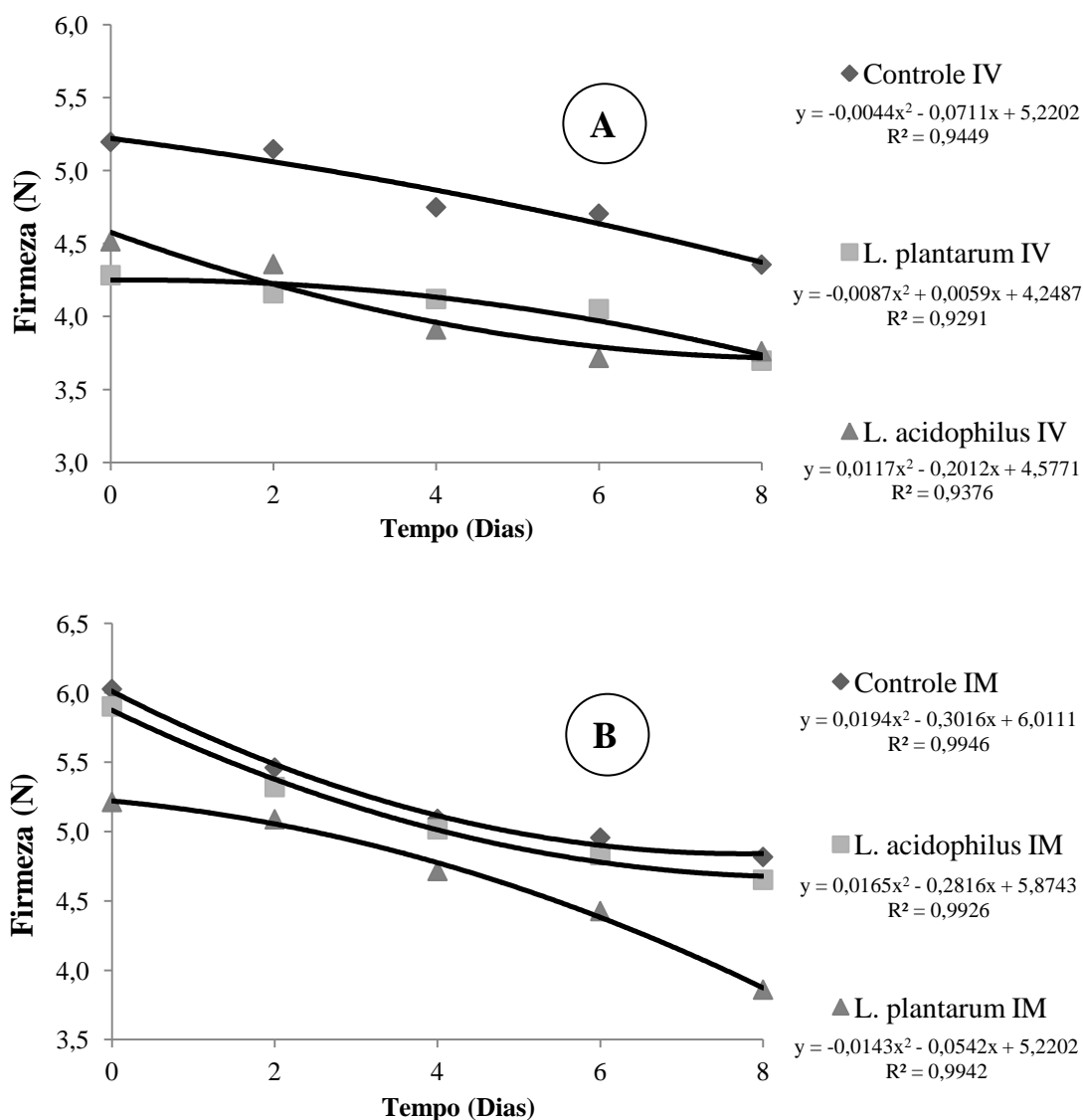


Figura 12. Variação da firmeza de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas por impregnação a vácuo (A) e imersão (B) ao longo do período de armazenamento.

IV: Impregnação a vácuo; IM: Imersão. A legenda da figura está seguida da equação de regressão e coeficiente de determinação para cada tratamento.

Observou-se, ao longo do período de armazenamento, que os tratamentos submetidos à etapa de imersão também apresentaram redução na firmeza (Figura 12), o que pode estar correlacionado com a perda de suco celular e ação de enzimas pécicas, como a β -galactosidase, sobre a parede celular e lamela média dos melões, favorecendo o amolecimento do tecido e, conseqüentemente, a redução da firmeza.

Segundo Ranwala; Suematsu; Masuda, (1992), a β -galactosidase foi avaliada como uma enzima importante para regular o amolecimento de frutas.

Já os MMP submetidos à etapa de impregnação a vácuo não apresentaram reduções significativas na firmeza ao longo do período de estocagem. Isto se deve, provavelmente, a perda de firmeza inicial do produto devido a ação do vácuo e também a possível perda de enzimas arrastadas pelo gás e líquido nativo do melão durante o processo de impregnação a vácuo.

Como observado nesse estudo, Supapvanich; Tucker (2011) verificaram em seu trabalho com melão "Honeydew" que a firmeza da fruta minimamente processada também decresceu ao longo de período de armazenamento. Os autores associam a perda de firmeza com a maior liberação de exudado do produto minimamente processado, mas também afirmam que esse não é o único fator que afeta o amolecimento do tecido do vegetal.

Supapvanich (2009) relatou que a atividade de pectinametilesterase do melão Cantaloupe intacto e minimamente processado diminuiu durante o armazenamento. Contudo, foi detectado um alto nível de atividade de β -galactosidase nos melões minimamente processados ao longo do período de estocagem.

De acordo com Holland (1993), a perda de firmeza também está relacionada à modificação de polissacarídeos hemicelulósicos e pécnicos. BLEINROTH (1994) relatou que a firmeza da polpa do melão é dada pela protopectina, composto pécnico parcialmente insolúvel, localizado na lamela média das células adjacentes e na parede primária. À medida que o amadurecimento avança a protopectina vai sendo convertida em compostos solúveis levando a um amaciamento dos tecidos. No entanto, Menezes et al. (1995), verificaram estabilidade destes compostos pécnicos durante o armazenamento de melão amarelo 'Agroflora 646', e sugeriram que o amolecimento de melão pode estar relacionado com outros processos, tais como, a perda da integridade da membrana das células mesocárpicas e rompimento das interações iônicas entre polímeros da parede celular, o que pode ter ocorrido também com os frutos do presente trabalho.

Em um estudo realizado por Rößle et al. (2011), duas marcas diferentes de mel foram impregnadas em maçãs recém cortadas usando uma pressão de vácuo de 525 mmHg por 10 minutos sendo constatado que a IV reduziu a firmeza dos cortes de maçã em comparação ao produto não impregnado. Desta forma, verifica-se que a impregnação à vácuo pode ser um ponto crítico para a perda de firmeza e,

consequentemente, aceitabilidade de vegetais minimamente processados logo após o processamento. Em outro estudo, Rößle et al. (2010) verificaram que maçãs minimamente processadas adicionadas de *L. rhamnosus* por imersão perderam a firmeza após o segundo dia de armazenamento a 5 °C. De acordo com os autores isso pode ter ocorrido em consequência da imersão das fatias de maçã em solução probiótica, a qual poderia induzir o amolecimento do tecido, além da atuação de enzimas sobre a estrutura do vegetal.

Independente da técnica utilizada, observou-se perda de firmeza do melão minimamente processado o que pode estar relacionado com o método empregado ou possivelmente com a atuação de enzimas sobre a estrutura do vegetal, como já relatado. Assim, sugere-se o desenvolvimento e a implementação de novas técnicas para manutenção da firmeza de vegetais, como por exemplo, a aplicação de sais de cálcio como agentes de firmeza.

Na Figura 13 estão apresentados os resultados para perda de massa dos MMP adicionados de bactérias probióticas e dos tratamentos controle. Verificou-se que os MMP adicionados de *L. plantarum*, independente da técnica utilizada para adição, e os MMP submetidos à etapa de IV em solução tampão sem adição de bactéria probiótica, apresentaram uma maior perda de massa ao longo do período de armazenamento ($p < 0,05$). Este resultado evidenciou que *L. plantarum* exerceu grande influência sobre a estrutura do tecido do vegetal, provavelmente devido à ação de enzimas que atuam sobre a parede celular e lamela média promovendo a sua degradação, onde parte da água livre contida no vegetal é perdida por meio do exudado celular liberado.

Comparando os tratamentos controle, verificou-se que o método de impregnação a vácuo promoveu maior perda de massa devido, provavelmente, a uma maior ruptura nas junções da parede celular, facilitando a liberação da água, evidenciado também pela maior perda de firmeza dos MMP submetidos ao processo de IV.

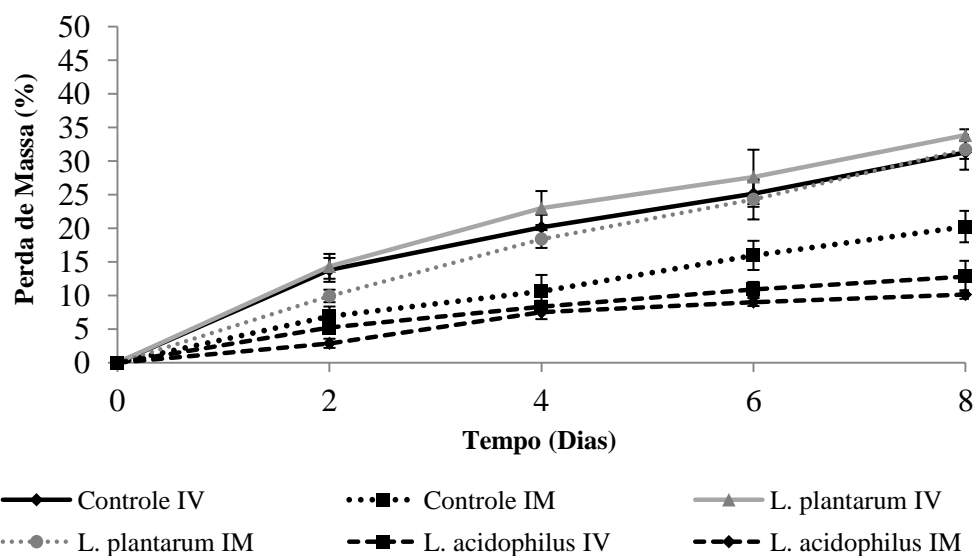


Figura 13. Perda de massa (%) de melão minimamente processado dos tratamentos controle e contendo bactérias probióticas ao longo do período de armazenamento.

IV: Impregnação a vácuo; IM: Imersão.

Além disso, em razão da maior incorporação de componentes nos melões minimamente processados submetidos à IV, maior quantidade de água livre estava presente, promovendo uma maior liberação de líquido durante o período de estocagem. Por outro lado, para os MMP adicionados de *L. acidophilus* (Figura 13) verificou-se, uma menor perda de massa ao longo do tempo ($p < 0,05$). Provavelmente, este micro-organismo apresentou uma menor atuação sobre os componentes da parede celular do vegetal o que manteve sua estrutura mais estável e com menor perda de massa ao longo do armazenamento.

5.7. Determinação das características microbiológicas

A resolução nº 12 de 02 de Janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde estabelece como padrão, o máximo de 5×10^2 NMP·g⁻¹ de coliformes termotolerantes por grama de fruta (BRASIL, 2001). De acordo com a legislação vigente, o melão minimamente processado inoculado com bactérias probióticas por IV e imersão e os tratamentos controle mantiveram suas características microbiológicas preservadas ao longo do período de armazenamento, indicando que as boas práticas de fabricação foram adotadas (Tabela 6). Apesar dos resultados estarem de acordo com a legislação brasileira, observou-se que as contagens de coliformes a 45 °C dos tratamentos

controle estavam acima das contagens dos tratamentos adicionados de micro-organismos probióticos. Esse fato pode ser justificado pela biopreservação, ou seja, pela ação das bactérias lácticas na prevenção do crescimento e atividade de micro-organismos indesejáveis, devido à sua grande diversidade de mecanismos de ação, tais como a produção de ácidos orgânicos, bacteriocinas, peróxido de hidrogênio, diacetil, entre outros compostos (PADMAJA et al., 2011).

Lima et al. (2009), em seu estudo com cenoura minimamente processada adicionada de *L. acidophilus* pela técnica de imersão, constataram resultados, para coliformes a 45 °C menor que 3,0 e 52 NMP·g⁻¹ para temperaturas de armazenamento de 5 e 7 °C, respectivamente. Por outro lado, Silva et al. (2013) que trabalharam com couve minimamente processada inoculada com *L. acidophilus* e *L. rhamnosus* observaram, após 96 horas de armazenamento a 8 °C, que todos os tratamentos estavam de acordo com a legislação brasileira vigente para as características microbiológicas. Desta forma, observa-se que a temperatura é um fator determinante para o crescimento de coliformes termotolerantes.

Tabela 6. Número Mais Provável de coliformes a 30 e 45 °C em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por IV e imersão

	Coliformes a 30 °C				Coliformes a 45 °C			
	Imp. Vácuo		Imersão		Imp. Vácuo		Imersão	
Dia	LA	Cont.	LA	Cont.	LA	Cont.	LA	Cont.
0	< 3,0	3,6	< 3,0	6,4	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0
8	3,6	33	3,6	165	< 3,0	18,6	9,2	36,6
Dia	LP	Cont.	LP	Cont.	LP	Cont.	LP	Cont.
0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	3,6	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0
8	3,6	33,3	3,6	132,4	< 3,0	9,3	3,6	16,8

LA: *L. acidophilus*; LP: *L. plantarum*.

As contagens de micro-organismos psicrotróficos em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por IV e imersão e também dos tratamentos controle (Tabela 7), demonstram, imediatamente após o processamento, baixas contagens nos produtos avaliados, mostrando que as boas práticas de fabricação foram adotadas, sendo observado maiores contagens para os tratamentos controle, devido a baixa competição por não conter micro-organismos probióticos em altas concentrações. Ao longo do período de estocagem a 5 °C observou-se um ligeiro aumento nas contagens deste grupo microbiano em todas as amostras, sendo

verificado um maior aumento para os tratamentos controle, visto que estes produtos apresentavam condições mais favoráveis ao desenvolvimento microbiano como ausência de micro-organismos probióticos em concentrações elevadas e maior pH.

Tabela 7. Contagem de micro-organismos psicrotróficos em melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por IV e imersão imediatamente após o processamento e após 8 dias de estocagem a 5 °C

Log UFC·g ⁻¹				
Impregnação a vácuo			Imersão	
Dia	L. acidophilus	Controle	L. acidophilus	Controle
0	1,0	2,0	1,0	2,2
8	2,6	6,5	2,7	6,5
Dia	L. plantarum	Controle	L. plantarum	Controle
0	1,0	1,9	1,4	2,0
8	3,0	7,1	3,1	7,0

Ao encontro do verificado neste estudo, Martins (2012) encontrou baixa contagem de micro-organismos psicrotróficos em salada de frutas minimamente processadas adicionadas de *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* e *L. plantarum* e tratamento controle logo após o processamento. No entanto, ao longo de 5 dias a temperatura de 8 °C, o autor constatou aumento desta microbiota, principalmente na salada de frutas controle comparada àquelas contendo probiótico. Essa diferença se deve, segundo o autor, provavelmente, à biopreservação, uma vez que estas culturas além de produzirem ácidos que promovem a redução do pH do meio, criando condições desfavoráveis ao crescimento microbiano, produzem peptídeos antimicrobianos que podem inibir ou inativar o desenvolvimento de bactérias indesejáveis em alimentos.

5.7. Microscopia Confocal de Varredura a Laser

O uso de vegetais tem sido amplamente discutido como uma alternativa para incorporação de bactérias probióticas na dieta, uma vez que frutas e hortaliças têm nutrientes que promovem o crescimento de micro-organismos probióticos e não oferecem aos consumidores os empecilhos dos produtos lácteos (MARTINS et al., 2013). Para comprovar a veiculação e viabilidade dessas culturas em produtos vegetais, a Microscopia Confocal de Varredura a Laser (MCVL) pode ser usada com sucesso.

A viabilidade celular em análises microscópicas pode ser avaliada com base em alterações morfológicas, alterações na permeabilidade da membrana ou estado fisiológico inferido a partir da exclusão de certos corantes ou a retenção de outros. As células vivas apresentam membranas intactas e podem ser avaliadas pela sua capacidade de excluir corantes que rapidamente atravessam a membrana de células mortas ou danificadas. O iodeto de propídio (IP) tem sido utilizado, na maioria das culturas celulares, para a avaliação de células não viáveis. Resumidamente, o IP não atravessa a barreira da membrana celular de células viáveis, uma vez que essa membrana não apresenta danos; contudo, quando a célula sofre algum tipo de estresse a membrana pode ser danificada, assim, o IP consegue penetrar e corar a célula não viável (TAVARES; TAVARES, 2009). Enquanto o IP penetra apenas em células mortas, o isotiocianato de fluoresceína (FITC) penetra em todas as células, de modo que células mortas apresentam coloração avermelhada/alaranjada e células vivas (viáveis) apresentam coloração esverdeada (CARSON; GORMAM; GILMORE, 2010; WANG et al., 2012).

As fotomicrografias, obtidas neste estudo, das superfícies de melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por IV (Figura 14) e imersão (Figura 15) revelaram um grande número de bactérias viáveis distribuídas desigualmente no dia 0. Após 8 dias de armazenamento a 5 °C números elevados de bactérias viáveis ainda estavam presentes nos cortes, no entanto percebe-se uma redução deste número (Figuras 14 e 15). Isto reflete os resultados mostrados no item 4.2, ou seja, uma redução na contagem de bactérias no oitavo dia após o processamento em comparação com o dia 0, para as amostras de melão contendo bactérias probióticas.

Pelas fotomicrografias não é possível identificar a concentração total de bactérias no produto, no entanto, percebe-se uma maior proporção de células vivas nos cortes de MMP adicionado de bactérias probióticas por IV. Isso se deve ao mecanismo hidrodinâmico que é o princípio da técnica de IV. O HDM proporciona uma maior interiorização das células no tecido vegetal que, por sua vez, confere uma maior proteção às bactérias. Além disso, constatou-se que as culturas probióticas apresentaram boa capacidade para adesão em melão minimamente processado por ambas as técnicas de adição (impregnação a vácuo e imersão).

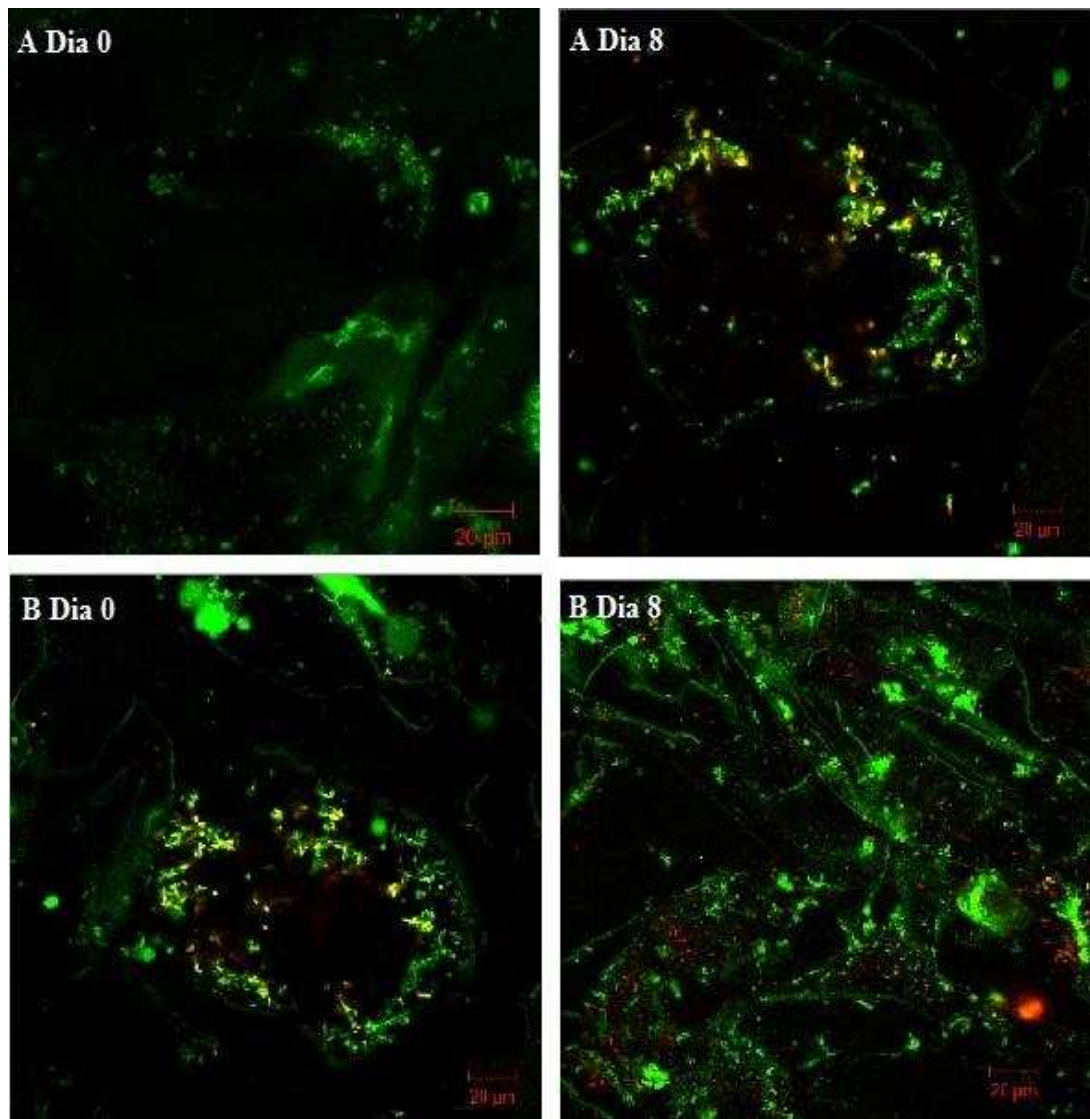


Figura 14. Fotomicrografias obtidas por MCVL das bactérias probióticas adicionadas ao MMP por impregnação a vácuo, no primeiro (Dia 0) e último (Dia 8) dia de armazenamento.

A: *L. acidophilus*; B: *L. plantarum*. Bactérias viáveis estão coradas de verde e bactérias não viáveis estão coradas de vermelho.

Estudos têm demonstrado que frutas possuem potencial para atuarem como veículo de probióticos com uma alta viabilidade celular em função das características intrínsecas dos vegetais (MARTINS, 2012). Os resultados e as fotos obtidos nessa pesquisa comprovam esse potencial dos vegetais como carreadores de microorganismos probióticos.

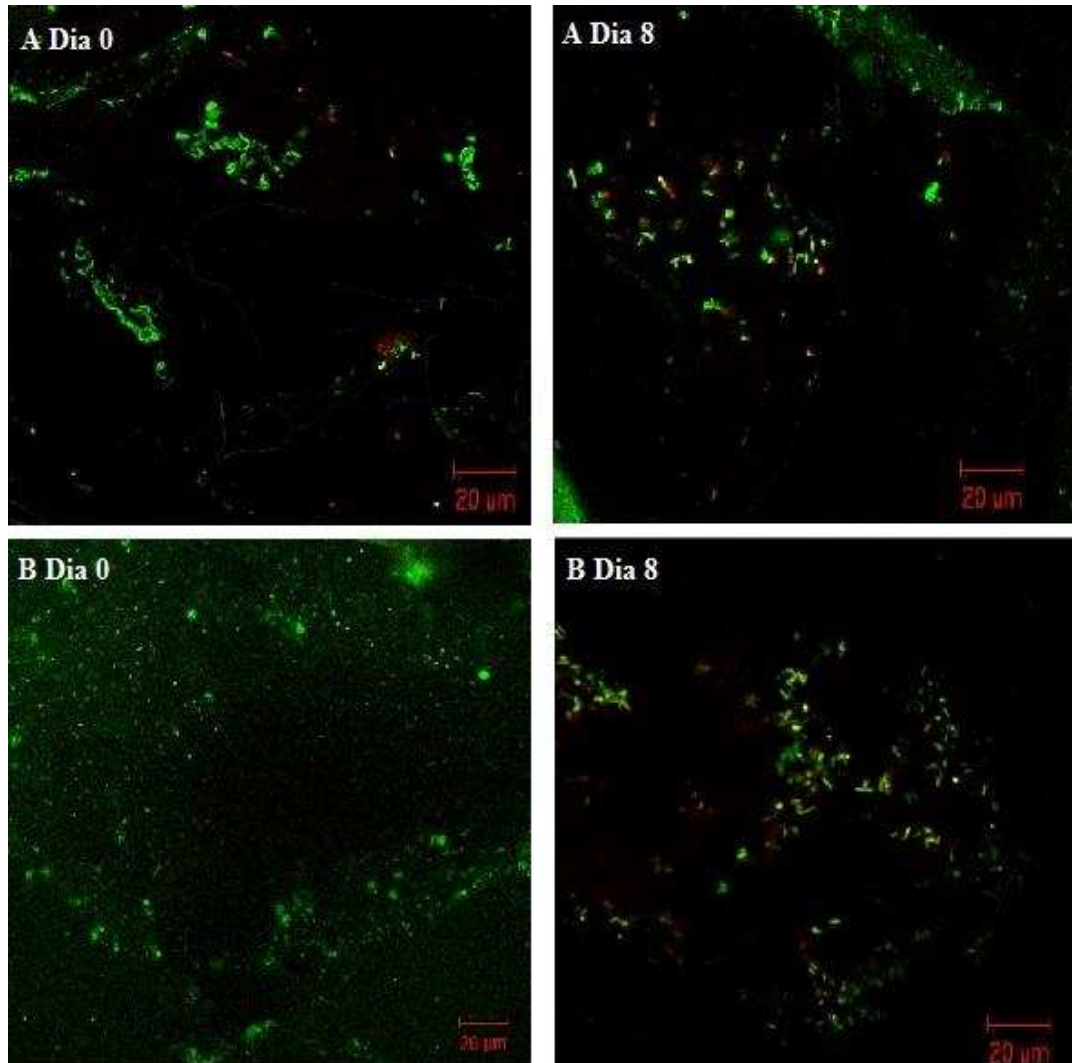


Figura 15. Fotomicrografias obtidas por MCVL das bactérias probióticas adicionadas ao MMP por imersão, no primeiro (Dia 0) e último (Dia 8) dia de armazenamento.

A: *L. acidophilus*; B: *L. plantarum*. Bactérias viáveis estão coradas de verde e bactérias não viáveis estão coradas de vermelho.

De acordo com Martins (2012), a adesão das culturas probióticas ao tecido das frutas pode ser atribuído à micro-estrutura e formato das mesmas, que abrigam os micro-organismos em nichos que viabilizam sua sobrevivência. Além disso, a presença de rugosidade na estrutura do vegetal e de compostos prebióticos naturais, como os oligossacarídeos, protegem os micro-organismos probióticos do ambiente ácido do estômago, além de ser fonte de nutrientes, o que influencia positivamente sua sobrevivência durante a passagem pelo trato gastro intestinal (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010).

5.8. Avaliação sensorial

A análise sensorial foi realizada logo após o processamento e após quatro dias de estocagem a 5 °C, afim de verificar se haveria diferença na aceitação das amostras pelos consumidores no início e após o armazenamento. Verificou-se que os melões minimamente processados adicionados de bactérias probióticas por impregnação à vácuo e tratamento controle também submetido a etapa de IV não apresentaram uma boa aceitação sensorial no dia zero, apresentando notas abaixo de 5,0, diferindo das demais ($p < 0,05$) (Tabela 8). Por outro lado, os melões tratados pela técnica de imersão obtiveram notas acima de 6,0, variando entre "gostei ligeiramente" e "gostei moderadamente" na escala hedônica empregada na realização da análise.

Desta forma, observou-se que imediatamente após o processamento, as amostras processadas pelo método de imersão apresentaram maiores médias, sendo mais aceitas e apreciadas pelos consumidores em comparação com os melões minimamente processados que utilizaram a técnica de impregnação à vácuo para incorporação das bactérias probióticas. Nos comentários descritos pelos julgadores, a maior perda de firmeza dos melões minimamente processados submetidos à etapa de impregnação a vácuo em comparação com os tratamentos submetidos à imersão foi a principal razão para a depreciação do produto. Além disso, alguns julgadores não gostaram do ligeiro sabor residual de ácido cítrico dos melões minimamente processados, uma vez que, de acordo com eles, é um sabor que não se espera encontrar em um melão minimamente processado. Como o método de impregnação à vácuo promoveu uma maior incorporação de componentes, possivelmente, uma maior quantidade de ácido estava presente nestes produtos, promovendo, desta forma, uma menor aceitação sensorial.

Após 4 dias de estocagem, verificou-se um ligeiro aumento em termos absolutos nas notas médias dadas pelos julgadores para todas as amostras, sendo verificado um aumento significativo na aceitação do tratamento controle por IV e do MMP inoculado com *L. acidophilus* também por IV. Isso se deve, provavelmente, à perda de exudado do produto com o passar do tempo, uma vez que a solução tampão é parcialmente perdida com o líquido, deixando o melão com menos gosto residual, muito comentado pelos consumidores durante a análise logo após o processamento. Além disso, após 4 dias de estocagem, verificou-se que somente o MMP adicionado de *L. plantarum* por IV apresentou menor nota comparado com as outras amostras ($p < 0,05$), possivelmente, devido as maiores alterações em suas características físico-

químicas (pH, acidez e sólidos solúveis totais), de cor e firmeza, provocadas em decorrência da perda de estrutura do vegetal causada tanto pelo emprego da técnica de impregnação a vácuo como pela atuação do micro-organismo sobre os constituintes do produto.

Tabela 8. Aceitação sensorial de melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por IV e imersão

Tratamento	Tempo (dias)	
	0	4
Controle por IV	4,22 ± 1,84 Acd	6,14 ± 2,36 Ba
Inoculado com <i>L. plantarum</i> por IV	3,80 ± 1,87 Ad	4,40 ± 2,50 Ab
Inoculado com <i>L. acidophilus</i> por IV	4,90 ± 2,09 Ac	6,36 ± 1,82 Ba
Controle por IM	6,80 ± 1,14 Aa	7,22 ± 1,42 Aa
Inoculado com <i>L. plantarum</i> por IM	6,12 ± 1,61 Aab	6,68 ± 1,53 Aa
Inoculado com <i>L. acidophilus</i> por IM	5,96 ± 1,64 Ab	6,48 ± 1,75 Aa

Letras maiúsculas iguais na linha e letras minúsculas iguais na coluna não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey. IV: impregnação a vácuo; IM: imersão.

Martins (2012) avaliou a aceitabilidade de salada de frutas minimamente processada contendo *L. rhamnsous* e verificou que o produto foi bem aceito pelos julgadores, tendo notas acima de 7,0, variando entre gostei moderadamente e gostei muito, na escala hedônica de nove pontos. Do mesmo modo, Rößle et al. (2010a) também obtiveram boa aceitação sensorial de maçã minimamente processada enriquecida com bactéria probiótica. Rodrigues (2013), em seu estudo com goiaba minimamente processada adicionada de culturas probióticas por IV, obtiveram notas acima de 6,0 para os produtos, igualmente observado nesse estudo para o melão minimamente processado adicionado de bactérias probióticas por imersão logo após o processamento. Esses resultados mostram a capacidade de mercado dos vegetais minimamente processados enriquecidos com bactérias probióticas, uma vez que os produtos tiveram boa aceitação sensorial pelos julgadores.

6. CONCLUSÕES

O tempo de 2 minutos de aplicação de vácuo e mais 2 minutos de restauração da pressão atmosférica é suficiente para incorporação de *L. acidophilus* e *L. plantarum* em melão minimamente processado pela técnica de impregnação a vácuo.

A técnica de impregnação a vácuo é uma tecnologia com maior potencial para incorporação de componentes aos produtos vegetais em comparação com a técnica de imersão.

A contagem de bactérias lácticas no melão minimamente processado foi semelhante àquela encontrada para produtos lácteos, sendo uma alternativa para indivíduos vegetarianos e que possuem dieta com restrição de colesterol, além daqueles intolerantes a lactose presente no leite e derivados.

A técnica de imersão e o micro-organismo *L. acidophilus* promoveram menores alterações nas características físico-químicas, de cor e firmeza de melão minimamente processado. Além disso, a técnica de imersão se apresenta mais lucrativa, visto que não há a necessidade de aquisição de equipamentos, sendo facilmente implementada para pequenos e médios produtores podendo ser uma nova alternativa para geração de emprego e renda para a população.

L. acidophilus e *L. plantarum* tiveram boa adesão ao tecido da fruta quando incorporados por ambas as técnicas estudadas (impregnação a vácuo e imersão).

Para os MMP adicionados de bactérias probióticas por impregnação a vácuo torna-se importante o desenvolvimento e a implementação de novas técnicas para manutenção da firmeza, como por exemplo, a aplicação de sais de cálcio como agentes de firmeza.

Aconselha-se um estudo mais aprofundado do uso da IV em outros vegetais, a fim de verificar as alterações provocadas pela técnica em outras matrizes e a sua utilização para incorporação de outros componentes de alto valor nutritivo como compostos bioativos, vitaminas e minerais, agregando valor e maior funcionalidade aos vegetais minimamente processados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ADEKUNT, A. O.; TIWARI, B. K.; CULLEN, P. J.; SCANNELL, A. G. M.; O'DONNELL, C. P. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. **Food Chemistry**, v. 122, p. 500-507, 2010.

ALEGRE, I.; VIÑAS, I.; USALL, J.; ANGUERA, M.; ABADIAS, M. Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Food Microbiology**, v. 28, p. 59-66, 2011.

ALEGRE, I.; ABADIAS, M.; ANGUERA, M.; OLIVEIRA, M.; VIÑAS, I. Factors affecting growth of foodborne pathogens on minimally processed apples. **Food Microbiology**, v. 27, p. 70-76, 2010.

ALEGRIA, C.; PINHEIRO, J.; GONÇALVES, E.M.; FERNANDES, I.; MOLDÃO, M.; ABREU, M. Evaluation of a pre-cut heat treatment as an alternative to chlorine in minimally processed shredded carrot. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 155-161, 2010.

ALLENDE, A.; TOMÁS-BARBERÁN; GIL, M. I. Minimal processing for healthy traditional foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, p. 513-519, 2006.

ALVES, J. A.; VILAS BOAS, E. V. B.; SOUZA, E. C.; VILAS BOAS, B. M.; PICCOLI, R.H. Vida útil de produto minimamente processado composto por abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. **Ciência Agrotécnica**, v. 34, n. 1, p. 182-189, 2010.

ALVES, R. E. **Melão: pós-colheita**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 43 p.

ARRUDA, M. C.; MACHADO, F. L. C.; JACOMINO, A. P.; SILVA, E. O.; ALVES, R. E. Processamento mínimo de melão. In: MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2007. Cap. 24, p. 453-464.

ARTÉS, F.; ESCRICHE, A. J.; MARTINEZ, J. A.; MARIN, J. G. Quality factors in four varieties of melon (*Cucumis melo* L.). **Journal of Food Quality**, Westport, v. 16, n. 1, p. 91-100, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 16. ed. Washington, DC, 2000.

BADILLO, G. M.; SEGURA, L. A.; LAURINDO, J. B. Theoretical and experimental aspects of vacuum impregnation of porous media using transparent etched networks. **International Journal of Multiphase Flow**, v. 37, p. 1219-1226, 2011.

BARAT, J. M.; FITO, P.; CHIRALT, A. Modeling of simultaneous mass transfer and structural changes in fruit tissues. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 77-85, 2001.

BARRERA, C.; BETORET, N.; CORELL, P.; FITO, P. Effect of osmotic dehydration on the stabilization of calcium-fortified apple slices (var. Granny Smith): Influence of operating variables on process kinetics and compositional changes. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 416-424, 2009.

BARRERA, C.; BETORET, N.; FITO, P. Ca²⁺ and Fe²⁺ influence on the osmotic dehydration kinetics of apple slices (var. Granny Smith). **Journal of Food Engineering**, 65, 9-14, 2004.

BATISTA, A. P.; BORGES, C. D. Métodos de conservação aplicados a melão minimamente processado. **Ciência Rural**, v. 43, n. 5, p. 915-923, 2013.

BEAULIEU, J.C. Factors affecting sensory quality of fresh-cut produce. In: Martín-Beloso, O.; Soliva-Fortuny, R. (Eds.). **Advances in fresh-cut fruits and vegetables processing**. London, New York, CRC Press, p. 115-143, 2011.

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

BETORET, E.; BETORET, N.; ARILLA, A.; BENNÁR, M.; BARRERA, C.; CODOÑER, P.; FITO, P. No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 289-293, 2012.

BETORET, E.; TORRES, M.; MORALES, L.; BETORET, N.; BARRERA, C. Application of Different Dehydration Techniques in the Stabilization of a Functional Food with Probiotic Effect. In: **International Conference on Food Innovation**, Universidad Politecnica de Valencia, 2010.

BETORET, N.; PUENTE, L.; DÍAZ, M. J.; PAGÁN, M. J.; GARCÍA, M. J.; GRAS, M. L.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; FITO, P. Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 273-277, 2003.

BLAIOTTA, G.; GATTA, B. L.; CAPUA, M. D.; LUCCIA, A. D.; COPPOLA, R.; APONTE, M. Effect of chestnut extract and chestnut fiber on viability of potential probiotic *Lactobacillus* strains under gastrointestinal tract conditions. **Food Microbiology**, v. 36, p. 161-169, 2013.

BLEINROTH, E. W. Determinação do ponto de colheita. In: GAYET, J. P. **Melão para exportação: procedimentos de colheita e pós colheita**. Brasília: Embrapa, Spi, p. 11-21, 1994. (FRUPEX. Série Publicações Técnicas, 6).

BOTELHO, M. C.; LEME, S. C.; LIMA, L. C. O.; ABRAHÃO, S. A.; SILQUEIRA, H. H.; CHITARRA, A. B. Qualidade de palmito pupunha minimamente processado: aplicação de antioxidantes, **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 1312-1319, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. IX Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas - Atualizada em julho/2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 15 dez. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 jan, 2001.

CAGNO, R.; ANGELIS, M.; CODA, R.; MINERVINI, F.; GOBBETTI, M. Molecular adaptation of sourdough *Lactobacillus plantarum* DC400 under co-cultivation with other lactobacilli. **Research in Microbiology**, v. 160, n. 5, p. 358-366, 2009.

CALISH, V. L.; KIPNIS, T. L.; MARIANO, M.; NETO, C. F.; SILVA, W. D. D. The activation of the complement system by *Paracoccidioides brasiliensis* in vitro: its opsonic effect and possible significance for an in vivo model of infection. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v. 12, p. 21-50, 1979.

CARCIOFI, B. A. M.; PRAT, M.; LAURINDO, J. B. Dynamics of vacuum impregnation of apples: Experimental data and simulation results using a VOF model. **Journal of Food Engineering**, v. 113, p. 337-343, 2012.

CARSON, L.; GORMAN, S. P.; GILMORE, B. F. The use of lytic bacteriophages in the prevention and eradication of biofilms of *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli*. **Immunology & Medical Microbiology**, v. 59, p. 447-455, 2010.

CENCI, S. A. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, 2011, 144p.

CHÁFER, M.; GONZÁLES-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; FITO, P. Microstructure and vacuum impregnation response of citrus peels. **Food Research International**, v. 36, p. 35-41, 2003.

CHÁFER, M.; GONZÁLES-MARTÍNEZ, C.; ORTOLÁ, M. D.; CHIRALT, A. Long term osmotic dehydration of orange peel at atmospheric pressure and by

applying a vacuum pulse. **Food Science and Technology International**, v. 7, p. 511-520, 2001.

CHIRALT, A.; FITO, P. Transport mechanisms in osmotic dehydration: the role of the structure. **Food Science and Technology International**, v. 9, p. 179-186, 2003.

CHIRALT, A.; FITO, P.; BARAT, J. M.; ANDRES, A.; GONZALEZ-MARTINEZ, C.; ESCRICHE, I.; CAMACHO, M. M. Use of vacuum impregnation in food salting process. **Journal of Food Engineering**, v. 49, n. 2-3, p. 141–151, 2001.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005, 783 p.

CHONAN, O. FOSHU Japanese regulations for probiotic foods, In: Y. Takeda (Ed.), **Probiotic foods in health and disease**, Science publishers. CRC Press, Enfield, USA, p. 33–40, 2011.

COLLINS, J. K.; THORNTON, G.; SULLIVAN, G. O. Selection of probiotic strains for human applications, **International Dairy Journal**, v. 8, p. 487-490, 1998.

CORTÉS, M.; OSORIO, A.; GARCÍA, E. Air dried apple fortified with vitamin e using matrix engineering. **VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica**, v. 14, p. 17-26, 2007.

COSTA, N.D. **A cultura do melão**. Embrapa Semi-Árido. Brasília, 191p. 2008.

COUSIN, M. A.; JAY, J. M.; VASAVADA, P. C. Psychrotrophic microorganisms. DOWNES, F.P; ITO, K. (Ed.). In: **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association – APHA, p. 159-166, 2001.

CUNHA FILHO, M.H. **Competividade da fruticultura brasileira no mercado internacional**. 2005. 106f. Dissertação (Mestrado em Economia Rural) - Curso de Pós- Graduação em Economia Rural, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

DAESCHEL, M.A.; NES, I.F. Lactobacillus plantarum: physiology, genetics and applications in foods. In: HUI, Y.H.; KHACHATOURIANS, G.G. (Eds.). **Food Biotechnology: Microorganisms**. New York: VCH Publishers. Cap. 21, p. 721-743, 1995.

DEROSSI A.; DE PILLI T.; SEVERINI C. Reduction in the pH of vegetables by vacuum impregnation: A study on pepper. **Journal Food Engineering**, v. 99, p. 9-15, 2010.

DIPLOCK, A. T.; AGGETT, P. J.; ASHWELL, M.; BORNET, F.; FERN, E. B.; ROBERFROID, M. B. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. **British Journal of Nutrition**, v. 88, p. 1-27, 1999.

ELLENDERSEN, L. S. N.; GRANATO, D.; GUERGOLETTTO, K. B.; WOSIACKI, G. Development and sensory profile of a probiótico beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei*. **Engineering in Life Sciences**, v. 12, n. 4, p. 475–485, 2012.

FAO/WHO, 2001 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization). **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, Argentina, 2001.

FARNWORTH, E. R.; MAINVILLE, I.; DESJARDINS, M. P.; GARDNER, N.; FLISS, I.; CHAMPAGNE, A. C. Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yoghurt formulation. **Internationa Journal of Food Microbiology**, v. 116, p. 174-181, 2007.

FERNANDES, P. L. O.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, P. A.; SOUSA, A. E. D.; FERNANDES, P. L. O. Qualidade de mamão ‘Formosa’ produzido no RN e armazenado sob atmosfera passiva. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 4, p. 599-604, 2010.

FERREIRA, C. L. L. F.; SILVA, A. C. Probióticos e Prebióticos na Saúde da Criança. In: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. (Eds.). **Alimentos Funcionais - componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. Rio de Janeiro: Rubio, 2010. Cap. 6, p. 97-110, 2010.

FIORAVANÇO, J. C. **O mercado comunitário de frutas: participação e perspectivas para o Brasil**. São Paulo: Informações Econômicas, SP, v. 30, n. 3, p.17, 2000.

FITO, P.; CHIRALT, A.; BETORET, N.; GRAS, M.; CHAFER, M.; MARTINEZ-MONZO, J.; ANDRES, A.; VIDAL, D. Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering application in functional fresh food development. **Journal Food Engineering**, v. 49, p. 175-183, 2001.

FITO, P.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; PARDO, P. Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation–relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. **Journal of Food Engineering**, v. 27, p. 229–240, 1996.

FITO, P. Modelling of vacuum osmotic dehydration of foods. **Journal Food Engineering**, v. 22, n. 4, p. 313-318, 1994.

FRUTISÉRIES 2: **Ceará, Melão**. Ministério da Integração Nacional, Secretaria de Infra-Estrutura Hídrica, Departamento de Desenvolvimento Hidroagrícola. Brasília, 2003. 12p.

GIALAMAS, H.; ZINOVIADOU, K. G.; BILIADERIS, C. G.; KOUTSOUMANIS, K. P. Development of a novel bioactive packaging based on the incorporation of *Lactobacillus sakei* into sodium-caseinate films for controlling *Listeria*

monocytogenes in foods. **Food Research International**, v. 43, n. 10, p. 2402-2408, 2010.

GIRAFFA, G.; CHANISHVILI, N.; WIDYASTUTI, Y. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. **Research in Microbiology**, v. 161, p. 480–487, 2010.

GÓMEZ-LOPES, V. M.; DEVLIEGHERE, F.; BONDUELLE, V.; DEBEVERE, J. Intense light pulses decontamination of minimally processed vegetables and their shelf-life. **International Journal of Food Microbiology**. v. 103, p. 79-89, 2005.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; NAZZARO, F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 292-302, 2010.

GRAS, M. L.; VIDAL, D.; BETORET, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 279-284, 2003.

HAUKIOJA, A. Probiotics and oral health. **European Journal of Dentistry**, v. 4, p. 348-355, 2010.

HIRONAKA, K.; KIKUCHI, M.; KOAZE, H.; SATO, T.; KOJIMA, M.; YAMAMOTO, K.; YASUDA, K.; MORI, M.; TSUDA, S. Ascorbic acid enrichment of whole potato tuber by vacuum-impregnation. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1114-1118, 2011.

HOLLAND, N. **Conservação pós-colheita de pêssego (cv. Biut): interação entre cálcio e temperatura**. 1993. 166f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1993.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. Disponível em: http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp. Acesso em: 22 de julho de 2013

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. **Frutas e Derivados**. Ano 3. Edição 11. São Paulo, SP, 2008.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. **Cadeia produtiva de frutas**. Série Agronegócio. Brasília: IICA: MAPA/SPA, 2007.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4 ed. São Paulo, 2008. 1020p.

JENSEN, H.; GRIMMER, S.; NATERSTAD, K.; AXELSSON, L. In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria, **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, p. 216-222, 2012.

KANMANI, P.; LIM, S. T. Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films, **Food Chemistry**, v. 141, p. 1041-1049, 2013.

KIM, N. J.; JANG, H. L.; YOON, K. Y. Potato Juice Fermented with *Lactobacillus casei* as a Probiotic Functional Beverage. **Food Science Biotechnology**, vol. 21, n. 5, p. 1301-1307, 2012.

KLEEREBEZEM, M.; BOEKHORST, J.; VAN KRANENBURG, R.; MOLENAAR, D.; KUIPERS, O.P.; LEER, R.; TARCHINI, R.; PETERS, S.A.; SANDBRINK, H.M.; FIERS, M.W.E.J.; STIEKEMA, W.; LANKHORST, R.M.K.; BRON, P.A.; HOFFER, S.M.; GROOT, M.N.N.; KERKHOVEN, R.; VRIES, M.; URSING, B.; VOS, W.M.; SIEZEN, R.J. Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 4, p. 1990-1995, 2003.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 44, n. 3, p. 329-347, 2008.

KORNACKI, J.L.; JOHNSON, J.L. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. DOWNES, F.P; ITO, K. (Ed.). In: **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association – APHA, p. 69-82, 2001.

LAURINDO, J.; STRINGARI, G.; PAES, S.; CARCIOFI, B. Experimental determination of the dynamics of vacuum impregnation of apples. **Journal of Food Science**, v. 72, p. 470-475, 2007

LIMA, D. C. N.; OLIVEIRA, M. M.; MARTINS, E. M. F.; MARTINS, M. L. Avaliação da viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* em cenoura minimamente processada cultivada em sistema agroecológico. In: **25º Congresso Brasileiro de Microbiologia**, 2009. Porto de galinhas. Disponível em: <http://sbmicrobiologia.org.br/pdf/cdsbm/resumos/R0274-1.html>. Acesso em 01 julho 2014.

LIN, D.; LEONARD, S.; LEDERER, C.; TRABER, M.; ZHAO, Y. Retention of fortified vitamin E and sensory quality of fresh-cut pears by vacuum impregnation with honey. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 7, p. 553-559, 2006.

MAIA, G. E. G.; PASQUI, S. C.; LIMA, A. da S.; CAMPOS, F. M. Determinação dos teores de vitamina C em hortaliças minimamente processadas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 3, p. 329-335, 2008.

MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. Mechanical and structural changes in apple (var. Granny smith) due to vacuum impregnation with cryoprotectants. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 499-503, 1998.

MARTÍNEZ-VALENCIA, B. B.; ABUD-ARCHILA, M.; RUIZ-CABRERA, M. A.; GRAJALES-LAGUNES, A.; DENDOOVEN, L.; OVANDO-CHACÓN, S. L.; GUTIÉRREZ-MICELI, F. A. Pulsed vacuum osmotic dehydration kinetics of melon (*Cucumis melo* L.) var. cantaloupe. **Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 15, 3588-3596, 2011.

MARTINS, E. M. F.; RAMOS, A. M.; VANZELA, E. S. L.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, C. L. O.; MARTINS, J. M. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 764-770, 2013.

MARTINS, E. M. F. **Viabilidade do uso de salada de frutas minimamente processada como veículo de micro-organismos probióticos**. 2012. 100f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2012.

McGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, Alexandria, v. 27, p. 1254-1255, 1992.

MENEZES, J. B.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F.; CARVALHO, H. A. Caracterização pós-colheita de melão amarelo 'AGROFLORA 646'. **Horticultura Brasileira**, v. 13, n. 2, p. 150-153, 1995.

MERLIN, K. B. **Estudo comparativo da impregnação a vácuo de maçã (var. fuji), pêra (var. d'agua e d'anjou) e manga (var. tommy atkins)**. 2007. 91f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: Estudos com consumidores**. 3 ed. Viçosa: Editora UFV. 2013, 332p.

MORAGA, M.; MORAGA, G.; FITO, P.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Effect of vacuum impregnation with calcium lactate on the osmotic dehydration kinetics and quality of osmodehydrated grapefruit. **Journal Food Engineering**, v. 90, p. 372-379, 2009.

MORETTI, C.L. **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, 2007. 531p.

MUKHERJEE, A.; SPEH, D.; DYCK, E.; DIEZ-GONZALEZ, F. Preharvest evaluation of coliforms, Escherichia coli, Salmonella and Escherichia coli O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. **Journal of Food Protection**, v. 67, p. 894-900, 2004.

OMS-OLIU, G.; ROJAS-GRAU, M. A.; GONZALEZ, L. A.; VARELA, P.; SOLIVA-FORTUNY, R.; HEMANDO, M. I. H.; MUNUERA, I. P.; FISZMAN, S.; MARTIN-BELLOSO, O. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: a review. **Postharvest Biology and Technology**, v. 57, p. 139-148, 2010.

OMS-OLIU, G.; MARTÍNEZ, R. M.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTIN-BELLOSO, O. Effect of superatmospheric and low oxygen modified atmospheres on shelf-life extension of fresh-cut melon. **Food Control**, v. 19, n. 2, p. 191-199, 2008.

PADMAJA, G. A.; RAMACHANDRA, B.; MANJUNATH, H.; PRABHA, R.; KRISHNA, R.; SHANKAR, P. A. Characterization of lactic acid bacteria isolated from fruits and vegetables for their antibacterial activity. **Journal of Dairying, Foods and Home Sciences**, v. 30, n. 2, p. 85-89, 2011.

PAIVA, W. O.; MARQUES, G. V.; MESQUITA, J. B. R.; DANTAS, R. S.; FREITAS, F. W. A. Qualidade e conservação de frutos de melão Amarelo em dois pontos de colheita. **Revista Ciências Agrônomas**, v. 39, n. 01, p. 70-76, 2008.

PHOON, P. Y.; GÓMEZ, G. F.; VICENTE, A.; DEJMEK, P. Pulsed electric field in combination with vacuum impregnation with trehalose improves the freezing tolerance of spinach leaves. **Journal of Food Engineering**, v. 88, p. 144-148, 2008.

PUENTE, L. D.; BETORET, N. V.; CORTÉS, M. R. Evolution of probiotic content and color of apples impregnated with lactic acid bacteria. **Revista de la Facultad de Química Farmacéutica**, v. 16, n. 03, p. 297-303, 2009.

RANADHEERA, R. D. C. S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43, p. 1-7, 2010.

RANWALA, A. P.; SUEMATSU, C.; MASUDA, H. The Role of B-Galactosidases in the Modification of Cell Wall Components during Muskmelon Fruit Ripening, **Plant Physiology**, v. 100, p. 1318-1325, 1992.

RAMOS, B.; MILLER, F. A.; BRANDÃO, T. R. S.; SILVA, C. I. M. Fresh fruits and vegetables - An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 20, p. 1-15, 2013.

RÊGO, A.; FREIXO, R.; SILVA, J.; GIBBS, P.; MARAIS, A. M. M. B.; TEIXEIRA, P. A functional dried fruit matrix incorporated with probiotic strains: *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus kefir*. **Focusing on Modern Food Industry (FMFI)**, v. 2, n. 3, 2013.

RIBEIRO, K. V. G. **Ecofago 017 atua na prevenção e degradação de biofilme de *Escherichia coli***. 2012. 54f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) - Curso de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2012.

RICHTER, R.L.; VEDAMUTHU, E.R. Milk and milk products. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association - APHA, p. 483-495, 2001.

RICO, D.; MARTÍN-DIANA, A. B.; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 373-386, 2007.

RÖBLE, C.; BRUNTON, N.; GORMLEY, T. R.; BUTLER, F. Quality and antioxidant capacity of fresh-cut apple wedges enriched with honey by vacuum

impregnation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 626-634, 2011.

RÖBLE, C.; AUTY, M. A. E.; BRUNTON, N.; GORMLEY, R. T.; BUTLER, F. Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. **Innovative Food Science & Emerging**, v. 11, p. 203-209, 2010a.

RÖBLE, C.; BRUNTON, N.; GORMLEY, R. T.; BUTLER, F. Development of potentially symbiotic fresh-cut salads applications, with emphasis on apples wedges. **Journal of Functional Foods**, v. p. 245-254, 2010b.

RODRIGUES, A. C. C; PEREIRA, G. W.; SARANTOPOULOS, C. I. G. L.; BOLINI, H. M. A.; CUNHA, R. C.; JUNQUEIRA, V. C. C.; HUBINGER, M.D. Impact of modified atmosphere packaging on the osmo-dehydrated papaya stability. **Journal of Food Processed and Preservation**, v. 30, p. 563-581, 2006.

RODRIGUES, M. Z. **Impregnação de micro-organismos probióticos em goiaba minimamente processada**. 2013. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2013.

RUSSO, V. C.; DAIUTO, E. R.; VIEITES, R. L. Melão amarelo (CAC) minimamente processado submetido a diferentes cortes e concentrações de cloreto de cálcio armazenado em atmosfera modificada passiva. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 227-236, 2012.

SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Review**, v. 61, n. 3, p. 91-99, 2003.

SANZ, S.; GIMÉNEZ, M.; OLARTE, C.; LOMAS, C.; PORTU, J. Effectiveness of chlorine washing disinfection and effects on the appearance of artichoke and borage. **Journal of Applied Microbiology**, v. 93, p. 986-993, 2002.

SAUREL, R. Improving the texture of processed vegetables by vacuum infusion. **Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC**, University of Lyon, France, 2004.

SCHMIDT, F. C.; CARCIOFI, B. A. M.; LAURINDO, J. B. Efeito da impregnação a vácuo na transferência de massa durante o processo de salga de cortes de peito de frango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 366-372, 2008.

SEAB/DERAL, Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento/ Departamento de Economia Rural. (2012). **Fruticultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**. [Arquivo de texto]. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/fruticultura_2012_13.pdf. Acesso em: 25 de julho de 2013.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Hortaliças minimamente processadas – Estudo de Mercado Sebrae**. ESPM, 2008.

Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (SENAR). **Cultivo de melão: manejo, colheita, pós-colheita e comercialização**. Brasília, SENAR. 104p., 2007.

SILVA, F. J. M.; FERNANDES, C. M.; LIMA, D. C. N.; MADEIRA, R. O.; MARTINS, E. M. F.; MARTINS, M. L.; LAMAS, J. M. N.; RAMOS, A. M. Stability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus* in minimally processed cabbage. **International Journal Postharvest Technology and Innovation**, v. 3, n. 2, 2013.

SLOAN, A. E. The top 10 functional food trends. The next generation. **Food Technology**, v. 56, p. 32-57, 2002.

SLOAN, A. E. The top ten functional food trends. **Food Technology**, v. 54, p. 33-62, 2000.

SU, L. J.; ARAB, L. Salad and raw vegetable consumption and nutritional status in the adult US population: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 106, p. 1394-1404, 2006.

SUPAPVANICH, S. **Factors affecting quality of intact and minimally processed muskmelon fruit during storage**. 2009. 161f. Tese (Doutorado), The University of Nottingham, United Kingdom, 2009.

SUPAPVANICH, S.; TUCKER, G. A. Physicochemical changes in fresh-cut Honeydew melon fruit during storage. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 12, p. 2737-2742, 2011.

TAVARES, A. A. S.; TAVARES, J. M. R. S. Princípios Gerais de Culturas de Células e Citometria de Fluxo para Avaliação dos Efeitos da Radiação Ionizante. Relatório Interno - Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Julho, 2009. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10216/43530>. Acesso em: 02 de outubro de 2014.

VANETTI, M. C. D. Controle microbiológico e higiene no processamento mínimo. In: Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, 2, 183p. **Anais...** Viçosa: UFV, 2000. p.44-52.

VERGARA, C. M. A. C.; HONORATO, T. L.; MAIA, G. A.; ROFRIGUES, S. Prebiotic effect of fermented cashew apple (*Anacardium occidentale* L) juice. **LWT – Food Science and Technology**, v. 43, p. 141-145, 2010.

WANG, R.; NEOH, K. G.; SHI, Z.; KANG, E. T.; TAMBYAH, P. A.; CHIONG, E. Inhibition of *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* Adhesion and Biofilm Formation on Medical Grade Silicone Surface. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 2, p. 336-345, 2012.

WATANABE, Y.; YOSHIMOTO, K.; OKADA, Y.; NOMURA, M. Effect of impregnation using sucrose solution on stability of anthocyanin in strawberry jam. **Food Science and Technology**, v. 44, p. 891-895, 2011.

XIAO, Z.; LUO, Y.; LUO, Y.; WANG, Q. Combined effects of sodium chlorite did treatment and chitosan coating on the quality of fresh-cut d'Anjou pears. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, p. 319-332, 2011.

XIE, J.; ZHAO, Y. Nutritional enrichment of fresh apple (Royal Gala) by vacuum impregnation. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 54, p. 387-398, 2003a.

XIE, J.; ZHAO, Y. Improvement of physicochemical and nutritional qualities of frozen Marionberry by vacuum impregnation pretreatment with cryoprotectants and minerals. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 78, p. 248-253, 2003b.

ZENEON, O.; PASCUET, N. S. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 2004.

ZHAO, Y.; XIE, J. Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 9, p. 434-451, 2004.