



Aplicação de revestimentos comestíveis à base de quitina desacetilada extraída de subprodutos da indústria de pescado em maçã Fuji de IV gama

Ana Isabel Estorninho Santana

[2012]



Aplicação de revestimentos comestíveis à base de quitina desacetilada extraída de subprodutos da indústria de pescado em maçã Fuji de IV gama

Ana Isabel Estorninho Santana

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação da Doutora Susana Silva e co-orientação da Doutora Maria José Rodrigues

[2012]

Aplicação de revestimentos comestíveis à base de quitina desacetilada extraída de subprodutos da indústria de pescado em maçã Fuji de IV gama

Copyright © Ana Isabel Estorninho Santana

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar de Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

2012

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar de Peniche e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

DEDICATÓRIA E AGRADECIMENTOS

Às minhas amigas, colegas e companheiras, Marisa Mascarenhas e Ana Raquel Teixeira, por toda ajuda, horas intermináveis de trabalho conjunto, paciência, disponibilidade e amizade, durante todo este tempo.

Ao meu melhor amigo, companheiro, namorado, Rui Ricardo, por tudo.

Aos meus pais, João Paulo Santana e Maria da Soledade Santana, por todo o apoio prestado.

Ao meu irmão, Luís Santana, pelo apoio e ajuda prestados no decorrer do trabalho.

À Professora Doutora Susana Silva, por todos os conhecimentos transmitidos, disponibilidade, ajuda e sentido prático com que conduziu este trabalho.

À Professora Doutora Maria José Rodrigues, por todos os conhecimentos transmitidos, disponibilidade e ajuda no decorrer de todo este trabalho.

À *Campotec*, empresa de processamento de hortofrutícolas, que gentilmente nos permitiu realizar ensaios de aplicação de revestimentos nas suas instalações e nos forneceu a matéria-prima para que o trabalho fosse realizado. Ao Eng.º Délio Raimundo da *Campotec*, pela ajuda prestada, pela simpatia, e pela prontidão sempre prestados para qualquer dúvida, esclarecimento ou ajuda.

Ao Professor Doutor Sérgio Leandro, por todos os conhecimentos transmitidos, disponibilidade e ajuda no decorrer de todo este trabalho.

Ao Professor Doutor Rui Ganhão, pela disponibilidade e ajuda no decorrer de todo este trabalho, mais precisamente na preparação e elaboração das análises sensoriais.

À Professora Doutora Susana Bernardino, por todos os conhecimentos transmitidos, disponibilidade, e conselhos prestados.

À Professora Doutora Maria Jorge Campos, pelas informações, quando solicitadas.

À Professora Doutora Maria Manuel Gil, pelas informações e orientação, sempre que solicitadas.

Aos Técnicos de laboratório da ESTTM, Cristina Salas, Vera Severiano, Daniela Oliveira e Ana Sofia Ferradosa, pela ajuda prestada quando solicitada, no decorrer do trabalho e pela participação nas análises sensoriais.

Ao Técnico de laboratório, Pedro Ramalho, pela ajuda, paciência, disponibilidade, conselhos, conhecimentos transmitidos e pela participação nas análises sensoriais.

A todo o pessoal do Grupo de Investigação em Recursos Marinhos (GIRM) da ESTTM pela participação nas análises sensoriais, pelos momentos de descontração, pelos conselhos e pela amizade.

Ao Francisco Avelas, do GIRM, pela ajuda prestada no processo de extração de quitosano.

À Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar (ESTTM), do Instituto Politécnico de Leiria (IPL), local de realização de todo o trabalho.

Aos restantes participantes da análise sensorial e a todos aqueles que de algum modo me ajudaram, muito obrigada.

Dedico esta dissertação ao meu namorado e amigo Rui Ricardo, por ter tornado possível a realização deste trabalho, mas mais do que isso, por ser tão importante na minha vida.

RESUMO

A maçã minimamente processada caracteriza-se por apresentar alterações fisiológicas e níveis de escurecimento elevados com o tempo de armazenamento. Sabendo da importância de produzir maçã fatiada de qualidade com um período de vida útil adequado, este trabalho tem como objetivo desenvolver metodologias que permitam manter níveis de qualidade elevados, aumentando o seu período de vida útil no circuito comercial. Para tal, foram efetuados ensaios distintos com revestimentos alimentares em maçã Fuji fatiada utilizando, entre outros, quitina parcialmente desacetilada (QPDA). O interesse na utilização de QPDA reside na valorização de um subproduto abundante na indústria local de pescado.

Para formulação dos revestimentos foi efetuada a extração química e desacetilação de quitina de subprodutos da indústria local de pescado (exoesqueleto de uma mistura de espécies, *Penaeus spp.* e *Metapenaeus spp.*), obtendo-se um produto com um grau de desacetilação abaixo do pretendido (< 60%), a QPDA. Num primeiro ensaio foi testada a aplicação de QPDA. Foram estudados cinco revestimentos com composições distintas; o controlo 1 (sem composto protetor), controlo 2 (alginato e glicerol), controlo 3 (apenas 1,5% de QPDA), 1,5% QPDA (1,5% QPDA com alginato e glicerol) e 3% QPDA (3% QPDA com alginato e glicerol).

A maçã minimamente processada foi avaliada ao longo de 14 dias em armazenamento refrigerado em termos de firmeza e atributo crocante, teor de humidade, cor, pH, sólidos solúveis, qualidade microbiológica (contagens de aeróbios mesófilos e psicotróficos) e aceitação sensorial.

Em termos de qualidade microbiológica foi evidente a eficácia dos revestimentos de QPDA e de alginato e glicerol, atendendo a que não foi detetado crescimento microbiológico nas maçãs revestidas com estes compostos. O revestimento com maior percentagem de QPDA (3%) permitiu a manutenção da cor (CIE b^*) e da concentração de sólidos solúveis. Quanto aos parâmetros estudados, teor de humidade, firmeza e pH, não se verificaram diferenças significativas entre o controlo 1 e os restantes revestimentos. Em relação à avaliação do atributo crocante, da cor (CIE L^* e a^*) e das características sensoriais, verificou-se que o controlo 1 (sem composto protetor), demonstrou uma melhor evolução.

Para complementar o estudo, foi realizado um ensaio posterior, com quitosano comercial (QC), a fim de averiguar se este oferece aos produtos hortofrutícolas minimamente processados (PHMP), vantagens no que respeita à preservação da qualidade. Foram efetuados e aplicados na maçã, um controlo (sem composto protetor), um revestimento com 1,5% de QC e um revestimento com 1,5% de QC + antioxidante (sumo de limão). Neste ensaio foram avaliados durante 5 dias, a firmeza e o atributo crocante, a cor e atributos sensoriais, sendo que os resultados não apresentaram efeitos significativos entre cada amostra, à exceção dos parâmetros CIE de cor (a^* e b^*).

Com isto conclui-se que os revestimentos apresentam efeitos benéficos no retardamento do crescimento microbiológico, na manutenção do parâmetro de cor CIE b^* e do teor de sólidos solúveis mas, no que respeita aos restantes atributos analisados há a necessidade de efetuar mais estudos para comprovar os benefícios atribuídos pelos revestimentos.

Palavras-chave: Maçã, período de vida útil, processamento mínimo, qualidade, quitosano, revestimentos comestíveis.

ABSTRACT

Minimally processed apple is characterized by presenting physiological changes and high levels of browning with storage time. Knowing the importance of producing quality sliced apple with a suitable shelf-life, this study aims to develop methodologies to maintain high quality standards, increasing the shelf-life in the commercial circuit. To this end, tests were performed with different edible coatings in sliced Fuji apple using partially deacetylated chitin (PDAC) amongst some others. The interest in PDAC usage lies in the valorization of an abundant byproduct in the local fish industry.

For the coatings formulation a chemical extraction and deacetylation of chitin byproducts of local fish industry (exoskeleton of a mixture of species, *Penaeus spp.* and *Metapenaeus spp.*) was performed, yielding a product with a degree of deacetylation below the desired (< 60%), the PDAC. In a first test the implementation of PDAC was verified. Five edible coatings with different compositions were tested; control 1 (no protector compound) control 2 (alginate and glycerol), control 3 (only 1,5% PDAC), 1,5% PDAC (1,5% PDAC with alginate and glycerol) and 3% PDAC (3% PDAC with alginate and glycerol).

Minimally processed apples were assessed over 14 days in cold storage in terms of firmness and crunchiness, moisture content, color, pH, soluble solids, microbiological quality and sensory acceptance.

The effectiveness of the coatings of PDAC and alginate and glycerol was clear, on a microbiological level. The coating with a higher percentage of PDAC (3%) permitted the color (CIE b*) and the soluble solids concentration maintenance. About the studied parameters, moisture content, firmness and pH there were no significant differences between control 1 and the other coatings. About the crunchiness, color (CIE L* and a*) and the sensory characteristics tests, it was found that control 1 (no protection compound) showed an improved outcome.

To complement this study, a further test with commercial chitosan (CC) was performed in order to test coatings with this compound, checking if it always provides advantages to minimally processed fruit and vegetables (MPFV), regarding the preservation of quality. A control (no protection compound), a coating with 1,5% CC and a

coating with 1,5% CC + antioxidant (lemon juice) were made and applied on apple. This was ment to test, the firmness and crunchiness, color and sensory attributes, for 5 days. The results showed no significant effects between each sample, except for the CIE color parameters (a^* and b^*).

With this it is concluded that the coatings have benefits on retarding microbiologic growing, maintenance of CIE b^* color parameter and soluble solids content, but as for the rest of the tested parameters, more studies would need to be made to testify the coating benefits.

Keywords: Apple, chitosan, edible coatings, minimal processing, quality, shelf life.

OBJETIVOS

O aumento do consumo de frutas minimamente processadas está relacionado com a procura por conveniência na vida atual, o que conduz à produção em larga escala de produtos alimentares de consumo imediato, simultaneamente saudáveis e convenientes. Aliado a este fator, verifica-se a exigência da criação de soluções tecnológicas que maximizem o seu tempo de vida de prateleira sem comprometer os seus atributos.

É objetivo geral do presente trabalho desenvolver revestimentos alimentares que conduzam a um aumento do tempo de vida de prateleira de maçã Fuji minimamente processada, de modo a rentabilizar a sua comercialização.

Objetivos específicos:

- Valorização de subprodutos da indústria de pescado local (exoesqueleto de uma mistura de espécies, *Penaeus spp.* do Oceano Atlântico Centro-Este, *Penaeus spp.* do Oceano Índico e *Metapenaeus spp.* do Oceano Índico) através da aplicação de biopolímeros extraídos destes materiais na formulação de revestimentos comestíveis;
- Avaliação do efeito da aplicação dos revestimentos formulados, ao longo do armazenamento refrigerado de maçãs Fuji minimamente processada, nos seguintes parâmetros de qualidade:
 - Firmeza e atributo crocante;
 - Teor de humidade;
 - Cor;
 - pH;
 - Sólidos solúveis;
 - Qualidade microbiológica;
 - Qualidade sensorial.
- Avaliação da eficácia de quitosano comercial como veículo incorporador de agente antioxidante (ácido cítrico presente no sumo de limão) em maçã minimamente processada.

ÍNDICE DE MATÉRIAS

Resumo	vii
Abstract	ix
Objetivos	xi
Índice de Matérias	xiii
Índice de Figuras	xvii
Índice de Tabelas	xxi
Abreviaturas, Siglas e Símbolos	xxiii
1. Introdução	1
1.1 Produtos minimamente processados	1
1.2 Maçã como produto saudável e conveniente para o consumidor	4
1.3 Revestimentos comestíveis, uma solução para a área alimentar nos tempos atuais	8
1.4 Origem, aplicações e benefícios da quitina e do quitosano	12
2. Materiais e Métodos	19
2.1 Preparação dos subprodutos para a extração de QPDA	19
2.2 Extração de QPDA	19
2.2.1 Desmineralização	21
2.2.1.1 Quantificação da matéria mineral	21
2.2.2 Desproteínização	22
2.2.2.1 Quantificação proteica	22
2.2.3 Desacetilação	24
2.2.3.1 Grau de desacetilação	25
2.3 Formulação dos revestimentos alimentares a aplicar na maçã fatiada	25

2.3.1	Preparação e aplicação dos revestimentos	27
2.4	Aplicação de revestimentos alimentares à base de QPDA e QC em maçã fatiada	30
2.4.1	Alterações de características físicas	30
2.4.1.1	Avaliação da firmeza e atributo crocante	30
2.4.1.2	Avaliação do teor de humidade	31
2.4.1.3	Avaliação da cor	31
2.4.2	Alterações de características químicas	31
2.4.2.1	Avaliação do pH	31
2.4.2.2	Avaliação da concentração de sólidos solúveis (°Brix)	32
2.4.3	Alterações de parâmetros microbiológicos	32
2.4.3.1	Microrganismos aeróbios a 30°C e Microrganismos psicotróficos	32
2.4.4	Alterações sensoriais	33
2.4.5	Análise estatística	34
3.	Resultados e Discussão	35
3.1	Preparação dos subprodutos para a extração de QPDA	35
3.2	Extração de QPDA	36
3.2.1	Desmineralização	36
3.2.1.1	Quantificação da matéria mineral	36
3.2.2	Desproteinização	37
3.2.2.1	Quantificação proteica	37
3.2.3	Desacetilação	39
3.2.3.1	Grau de desacetilação	40
3.3	Avaliação do efeito da aplicação dos revestimentos alimentares de	41

QPDA extraída de subprodutos da indústria local em maçã fatiada e respetivos controlos

3.3.1 Alterações de características físicas	41
3.3.1.1 Avaliação da firmeza e atributo crocante	41
3.3.1.2 Avaliação do teor de humidade	44
3.3.1.3 Avaliação da cor	46
3.3.2 Alterações de características químicas	52
3.3.2.1 Avaliação do pH	52
3.3.2.2 Avaliação da concentração de sólidos solúveis (°Brix)	53
3.3.3 Alterações de parâmetros microbiológicos	56
3.3.3.1 Microrganismos aeróbios a 30°C	56
2.3.3.2 Microrganismos psicrotróficos	59
3.3.4 Alterações sensoriais	61
3.3.4.1 Alterações na cor	61
3.3.4.2 Alterações na granulidade	63
3.3.4.3 Alterações na consistência	64
3.3.4.4 Alterações no brilho	65
3.3.4.5 Alterações no odor	66
3.3.4.6 Preferência de amostras	66
3.4 Avaliação do efeito da aplicação dos revestimentos alimentares de QC e respetivo controlo em maçã fatiada	68
3.4.1 Alterações de características físicas	68
3.4.1.1 Avaliação da firmeza e atributo crocante	68
3.4.1.2 Avaliação da cor	70

3.4.2	Alterações sensoriais	73
3.4.2.1	Alterações na cor	73
3.4.2.2	Alterações na granulidade	74
3.4.2.3	Alterações na consistência	74
3.4.2.4	Alterações no brilho	75
3.4.2.5	Alterações no odor	76
3.4.2.6	Alterações no sabor	76
3.4.2.7	Preferência de amostras	77
4.	Conclusão	79
5.	Perspetivas Futuras	81
6.	Referências Bibliográficas	83
7.	Anexos	89
	Anexo 1 - Tabelas com características nutricionais da maçã	89
	Anexo 2 - Preparação e aplicação dos revestimentos	92
	Anexo 3 - Modelo de folha de prova da análise sensorial	95
	Anexo 4 - Codificação das amostras analisadas sensorialmente	97
	Anexo 5 - Curva de calibração e cálculos da quantificação proteica – Método de Bradford	99
	Anexo 6 - Tabelas do grau de desacetilação do QC e do QPDA	101
	Anexo 7 - Tabelas relativas à análise estatística (ANOVA simples - sig<0,05)	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 – Inter-relação entre as respostas do tecido vegetal consequente do processamento mínimo (PAL – fenilalanina amónia liase; PPO – polifenoloxidase) (Saltveit, 2000)	3
Figura 1.2 – Estrutura da quitina (Shahidi, et al, 1999)	12
Figura 1.3 – Estrutura do quitosano (Shahidi, et al, 1999)	12
Figura 2.1 – Fluxograma de extração de quitosano a partir de subprodutos de camarão, contendo exoesqueleto	20
Figura 2.2 – Fluxograma de processamento da maçã fatiada (adaptado de Campotec, Fluxograma IV Gama)	28
Figura 3.1 – Curva correspondente ao tempo de recolha de cada amostra vs concentração de proteína de cada amostra (mg.ml^{-1})	38
Figura 3.2 – Evolução da firmeza (trabalho de compressão (g.s)) das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3)	42
Figura 3.3 – Evolução do atributo crocante (número de picos positivos) das amostras com os diferentes tipos de revestimentos com QPDA e correspondentes controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3)	43
Figura 3.4 – Evolução do teor de humidade das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e correspondentes controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3)	45
Figura 3.5 – Evolução da cor (L^*) das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3)	47
Figura 3.6 – Evolução da cor (a^*) das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3)	49
Figura 3.7 – Evolução da cor (b^*) das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3)	50
Figura 3.8 – Evolução do pH das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3)	52
Figura 3.9 – Evolução do °Brix das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias	53

Figura 3.10 – Crescimento dos microrganismos aeróbios a 30°C das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 14 dias	56
Figura 3.11 – Crescimento dos microrganismos psicotróficos das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 14 dias	60
Figura 3.12 – Avaliação sensorial – Alterações na cor das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 12 dias	62
Figura 3.13 – Avaliação sensorial – Alterações na granulosidade das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 12 dias	63
Figura 3.14 – Avaliação sensorial – Alterações na consistência das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 12 dias	64
Figura 3.15 – Avaliação sensorial – Alterações no brilho das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 12 dias	65
Figura 3.16 – Avaliação sensorial – Alterações no odor das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 12 dias	66
Figura 3.17 - Avaliação sensorial – Amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, preferidas em cada dia de análise, ao longo de 12 dias	67
Figura 3.18 – Evolução da firmeza (trabalho de compressão (g.s)) das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias (média±desvio padrão, n=3)	68
Figura 3.19 – Evolução do atributo crocante (número de picos positivos) das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias (média±desvio padrão, n=3)	69
Figura 3.20 – Evolução da cor (L*) das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias (média±desvio padrão, n=3)	70
Figura 3.21 – Evolução da cor (a*) das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias (média±desvio padrão, n=3)	71
Figura 3.22 – Evolução da cor (b*) das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias (média±desvio padrão, n=3)	72
Figura 3.23 – Avaliação sensorial – Alterações na cor das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias	73
Figura 3.24 – Avaliação sensorial – Alterações na granulosidade das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias	74
Figura 3.25 – Avaliação sensorial – Alterações na consistência das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias	75

Figura 3.26 – Avaliação sensorial – Alterações no brilho das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias	75
Figura 3.27 – Avaliação sensorial – Alterações no odor das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias	76
Figura 3.28 – Avaliação sensorial – Alterações no sabor das amostras revestidas com QC e controlo	77
Figura 3.29 - Avaliação sensorial – Amostras com os revestimentos de QC e respetivo controlo, preferidas em cada dia de análise, ao longo de 5 dias	78

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 – Atividade de água mínima para o desenvolvimento de certos microrganismos (<i>Córdova, K., 2006</i>)	7
Tabela 2.1 - Reagentes e respetivas concentrações a adicionar a cada solução de revestimento	27
Tabela 2.2 - Reagentes e respetivas concentrações a adicionar a cada solução de revestimento	29
Tabela 3.1 - aw e teor de humidade dos subprodutos antes e depois da etapa de secagem	35
Tabela 3.2 - P.S., P.S.L.C., % matéria mineral e respetivas médias dos subprodutos de camarão normais e dos subprodutos de camarão secos e triturados (n=3) e % matéria mineral dos subprodutos desmineralizados e da quitina desacetilada.	36
Tabela 3.3 - V_0 , V_1 , m e % de azoto de subprodutos de camarão secos e triturados, da quitina e da QPDA	38
Tabela 3.4 - Teor de água (%), teor de matéria mineral (%), Azoto total (%) e Proteína (%) dos produtos de cada etapa da extração de QPDA	39
Tabela 3.5 – Imagens relativas às amostras revestidas com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo dos 13 dias	51
Tabela 3.6 - Microrganismos aeróbios a 30°C (UFC/g) correspondentes a cada amostra revestida com diferentes soluções de revestimento de QPDA e respetivos controlos	56
Tabela 3.7 - Microrganismos psicrotróficos (UFC/g) correspondentes a cada amostra revestida com diferentes soluções de revestimento de QPDA e respetivos controlos	60
Tabela 3.8 – Imagens relativas às amostras revestidas com os revestimentos de QC e respetivo controlo, ao longo dos 5 dias	72

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

a^* – Coordenada colorimétrica cartesiana;

APMA - Associação de Produtores de Maçã de Alcobaça;

ASB – Albumina de soro bovino;

a_w – Atividade da água;

b^* – Coordenada colorimétrica cartesiana;

CC – Commercial chitosan;

CIE – Commission Internationale de L'éclairage;

CO₂ – Dióxido de carbono;

h – Hora(s);

HCl – Ácido clorídrico;

HDL - High-density lipoprotein (lipoproteína de alta densidade);

IGP - Indicações Geográficas Protegidas;

K - Coeficiente de transpiração;

L^* – *Lightness* – Luminosidade; claridade (no contexto da colorimetria);

LDL - Low-density lipoprotein (lipoproteína de baixa densidade);

m – Massa;

min – Minuto(s);

MPFV – Minimally processed fruit and vegetables;

NaOH – Hidróxido de sódio;

O₂ – Oxigénio;

P - Pressão parcial de vapor de água no alimento;

PAL – Fenilalanina amónia liase;

PCA – Plate count agar;

PDAC – Partially deacetylated chitin;

PHMP - Produtos hortofrutícolas minimamente processados;

POD – Peroxidase;

PPO – Polifenoloxidase;

P.S. - Peso seco;

P.S.L.C. - Peso seco livre de cinzas;

P_0 - Pressão parcial de vapor de água pura;

QC – Quitosano comercial;

QPDA – Quitina parcialmente desacetilada;

rpm - Rotações por minuto;

SEAG - Sacarose de ésteres de ácidos gordos;

seg – Segundo(s);

UFC – Unidade(s) formadora(s) de colónia(s).

1. INTRODUÇÃO

1.1 Produtos minimamente processados

O aumento do consumo de frutas e hortaliças, tanto frescas como parcialmente processadas, está relacionado com a procura por conveniência na vida atual, o que conduziu à produção em larga escala de produtos de consumo imediato. Assim, constata-se que uma tendência de consumo é a preferência por alimentos minimamente processados, tal como fruta descascada e descaroçada embalada. A procura por parte do consumidor deste tipo de produto em conjunto com o aumento do período de tempo desde a “colheita ao prato” exige a criação de soluções tecnológicas que maximizem o seu tempo de prateleira sem comprometer os seus atributos (*Gordon, 2005*).

Hoje em dia deparamo-nos com um problema de desequilíbrio alimentar à escala mundial, que se deve, principalmente, à alteração nos hábitos alimentares da população. Uma solução será alterar o comportamento alimentar dos consumidores, no sentido de adaptar os hábitos alimentares às origens (*Fernandes, 2007*). Isso pode conseguir-se através de ações informativas que alterem o conhecimento do público e/ou através da disponibilização de alimentos mais saudáveis, que confirmem aos consumidores maior conveniência, sem a necessidade de os preparar ou cozinhar e de modo a que permaneçam frescos durante um tempo razoável sem que os clientes tenham de se deslocar frequentemente para os adquirir. A conceção destes produtos visa aumentar a sua funcionalidade, adaptando-os ao quotidiano agitado da população atual.

Os produtos hortofrutícolas minimamente processados (PHMP) constituem um dos segmentos do setor alimentar com maior crescimento (*Vasconcelos, 2005*). No entanto, as dificuldades sentidas na preservação da sua qualidade durante longos períodos de tempo, continuam a motivar a elaboração de muitos estudos. Nesta preservação da qualidade e segurança dos produtos e no sucesso deste setor influem fatores como, a qualidade das matérias-primas, as técnicas de processamento mínimo e suas alterações, os próprios meios de preservação da qualidade dos produtos hortofrutícolas minimamente processados (uso de embalagens apropriadas e com as condições adequadas de armazenamento) e o circuito comercial. Assim, tem-se verificado um desenvolvimento por parte das indústrias de alimentos processados

prontos para o consumo na preparação, manuseamento e entrega de produtos frescos, saudáveis, seguros e convenientes para o consumidor (*Vasconcelos, 2005; Paula, 2009*).

Segundo a *International Fresh-Cut Producers Association* (*Paula, 2009*), os produtos minimamente processados são definidos como “qualquer fruta ou hortaliça, ou ainda qualquer combinação delas, que foi alterada fisicamente a partir de sua forma original, embora mantenha o seu estado fresco. Independente do tipo, a matéria-prima é selecionada, lavada, descascada e cortada, resultando num produto 100% aproveitável que, posteriormente, é embalado ou pré embalado”. O manuseamento excessivo durante o descasque, o fracionamento, a lavagem e as condições de exposição ao ar e embalagem aumentam os riscos da presença de microrganismos patogénicos transmissores de doenças ao consumidor (*Paula, 2009*).

No processamento mínimo, as ações para eliminação de microrganismos são limitadas, desenvolvendo-se desta forma as chamadas tecnologias de barreiras ou obstáculos, que incluem a lavagem, o uso de desinfetantes, as embalagens em atmosfera modificada e a refrigeração, no entanto, torna-se necessário o estudo de outras barreiras que possam contribuir para manter a qualidade dos produtos, tais como a frescura, aroma, cor e sabor, não alterando as suas características nutritivas e sensoriais. Estes géneros alimentícios são altamente perecíveis devido à exposição dos seus tecidos internos, causando aceleração no seu metabolismo em consequência da referida alteração física (*Chien, et al, 2005*). Ou seja, PHMP contêm tecido vivo que sofreu pequenas alterações em relação ao seu estado fresco, originadas por stress, alertando assim a sua integridade. O corte e o descasque provocam lesões no tecido destes produtos, que combinado com a aceleração no metabolismo, contribuem grandemente para a perda de qualidade do produto, afetando, conseqüentemente, a sua vida útil (*Paula, 2009*). Estas lesões sucedem devido ao facto de este processamento mínimo provocar respostas e interações, como as verificadas na figura 1.1 e abordadas a seguir a esta. Além disso, os microrganismos naturalmente presentes na superfície de frutas podem comprometer a sua segurança. Controlar a qualidade e minimizar o crescimento de bactérias de deterioração e patogénicas (assegurando a segurança) é um desafio das indústrias hortofrutícolas que processam minimamente os seus produtos (*Graü, et al, 2007; Saltveit, 2000*).

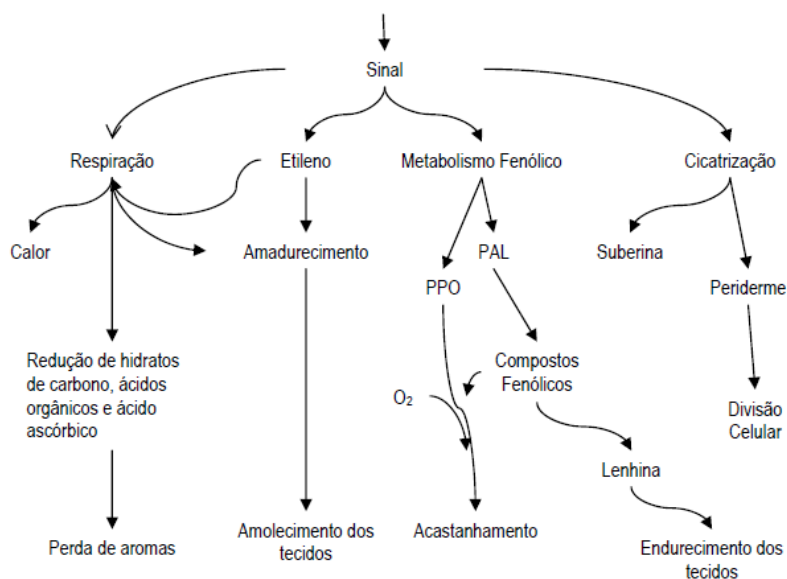


Figura 1.1 – Inter-relação entre as respostas do tecido vegetal consequente do processamento mínimo (PAL – fenilalanina amônia liase; PPO – polifenoloxidase) (Saltveit, 2000).

O escurecimento enzimático é um processo complexo, em que, na presença de oxigénio (que se difundiu nos tecidos aquando da operação de corte), a polifenoloxidase catalisa a oxidação dos substratos o-fenólicos para oquinonas (levemente coradas) (Del Valle, et al, 1998). As o-quinonas são altamente reativas, podendo ser subsequentemente oxidadas e polimerizadas em pigmentos castanhos. Estas moléculas reagem com outras quinonas, compostos fenólicos, grupos amina de proteínas, péptidos e aminoácidos, compostos tiol, ácido ascórbico (Gonçalves, 2007). Para além disso, segundo Saltveit, 2000, os tecidos vegetais podem reagir à lesão com ativação da PAL, o que implica síntese de compostos fenólicos, conduzindo a acastanhamentos mais pronunciados (Gonçalves, 2007; Saltveit, 2000). Quanto à perda da firmeza, esta é devida principalmente à ação de enzimas proteolíticas e pectinolíticas sobre os componentes da parede celular e a reações de hidrólise de macromoléculas estruturais como sejam as pectinas, as celulosas, as proteínas e as hemiceluloses (Empís, Martins, 2000). Na zona de corte pode ocorrer a formação de uma camada de cicatrização mais firme, pela síntese de compostos tipo suberina e lenhina (Gonçalves, 2007). Ocorre também senescência em consequência do aumento das taxas respiratórias e de produção de etileno, por sua vez, consequentes dos efeitos mecânicos provocados pelo corte, descasque, abrasão ou esmagamento a que os tecidos vegetais são sujeitos, aumentando o consumo de açúcares e/ou ácidos orgânicos. Ocorre maior perda de água e, devido ao facto de não se verificar a reposição da mesma, os tecidos tendem a desidratar (Ferrerres, et al, 1997). Relativamente à perda do valor nutricional dos produtos, por um lado ocorre solubilização de compostos hidrossolúveis e perda de fibra

por hidrólise enzimática das macromoléculas estruturais, por outro, o aumento da atividade fisiológica leva a um maior consumo de substratos (*Empís, e Martins, 2000; Gonçalves, 2007*).

Os principais fatores de qualidade de produtos recém-colhidos incluem a aparência visual (frescura, cor, defeitos e degradação, relacionada com processos oxidativos provocando escurecimento no produto), textura ou firmeza, sabor, valor nutritivo e segurança microbiológica. Para os consumidores, a cor ou a aparência são as qualidades mais importantes, e desse modo, se a cor de um produto não é atraente ou de qualidade aceitável, a probabilidade de o consumidor o adquirir é bastante reduzida, independentemente da sua excelente textura, sabor, aroma ou outros atributos de qualidade. Portanto, para além das propriedades físico-químicas aceitáveis, o alto nível de qualidade sensorial é um importante pré-requisito para que o marketing de frutas recém-colhidas seja bem sucedido (*Piagentini, et al, 2002*).

1.2 Maçã como produto saudável e conveniente para o consumidor

A maçã é o fruto da árvore *Pyrus Malus*, de pele fina e impermeável, sabor agridoce ou ácido (dependendo da espécie), e de polpa homogênea. É um fruto rico em água (aproximadamente 85% em massa) que sofre grandes transformações bioquímicas durante o seu amadurecimento (*Córdova, 2006*).

Tendo em conta as características físicas, a maçã é definida como um fruto globoso ou deprimido, com uma profunda depressão no ponto de inserção do pedúnculo que o prende aos ramos; de coloração vermelha ou verde podendo apresentar pequenas manchas esverdeadas ou amareladas. Apresenta textura firme, acidez elevada, adequada maturação e cor branca-amarelada da polpa (*Córdova, 2006*). A textura sensorial da maçã é um parâmetro importante no momento dos consumidores decidirem comprar este produto. Em estudos realizados, demonstrou-se que a perceção da frescura está relacionada com o próprio estaladiço, suculência, aroma e gosto de maçãs (*Zdunek, et al, 2011*).

Em Portugal o consumo de maçã aumentou nas duas últimas décadas, tendo estabilizado nos últimos anos nas 317 000 toneladas por ano (*Campotec, 2011; Gabinete de Planeamento e Políticas, 2007*), tendência contrária ao que se tem vindo a constatar na Europa (*Campotec, 2011; Gabinete de Planeamento e Políticas, 2007*). Verifica-se

uma valorização da maçã de qualidade e/ou de variedades tradicionais, sob uma imagem que valoriza a saúde. A diversificação da oferta, nomeadamente de produtos inovadores, incluindo os de 4ª gama, tem tido resultados positivos para o setor. Designa-se de 4ª gama todo o produto que tenha sofrido um processamento mínimo. O produto tem as mesmas características organoléticas do produto em fresco (cor, sabor, aroma e textura) mas já foi preparado, lavado, cortado (ou não) e embalado em atmosfera protetora de forma a apresentar-se pronto a consumir (*Campotec, 2011; Gabinete de Planeamento e Políticas, 2007*).

Nos tempos atuais, constata-se que há sempre uma preferência por fruta fresca em detrimento de produtos derivados ou processados. Essa preferência observa-se igualmente perante os suplementos antioxidantes, vitaminas e extratos vegetais, que têm menor atividade antioxidante e menor teor de fibra, e que não se demonstram tão eficazes na prevenção da degeneração cerebral como os frutos em natureza. Possivelmente, os benefícios acrescidos da fruta em natureza comparativamente com os suplementos antioxidantes devem-se às sinergias que ocorrem entre todos os fitonutrientes da fruta, e que potenciam muito mais a sua ação do que cada composto isoladamente. Estes dados permitem concluir que a adoção de um padrão alimentar rico em alimentos frescos, tradicionais e não processados será benéfico para a saúde. E é neste contexto de tradição, alimentos naturais e ricos que surge a Maçã de Alcobaça (*Fernandes, 2007*).

A Associação de Produtores de Maçã de Alcobaça (APMA) é a entidade gestora da Indicação Geográfica Protegida da Maçã de Alcobaça. Tem associadas 10 Organizações de Produtores, Frubaça, Crl., Lusofruta, Crl., Cooperfrutas, Frutalvor, Crl., Campotec, SA, Frutus Crl., Narc Frutas, Crl., Obirocha, Crl., Granfer, Crl. e Fruticordeiro, Lda,. Atualmente a área de produção abrange os concelhos de Porto de Mós, Alcobaça, Nazaré, Caldas da Rainha e Óbidos. Em 2003 existiam 747 explorações produtoras de Maçã de Alcobaça, com uma área de 812 hectares e uma produção de 862 toneladas de maçã certificada (10% do volume total) (*Gabinete de Planeamento e Políticas, 2007*). Nesse ano, as principais formas de escoamento da Maçã de Alcobaça foram as seguintes: 25% para as grandes superfícies de venda, 25% a intermediários, 25% diretamente ao consumidor e os restantes 25% em mercados abastecedores e regionais. O projeto Maçã de Alcobaça, criado e desenvolvido pela respetiva Associação de Produtores, considera-se de grande importância para a continuidade da produção deste fruto na região, pelo facto de se associar a uma Indicação Geográfica Protegida e ainda

pela constituição de uma Marca Coletiva para as organizações de produtores associadas. A APMA, de forma a poder abranger toda a produção do Oeste, pretende alargar a área de produção da IGP aos concelhos limítrofes. Com esta alteração pretende representar 100% da produção organizada do Oeste. Esta atividade tem-se revelado prometedora e de importância acrescida no desenvolvimento das organizações e na sua área de produção, uma vez que se torna cada vez mais uma imagem de referência de relevo económico no setor e na região (*Gabinete de Planeamento e Políticas, 2007*).

As Maçãs de Alcobaça são maçãs qualificadas, que consideram e apresentam um conjunto de valores, tais como: origem controlada; qualidade; respeito pelo ambiente; segurança alimentar; fruto altamente rico em fitonutrientes e em fibras e contribui para a prevenção e combate de doenças crónicas (*Gabinete de Planeamento e Políticas, 2007*).

A Maçã de Alcobaça – Indicações geográficas protegidas (IGP) - abrange as variedades Royal Gala; Red Delicious; Jonagold; Fuji; Casa Nova de Alcobaça; Golden Delicious; Granny Smith; Reineta Parda. As características organolépticas diferem de variedade para variedade (*Codimaco, 2011*). Esta é proveniente de cultivares da *Malus domestica Boeckh*, e a sua história remonta a 1154, quando D. Afonso Henriques doou terras da região aos monges de Cister para instalação de um mosteiro. O Mosteiro de Santa Maria de Alcobaça, como ficou conhecido, perdurou até aos nossos dias, e o cultivo de maçã não só perdurou também, como floresceu e se expandiu em larga escala. Na verdade, talvez devido ao microclima condicionado pela localização geográfica privilegiada, entre a Serra de Candeeiros e o Oceano Atlântico, desde o início da sua colonização este território demonstrou um enorme potencial agrícola, tendo o cultivo de árvores de fruto sido uma importante fonte de riqueza para a região. Os seus frutos distinguiam-se pelas características singulares de doçura, aroma perfumado e cores vivas e brilhantes cuja fama cedo se espalhou e chegou até aos lautos banquetes da nobreza, deliciando os mais ilustres membros da corte (*Fernandes, 2007*).

Tais maçãs qualificadas são nutricionalmente muito interessantes, pertencendo a um grupo de alimentos cujo consumo é incansavelmente incentivado pelos nutricionistas, devido aos benefícios comprovados para a saúde. Coloca-se mesmo a hipótese da Maçã de Alcobaça ser mais rica em antioxidantes do que outros tipos de maçã, possivelmente devido aos solos e às condições climáticas favorecidos de que as macieiras daquela região usufruem, e que lhes possibilita obter frutos mais pequenos e com maior concentração nutricional (*Fernandes, 2007*).

Segundo o Instituto Nacional de Saúde Ricardo Jorge (INSA), a maçã é um fruto com parte edível de 90%, a porção unitária recomendada é de 160g e, justificando os benefícios para a saúde da maçã que tanto se enunciam, apresentam-se as características nutricionais (figura 7.1, tabela 7.1, tabela 7.2, tabela 7.3, tabela 7.4, tabela 7.5 e tabela 7.6) em anexo 1 (INSA, 2011).

A maçã, como referido acima, apresenta uma grande quantidade de água na sua constituição e esta pode estar presente sob duas formas:

- Água não ligada, que está contida nos tecidos. É a mais abundante e é perdida facilmente;
- Água ligada, que faz parte da estrutura dos tecidos. Está ligada a proteínas, açúcares e é adsorvida na superfície de partículas coloidais. Necessita de elevadas temperaturas para a sua remoção.

Durante as últimas três décadas a atividade de água (a_w) tem sido um dos parâmetros mais importantes para a avaliação da preservação e processamento dos alimentos. A a_w é definida como a razão entre a pressão parcial de vapor de água no alimento (P) e a pressão parcial de vapor de água pura (P_0), ambas à mesma temperatura. Da definição de a_w tem-se a seguinte equação (Córdova, 2006):

$$a_w = P/P_0$$

Todos os microrganismos têm uma a_w mínima de desenvolvimento. Em geral as bactérias são mais exigentes do que bolores e leveduras, desenvolvendo-se apenas em meios com elevada a_w . A tabela 1.7 apresenta a a_w mínima para o desenvolvimento de certos microrganismos.

Tabela 1.1 – Atividade de água mínima para o desenvolvimento de certos microrganismos (Córdova, 2006).

Microrganismos	a_w mínima
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,85
Leveduras	0,88
Bolores	0,80
Bactérias halófilas	0,75
Bolores xerófilos	0,61
Leveduras osmotolerantes	0,60

A maçã é um fruto com uma elevada atividade de água (a_w), apresentando uma a_w de 0,98, e como tal, permite que se desenvolvam microrganismos que podem comprometer a segurança do produto (Córdova, 2006).

A percentagem de humidade ótima de armazenamento da maçã, para que as suas características sensoriais e microbiológicas não sejam alteradas, é de 90 a 95%, (Campos, 2010). A maçã apresenta um valor médio de coeficiente de transpiração (K) de $42\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}$, sendo este o valor que traduz a facilidade com que a superfície perde água. Este valor não é preocupante, comparando, por exemplo, com o pêssigo que tem um K de $572\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}$, no entanto, é significativo, sendo a aplicação de revestimentos comestíveis hidrofóbicos uma solução para a redução de perda de água, contribuindo deste modo para a manutenção da qualidade do produto (Campos, 2010).

Desta forma, sendo a Maçã de Alcobaça produzida na zona Oeste, na empresa colaboradora deste projeto de estudo (Campotec) e considerando que a maçã é um produto de alto valor comercial, com um acentuado crescimento a nível de procura, um produto de benefícios a nível de saúde e que apresenta características suscetíveis de colocar em risco a sua conservação, torna-se importante e necessária a elaboração de um estudo acerca de um revestimento a aplicar neste produto, a fim de aumentar o seu período de vida útil preservando as suas características nutricionais, sensoriais, químicas, físicas e microbiológicas.

1.3 Revestimentos comestíveis, uma solução para a área alimentar nos tempos atuais

As maiores perdas a nível de qualidade e conseqüentemente quantidade de produtos hortofrutícolas ocorrem entre o armazenamento e o consumo. Os revestimentos comestíveis em hortofrutícolas minimamente processados constituem uma alternativa ao armazenamento em atmosfera modificada, reduzindo as alterações qualitativas e perdas conseqüentes através do controlo e modificação da atmosfera interna de cada produto individualmente (Zeuthen, et al, 2007).

Os revestimentos comestíveis oferecem uma barreira semipermeável, visando prolongar a vida útil dos produtos. Isto é feito através da redução da humidade, da migração de solutos, das trocas gasosas e da taxa de respiração (devido à permeabilidade seletiva para o oxigénio e o dióxido de carbono), e de reações oxidativas,

bem como suprimindo distúrbios fisiológicos em frutas recém-colhidas (*Baldwin, et al, 1996*). Os revestimentos podem também servir como transportadores de aditivos alimentares, tais como agentes anti-escurecimento e antimicrobianos, corantes, aromatizantes, nutrientes e especiarias (*Li, e Barth, 1998*).

Os revestimentos consistem na formação e aplicação de filmes diretamente sobre a superfície do produto que se destinam a proteger, ou melhorar as suas características. Portanto, os revestimentos comestíveis são considerados parte do produto final e devem conferir cor, odor, sabor, aroma, e textura aceitáveis ao produto revestido (*Chamorro, et al, 2011*).

Contextualizando este tema, a cera foi o primeiro revestimento comestível a ser usado em hortofrutícolas. Os chineses aplicavam camadas de cera em laranjas e limões nos séculos XII e XIII. Apesar dos chineses não se aperceberem que uma das consequências dos revestimentos de cera era diminuir as trocas gasosas entre o meio ambiente e o meio interno da fruta, descobriram que as frutas revestidas toleravam mais tempo em armazenamento comparativamente às frutas não revestidas. Na década de 1930 as ceras de parafina derretidas através do calor tornaram-se comercialmente viáveis como revestimentos comestíveis para frutas como maçãs e pêras. Em 1986 conseguiu-se aumentar o tempo de vida útil de produtos hortofrutícolas através da experiência de revestir a superfície de pêssegos com emulsões de cera, diminuindo as trocas de vapor de água e oxigênio entre o meio ambiente e o meio interno e consequentemente a taxa de respiração da fruta. Em 1990 observou-se que alguns óleos e celulose tinham efeito semelhante nas frutas tropicais, conservando o efeito pós-colheita (*Zeuthen, et al, 2007*).

Foram feitas algumas tentativas para desenvolver outros materiais que pudessem ser usados como revestimento para controlar o meio interno de hortofrutícolas em armazenamento a curto prazo. Em 1997 foi pela primeira vez sugerido que a quitina, extraída de invertebrados marinhos, e o quitosano (desacetilação da quitina), fossem utilizados para criar uma película transparente com o fim de revestir frutas e vegetais. Ainda assim, já em 1982 tinha sido descoberto um material de revestimento comestível não fitotóxico, sem sabor, inodoro e eficaz na preservação de frutas. Este material era uma mistura de sacarose de ésteres de ácidos gordos (SEAG), celulose de carboximetil de sódio e, mono e diglicéridos. SEAG foi originalmente desenvolvida como emulsionante, contudo foi estabelecido que o amadurecimento da fruta podia ser

retardado através de uma camada deste composto. Desde aí, os compostos de SEAG começaram a ser comercialmente viáveis como revestimento para hortofrutícolas (Zeuthen, et al, 2007).

A principal função de filmes e revestimentos comestíveis é oferecer uma barreira protetora à humidade, oxigénio, sabor, aroma entre o alimento e o ambiente. Além disso, filmes e revestimentos comestíveis podem também manter a integridade dos alimentos, fornecendo alguma proteção mecânica (Chamorro, et al, 2011).

A utilização de revestimentos comestíveis permite melhorar a qualidade de produtos alimentares minimamente processados, sendo uma das estratégias mais eficazes e economicamente viáveis para a extensão do tempo de vida útil deste tipo de produtos (Embuscado, Huber, 2009; Chien, et al, 2005).

Aditivos usados para prevenir a deterioração biológica são denominados antimicrobianos ou conservantes. Como eles são permitidos para contactar com alimentos, esta categoria compreende compostos naturais ou sintéticos conhecidos e com efeitos toxicológicos mínimos para mamíferos e para o ambiente. Compostos antimicrobianos incluem alguns inorgânicos (carbonatos, bicarbonatos, etc) ou ácidos orgânicos e os seus sais (propionatos, sorbatos, benzoatos, etc), parabenos, quitosano, enzimas, bacteriocinas, polipéptidos, e óleos essenciais ou de outros extratos naturais (Chamorro, et al, 2011).

As características ideais de um revestimento são essencialmente: permeabilidade seletiva e a formação de uma camada uniforme, elástica e plastificante sobre a superfície dos alimentos. Assim são frequentemente adicionados aos revestimentos comestíveis alginato e glicerol, que fornecem às soluções um carácter viscoso e espesso. O glicerol atua como agente plastificante, conferindo elasticidade aos revestimentos e o alginato ajuda na permeabilidade seletiva e aumenta a viscosidade da solução, para além de que o alginato é considerado um portador de agentes antimicrobianos (Graü, et al, 2007 e Campos, e Gerschenson, 2011) fornecendo também ao revestimento uma característica propícia ao aumento do tempo de prateleira do produto estudados.

Em estudos realizados por Graü, et al. (2007), constatou-se que a aplicação de um revestimento comestível de alginato, como portador de agentes antimicrobianos, é eficaz para prolongar a vida de prateleira de maçãs Fuji fatiadas, uma vez que este inibiu

o crescimento de bactérias aeróbias psicrófilas, bolores e leveduras e *Listeria innocua* (previamente inoculada). Estes mesmos autores concluíram que podem ser adicionados óleos essenciais a revestimentos comestíveis para modificar o aroma, sabor e odor, bem como a introduzir propriedades antimicrobianas. Para além dos óleos, adicionaram-se aos revestimentos, glicerol como plastificante, cloreto de cálcio para induzir a reticulação, N-acetilcisteína e vanilina como inibidor de escurecimento (Graü, M., et al, 2007). Vários dos revestimentos antimicrobianos testados por estes autores reduziram ainda a taxa de respiração e a produção de etileno em maçãs revestidas, contribuindo, mais uma vez para a conservação desta fruta (Graü, et al, 2007; Chamorro, et al, 2011).

A capacidade de um revestimento comestível de preservar a qualidade de produtos recém-colhidos pode variar dependendo da composição e das características do revestimento, do tipo, variedade, maturidade do produto e das condições de armazenamento do mesmo (refrigeração, luz, humidade). Os compostos mais vulgarmente utilizados como revestimentos comestíveis incluem quitosano, amido, celulose, alginato, carragenano, glúten de soro de leite, carnaúba, cera de abelha, ácidos gordos, poliéster de sacarose, proteína de milho, glúten de trigo, metil celulose, e a hidroxipropil celulose (Zeuthen, et al, 2007; Assis, et al, 2010).

Entre eles, os revestimentos à base de quitosano são amplamente reconhecidos como materiais promissores, devido à sua excelente propriedade de formação de filme sem a necessidade de plastificantes, à sua ampla atividade antimicrobiana e à sua afinidade para superfícies orgânicas. Além disso, os filmes de quitosano são resistentes, altamente transparentes, de longa duração, flexíveis e difíceis de rasgar (Assis, et al, 2010).

Estes revestimentos são biopolímeros que incluem polissacarídeos, proteínas e misturas destes dois compostos. Estes materiais presentes são portadores de diferentes aditivos, tais como antimicrobianos, antioxidantes, nutracêuticos, e agentes aromáticos. O uso de filmes comestíveis e revestimentos contendo, particularmente, antimicrobianos, tem demonstrado ser uma ferramenta útil para proteger alimentos contra a sua deterioração e para diminuir o risco de crescimento de patogénicos, (Carmen, et al, 2011).

Os revestimentos comestíveis podem ser utilizados como veículos de incorporação de aditivos funcionais, tais como antioxidantes, entre os quais o ácido cítrico

(que para além de antioxidante é antimicrobiano), que reduz o pH e conseqüentemente interrompe o transporte de substratos, reduzindo a força motriz dos prótons, contribuindo assim para a preservação do alimento (Campos, e Gerschenson, 2011; Chamorro, et al, 2011).

1.4 Origem, aplicações e benefícios da quitina e do quitosano

A quitina, embora sendo uma fonte de matéria-prima com muitas potencialidades, tem uma aplicação ainda muito reduzida, sobretudo devido ao seu difícil tratamento e baixa solubilidade, resultantes da existência de fortes ligações de hidrogénio entre as cadeias poliméricas. Uma solução para este problema consiste na desacetilação da quitina, isolada principalmente do exoesqueleto de crustáceos, em meio alcalino forte e a temperaturas superiores a 60°C. Deste tratamento, resulta o derivado mais importante da quitina, o poli[β -(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose], mais conhecido por quitosano, um biopolímero natural. Nos últimos tempos têm sido descobertas novas funcionalidades deste composto que ampliam a sua aplicabilidade, tendo sido caracterizado como agente não tóxico, biodegradável, biocompatível e com capacidades antimicrobianas (Santos, 2006; Pinto, 2005). Atualmente, o quitosano também é alvo da atenção de empresas biotecnológicas devido às suas características biológicas e físico-químicas singulares (Leandro, 2010). Na figura 1.2 e 1.3 apresentam-se as estruturas da quitina e do quitosano, respetivamente.

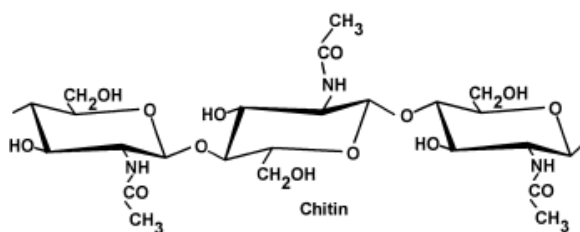


Figura 1.2 – Estrutura da quitina (Shahidi, et al, 1999).

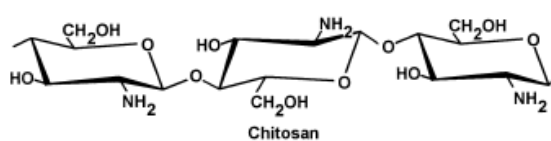


Figura 1.3 – Estrutura quitosano (Shahidi, et al, 1999).

Ainda assim ambos os compostos (quitina e quitosano) apresentam funcionalidades semelhantes, em termos de preservação da qualidade de alimentos. O que os distingue é a desacetilação da quitina de onde resulta o quitosano, a fim de se obter um composto com maior facilidade de solubilização (Shahidi, et al, 1999).

De entre a grande diversidade de crustáceos marinhos utilizados para a extração de quitina (e posterior produção de quitosano), os organismos mais utilizados são os camarões, as lagostas e os caranguejos. Tal preferência deve-se principalmente às suas

características naturais, como seja a abundância, aspetos reprodutivos e facilidade de cultivo em aquacultura (Leandro, 2010).

O exoesqueleto de camarão cru, contém cerca de 20% de quitina e outros componentes como, água, proteínas, gordura, cinzas, cálcio e magnésio (Percot, et al, 2003).

A quitina está inteiramente associada a proteínas, minerais, lipídios e pigmentos. No entanto, para atingir o elevado grau de pureza necessária para aplicações biológicas, todos eles têm de ser quantitativamente removidos. De acordo com os seus componentes, as películas comestíveis podem ser divididas em três categorias: hidrocolóides, lípidos, e compósitos. Hidrocolóides incluem proteínas e polissacáridos. Os materiais capazes de formarem filmes de polissacáridos incluem amido e derivados do amido, derivados de celulose, alginato, carragenina, pectina, pululano, quitosano e gomas (Chamorro, et al, 2011). Assim sendo, o quitosano forma um filme de polissacáridos, correspondendo à categoria dos hidrocolóides.

O quitosano foi obtido pela primeira vez em 1859 por Rouget, quando tratava quitina com uma solução quente de hidróxido de potássio. O produto obtido deste tratamento, ao contrário da quitina inicial, era solúvel em ácidos orgânicos. Este novo produto foi denominado “quitina modificada” por Rouget e, mais tarde, em 1894, Hoppe-Seyler designou-o pela primeira vez com o nome “quitosano” (Pinto, 2005).

O quitosano pode ser obtido por tratamento ácido ou alcalino da quitina. No entanto, o tratamento ácido não é muito utilizado devido à suscetibilidade das ligações glicosídicas à hidrólise ácida. Para promover a desacetilação da quitina em meio alcalino é necessário recorrer a condições de reação muito severas, utilizando soluções alcalinas muito concentradas (NaOH 40 a 50%), temperatura elevadas (normalmente superiores a 60°C) e longos tempos de reação. Contudo, a desacetilação da quitina raramente é completa, embora tal não constitua um problema na maioria dos casos, uma vez que um grau de desacetilação de aproximadamente 60% já permite a solubilização do polímero em soluções ácidas diluídas. Aliás, tem sido este critério de solubilidade o parâmetro adotado por muitos autores para distinguir quitina de quitosano (Pinto, 2005).

Mesmo utilizando tratamentos alcalinos para promover a desacetilação da quitina, é preciso ter em conta que as condições normalmente utilizadas nestes tratamentos

podem, também, conduzir à quebra das ligações glicosídicas, afetando o tamanho das cadeias poliméricas. Alguns autores optam por realizar o tratamento alcalino em várias etapas, nas quais se utilizam curtos tempos de reação, em substituição de um único processo mais prolongado. Também se pode optar por realizar a desacetilação na ausência de oxigénio, ou na presença de um antioxidante, para diminuir a extensão da quebra de ligações glicosídicas, conduzindo à perda de peso molecular do polímero. Uma outra alternativa é a utilização de condições mais suaves de reação, como a utilização de concentrações de 20 a 30% de NaOH e menores temperaturas, mas tal implica um produto com um grau de desacetilação mais baixo. Isto deve-se, provavelmente, ao facto de que a reação realizada nestas condições, se dá unicamente nas regiões externas do polímero, que são mais acessíveis aos reagentes (*Pinto, 2005*).

Um outro aspeto muito importante, no que diz respeito à solubilidade do quitosano, é o seu peso molecular, que vai depender do método utilizado na desacetilação e da fonte utilizada na sua produção. Torna-se por isso importante determinar o peso molecular do quitosano após a sua preparação. Para isso, os métodos normalmente utilizados são a cromatografia, dispersão da luz (“light scattering”) e viscosimetria. De um modo geral, o peso molecular do quitosano comercial pode oscilar entre 100.000 e 1.200.000 Daltons, dependendo do processo utilizado (*Pinto, 2005*).

O quitosano apresenta uma permeabilidade à água de $0,49 \text{ ng m m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$, ao oxigénio de $0,0014 \text{ fl m m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ e apresenta-se impermeável ao dióxido de carbono (*Zeuthen, et al, 2007*).

O quitosano constitui um agente natural antimicrobiano. As suas propriedades funcionais e os efeitos antimicrobianos deste biopolímero estão relacionados com o seu grau de desacetilação e peso molecular. O quitosano inibe o crescimento de uma ampla variedade de fungos, leveduras e bactérias. Este composto é usado para preparar películas e revestimentos devido à sua propriedade de formação de filme, como já mencionado anteriormente. São estas propriedades, a capacidade de formação de filmes e a sua atividade antimicrobiana, que fazem do quitosano um dos biopolímeros mais estudados (*Chamorro, et al, 2011*).

Foram realizados estudos utilizando vários tipos de bactérias, onde se verificou a capacidade antibacteriana do quitosano. Pensa-se que os grupos amónio ($-\text{NH}_3^+$) do quitosano, interatuam com os grupos aniónicos presentes na membrana bacteriana,

conduzindo à sua instabilização e à morte da bactéria. Por este motivo, o quitosano é atualmente utilizado como revestimento protetor e biofungicida para pulverização em frutas, vegetais e sementes. Nos Estados Unidos, já se encontram registados vários pesticidas à base de quitosano (*Pinto, 2005*).

O quitosano, tal como já referido, tem sido usado como revestimento alimentar com sucesso, devido à sua propriedade de formação de filme. Desta forma, foi utilizado para manter a qualidade pós colheita de frutas e legumes, como estudado por diversos autores, incluindo *Chien, et al. (2005)*, em manga fresca. Segundo os autores, o revestimento de quitosano em manga fatiada, inibiu efetivamente o crescimento de microrganismos, atrasou a queda na qualidade sensorial, estendendo assim a vida útil do produto (*Chien, et al, 2005*).

Dong, et al. (2004), também relataram que revestimentos de quitosano (a 1%, 2% e 3%) melhoraram a qualidade e prolongaram a vida útil de líchias, retardando a perda de peso e o declínio da qualidade sensorial, mantendo teores elevados de sólidos solúveis, de acidez titulável e de ácido ascórbico e suprimindo a atividade da PPO e POD.

Segundo um estudo efetuado por *Ali, et al. (2010)*, o quitosano pode ser usado comercialmente para prolongar o tempo de armazenamento de papaia, uma vez que proporcionou um controlo eficaz na redução da perda de peso, a firmeza da fruta foi mantida, as mudanças na cor da casca foram atrasadas e a concentração de sólidos solúveis manteve-se durante 5 semanas de armazenamento. Os autores constataram ainda que a acidez titulável diminuiu ao longo do período de armazenamento a um ritmo mais lento nos frutos revestidos com quitosano, comparativamente com os que não apresentavam este revestimento. Os resultados de análise sensorial bem como as concentrações internas de CO₂ e O₂ também confirmaram a eficácia do quitosano.

Na aplicação de revestimentos comestíveis em banana, *Maqbool, et al. (2011)*, concluíram que 10% de goma-arábica com 1,0% de quitosano como revestimento comestível, pode ser utilizado comercialmente para aumentar a vida útil de armazenamento do fruto por 33 dias.

A partir dos resultados do estudo de *Assis, et al, 2010*, o quitosano comercial foi um sucesso na proteção de maçãs fatiadas contra a contaminação por fungos. O quitosano, quando aplicado diretamente sobre superfícies de corte (sem aditivos) tem o

potencial de formar um revestimento comestível invisível com atividade inibitória para o desenvolvimento de fungos. Esta atividade pode ser facilmente reconstituída por meio da observação visual, no entanto, uma profunda aplicação deste procedimento requer o conhecimento adicional dos fatores que determinam o desempenho do quitosano, incluindo os efeitos do pH, temperatura, concentração, pressão e grau de acetilação. Os autores constataram assim que o quitosano pode ser considerado uma boa fonte para aplicações de revestimento comestível na preservação de frutas cortadas, como uma alternativa aos convencionais agentes antifúngicos.

Devido à sua abundância como matéria-prima e a características únicas (biocompatibilidade, degradabilidade, versatilidade química e hemostática e propriedades antibacterianas) (Jason, e Robert 2011) a quitina, o quitosano e seus derivados têm sido utilizados no desenvolvimento de muitos produtos e para as mais diversas áreas de aplicação como medicina, ambiente, nutrição, cosméticos, agricultura, fotografia, etc. O quitosano apresenta uma maior versatilidade comparativamente à quitina, daí o quitosano ter sido eleito em detrimento da quitina, na maior parte dessas aplicações. A principal desvantagem associada ao uso do quitosano prende-se com a sua solubilidade limitada (embora seja superior à da quitina), apesar de serem desenvolvidas numerosas técnicas para resolver este desafio (Jason, e Robert 2011). No que diz respeito à indústria biomédica, a elevada bioatividade do quitosano permite que este biopolímero seja aplicado na cicatrização de tecidos, na hemostase, em dietas hipolípicas e atividade antimicrobiana. Ainda assim, é condição fundamental para aplicações biomédicas que o quitosano possua um elevado grau de pureza e de qualidade (Leandro, 2010).

Para garantir a produção de quitosano de elevado grau de pureza é extremamente importante que existam fontes de quitina estáveis e de qualidade. Atualmente, a quitina para produção do quitosano é obtida essencialmente a partir dos subprodutos produzidos pela indústria de transformação alimentar. No entanto, esta fonte de matéria-prima está longe de ser a ideal para a produção de quitosano de elevado grau de pureza. A sazonalidade da oferta de matéria-prima, simultaneamente com a possibilidade de ocorrência de elevados níveis de contaminantes em consequência da exposição ambiental durante o crescimento dos organismos, limita a produção de quitosano de elevada qualidade. Perante este cenário, torna-se necessário que a comunidade científica identifique e defina fontes de quitina alternativas às existentes, podendo desta forma assegurar a produção de quitosano de elevada qualidade a preços competitivos (Leandro, 2010).

Nos produtos hortofrutícolas, o quitosano evita o escurecimento enzimático, devido à capacidade para complexar iões metálicos, como o cobre. A PPO, enzima responsável por esta reação (escurecimento enzimático), possui um átomo de cobre no centro ativo e promove a oxidação, atuando na hidroxilação de monofenóis a dihidroxifenóis e, posteriormente, oxidando-os a o-quinonas. A atividade desta enzima ocorre predominantemente a valores de pH entre 3,5-6 (Araújo 1999; Assis e Leoni 2003). Assim, o quitosano utilizado como biofilme de revestimento de frutos, bloqueia os dois componentes indispensáveis ao escurecimento enzimático, o oxigénio e a própria enzima (PPO).

O quitosano, para além das atividades benéficas já mencionadas, exerce também ação na redução do colesterol associado a proteínas de baixa densidade (LDL), no aumento do colesterol associado a proteínas de alta densidade (HDL) e na redução do peso, o que permitirá a alegação de benefícios para a saúde em alimentos nos quais seja empregue um revestimento comestível contendo quitosano na sua composição (Dutta, et al, 2009).

Os revestimentos alimentares representam uma metodologia eficaz na preservação da qualidade de PHMP, contribuindo para o seu aumento de vida útil, já que fornecem características antioxidantes, antimicrobianas e propriedades barreira, sendo vantajosa a utilização dos biopolímeros extraídos de subprodutos abundantes da indústria do pescado nesta aplicação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação dos subprodutos para a extração de QPDA

Os subprodutos de camarão, contendo exoesqueleto e restos de músculo, foram fornecidos congelados, pela empresa de marisco e pescado Tejo Ribeirinho, Lda, de Peniche, Portugal. Esses subprodutos, resultantes de uma mistura de espécies, *Penaeus spp.* do Oceano Atlântico Centro-Este, *Penaeus spp.* do Oceano Índico e *Metapenaeus spp.* do Oceano Índico, foram descongelados em água fria e lavados com água salgada, foram retirados os restos de músculo que ainda se encontravam presos ao exoesqueleto e foi retirado o excesso de água com papel absorvente e posteriormente com o auxílio de uma centrifugadora manual (Percot, et al, 2003). Seguidamente, os subprodutos de camarão foram desidratados num secador industrial de tabuleiros, Siemens, com a circulação de ar a 0,76 m/s, às temperaturas de bolbo húmido e seco de 25,5°C e 37,5°C, respetivamente. A temperatura foi medida com um termómetro *ebm papst de 8556N* e a velocidade do ar com um medidor *Airflow LC A30 VT*. A secagem dos subprodutos foi realizada em 4 lotes, sendo cada uma delas subdividida em 3 períodos de cerca de 20h, para obtenção de uma secagem total e eficiente das mesmas. Após a secagem, os subprodutos foram misturados para homogeneidade da amostra.

Posteriormente, os subprodutos (exoesqueleto) secos foram triturados, em várias quantidades para garantir a eficácia da trituração, no robot de cozinha, Bimby VORWERK, na velocidade 9 durante 30 segundos. A a_w e o teor de humidade dos subprodutos desidratados triturados foram medidos com um medidor de a_w , Rotronic hygropalm, e com o analisador de humidade, HB43 Halogen (Mettler Toledo).

2.2 Extração de QPDA

A extração de quitosano foi efetuada a partir dos subprodutos de camarão secos triturados. O processo de extração de quitosano foi adaptado de Pinto, 2008; Percot, et al, 2003; Alishahi, et al, 2011.

Na figura 2.1 está esquematizado o fluxograma do processo de extração do quitosano.

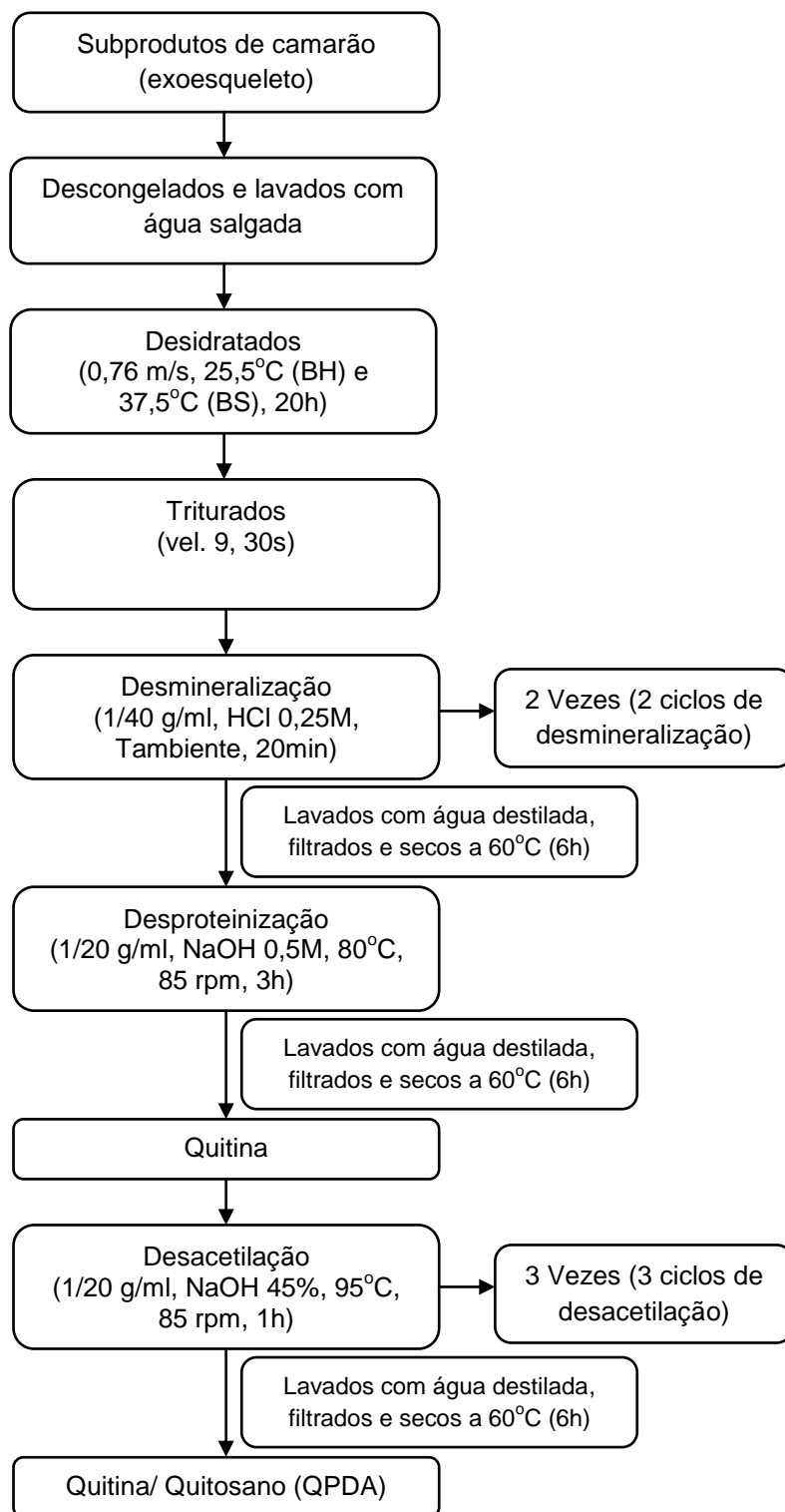


Figura 2.1 – Fluxograma de extração de quitosano a partir de subprodutos de camarão, contendo exoesqueleto.

Todo este processo foi efetuado várias vezes, devido à incapacidade, a nível de material, de se extrair a QPDA de uma só vez. No fim, toda a QPDA foi misturada, de forma a ser utilizado sempre o mesmo lote. O processo foi ajustado com dados presentes na literatura. Foram efetuados ensaios prévios de extração de quitosano, no entanto

apresentaram rendimentos inferiores, na ordem dos 10%, por isso foi tomado como referência o método descrito. A validação da segurança da QPDA extraída não foi efetuada, e dessa forma a análise sensorial descrita no trabalho, não inclui a ingestão.

2.2.1 Desmineralização

A razão subprodutos/ácido foi de 1/40 g/ml. (*Pinto, 2008*).

Colocaram-se 20g de subprodutos (exoesqueleto) e adicionaram-se 800ml de uma solução de HCl, Merck, com a concentração de 0,25M (*Pinto, 2008*). De seguida, expôs-se cada erlenmeyer com a solução (subprodutos/solução ácida) à agitação, a uma determinada velocidade e à temperatura ambiente, durante 20 minutos (*Pinto, 2008*). Esta foi feita numa placa de aquecimento com agitação, Agimatic-E, P. Selecta. No final deste ciclo, os subprodutos foram filtrados e adicionou-se novamente o mesmo volume da solução ácida, a fim de efetuar um 2º ciclo. No final dos dois ciclos de 20 minutos em exposição à solução de HCl, procedeu-se à filtração num crivo de 75µm, seguida de sucessivas lavagens com água destilada para remover o solvente e neutralizar os subprodutos. O pH das águas de lavagem foi medido com um potenciómetro, medidor de pH, Crison, pH Meter Basic 20.

Por fim, colocaram-se os subprodutos num recipiente, pesou-se e colocou-se na estufa, Binder, a uma temperatura de 60°C, durante 6h (*Pinto, 2008*).

2.2.1.1 Quantificação da matéria mineral

A fim de verificar se a etapa de desmineralização foi eficaz, procedeu-se à quantificação da concentração de matéria mineral, no final deste processo.

O exoesqueleto de camarão possui uma determinada quantidade de matéria orgânica e outra de matéria mineral. O ponto de fusão da matéria mineral é superior ao da matéria orgânica, e deste modo, atingindo-se uma dada temperatura, a matéria orgânica será degradada, ficando apenas a mineral, ou seja, o peso seco livre de cinzas (*Khan, et al, 2000*). Esta matéria mineral é composta maioritariamente por carbonato de cálcio e fosfato de cálcio (*Pinto, 2008*). Assim, pesaram-se cadinhos previamente secos, colocaram-se porções dos subprodutos a analisar (subprodutos de camarão normal e em pó, depois de triturados, pó de subprodutos desmineralizados e pó de subprodutos

desacetilados) nos cadinhos e estes foram submetidos a 105°C durante 24h, de forma a desidratar. Passado esse tempo, foi pesado o sistema (cadinho mais subprodutos secos a analisar), e subtraindo o peso do cadinho, obteve-se o peso seco (P.S.). Seguidamente colocou-se cada sistema na mufla, Nabertherm, a 530°C durante 20h. No fim pesou-se o sistema e subtraiu-se o peso do cadinho, obtendo-se assim o peso seco livre de cinzas (P.S.L.C.) (Pinto, 2008).

Com isto foi possível calcular o teor de matéria mineral, através da equação 2.1.

$$\% \text{Matéria mineral} = \frac{\text{P.S.L.C.}}{\text{P.S.}} \times 100$$

Eq. 2.1 - %Matéria mineral.

2.2.2 Desproteínização

Os subprodutos (exoesqueleto, material quitinoso) desmineralizados foram sujeitos à desproteínização com NaOH, Panreac. O rácio subprodutos/base foi de 1/20 (g/ml) (Alishahi, et al, 2011). Desta forma, pesaram-se os subprodutos obtidos e colocaram-se num erlenmeyer. Calculou-se o volume de NaOH, Panreac, a adicionar, segundo o rácio mencionado e a uma concentração de 0,5M. Adicionando-se o volume necessário aos subprodutos desmineralizados, colocou-se o erlenmeyer num banho de agitação, Julabo SW22, a 80°C (Alishahi, et al, 2011) e a 85 rpm. Foi realizado apenas um ciclo, de 3 horas (Alishahi, et al, 2011). No final da desproteínização, os subprodutos foram filtrados com o crivo já citado e efetuaram-se várias lavagens com água destilada, de modo a remover o solvente e a neutralizar os subprodutos. O pH das águas de lavagem foi medido com um potenciómetro, medidor de pH, Rotronic hygropalm. Por fim, colocaram-se os subprodutos num recipiente, pesaram-se e colocaram-se na estufa, Binder, a uma temperatura de 60°C, durante cerca de 6h (Pinto, 2008).

2.2.2.1 Quantificação proteica

Com o intuito de avaliar o grau de desproteínização ao longo da reação com NaOH (2.2.2), foi realizada a quantificação proteica por dois métodos diferentes, o método de Bradford e o método de Kjeldahl.

O método de Bradford é um método espectrofotométrico baseado no facto do corante “Azul de Coomassie” modificar o seu máximo de absorção de radiações de 465nm para 595nm quando complexado com proteínas, (Bradford, 1996; Pinto, 2008).

A curva de calibração para o método de Bradford encontra-se no anexo 5. Preparou-se uma solução de albumina de soro bovino (ASB) ($1\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) a partir da qual se fizeram várias diluições. A $100\mu\text{l}$ das amostras foram adicionados $4,9\text{ml}$ de reagente de Bradford (Azul de Comassie, Riedel, etanol 95%, Panreac, ácido fosfórico 85%, Panreac), tendo-se homogeneizado no vortex, Velp Scientific, e repousado 10 minutos antes de se efetuar a leitura da absorvância a 595 nm , num espectrofotómetro, Thermo Electron Corporation; Helios. As amostras (1ml) foram recolhidas ao longo do processo de desproteínização de 30 em 30 minutos (Pinto, 2008).

A percentagem de azoto nos subprodutos foi determinada pelo método de Kjeldahl, o qual é definido pela Norma Portuguesa NP 1986 (1992) como um método padrão de determinação do teor de proteína bruta dos alimentos. De acordo com a norma, entende-se por teor de proteína bruta o resultado que se obtém multiplicando pelo fator 6,25 (coeficiente variável em função da natureza do alimento) o teor de azoto, doseado segundo a técnica de Kjeldahl (NP 1986:1992). No entanto, neste caso tem que se ter em conta que para o azoto total medido pelo Kjeldahl contribui não só o azoto proteico mas também o azoto presente na quitina, e assim a conversão tradicional (6.25) não será correta. Desta forma, o valor de azoto obtido pelo método de Kjeldahl nos subprodutos desproteínizados é resultado do azoto presente na quitina e do azoto proteico. Assim sendo foi calculado o teor de azoto presente nos subprodutos de camarão, subprodutos desmineralizados e desproteínizados (quitina) e quitina após desacetilação (QPDA) e através da equação 2.2, foi calculada a %Azoto.

Na digestão, pesaram-se $0,5\text{g}$ de amostra (subprodutos de camarão normais, subprodutos desproteínizados – quitina e quitina desacetilada - QPDA). Cada amostra foi introduzida nos tubos a adicionaram-se 2 pastilhas catalisadoras, Panreac, e 25ml de ácido sulfúrico, Sigma-Aldrich. Foram também preparados 2 tubos para o ensaio em branco (2 pastilhas catalisadoras, Panreac, e 25ml de ácido sulfúrico, Sigma-Aldrich). Foi programada a temperatura de digestão para 220°C e quando esta foi atingida, colocaram-se os tubos no digestor, Foss, Digestor 2006, abrindo-se a torneira da água. Passados 30 minutos, programou-se o digestor para 400°C . Quando esta temperatura foi atingida, esperou-se 90 minutos. Atingido o tempo necessário, desligou-se o digestor, tiraram-se os tubos e deixaram-se arrefecer. A torneira da água foi fechada quando deixaram de existir vapores.

Na destilação, colocaram-se em cada tubo, 80ml de água destilada. No erlenmeyer receptor colocaram-se 30ml de ácido bórico, Panreac. Posteriormente colocaram-se o tubo e o erlenmeyer no destilador, Foss, Kjeltac™2100, e pressionou-se na tecla para iniciar o processo, sempre que se introduziu um novo tubo para destilação (Pinto, 2008). Por fim, efetuou-se a titulação da solução do erlenmeyer com HCl a 0,1M, Panreac, até passagem de azul a vermelho. O cálculo da percentagem de azoto em cada amostra, através do método de Kjeldahl, foi feito através da equação 2.2.

$$\%Azoto = \frac{0,14 \times (V_1 - V_0)}{m}$$

Eq. 2.2 - %Azoto.

Onde:

V_1 (ml) – Volume da solução de ácido gasto na titulação da amostra;

V_0 (ml) - Volume da solução de ácido gasto na titulação do branco;

m (g) – Massa da amostra.

O teor de azoto foi convertido em teor de proteína através da equação 2.3 (Percot, et al, 2003).

$$\%Proteína = (\%Azoto - 6,9) \times 6,25$$

Eq. 2.3 - % Proteína.

2.2.3 Desacetilação

Depois de se obter a matéria-prima desproteïnizada, esta foi sujeita à desacetilação a 95°C com NaOH (Panreac) a 45%, na razão de 1/20 g/ml num banho com agitação, Julabo SW2. Foram realizados 3 ciclos de 1 hora. As condições de desacetilação foram adotadas pelo estudo efetuado por Pinto (2008).

Assim, depois de se pesar a quitina obtida da desproteïnização, colocou-se num erlenmeyer e calculou-se o volume de solução de NaOH, Panreac, a 45% a adicionar, tendo em conta o rácio já mencionado. Depois de se ter adicionado o volume necessário, o erlenmeyer foi fechado com uma tampa e colocado no banho com agitação, a 95°C, durante 1h e com uma agitação de 85 rpm. No final de cada ciclo retirou-se o solvente por filtração através do crivo e adicionou-se novo volume de NaOH, Panreac. No final do 3º ciclo, para além de se proceder à filtração, efetuaram-se lavagens a fim de remover o solvente e neutralizar a QPDA. Por fim, colocou-se a QPDA obtido num recipiente, pesou-se e colocou-se na estufa a 60°C, durante cerca de 6h, até este se apresentar seco (Pinto, 2008).

2.2.3.1 Grau de desacetilação

O grau de desacetilação da QPDA foi determinado por alcalimetria, segundo um método adaptado de *Kong, (2012)*. Foram analisados a QPDA obtida das extrações efetuadas e o QC.

Inicialmente dispersou-se a QPDA e o QC, cerca de 0,1g, em 30ml de solução aquosa de HCl, Merck, a 0.1M e a mistura foi submetida a 24h de agitação, numa placa de aquecimento e agitação, Agimatic-E, P. selecta, e a 1/2h no equipamento de ultrassons, VWR, até que se observasse completa dispersão do material no ácido. Em seguida, adicionaram-se 2-3 gotas de indicador de alaranjado de metilo (0,1%). Sob contínua agitação, foi adicionada à solução o NaOH, Panreac, a 0,1M, até a cor da solução mudar de vermelho para laranja. O volume de solução de NaOH adicionado foi anotado e marcado como V. Foi realizado o ensaio em branco, onde o volume da solução de padrão NaOH adicionado foi marcado como V₀ (*Kong, 2012*). O grau de desacetilação das amostras (DD) foi calculado de acordo com a equação 2.4.

$$\%DD = \frac{[\text{NaOH}] \times (V_0 - V) \times 16}{m \times 0,094}$$

Eq. 2.4 - % DD.

Em que:

V₀ (ml) - Volume da solução de ácido gasto na titulação do branco;

V₁ (ml) – Volume da solução de ácido gasto na titulação da amostra;

m (g) – Massa de QPDA e QC adicionados;

16 – Massa molar do grupo NH₂;

0,94 – m(g) NH₂/ m(g) QPDA ou QC.

2.3 Formulação dos revestimentos alimentares a aplicar na maçã fatiada

As soluções de revestimento da maçã foram preparadas de acordo com os esquemas correspondentes a cada solução, apresentados em anexo 2 (figura 7.2, figura 7.3, figura 7.4, figura 7.5, figura 7.6).

A solução revestimento controlo 1, foi formulada de forma a ter um controlo isento de qualquer composto protetor.

O ácido acético glacial, Scharlau, foi adicionado ao revestimento controlo 3, ao revestimento com 1,5% de QPDA e ao revestimento com 3% de QPDA, para dissolver a QPDA (Dong, et al, 2004). Este foi ainda adicionado ao revestimento controlo 2 para igualar as condições dos revestimentos acima mencionados. O ácido acético glacial foi adicionado, a uma percentagem de 5%, de forma a ser atingido o pH ótimo para a dissolução da QPDA (Chien, et al, 2005; Vu, et al, 2011; Ali, et al, 2011).

As percentagens de alginato, Prolabo, e glicerol, Scharlau, no controlo 2, revestimento com 1,5% de QPDA e revestimento com 3% de QPDA, foram de 2% e 1,5%, respetivamente (Skurtys, et al, 2011; Tapia, et al, 2007; Bourbon, et al, 2011; Ferreira, et al, 2009; Carmen, et al, 2011).

As concentrações de QPDA selecionadas para as formulações basearam-se em resultados de referências. As percentagens de QPDA adicionadas aos revestimentos (que apresentavam QPDA) foram de 1,5% e de 3%, respetivamente. O revestimento controlo 3 é constituído pela solução de 1,5% de QPDA. A adição de 1,5% de QPDA na formulação de revestimentos comestíveis em frutos tem demonstrado contribuir para um aumento do tempo de prateleira, sendo a concentração que apresenta melhores resultados nas amostras (Dong, et al, 2004; Chien, et al, 2005; Skurtys, et al, 2011; Ali, et al, 2011; Bourbon, et al, 2011 e Chamorro, et al, 2011). Este revestimento controlo foi testado a fim de verificar se mesmo sem a presença de nenhum outro composto protetor, a QPDA apresenta vantagens em relação ao revestimento controlo 1, no que diz respeito ao aumento do tempo de vida útil das amostras testadas.

O revestimento controlo 2 foi formulado para verificar se tanto o alginato como o glicerol apresentam vantagens na maçã fatiada no que diz respeito às suas qualidades sensoriais, físicas, químicas e microbiológicas, sem a presença de QPDA.

O pH de todas as soluções foi ajustado para 3,6 com uma solução de ácido acético glacial, a 1M, Scharlau, no caso do revestimento controlo 1 e com NaOH, 0,25M, Panreac, no caso dos restantes revestimentos. O pH da maçã testada é de 3,6 (dado fornecido pela Campotec). Deve-se a este motivo o facto de o pH das soluções ter sido ajustado para esse valor, a fim de não alterar as características químicas das amostras testadas. Todas as soluções foram ajustadas para este pH, de modo a todas apresentarem idênticas condições.

As soluções de revestimento com QPDA e alginato (todas à exceção do revestimento controlo 1) foram submetidas a aquecimento (80°C) e agitação (900rpm) (com magneto) numa placa de aquecimento e agitação, Agimatic-E, P. selecta, durante cerca de 1h e 30min (até se verificar total dissolução dos compostos), para mais fácil dissolução tanto da QPDA como do alginato.

2.3.1 Preparação e aplicação dos revestimentos

Os componentes adicionados a cada solução encontram-se na tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Reagentes e respetivas concentrações a adicionar a cada solução de revestimento.

	Ácido acético glacial (%)	Alginato (%)	Glicerol (%)	QPDA (%)
Controlo 1	-	-	-	-
Controlo 2	5	2	1,5	-
Controlo 3	5	-	-	1,5
1,5 % QPDA	5	2	1,5	1,5
3% QPDA	5	2	1,5	3

A aplicação dos revestimentos nas fatias de maçã foi efetuada na *Campotec*, na sala de processamento das maçãs (corte das maçãs em fatias) que se encontrava à temperatura de 8°C. As maçãs Fuji (um dos tipos cultivados pela APM Alcobaça) foram cortadas mecanicamente através de uma cortadora, Tona-Eckenschneideautomat, Kronen Nahrungsmitteltechnik, que cortava cada maçã em 16 fatias, em média, dependendo do tamanho da maçã. As soluções foram colocadas em recipientes identificados e com diferentes cores, para melhor diferenciação. Foram colocadas em cada rede metálica 240 fatias de maçã, de modo a que pudessem ser imersas e facilmente retiradas das respetivas soluções. As fatias foram imersas durante cerca de 1min (*Chien, et al, 2005; Dong, et al, 2004*). Posteriormente as fatias de maçã secaram ao ar e à temperatura de 8°C, durante aproximadamente 30min, na mesma sala da aplicação das soluções, num recipiente perfurado previamente lavado e desinfetado (*Chien, et al, 2005; Dong, et al, 2004*). Por fim, as fatias de maçã foram embaladas em sacos de poliamida e polietileno de baixa densidade cristal sem impressão (300 +/- 10mm de largura e comprimento e 80my +/- 10% de espessura) próprios para contato com produtos alimentares (*Campotec, 2009*), devidamente identificados. Tais amostras foram embaladas sem vácuo e sem atmosfera modificada através de uma embaladora manual, WEBOMATIC duoMAT 450/650/850, CleanDesign.

As embalagens foram armazenadas em refrigeração, à temperatura de cerca de 4°C, até à data de análise.

Na figura 2.2 encontra-se o fluxograma de processamento da maçã fatiada com os revestimentos aplicados, adaptado do fluxograma geral de processamento de frutos minimamente processados, de 4ª gama, da *Campotec* (adaptado de *Campotec, Fluxograma IV Gama*).

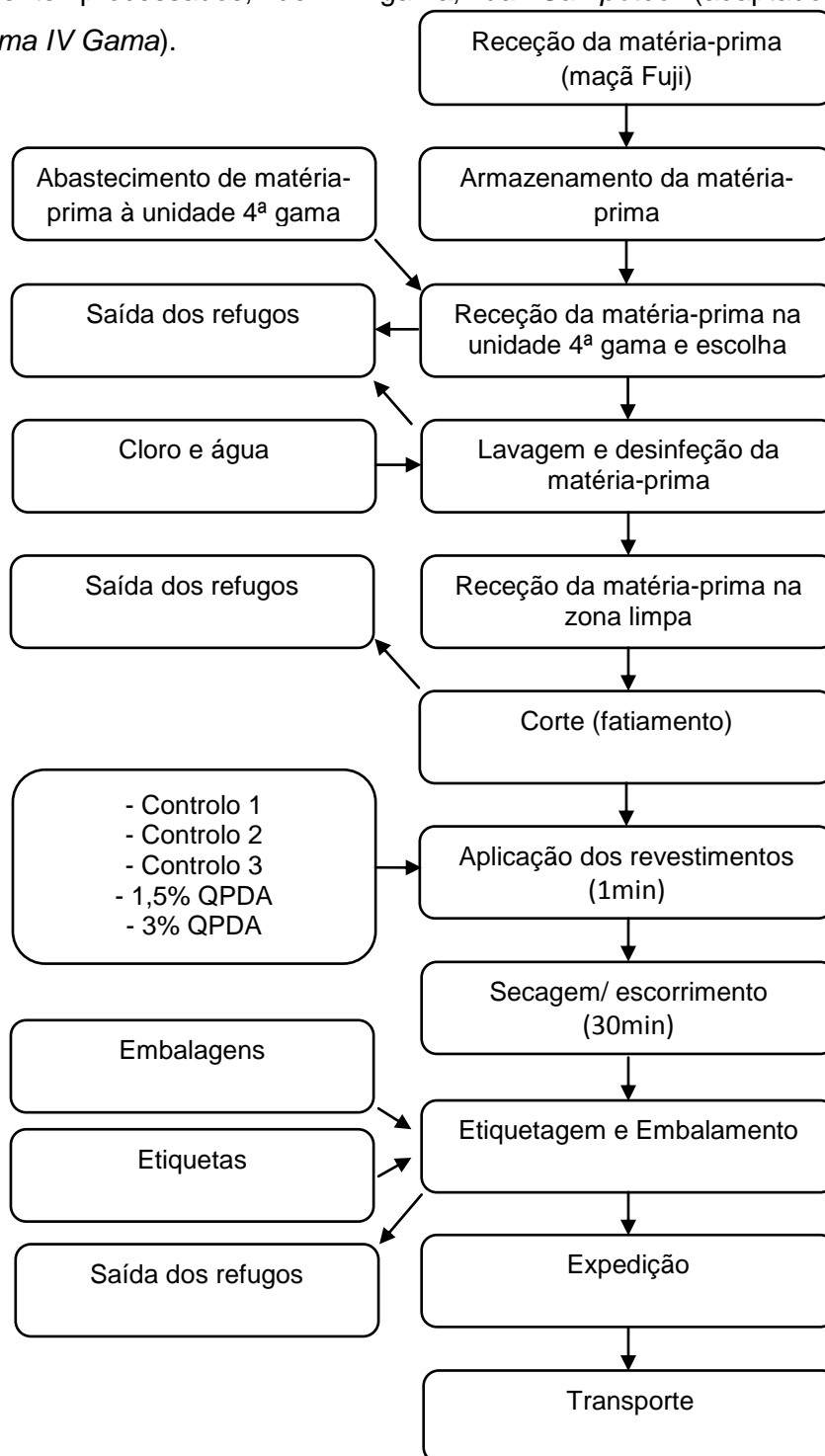


Figura 2.2 – Fluxograma de processamento da maçã fatiada (adaptado de *Campotec, Fluxograma IV Gama*).

Com base nos resultados obtidos no ensaio descrito, foi realizada também a investigação do efeito da aplicação de um revestimento de QC e da sua eficácia como veículo de incorporação de ácido cítrico presente em sumo de limão. Este ensaio teve um período de análise de 5 dias tendo sido investigados 3 revestimentos distintos. Um deles, sendo o controlo, em que as maçãs foram revestidas com uma solução de água destilada, a pH 3,6, ajustado com vinagre, Cigalou, sem nenhum composto protetor. Outro dos revestimentos foi realizado apenas com a dispersão de 1,5% QC, Sigma-Aldrich, grau de desacetilação $\geq 75\%$, em 6% de vinagre, Cigalou, e com água destilada (a pH 3,6). Esta quantidade de vinagre foi estabelecida visto ser a percentagem de vinagre necessária para dissolver o QC. Por fim, o último revestimento efetuado consistiu na dissolução do QC, Sigma-Aldrich, grau de desacetilação $\geq 75\%$, em 6% de sumo de limão comercial, Cristal, sendo este considerado um aditivo antioxidante natural, com água destilada (a pH 3,6). Esta quantidade de sumo de limão foi estabelecida visto ser a percentagem de sumo de limão necessária para dissolver o QC. Este último revestimento foi analisado a fim de comparar os seus resultados com obtidos anteriormente, já que no decorrer do tempo de armazenamento das amostras o produto sofreu bastante escurecimento, o que se pressupõe estar relacionado com a oxidação ocorrida nas amostras.

Nos revestimentos com QC, não foi adicionado qualquer composto que fornecesse à solução maior consistência e viscosidade, uma vez que foram verificadas, previamente, a consistência e a viscosidade desejadas, apenas com a dispersão de QC em ácido acético glacial. Para além desse facto, o alginato e o glicerol não apresentaram vantagens no estudo anterior comparativamente ao revestimento de QPDA isolada.

Na tabela 2.2 encontra-se a composição de cada revestimento a aplicar na maçã.

Tabela 2.2 - Reagentes e respetivas concentrações a adicionar a cada solução de revestimento.

	Vinagre (%)	Sumo de limão* (%)	QC (%)
Controlo	2 (para ajustar pH a 3,6)	-	-
QC	6	-	1,5
QC + Antioxidante	-	6	1,5

*Antioxidante natural

Desta vez, o processo de aplicação dos revestimentos foi efetuado no laboratório de análise sensorial da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar (ESTM) de Peniche e as maçãs utilizadas foram maçãs Fuji, tal como no ensaio prévio, e foram submetidas a desinfecção com Amukina, Angelini (100ml para 4L de água) durante 15min.

As 20 maçãs foram fatiadas manualmente, imersas durante 1min nas 3 soluções de revestimento e secas ao ar, a cerca de 20°C (temperatura ambiente do laboratório), num recipiente perfurado durante 30 min. Por fim, as fatias de maçã foram embaladas em sacos de poliamida e polietileno de baixa densidade cristal sem impressão (300 +/- 10mm de largura e comprimento e 80my +/- 10% de espessura) próprios para contacto com produtos alimentares, previamente etiquetados e identificados e estes foram submetidos a selagem (sem vácuo e sem atmosfera modificada), pela seladora manual, Selecta.

As embalagens foram armazenadas, até à data de análise, em refrigeração, a cerca de 4°C.

2.4 Aplicação de revestimentos alimentares à base de QPDA e QC em maçã fatiada

2.4.1 Alterações de características físicas

2.4.1.1 Avaliação da firmeza e atributo crocante

A firmeza e o atributo crocante das amostras envolvidas com os revestimentos alimentares foram medidos com um texturómetro TA.XT.plus Texture Analyser, Stable Micro Systems, a partir do programa TEE32, a uma velocidade de teste de 0,08mm/s e a uma profundidade de 2mm (*Chauhan, et al, 2011; Xiao, et al, 2011*). A sonda utilizada neste teste foi a P2, com um diâmetro de cerca 1mm. As fatias de maçã utilizadas tinham cerca de 5,5cm/1,5cm/1cm. Os parâmetros retirados e analisados da avaliação da textura em cada amostra foram a curva de compressão (g.s), de forma a obter a firmeza das amostras e o número de picos positivos do mesmo gráfico, relacionado com o atributo crocante. A firmeza e o atributo crocante foram analisados 5 vezes ao longo de 13 dias de armazenamento refrigerado: nos dias 1, 4, 7, 10 e 13.

Foi efetuada a análise de firmeza e atributo crocante nas amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC. Estas análises foram efetuadas nos dias 1, 3 e 5.

2.4.1.2 Avaliação do teor de humidade

O teor de humidade das amostras de maçã fatiada foi avaliado através de um analisador de humidade, Metter Toledo HB43 Halogen, a uma temperatura de 200°C. Cada porção colocada no tabuleiro do analisador de humidade, tinha em média, 0,760g de amostra. Em média, o tempo de análise foi de 18min e 88seg. O teor de humidade foi analisado ao longo de 13 dias de armazenamento refrigerado: nos dias 1, 4, 7, 10 e 13.

2.4.1.3 Avaliação da cor

A cor da superfície das amostras foi analisada utilizando um colorímetro Chroma Meter CR-400, Konica Minolta, Senaing, inc. O equipamento foi calibrado utilizando uma placa cerâmica branca como padrão. Os resultados foram expressos em CIE L * luminosidade (0 = preto, 100 = branco), a * (-a * = esverdeado, + a * = vermelhidão), b * (-b * azul =, + b * = amarelo) (*Waimaleongora, et al, 2008; Chien, 2005*), definido pela "Comission Internationale de L'éclariage Uniform Color Space" (*Gonçalves, 2007*). A cor foi analisada ao longo de 13 dias de armazenamento refrigerado: nos dias 1, 4, 7, 10 e 13.

Foi efetuada a análise da cor nas amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC. Estas análises foram efetuadas nos dias 1, 3 e 5.

2.4.2 Alterações de características químicas

2.4.2.1 Avaliação do pH

Foi efetuada uma diluição de $\frac{1}{4}$ onde se colocaram, num saco para homogeneizar, 10g de amostra (de 2 fatias de maçã) e 40ml de água destilada (*Ali, et al, 2011*). Posteriormente o saco com a diluição foi submetido ao homogeneizador Stomacher, IUL instruments, durante 1min e de seguida efetuou-se filtração com papel de filtro, Whatman 40, para obtenção de um líquido límpido para leitura do pH. Esta leitura foi efetuada num potenciómetro, medidor de pH Inolab, WTW Series, pH 720, calibrado com soluções reguladoras de pH 7 e pH 4, respetivamente. O pH foi analisado ao longo de 13 dias de armazenamento refrigerado: nos dias 1, 4, 7, 10 e 13.

2.4.2.2 Avaliação da concentração de sólidos solúveis (°Brix)

A concentração de sólidos solúveis (°Brix) foi medida pelo sumo extraído da amostra, através de um corte na sua superfície. Para medição do °Brix foi utilizado o Refractómetro Portátil, Portable Refractometer Zuzi, tendo sido analisada uma fatia de maçã. O °Brix foi analisado ao longo de 13 dias de armazenamento refrigerado: nos dias 1, 4, 7, 10 e 13.

2.4.3 Alterações de parâmetros microbiológicos

Os parâmetros microbiológicos analisados foram microrganismos aeróbios a 30°C e microrganismos psicrotróficos.

2.4.3.1 Microrganismos aeróbios a 30°C e Microrganismos psicrotróficos

Durante 14 dias após aplicação das soluções de revestimento, foram realizadas análises microbiológicas em 5 dias: dia 2 (dia seguinte ao da aplicação dos revestimentos), dia 5, dia 8, dia 11 e dia 14.

O diluente utilizado, bem como o meio de cultura, foram os mesmos para ambos os parâmetros analisados.

Foi preparada uma suspensão mãe homogeneizada (Stomacher, IUL instruments), durante 1 min, com 25g de maçã em 225 mL de diluente tripton-sal, de acordo com a ISO 6887-4 (2003). Este diluente foi preparado com 1 g de peptona de caseína (Merck), 8,5 g de NaCl (Merck) e 1 L de água destilada. Posteriormente foram preparadas diluições em série da suspensão, igualmente, em tripton sal. No caso da contagem de microrganismos aeróbios a 30°C, o inóculo diluído sucessivamente foi incorporado, em duplicado, no meio Plate Count Agar (PCA, Merck), e, em duplicado também, foi semeado à superfície de PCA.

As caixas de Petri preparadas por incorporação foram incubadas numa estufa a 30°C ± 1°C durante 72h ± 3h (ISO 4833, 2003) e utilizadas para a contagem de microrganismos aeróbios a 30°C. As caixas de Petri com sementeira à superfície foram colocadas numa estufa a 6,5°C ± 0,5°C durante 10 dias (NP 2307, 1987) a fim de observar o crescimento de microrganismos psicrotróficos. É de salientar que a estufa

nem sempre se encontrava a $6,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, a sua temperatura oscilava entre esse valor e os $10,5^{\circ}\text{C}$, o que poderá comprometer os resultados das análises.

No fim do tempo de incubação relativo a cada parâmetro microbiológico, foram contadas as colónias desenvolvidas. Para cálculo do nº N de microrganismos por g, foi utilizada a seguinte equação:

$$N = \text{Soma de C} / (n_1 + 0,1n_2) d$$

Em que,

- Soma de C representa a soma das colónias contadas nas 2 placas consideradas;
- n_1 representa o nº de placas consideradas na 1ª diluição;
- n_2 representa o nº de placas consideradas na 2ª diluição e
- d representa o fator de diluição correspondente à 1ª diluição considerada.

Para o cálculo da fórmula só se consideraram as placas contendo entre 15 e 300 colónias. Os resultados foram expressos em UFC/g (unidades formadoras de colónias por grama de amostra) e em log UFC/g.

2.4.4 Alterações sensoriais

A avaliação sensorial foi efetuada no laboratório de análise sensorial da ESTM por 8 provadores. Estes provadores são, na sua grande maioria, técnicos de laboratórios da escola e alunos de Mestrado. São indivíduos com idades compreendidas entre os 20 e os 40 anos. Foi proposta a análise a 8 provadores, no entanto esta foi efetuada em repetição, sem que os provadores soubessem de tal situação, para que os resultados não fossem influenciados. Realizou-se repetição dos resultados para obter um conjunto de 16 resultados, de modo a serem o mais fidedignos possível.

A folha de prova encontra-se em anexo 3.

Os atributos observados na análise sensorial foram a cor, a granulosidade, a consistência, o brilho e o odor. As amostras foram codificadas com um conjunto de 3 dígitos, e em cada análise, eram apresentados códigos distintos. A ordem de apresentação das amostras no tabuleiro apresentado ao provador também era alterada

(e de acordo com a ordem que se encontrava na folha de prova). Isto para que a avaliação dos provadores não fosse influenciada e para que não se fizessem comparações com anteriores análises. A codificação das amostras (tanto das revestidas com soluções de QPDA e respetivos controlos, como das revestidas com soluções de QC e respetivo controlo) encontra-se em anexo 4.

Os valores de classificação (avaliação sensorial - intensidade) atribuídos pelos provadores para cada amostra estavam compreendidos entre 1 e 5, em que ao 1 correspondia o desagradável, ao 3 o aceitável e ao 5 o agradável. Os resultados foram expostos recorrendo à média aritmética dos valores de avaliação sensorial de cada atributo recolhidos de todos os provadores. A análise sensorial foi efetuada ao longo de 13 dias, nos dias 1 (dia de aplicação dos revestimentos), dia 4, dia 8, dia 10 e dia 12.

Foi efetuada a análise sensorial nas amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC. Estas análises foram efetuadas nos dias 1, 3 e 5. Nestas amostras, para além dos atributos já mencionados, também foi analisado o atributo sabor, uma vez que estas fatias de maçã foram revestidas com quitosano comercial e que todos os procedimentos foram efetuados no laboratório de análise sensorial e em material seguro a nível alimentar.

2.4.5 Análise estatística

Foram efetuados triplicados de todas as amostras (nas avaliações submetidas a análise estatística) e os valores apresentados são as médias, exceto no caso da microbiologia.

O *software* utilizado para a análise estatística dos resultados foi o *IBM SPSS Statistics 20*, tendo sido aplicado o teste ANOVA simples ($p \leq 0,05$) com comparações múltiplas (Tukey), para avaliação de diferenças significativas nos resultados, considerando um intervalo de confiança de 95%. As tabelas relativas à análise estatística aplicada aos resultados obtidos, encontram-se em anexo 7.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Preparação dos subprodutos para a extração de QPDA

Rendimento:

A quantidade média de 2073,5g de subprodutos fornecidos origina, em média, 619,25g de subprodutos secos e triturados, apresentando um rendimento de 30%. A quantidade de subprodutos secos e triturados é menor relativamente aos subprodutos iniciais uma vez que estes são expostos à secagem e deste modo perdem água, e são ainda triturados, o que também faz com que se verifiquem perdas na sua massa.

A fim de caracterizar os subprodutos fornecidos e os obtidos da secagem, foi medido, tanto nos subprodutos (exoesqueleto de camarão) como no pó que se obteve das mesmas, o a_w , bem como o teor de humidade. Deste modo obtiveram-se os seguintes resultados presentes na tabela 3.1:

Tabela 3.1 – Atividade da água e teor de humidade dos subprodutos antes e depois da etapa de secagem.

	a_w	Teor de humidade (%)
Subprodutos iniciais	0,485 (a 24°C)	69,53 (a 100°C)
Subprodutos secos	0,443 (a 24°C)	20,6 (a 170°C)

O a_w dos subprodutos secos apresentou-se inferior ao dos subprodutos iniciais, resultado este esperado, já que ocorreu o processo de secagem, o que faz com que haja diminuição da a_w . No entanto não é uma diminuição acentuada visto que a a_w representa a água que se encontra presente nos alimentos na sua forma livre, desligada de outras moléculas e como tal, disponível. É esta água disponível, que atua como solvente, que permite reações químicas e o crescimento microbiano (*Dias, 2006*).

Relativamente ao teor de humidade, este apresentou nos subprodutos iniciais um valor de 69,53% a 100°C, e o tempo de leitura do analisador de humidade foi de 52,01 minutos. Já nos subprodutos secos, o teor de humidade foi de 20,6% a 170°C, durando esta leitura 33,30 minutos. Este tempo foi menor, devido à temperatura mais elevada que

se verificou. O processo de secagem justifica a diminuição do teor de humidade que se constatou nos subprodutos secos.

3.2 Extração de QPDA

Rendimento:

A extração foi realizada em 5 lotes de 100g, tendo sido processados um total de 500g de subprodutos de camarão secos e triturados, tendo-se obtido um rendimento de 16% ($m_{QPDA}/m_{subproduto}$), já que a quantidade total de QPDA obtido foi de 81,7g.

3.2.1 Desmineralização

Após a etapa de desmineralização foi obtido um produto mais fino, tendo sido obtido um rendimento de 55% nesta etapa.

3.2.1.1 Quantificação da matéria mineral

Foi quantificada a matéria mineral presente nos subprodutos de camarão normal e nos subprodutos secos e triturados fornecidos à extração. Foi ainda quantificada a matéria mineral nos subprodutos desmineralizados e no produto final da extração. Aplicando a fórmula apresentada já anteriormente (Eq. 2.1), na metodologia, obtiveram-se os seguintes resultados, como representado na tabela 3.2:

Tabela 3.2 - Peso seco (P.S.), Peso seco livre de cinzas (P.S.L.C.), % matéria mineral e respetivas médias dos subprodutos de camarão normais e dos subprodutos de camarão secos e triturados (n=3) e % matéria mineral dos subprodutos desmineralizados e da quitina desacetilada.

	Subprodutos de camarão normais	Subprodutos de camarão secos e triturados	Subprodutos desmineralizados	Quitina desacetilada
P.S. (g)	0,5	1,8	1,1	0,4
P.S.L.C (g)	0,2	0,5	0	0
%Matéria mineral (%)	31,2	28,7	0	0
Média das %Matéria mineral (%)	30			

Analisando os resultados de quantificação de matéria mineral para os subprodutos de camarão, verifica-se que os valores, tanto os apresentados para os subprodutos de camarão normais como para os subprodutos de camarão secos e triturados, não se apresentam muito distanciados, daí ter-se efetuado a média relacionando ambos os valores, e assim são englobados dois resultados, fornecendo fiabilidade ao processo.

Comparando os resultados obtidos com os dados da literatura, verifica-se que a desmineralização efetuada resultou na completa remoção de matéria mineral dos subprodutos desproteinizados. Segundo *Pinto, 2008* durante a extração de quitosano, verificou-se uma redução de matéria mineral de 28,59% (matéria mineral nos subprodutos de camarão) para 2,03% (matéria mineral nos subprodutos desmineralizadas). Deste modo, o processo descrito por *Pinto, 2008* não retirou por completo a matéria mineral dos subprodutos de camarão, não sendo completamente eficaz.

Assim, desta quantificação, concluímos que a desmineralização foi eficaz, uma vez que removeu qualquer matéria mineral existente no exoesqueleto de camarão. Foi efetuado o procedimento também para a quitina desacetilada (QPDA).

3.2.2 Desproteíntização

Na desproteíntização, e em relação à etapa anterior (desmineralização) obteve-se um produto ainda mais fino tendo esta etapa um rendimento de 26% (em relação à massa inicial).

3.2.2.1 Quantificação proteica

A curva de calibração efetuada encontra-se em anexo 5.

As concentrações de proteína no solvente ao longo da reação de desproteíntização encontram-se na figura 3.1.

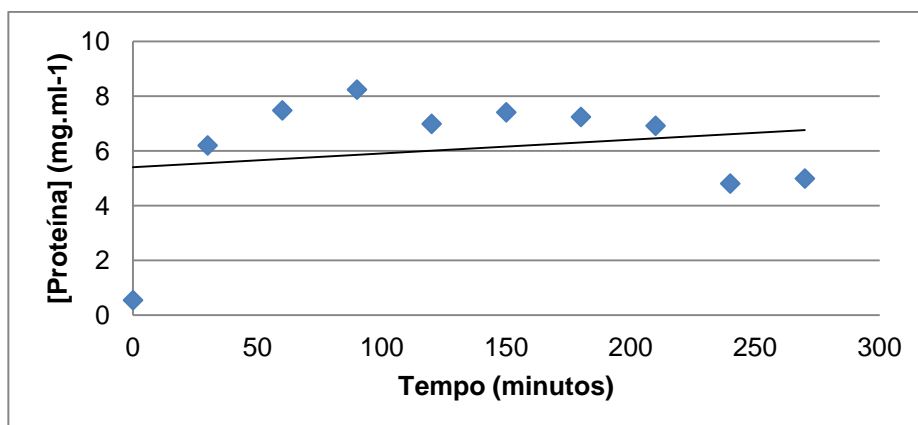


Figura 3.1 – Curva correspondente ao tempo de recolha de cada amostra vs concentração de proteína de cada amostra (mg.ml⁻¹).

Analisando o gráfico da figura 3.1, verifica-se que há um aumento da proteína até aos 90 minutos, o que significa que até esse tempo, é justificável fazer a desproteínização, uma vez que havendo aumento da proteína no solvente, há decréscimo da sua concentração nos subprodutos. Assim, da figura pode-se deduzir que a partir dos 90 minutos não se efetua remoção adicional de proteína. A partir daí a concentração da proteína no solvente atinge um patamar. Uma evolução semelhante foi observada por *Pinto, 2008* que verificou a existência de um patamar na concentração de proteína presente no solvente aos 120 min de reação.

Já analisando os resultados da quantificação proteica nos subprodutos, quanto ao método de Kjeldahl, observa-se a passagem da presença de proteína para quantidades residuais (0%).

Recorrendo às fórmulas (Eq. 2.2 e Eq. 2.3) já descritas na metodologia, verificam-se os seguintes resultados na tabela 3.3:

Tabela 3.3 - V_0 , V_1 , m e % de azoto dos subprodutos de camarão secos e triturados, da quitina e da QPDA.

	Subprodutos de camarão secos e triturados	Subprodutos desmineralizados e desproteínizados (quitina)	Quitina desacetilada (QPDA)
V_0 (ml)	26,56	25,10	24,53
V_1 (ml)	0,63	0,63	0,63
m (g)	0,51	0,50	0,51
Azoto (%)	7,17	6,82	6,59
Proteína (%)	1,66	0,00	0,00

De acordo com a tabela 3.3, verifica-se uma diminuição de 1,66% proteína nos subprodutos de camarão secos e triturados para 0% proteína na quitina. Este facto indica desproteínização total e assim este valor faz sentido se considerarmos o patamar no solvente da desproteínização. No final, na QPDA, não havia proteína, facto este que indica a eficácia da desproteínização.

Na tabela 3.4 está apresentada a composição dos produtos finais das diferentes etapas de extração.

Tabela 3.4 - Teor de água (%), teor de matéria mineral (%), Azoto total (%) e Proteína (%) dos produtos de cada etapa da extração de QPDA.

Produtos resultantes de cada etapa da extração de QPDA	Teor de água (%)	Teor de matéria mineral (%)	Azoto total (%)	Proteína (%)
Subprodutos de camarão secos e triturados	0,08	29,96	7,17	1,66
Subprodutos desmineralizados	-	0,00**	8,24*	8,37
Subprodutos demineralizados e desproteínizados (Quitina)	-	0,00**	6,82	0,00**
Quitina após desacetilação (QPDA)	0,02	0,00**	6,59	0,00**

*através do valor médio de proteína no solvente determinado pelo método de Bradford

** teor residual não detetável pelo método aplicável

3.2.3 Desacetilação

Na desacetilação, e em relação à etapa anterior (desproteínização) obteve-se um produto ainda mais fino tendo-se obtido um rendimento de 16% (em relação à massa inicial).

O tempo e a temperatura são condições essenciais a ter em conta no processo de desacetilação, já que estes são os principais fatores, das condições experimentais, que definem o grau de desacetilação e o peso molecular do produto final. Segundo *Weska, et al, 2007*, as condições ótimas de desacetilação da quitina ocorrem a uma temperatura de 130°C, num tempo de 90min, já que foi a condição que apresentou o menor peso molecular, de cerca de 150 kDa, e um grau de desacetilação de 90%. Segundo os autores, estas condições de desacetilação foram definidas de forma a obter um peso

molecular inferior, estando este relacionado com graus de desacetilação e despolimerização mais elevados (Weska, et al, 2007; Chen, e Hwa, 1996). As aplicações limitadas do quitosano resultam do seu elevado peso molecular, resultando numa baixa solubilidade em soluções aquosas (Ilyina, et al, 2000). Tolaimate et al, (2000), relataram que um decréscimo de temperatura de 120°C para 95°C, mantendo a composição do meio de reação, resultou num aumento no peso molecular de viscosidade de 150 kDa para 490 kDa, confirmando assim a influência da temperatura.

A desacetilação foi efetuada a 95°C e em 3 ciclos de 1h, sendo estas condições idênticas às do trabalho de Pinto (2008).

3.2.3.1 Grau de desacetilação

As concentrações de NaOH, os volumes (V e V_0), as massas de cada amostra (repetições) e o grau de desacetilação (de cada repetição, bem como a média) do QC, obtido através da fórmula mencionada na metodologia (Eq. 2.4), encontram-se em anexo 6.

Efetuada a caracterização dos biopolímeros extraídos, foi obtido um grau de desacetilação médio de 80% para o QC.

As concentrações de NaOH, os volumes (V e V_0), as massas de cada amostra (repetições) e o grau de desacetilação (de cada repetição, bem como a média) da QPDA, obtido através da fórmula mencionada na metodologia (Eq. 2.4), encontram-se em anexo 6.

O produto apresenta um grau de desacetilação médio de 24%. Tais valores são bastante inferiores quando comparados com os obtidos no QC, o que indica que a desacetilação da quitina não foi completa e eficaz, tendo sido obtido um produto intermédio entre a quitina e o quitosano, a qual foi designada por quitina parcialmente desacetilada (QPDA). Este facto justifica a baixa solubilidade do composto nas soluções efetuadas, já que este apenas demonstra solubilidade total a graus de desacetilação na ordem dos 60% (Pinto, 2005).

3.3 Avaliação do efeito da aplicação dos revestimentos alimentares de QPDA extraída de subprodutos da indústria local em maçã fatiada e respetivos controlos

A avaliação da qualidade da maçã com a aplicação dos diversos revestimentos alimentares foi baseada nas análises efetuadas na literatura, de forma a contemplar a evolução dos parâmetros físicos, químicos, microbiológicos e sensoriais, mais significativos para a qualidade da maçã. Assim, na maçã revestida com a QPDA e com os respetivos controlos, as análises efetuadas, a fim de avaliar a sua qualidade ao longo do tempo, foram; a nível físico, a firmeza e atributo crocante, o teor de humidade e a cor (CIE L*, a*, b*); a nível químico, o pH e os sólidos solúveis; a nível microbiológico, contagens de microrganismos aeróbios a 30°C e de microrganismos psicrótróficos, e por fim; a nível sensorial, a cor, a granulidade, a consistência, o brilho e o odor.

3.3.1 Alterações de características físicas

3.3.1.1 Avaliação da firmeza e atributo crocante

O trabalho de compressão (g.s), determinado pela área do gráfico da força em função do tempo de compressão, é um indicador da firmeza da amostra.

Os picos positivos da mesma curva correspondem a zonas de fratura. Estes foram contabilizados como indicador do atributo crocante da amostra. A correlação entre o número de picos no perfil força/tempo em testes de compressão com o texturómetro, e o perfil acústico e percepção do atributo crocante em maçãs foi descrita por *Costa, et al, 2011*. Deste modo uma maior área e um maior número de picos corresponderão a uma amostra mais firme e crocante, atributos associados à aceitação sensorial desta fruta.

Na figura 3.2 encontram-se os resultados obtidos no estudo de compressão (g.s) ao longo do período de armazenagem refrigerada das diferentes amostras.

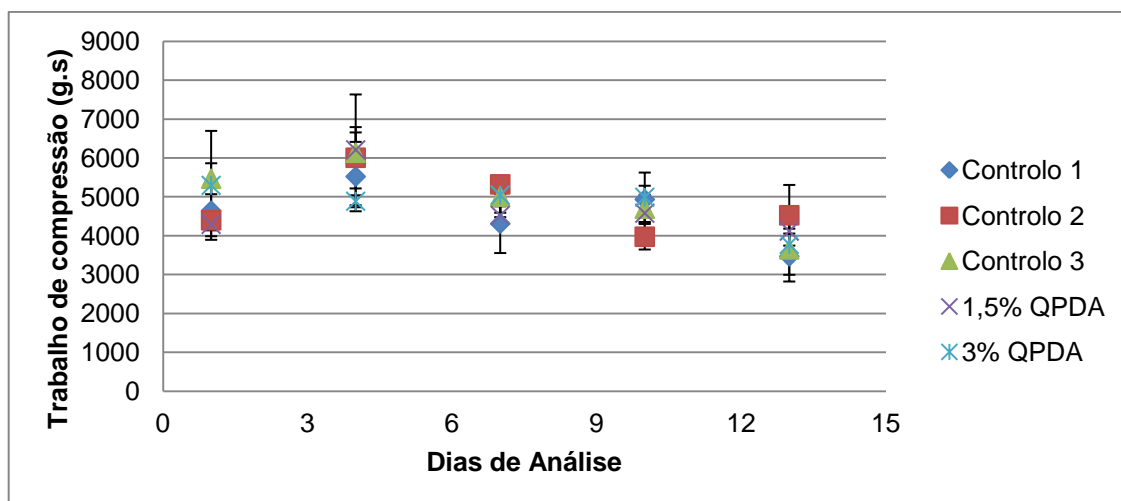


Figura 3.2 – Evolução da firmeza (trabalho de compressão (g.s)) das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3).

Perda de firmeza é um dos principais fatores limitantes da qualidade pós-colheita e da vida de prateleira de frutas e legumes (*Fan, 2009*). Esta perda ocorre devido, principalmente, à hidrólise enzimática de substâncias pécnicas da parede celular, à ação de enzimas pectinolíticas, à diminuição da cristalinidade da celulose e à degradação das paredes celulares do fruto (*Qi, et al, 2011*).

No que diz respeito à firmeza das amostras com QPDA e respetivos controlos, com os resultados obtidos da análise estatística (ANOVA, sig<0,05) (Anexo 7) e comparando as diferentes amostras dia-a-dia, é possível afirmar que não existem diferenças significativas entre amostras em nenhum dos dias. Estes resultados parecem indicar que a aplicação dos revestimentos testados não produz efeito significativo na manutenção da firmeza da maçã fatiada ao longo da armazenagem refrigerada durante 13 dias. Ao longo do tempo de armazenagem houve uma diminuição significativa da firmeza das amostras revestidas com os controlos 1, 2, 3 e 1,5% de QPDA entre os dias 4 e 13. Na amostra com 3% de QPDA, não se verificaram diferenças significativas na firmeza da amostra no decorrer do tempo de armazenamento, o que é vantajoso para a amostra, ainda assim, no dia 13 não existiram diferenças significativas entre amostras, pelo que não se pode afirmar que este revestimento tenha mantido a firmeza ao longo do tempo.

Analisando os resultados de trabalho de compressão (g.s) e tendo em conta um contexto geral, verifica-se que em termos de firmeza, não existem diferenças significativas em nenhum dos dias, pelo que os revestimentos parecem não apresentar efeito protetor em termos de firmeza. Estes resultados são contraditórios quando

comparados com os obtidos por *Ali, et al (2011)*, em papaia, que constataram que a firmeza era mais elevada e inalterada durante mais tempo na amostra revestida com a solução com maior percentagem de quitosano estudada (2%), e por *Qi, et al, 2011*, em maçã Fuji, que constataram que o revestimento de quitosano retardou o amolecimento das amostras, através do reforço da parede celular do fruto. Ainda assim, tais autores usaram quitosano e não QPDA, o que deverá influenciar os resultados, justificando assim esta contradição.

Em termos de período de vida útil, pode verificar-se que o produto apenas é agradável até ao 10º dia, em termos de firmeza, já que é até ao dia 10 que os resultados se mantêm semelhantes, sem tendência de degradação.

Na figura 3.3 apresentam-se os números de picos positivos correspondentes a cada amostra com diferentes revestimentos de QPDA e correspondentes controlos, dando uma ideia do atributo crocante da amostra analisada. O atributo crocante e o estaladiço são um indicador de frescura e “estado de saúde” do fruto (*Costa, et al, 2011*).

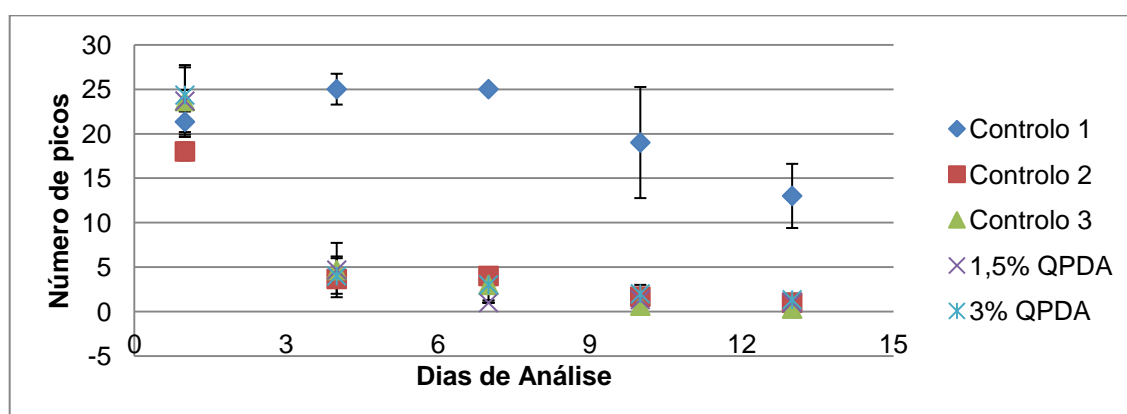


Figura 3.3 – Evolução do atributo crocante (número de picos positivos) das amostras com os diferentes tipos de revestimentos com QPDA e correspondentes controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3).

Em todas as amostras analisadas houve um decréscimo significativo do número de picos ao longo do tempo de armazenagem, estando isto relacionado com a degradação estrutural da fruta, provocada pela “perda de frescura” (*Costa, et al, 2011*). Analisando os resultados obtidos da análise estatística para o atributo crocante (indicada pelo número de picos positivos) das amostras com QPDA e respetivos controlos, é possível afirmar que existem diferenças estatisticamente significativas entre o controlo 1 e as restantes amostras, nos dias 4, 7, 10 e 13. Essas diferenças só não são significativas no dia 1, indicando que as amostras são crocantes apenas nesse dia.

Comparando os resultados dos diferentes dias em cada amostra, é possível verificar que há diferenças significativas em todas as amostras, o que indica que o atributo crocante de todas as amostras revestidas variou ao longo do tempo de armazenamento, e desta forma, os revestimentos aplicados na maçã minimamente processada têm um efeito negativo na manutenção do atributo crocante ao longo do armazenamento refrigerado. Estes resultados são contraditórios com os obtidos por *Ali, et al, 2011*, em papaia, e por *Qi, et al, 2011*, em maçã Fuji fatiada, o que pode estar relacionado com o facto de a análise ter sido efetuada com QPDA e não com quitosano.

Através da figura 3.3 é possível afirmar que a amostra revestida com o controlo 1 é a amostra que apresenta maior quantidade de picos positivos. No entanto, a partir do dia 7, verifica-se uma diminuição acentuada (de 25 ± 0 para 19 ± 6 picos positivos) nesta contagem. Uma vez que o número de picos positivos está relacionado com a perceção do atributo crocante, estes resultados indicam que a partir do dia 7 a qualidade da amostra a este nível está comprometida. Estes resultados são confirmados pelos resultados da análise sensorial apresentados na secção 3.3.4.3.

Em relação às restantes amostras, pode verificar-se que apenas no dia 1 apresentam elevados números de picos positivos e assim só no dia 1 das análises os produtos se apresentam agradáveis em termos de atributo crocante. A partir daí todas estas fatias de maçã já não apresentam agradabilidade ao “trincar”. Isto porque existe relação entre os métodos instrumentais e a análise sensorial, nomeadamente no que respeita a esta análise e o atributo presente na secção 3.3.4.3.

Deste modo, é possível afirmar que os revestimentos não foram benéficos relativamente à manutenção do atributo crocante das amostras, já que só o controlo 1 (que só continha água destilada) manteve durante mais tempo (7 dias) esta propriedade na maçã fatiada. Tais resultados são comprovados pela análise estatística e deverão estar relacionados com alterações composicionais e/ou estruturais diretamente relacionados com o atributo crocante, influenciadas pelos diferentes revestimentos adicionados.

3.3.1.2 Avaliação do teor de humidade

A manutenção do teor de humidade inicial corresponderá a menores perdas de água, representando uma melhor manutenção das propriedades do fruto e sua

suculência. Na figura 3.4 apresentam-se os valores de teor de humidade ao longo do tempo correspondentes às amostras com diferentes revestimentos de QPDA e correspondentes controlos.

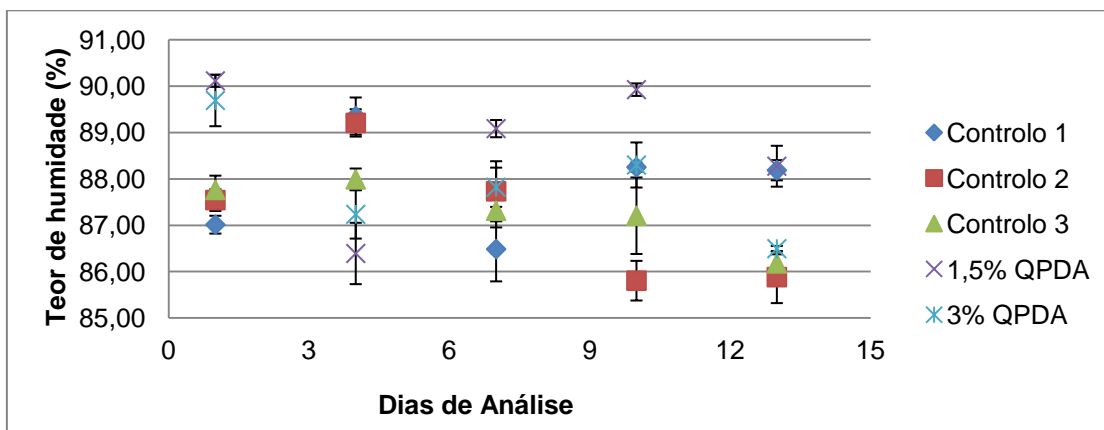


Figura 3.4 – Evolução do teor de humidade das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e correspondentes controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3).

Existem diferenças significativas entre amostras em todos os dias em que foi efetivada a análise, com as amostras revestidas com o controlo 1 e com a solução 1,5% de QPDA a apresentarem um maior teor de humidade no dia 13. Já em relação à comparação dos diferentes dias em cada amostra, verificam-se diferenças estatisticamente significativas em todos os dias de análise, indicando que os revestimentos não conferem estabilidade à amostra em termos de teor de humidade.

Os diferentes teores de humidade observados inicialmente, (dia 1) entre as diversas amostras estudadas, podem estar relacionados com o facto de estas apresentarem diferentes revestimentos, já que a maçã fresca (sem nenhum processamento ou aditivo) apresenta, aproximadamente, cerca de 85% de água em massa (Córdova, 2006). Assim, pode afirmar-se que qualquer dos revestimentos analisados (mesmo só com água destilada) confere um aumento de humidade ao produto. Tal facto também poderá estar relacionado com a variabilidade natural do produto.

De um ponto de vista geral verifica-se que todas as amostras apresentam uma evolução bastante inconstante. Assim, em termos de preservação do teor de humidade do produto, nenhum dos revestimentos aplicados à maçã minimamente processada apresenta eficácia. Com isto pode afirmar-se que nenhum dos revestimentos atua como barreira à perda de água na maçã fatiada. Tal facto contradiz o que foi observado (por

diminuição e atraso da perda de peso, que é principalmente devido à perda de água causada por processos de transpiração e da respiração, nas amostras com revestimento de quitosano) por outros autores como, *Xiao, et al (2011)*, em pêra, *Chien, et al (2005)*, em preparados de manga, *Ali, et al (2011)*, que verificaram uma menor tendência de perda de peso em amostras de papaia revestidas com soluções contendo 2% de quitosano, *Fan, et al (2009)*, em morango, que demonstraram que os revestimentos analisados são claramente eficazes ao conferir uma barreira física na perda de humidade e desidratação, retardando assim o amolecimento desta fruta, *Geraldine, et al (2008)*, em dentes de alho, que verificaram que a transmissão de vapor de água foi menor para os filmes adicionados contendo quitosano, *Maqbool, et al (2011)*, em banana, verificando que a perda de peso era inferior em revestimentos contendo 1% quitosano e *Durango, et al (2006)*, que afirma que os biofilmes de quitosano evitam a perda de humidade dos produtos alimentares. *Pinho (2011)*, constatou que complementando atmosfera modificada com os revestimentos alimentares, se reduzem ainda mais as perdas de humidade das fatias de pêra, sendo que o princípio ativo dos revestimentos adicionados se limita a conferir um filme semipermeável à amostra.

Tal como nas análises anteriores, os resultados obtidos poderão ser justificados pelo facto do biopolímero adicionado aos revestimentos ser QPDA e não quitosano, este sim, o utilizado pelos autores mencionados.

3.3.1.3 Avaliação da cor

Os resultados foram expressos em CIE L*, a* e b*.

O parâmetro L* indica a luminosidade da amostra, e assim valores próximos de 0 indicam preto e valores próximos do 100 indicam branco. Segundo *Xiao, et al (2011)*, quanto maior o valor L*, mais brilhante é a superfície da amostra.

Na seguinte figura 3.5 apresentam-se os resultados obtidos para o valor L* para as amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias.

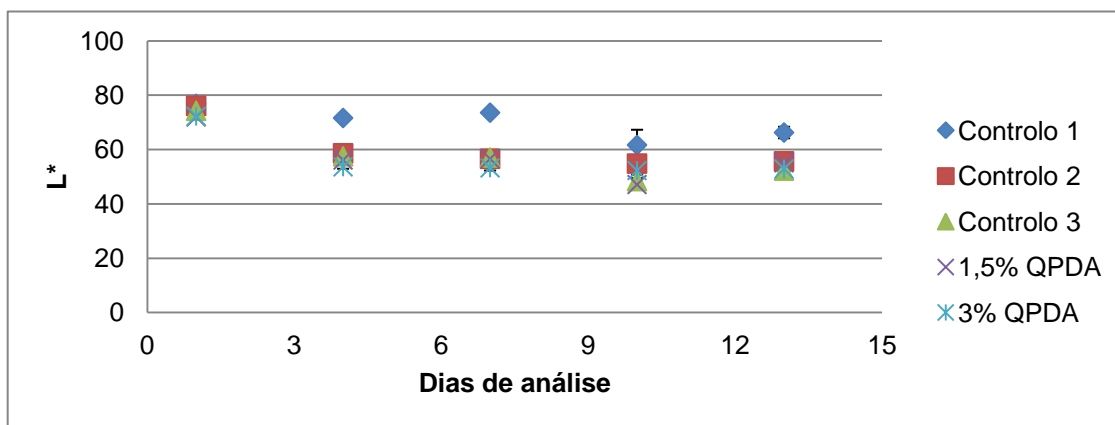


Figura 3.5 – Evolução da cor (L^*) das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, $n=3$).

Verificou-se uma diminuição significativa do parâmetro L^* em todas as amostras ao longo do tempo de armazenagem, efeito este significativo do tempo de armazenagem para todas as amostras. Foram observadas diferenças significativas a partir do 4º dia de armazenagem entre a amostra imersa em água destilada (controlo 1) e as restantes amostras, tendo a amostra revestida com o controlo 1, mantido ao longo do tempo um valor de L^* superior, relativamente às restantes e mais próximo do valor inicial. A diminuição do valor L^* ao longo do tempo de armazenagem refrigerado, observada em todas as amostras analisadas, foi também observada por outros autores: *Xiao, et al (2011)*; em pêra, *Fan, et al (2009)*, em morango e *González, et al, (2011)*, em uva. Os valores foram sempre superiores para a amostra revestida com o controlo 1. É possível observar que todas as amostras revestidas com soluções contendo QPDA (controlo 3 – diminuição de 22,02 no valor de L^* em todo o processo, 1,5% QPDA - diminuição de 16,87 no valor de L^* em todo o processo e 3% QPDA diminuição de 19,41 no valor de L^* em todo o processo), apresentam valores de L^* mais baixos quando comparados com os controlos 1 e 2, ou seja, as amostras com QPDA tendem a perder o brilho de superfície mais rapidamente e de forma mais acentuada. As amostras revestidas com o controlo 2 também apresentam tendência para perder o brilho mais rapidamente e de forma mais acentuada que o controlo 1, no entanto, os valores são mais elevados comparativamente aos valores das amostras revestidas com soluções de QPDA. Na amostra revestida com o controlo 2, tendo em vista todo o período de análise, verificou-se uma diminuição de 20,42 no valor de L^* .

Segundo *Lozano, e Ibaraz, (1997)*, a deterioração da cor em frutas pode ser causada por vários mecanismos como reações de escurecimento enzimático e não-

enzimático, do tipo Maillard. Tais autores constataram que em condições ácidas, como as que se verificaram neste estudo (pH das soluções=3,6), alguns pigmentos como as antocianinas são rápida e completamente descoloradas à temperatura ambiente, contribuindo para a perda de luminosidade, conferindo escurecimento à amostra. Assim, antes do produto com os respetivos revestimentos ser armazenado em refrigeração, poderá ter sofrido descoloração das antocianinas. E conforme os resultados obtidos, os compostos protetores (alginato, glicerol e o QPDA) tornaram a amostra mais propícia a esta descoloração.

Assim sendo, em termos de cor, no que diz respeito ao brilho/ luminosidade da amostra, o controlo 1 é o que apresenta maior capacidade de manter esta característica, tal como observado estatisticamente, apesar de haver efeito significativo do tempo de armazenagem mesmo nestas amostras. Neste controlo, num contexto geral, houve uma diminuição do valor de L^* de 10,56.

Desta forma, os revestimentos não se apresentam eficazes no que diz respeito à preservação do brilho na amostra. Este facto é contraditório quando comparado com resultados expressos na literatura por *González, et al (2011)*, que afirmam que os valores de luminosidade foram significativamente maiores em uvas revestidas com quitosano, por *Maqbool, et al (2011)*, que verificaram que um revestimento composto por goma arábica 10% com 1,0% de quitosano mostrou melhores resultados em retardar a mudança de cor em banana ao longo do período de armazenagem, o que pode ser devido a um aumento do dióxido de carbono e de uma diminuição nos níveis de oxigénio e por *Chauhan, et al (2011)*, que demonstraram que uma diminuição acentuada nos valores de L^* , mostrando uma tendência para o escurecimento de amostras não revestidas, quando comparadas com as superfícies de fatias de maçã revestidas. Desta forma, não se conseguem justificar os resultados obtidos, uma vez que o escurecimento enzimático pode estar relacionado com a taxa respiratória, influenciada pela enzima oxidante, sendo este um processo ativo. Normalmente, os revestimentos de superfície influenciam a cor geral do produto, principalmente, pela restrição destas taxas respiratórias (*Park, 1999*).

Uma forma de controlar esta situação poderia passar por acoplar ao revestimento com QPDA, atmosfera modificada, com elevada percentagem de oxigénio, já que *Campaniello, et al (2008)*, constataram que a presença de elevada percentagem de oxigénio, em combinação com revestimento de quitosano, pareceu afetar positivamente a cor de morangos. *Pinho (2011)*, também constatou este facto em pêra 'Rocha' fatiada, já

que verificou que o revestimento de quitosano acoplado à atmosfera modificada, apresenta um efeito antioxidante. Ainda assim, a autora não verificou grandes diferenças nas diversas concentrações de quitosano aplicadas às fatias de pêra 'Rocha'.

A desvantagem em aplicar atmosfera modificada em produtos minimamente processados é o facto de se tornar bastante dispendioso para as indústrias, daí este estudo se dedicar exclusivamente à aplicação de revestimentos, a fim de tentar rentabilizar o processo.

A figura 3.6 apresenta os valores de a^* medidos nas amostras revestidas com o QPDA e respetivos controlos, ao longo dos 13 dias.

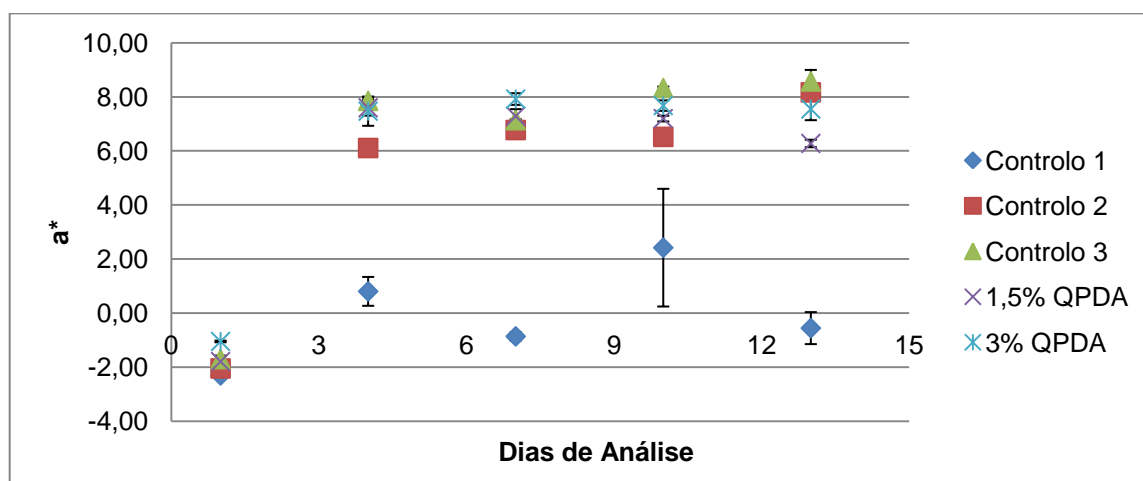


Figura 3.6 – Evolução da cor (a^*) das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3).

Avaliando os resultados do parâmetro CIE a^* das amostras com QPDA e respetivos controlos, aplicando o teste ANOVA e comparando as diferentes amostras dia-a-dia, observa-se que há diferenças estatisticamente significativas entre as amostras, em todos os dias. Nos dias 4, 7, 10 e 13 observou-se um valor do parâmetro significativamente menor, na maçã revestida com o controlo 1 relativamente às restantes amostras. O tempo de armazenamento teve um efeito significativo no valor de a^* , tendo este aumentado com o tempo em todas as amostras. Na figura 3.6 observa-se que a amostra com o controlo 1 é, notoriamente a que apresenta menores variações de cor, no que diz respeito ao parâmetro a^* , facto comprovado estatisticamente. Todas as outras amostras, apresentam um acentuado aumento deste parâmetro a^* , do dia 1 para o dia 4, sendo nesse período de tempo que ocorre a maior variação de cor. Isto indica que todas as amostras, à exceção da revestida com o controlo 1, apresentam uma acentuada

vermelhidão nesse período de tempo. Esta alteração pode também ser visualizada na tabela 3.5. Este aumento na vermelhidão foi provavelmente causado por um aumento na taxa de respiração e pela ocorrência de processos enzimáticos, sendo estes responsáveis por uma quebra na qualidade do fruto, que envolveu escurecimento e outras reações (Chien, et al, 2005). Estes resultados não são concordantes com a literatura. Chien, et al (2005), verificaram que, embora o revestimento com quitosano não altere a cor original da fruta, este fez retardar o escurecimento da amostra (manga). Pinho (2011), nos seus estudos com pêra também comprovou o efeito antioxidante do quitosano a concentrações de 0,7g/L, 1g/L e 1,5g/L, já que os valores de a^* para estas concentrações de quitosano e com aplicação de atmosfera modificada se mantêm sempre mais baixos ao longo do tempo comparativamente aos valores dos tratamentos sem quitosano ('Sem tratamento' e 'imerso em água').

Por fim, no que respeita a cor, e analisando o parâmetro b^* , apresenta-se a figura 3.7 com os valores retirados das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos ao longo dos 13 dias.

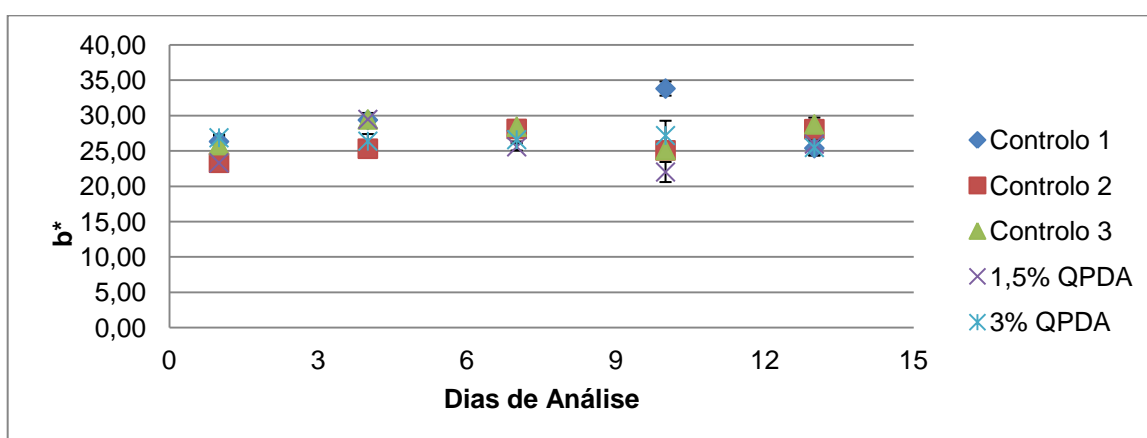



























Figura 3.7 – Evolução da cor (b^*) das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3).

Tendo em conta os resultados do parâmetro CIE b^* das amostras com QPDA e respetivos controlos, observam-se diferenças estatisticamente significativas entre as amostras em todos os dias. Observando a comparação entre dias de cada amostra, verificam-se diferenças estatisticamente significativas nas amostras com o controlo 1, 2, 3 e com revestimento de 1,5%. Nas amostras com 3% de QPDA não há efeito significativo do tempo de armazenagem no parâmetro b^* , concluindo-se que este revestimento é eficaz no aspeto analisado, já que este parâmetro não foi alterado com o decorrer do tempo (como observado na figura 3.8), tal como foi comprovado por Chien (2005).

Na seguinte tabela 3.5 encontram-se imagens relativas às amostras revestidas com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, de forma a ser possível visualizar as variações de cor entre diferentes amostras e ao longo do tempo (13 dias).

Tabela 3.5 – Imagens relativas às amostras revestidas com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo dos 13 dias.

Tempo (dias)	Amostras revestidas com as soluções				
	Controlo 1	Controlo 2	Controlo 3	1,5% QPDA	3% QPDA
1					
4					
7					
10					
13					

Comparando as figuras das amostras revestidas com soluções de QPDA e os respetivos controlos, constata-se que é no controlo 1 que existem menores variações de cor, sendo que só a partir do dia 10 se visualiza um declínio/ alteração mais acentuados da cor. Nas amostras com os controlos 2 e 3, e os revestimentos com 1,5% e 3% de

QPDA, verifica-se alteração da cor logo do dia 1 para o dia 4, sendo essa diferença bastante acentuada. Visualiza-se também que a cor característica da maçã, nas amostras revestidas com estas soluções, vai sendo progressivamente alterada ao longo dos 13 dias, o que indica que, no que diz respeito à preservação da cor, os revestimentos utilizados não apresentaram eficácia, tal como demonstrado nos resultados obtidos através do colorímetro.

3.3.2 Alterações de características químicas

3.3.2.1 Avaliação do pH

Todos os resultados de pH obtidos para as amostras revestidas com soluções de de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias, encontram-se na figura 3.8.

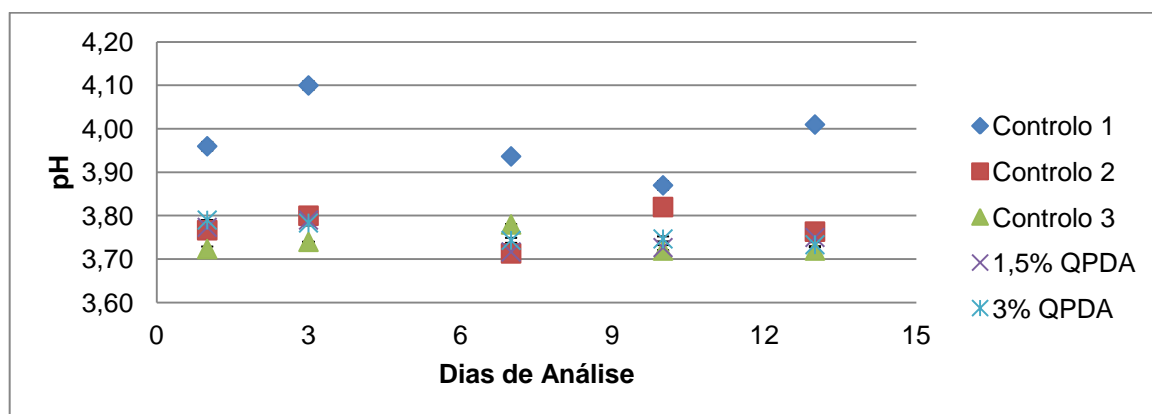


Figura 3.8 – Evolução do pH das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias (média±desvio padrão, n=3).

É importante salientar que o pH de todas as soluções de revestimento, foi ajustado para o pH natural da maçã analisada, ou seja, o pH foi ajustado para o valor de 3,6. Desta forma seria de esperar que no início das análises, o pH não se distanciasse deste valor.

Tendo em conta os resultados de pH das amostras com QPDA observam-se diferenças estatisticamente significativas em todos os dias, significando que há efeito do tempo de armazenamento nas amostras, no entanto apenas se observa oscilação. Não é notória qualquer tendência de decréscimo/ aumento. Relativamente à comparação das amostras entre dias, constatam-se diferenças estatisticamente significativas em todas as amostras, sendo que nenhum dos revestimentos confere estabilidade em termos de pH às amostras ao longo dos 13 dias de armazenamento.

Analisando o gráfico da figura 3.8 é possível visualizar que a amostra revestida com o controlo 1, logo desde início, alterou bastante o pH. Comparativamente aos restantes revestimentos, o controlo 1 é o que apresenta maiores variações de pH, sendo que não confere estabilidade à amostra.

Estando os valores das amostras revestidas com as restantes soluções muito próximos uns dos outros, é possível afirmar que estes revestimentos são os que manifestam maior estabilidade, embora não sejam estatisticamente significativos.

Estes resultados, quando comparados com resultados obtidos na literatura demonstram-se comuns. *González, et al, 2011*, verificaram que as amostras de uva revestidas não mostraram alterações significativas no pH durante o armazenamento.

3.3.2.2 Avaliação da concentração de sólidos solúveis (°Brix)

Os resultados correspondentes à concentração de sólidos solúveis (°Brix) das amostras com revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias, encontram-se na seguinte figura 3.9 Este parâmetro é indicador da percentagem de sólidos solúveis na amostra.

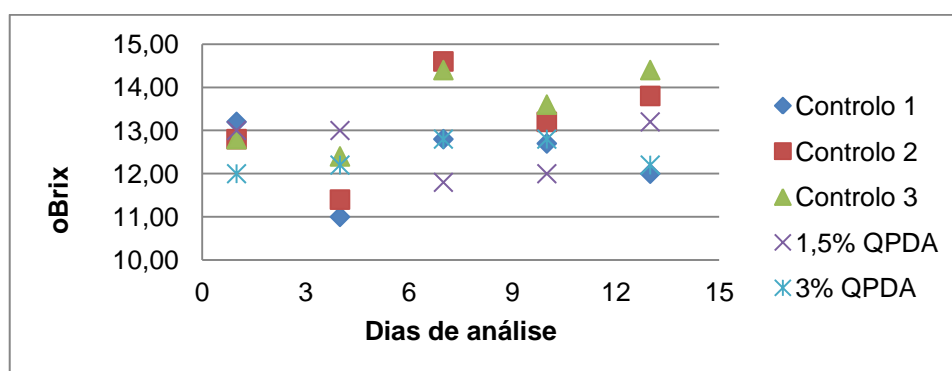


Figura 3.9 – Evolução do °Brix das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 13 dias.

Nas amostras revestidas com todos os controlos (1, 2 e 3), verificou-se um decréscimo na concentração de sólidos solúveis, do dia 1 para o dia 4, sendo que este decréscimo apenas foi acentuado nas amostras revestidas com o controlo 1 e 2. Nas amostras revestidas com as soluções 1,5% de QPDA e 3% de QPDA não se verificou decréscimo na concentração de sólidos solúveis do dia 1 para o dia 4 (os valores

mantiveram-se iguais), o que significa que estes revestimentos com QPDA, alginato e glicerol são eficazes no que respeita à preservação da concentração de sólidos solúveis, nos primeiros dias de armazenamento.

Posteriormente, todas as amostras apresentam oscilações nos valores, tendo os revestimentos com 1,5% de QPDA e 3% de QPDA apresentado uma evolução mais constante, não alterando significativamente este parâmetro na maçã fatiada.

Verifica-se um aumento acentuado na concentração de sólidos solúveis do dia 4 para o dia 7 nas amostras revestidas com os controlos 1, 2 e 3 (embora menos evidente neste último controlo).

Comparando os dois últimos revestimentos (1,5% de QPDA e 3% de QPDA), e tendo em vista toda a evolução (13 dias) verifica-se que a solução com 3% de QPDA evidencia uma evolução mais constante, não alterando praticamente os valores de sólidos solúveis totais da amostra. Neste revestimento (3% de QPDA) é possível constatar um aumento ligeiro da concentração de sólidos solúveis nas amostras, desde o início do período de armazenamento até ao dia 7. Este valor mantém-se até ao dia 10 e em seguida diminui ligeiramente de 12,80 para 12,20.

O teor de sólidos solúveis indica o grau de maturação da fruta, uma vez que 80% do teor de sólidos solúveis totais corresponde a açúcares, e o seu teor é tanto maior quanto maior for o grau de maturação (*Pinho, 2011*).

Está bem documentado que a propriedade filmogénica num filme de quitosano semi-permeável tem tido excelentes resultados na fruta, tal como a modificação da atmosfera interna da mesma, através da redução de O₂ e/ou elevação de CO₂, suprimindo assim a produção e evolução de etileno. Uma taxa de respiração suprimida também retarda a síntese e a utilização de metabolitos, resultando em concentrações de sólidos solúveis inferiores, devido à lenta hidrólise de hidratos de carbono em açúcares (*Ali, et al, 2011*). Este facto e os resultados obtidos indicam a eficácia do revestimento de 3% de QPDA na supressão de etileno e taxa de respiração e conseqüente lento amadurecimento na maçã minimamente processada.

Os resultados obtidos estão consistentes com a literatura, já que *Chien, et al, (2005)*, observaram que os teores de sólidos solúveis totais não variaram

significativamente nos frutos tratados com 0,5%, 1% e 2% de quitosano. Por outro lado, *Ali, et al. (2011)*, verificaram que a redução na concentração de sólidos solúveis era diretamente proporcional às concentrações de quitosano. Os níveis mais baixos de concentração de sólidos solúveis no final do período de armazenamento foram registados em fruta revestida com 1,5% e 2,0% de quitosano. Assim, o efeito do quitosano na redução da concentração de sólidos solúveis de papaia foi provavelmente devido ao abrandamento da respiração e da atividade metabólica, retardando assim o processo de amadurecimento, tal como sucedeu na amostra analisada de maçã fatiada, estando também relacionado com a retenção de água. Portanto, o aumento repentino que se fez sentir nas amostras revestidas com o controlo 1 e 2 e até no controlo 3 (embora de forma menos evidente), do dia 4 para o dia 7, poderão estar relacionados com o aumento da respiração e da atividade metabólica, sendo que estes revestimentos não são adequados no que diz respeito à concentração de sólidos solúveis.

Maqbool, et al. (2011), observaram valores °Brix mais elevados para as amostras não revestidas, indicando um amadurecimento progressivo das uvas durante o período de armazenamento.

González, et al (2011), comprovaram que em geral, foi observado um aumento gradual na concentração de sólidos solúveis durante o período de armazenamento. No entanto, estes autores verificaram que nos frutos de controlo o valor de concentração de sólidos solúveis foi significativamente maior em comparação com os frutos revestidos com goma-arábica e quitosano, o que faz sentido, já que a fruta perde capacidade de retenção de água.

Pinho, (2011), verificou que os diferentes tratamentos aplicados sem a adição de atmosfera protetora ('sem tratamento', 'imerso em água' e a diversas concentrações de quitosano) não alteram o teor de sólidos solúveis totais das fatias de pêra, no entanto a autora constatou que a utilização de biofilmes de quitosano, combinado com acondicionamento em atmosfera modificada, reduz a taxa respiratória dos frutos já que se verificam menores valores de sólidos solúveis totais, permitindo, conseqüentemente, prolongar a vida útil do produto.

3.3.3 Alterações de parâmetros microbiológicos

3.3.3.1 Microrganismos aeróbios a 30°C

Na avaliação microbiológica os resultados não foram tratados estatisticamente uma vez que não se efetuaram réplicas das análises.

De seguida são expostos os resultados relativos ao estudo do crescimento dos microrganismos aeróbios a 30°C, nas amostras com revestimentos de QPDA e respetivos controlos, na tabela 3.6. Nesta tabela, os resultados encontram-se expressos em unidades formadoras de colónias (UFC) /g.

Tabela 3.6 - Microrganismos aeróbios a 30°C (UFC/g) correspondentes a cada amostra revestida com diferentes soluções de revestimento de QPDA e respetivos controlos.

Microrganismos Aeróbios a 30°C (UFC/g)					
Dias de análise	Controlo 1	Controlo 2	Controlo 3	1,5% QPDA	3% QPDA
2	$2,3 \times 10^3$	0	0	0	0
5	0	0	0	$>10^4$	$>10^4$
8	$3,7 \times 10^3$	0	0	0	0
11	$2,8 \times 10^5$	0	0	0	0
14	$1,2 \times 10^6$	0	0	0	0

Assim, e representado os resultados graficamente, expressos em log UFC/g, obtém-se a figura 3.10.

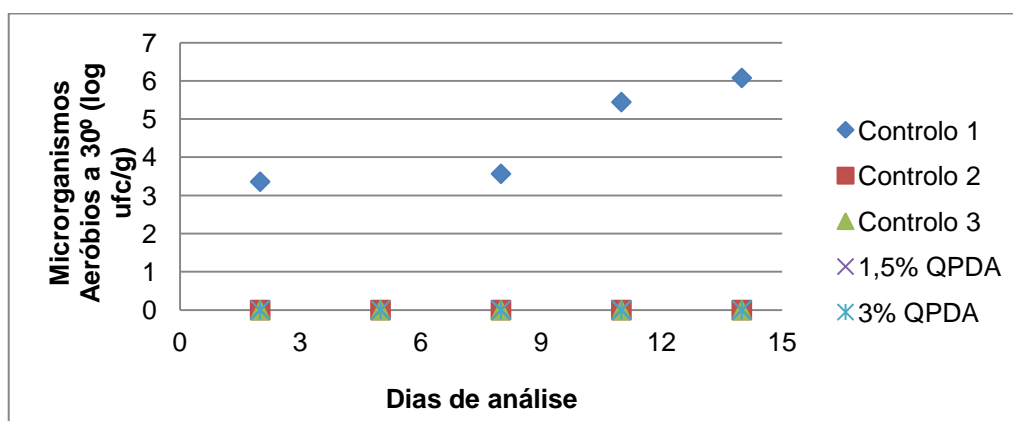


Figura 3.10 – Crescimento dos microrganismos aeróbios a 30°C das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 14 dias.

Não foram efetuadas réplicas destas análises devido à indisponibilidade de reagentes para extração de QPDA, e assim este composto não chegava para formular

soluções de revestimento em quantidades suficientes para aplicar em mais amostras, para além da indisponibilidade de material, como placas de petri descartáveis.

Na maçã fatiada revestida com o controlo 1, verifica-se, logo no 2º dia da aplicação do revestimento uma contaminação de $2,3 \times 10^3$ UFC/g, o que pode significar que esta amostra já apresentava contaminação inicial (antes da aplicação da solução), ou que esta se desenvolveu durante o 1º dia após a aplicação da solução de revestimento e nas primeiras horas do 2º dia. Posteriormente, verifica-se, no 5º dia, ausência de contaminação. Pode ter acontecido por acaso, dependendo da natureza intrínseca de cada amostra. Para combater este acaso e incerteza, deveria ter-se analisado mais do que uma embalagem de amostra. Seguidamente, constata-se um aumento da microflora total da amostra, sendo que no 8º dia, após aplicação do revestimento, o número de UFC/g foi de $3,7 \times 10^3$, no 11º dia de armazenamento foi de $2,8 \times 10^5$ UFC/g e por fim, no último dia (14º dia após aplicação do revestimento) o valor de UFC/g foi de $1,2 \times 10^6$. Denota-se nitidamente um desenvolvimento microbiano exponencial nestas amostras. Com isto, é possível afirmar que na maçã, sem nenhum revestimento protetor (controlo 1), o crescimento microbiológico é exponencial, e como tal, não se consegue controlar este parâmetro. Considerando os valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a consumir, do INSA (Santos, *et al*, 2005), constata-se que para o grupo 3, onde estão inseridas as frutas ao natural laminadas (caso da maçã fatiada), e para os microrganismos aeróbios, os valores não satisfatórios em UFC/g, são os superiores a 10^6 . Assim, a maçã fatiada revestida com o controlo 1, apenas apresenta qualidade microbiológica satisfatória até ao dia 11º de armazenamento. O período de vida útil da maçã fatiada revestida com o controlo 1, considerando a qualidade microbiológica, é de 11 dias.

No que diz respeito aos controlos 2, 3 e às soluções de 1,5% e 3% de QPDA, não se verificou qualquer tipo de crescimento de microrganismos aeróbios a 30°C.

Nas amostras revestidas com o controlo 2, não se detetou crescimento microbiano, não se desenvolvendo durante o período de armazenamento da maçã fatiada quaisquer UFC. Com isto pressupõe-se que o revestimento com alginato e glicerol é eficaz no que diz respeito à proteção do alimento a nível microbiológico. Tal facto foi já comprovado, pois Fan, *et al* (2009) demonstraram que morangos revestidos com um revestimento contendo *Cryptococcus laurentii* (10^9 UFC mL⁻¹) em combinação com alginato (2%), glicerol (2%), ácido palmítico (0,5%), monoestearato de glicerol (0,5%, w /

v), e-ciclodextrina (0,5%, w / v) mostraram que a viabilidade dos microrganismos do biofilme não sofreu qualquer alteração evidente durante 20 dias de armazenamento, o que significa que, de alguma forma, o revestimento, contendo alginato e glicerol, contribuiu para a proteção do fruto (Fan, 2009). Massilia, et al (2008), verificaram também que um revestimento comestível de alginato contendo ácido málico, foi eficaz, aumentando a vida de prateleira de melão minimamente processado, a nível microbiológico até 9,6 dias. Já o tempo de prateleira de melão fresco não revestido foi de apenas 3,6 dias. Deste modo verificaram a nítida eficácia do revestimento.

Verifica-se que o controlo 3 também se apresentou eficaz na inibição dos microrganismos aeróbios totais das amostras revestidas. Assim, comprova-se que o revestimento de QPDA, mesmo sem nenhum outro componente, é adequado para revestir a maçã, já que a protege do desenvolvimento microbiológico.

Relativamente às amostras revestidas com as soluções de 1,5% e 3% de QPDA, ambas com a adição de alginato e glicerol, também se visualiza a sua eficácia a nível de inibição da microflora aeróbia mesófila, já que não se verifica desenvolvimento destes microrganismos nas amostras analisadas, durante todo o período de armazenamento. No entanto, no dia 5, em que foram efetuadas as segundas análises microbiológicas, verificou-se um pico de contaminação, com um valor de UFC/g superior a 10^4 embora se acredite ser um *outlier* e que tal valor não corresponde à carga microbiana do alimento. Isto porque se visualiza que os valores de UFC/g nos seguintes dias de análise são nulos. Este dado não se conseguiu reproduzir no gráfico da figura 3.10 uma vez que apenas foram efetuadas 4 diluições (até à 10^{-4}) e mesmo nas placas com o inóculo dessa última diluição, não se conseguia contabilizar o número de colónias, tal a quantidade existente. Tal facto poderá ter acontecido devido à possível contaminação do meio de cultura com a água do banho que previne a solidificação. Deste modo, o frasco com o meio de cultura PCA colocado nas placas correspondentes a estas amostras (revestidas com as soluções de 1,5% e 3% de QPDA), pode ter ficado mal fechado e a boca do frasco ter entrado em contato com a água. Assim, este *outlier* não é considerado e considera-se que estes revestimentos são eficazes na preservação da qualidade microbiológica da maçã fatiada, não havendo nenhuma diferença entre as duas concentrações utilizadas, já que não existe qualquer crescimento microbiológico aeróbio total em nenhum dos dois revestimentos.

Confrontando os resultados obtidos com a literatura, pode dizer-se que se obtiveram valores coerentes. *Campaniello, et al. (2008) e Pinho (2011)*, constataram que um revestimento de quitosano (1%) inibiu o crescimento de microrganismos e afetou significativa e positivamente o tempo de estabilidade dos produtos, sobretudo quando as amostras foram embaladas em atmosfera modificada (com percentagem baixa e elevada de oxigénio). *Geraldine, et al (2008)*, também demonstram a inibição do crescimento de microrganismos mesófilos em alho com revestimento de quitosano.

Os resultados obtidos por *Lou, et al (2011)*, também mostraram que um revestimento de quitosano exibe atividade antibacteriana.

Chien, et al (2005), demonstraram, tal como os autores anteriores mencionados, que um revestimento de quitosano inibe o crescimento de microrganismos, mas aumentando a concentração de quitosano de 0,5% para 2%, o crescimento de microrganismos não é afetado, ou seja, ambas as concentrações de quitosano são eficazes, tal como sucedido com os resultados aqui obtidos. No presente trabalho não foi utilizado quitosano mas QPDA, contudo, esta também demonstrou grande eficácia, quer a 1,5% como a 3%).

Nos revestimentos controlo 2, controlo 3, 1,5% de QPDA e 3% de QPDA, o produto apresenta qualidade microbiológica até aos 14 dias, já que até esse período não se verifica qualquer crescimento microbiano.

3.3.3.2 Microrganismos psicotróficos

De seguida são expostos os resultados relativos ao estudo do crescimento dos microrganismos psicotróficos, nas amostras com revestimentos de QPDA e respetivos controlos, na tabela 3.7. Nesta tabela, os resultados encontram-se expressos em UFC/g.

Tabela 3.7 - Microrganismos psicrotróficos (UFC/g) correspondentes a cada amostra revestida com diferentes soluções de revestimento de QPDA e respetivos controlos.

Microrganismos Psicrotróficos (UFC/g)					
Dias de Análise	Controlo 1	Controlo 2	Controlo 3	1,5% QPDA	3% QPDA
2	0	0	0	0	0
5	0	0	0	$>10^4$	$>10^4$
8	$1,6 \times 10^4$	0	0	0	0
11	$1,3 \times 10^6$	0	$5,9 \times 10^2$	0	0
14	$1,7 \times 10^6$	0	0	0	0

Assim, e representado os resultados graficamente, expressos em log UFC/g, obtém-se a figura 3.11.

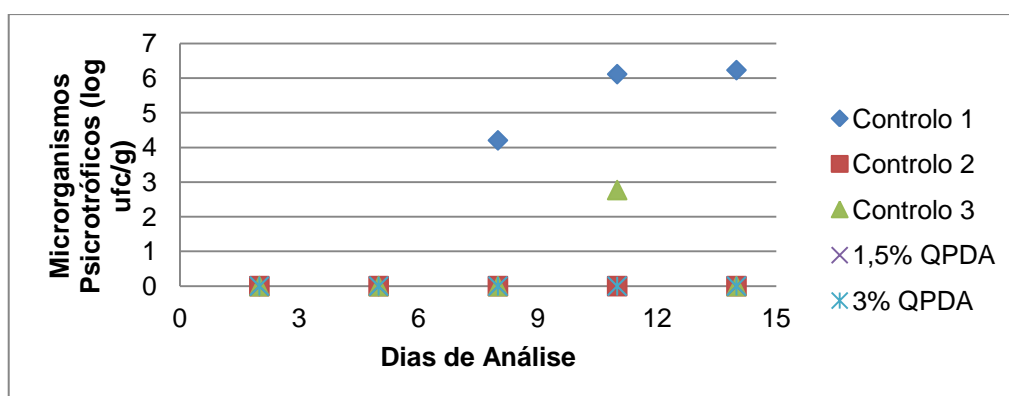


Figura 3.11 – Crescimento dos microrganismos psicrotróficos das amostras com os diferentes tipos de revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 14 dias.

Microrganismos psicrotróficos são microrganismos que se desenvolvem à temperatura de refrigeração, e incluem algumas espécies degradativas de produtos refrigerados.

Os resultados dos microrganismos psicrotróficos foram em tudo semelhantes aos dos microrganismos aeróbios a 30°C, exceto nas amostras revestidas com o controlo 3, em que se verifica um valor de $5,9 \times 10^2$ UFC/g, no dia 11. No entanto, este valor não se mantém. Visualiza-se nas amostras analisadas no dia 14 de armazenamento que não há qualquer desenvolvimento microbiológico psicrotrófico. Por outro lado, como não se efetuaram réplicas das análises (foi apenas analisada uma embalagem de maçã fatiada por cada revestimento), este valor de dia 11º não é significativo pelo que se considera um valor ocasional e que mesmo neste controlo não se verificou desenvolvimento microbiano.

Verifica-se que apenas nas amostras revestidas com o controlo 1, houve desenvolvimento, quer de mesófilos, quer de microrganismos capazes de se desenvolver à temperatura de refrigeração.

Segundo os valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a consumir, do INSA (Santos, *et al*,2005) o período de vida útil da maçã controlo 1, considerando a contagem de psicotróficos, é de 8 dias e não de 11 dias (como referido nos resultados das contagens de mesófilos), já que no dia 11º o produto apresentava um valor de contaminação considerado, por estes valores guia, como não satisfatório, ou seja superior a 10^6 ($1,3 \times 10^6$) UFC/g,

Desta forma, os revestimentos de alginato e glicerol são eficazes já que inibem o crescimento dos microrganismos aeróbios psicotróficos, tal como observado por Graü, *et al.* (2007), em puré de maçã, onde todos os revestimentos antimicrobianos, compostos por alginato, inibiram significativamente o crescimento de bactérias aeróbias psicotróficas.

Os resultados demonstram também que os revestimentos compostos por QPDA (isoladamente) e QPDA com alginato e glicerol (às diferentes concentrações estudadas – 1,5% e 3%) também foram eficazes. Este facto é comprovado na literatura, tal como se observa nos resultados dos microrganismos aeróbios a 30°C acima descritos.

3.3.4 Alterações sensoriais

3.3.4.1 Alterações na cor

De seguida são expostos os resultados relativos às alterações verificadas sensorialmente a nível da cor das amostras, na figura 3.12. Nesta figura, os resultados são relativos à média das classificações atribuídas pelos provadores.

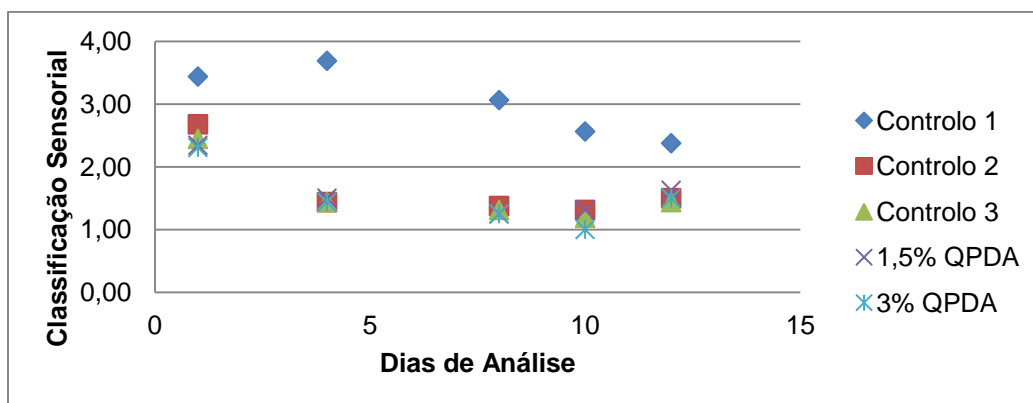


Figura 3.12 – Avaliação sensorial – Alterações na cor das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 12 dias.

Verifica-se uma quebra geral na qualidade sensorial da maçã fatiada, no que diz respeito à cor.

Denota-se nitidamente que as amostras revestidas com o controlo 1 foram as que obtiveram maior pontuação (intensidade) por parte dos provadores. O que significa, que a nível sensorial e mais precisamente do atributo cor, os revestimentos alimentares não foram eficazes. No entanto é possível verificar que há uma maior alteração na cor das amostras revestidas com o controlo 1, a partir do dia 4. O que significa que só até aí o produto é apelativo sensorialmente. Em relação às amostras revestidas (controlo 2, 3, 1,5% e 3% de QPDA), estas apresentam, durante todo o período de armazenamento, uma baixa qualidade sensorial, no entanto, a alteração não é tão acentuada como se faz sentir nas amostras com o controlo 1, o que poderá significar que os revestimentos, a longo prazo, têm algum efeito benéfico na qualidade sensorial. Isto se logo desde o início tivessem obtido elevadas intensidades na classificação dos provadores, facto que não se verificou.

Estes resultados são contraditórios quando comparados com os obtidos por *Chien, et al (2005)*, *Ali, et al (2011)* e *Maqbool, et al (2011)*, como mencionado em baixo, na preferência de amostras (ponto 3.3.4.6). No entanto, os resultados são concordantes com os obtidos por *Pinho (2011)* que verificou que a pêra fatiada ao natural ('sem tratamento') tem um aspeto/cor significativamente superior (no que diz respeito ao nível de aceitação) ao deste fruto com ácido ascórbico e diferentes concentrações de quitosano, acondicionado em atmosfera modificada.

3.3.4.2 Alterações na granulidade

De seguida são expostos os resultados relativos às alterações verificadas sensorialmente a nível da granulidade das amostras, na figura 3.13. Nesta figura, os resultados são relativos à média das classificações atribuídas pelos provadores.

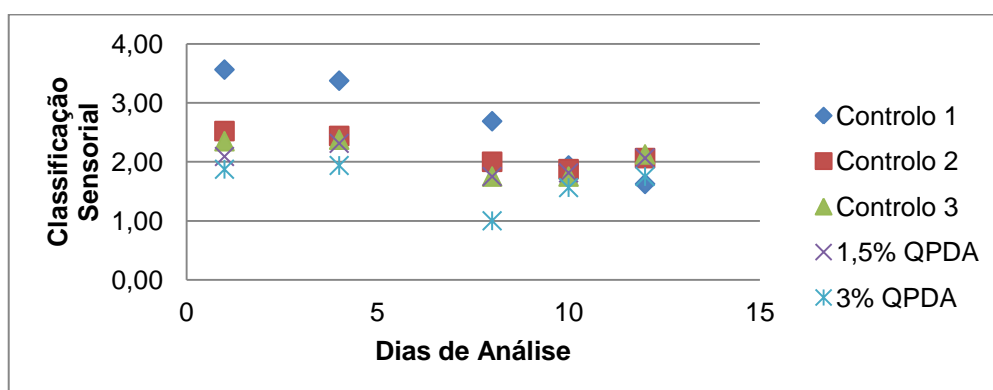


Figura 3.13 – Avaliação sensorial – Alterações na granulidade das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 12 dias.

Verifica-se também uma quebra geral na qualidade sensorial da maçã fatiada, no que diz respeito à granulidade.

Tal como observado na cor, o controlo 1 é o que apresenta maior intensidade na classificação dada para a granulidade (até ao dia 10). Ainda assim, verifica-se, também a partir do dia 4, uma acentuada diminuição na classificação deste atributo neste controlo.

Nos restantes revestimentos também se denota um decréscimo na classificação da consistência, no entanto, a quebra ao longo do tempo não é tão evidente como para o controlo 1.

Neste caso verifica-se que o revestimento com 3% de QPDA foi o que apresentou piores resultados, sendo que não será um revestimento adequado para fornecer a granulidade que se pretende pelos provadores e possíveis consumidores da maçã fatiada. Isto prende-se com o facto de esta solução apresentar pequenos “grãos” de QPDA, o que significa que este não se dissolveu por completo, não ficando uma solução límpida a aplicar nas amostras.

As amostras revestidas com o controlo 2, apesar de inicialmente não apresentarem os valores de classificação pretendidos de granulidade, são as que se apresentam mais estáveis ao longo do tempo, sendo que no final das análises (dia 12) são as que demonstram valores de classificação mais elevados (juntamente com as amostras revestidas com o controlo 3). Assim, é possível afirmar que a longo prazo, e em termos de granulidade, o controlo 2, e portanto o revestimento de alginato e glicerol, é o que apresenta maior eficácia quanto à preservação da agradabilidade da granulidade na maçã fatiada. Este facto é comprovado por *Graü, et al (2007)*, que verificaram que revestimentos com alginato em preparados de maçã são eficazes em termos de qualidade sensorial (em que a textura é avaliada) e ao longo de 2 semanas de armazenamento (*Graü, et al, 2007*). Ainda assim, devido à natureza da análise sensorial realizada, não é possível afirmar com toda a certeza que o revestimento com alginato e glicerol foi o mais eficaz.

3.3.4.3 Alterações na consistência

De seguida são expostos os resultados relativos às alterações verificadas sensorialmente a nível da consistência das amostras, na figura 3.14. Nesta figura, os resultados são relativos à média das classificações atribuídas pelos provadores.

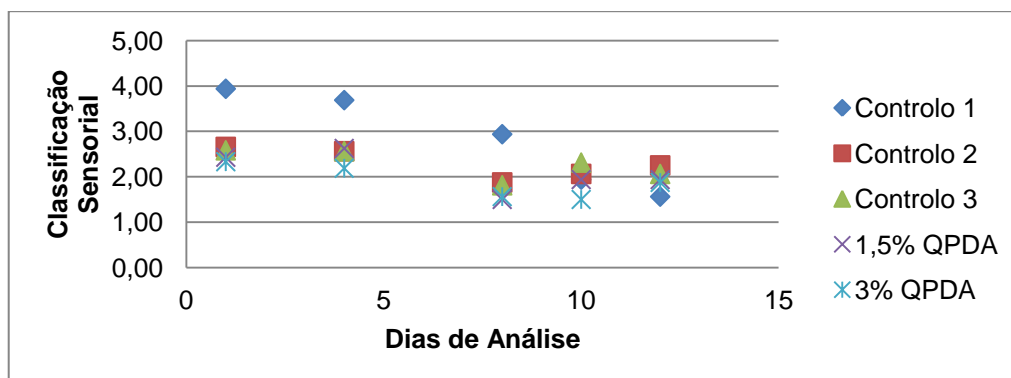


Figura 3.14 – Avaliação sensorial – Alterações na consistência das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 12 dias.

Quanto à consistência, constata-se uma quebra geral na qualidade sensorial das amostras.

Tal como para os atributos anteriores, as amostras revestidas com o controlo 1 são as que apresentam valores mais elevados quanto à classificação dada pelos provadores à consistência das amostras. Denota-se também a acentuada quebra nestas

amostras. Ainda assim, é o revestimento que confere maior estabilidade às amostras em termos de consistência, até ao dia 8, facto contraditório ao observado na literatura.

Estes resultados são coerentes com os resultados obtidos na análise do trabalho de compressão em que os revestimentos analisados não oferecem vantagens na preservação da firmeza da maçã.

3.3.4.4 Alterações no brilho

De seguida são expostos os resultados relativos às alterações verificadas sensorialmente a nível do brilho das amostras, na figura 3.15. Nesta figura, os resultados são relativos à média das classificações atribuídas pelos provadores.

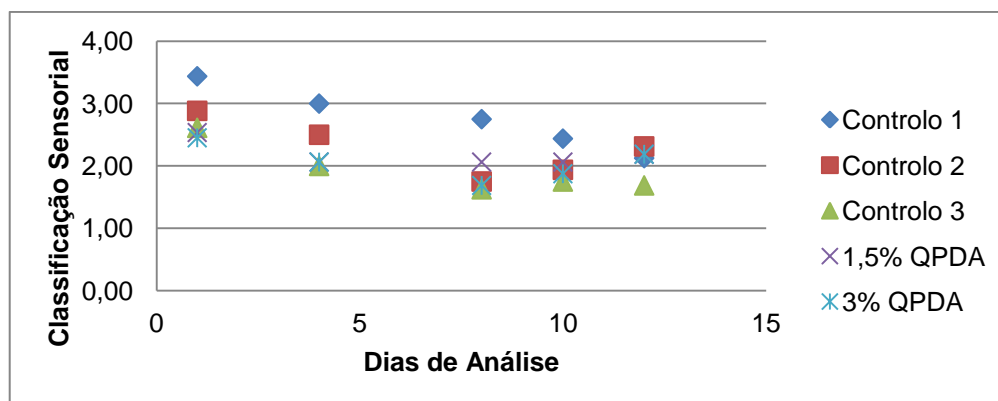


Figura 3.15 – Avaliação sensorial – Alterações no brilho das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 12 dias.

Também para o brilho se denota uma quebra geral na qualidade sensorial da maçã fatiada.

Em termos de brilho os valores entre amostras não se apresentam tão distanciados (entre as amostras revestidas com o controlo 1 e as restantes). Mesmo assim a intensidade de classificação é sempre superior no controlo 1, à exceção do último dia de análise. Isto significa que também em termos de brilho, os revestimentos não são adequados para aplicar na maçã fatiada, já que não lhes confere um brilho apelativo.

Os resultados são coerentes com os obtidos na análise da cor, tendo a amostra revestida com o controlo 1, mantido ao longo do tempo um valor de L^* superior, relativamente às restantes e mais próximo do valor inicial.

3.3.4.5 Alterações no odor

De seguida são expostos os resultados relativos às alterações verificadas sensorialmente a nível do odor das amostras, na figura 3.16. Nesta figura, os resultados são relativos à média das classificações atribuídas pelos provadores.

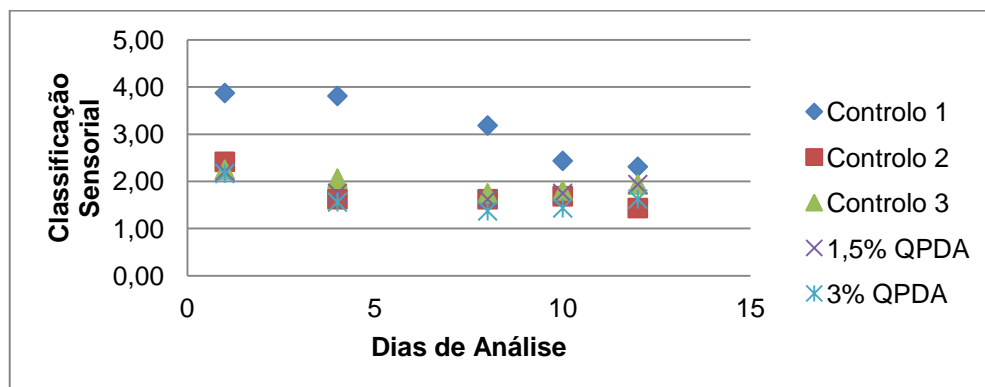


Figura 3.16 – Avaliação sensorial – Alterações no odor das amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, ao longo de 12 dias.

No que diz respeito ao odor, e tal como para os restantes atributos, é possível verificar uma quebra geral na qualidade sensorial da maçã fatiada.

Em termos de odor, verifica-se até ao final do tempo de armazenamento uma preferência pelas amostras revestidas pelo controlo 1, embora que a partir do dia 8 a quebra seja notória. Isto pode estar relacionado com o facto de todos os outros revestimentos apresentarem na sua constituição ácido acético glacial, que não apresenta um odor agradável, contribuindo assim para a rejeição do produto. Deste modo, este facto deveria ser ultrapassado com a adição de aromatizantes ou com a substituição deste reagente por outro com odor menos desagradável e intenso.

De uma forma geral, as amostras revestidas com o controlo 1 são as que apresentam melhores resultados e em contrapartida, as amostras revestidas com a solução com 3% de QPDA apresentam-se como sendo as mais desagradáveis.

3.3.4.6 Preferência de amostras

A fim de conhecer a preferência dos provadores, foi-lhes perguntado qual a amostra que mais os agradava. Na figura 3.17 encontram-se os resultados relativos ao

número de preferências (provedores a analisar) de cada amostra e em cada dia de análise, durante os 12 dias.

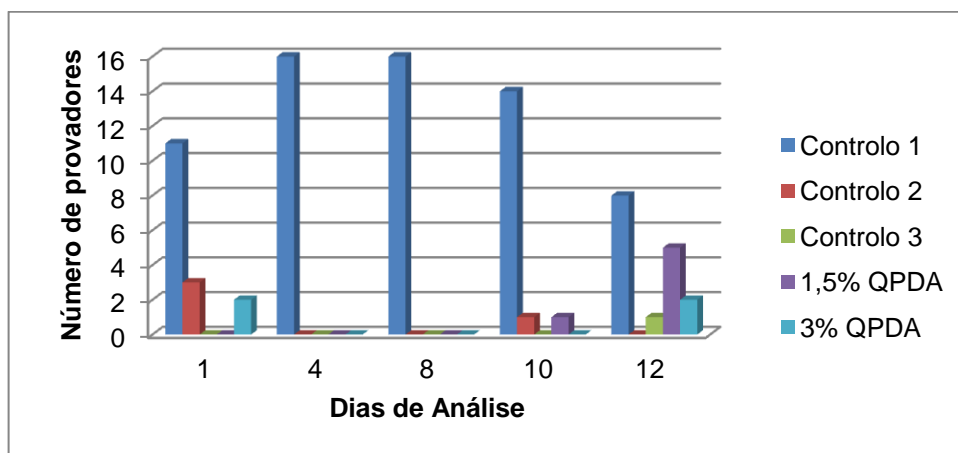


Figura 3.17 - Avaliação sensorial – Amostras com os revestimentos de QPDA e respetivos controlos, preferidas em cada dia de análise, ao longo de 12 dias.

Analisando a figura 3.17 comprova-se a notável preferência por parte dos provedores e em todos os dias de análise, das amostras revestidas com o controlo 1.

Estes resultados são contraditórios quando comparados com os obtidos por *Chien, et al (2005)*, que verificaram que o revestimento de quitosano em fatias de manga, melhorou a sua qualidade, a nível de sabor e cor, e que o controlo se tornou inaceitável, por *Ali, et al (2011)*, que demonstraram que, em papaia e em termos de sabor, cor da polpa e textura, os frutos tratados com 1,5% quitosano alcançaram pontuação máxima pelos provedores em todos os parâmetros testados. Constataram ainda que os frutos não tratados ou aqueles tratados com 0,5% de quitosano amadurecem após 3 semanas de armazenamento e, depois disso começaram a decompor-se e por *Maqbool, et al (2011)*, que observaram em banana, e no que diz respeito ao gosto, cor da polpa, textura, sabor e aceitabilidade geral, que os frutos tratados com 10% de goma arábica com 1,0% de quitosano atingiram a maior pontuação por parte do provedores em todos os parâmetros testados.

No entanto, verifica-se que no último dia há uma ligeira alteração do que se tem visto até então. Oito dos provedores prefere realmente a amostra com o controlo 1, mas os outros 8 provedores preferem amostras com revestimentos. Poderá, eventualmente, afirmar-se que se a análise fosse efetuada durante mais tempo, provavelmente verificar-se-ia uma reversão dos resultados obtidos.

3.4 Avaliação do efeito da aplicação dos revestimentos alimentares de QC e respetivo controlo em maçã fatiada

Em relação à maçã revestida com o QC e com o respetivo controlo, as avaliações efetuadas foram apenas a nível físico, analisando-se a firmeza e atributo crocante e a cor (L^* , a^* , b^*). A nível sensorial, analisou-se a cor, a granulicidade, a consistência, o brilho, o odor e o sabor. Estes foram os parâmetros analisados nestas amostras já que nas análises efetuadas à maçã com os revestimentos de QPDA e os respetivos controlos, foram nestes aspetos que prevaleceram maiores dúvidas em relação ao efeito benéfico da QPDA.

3.4.1 Alterações de características físicas

3.4.1.1 Avaliação da firmeza e atributo crocante

Os resultados em termos de trabalho de compressão, que indica a firmeza, para as amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC encontram-se na figura 3.18.

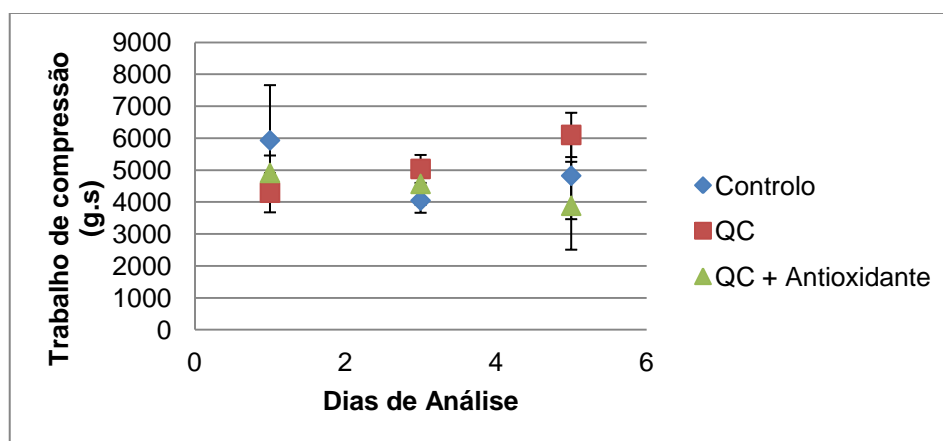


Figura 3.18 – Evolução da firmeza (trabalho de compressão (g.s)) das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias (média±desvio padrão, n=3).

No que diz respeito à firmeza das amostras com QC e respetivo controlo, com os resultados obtidos da análise estatística, comparando as diferentes amostras dia-a-dia, é possível afirmar que não existem diferenças significativas entre amostras em nenhum dos dias de avaliação deste parâmetro físico. Já comparando os resultados dos diferentes dias em cada amostra, é possível verificar que apenas existem diferenças estatisticamente significativas nas amostras com o revestimento com QC, o que permite afirmar que este revestimento não se revelou eficaz na manutenção da firmeza

característica da maçã minimamente processada. Tanto o controlo como o revestimento de QC + antioxidante não apresentam diferenças estatisticamente significativas nos dias de armazenamento, e assim, ambas as amostras apresentaram resultados semelhantes de trabalho de compressão ao longo de todos os dias de análise. Assim, nenhum dos revestimentos se demonstra eficaz na proteção da firmeza da amostra.

Os resultados relativos ao número de picos positivos, que indicam o atributo crocante, para as amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC e com o respetivo controlo, encontram-se na figura 3.19.

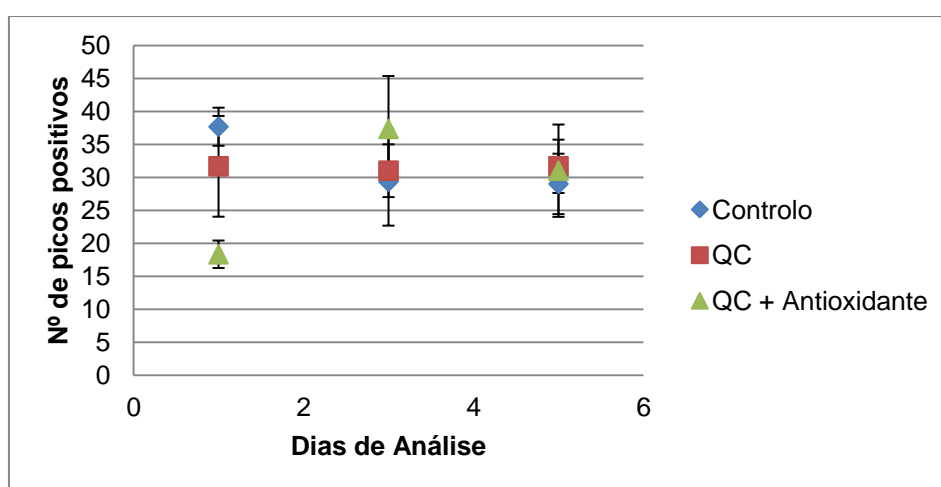


Figura 3.19 – Evolução do atributo crocante (número de picos positivos) das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias (média±desvio padrão, n=3).

Existem diferenças estatisticamente significativas entre o número de picos positivos no dia 1, entre todas as amostras, o que poderá estar relacionado com diferenças entre a própria matéria-prima (maçãs). Nos restantes dias de análise não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre as amostras, podendo concluir-se que a aplicação dos revestimentos não tem efeito significativo neste parâmetro ao longo do tempo de armazenagem refrigerada. Tendo em conta a análise dos diferentes dias em cada amostra, visualiza-se que apenas existem diferenças estatisticamente significativas no número de picos positivos da amostra com o revestimento com QC + antioxidante (mais especificamente entre o dia 1 e o dia 3), significando este facto que, no que diz respeito à favorável evolução do atributo crocante, a fim de contribuir para o aumento de vida útil da amostra, o revestimento com QC + antioxidante não é eficaz.

Contudo, de um ponto de vista geral, é possível visualizar que o revestimento que apresenta a mais adequada evolução a nível do atributo crocante da maçã fatiada (até ao dia 3), sem oscilações acentuadas, é o revestimento com QC (1,5%), sendo este resultado concordante com os resultados obtidos por *Ali, et al. (2011)*, em papaia. Ainda assim, no último dia de análise, o número de picos é semelhante em todas as amostras, não sendo possível afirmar que tal revestimento é eficaz. Desta forma, nenhum dos revestimentos apresenta vantagens significativas relativamente ao atributo crocante.

3.4.1.2 Avaliação da cor

Os resultados em termos de L^* , para as amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC e respetivo controlo, encontram-se na figura 3.20.

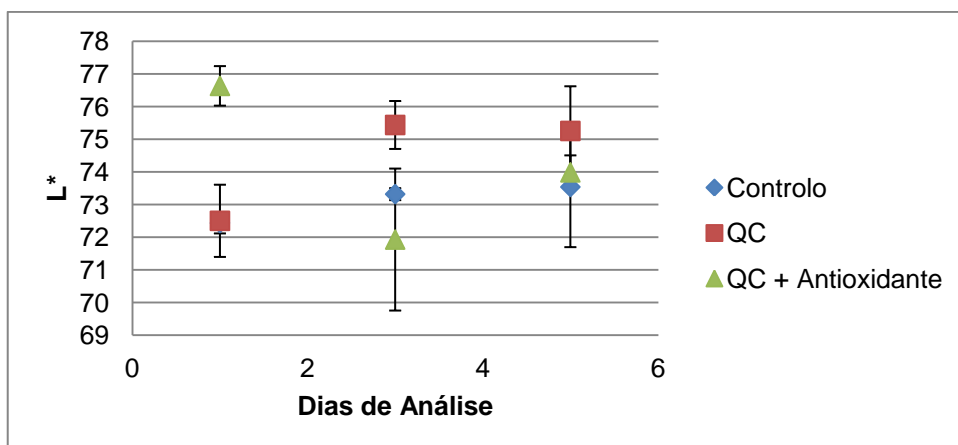


Figura 3.20 – Evolução da cor (L^*) das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias (média±desvio padrão, n=3).

Avaliando os resultados do parâmetro CIE L^* das amostras com QC e respetivo controlo, aplicando o teste ANOVA e comparando as diferentes amostras dia-a-dia, constata-se que existem diferenças estatisticamente significativas entre amostras para os dias 1 e 3: ao 3º dia de armazenamento refrigerado a amostra revestida com QC apresenta uma luminosidade superior à do controlo e da amostra revestida com QC + antioxidante. No dia 5 não se observaram diferenças significativas na luminosidade das amostras analisadas. O tempo de armazenamento tem um efeito significativo nas amostras com o revestimento com QC e nas amostras com o revestimento com QC + antioxidante, tendo-se observado um aumento da luminosidade na maçã revestida com QC e uma diminuição na maçã revestida com QC + antioxidante. Nas amostras com o controlo esse efeito não é observado. Deste modo, o controlo é a solução que melhor preserva a luminosidade das amostras, tal como observado no teste anterior com a

QPDA, não sendo os revestimentos de QC eficazes. No entanto, ao contrário dos resultados do ensaio anterior, no último dia, a amostra com o controlo não é mais luminosa que as amostras revestidas; as amostras revestidas não escurecem tanto como os revestimentos testados no ensaio anterior. Esta constatação da análise estatística é facilmente observada e comprovada na figura 3.20. Ainda assim, no dia 3 não se verificam diferenças significativas entre a luminosidade das amostras, o que não permite considerar nenhum dos revestimentos com QC eficazes.

Os resultados em termos de a^* , para as amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC e respetivo controlo encontram-se na figura 3.21.

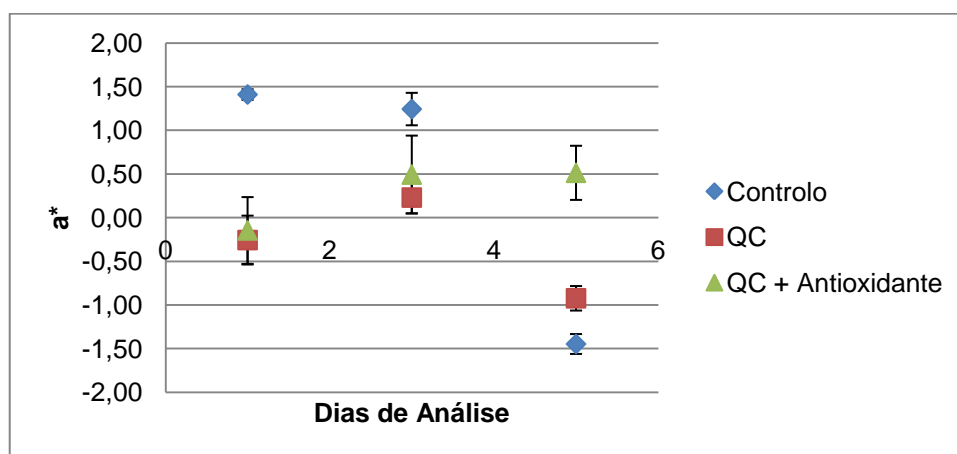


Figura 3.21 – Evolução da cor (a^*) das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias (média±desvio padrão, $n=3$).

Analisando os resultados do parâmetro CIE a^* das amostras com QC e respetivo controlo, observa-se que existem diferenças estatisticamente significativas entre as amostras, em todos os dias, apresentando cada uma das amostras características distintas em termos do parâmetro de cor, a^* . Tendo em conta a comparação entre dias de cada amostra, verificam-se diferenças estatisticamente significativas entre as amostras com o controlo e, entre as amostras com o QC. Nas amostras com QC + antioxidante não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes dias de análise, o que indica que o revestimento foi eficaz na conservação deste parâmetro colorimétrico, tal como comprovado por *Chien, et al (2005)* em mangas *Pinho (2011)*, em pêra, e visível na tabela 3.8 com as imagens das amostras.

Os resultados em termos de b^* , para as amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC e respetivo controlo encontram-se na figura 3.22.

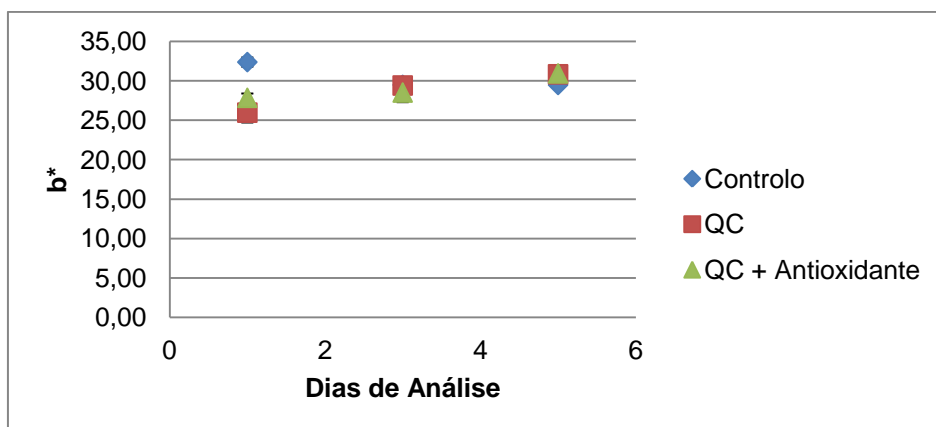


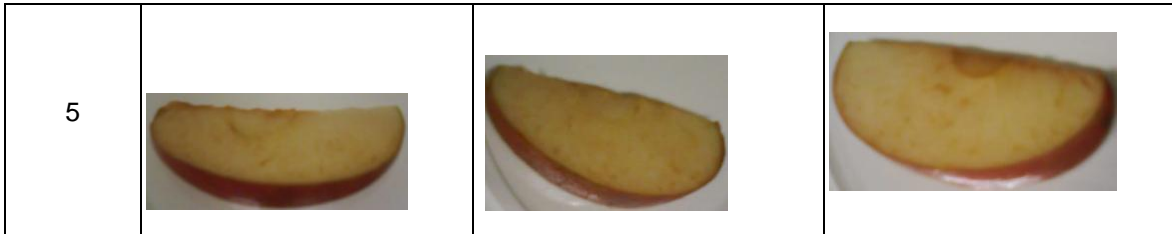
Figura 3.22 – Evolução da cor (b^*) das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias (média±desvio padrão, $n=3$).

Tendo em conta os resultados do parâmetro CIE b^* das amostras com QC e respetivo controlo, aplicando o teste ANOVA e comparando as diferentes amostras dia-a-dia, observam-se diferenças estatisticamente significativas entre as amostras, nos dias 1 e 5, apesar de no dia 3 essas diferenças não serem significativas. Já avaliando a comparação entre dias de cada amostra, verificam-se diferenças estatisticamente significativas em todas as amostras. Ainda assim, observando a figura 3.22 é possível constatar que o revestimento de QC + antioxidante confere à amostra uma evolução de cor (b^*) mais estável, tal como observado por *Chien, et al (2005)* e *Pinho (2011)*. Contudo, no último dia não se demonstraram diferenças significativas entre amostras.

Na seguinte tabela 3.8 encontram-se imagens relativas às amostras revestidas de QC e respetivo controlo, de forma a ser possível visualizar as variações de cor entre diferentes amostras e ao longo do tempo (5 dias).

Tabela 3.8 – Imagens relativas às amostras revestidas com os revestimentos de QC e respetivo controlo, ao longo dos 5 dias.

Tempo (dias)	Amostras revestidas com as soluções		
	Controlo 1	QC	QC + Antioxidante
1			
3			



O facto da coloração das fatias de maçã do dia 1 estar ligeiramente alterada, está relacionado com a aplicação dos revestimentos, que, desta vez foi realizada em laboratório, o que não permitiu que o processo decorresse com tanta fluidez e rapidez como se passou no ensaio inicial, com as soluções de QPDA e respetivos controlos, que se realizou num contexto industrial. Desta forma, neste último ensaio, é possível que as amostras tenham sofrido mais oxidação, já que houve mais tempo entre a preparação da amostra (fatiamento, aplicação das soluções e secagem da amostra) e o embalamento/ acondicionamento da mesma.

Comparando as figuras das amostras revestidas com soluções de QC e o respetivo controlo, não se distinguem grandes variações de cor, em todas as amostras (com controlo, QC e QC + antioxidante), o que indica que num contexto visual, tanto o controlo como os revestimentos protetores se apresentaram eficazes na preservação da cor das amostras.

3.4.2 Alterações sensoriais

3.4.2.1 Alterações na cor

Os resultados em termos de cor, para as amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC e respetivo controlo, encontram-se na figura 3.23.

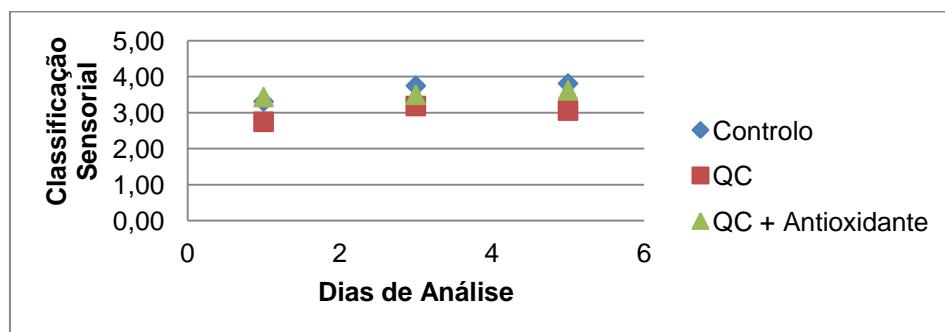


Figura 3.23 – Avaliação sensorial – Alterações na cor das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias.

Com os resultados obtidos é possível verificar que neste ensaio com o QC, e no que diz respeito à cor, os provadores continuaram a eleger a amostra com o controlo, embora o mais apelativo no dia 1 seja o QC + antioxidante. No entanto os valores atribuídos a todas as amostras ao longo do tempo encontram-se bastante próximos, não se verificando uma preferência significativa e óbvia pela amostra revestida com o controlo. Isto indica que os revestimentos aplicados nas amostras foram eficazes na preservação da cor ao longo destes 5 dias, embora a amostra com o controlo também não tenha perdido esta característica.

3.4.2.2 Alterações na granulidade

Os resultados em termos de granulidade, para as amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC e respetivo controlo, encontram-se na figura 3.24.

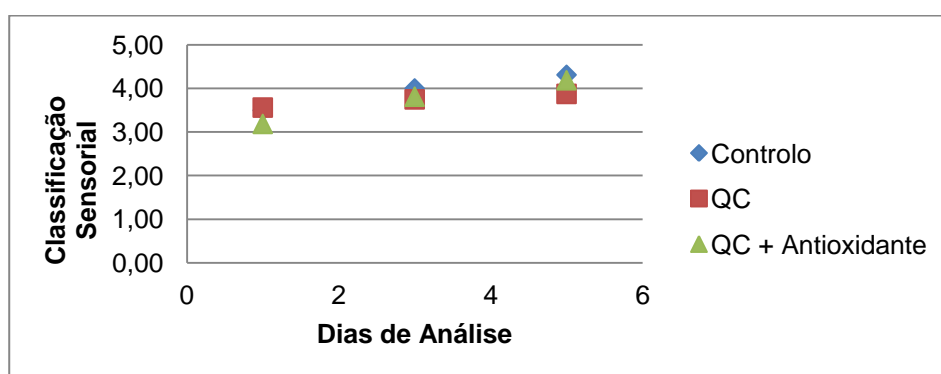


Figura 3.24 – Avaliação sensorial – Alterações na granulidade das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias.

Com a figura 3.25 constata-se que todas as amostras se encontram em níveis de classificação sensorial bastante próximos e até elevados, o que significa que tanto o controlo como os revestimentos de QC mantiveram a granulidade característica e agradável observada na maçã.

3.4.2.3 Alterações na consistência

Os resultados em termos de consistência, para as amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC e respetivo controlo, encontram-se na figura 3.25.

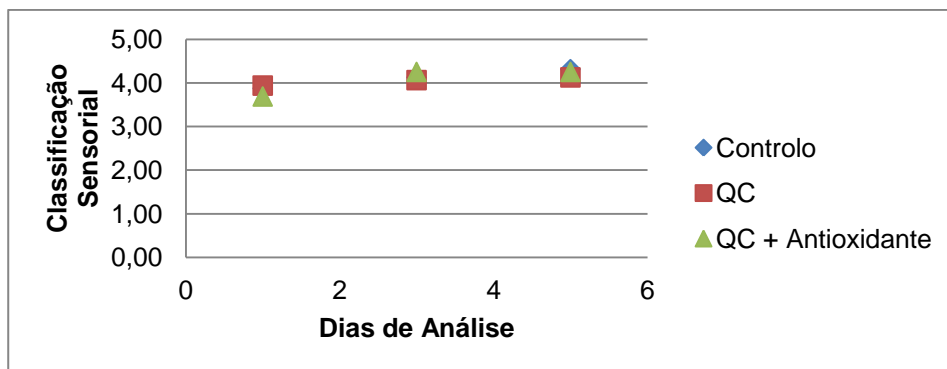


Figura 3.25 – Avaliação sensorial – Alterações na consistência das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias.

Os valores de classificação sensorial relativos à consistência, tal como nos atributos anteriormente descritos, indicam que não se apresentaram acentuadas diferenças entre as várias amostras, tendo sido mantida a consistência ao longo dos 5 dias de armazenamento refrigerado.

3.4.2.4 Alterações no brilho

Os resultados em termos de brilho, para as amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC e respetivo controlo, encontram-se na figura 3.26.

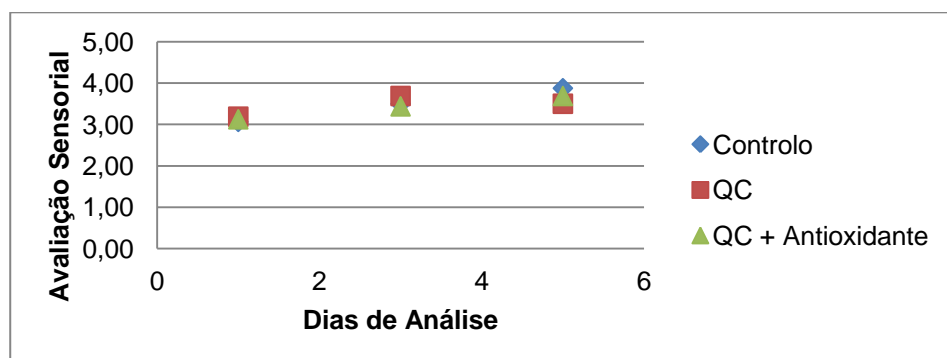


Figura 3.26 – Avaliação sensorial – Alterações no brilho das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias.

No brilho, os valores também se apresentam próximos, indicando a eficácia dos revestimentos na sua preservação, ainda assim, a amostra revestida com o controlo também não apresentou grandes variações deste atributo sensorial.

3.4.2.5 Alterações no odor

Os resultados em termos de odor, para as amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC e respetivo controlo, encontram-se na figura 3.27.

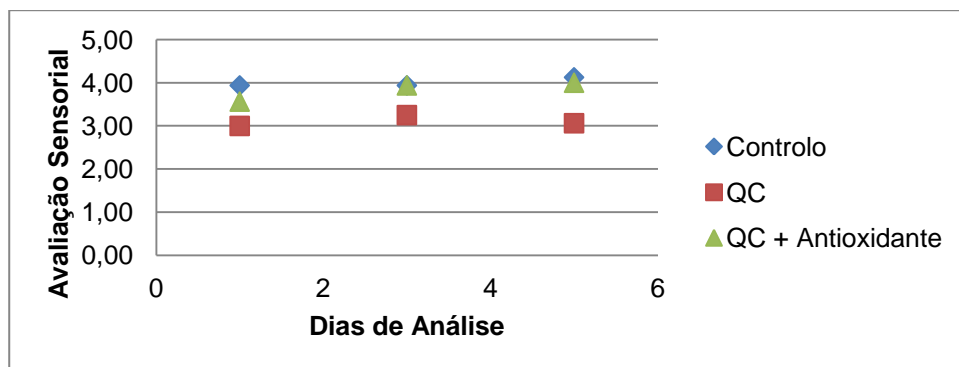


Figura 3.27 – Avaliação sensorial – Alterações no odor das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, ao longo de 5 dias.

Os valores de avaliação sensorial relativos ao odor são menores nas amostras revestidas com a solução de QC, quando comparadas com as amostras com os restantes revestimentos, apresentando este um odor menos agradável, ou seja, esta amostra exibia um odor ligeiramente diferente do característico da maçã. Todavia os valores encontram-se acima do que é considerado aceitável. Com estes resultados é possível afirmar que os revestimentos não alteram de forma significativa o odor das amostras.

3.4.2.6 Alterações no sabor

Nas amostras analisadas posteriormente, visto que foram revestidas com QC, e que todos os procedimentos foram efetuados no laboratório de análise sensorial e em material seguro a nível alimentar, já foi possível efetuar análise ao sabor, a fim de constatar se o quitosano interfere neste atributo sensorial na maçã.

Os resultados das amostras revestidas com as 3 soluções encontram-se na figura 3.28.

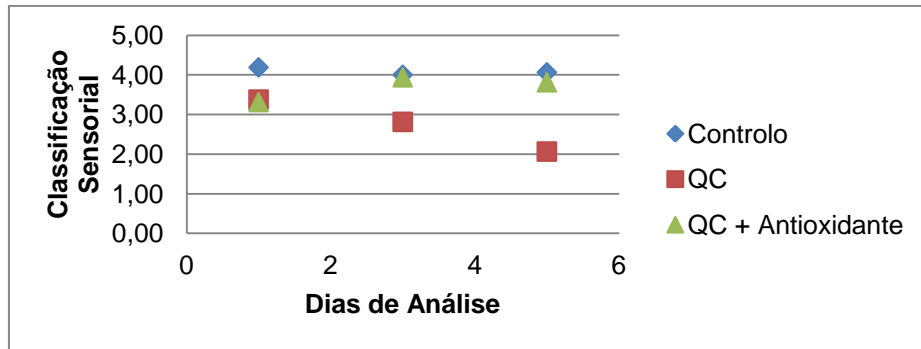


Figura 3.28 – Avaliação sensorial – Alterações no sabor das amostras revestidas com QC e controlo.

Relativamente ao sabor das amostras revestidas com QC e respetivo controlo, verifica-se que os valores de avaliação sensorial vão diminuindo ao longo do tempo nas amostras revestidas com a solução de QC quando comparadas com as amostras com os restantes revestimentos, manifestando este ao longo dos 5 dias de análise um declínio no sabor, verificando-se que no dia 5 a classificação sensorial é em média 2, sendo este valor correspondente ao sabor pouco agradável. Com isto é possível afirmar que o vinagre não é indicado para dissolver o quitosano, já que causa um sabor desagradável que se acentua ao longo do tempo. Já os valores de classificação sensorial para as amostras com QC + antioxidante apresentam-se favoráveis, indicando que o sumo de limão (antioxidante e composto adicionado para dissolver o quitosano) é indicado para se adicionar à solução, não alterando o sabor da amostra, nem imediatamente após a sua aplicação, nem ao longo do tempo.

3.4.2.7 Preferência de amostras

Nas amostras analisadas posteriormente, revestidas com QC e respetivo controlo, a preferência de amostras, está representada na figura 3.29, em que os resultados são relativos ao número de preferências (provadores a analisar) de cada amostra e em cada dia de análise, durante os 5 dias.

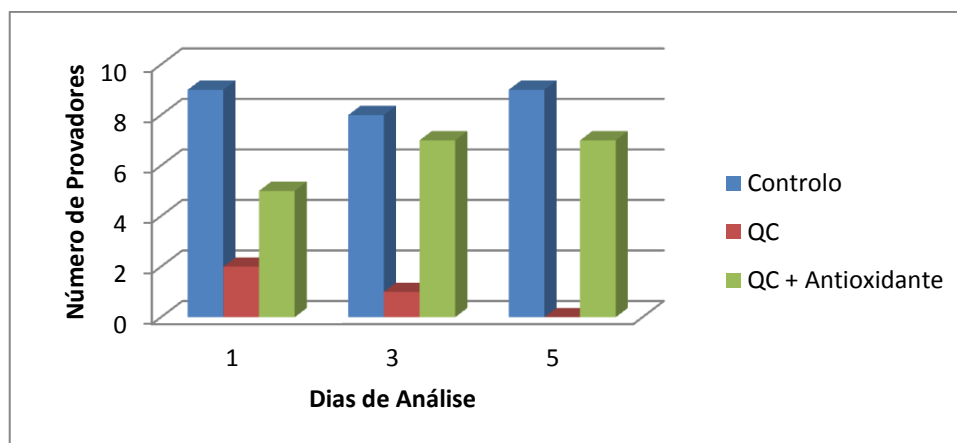


Figura 3.29 - Avaliação sensorial – Amostras com os revestimentos de QC e respetivo controlo, preferidas em cada dia de análise, ao longo de 5 dias.

Com a análise sensorial efetuada, verifica-se que as amostras revestidas com o controlo são as preferidas pelos provadores em todos os dias de análise, no entanto, verifica-se que com o tempo, a amostra com QC + antioxidante vai sendo progressivamente mais escolhida pelos provadores, indicando que se a análise fosse efetuada durante um período de tempo maior, provavelmente esta amostra seria a eleita.

É notável que a amostra com o revestimento de QC não seja preferida pelos provadores. É assim possível afirmar que o quitosano dissolvido em vinagre não confere à maçã, características sensoriais agradáveis. Ao contrário, o quitosano dissolvido em sumo de limão, é agradável ao provador e mantém as características próprias da maçã durante o tempo de armazenamento, já que o sumo de limão tem o papel tanto de dissolver o quitosano, como de atuar como antioxidante.

Um aspeto interessante desta avaliação é o facto de as amostras com QC, apesar de não serem as preferidas, não estarem mal classificadas no sabor e no odor, o que indica que, comprovada a eficácia de um revestimento à base de quitosano e ajustadas as formulações, a sua adição não resultaria na rejeição do produto.

4. CONCLUSÃO

Este estudo permitiu avaliar o efeito da aplicação de diferentes biofilmes de QPDA bem como de alginato e glicerol, em fatias de maçã de Alcobaça (produto de IV gama) a fim de detetar as suas consequências nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais ao longo de 14 dias de armazenamento.

Para formulação dos revestimentos de QPDA, foi efetuada a extração deste biopolímero, não tendo este apresentado os resultados esperados, ou seja, demonstrou um baixo grau de desacetilação (de 24%), e assim o produto resultante não se mostrava como quitosano, mas também não seria quitina, devido à sua parcial solubilidade nas soluções realizadas. Este facto está relacionado com a insuficiente desacetilação do composto. Daí o facto de ter sido designado de QPDA.

A avaliação da cor (CIE b^*) e da concentração de sólidos solúveis demonstraram eficácia do revestimento com a maior percentagem de QPDA (3%), constituindo este revestimento uma barreira à perda destes parâmetros físico-químicos estudados. Quanto aos parâmetros estudados, teor de humidade, firmeza e pH, não se verificaram diferenças significativas entre a maçã com os revestimentos e com o controlo 1 (sem composto protetor) ao longo do tempo de armazenamento (13 dias), pelo que os revestimentos não oferecem vantagens, e quanto a estes parâmetros, não contribuem para o aumento do tempo de prateleira da maçã fatiada. Relativamente à avaliação do atributo crocante, da cor (CIE L^* e a^*) e das características sensoriais, verificou-se que o controlo 1 (sem composto protetor), demonstrou uma melhor manutenção dos atributos, não constituindo os revestimentos uma mais-valia para a amostra estudada, no que diz respeito às características em causa.

Os resultados da análise microbiológica evidenciam a eficácia dos revestimentos de QPDA isoladamente, a par da QPDA com alginato e glicerol, e do alginato e glicerol isoladamente, já que nas amostras com revestimentos não se verificou desenvolvimento microbiano durante os 14 dias de armazenamento. Assim é possível concluir que os compostos adicionados aos revestimentos funcionam como agentes antimicrobianos. Por outro lado, a contagem de psicrótrópicos parece ser mais adequada à avaliação da qualidade microbiológica do que a contagem de mesófilos, atendendo a que indica a presença de um número superior de organismos, conduzindo a rejeição precoce do produto.

No ensaio realizado posteriormente, com um controlo, um revestimento com QC (1,5%) e outro com QC (1,5%) + antioxidante (sumo de limão), durante 5 dias para constatar os efeitos do quitosano nestes parâmetros, verificou-se na avaliação da cor, e mais precisamente nos parâmetros CIE a^* e b^* , que o revestimento com QC + antioxidante demonstrou eficácia. Nas restantes avaliações efetuadas (CIE L^* , firmeza e atributo crocante e aspetos sensoriais) não se verificaram diferenças significativas entre os revestimentos e o controlo (sem composto protetor), no entanto, pressupõe-se que se o ensaio fosse efetuado por um período de tempo mais alargado, verificar-se-iam os efeitos benéficos dos revestimentos com o QC e com o antioxidante em relação ao controlo (sem composto protetor), de onde se pode concluir que os revestimentos com QC apresentam eficácia no que diz respeito ao aumento de vida útil da maçã minimamente processada.

5. PERSPETIVAS FUTURAS

Devido ao facto de a QPDA não apresentar as condições ideais de desacetilação para ser possível a designação do biopolímero como quitosano, e que ainda assim, o revestimento aplicado ofereceu características benéficas à maçã minimamente processada (a nível microbiológico, da cor (CIE b*) e da concentração de sólidos solúveis), seria interessante, num estudo posterior, aprofundar esta relação dos efeitos de diferentes graus de desacetilação, bem como adequar as condições de extração de quitosano.

Visto que a QPDA tem origem em subprodutos de camarão, e como este marisco apresenta características alergénicas, a pesquisa de componentes na QPDA, tais como sulfitos (adicionados ao camarão para retardar o processo de escurecimento) ou a tropomiosina (um dos principais alergénios do camarão) que possam provocar algum tipo de alergia a pessoas suscetíveis a este produto, seria adequada e importante.

Um outro aspeto a verificar num estudo futuro, seria a validação do QPDA como produto comestível, já que este composto resultou de processos químicos, não sendo efetuado qualquer tipo de validação, não tendo sido possível efetuar a análise sensorial ao atributo sabor, uma vez que a prova das amostras contendo revestimentos com este componente, não foi efetivada devido ao risco para a saúde dos provadores, da ingestão de um produto impróprio para consumo.

Já que os revestimentos comestíveis não apresentaram vantagens evidentes na maçã fatiada, em relação aos controlos, em alguns dos parâmetros analisados, seria pertinente efetuar um ensaio contendo barreiras adicionais na amostra estudada, como por exemplo atmosfera modificada ou embalagem a vácuo.

Como foi comprovada a eficácia do sumo de limão como antioxidante, no ensaio com QC, e como a maçã se caracteriza por um escurecimento acentuado no pós corte e durante a sua exposição ao ar, sendo a cor o principal atributo que limita o período de vida útil desta maçã minimamente processada, torna-se necessário estudar o efeito da adição de diferentes antioxidantes a formulações de revestimentos baseados em biopolímeros de exoesqueleto de camarão, avaliando a atividade enzimática e a taxa respiratória, verificando igualmente o efeito dos revestimentos como barreira ao oxigénio.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, A., *et al*, 2010, *Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (Carica papaya L.) fruit during cold storage*, Food Chemistry, 124: 620–626.
- Alishahi, A., *et al*, 2011, *Enhancement and Characterization of Chitosan Extraction from the Wastes of Shrimp Packaging Plants*, Journal of Polymers and The Environment, 19: 776–783.
- Araújo J., 1999, *Química de Alimentos: Teoria e prática*, 2ª edição: 14.
- Assis, O., *et al*, 2010, *Evaluation of the antifungal properties of chitosan coating on cut apples using a non-invasive image analysis technique*, Wiley Online Library, 60: 932–936.
- Assis O., Leoni A., 2003, *Filmes comestíveis de quitosano: Ação biofúngica sobre frutos fatiados*, Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento, 30: 33 – 38.
- Baldwin, E., *et al*, 1996, *Improving storage life of cut apple and potato with edible coating*, Postharvest Biology and Technology, 9: 151–163.
- Bourbon, A., *et al*, 2011, *Physico-chemical characterization of chitosan – based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight*, Journal of Food Engineering, 106: 111-118.
- Bradford, M., 1996, *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*, Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
- Campaniello, D., *et al*, 2008, *Chitosan: Antimicrobial activity and potential applications for preserving minimally processed strawberries*, Food microbiology, 25: 992-1000.
- Campos, C., Gerschenson, L., 2011, *Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity*, Food Bioprocess Technol, 4: 849-875.
- Campos, M., 2010, Licenciatura em Engenharia Alimentar, Aulas teóricas de *Tecnologia de Produtos Hortofrutícolas*, Refrigeração, 22.
- Campotec, Fluxograma IV Gama, Fluxograma geral de processamento, IV Gama, Frutos minimamente processados.
- Campotec, 2009, Ficha técnica de saco PA/PE 300X300-80, Tecnoembal, Sociedade Técnica de Embalagens, Lda, Campotec.
- Campotec, 2011, *4ª gama*, <http://www.campotec.pt>, acessado a: 19/09/2011.
- Carmen, A., *et al*, 2011, Review Paper, *Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity*, Food Bioprocess Technol, 4: 849–875.

Chamorro, S., *et al*, 2011, *Critical Reviews, Antimicrobial Edible Films and Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables*, Food Science and Nutrition, 51: 872-900.

Chauhan, O., *et al*, 2011, *Shellac and aloe-gel-based surface coatings for maintaining keeping quality of apple slices*, Food Chemistry, 126: 961–966.

Chen, R., e Hwa, H., 1996, *Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical and permeability properties of prepared membrane*, Carbohydrate Polymers, 29: 353–358.

Chien, P., *et al*, 2005, *Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit*, Journal of Food Engineering, 78; 225-229.

Codimaco, 2011, *Maçã de Alcobaça*, <http://www.codimaco.pt>, acessado a 19/09/2011.

Córdova, K., 2006, *Desidratação Osmótica e Secagem Convectiva de Maçã Fuji Comercial e Industrial*, Dissertação de Mestrado em Tecnologia dos Alimentos, <http://dspace.c3sl.ufpr.br>, acessado a: 21/09/2011.

Costa, F., *et al*, 2011, *Assessment of apple (*Malus domestica* Borkh.) fruit texture by a combined acoustic mechanical profiling strategy*, Postharvest Biology and Technology, 61: 21–28.

Del Valle, J., *et al*, 1998, *Effects of blanching and calcium infiltration on PPO activity, texture, microstructure and kinetics of osmotic dehydration of apple tissue*, Food Research International, 31: 557-569.

Dias, J., 2006, *Importância da actividade da água nos alimentos*, Hipersuper, disponível em: <http://www.hipersuper.pt>, acessado a: 6/01/2012.

Dong, H., *et al*, 2004, *Effect of chitosan coating on quality and shelf life of peeled litchi fruit*, Journal of Food Engineering, 64: 355–358.

Durango, A., *et al*, 2006, *Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots*, Food Control, 17: 336–341.

Dutta, P., *et al*, 2009, *Perspectives for chitosanbased antimicrobial films in food applications*, Food Chemistry, 114: 1173-1182.

Embuscado, E., Huber, C., 2009, *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Springer Science, 1: 1.

Empís, J., Martins, M., 2000, *Produtos Hortofrutícolas Frescos ou Minimamente Processados, Refrigeração*, Sociedade Portuguesa de Inovação, 107.

Fan, Y., 2009, *Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (*Fragaria xananassa*) preservation quality*, Postharvest Biology and Technology, 53: 84–90.

Fernandes, A., 2007, *Maçã de Alcobaça FQC: monografia: potencial nutricional e sócio-económico em Portugal*, Repositório Aberto, Universidade do Porto, <http://repositorio-aberto.up.pt>, acessado a: 21/09/2011.

Ferreira, C., *et al*, 2009, *Characterization of chitosan – whey protein film at acid ph*, *Food Research International*, 42: 807-813.

Ferreres, F., *et al*, 1997, *Phenolic metabolites in red pigmented lettuce (letuca sativa) - changes with minimal processing and cold storage*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 4249-4254.

Gabinete de Planeamento e Políticas, 2007, *Maçã*, Ministério da Agricultura, do desenvolvimento Rural e das Pescas.

Geraldine, R., *et al*, 2008, *Characterization and effect of edible coatings on minimally processed garlic quality*, *Carbohydrate Polymers*, 72: 403–409.

Gonçalves, A., 2007, *Efeito da Aplicação de Revestimentos Comestíveis Enriquecidos em Antioxidantes na Conservação de Frutos Minimamente Processados*, Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Controlo de Qualidade e Toxicologia dos Alimentos, Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia.

González, L., *et al*, 2011, *Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes*, *Postharvest Biology and Technology*, 60: 57–63.

Gordon, W., 2005, *New Food Product Development: from concept to marketplace*, CRC.

Graü, M., *et al*, 2007, *Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples*, *Postharvest Biology and Technology*, 45: 254–264.

Ilyina, A., *et al*, 2000, *Enzymic preparation of acid-free-water-soluble chitosan*, *Process Biochemistry*, 35: 563–568.

INSA, 2011, Instituto Nacional de Saúde Ricardo Jorge, *Maçã com casca*, <http://www.insa.pt>, acessado a: 21/09/2011.

ISO 4833, 2003, *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganism – Colony-count technique at 30 degrees C*. International Organization for Standardization. Suíça. 9.

ISO 6887-4, 2003, *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products*, International Organization for Standardization. Suíça. 13.

Jason, A., Robert L., 2011, *A Review of the Past and Future Trends, Biomaterials for Tissue Engineering Applications*, Springer Wien, 230–231.

Khan, T., et al, 2000, *Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing*, J Pharm Pharm Science, 3: 303-311.

Kong, X., 2012, *Simultaneous determination of degree of deacetylation, degree of substitution and distribution fraction of –COONa in carboxymethyl chitosan by potentiometric titration*, Carbohydrate Polymers, 88: 336-341.

Leandro, S., 2010, GIRM, ChitinOcean – *Identificação de Crustáceos Marinhos como Potenciais Fontes de Quitina*, Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar.

Li, P., Barth, M., 1998, *Impact of edible coatings on nutritional and physiological changes in lightly processed carrots*, Postharvest Biology and Technology, 14: 51-60.

Lou, M., et al, 2011, *Antibacterial activity and mechanism of action of chitosan solutions against apricot fruit rot pathogen Burkholderia seminalis*, Carbohydrate Research, 346: 1294-1301.

Lozano, J., e Ibaraz, A., 1997, *Colour changes in Concentrated Fruit Pulp during Heating at High Temperatures*, Journal of Food Engineering, 31: 365–373.

Maqbool, M., et al, 2011, *Effect of a Novel Edible Composite Coating Based on Gum Arabic and Chitosan on Biochemical and Physiological Responses of Banana Fruits during Cold Storage*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59: 5474–5482.

Massilia, R., et al, 2008, *Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon*, International Journal of Food Microbiology, 121: 313-327.

NP 1986: 1992, Determinação do teor de proteína bruta. Técnica de Kjeldahl, 2.

NP 2307, 1987, Microbiologia Alimentar: regras gerais para a contagem de microrganismos psicrotróficos. Método de referência, Lisboa: IPQ.

Park, J., 1999, *Development of advanced edible coatings for fruits*, Trends in Food Science and Technology, 10: 254-260.

Paula, N., 2009, *Qualidade de produtos minimamente processados e comercializados em gôndolas de supermercados nas cidades de Lavras - MG*, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciênc. agrotec. [online], 33: 219-227.

Percot, A., et al, 2003, *Optimization of Chitin Extraction from Shrimp Shells*, Biomacromolecules, 4: 12-18.

Piagentini, A., et al, 2002, *Sensory characteristics of fresh-cut spinach preserved by combined factors methodology*, Journal of Food Science, 67: 1544-1549.

Pinho, M., 2011, *Aplicação de biofilmes de quitosano e de atmosfera modificada na conservação de pêra Rocha de 4ª Gama*, Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar na área de especialização de Qualidade Alimentar. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 77.

Pinto, A., 2008, *Optimização das condições de extracção de quitina em crustáceos marinhos*, Projeto para obtenção do grau de Licenciatura, Escola Superior de Tecnologia do Mar de Peniche, Instituto Politécnico de Leiria, 65.

Pinto, L., 2005, *Síntese e Estudo de Derivados do Quitosano com Potencial Interesse Biológico e Ambiental*, Departamento de Química, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 7-9.

Qi, H., et al, 2011, *Extending shelf-life of Fresh-cut 'Fuji' apples with chitosan-coatings*, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 12: 62–66.

Saltveit, M., 2000, *Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock*, Postharvest Biology and Technology, 21: 61-69.

Santos, C., 2006, *Propriedades de filmes de quitosano: influência do grau de acetilação e da massa molecular do biopolímero*, Sinbad.ua.pt, Universidade de Aveiro, teses, <http://biblioteca.sinbad.ua.pt>, consultado a: 06/06/2011.

Santos, M., et al, 2005, *Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração*. Centro de Segurança Alimentar e Nutrição – CSAN. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge – INSA; Lisboa.

Shahidi, F., et al, 1999, *Food applications of chitin and chitosans*, Review, Trends in Food Science & Technology, 10: 37-51.

Skurtys, O., et al, 2011, *Wetting behavior of chitosan solutions on blueberry epicarp with or without epicuticular waxes*, Food Science and Technology, 44: 1449-1457.

Tapia, M., et al, 2007, *Alginate and Gellan – Based Edible Films for Probiotic Coatings on Fres-Cut Fruits*, Journal of Food Science, 72: 190-196.

Tolaimate, A., et al, 2000, *On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin*, Polymer, 41: 2463-2469.

Vasconcelos, E., 2005, *Produtos minimamente processados*, Universidade do Porto, Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Dissertações.

Vu, K., et al, 2011, *Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries*, Food Research International, 44: 198–203.

Waimaleongora, P., et al, 2008, *Selected Quality Characteristics of Fresh-Cut Sweet Potatoes Coated with Chitosan during 17-Day Refrigerated Storage*, Journal of food science, 73: 418-423.

Weska, R., et al, 2007, *Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology*, Journal of Food Engineering, 80: 749–753.

Xiao, Z., et al, 2011, *Combined effects of sodium chlorite dip treatment and chitosan coatings on the quality of fresh-cut d'Anjou pears*, Postharvest Biology and Technology, 62: 319-326.

Zdunek, A., *et al*, 2011, *Evaluation of apple texture with contact acoustic emission detector: A study on performance of calibration models*, *Journal of Food Engineering*, 106: 80–87.

Zeuthen, P., *et al*, 2007, *Food Preservation Techniques*, *Food Science and Technology*, Woodhead Publishing Limited, 1: 90–92.

7. ANEXOS

Anexo 1 – Tabelas com características nutricionais da maçã

Distribuição energética:

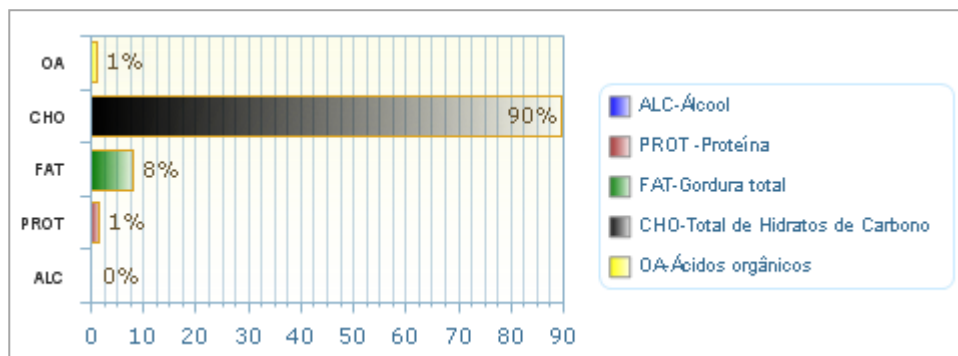


Figura 7.1 – Distribuição energética (%) da maçã (INSA, 2011).

Energia:

Tabela 7.1 – Energia da maçã (INSA, 2011).

Componentes	Por 100 g de parte edível	Por porção recomendada
Energia, Kcal	57	91
Energia, KJ	238	381

Macronutrientes:

Tabela 7.2 – Macronutrientes da maçã (INSA, 2011).

Componentes	Por 100 g de parte edível	Por porção recomendada
Água, g	82,9	132,6
Proteína, g	0,2	0,3
Gordura total, g	0,5	0,8
Total de Hidratos de Carbono disponíveis, g	13,4	21,4
Total de Hidratos de Carbono expresso em monossacáridos, g	13,6	21,8
Mono + dissacáridos, g	13,4	21,4
Ácidos orgânicos, g	0,20	0,32
Álcool, g	0	0
Amido, g	0	0

Oligossacáridos, g	0	0
Fibra alimentar, g	2,1	3,4

Ácidos gordos:

Tabela 7.3 – Ácidos gordos da maçã (INSA, 2011).

Componentes	Por 100 g de parte edível	Por porção recomendada
Ácidos gordos saturados, g	0,1	0,2
Ácidos gordos monoinsaturados, g	0	0
Ácidos gordos polinsaturados, g	0,2	0,3
Ácidos gordos trans, g	0	0
Ácido linoleico, g	0,1	0,2

Colesterol:

Tabela 7.4 – Colesterol da maçã (INSA, 2011).

Componentes	Por 100 g de parte edível	Por porção recomendada
Colesterol, mg	0	0

Vitaminas:

Tabela 7.5 – Vitaminas da maçã (INSA, 2011).

Componentes	Por 100 g de parte edível	Por porção recomendada
Vitamina A total (equivalentes de retinol), µg	4,0	6,4
Caroteno, mg	26	42
Vitamina D, µg	0	0
a-tocoferol, mg	0,59	0,94
Tiamina, mg	0,020	0,032
Riboflavina, mg	0,030	0,048
Equivalentes de niacina, mg	0,20	0,32
Niacina, mg	0,10	0,16
Triptofano/60, mg	0,10	0,16
Vitamina B6, mg	0,040	0,064
Vitamina B12, µg	0	0

Vitamina C, mg	7,0	11,2
Folatos, µg	5,0	8

Minerais:

Tabela 7.6 – Minerais da maçã (INSA, 2011).

Componentes	Por 100 g de parte edível	Por porção recomendada
Cinza, g	0,32	0,51
Sódio (Na), mg	6,0	9,6
Potássio (K), mg	139	222
Cálcio (Ca), mg	6,0	9,6
Fósforo (P), mg	8,0	12,8
Magnésio (Mg), mg	8,0	12,8
Ferro (Fe), mg	0,2	0,3
Zinco (Zn), mg	0	0

Anexo 2 - Preparação e aplicação dos revestimentos

Para o estudo efetuado, foram necessárias cerca de 240 fatias de maçã Fuji (um dos tipos cultivados pela APM Alcobaça) por cada dia de análise (avaliação do efeito da aplicação dos revestimentos alimentares), e estas foram feitas em 5 dias (uma vez que foram realizadas de 3 em 3 dias), assim foram necessárias:

240 fatias x 5 dias de análise = 1200 fatias de maçã no total. Como cada maçã contém cerca de 16 fatias, foram necessárias 1200 fatias / 16 fatias = 75 maçãs.

Para envolver cada fatia de maçã, foram estipulados cerca de 4ml de solução. Este valor é superior ao realmente necessário, no entanto, já que as fatias de maçã foram imersas, foi necessário um volume superior.

Assim, foi necessário um volume de:

$$4\text{ml} \times 1200 \text{ fatias} = 4800\text{ml de solução} \approx 5\text{L de solução no total}$$

As soluções a testar são 5, daí a ser necessário 1L de cada solução de revestimento.

Controlo 1

Foram necessárias 48 fatias por dia, para aplicação deste controlo. Desta forma:

$$48 \text{ fatias} \times 5 \text{ dias} = 240 \text{ fatias nos 5 dias}$$

$$4 \text{ ml} \times 240 \text{ fatias} = 960 \text{ ml} \approx 1000 \text{ ml de solução de controlo 1}$$

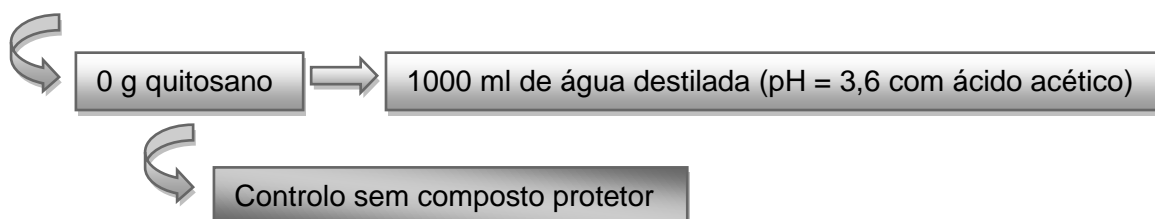


Figura 7.2 – Esquema de soluções a adicionar para formular o revestimento controlo 1 e respetivo efeito a testar na maçã minimamente processada.

Controlo 2

Foram necessárias 48 fatias por dia, para aplicação deste controlo. Desta forma:

$$48 \text{ fatias} \times 5 \text{ dias} = 240 \text{ fatias nos 5 dias}$$

$$4 \text{ ml} \times 240 \text{ fatias} = 960 \text{ ml} \approx 1000 \text{ ml de solução de controlo 2}$$

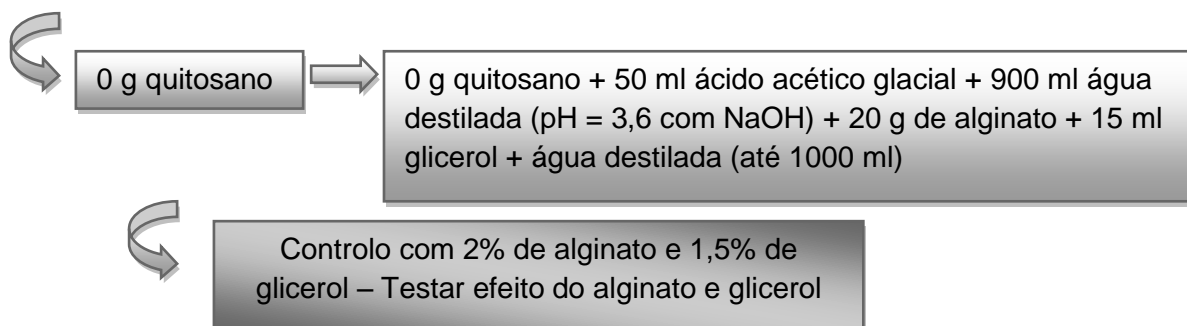


Figura 7.3 – Esquema de soluções a adicionar para formular o revestimento controlo 2 e respetivo efeito a testar na maçã minimamente processada.

Foram necessárias 48 fatias por dia, para aplicação deste controlo. Desta forma:

$$48 \text{ fatias} \times 5 \text{ dias} = 240 \text{ fatias nos 5 dias}$$

$$4 \text{ ml} \times 240 \text{ fatias} = 960 \text{ ml} \approx 1000 \text{ ml de solução de controlo 3}$$

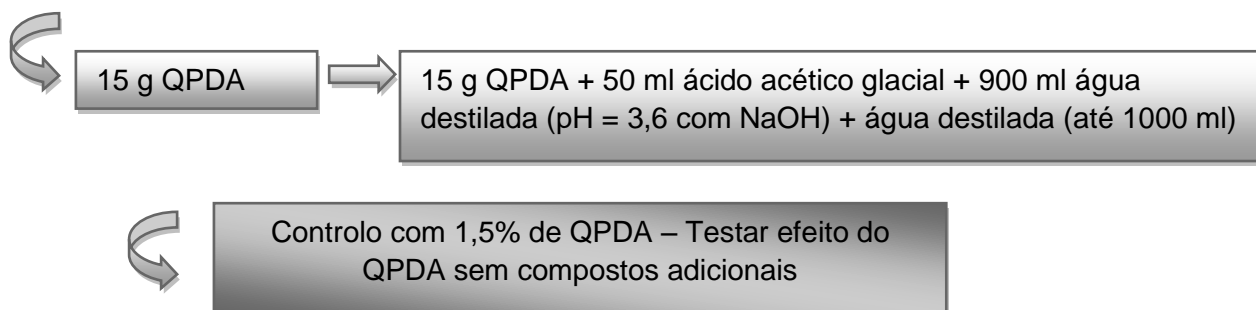


Figura 7.4 – Esquema de soluções a adicionar para formular o revestimento controlo 3 e respetivo efeito a testar na maçã minimamente processada.

Foram necessárias 48 fatias por dia, para aplicação desta solução. Desta forma:

$$48 \text{ fatias} \times 5 \text{ dias} = 240 \text{ fatias nos 5 dias}$$

$$4 \text{ ml} \times 240 \text{ fatias} = 960 \text{ ml} \approx 1000 \text{ ml de solução com 1,5\% de QPDA}$$

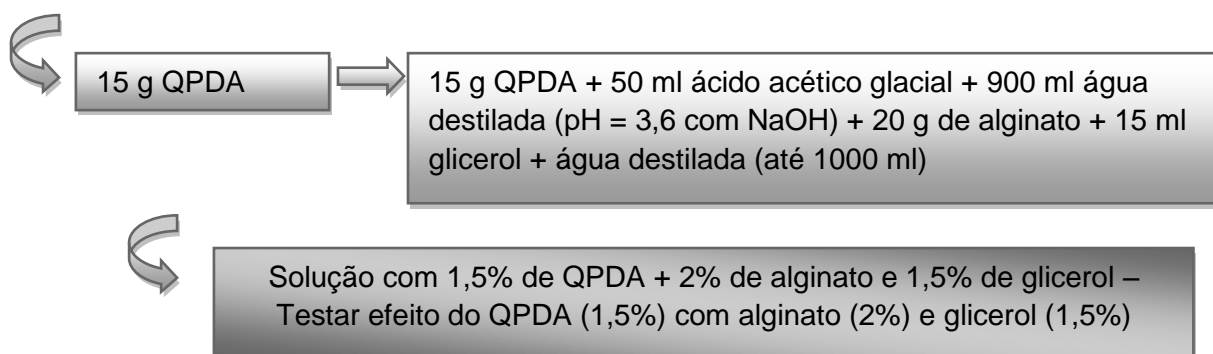


Figura 7.5 – Esquema de soluções a adicionar para formular o revestimento com 1,5% de QPDA e respetivo efeito a testar na maçã minimamente processada.

Revestimento com 3% QPDA

Foram necessárias 48 fatias por dia, para aplicação desta solução. Desta forma:

$$48 \text{ fatias} \times 5 \text{ dias} = 240 \text{ fatias nos 5 dias}$$

4 ml x 240 fatias = 960 ml \approx 1000 ml de solução com 3% de QPDA

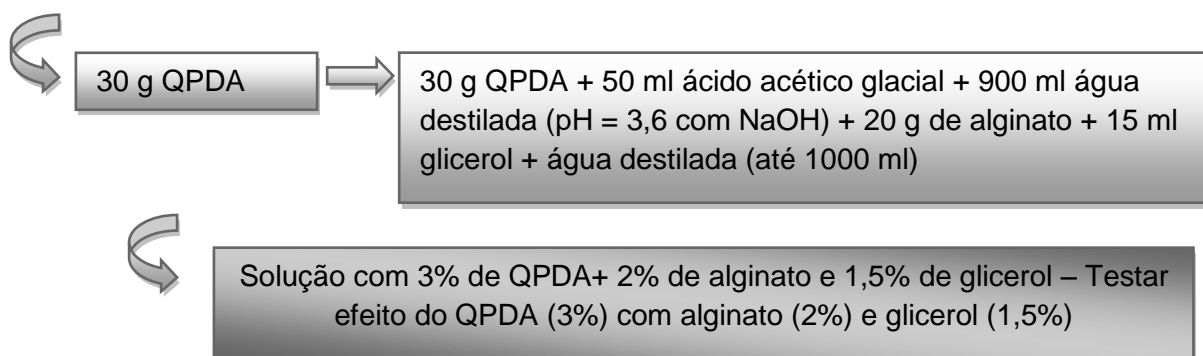


Figura 7.6 – Esquema de soluções a adicionar para formular o revestimento com 3% de QPDA e respetivo efeito a testar na maçã minimamente processada.

Anexo 3 – Modelo de folha de prova da análise sensorial

	Âmbito: Dissertação de Mestrado em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar
	Tema: Aplicação de revestimentos comestíveis à base de quitina desacetilada extraída de subprodutos da indústria de pescado em maçã Fuji de IV gama
	Aluna: Ana Santana
	Ano letivo: 2011/2012

FOLHA DE PROVA

Nome: _____

Data ___/___/___

Prova Sensorial

Produto: Maçã fatiada

Por favor, analise a amostra fornecida e avalie para cada uma delas a intensidade percebida para cada atributo, selecionando com um círculo a magnitude que lhe pareça a mais indicada, nas escalas correspondentes. A cor, a granulidade, a consistência e o brilho, avalie através da visão. A granulidade e a consistência avalie também através do tato. O odor avalie através do olfato. Pedimos que siga a ordem apresentada na folha de prova e que não reavalie as amostras.

Amostra 428:

Descritores	Avaliação Sensorial				
	Desagradável		Aceitável		Agradável
Cor	1	2	3	4	5
Granulidade	1	2	3	4	5
Consistência	1	2	3	4	5
Brilho	1	2	3	4	5
Odor	1	2	3	4	5

Amostra 883:

Descritores	Avaliação Sensorial				
	Desagradável		Aceitável		Agradável
Cor	1	2	3	4	5
Granulidade	1	2	3	4	5
Consistência	1	2	3	4	5
Brilho	1	2	3	4	5
Odor	1	2	3	4	5

Amostra 214:					
Descritores	Avaliação Sensorial				
	Desagradável		Aceitável		Agradável
Cor	1	2	3	4	5
Granulosidade	1	2	3	4	5
Consistência	1	2	3	4	5
Brilho	1	2	3	4	5
Odor	1	2	3	4	5

Amostra 585:					
Descritores	Avaliação Sensorial				
	Desagradável		Aceitável		Agradável
Cor	1	2	3	4	5
Granulosidade	1	2	3	4	5
Consistência	1	2	3	4	5
Brilho	1	2	3	4	5
Odor	1	2	3	4	5

Amostra 162:					
Descritores	Avaliação Sensorial				
	Desagradável		Aceitável		Agradável
Cor	1	2	3	4	5
Granulosidade	1	2	3	4	5
Consistência	1	2	3	4	5
Brilho	1	2	3	4	5
Odor	1	2	3	4	5

De uma forma geral, indique a amostra que mais o agradou:

Amostra que mais o agradou	Avaliação Sensorial

Observações:

NOTA: Após terminar a prova certifique-se que deixa o local de prova limpo. Acenda a luz de presença para sinalizar que terminou a sua prova. **Obrigada!**

Anexo 4 – Codificação das amostras analisadas sensorialmente

Tabela 7.7 - Codificação das amostras analisadas sensorialmente, correspondente às amostras revestidas com as soluções de QPDA e correspondentes controlos.

	Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 10	Dia 12
Controlo 1	883	324	133	445	297
	743	129	592	335	417
Controlo 2	214	971	418	532	842
	618	943	134	421	825
Controlo 3	585	174	229	891	312
	141	248	821	530	260
1,5% QPDA	428	341	225	732	616
	223	822	142	485	391
3% QPDA	162	421	594	735	639
	624	347	916	413	136

Tabela 7.8 - Codificação das amostras analisadas sensorialmente, correspondente às amostras revestidas com as soluções de CM e correspondente controlo.

	Dia 1	Dia 3	Dia 5
Controlo	332	208	624
	521	934	801
QC	416	213	425
	698	468	797
QC + antioxidante	826	156	690
	724	583	174

Anexo 5 – Curva de calibração e cálculos da quantificação proteica – Método de Bradford

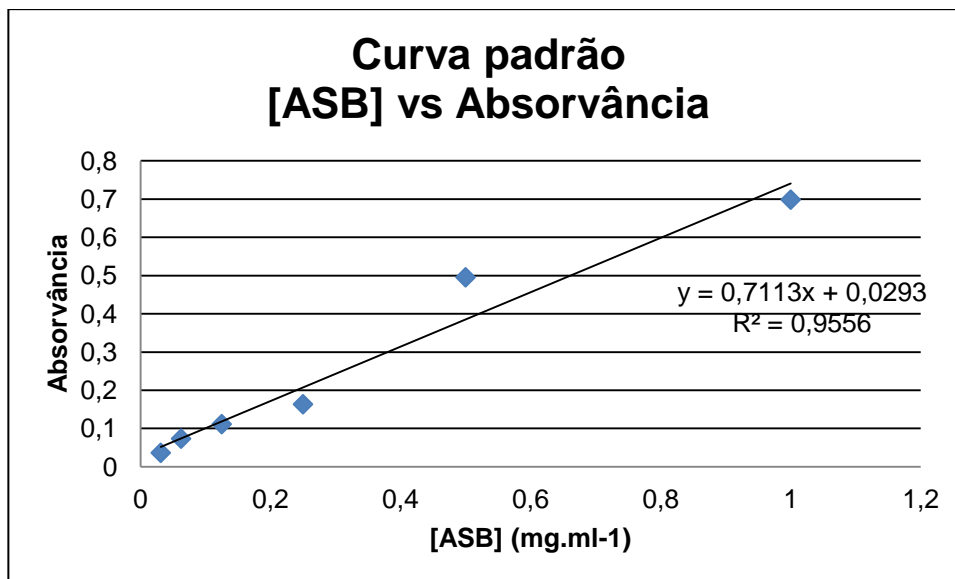


Figura 7.7 – Curva de calibração correspondente à concentração de ASB (mg.ml⁻¹) vs Absorvância e correspondentes reta de calibração e quociente de correlação (R²).

Tabela 7.9 - Absorvâncias das amostras, fator de diluição das amostras, e respetivos tempos de recolha.

Amostra	Tempo (minutos)	Fator diluição	Absorvância (595 nm)
0	0	10	0,0097
1	30	10	0,47
2	60	10	0,561
3	90	10	0,615
4	120	10	0,526
5	150	10	0,556
6	180	10	0,544
7	210	10	0,521
8	240	10	0,371
9	270	10	0,384

Equação da reta: $y = 0,7113x + 0,0293$

Então:

$$[\text{Proteína}] (\text{mg.ml}^{-1}) = (\text{Abs. } 595 \text{ nm} - 0,0293) / 0,7113$$

Tabela 7.10 - Tempos correspondentes à recolha de cada amostra e respetivas concentrações de proteína, fator de diluição das amostras e concentrações de proteína corrigidas, tendo em conta o fator de diluição das amostras.

Amostra	Tempo (minutos)	[Proteína] (mg.ml-1)	Fator de diluição	[Proteína] (mg.ml-1) corrigida
0	0	0,0548	10	0,548
1	30	0,6196	10	6,196
2	60	0,7475	10	7,475
3	90	0,8234	10	8,234
4	120	0,6983	10	6,983
5	150	0,7405	10	7,405
6	180	0,7236	10	7,236
7	210	0,6913	10	6,913
8	240	0,4804	10	4,804
9	270	0,4987	10	4,987

Anexo 6 – Tabelas do grau de desacetilação do QC e do QPDA

Tabela 7.11 - Concentrações de NaOH, V, V₀, massas de amostras e grau de desacetilação do QC.

QC	R1	Grau de desacetilação (%)	R2	Grau de desacetilação (%)	R3	Grau de desacetilação (%)
C (mol/L)	0,10	85,77	0,10	85,46	0,10	67,82
V (ml)	20,80		20,00		21,20	
V ₀ (ml)	37,30		27,30		27,30	
m (g)	129,30		145,40		153,10	
Média (grau de desacetilação - %)	79,68					

Tabela 7.12 - Concentrações de NaOH, V, V₀, massas de amostras e grau de desacetilação da QPDA.

QPDA	R1	Grau de desacetilação (%)	R2	Grau de desacetilação (%)
C (mol/L)	0,10	25,16	0,10	22,20
V (ml)	36,80		37,00	
V ₀ (ml)	38,50		38,50	
m (g)	115,00		115,00	
Média (grau de desacetilação - %)	23,68			

Anexo 7 – Tabelas relativas à análise estatística (ANOVA simples - sig<0,05)

Amostras revestidas com QPDA e controlos (Análise estatística):

- 1 – Amostra revestida com o controlo 1
- 2 – Amostra revestida com o controlo 2
- 3 – Amostra revestida com o controlo 3
- 15 – Amostra revestida com a solução 1,5% de QPDA
- 30 – Amostra revestida com a solução 3% de QPDA

Amostras revestidas com QC e controlo (Análise estatística):

- 1 – Amostra revestida com o controlo
- 2 – Amostra revestida com a solução de QC
- 3 – Amostra revestida com a solução de QC + antioxidante

7.1 Amostras com QPDA e controlos

7.1.1 Avaliação da firmeza e atributo crocante

Tabela 7.13 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito da firmeza na amostra, dia-a-dia.

ANOVA

Área

Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1.00	Between Groups	3394920.400	4	848730.100	1.607	.247
	Within Groups	5280870.000	10	528087.000		
	Total	8675790.400	14			
4.00	Between Groups	3663648.400	4	915912.100	1.223	.361
	Within Groups	7490990.000	10	749099.000		
	Total	11154638.400	14			
7.00	Between Groups	2044367.067	4	511091.767	2.298	.130
	Within Groups	2224414.667	10	222441.467		
	Total	4268781.733	14			

	Between Groups	1969541.067	4	492385.267	2.756	.088
10.00	Within Groups	1786783.333	10	178678.333		
	Total	3756324.400	14			
	Between Groups	3021287.067	4	755321.767	1.476	.281
13.00	Within Groups	5116180.667	10	511618.067		
	Total	8137467.733	14			

Tabela 7.14 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito da firmeza na amostra, dia-a-dia.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Area
Tukey HSD

Dia	(i) Amostra	(j) Amostra	Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1.00	1.00	2.00	245.00000	593.34476	.993	-1707.7463	2197.7463
		3.00	-822.33333	593.34476	.649	-2775.0797	1130.4130
		15.00	352.00000	593.34476	.973	-1600.7463	2304.7463
		30.00	-652.33333	593.34476	.803	-2605.0797	1300.4130
	2.00	1.00	-245.00000	593.34476	.993	-2197.7463	1707.7463
		3.00	-1174.3333	593.34476	.341	-3127.0797	778.4130
		15.00	107.00000	593.34476	1.000	-1845.7463	2059.7463
		30.00	-897.33333	593.34476	.578	-2850.0797	1055.4130
	3.00	1.00	822.33333	593.34476	.649	-1130.4130	2775.0797
		2.00	1067.33333	593.34476	.424	-885.4130	3020.0797
		15.00	1174.33333	593.34476	.341	-778.4130	3127.0797
		30.00	-170.00000	593.34476	.998	-1782.7463	2122.7463
15.00	1.00	-352.00000	593.34476	.973	-2304.7463	1600.7463	
	2.00	-107.00000	593.34476	1.000	-2059.7463	1845.7463	
	3.00	-1174.3333	593.34476	.341	-3127.0797	778.4130	
	30.00	-1004.3333	593.34476	.479	-2957.0797	948.4130	
30.00	1.00	652.33333	593.34476	.803	-1300.4130	2605.0797	
	2.00	897.33333	593.34476	.578	-1055.4130	2850.0797	
	3.00	170.00000	593.34476	.998	-2122.7463	1782.7463	
	15.00	1004.33333	593.34476	.479	-948.4130	2957.0797	
4.00	1.00	2.00	-483.66667	706.68192	.955	-2809.4149	1842.0816
		3.00	-613.66667	706.68192	.902	-2937.4149	1712.0816
		15.00	-686.66667	706.68192	.862	-3012.4149	1639.0816
		30.00	635.00000	706.68192	.891	-1690.7482	2960.7482
	2.00	1.00	483.66667	706.68192	.955	-1842.0816	2809.4149
		3.00	-130.00000	706.68192	1.000	-2455.7482	2195.7482
		15.00	-203.00000	706.68192	.998	-2528.7482	2122.7482
		30.00	1118.66667	706.68192	.663	-1207.0816	3448.4149
	3.00	1.00	613.66667	706.68192	.902	-1712.0816	2939.4149
		2.00	130.00000	706.68192	1.000	-2195.7482	2455.7482
		15.00	-73.00000	706.68192	1.000	-2348.7482	1712.0816
		30.00	1248.66667	706.68192	.440	-1077.0816	3574.4149
15.00	1.00	686.66667	706.68192	.862	-1639.0816	3012.4149	
	2.00	203.00000	706.68192	.998	-2122.7482	278.7482	
	3.00	73.00000	706.68192	1.000	-2252.7482	2398.7482	
	30.00	1321.66667	706.68192	.390	-1004.0816	3647.4149	
30.00	1.00	-435.00000	706.68192	.891	-2960.7482	1690.7482	
	2.00	-1118.66667	706.68192	.538	-3444.4149	1207.0816	
	3.00	-1248.66667	706.68192	.440	-3574.4149	1077.0816	
	15.00	-1118.66667	706.68192	.538	-3444.4149	1207.0816	
7.00	1.00	2.00	-1009.3333	385.09000	.139	-2276.6962	258.0295
		3.00	-693.00000	385.09000	.424	-1960.3628	574.3628
		15.00	-209.66667	385.09000	.980	-1427.0295	1057.6962
		30.00	-734.00000	385.09000	.373	-2001.3628	543.6228
	2.00	1.00	1009.33333	385.09000	.139	-258.0295	2276.6962
		3.00	316.33333	385.09000	.918	-951.0295	1583.6962
		15.00	799.66667	385.09000	.300	-399.0295	2092.0295
		30.00	275.33333	385.09000	.948	-992.0295	1542.6962
	3.00	1.00	693.00000	385.09000	.424	-574.3628	1960.3628
		2.00	416.33333	385.09000	.918	-1058.6962	1477.0295
		15.00	483.33333	385.09000	.722	-784.0295	1750.6962
		30.00	-41.00000	385.09000	1.000	-1308.3628	1226.3628
15.00	1.00	-799.66667	385.09000	.300	-1057.6962	1477.0295	
	2.00	-799.66667	385.09000	.300	-2067.0295	467.6962	
	3.00	-483.33333	385.09000	.722	-1750.6962	784.0295	
	30.00	-524.33333	385.09000	.663	-1791.6962	743.0295	
30.00	1.00	734.00000	385.09000	.373	-533.3628	2001.3628	
	2.00	-275.33333	385.09000	.948	-1542.6962	992.0295	
	3.00	41.00000	385.09000	1.000	-1226.3628	1308.3628	
	15.00	524.33333	385.09000	.663	-743.0295	1791.6962	
10.00	1.00	2.00	960.33333	345.13604	.109	-175.5377	2096.2044
		3.00	239.33333	345.13604	.953	-896.5377	1375.2044
		15.00	239.33333	345.13604	.953	-896.5377	1375.2044
		30.00	-54.66667	345.13604	1.000	-1190.5377	1081.2044
	2.00	1.00	-960.33333	345.13604	.109	-2096.2044	175.5377
		3.00	-721.00000	345.13604	.295	-1856.8711	414.8711
		15.00	-721.00000	345.13604	.295	-1856.8711	414.8711
		30.00	-239.33333	345.13604	.953	-1375.2044	896.5377
	3.00	1.00	721.00000	345.13604	.295	-414.8711	1856.8711
		2.00	721.00000	345.13604	1.000	-1135.8711	1135.8711
		15.00	-294.00000	345.13604	.908	-1429.8711	841.8711
		30.00	-294.00000	345.13604	.908	-1429.8711	841.8711
15.00	1.00	-239.33333	345.13604	.953	-1375.2044	896.5377	
	2.00	721.00000	345.13604	.295	-414.8711	1856.8711	
	3.00	0.00000	345.13604	1.000	-1135.8711	1135.8711	
	30.00	-294.00000	345.13604	.908	-1429.8711	841.8711	
30.00	1.00	54.66667	345.13604	1.000	-1081.2044	1190.3377	
	2.00	1015.00000	345.13604	.086	-120.8711	2150.8711	
	3.00	294.00000	345.13604	.908	-841.8711	1429.8711	
	15.00	294.00000	345.13604	.908	-841.8711	1429.8711	
13.00	1.00	2.00	-1056.0000	584.01944	.420	-2978.0560	866.0560
		3.00	-178.33333	584.01944	.998	-2100.3893	1743.7226
		15.00	-307.00000	584.01944	.983	-2229.0560	1615.0560
		30.00	749.00000	584.01944	.707	-1173.0560	2671.0560
	2.00	1.00	1056.00000	584.01944	.420	-866.0560	2978.0560
		3.00	0.00000	584.01944	1.000	-1922.0560	1922.0560
		15.00	877.66667	584.01944	.583	-1044.3893	2799.7226
		30.00	749.00000	584.01944	.707	-1173.0560	2671.0560
	3.00	1.00	1056.00000	584.01944	.420	-866.0560	2978.0560
		2.00	0.00000	584.01944	1.000	-1922.0560	1922.0560
		15.00	877.66667	584.01944	.583	-1044.3893	2799.7226
		30.00	749.00000	584.01944	.707	-1173.0560	2671.0560
15.00	1.00	178.33333	584.01944	.998	-1743.7226	2100.3893	
	2.00	-877.66667	584.01944	.583	-2799.7226	1044.3893	
	3.00	-877.66667	584.01944	.583	-2799.7226	1044.3893	
	30.00	-128.66667	584.01944	.999	-2050.7226	1793.3893	
30.00	1.00	307.00000	584.01944	.983	-1615.0560	2229.0560	
	2.00	-749.00000	584.01944	.707	-2671.0560	1173.0560	
	3.00	-749.00000	584.01944	.707	-2671.0560	1173.0560	
	15.00	128.66667	584.01944	.999	-1793.3893	2050.7226	

Tabela 7.15 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito da firmeza em cada dia, amostra a amostra.

Área		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1.00	Between Groups	6963731.60	4	1740932.90	4.519	.024
	Within Groups	3852578.00	10	385257.800		
	Total	10816309.6	14			
2.00	Between Groups	7898273.73	4	1974568.43	7.037	.006
	Within Groups	2805998.00	10	280599.800		
	Total	10704271.7	14			
3.00	Between Groups	5062223.73	4	1265555.93	4.381	.026
	Within Groups	2888498.00	10	288849.800		
	Total	7950721.73	14			
15.00	Between Groups	10731391.6	4	2682847.90	5.030	.018
	Within Groups	5333897.33	10	533389.733		
	Total	16065288.9	14			
30.00	Between Groups	4188924.67	4	1047231.17	1.492	.276
	Within Groups	7018267.33	10	701826.733		
	Total	11207192.0	14			

Tabela 7.16 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito da firmeza em cada dia, amostra a amostra.

Dependent Variable: Area
Tukey HSD

Multiple Comparisons

Amostra	(i) Dia	(j) Dia	Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
1.00	4.00	1.00	-878.33333	506.79240	.458	-256.2287	789.5621	
		7.00	332.00000	506.79240	.962	-1335.8954	1999.8954	
		10.00	-291.00000	506.79240	.976	-1958.8954	1376.8954	
	7.00	1.00	878.33333	506.79240	.458	-789.5621	2546.2287	
		4.00	1210.33333	506.79240	.196	-457.5621	2878.2287	
		10.00	587.33333	506.79240	.773	-1080.5621	2255.2287	
	10.00	1.00	2052.00000	506.79240	.016	384.1046	3719.8954	
		4.00	-332.00000	506.79240	.962	-1999.8954	1335.8954	
		7.00	-1210.33333	506.79240	.196	-2878.2287	477.5621	
	2.00	4.00	1.00	-623.00000	506.79240	.736	-2290.8954	1044.8954
			7.00	841.66667	506.79240	.496	-826.2287	2509.5621
			10.00	291.00000	506.79240	.976	-1376.8954	1958.8954
7.00		1.00	623.00000	506.79240	.736	-1044.8954	2290.8954	
		4.00	1464.66667	506.79240	.093	-203.2287	3132.5621	
		10.00	-1173.66667	506.79240	.217	-2841.5621	494.2287	
10.00		1.00	-2052.00000	506.79240	.016	-3719.8954	-384.1046	
		4.00	-841.66667	506.79240	.496	-2509.5621	826.2287	
		7.00	-464.66667	506.79240	.993	-3132.5621	203.2287	
3.00		4.00	1.00	-1607.00000	432.51189	.026	-3030.4322	-183.5678
			7.00	-922.33333	432.51189	.279	-2345.7655	501.0988
			10.00	424.33333	432.51189	.858	-999.0988	1847.7655
	7.00	1.00	1607.00000	432.51189	.026	183.5678	3030.4322	
		4.00	684.66667	432.51189	.338	-738.7655	2108.0988	
		10.00	2031.33333	432.51189	.006	607.9012	3454.7655	
	10.00	1.00	1479.66667	432.51189	.041	56.2345	2903.0988	
		4.00	922.33333	432.51189	.279	-501.0988	2345.7655	
		7.00	-684.66667	432.51189	.538	-2108.0988	738.7655	
	13.00	1.00	1346.66667	432.51189	.066	-76.7655	2770.0988	
		4.00	795.00000	432.51189	.405	-628.4322	2218.4322	
		7.00	-424.33333	432.51189	.858	-1847.7655	999.0988	
4.00	4.00	1.00	-2031.33333	432.51189	.006	-3454.7655	-607.9012	
		7.00	-1346.66667	432.51189	.066	-2770.0988	76.7655	
		10.00	551.66667	432.51189	.711	-1975.0988	871.7655	
	7.00	1.00	127.33333	432.51189	.998	-1296.0988	1550.7655	
		4.00	-1479.66667	432.51189	.041	-2903.0988	-56.2345	
		10.00	-795.00000	432.51189	.405	-2218.4322	428.4322	
	5.00	4.00	1.00	551.66667	432.51189	.711	-871.7655	1975.0988
			7.00	-669.66667	438.82403	.570	-2113.8726	774.5393
			10.00	461.33333	438.82403	.826	-498.8726	1905.5393
		7.00	1.00	770.66667	438.82403	.446	-673.5393	2214.8726
			4.00	940.00000	438.82403	.275	-504.2059	2384.2059
			10.00	669.66667	438.82403	.570	-774.5393	2113.8726
10.00		1.00	1440.33333	438.82403	.051	-3.8726	2884.5393	
		4.00	1609.66667	438.82403	.028	16.4607	3053.8726	
		7.00	-461.33333	438.82403	.826	-1905.5393	982.8726	
13.00		1.00	-1131.00000	438.82403	.149	-2575.2059	313.2059	
		4.00	309.33333	438.82403	.951	-1134.8726	1753.5393	
		7.00	-478.66667	438.82403	.807	-1922.8726	965.5393	
6.00	4.00	1.00	-940.00000	438.82403	.275	-2384.2059	504.2059	
		7.00	-1609.66667	438.82403	.028	-3053.8726	-165.4607	
		10.00	-478.66667	438.82403	.807	-1922.8726	965.5393	
	7.00	1.00	-169.33333	438.82403	.995	-1613.5393	1274.8726	
		4.00	-1917.00000	596.31632	.056	-3879.5260	45.5260	
		10.00	-403.66667	596.31632	.957	-2366.1927	1558.8593	
	10.00	1.00	643.33333	596.31632	.813	-1319.1927	2605.8593	
		4.00	1917.00000	596.31632	.056	-45.5260	3879.5260	
		7.00	1687.33333	596.31632	.102	-275.1927	3649.8593	
	13.00	1.00	1513.33333	596.31632	.157	-449.1927	3475.8593	
		4.00	2560.33333	596.31632	.011	597.8073	452.8593	
		7.00	-229.66667	596.31632	.995	-1732.8593	2192.1927	
7.00	4.00	1.00	-1687.33333	596.31632	.102	-3649.8593	275.1927	
		7.00	-174.00000	596.31632	.998	-2136.5260	1788.5260	
		10.00	873.00000	596.31632	.605	-1089.5260	2835.5260	
	7.00	1.00	403.66667	596.31632	.957	-1558.8593	2366.1927	
		4.00	-1513.33333	596.31632	.157	-3475.8593	449.1927	
		10.00	174.00000	596.31632	.998	-1788.5260	2136.5260	
	10.00	1.00	1047.00000	596.31632	.446	-915.5260	3009.5260	
		4.00	-643.33333	596.31632	.813	-2605.8593	1319.1927	
		7.00	-2560.33333	596.31632	.011	-4522.8593	-597.8073	
	8.00	4.00	1.00	-873.00000	596.31632	.605	-2835.5260	1089.5260
			7.00	-409.00000	684.02082	.972	-1842.1687	2660.1687
			10.00	250.33333	684.02082	.996	-2000.8354	2501.5021
7.00		1.00	306.66667	684.02082	.990	-1944.5021	2557.8354	
		4.00	1519.00000	684.02082	.247	-732.1687	3770.1687	
		10.00	-409.00000	684.02082	.972	-2660.1687	1842.1687	
10.00		1.00	-158.66667	684.02082	.999	-2409.8354	2092.5021	
		4.00	-102.33333	684.02082	1.000	-2358.5021	2148.8354	
		7.00	1110.00000	684.02082	.516	-1141.1687	3361.1687	
13.00		1.00	-250.33333	684.02082	.996	-2501.5021	2000.8354	
		4.00	158.66667	684.02082	.999	-2092.5021	2409.8354	
		7.00	56.33333	684.02082	1.000	-2194.8354	2307.5021	
16.00	1.00	1268.66667	684.02082	.397	-982.5021	3519.8354		
	4.00	-306.66667	684.02082	.990	-2557.8354	1944.5021		
	7.00	-56.33333	684.02082	1.000	-2148.8354	2353.5021		
19.00	1.00	1212.33333	684.02082	1.000	-2307.5021	2194.8354		
	4.00	1212.33333	684.02082	.438	-1018.8354	3465.5021		
	7.00	-1519.00000	684.02082	.247	-3770.1687	732.1687		
22.00	1.00	-1110.00000	684.02082	.516	-3361.1687	1141.1687		
	4.00	-1268.66667	684.02082	.997	-3519.8354	982.5021		
	7.00	-1212.33333	684.02082	.438	-3463.5021	1038.8354		

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabela 7.17 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do atributo crocante na amostra, dia-a-dia.

picos		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1.00	Between Groups	81.733	4	20.433	3.065	.069
	Within Groups	66.667	10	6.667		
	Total	148.400	14			
4.00	Between Groups	1035.600	4	258.900	68.132	.000
	Within Groups	38.000	10	3.800		
	Total	1073.600	14			
7.00	Between Groups	1202.400	4	300.600	501.000	.000
	Within Groups	6.000	10	.600		
	Total	1208.400	14			
10.00	Between Groups	744.933	4	186.233	22.711	.000
	Within Groups	82.000	10	8.200		
	Total	826.933	14			
13.00	Between Groups	352.000	4	88.000	30.000	.000
	Within Groups	29.333	10	2.933		
	Total	381.333	14			

Tabela 7.18 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do atributo crocante na amostra, dia-a-dia.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: picos
Tukey HSD

dia	(i amostra)	(j amostra)	Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1.00	1.00	2.00	3.33333	2.10819	.539	-3.6049	10.2715
		3.00	-2.33333	2.10819	.800	-9.2715	4.6049
		15.00	-2.33333	2.10819	.800	-9.2715	4.6049
	2.00	1.00	-3.33333	2.10819	.539	-10.2715	3.6049
		3.00	-5.66667	2.10819	.126	-12.6049	1.2715
		15.00	-5.66667	2.10819	.126	-12.6049	1.2715
	3.00	1.00	2.33333	2.10819	.800	-4.6049	9.2715
		2.00	5.66667	2.10819	.126	-1.2715	12.6049
		15.00	5.66667	2.10819	.126	-1.2715	12.6049
	15.00	1.00	-6.66667	2.10819	.997	-7.6049	6.2715
		2.00	-6.66667	2.10819	.997	-7.6049	6.2715
		3.00	-6.66667	2.10819	.997	-7.6049	6.2715
4.00	1.00	2.00	21.33333	1.59164	.000	16.0951	26.5716
		3.00	20.33333	1.59164	.000	15.0951	25.5716
		15.00	20.33333	1.59164	.000	15.0951	25.5716
	2.00	1.00	-21.33333	1.59164	.000	-26.5716	-16.0951
		3.00	-1.00000	1.59164	.967	-6.2382	4.2382
		15.00	-1.00000	1.59164	.967	-6.2382	4.2382
	3.00	1.00	-20.33333	1.59164	.000	-25.5716	-15.0951
		2.00	1.00000	1.59164	.967	-4.2382	6.2382
		15.00	1.00000	1.59164	.967	-4.2382	6.2382
	15.00	1.00	-20.33333	1.59164	.000	-25.5716	-15.0951
		2.00	1.00000	1.59164	.967	-4.2382	6.2382
		3.00	1.00000	1.59164	.967	-4.2382	6.2382
30.00	1.00	-6.66667	1.59164	.993	-5.9049	5.9049	
	2.00	-21.00000	1.59164	.000	-26.2382	-15.7618	
	3.00	-3.33333	1.59164	.999	-4.9049	5.5716	
7.00	1.00	2.00	21.00000	.63246	.000	18.9185	23.0815
		3.00	22.00000	.63246	.000	19.9185	24.0815
		15.00	24.00000	.63246	.000	21.9185	26.0815
	2.00	1.00	-21.00000	.63246	.000	-23.0815	-18.9185
		3.00	1.00000	.63246	.539	-1.0815	3.0815
		15.00	3.00000	.63246	.005	.9185	5.0815
	3.00	1.00	-22.00000	.63246	.000	-24.0815	-19.9185
		2.00	-1.00000	.63246	.539	-3.0815	1.0815
		15.00	2.00000	.63246	.061	-.0815	4.0815
	15.00	1.00	-24.00000	.63246	.000	-26.0815	-21.9185
		2.00	-3.00000	.63246	.005	-5.0815	-.9185
		3.00	-2.00000	.63246	.061	-4.0815	.0815
30.00	1.00	-2.00000	.63246	.061	-.0815	4.0815	
	2.00	-22.00000	.63246	.000	-24.0815	-19.9185	
	3.00	-1.00000	.63246	.539	-3.0815	1.0815	
10.00	1.00	2.00	17.33333	2.33809	.000	9.6385	25.0282
		3.00	18.33333	2.33809	.000	10.6385	26.0282
		15.00	17.66667	2.33809	.000	9.9718	25.3615
	2.00	1.00	-17.33333	2.33809	.000	-25.0282	-9.6385
		3.00	1.00000	2.33809	.992	-6.6948	8.6948
		15.00	.33333	2.33809	1.000	-7.3615	8.0282
	3.00	1.00	-18.33333	2.33809	.000	-26.0282	-10.6385
		2.00	-1.00000	2.33809	.992	-8.6948	6.6948
		15.00	-6.66667	2.33809	.998	-8.3615	7.0282
	15.00	1.00	-17.66667	2.33809	.000	-25.3615	-9.9718
		2.00	-3.33333	2.33809	1.000	-8.0282	7.3615
		3.00	.66667	2.33809	.998	-7.0282	8.3615
30.00	1.00	-1.00000	2.33809	.998	-8.3615	7.0282	
	2.00	-17.00000	2.33809	.000	-24.6948	-9.3052	
	3.00	.33333	2.33809	1.000	-7.3615	8.0282	
13.00	1.00	2.00	12.00000	1.39841	.000	7.3977	16.6023
		3.00	12.66667	1.39841	.000	8.0644	17.2690
		15.00	12.00000	1.39841	.000	7.3977	16.6023
	2.00	1.00	-11.66667	1.39841	.000	-7.0644	16.2690
		3.00	-12.00000	1.39841	.000	-16.6023	-7.3977
		15.00	.66667	1.39841	.988	-3.9356	5.2690
	3.00	1.00	-12.66667	1.39841	.000	-17.2690	-8.0644
		2.00	-6.66667	1.39841	.988	-5.2690	3.9356
		15.00	-6.66667	1.39841	.988	-5.2690	3.9356
	15.00	1.00	-1.00000	1.39841	.948	-4.9356	4.2690
		2.00	-12.00000	1.39841	.000	-16.6023	-7.3977
		3.00	.00000	1.39841	1.000	-4.6023	4.6023
30.00	1.00	.66667	1.39841	.988	-3.9356	5.2690	
	2.00	-3.33333	1.39841	.999	-4.9356	4.2690	
	3.00	-11.66667	1.39841	.000	-16.2690	-7.0644	
15.00	1.00	-1.00000	1.39841	.999	-4.2690	4.9356	
	2.00	.33333	1.39841	.948	-3.6023	5.6023	
	3.00	1.00000	1.39841	.948	-3.6023	5.6023	
15.00	1.00	-3.33333	1.39841	.999	-4.2690	4.9356	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabela 7.19 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do atributo crocante em cada dia, amostra a amostra.

picos

amostra		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1.00	Between Groups	298.667	4	74.667	6.627	.007
	Within Groups	112.667	10	11.267		
	Total	411.333	14			
2.00	Between Groups	590.000	4	147.500	442.500	.000
	Within Groups	3.333	10	.333		
	Total	593.333	14			
3.00	Between Groups	1147.067	4	286.767	64.201	.000
	Within Groups	44.667	10	4.467		
	Total	1191.733	14			
15.00	Between Groups	1155.333	4	288.833	57.767	.000
	Within Groups	50.000	10	5.000		
	Total	1205.333	14			
30.00	Between Groups	1147.600	4	286.900	253.147	.000
	Within Groups	11.333	10	1.133		
	Total	1158.933	14			

Tabela 7.20 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do atributo crocante em cada dia, amostra a amostra.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: picos
Tukey HSD

amostra	(i dia)	(j dia)	Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1.00	4.00	7.00	-3.66667	2.74064	.676	-12.6863	5.3530
		10.00	-3.66667	2.74064	.676	-12.6863	5.3530
		13.00	8.33333	2.74064	.074	-.6863	17.3530
	4.00	1.00	3.66667	2.74064	.676	-5.3530	12.6863
		7.00	6.00000	2.74064	1.000	-9.0197	9.0197
		10.00	6.00000	2.74064	.258	-3.0197	15.0197
	7.00	1.00	12.00000*	2.74064	.009	2.9803	21.0197
		4.00	3.66667	2.74064	.676	-5.3530	12.6863
		10.00	6.00000	2.74064	.258	-3.0197	15.0197
	10.00	1.00	12.00000*	2.74064	.009	2.9803	21.0197
		4.00	3.66667	2.74064	.676	-5.3530	12.6863
		7.00	6.00000	2.74064	.258	-3.0197	15.0197
13.00	1.00	-8.33333	2.74064	.074	-17.3530	-.6863	
	4.00	-12.00000*	2.74064	.009	-21.0197	-2.9803	
	7.00	-12.00000*	2.74064	.009	-21.0197	-2.9803	
2.00	1.00	4.00	14.33333*	.47140	.000	12.7819	15.8848
		7.00	14.00000*	.47140	.000	12.4486	15.5514
		10.00	16.33333*	.47140	.000	14.7819	17.8848
	4.00	1.00	-14.33333*	.47140	.000	-15.4486	-18.5514
		7.00	-3.33333	.47140	.950	-1.8848	1.2181
		10.00	2.00000	.47140	.012	-.4486	3.5514
	7.00	1.00	-14.33333*	.47140	.000	-15.8848	-12.7819
		4.00	-3.33333	.47140	.950	-1.2181	1.8848
		10.00	2.00000	.47140	.012	-.4486	3.8848
	10.00	1.00	-16.33333*	.47140	.000	-17.8848	-14.7819
		4.00	-2.00000	.47140	.014	-.5514	1.4486
		7.00	-2.33333*	.47140	.004	-3.8848	-.7819
13.00	1.00	6.66667	.47140	.633	-.8848	2.2181	
	4.00	-17.00000*	.47140	.000	-18.5514	-15.4486	
	7.00	-3.00000*	.47140	.002	-4.2181	-1.1152	
3.00	1.00	4.00	19.00000*	1.72562	.000	13.3208	24.6792
		7.00	20.66667*	1.72562	.000	14.9875	26.3458
		10.00	23.00000*	1.72562	.000	17.3208	28.6792
	4.00	1.00	-19.00000*	1.72562	.000	-24.6792	-13.3208
		7.00	-1.66667	1.72562	.864	-4.0125	7.3458
		10.00	4.00000	1.72562	.216	-1.6792	9.6792
	7.00	1.00	-20.66667*	1.72562	.000	-26.3458	-14.9875
		4.00	-1.66667	1.72562	.864	-3.3458	4.0125
		10.00	2.33333	1.72562	.668	-3.3458	8.0125
	10.00	1.00	-23.00000*	1.72562	.000	-28.6792	-17.3208
		4.00	-4.00000	1.72562	.216	-9.6792	1.6792
		7.00	-2.33333	1.72562	.668	-8.0125	3.3458
13.00	1.00	-19.00000*	1.72562	.000	-25.0087	-12.9813	
	4.00	-4.33333	1.72562	.164	-10.0125	1.3458	
	7.00	-2.66667	1.72562	.559	-8.3458	3.0125	
15.00	1.00	4.00	19.00000*	1.82574	.000	12.9913	25.0087
		7.00	22.66667*	1.82574	.000	16.6580	28.6753
		10.00	22.33333*	1.82574	.000	16.3247	28.3420
	4.00	1.00	-19.00000*	1.82574	.000	-25.0087	-12.9813
		7.00	3.66667	1.82574	.328	-2.3420	9.6753
		10.00	3.33333	1.82574	.411	-2.6753	9.3420
	7.00	1.00	-22.66667*	1.82574	.000	-28.6753	-16.6580
		4.00	-3.66667	1.82574	.328	-9.6753	2.3420
		10.00	3.66667	1.82574	1.000	-2.3420	9.6753
	10.00	1.00	-22.33333*	1.82574	.000	-28.3420	-16.3247
		4.00	3.33333	1.82574	1.000	-5.6753	6.3420
		7.00	3.33333	1.82574	1.000	-5.6753	6.3420
13.00	1.00	-22.66667*	1.82574	.000	-28.6753	-16.6580	
	4.00	-3.66667	1.82574	.328	-9.6753	2.3420	
	7.00	3.66667	1.82574	1.000	-6.0087	6.0087	
30.00	1.00	4.00	20.33333*	.86923	.000	17.4726	23.1940
		7.00	21.33333*	.86923	.000	18.4726	24.1940
		10.00	22.33333*	.86923	.000	19.4726	25.1940
	4.00	1.00	-20.33333*	.86923	.000	-23.1940	-17.4726
		7.00	-1.00000	.86923	.778	-1.8607	3.8607
		10.00	2.66667	.86923	.071	-.1940	5.5274
	7.00	1.00	-21.33333*	.86923	.000	-24.1940	-18.4726
		4.00	-1.00000	.86923	.778	-1.8607	3.8607
		10.00	1.66667	.86923	.368	-1.1940	4.5274
	10.00	1.00	-22.33333*	.86923	.000	-25.1940	-19.4726
		4.00	-2.00000	.86923	.221	-4.8607	.8607
		7.00	-1.00000	.86923	.778	-3.8607	1.8607
13.00	1.00	-23.00000*	.86923	.000	-25.8607	-20.1393	
	4.00	-2.66667	.86923	.071	-5.5274	1.940	
	7.00	-1.66667	.86923	.368	-4.5274	1.940	
10.00	1.00	-22.66667*	.86923	.000	-25.1940	-19.4726	
	4.00	-1.66667	.86923	.935	-3.5274	2.1940	
	7.00	-1.66667	.86923	.935	-3.5274	2.1940	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

7.1.2 Avaliação do teor de humidade

Tabela 7.21 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do teor de humidade na amostra, dia-a-dia.

Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1,00	Between Groups	22,976	4	5,744	56,233	,000
	Within Groups	1,021	10	,102		
	Total	23,997	14			
4,00	Between Groups	19,336	4	4,834	23,854	,000
	Within Groups	2,026	10	,203		
	Total	21,362	14			
7,00	Between Groups	10,650	4	2,663	10,695	,001
	Within Groups	2,489	10	,249		
	Total	13,139	14			
10,00	Between Groups	27,724	4	6,931	30,768	,000
	Within Groups	2,253	10	,225		
	Total	29,977	14			
13,00	Between Groups	15,606	4	3,902	32,697	,000
	Within Groups	1,193	10	,119		
	Total	16,800	14			

Tabela 7.22 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do teor de humidade na amostra, dia-a-dia.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: H

Tukey HSD

Dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
				Lower Bound	Upper Bound	
1,00	2,00	-,53000	,26096	,319	-1,3888	,3288
	3,00	-,75000	,26096	,095	-1,6088	,1088
	15,00	-3,10000*	,26096	,000	-3,9588	-2,2412
	30,00	-2,67667*	,26096	,000	-3,5355	-1,8178
2,00	1,00	,53000	,26096	,319	-,3288	1,3888
	3,00	-,22000	,26096	,911	-1,0788	,6388
	15,00	-2,57000*	,26096	,000	-3,4288	-1,7112
	30,00	-2,14667*	,26096	,000	-3,0055	-1,2878
3,00	1,00	,75000	,26096	,095	-,1088	1,6088
	2,00	,22000	,26096	,911	-,6388	1,0788
	15,00	-2,35000*	,26096	,000	-3,2088	-1,4912
	30,00	-1,92667*	,26096	,000	-2,7855	-1,0678
15,00	1,00	3,10000*	,26096	,000	2,2412	3,9588
	2,00	2,57000*	,26096	,000	1,7112	3,4288
	3,00	2,35000*	,26096	,000	1,4912	3,2088
	30,00	,42333	,26096	,517	-,4355	1,2822
30,00	1,00	2,67667*	,26096	,000	1,8178	3,5355
	2,00	2,14667*	,26096	,000	1,2878	3,0055
	3,00	1,92667*	,26096	,000	1,0678	2,7855
	15,00	-,42333	,26096	,517	-1,2822	,4355
4,00	1,00	,14667	,36756	,994	-1,0630	1,3563
	3,00	1,36333*	,36756	,026	,1537	2,5730
	15,00	2,96000*	,36756	,000	1,7503	4,1697

		30,00	2,11667	,36756	,001	,9070	3,3263
		1,00	-,14667	,36756	,994	-1,3563	1,0630
	2,00	3,00	1,21667	,36756	,049	,0070	2,4263
		15,00	2,81333	,36756	,000	1,6037	4,0230
		30,00	1,97000	,36756	,002	,7603	3,1797
		1,00	-1,36333	,36756	,026	-2,5730	-,1537
	3,00	2,00	-1,21667	,36756	,049	-2,4263	-,0070
		15,00	1,59667	,36756	,010	,3870	2,8063
		30,00	,75333	,36756	,311	-,4563	1,9630
		1,00	-2,96000	,36756	,000	-4,1697	-1,7503
	15,00	2,00	-2,81333	,36756	,000	-4,0230	-1,6037
		3,00	-1,59667	,36756	,010	-2,8063	-,3870
		30,00	-,84333	,36756	,223	-2,0530	,3663
		1,00	-2,11667	,36756	,001	-3,3263	-,9070
	30,00	2,00	-1,97000	,36756	,002	-3,1797	-,7603
		3,00	-,75333	,36756	,311	-1,9630	,4563
		15,00	,84333	,36756	,223	-,3663	2,0530
		2,00	-1,24667	,40739	,071	-2,5874	,0941
	1,00	3,00	-,82667	,40739	,319	-2,1674	,5141
		15,00	-2,59667	,40739	,001	-3,9374	-1,2559
		30,00	-1,33333	,40739	,051	-2,6741	,0074
		1,00	1,24667	,40739	,071	-,0941	2,5874
	2,00	3,00	,42000	,40739	,836	-,9207	1,7607
		15,00	-1,35000	,40739	,048	-2,6907	-,0093
		30,00	-,08667	,40739	,999	-1,4274	1,2541
		1,00	,82667	,40739	,319	-,5141	2,1674
7,00	3,00	2,00	-,42000	,40739	,836	-1,7607	,9207
		15,00	-1,77000	,40739	,010	-3,1107	-,4293
		30,00	-,50667	,40739	,728	-1,8474	,8341
		1,00	2,59667	,40739	,001	1,2559	3,9374
	15,00	2,00	1,35000	,40739	,048	,0093	2,6907
		3,00	1,77000	,40739	,010	,4293	3,1107
		30,00	1,26333	,40739	,067	-,0774	2,6041
		1,00	1,33333	,40739	,051	-,0074	2,6741
	30,00	2,00	,08667	,40739	,999	-1,2541	1,4274
		3,00	,50667	,40739	,728	-,8341	1,8474
		15,00	-1,26333	,40739	,067	-2,6041	,0774
		2,00	2,44667	,38753	,001	1,1713	3,7221
	1,00	3,00	1,04667	,38753	,124	-,2287	2,3221
		15,00	-1,67000	,38753	,010	-2,9454	-,3946
		30,00	-,04667	,38753	1,000	-1,3221	1,2287
		1,00	-2,44667	,38753	,001	-3,7221	-1,1713
	2,00	3,00	-1,40000	,38753	,030	-2,6754	-,1246
		15,00	-4,11667	,38753	,000	-5,3921	-2,8413
		30,00	-2,49333	,38753	,001	-3,7687	-1,2179
		1,00	-1,04667	,38753	,124	-2,3221	,2287
	10,00	2,00	1,40000	,38753	,030	,1246	2,6754
		15,00	-2,71667	,38753	,000	-3,9921	-1,4413
		30,00	-1,09333	,38753	,103	-2,3687	,1821
		1,00	1,67000	,38753	,010	,3946	2,9454
	15,00	2,00	4,11667	,38753	,000	2,8413	5,3921
		3,00	2,71667	,38753	,000	1,4413	3,9921
		30,00	1,62333	,38753	,013	,3479	2,8987
		1,00	,04667	,38753	1,000	-1,2287	1,3221
	30,00	2,00	2,49333	,38753	,001	1,2179	3,7687
		3,00	1,09333	,38753	,103	-,1821	2,3687
		15,00	-1,62333	,38753	,013	-2,8987	-,3479
		2,00	2,30333	,28205	,000	1,3751	3,2316
	1,00	3,00	2,00667	,28205	,000	1,0784	2,9349
		15,00	-,08667	,28205	,998	-1,0149	,8416
	13,00	30,00	1,69000	,28205	,001	,7618	2,6182
		1,00	-2,30333	,28205	,000	-3,2316	-1,3751
	2,00	3,00	-,29667	,28205	,826	-1,2249	,6316
		15,00	-2,39000	,28205	,000	-3,3182	-1,4618
		30,00	-,61333	,28205	,263	-1,5416	,3149

	1,00	-2,00667*	,28205	,000	-2,9349	-1,0784
	2,00	,29667	,28205	,826	-,6316	1,2249
3,00	15,00	-2,09333*	,28205	,000	-3,0216	-1,1651
	30,00	-,31667	,28205	,792	-1,2449	,6116
	1,00	,08667	,28205	,998	-,8416	1,0149
15,00	2,00	2,39000*	,28205	,000	1,4618	3,3182
	3,00	2,09333*	,28205	,000	1,1651	3,0216
	30,00	1,77667*	,28205	,001	,8484	2,7049
	1,00	-1,69000*	,28205	,001	-2,6182	-,7618
30,00	2,00	,61333	,28205	,263	-,3149	1,5416
	3,00	,31667	,28205	,792	-,6116	1,2449
	15,00	-1,77667*	,28205	,001	-2,7049	-,8484

Tabela 7.23 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do teor de humidade em cada dia, amostra a amostra.

Amostra		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1,00	Between Groups	15,283	4	3,821	25,877	,000
	Within Groups	1,477	10	,148		
	Total	16,760	14			
2,00	Between Groups	24,294	4	6,074	28,720	,000
	Within Groups	2,115	10	,211		
	Total	26,409	14			
3,00	Between Groups	5,861	4	1,465	7,360	,005
	Within Groups	1,991	10	,199		
	Total	7,852	14			
15,00	Between Groups	27,382	4	6,845	48,836	,000
	Within Groups	1,402	10	,140		
	Total	28,784	14			
30,00	Between Groups	17,338	4	4,335	21,678	,000
	Within Groups	2,000	10	,200		
	Total	19,338	14			

Tabela 7.24 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do teor de humidade em cada dia, amostra a amostra.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: H
Tukey HSD

Amostra	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval
---------	-----------------------	------------	------	-------------------------

					Lower Bound	Upper Bound	
	4,00	-2,34000*	,31374	,000	-3,3726	-1,3074	
	7,00	,52667	,31374	,486	-,5059	1,5592	
1,00	10,00	-1,24000*	,31374	,018	-2,2726	-,2074	
	13,00	-1,17333*	,31374	,025	-2,2059	-,1408	
	1,00	2,34000*	,31374	,000	1,3074	3,3726	
	7,00	2,86667*	,31374	,000	1,8341	3,8992	
4,00	10,00	1,10000*	,31374	,036	,0674	2,1326	
	13,00	1,16667*	,31374	,026	,1341	2,1992	
	1,00	-,52667	,31374	,486	-1,5592	,5059	
	4,00	-2,86667*	,31374	,000	-3,8992	-1,8341	
1,00	7,00	-1,76667*	,31374	,002	-2,7992	-,7341	
	10,00	-1,70000*	,31374	,002	-2,7326	-,6674	
	1,00	1,24000*	,31374	,018	,2074	2,2726	
	4,00	-1,10000*	,31374	,036	-2,1326	-,0674	
10,00	7,00	1,76667*	,31374	,002	,7341	2,7992	
	13,00	,06667	,31374	,999	-,9659	1,0992	
	1,00	1,17333*	,31374	,025	,1408	2,2059	
	4,00	-1,16667*	,31374	,026	-2,1992	-,1341	
13,00	7,00	1,70000*	,31374	,002	,6674	2,7326	
	10,00	-,06667	,31374	,999	-1,0992	,9659	
2,00	1,00	4,00	-1,66333*	,37548	,009	-2,8991	-,4276

		7,00	-,19000	,37548	,985	-1,4257	1,0457
		10,00	1,73667*	,37548	,007	,5009	2,9724
		13,00	1,66000*	,37548	,009	,4243	2,8957
		1,00	1,66333*	,37548	,009	,4276	2,8991
		7,00	1,47333*	,37548	,019	,2376	2,7091
	4,00	10,00	3,40000*	,37548	,000	2,1643	4,6357
		13,00	3,32333*	,37548	,000	2,0876	4,5591
		1,00	,19000	,37548	,985	-1,0457	1,4257
		4,00	-1,47333*	,37548	,019	-2,7091	-,2376
	7,00	10,00	1,92667*	,37548	,003	,6909	3,1624
		13,00	1,85000*	,37548	,004	,6143	3,0857
		1,00	-1,73667*	,37548	,007	-2,9724	-,5009
		4,00	-3,40000*	,37548	,000	-4,6357	-2,1643
	10,00	7,00	-1,92667*	,37548	,003	-3,1624	-,6909
		13,00	-,07667	,37548	1,000	-1,3124	1,1591
		1,00	-1,66000*	,37548	,009	-2,8957	-,4243
		4,00	-3,32333*	,37548	,000	-4,5591	-2,0876
	13,00	7,00	-1,85000*	,37548	,004	-3,0857	-,6143
		10,00	,07667	,37548	1,000	-1,1591	1,3124
		4,00	-,22667	,36431	,968	-1,4256	,9723
		7,00	,45000	,36431	,733	-,7490	1,6490
	3,00 1,00	10,00	,55667	,36431	,569	-,6423	1,7556
		13,00	1,58333*	,36431	,010	,3844	2,7823

	1,00	,22667	,36431	,968	-,9723	1,4256
	7,00	,67667	,36431	,396	-,5223	1,8756
4,00	10,00	,78333	,36431	,272	-,4156	1,9823
	13,00	1,81000*	,36431	,004	,6110	3,0090
	1,00	-,45000	,36431	,733	-1,6490	,7490
	4,00	-,67667	,36431	,396	-1,8756	,5223
7,00	10,00	,10667	,36431	,998	-1,0923	1,3056
	13,00	1,13333	,36431	,066	-,0656	2,3323
	1,00	-,55667	,36431	,569	-1,7556	,6423
	4,00	-,78333	,36431	,272	-1,9823	,4156
10,00	7,00	-,10667	,36431	,998	-1,3056	1,0923
	13,00	1,02667	,36431	,104	-,1723	2,2256
	1,00	-1,58333*	,36431	,010	-2,7823	-,3844
	4,00	-1,81000*	,36431	,004	-3,0090	-,6110
13,00	7,00	-1,13333	,36431	,066	-2,3323	,0656
	10,00	-1,02667	,36431	,104	-2,2256	,1723
	4,00	3,72000*	,30569	,000	2,7139	4,7261
	7,00	1,03000*	,30569	,044	,0239	2,0361
1,00	10,00	,19000	,30569	,968	-,8161	1,1961
15,00	13,00	1,84000*	,30569	,001	,8339	2,8461
	1,00	-3,72000*	,30569	,000	-4,7261	-2,7139
	4,00 7,00	-2,69000*	,30569	,000	-3,6961	-1,6839
	10,00	-3,53000*	,30569	,000	-4,5361	-2,5239

	13,00	-1,88000*	,30569	,001	-2,8861	-,8739
	1,00	-1,03000*	,30569	,044	-2,0361	-,0239
7,00	4,00	2,69000*	,30569	,000	1,6839	3,6961
	10,00	-,84000	,30569	,115	-1,8461	,1661
	13,00	,81000	,30569	,133	-,1961	1,8161
	1,00	-,19000	,30569	,968	-1,1961	,8161
10,00	4,00	3,53000*	,30569	,000	2,5239	4,5361
	7,00	,84000	,30569	,115	-,1661	1,8461
	13,00	1,65000*	,30569	,002	,6439	2,6561
	1,00	-1,84000*	,30569	,001	-2,8461	-,8339
13,00	4,00	1,88000*	,30569	,001	,8739	2,8861
	7,00	-,81000	,30569	,133	-1,8161	,1961
	10,00	-1,65000*	,30569	,002	-2,6561	-,6439
	4,00	2,45333*	,36511	,000	1,2517	3,6549
1,00	7,00	1,87000*	,36511	,003	,6684	3,0716
	10,00	1,39000*	,36511	,022	,1884	2,5916
	13,00	3,19333*	,36511	,000	1,9917	4,3949
30,00	1,00	-2,45333*	,36511	,000	-3,6549	-1,2517
	7,00	-,58333	,36511	,530	-1,7849	,6183
4,00	10,00	-1,06333	,36511	,090	-2,2649	,1383
	13,00	,74000	,36511	,320	-,4616	1,9416
	1,00	-1,87000*	,36511	,003	-3,0716	-,6684
7,00	4,00	,58333	,36511	,530	-,6183	1,7849

	10,00	-,48000	,36511	,689	-1,6816	,7216
	13,00	1,32333 [*]	,36511	,030	,1217	2,5249
	1,00	-1,39000 [*]	,36511	,022	-2,5916	-,1884
	4,00	1,06333	,36511	,090	-,1383	2,2649
10,00	7,00	,48000	,36511	,689	-,7216	1,6816
	13,00	1,80333 [*]	,36511	,004	,6017	3,0049
	1,00	-3,19333 [*]	,36511	,000	-4,3949	-1,9917
	4,00	-,74000	,36511	,320	-1,9416	,4616
13,00	7,00	-1,32333 [*]	,36511	,030	-2,5249	-,1217
	10,00	-1,80333 [*]	,36511	,004	-3,0049	-,6017

7.1.3 Avaliação da cor

Tabela 7.25 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro L* na amostra, dia-a-dia.

L

Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1.00	Between Groups	57.067	4	14.267	59.210	.000
	Within Groups	2.410	10	.241		
	Total	59.477	14			
4.00	Between Groups	591.484	4	147.871	107.570	.000
	Within Groups	13.746	10	1.375		
	Total	605.230	14			
7.00	Between Groups	778.730	4	194.682	584.258	.000
	Within Groups	3.332	10	.333		
	Total	782.062	14			
10.00	Between Groups	405.402	4	101.351	12.337	.001
	Within Groups	82.150	10	8.215		
	Total	487.552	14			
13.00	Between Groups	387.945	4	96.986	41.784	.000
	Within Groups	23.212	10	2.321		
	Total	411.157	14			

Tabela 7.26 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro L* na amostra, dia-a-dia.

Dependent Variable: L		Multiple Comparisons					
Tukey HSD		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
Dia	(I) Amostra	(J) Amostra			Lower Bound	Upper Bound	
1.00	1.00	2.00	.75333 [*]	.40079	.385	-.5657	2.0724
		3.00	2.55000 [*]	.40079	.001	1.2310	3.8690
		30.00	4.57333 [*]	.40079	.000	3.5110	6.1490
	2.00	1.00	-.75333	.40079	.385	-2.0724	.5657
		3.00	1.79667 [*]	.40079	.008	-.4776	3.1157
		30.00	4.07667 [*]	.40079	.000	2.7576	5.3957
	3.00	1.00	-2.55000 [*]	.40079	.001	-3.8690	-1.2310
		2.00	-1.79667 [*]	.40079	.008	-3.1157	-.4776
		30.00	2.28000 [*]	.40079	.001	.9610	3.5990
	15.00	1.00	-4.83000 [*]	.40079	.000	-6.1490	-3.5110
		2.00	-4.07667 [*]	.40079	.000	-5.3957	-2.7576
		30.00	2.02333 [*]	.40079	.004	-.7043	3.3424
30.00	1.00	-4.83000 [*]	.40079	.000	-6.1490	-3.5110	
	2.00	-4.07667 [*]	.40079	.000	-5.3957	-2.7576	
	30.00	-2.56667 [*]	.40079	.965	-1.5757	1.0624	
4.00	1.00	2.00	-4.57333 [*]	.40079	.000	-5.8924	-3.2543
		3.00	-3.82000 [*]	.40079	.000	-5.1390	-2.5010
		30.00	-2.02333 [*]	.40079	.004	-3.3424	-.7043
	2.00	1.00	12.99000 [*]	.95730	.000	9.8394	16.1406
		3.00	14.10000 [*]	.95730	.000	10.9494	17.2506
		30.00	15.48000 [*]	.95730	.000	12.3294	18.6306
	3.00	1.00	-12.99000 [*]	.95730	.000	-16.1406	-9.8394
		2.00	-1.11000	.95730	.773	-2.0406	4.2606
		30.00	2.49000	.95730	.143	-.6606	5.6406
	15.00	1.00	-14.10000 [*]	.95730	.000	-17.2506	-10.9494
		2.00	-1.11000	.95730	.773	-4.2606	2.0406
		30.00	1.38000	.95730	.618	-1.7706	4.3306
30.00	1.00	-15.48000 [*]	.95730	.000	-18.6306	-12.3294	
	2.00	-2.49000	.95730	.143	-5.6406	.6606	
	30.00	2.49667 [*]	.95730	.142	-.6539	5.6472	
7.00	1.00	2.00	-4.98667 [*]	.95730	.003	-7.2661	-2.7072
		3.00	-14.10000 [*]	.95730	.000	-17.2506	-10.9494
		30.00	-2.49667 [*]	.95730	.142	-5.6472	.6539
	2.00	1.00	16.96333 [*]	.47132	.000	15.4122	18.5145
		3.00	16.50000 [*]	.47132	.000	14.9488	18.0512
		30.00	16.97333 [*]	.47132	.000	15.4222	18.5245
	3.00	1.00	-16.50000 [*]	.47132	.000	-18.0512	-14.9488
		2.00	-4.63333	.47132	.857	-1.0878	2.0145
		30.00	3.34667 [*]	.47132	.000	1.7955	4.8978
	15.00	1.00	-16.97333 [*]	.47132	.000	-18.5245	-15.4222
		2.00	-4.63333	.47132	.857	-1.0878	2.0145
		30.00	3.33667 [*]	.47132	.000	1.7855	4.8878
30.00	1.00	-20.31000 [*]	.47132	.000	-21.8612	-18.7588	
	2.00	-3.34667 [*]	.47132	.000	-4.8978	-1.7955	
	30.00	-3.81000 [*]	.47132	.000	-5.3612	-2.2588	
10.00	1.00	2.00	6.84000 [*]	2.34022	.088	-.8619	14.5419
		3.00	13.29333 [*]	2.34022	.001	5.5915	20.9952
		30.00	14.57000 [*]	2.34022	.001	6.8681	22.2719
	2.00	1.00	-6.84000 [*]	2.34022	.088	-14.5419	.8619
		3.00	6.45333	2.34022	.114	-1.2485	14.1552
		30.00	7.73000 [*]	2.34022	.049	.0281	15.4319
	3.00	1.00	-13.29333 [*]	2.34022	.001	-20.9952	-5.5915
		2.00	-6.45333	2.34022	.114	-14.1552	1.2485
		30.00	-3.88333	2.34022	.497	-11.5852	3.8185
	15.00	1.00	-14.57000 [*]	2.34022	.001	-22.2719	-6.8681
		2.00	-7.73000 [*]	2.34022	.049	-15.4319	-.0281
		30.00	-1.27667 [*]	2.34022	.980	-8.9785	6.4252
30.00	1.00	-9.41000 [*]	2.34022	.016	-17.1119	-1.7081	
	2.00	-2.57000	2.34022	.804	-10.2719	5.1319	
	30.00	3.88333	2.34022	.497	-3.8185	11.5852	
13.00	1.00	2.00	10.61333 [*]	1.24396	.000	6.5194	14.7073
		3.00	14.00667 [*]	1.24396	.000	9.9127	18.1006
		30.00	11.14000 [*]	1.24396	.000	7.0460	15.2340
	2.00	1.00	-10.61333 [*]	1.24396	.000	-14.7073	-6.5194
		3.00	3.39333	1.24396	.119	-.7006	7.4873
		30.00	5.2667	1.24396	.992	-3.5673	4.6206
	3.00	1.00	-14.00667 [*]	1.24396	.000	-18.1006	-9.9127
		2.00	-3.39333	1.24396	.119	-7.4873	.7006
		30.00	-2.86667	1.24396	.220	-6.9606	1.2273
	15.00	1.00	-11.14000 [*]	1.24396	.989	-4.6773	3.5106
		2.00	-5.2667	1.24396	.992	-15.2340	-7.0460
		30.00	2.86667	1.24396	.220	-4.6206	3.5673
30.00	1.00	-13.42333 [*]	1.24396	.000	-17.5173	-9.3294	
	2.00	-2.81000	1.24396	.235	-6.9040	1.2840	
	30.00	5.8333	1.24396	.989	-3.5106	4.6773	
15.00	1.00	-2.81000	1.24396	.235	-6.9040	1.2840	
	2.00	-5.8333	1.24396	.989	-3.5106	4.6773	
	30.00	-2.28333	1.24396	.406	-6.3773	1.8106	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabela 7.27 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro L* em cada dia, amostra a amostra.

Amostra		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1.00	Between Groups	435.261	4	108.815	14.939	.000
	Within Groups	72.837	10	7.284		
	Total	508.099	14			
2.00	Between Groups	949.982	4	237.495	320.414	.000
	Within Groups	7.412	10	.741		
	Total	957.394	14			
3.00	Between Groups	1174.057	4	293.514	119.065	.000
	Within Groups	24.652	10	2.465		
	Total	1198.708	14			
15.00	Between Groups	979.109	4	244.777	205.064	.000
	Within Groups	11.937	10	1.194		
	Total	991.046	14			
30.00	Between Groups	892.590	4	223.147	278.524	.000
	Within Groups	8.012	10	.801		
	Total	900.602	14			

Tabela 7.28 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro L* em cada dia, amostra a amostra.

Dependent Variable: L
Tukey HSD

Multiple Comparisons

Amostra	0 Dia	4 Dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1.00	4.00	7.00	5.21333	.20359	.202	-2.0389	12.4655
		10.00	3.26000	.20359	.000	3.0922	10.5122
		13.00	15.14667	.20359	.000	7.8945	22.3989
	7.00	4.00	-5.21333	.20359	.202	-12.4655	2.0389
		10.00	1.95333	.20359	.005	-9.2055	5.2989
		13.00	9.93333	.20359	.008	2.6811	17.1855
	10.00	4.00	-3.26000	.20359	.096	-10.5122	3.9922
		7.00	11.88667	.20359	.002	4.6345	19.1389
		13.00	17.30000	.20359	.000	10.978	23.622
	13.00	4.00	-15.44667	.20359	.000	-22.3989	-7.8945
		7.00	-9.93333	.20359	.008	-17.1855	-2.6811
		10.00	-4.58667	.20359	.298	-11.8389	2.6655
2.00	1.00	4.00	-10.50000	.20359	.005	-17.8122	-3.1878
		7.00	-5.34667	.20359	.185	-12.5989	1.9055
		10.00	4.88667	.20359	.298	-2.6655	11.8389
	4.00	1.00	17.45000	.20359	.000	19.7935	15.1165
		7.00	19.47000	.20359	.000	17.1565	21.7835
		10.00	19.33333	.20359	.000	16.919	21.5668
	7.00	1.00	-20.42000	.20359	.000	-18.1065	-22.7335
		4.00	2.02000	.20359	.095	-2.935	4.3335
		10.00	-19.47000	.20359	.002	-17.835	-21.105
	10.00	4.00	-2.02000	.20359	.095	-4.3335	2.935
		7.00	1.76333	.20359	.164	-5.501	4.0768
		13.00	13.05000	.20359	.000	11.3935	14.7065
13.00	1.00	-21.23333	.20359	.000	-23.5468	-18.9199	
	4.00	-3.76333	.20359	.002	-6.0568	-1.4699	
	7.00	-1.76333	.20359	.164	-4.0768	5.501	
3.00	1.00	4.00	-20.42000	.20359	.000	-22.7335	-18.1065
		7.00	-9.93333	.20359	.008	-17.1855	-2.6811
		10.00	-9.50000	.20359	.069	-12.5033	1.3535
	4.00	1.00	16.76333	1.28197	.000	12.5443	20.9824
		7.00	17.01000	1.28197	.000	12.1959	21.4221
		10.00	25.89000	1.28197	.000	21.6709	30.1091
	7.00	1.00	-16.76333	1.28197	.000	-20.9824	-12.5443
		4.00	-4.4667	1.28197	.986	-3.7724	4.8457
		10.00	9.12667	1.28197	.000	4.9076	13.3457
	10.00	1.00	-5.25333	1.28197	.014	-10.343	-9.4724
		4.00	-3.21000	1.28197	.000	-2.4291	-12.9909
		7.00	-4.4667	1.28197	.986	-4.6657	3.7724
13.00	1.00	-8.68000	1.28197	.000	-4.4609	-12.8991	
	4.00	-4.80667	1.28197	.025	5.876	9.0257	
	7.00	-9.12667	1.28197	.000	-13.3457	-4.9076	
15.00	1.00	4.00	-8.68000	1.28197	.000	-12.8991	-4.4609
		7.00	-3.87333	1.28197	.076	-8.0924	-3.657
		10.00	-22.01667	1.28197	.000	-26.2357	-17.7937
	4.00	1.00	5.25333	1.28197	.014	-9.4724	-1.0343
		7.00	-4.80667	1.28197	.025	-9.0257	3.657
		10.00	15.88333	1.28197	.000	12.9275	18.7992
	7.00	1.00	-15.40333	1.28197	.000	-18.3592	-12.4675
		4.00	-3.46000	1.28197	.984	-2.4758	3.3958
		10.00	9.48333	1.28197	.000	6.5475	12.4192
	10.00	1.00	-24.88667	1.28197	.000	-27.8225	-21.9508
		4.00	-9.02333	1.28197	.000	-11.9592	-6.0875
		7.00	-9.48333	1.28197	.000	-12.4192	-6.5475
13.00	1.00	-16.87000	1.28197	.000	-19.8058	-13.9342	
	4.00	-1.46667	1.28197	.505	-4.4025	1.4692	
	7.00	8.01667	1.28197	.000	1.4692	10.952	
30.00	1.00	4.00	18.01667	1.28197	.000	16.2114	21.0219
		7.00	18.99667	1.28197	.000	16.5914	21.4019
		10.00	19.48333	1.28197	.000	17.0781	21.8866
	4.00	1.00	-18.01667	1.28197	.000	-21.0219	-16.314
		7.00	-3.8000	1.28197	.983	-2.0252	2.7852
		10.00	-1.60667	1.28197	.866	-1.0366	3.7719
	7.00	1.00	-18.99667	1.28197	.000	-21.4019	-16.314
		4.00	-3.8000	1.28197	.983	-2.7852	2.0252
		10.00	-1.60667	1.28197	.866	-1.0366	3.7719
	10.00	1.00	-19.98333	1.28197	.000	-21.8866	-17.5781
		4.00	-4.3333	1.28197	.977	-1.9919	2.8186
		7.00	-1.36667	1.28197	.890	-3.7719	1.0366
13.00	1.00	-19.48333	1.28197	.000	-21.8866	-17.0781	
	4.00	-7.9333	1.28197	.000	-3.1986	1.6119	
	7.00	-4.1333	1.28197	.977	-2.8186	1.9919	
30.00	4.00	18.01667	1.28197	.000	16.2114	21.0219	
	7.00	18.99667	1.28197	.000	16.5914	21.4019	
	10.00	19.48333	1.28197	.000	17.0781	21.8866	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabela 7.29 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro a* na amostra, dia-a-dia.

a						
Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	2,668	4	0,667	21,495	0
	Within Groups	0,31	10	0,031		
	Total	2,978	14			
4	Between Groups	105,468	4	26,367	181,192	0
	Within Groups	1,455	10	0,146		
	Total	106,923	14			
7	Between Groups	161,149	4	40,287	1252,711	0
	Within Groups	0,322	10	0,032		
	Total	161,47	14			
10	Between Groups	65,482	4	16,371	16,711	0
	Within Groups	9,796	10	0,98		
	Total	75,279	14			
13	Between Groups	170,305	4	42,576	276,098	0
	Within Groups	1,542	10	0,154		
	Total	171,847	14			

Tabela 7.30 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro a* na amostra, dia-a-dia.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: a							
Tukey HSD							
Dia	(I) Amostra	(J) Amostra	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	2	-0,25667	0,14382	0,432	-0,73	0,2167
		3	-.60333*	0,14382	0,012	-1,0767	-0,13
		15	-.51333*	0,14382	0,032	-0,9867	-0,04
		30	-1.25667*	0,14382	0	-1,73	-0,7833
2	2	1	0,25667	0,14382	0,432	-0,2167	0,73
		3	-0,34667	0,14382	0,189	-0,82	0,1267
		15	-0,25667	0,14382	0,432	-0,73	0,2167
		30	-1.00000*	0,14382	0	-1,4733	-0,5267
3	3	1	.60333*	0,14382	0,012	0,13	1,0767
		2	0,34667	0,14382	0,189	-0,1267	0,82
		15	0,09	0,14382	0,967	-0,3833	0,5633
		30	-.65333*	0,14382	0,007	-1,1267	-0,18
15	15	1	.51333*	0,14382	0,032	0,04	0,9867
		2	0,25667	0,14382	0,432	-0,2167	0,73
		3	-0,09	0,14382	0,967	-0,5633	0,3833
		30	-.74333*	0,14382	0,003	-1,2167	-0,27
30	30	1	1.25667*	0,14382	0	0,7833	1,73

		2	1.00000*	0,14382	0	0,5267	1,4733
		3	.65333*	0,14382	0,007	0,18	1,1267
		15	.74333*	0,14382	0,003	0,27	1,2167
4	1	2	-5.30333*	0,31147	0	-6,3284	-4,2783
		3	-7.05000*	0,31147	0	-8,0751	-6,0249
		15	-6.79333*	0,31147	0	-7,8184	-5,7683
		30	-6.66667*	0,31147	0	-7,6917	-5,6416
	2	1	5.30333*	0,31147	0	4,2783	6,3284
		3	-1.74667*	0,31147	0,002	-2,7717	-0,7216
		15	-1.49000*	0,31147	0,005	-2,5151	-0,4649
		30	-1.36333*	0,31147	0,009	-2,3884	-0,3383
	3	1	7.05000*	0,31147	0	6,0249	8,0751
		2	1.74667*	0,31147	0,002	0,7216	2,7717
		15	0,25667	0,31147	0,917	-0,7684	1,2817
		30	0,38333	0,31147	0,735	-0,6417	1,4084
	15	1	6.79333*	0,31147	0	5,7683	7,8184
		2	1.49000*	0,31147	0,005	0,4649	2,5151
		3	-0,25667	0,31147	0,917	-1,2817	0,7684
		30	0,12667	0,31147	0,993	-0,8984	1,1517
	30	1	6.66667*	0,31147	0	5,6416	7,6917
		2	1.36333*	0,31147	0,009	0,3383	2,3884
		3	-0,38333	0,31147	0,735	-1,4084	0,6417
		15	-0,12667	0,31147	0,993	-1,1517	0,8984
7	1	2	-7.63667*	0,14642	0	-8,1186	-7,1548
		3	-8.00000*	0,14642	0	-8,4819	-7,5181
		15	-8.14667*	0,14642	0	-8,6286	-7,6648
		30	-8.78333*	0,14642	0	-9,2652	-8,3014
	2	1	7.63667*	0,14642	0	7,1548	8,1186
		3	-0,36333	0,14642	0,171	-0,8452	0,1186
		15	-.51000*	0,14642	0,037	-0,9919	-0,0281
		30	-1.14667*	0,14642	0	-1,6286	-0,6648
	3	1	8.00000*	0,14642	0	7,5181	8,4819
		2	0,36333	0,14642	0,171	-0,1186	0,8452
		15	-0,14667	0,14642	0,849	-0,6286	0,3352
		30	-.78333*	0,14642	0,002	-1,2652	-0,3014
	15	1	8.14667*	0,14642	0	7,6648	8,6286
		2	.51000*	0,14642	0,037	0,0281	0,9919
		3	0,14667	0,14642	0,849	-0,3352	0,6286
		30	-.63667*	0,14642	0,01	-1,1186	-0,1548
	30	1	8.78333*	0,14642	0	8,3014	9,2652
		2	1.14667*	0,14642	0	0,6648	1,6286
		3	.78333*	0,14642	0,002	0,3014	1,2652
		15	.63667*	0,14642	0,01	0,1548	1,1186
10	1	2	-4.10000*	0,80813	0,003	-6,7596	-1,4404
		3	-5.90667*	0,80813	0	-8,5663	-3,247
		15	-4.77667*	0,80813	0,001	-7,4363	-2,117
		30	-5.25667*	0,80813	0,001	-7,9163	-2,597
	2	1	4.10000*	0,80813	0,003	1,4404	6,7596
		3	-1,80667	0,80813	0,242	-4,4663	0,853
		15	-0,67667	0,80813	0,913	-3,3363	1,983
		30	-1,15667	0,80813	0,623	-3,8163	1,503
	3	1	5.90667*	0,80813	0	3,247	8,5663
		2	1,80667	0,80813	0,242	-0,853	4,4663

		15	1,13	0,80813	0,642	-1,5296	3,7896
		30	0,65	0,80813	0,923	-2,0096	3,3096
	15	1	4.77667*	0,80813	0,001	2,117	7,4363
		2	0,67667	0,80813	0,913	-1,983	3,3363
		3	-1,13	0,80813	0,642	-3,7896	1,5296
		30	-0,48	0,80813	0,973	-3,1396	2,1796
	30	1	5.25667*	0,80813	0,001	2,597	7,9163
		2	1,15667	0,80813	0,623	-1,503	3,8163
		3	-0,65	0,80813	0,923	-3,3096	2,0096
		15	0,48	0,80813	0,973	-2,1796	3,1396
13	1	2	-8.72333*	0,32063	0	-9,7786	-7,6681
		3	-9.12667*	0,32063	0	-10,1819	-8,0714
		15	-6.83333*	0,32063	0	-7,8886	-5,7781
		30	-8.10667*	0,32063	0	-9,1619	-7,0514
	2	1	8.72333*	0,32063	0	7,6681	9,7786
		3	-0,40333	0,32063	0,72	-1,4586	0,6519
		15	1.89000*	0,32063	0,001	0,8348	2,9452
		30	0,61667	0,32063	0,365	-0,4386	1,6719
	3	1	9.12667*	0,32063	0	8,0714	10,1819
		2	0,40333	0,32063	0,72	-0,6519	1,4586
		15	2.29333*	0,32063	0	1,2381	3,3486
		30	1,02	0,32063	0,059	-0,0352	2,0752
	15	1	6.83333*	0,32063	0	5,7781	7,8886
		2	-1.89000*	0,32063	0,001	-2,9452	-0,8348
		3	-2.29333*	0,32063	0	-3,3486	-1,2381
		30	-1.27333*	0,32063	0,017	-2,3286	-0,2181
	30	1	8.10667*	0,32063	0	7,0514	9,1619
		2	-0,61667	0,32063	0,365	-1,6719	0,4386
		3	-1,02	0,32063	0,059	-2,0752	0,0352
		15	1.27333*	0,32063	0,017	0,2181	2,3286
* The mean difference is significant at the 0.05 level.							

Tabela 7.31- Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro a* em cada dia, amostra a amostra.

a		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Amostra	Between Groups	38,481	4	9,62	8,906	0,002
	Within Groups	10,802	10	1,08		
	Total	49,283	14			
2	Between Groups	199,07	4	49,768	777,294	0
	Within Groups	0,64	10	0,064		
	Total	199,71	14			
3	Between Groups	228,239	4	57,06	1349,996	0
	Within Groups	0,423	10	0,042		
	Total	228,662	14			
15	Between Groups	192,223	4	48,056	1035,979	0
	Within Groups	0,464	10	0,046		
	Total	192,686	14			

30	Between Groups	182,178	4	45,544	415,501	0
	Within Groups	1,096	10	0,11		
	Total	183,274	14			

Tabela 7.32 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro a^* em cada dia, amostra a amostra.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: a							
Tukey HSD							
Amostra	(I) Dia	(J) Dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	4	-3.11000*	0,84862	0,028	-5,9029	-0,3171
		7	-1,44333	0,84862	0,475	-4,2362	1,3495
		10	-4.72667*	0,84862	0,002	-7,5195	-1,9338
	4	13	-1,75	0,84862	0,306	-4,5429	1,0429
		1	3.11000*	0,84862	0,028	0,3171	5,9029
		7	1,66667	0,84862	0,347	-1,1262	4,4595
	7	10	-1,61667	0,84862	0,374	-4,4095	1,1762
		13	1,36	0,84862	0,527	-1,4329	4,1529
		1	1,44333	0,84862	0,475	-1,3495	4,2362
	10	4	-1,66667	0,84862	0,347	-4,4595	1,1262
		10	-3.28333*	0,84862	0,02	-6,0762	-0,4905
		13	-0,30667	0,84862	0,996	-3,0995	2,4862
13	1	4.72667*	0,84862	0,002	1,9338	7,5195	
	4	1,61667	0,84862	0,374	-1,1762	4,4095	
	7	3.28333*	0,84862	0,02	0,4905	6,0762	
2	1	13	2.97667*	0,84862	0,036	0,1838	5,7695
		1	1,75	0,84862	0,306	-1,0429	4,5429
		4	-1,36	0,84862	0,527	-4,1529	1,4329
4	7	7	0,30667	0,84862	0,996	-2,4862	3,0995
		10	-2.97667*	0,84862	0,036	-5,7695	-0,1838
		13	-8.15667*	0,2066	0	-8,8366	-7,4767
7	1	7	-8.82333*	0,2066	0	-9,5033	-8,1434
		10	-8.57000*	0,2066	0	-9,2499	-7,8901
		13	-10.21667*	0,2066	0	-10,8966	-9,5367
10	4	1	8.15667*	0,2066	0	7,4767	8,8366
		7	-0,66667	0,2066	0,055	-1,3466	0,0133
		10	-0,41333	0,2066	0,331	-1,0933	0,2666
13	7	13	-2.06000*	0,2066	0	-2,7399	-1,3801
		1	8.82333*	0,2066	0	8,1434	9,5033
		4	0,66667	0,2066	0,055	-0,0133	1,3466
		10	0,25333	0,2066	0,738	-0,4266	0,9333

		13	-1.39333*	0,2066	0	-2,0733	-0,7134
	10	1	8.57000*	0,2066	0	7,8901	9,2499
		4	0,41333	0,2066	0,331	-0,2666	1,0933
		7	-0,25333	0,2066	0,738	-0,9333	0,4266
		13	-1.64667*	0,2066	0	-2,3266	-0,9667
	13	1	10.21667*	0,2066	0	9,5367	10,8966
		4	2.06000*	0,2066	0	1,3801	2,7399
		7	1.39333*	0,2066	0	0,7134	2,0733
		10	1.64667*	0,2066	0	0,9667	2,3266
3	1	4	-9.55667*	0,16786	0	-10,1091	-9,0042
		7	-8.84000*	0,16786	0	-9,3924	-8,2876
		10	-10.03000*	0,16786	0	-10,5824	-9,4776
		13	-10.27333*	0,16786	0	-10,8258	-9,7209
	4	1	9.55667*	0,16786	0	9,0042	10,1091
		7	.71667*	0,16786	0,011	0,1642	1,2691
		10	-0,47333	0,16786	0,103	-1,0258	0,0791
		13	-.71667*	0,16786	0,011	-1,2691	-0,1642
	7	1	8.84000*	0,16786	0	8,2876	9,3924
		4	-.71667*	0,16786	0,011	-1,2691	-0,1642
		10	-1.19000*	0,16786	0	-1,7424	-0,6376
		13	-1.43333*	0,16786	0	-1,9858	-0,8809
	10	1	10.03000*	0,16786	0	9,4776	10,5824
		4	0,47333	0,16786	0,103	-0,0791	1,0258
		7	1.19000*	0,16786	0	0,6376	1,7424
		13	-0,24333	0,16786	0,613	-0,7958	0,3091
	13	1	10.27333*	0,16786	0	9,7209	10,8258
		4	.71667*	0,16786	0,011	0,1642	1,2691
		7	1.43333*	0,16786	0	0,8809	1,9858
		10	0,24333	0,16786	0,613	-0,3091	0,7958
15	1	4	-9.39000*	0,17585	0	-9,9687	-8,8113
		7	-9.07667*	0,17585	0	-9,6554	-8,4979
		10	-8.99000*	0,17585	0	-9,5687	-8,4113
		13	-8.07000*	0,17585	0	-8,6487	-7,4913
	4	1	9.39000*	0,17585	0	8,8113	9,9687
		7	0,31333	0,17585	0,433	-0,2654	0,8921
		10	0,4	0,17585	0,23	-0,1787	0,9787
		13	1.32000*	0,17585	0	0,7413	1,8987
	7	1	9.07667*	0,17585	0	8,4979	9,6554
		4	-0,31333	0,17585	0,433	-0,8921	0,2654
		10	0,08667	0,17585	0,986	-0,4921	0,6654
		13	1.00667*	0,17585	0,001	0,4279	1,5854
	10	1	8.99000*	0,17585	0	8,4113	9,5687
		4	-0,4	0,17585	0,23	-0,9787	0,1787
		7	-0,08667	0,17585	0,986	-0,6654	0,4921

		13	.92000*	0,17585	0,003	0,3413	1,4987
	13	1	8.07000*	0,17585	0	7,4913	8,6487
		4	-1.32000*	0,17585	0	-1,8987	-0,7413
		7	-1.00667*	0,17585	0,001	-1,5854	-0,4279
		10	-.92000*	0,17585	0,003	-1,4987	-0,3413
30	1	4	-8.52000*	0,27032	0	-9,4097	-7,6303
		7	-8.97000*	0,27032	0	-9,8597	-8,0803
		10	-8.72667*	0,27032	0	-9,6163	-7,837
		13	-8.60000*	0,27032	0	-9,4897	-7,7103
	4	1	8.52000*	0,27032	0	7,6303	9,4097
		7	-0,45	0,27032	0,494	-1,3397	0,4397
		10	-0,20667	0,27032	0,935	-1,0963	0,683
		13	-0,08	0,27032	0,998	-0,9697	0,8097
	7	1	8.97000*	0,27032	0	8,0803	9,8597
		4	0,45	0,27032	0,494	-0,4397	1,3397
		10	0,24333	0,27032	0,89	-0,6463	1,133
		13	0,37	0,27032	0,659	-0,5197	1,2597
	10	1	8.72667*	0,27032	0	7,837	9,6163
		4	0,20667	0,27032	0,935	-0,683	1,0963
		7	-0,24333	0,27032	0,89	-1,133	0,6463
		13	0,12667	0,27032	0,989	-0,763	1,0163
	13	1	8.60000*	0,27032	0	7,7103	9,4897
		4	0,08	0,27032	0,998	-0,8097	0,9697
		7	-0,37	0,27032	0,659	-1,2597	0,5197
		10	-0,12667	0,27032	0,989	-1,0163	0,763
* The mean difference is significant at the 0.05 level.							

Tabela 7.33 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro b* na amostra, dia-a-dia.

b						
Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	34,408	4	8,602	14,138	0
	Within Groups	6,084	10	0,608		
	Total	40,492	14			
4	Between Groups	48,029	4	12,007	17,084	0
	Within Groups	7,029	10	0,703		
	Total	55,058	14			
7	Between Groups	17,132	4	4,283	28,613	0
	Within Groups	1,497	10	0,15		
	Total	18,629	14			
10	Between Groups	233,602	4	58,4	36,68	0
	Within Groups	15,922	10	1,592		

	Total	249,523	14			
13	Between Groups	29,494	4	7,374	10,331	0,001
	Within Groups	7,137	10	0,714		
	Total	36,632	14			

Tabela 7.34 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro b* na amostra, dia-a-dia.

Multiple Comparisons								
Dependent Variable: b								
Tukey HSD								
Dia	(I) Amostra	(J) Amostra	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
1	1	2	3.00333*	0,63688	0,006	0,9073	5,0994	
		3	0,50333	0,63688	0,928	-1,5927	2,5994	
		15	3.01000*	0,63688	0,006	0,914	5,106	
	2	30	-0,53667	0,63688	0,911	-2,6327	1,5594	
		1	-3.00333*	0,63688	0,006	-5,0994	-0,9073	
		3	-2.50000*	0,63688	0,019	-4,596	-0,404	
	3	15	0,00667	0,63688	1	-2,0894	2,1027	
		30	-3.54000*	0,63688	0,002	-5,636	-1,444	
		1	-0,50333	0,63688	0,928	-2,5994	1,5927	
	15	2	3	2.50000*	0,63688	0,019	0,404	4,596
			15	2.50667*	0,63688	0,018	0,4106	4,6027
			30	-1,04	0,63688	0,511	-3,136	1,056
30		1	-3.01000*	0,63688	0,006	-5,106	-0,914	
		2	-0,00667	0,63688	1	-2,1027	2,0894	
		3	-2.50667*	0,63688	0,018	-4,6027	-0,4106	
30	30	30	-3.54667*	0,63688	0,002	-5,6427	-1,4506	
		1	0,53667	0,63688	0,911	-1,5594	2,6327	
		2	3.54000*	0,63688	0,002	1,444	5,636	
	4	1	3	1,04	0,63688	0,511	-1,056	3,136
			15	3.54667*	0,63688	0,002	1,4506	5,6427
			2	4.06333*	0,68452	0,001	1,8105	6,3162
	7	1	3	-0,08	0,68452	1	-2,3328	2,1728
			15	-0,09333	0,68452	1	-2,3462	2,1595
			30	2.99333*	0,68452	0,01	0,7405	5,2462
		2	1	-4.06333*	0,68452	0,001	-6,3162	-1,8105
			3	-4.14333*	0,68452	0,001	-6,3962	-1,8905
			15	-4.15667*	0,68452	0,001	-6,4095	-1,9038
3		30	30	-1,07	0,68452	0,549	-3,3228	1,1828
			1	0,08	0,68452	1	-2,1728	2,3328
			2	4.14333*	0,68452	0,001	1,8905	6,3962
		15	15	-0,01333	0,68452	1	-2,2662	2,2395
			30	3.07333*	0,68452	0,008	0,8205	5,3262
			1	0,09333	0,68452	1	-2,1595	2,3462
30	2	2	4.15667*	0,68452	0,001	1,9038	6,4095	
		3	0,01333	0,68452	1	-2,2395	2,2662	
		30	3.08667*	0,68452	0,008	0,8338	5,3395	
	7	1	1	-2.99333*	0,68452	0,01	-5,2462	-0,7405
			2	1,07	0,68452	0,549	-1,1828	3,3228
			3	-3.07333*	0,68452	0,008	-5,3262	-0,8205
15	30	15	-3.08667*	0,68452	0,008	-5,3395	-0,8338	
		2	-0,24333	0,3159	0,934	-1,283	0,7963	
		3	-0,56333	0,3159	0,432	-1,603	0,4763	
7	15	15	2.28667*	0,3159	0	1,247	3,3263	
		30	1.27333*	0,3159	0,016	0,2337	2,313	

	2	1	0,24333	0,3159	0,934	-0,7963	1,283
		3	-0,32	0,3159	0,844	-1,3596	0,7196
		15	2.53000*	0,3159	0	1,4904	3,5696
		30	1.51667*	0,3159	0,005	0,477	2,5563
	3	1	0,56333	0,3159	0,432	-0,4763	1,603
		2	0,32	0,3159	0,844	-0,7196	1,3596
		15	2.85000*	0,3159	0	1,8104	3,8896
		30	1.83667*	0,3159	0,001	0,797	2,8763
	15	1	-2.28667*	0,3159	0	-3,3263	-1,247
		2	-2.53000*	0,3159	0	-3,5696	-1,4904
		3	-2.85000*	0,3159	0	-3,8896	-1,8104
		30	-1,01333	0,3159	0,057	-2,053	0,0263
	30	1	-1.27333*	0,3159	0,016	-2,313	-0,2337
		2	-1.51667*	0,3159	0,005	-2,5563	-0,477
		3	-1.83667*	0,3159	0,001	-2,8763	-0,797
		15	1,01333	0,3159	0,057	-0,0263	2,053
10	1	2	8.73667*	1,03027	0	5,346	12,1274
		3	8.69333*	1,03027	0	5,3026	12,084
		15	11.79667*	1,03027	0	8,406	15,1874
		30	6.64333*	1,03027	0,001	3,2526	10,034
	2	1	-8.73667*	1,03027	0	-12,1274	-5,346
		3	-0,04333	1,03027	1	-3,434	3,3474
		15	3,06	1,03027	0,082	-0,3307	6,4507
		30	-2,09333	1,03027	0,318	-5,484	1,2974
	3	1	-8.69333*	1,03027	0	-12,084	-5,3026
		2	0,04333	1,03027	1	-3,3474	3,434
		15	3,10333	1,03027	0,077	-0,2874	6,494
		30	-2,05	1,03027	0,336	-5,4407	1,3407
	15	1	-11.79667*	1,03027	0	-15,1874	-8,406
		2	-3,06	1,03027	0,082	-6,4507	0,3307
		3	-3,10333	1,03027	0,077	-6,494	0,2874
		30	-5.15333*	1,03027	0,004	-8,544	-1,7626
	30	1	-6.64333*	1,03027	0,001	-10,034	-3,2526
		2	2,09333	1,03027	0,318	-1,2974	5,484
		3	2,05	1,03027	0,336	-1,3407	5,4407
		15	5.15333*	1,03027	0,004	1,7626	8,544
13	1	2	-2.68667*	0,6898	0,02	-4,9569	-0,4165
		3	-3.36000*	0,6898	0,005	-5,6302	-1,0898
		15	-0,57333	0,6898	0,915	-2,8435	1,6969
		30	-0,09333	0,6898	1	-2,3635	2,1769
	2	1	2.68667*	0,6898	0,02	0,4165	4,9569
		3	-0,67333	0,6898	0,86	-2,9435	1,5969
		15	2,11333	0,6898	0,071	-0,1569	4,3835
		30	2.59333*	0,6898	0,024	0,3231	4,8635
	3	1	3.36000*	0,6898	0,005	1,0898	5,6302
		2	0,67333	0,6898	0,86	-1,5969	2,9435
		15	2.78667*	0,6898	0,016	0,5165	5,0569
		30	3.26667*	0,6898	0,006	0,9965	5,5369
	15	1	0,57333	0,6898	0,915	-1,6969	2,8435
		2	-2,11333	0,6898	0,071	-4,3835	0,1569
		3	-2.78667*	0,6898	0,016	-5,0569	-0,5165
		30	0,48	0,6898	0,953	-1,7902	2,7502
	30	1	0,09333	0,6898	1	-2,1769	2,3635
		2	-2.59333*	0,6898	0,024	-4,8635	-0,3231
		3	-3.26667*	0,6898	0,006	-5,5369	-0,9965
		15	-0,48	0,6898	0,953	-2,7502	1,7902
* The mean difference is significant at the 0.05 level.							

Tabela 7.35 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro b* em cada dia, amostra a amostra.

b						
Amostra		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	131,389	4	32,847	44,779	0
	Within Groups	7,335	10	0,734		
	Total	138,725	14			
2	Between Groups	51,696	4	12,924	39,684	0
	Within Groups	3,257	10	0,326		
	Total	54,953	14			
3	Between Groups	44,07	4	11,018	17,457	0
	Within Groups	6,311	10	0,631		
	Total	50,382	14			
15	Between Groups	97,661	4	24,415	34,371	0
	Within Groups	7,103	10	0,71		
	Total	104,765	14			
30	Between Groups	4,934	4	1,233	0,903	0,498
	Within Groups	13,662	10	1,366		
	Total	18,596	14			

Tabela 7.36 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro b* em cada dia, amostra a amostra.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: b							
Tukey HSD							
Amostra	(I) Dia	(J) Dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	4	-3.04333*	0,69931	0,01	-5,3448	-0,7419
		7	-1,53667	0,69931	0,255	-3,8381	0,7648
		10	-7.48667*	0,69931	0	-9,7881	-5,1852
		13	0,94	0,69931	0,673	-1,3615	3,2415
	4	1	3.04333*	0,69931	0,01	0,7419	5,3448
		7	1,50667	0,69931	0,271	-0,7948	3,8081
		10	-4.44333*	0,69931	0,001	-6,7448	-2,1419
		13	3.98333*	0,69931	0,001	1,6819	6,2848
	7	1	1,53667	0,69931	0,255	-0,7648	3,8381
		4	-1,50667	0,69931	0,271	-3,8081	0,7948
		10	-5.95000*	0,69931	0	-8,2515	-3,6485
		13	2.47667*	0,69931	0,034	0,1752	4,7781
10	1	7.48667*	0,69931	0	5,1852	9,7881	
	4	4.44333*	0,69931	0,001	2,1419	6,7448	
	7	5.95000*	0,69931	0	3,6485	8,2515	
	13	8.42667*	0,69931	0	6,1252	10,7281	
13	1	-0,94	0,69931	0,673	-3,2415	1,3615	
	4	-3.98333*	0,69931	0,001	-6,2848	-1,6819	

		7	-2.47667*	0,69931	0,034	-4,7781	-0,1752
		10	-8.42667*	0,69931	0	-10,7281	-6,1252
2	1	4	-1.98333*	0,46596	0,011	-3,5168	-0,4498
		7	-4.78333*	0,46596	0	-6,3168	-3,2498
		10	-1.75333*	0,46596	0,024	-3,2868	-0,2198
		13	-4.75000*	0,46596	0	-6,2835	-3,2165
	4	1	1.98333*	0,46596	0,011	0,4498	3,5168
		7	-2.80000*	0,46596	0,001	-4,3335	-1,2665
		10	0,23	0,46596	0,986	-1,3035	1,7635
		13	-2.76667*	0,46596	0,001	-4,3002	-1,2332
	7	1	4.78333*	0,46596	0	3,2498	6,3168
		4	2.80000*	0,46596	0,001	1,2665	4,3335
		10	3.03000*	0,46596	0,001	1,4965	4,5635
		13	0,03333	0,46596	1	-1,5002	1,5668
	10	1	1.75333*	0,46596	0,024	0,2198	3,2868
		4	-0,23	0,46596	0,986	-1,7635	1,3035
		7	-3.03000*	0,46596	0,001	-4,5635	-1,4965
		13	-2.99667*	0,46596	0,001	-4,5302	-1,4632
	13	1	4.75000*	0,46596	0	3,2165	6,2835
		4	2.76667*	0,46596	0,001	1,2332	4,3002
		7	-0,03333	0,46596	1	-1,5668	1,5002
		10	2.99667*	0,46596	0,001	1,4632	4,5302
3	1	4	-3.62667*	0,64865	0,002	-5,7614	-1,4919
		7	-2.60333*	0,64865	0,016	-4,7381	-0,4686
		10	0,70333	0,64865	0,811	-1,4314	2,8381
		13	-2.92333*	0,64865	0,008	-5,0581	-0,7886
	4	1	3.62667*	0,64865	0,002	1,4919	5,7614
		7	1,02333	0,64865	0,541	-1,1114	3,1581
		10	4.33000*	0,64865	0	2,1952	6,4648
		13	0,70333	0,64865	0,811	-1,4314	2,8381
	7	1	2.60333*	0,64865	0,016	0,4686	4,7381
		4	-1,02333	0,64865	0,541	-3,1581	1,1114
		10	3.30667*	0,64865	0,003	1,1719	5,4414
		13	-0,32	0,64865	0,986	-2,4548	1,8148
	10	1	-0,70333	0,64865	0,811	-2,8381	1,4314
		4	-4.33000*	0,64865	0	-6,4648	-2,1952
		7	-3.30667*	0,64865	0,003	-5,4414	-1,1719
		13	-3.62667*	0,64865	0,002	-5,7614	-1,4919
	13	1	2.92333*	0,64865	0,008	0,7886	5,0581
		4	-0,70333	0,64865	0,811	-2,8381	1,4314
		7	0,32	0,64865	0,986	-1,8148	2,4548
		10	3.62667*	0,64865	0,002	1,4919	5,7614
15	1	4	-6.14667*	0,68816	0	-8,4115	-3,8819
		7	-2,26	0,68816	0,051	-4,5248	0,0048

		10	1,3	0,68816	0,381	-0,9648	3,5648
		13	-2.64333*	0,68816	0,021	-4,9081	-0,3785
	4	1	6.14667*	0,68816	0	3,8819	8,4115
		7	3.88667*	0,68816	0,002	1,6219	6,1515
		10	7.44667*	0,68816	0	5,1819	9,7115
		13	3.50333*	0,68816	0,003	1,2385	5,7681
	7	1	2,26	0,68816	0,051	-0,0048	4,5248
		4	-3.88667*	0,68816	0,002	-6,1515	-1,6219
		10	3.56000*	0,68816	0,003	1,2952	5,8248
		13	-0,38333	0,68816	0,978	-2,6481	1,8815
	10	1	-1,3	0,68816	0,381	-3,5648	0,9648
		4	-7.44667*	0,68816	0	-9,7115	-5,1819
		7	-3.56000*	0,68816	0,003	-5,8248	-1,2952
		13	-3.94333*	0,68816	0,001	-6,2081	-1,6785
	13	1	2.64333*	0,68816	0,021	0,3785	4,9081
		4	-3.50333*	0,68816	0,003	-5,7681	-1,2385
		7	0,38333	0,68816	0,978	-1,8815	2,6481
		10	3.94333*	0,68816	0,001	1,6785	6,2081
30	1	4	0,48667	0,95436	0,984	-2,6542	3,6276
		7	0,27333	0,95436	0,998	-2,8676	3,4142
		10	-0,30667	0,95436	0,997	-3,4476	2,8342
		13	1,38333	0,95436	0,613	-1,7576	4,5242
	4	1	-0,48667	0,95436	0,984	-3,6276	2,6542
		7	-0,21333	0,95436	0,999	-3,3542	2,9276
		10	-0,79333	0,95436	0,915	-3,9342	2,3476
		13	0,89667	0,95436	0,875	-2,2442	4,0376
	7	1	-0,27333	0,95436	0,998	-3,4142	2,8676
		4	0,21333	0,95436	0,999	-2,9276	3,3542
		10	-0,58	0,95436	0,971	-3,7209	2,5609
		13	1,11	0,95436	0,771	-2,0309	4,2509
	10	1	0,30667	0,95436	0,997	-2,8342	3,4476
		4	0,79333	0,95436	0,915	-2,3476	3,9342
		7	0,58	0,95436	0,971	-2,5609	3,7209
		13	1,69	0,95436	0,438	-1,4509	4,8309
	13	1	-1,38333	0,95436	0,613	-4,5242	1,7576
		4	-0,89667	0,95436	0,875	-4,0376	2,2442
		7	-1,11	0,95436	0,771	-4,2509	2,0309
		10	-1,69	0,95436	0,438	-4,8309	1,4509
* The mean difference is significant at the 0.05 level.							

7.1.4 Avaliação do pH

Tabela 7.37 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do pH na amostra, dia-a-dia.

Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1,00	Between Groups	,100	4	,025	625,583	,000
	Within Groups	,000	10	,000		
	Total	,100	14			
4,00	Between Groups	,255	4	,064	1364,071	,000
	Within Groups	,000	10	,000		
	Total	,255	14			
7,00	Between Groups	,103	4	,026	965,375	,000
	Within Groups	,000	10	,000		
	Total	,103	14			
10,00	Between Groups	,052	4	,013	241,875	,000
	Within Groups	,001	10	,000		
	Total	,052	14			
13,00	Between Groups	,176	4	,044	825,188	,000
	Within Groups	,001	10	,000		
	Total	,177	14			

Tabela 7.38 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do pH na amostra, dia-a-dia.

Dia		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1,00	2,00	,19333*	,00516	,000	,1763	,2103
	3,00	,23667*	,00516	,000	,2197	,2537
	15,00	,18667*	,00516	,000	,1697	,2037
	30,00	,17000*	,00516	,000	,1530	,1870
2,00	1,00	-,19333*	,00516	,000	-,2103	-,1763
	3,00	,04333*	,00516	,000	,0263	,0603
	15,00	-,00667	,00516	,702	-,0237	,0103
	30,00	-,02333*	,00516	,008	-,0403	-,0063
3,00	1,00	-,23667*	,00516	,000	-,2537	-,2197
	2,00	-,04333*	,00516	,000	-,0603	-,0263
	15,00	-,05000*	,00516	,000	-,0670	-,0330
	30,00	-,06667*	,00516	,000	-,0837	-,0497
15,00	1,00	-,18667*	,00516	,000	-,2037	-,1697

		2,00	,00667	,00516	,702	-,0103	,0237
		3,00	,05000*	,00516	,000	,0330	,0670
		30,00	-,01667	,00516	,055	-,0337	,0003
		1,00	-,17000*	,00516	,000	-,1870	-,1530
	30,00	2,00	,02333*	,00516	,008	,0063	,0403
		3,00	,06667*	,00516	,000	,0497	,0837
		15,00	,01667	,00516	,055	-,0003	,0337
		2,00	,30000*	,00558	,000	,2816	,3184
	1,00	3,00	,36000*	,00558	,000	,3416	,3784
		15,00	,31000*	,00558	,000	,2916	,3284
		30,00	,31667*	,00558	,000	,2983	,3350
		1,00	-,30000*	,00558	,000	-,3184	-,2816
	2,00	3,00	,06000*	,00558	,000	,0416	,0784
		15,00	,01000	,00558	,427	-,0084	,0284
		30,00	,01667	,00558	,080	-,0017	,0350
		1,00	-,36000*	,00558	,000	-,3784	-,3416
4,00	3,00	2,00	-,06000*	,00558	,000	-,0784	-,0416
		15,00	-,05000*	,00558	,000	-,0684	-,0316
		30,00	-,04333*	,00558	,000	-,0617	-,0250
		1,00	-,31000*	,00558	,000	-,3284	-,2916
	15,00	2,00	-,01000	,00558	,427	-,0284	,0084
		3,00	,05000*	,00558	,000	,0316	,0684
		30,00	,00667	,00558	,754	-,0117	,0250
		1,00	-,31667*	,00558	,000	-,3350	-,2983
	30,00	2,00	-,01667	,00558	,080	-,0350	,0017
		3,00	,04333*	,00558	,000	,0250	,0617
		15,00	-,00667	,00558	,754	-,0250	,0117
		2,00	,22333*	,00422	,000	,2095	,2372
	1,00	3,00	,15667*	,00422	,000	,1428	,1705
		15,00	,22000*	,00422	,000	,2061	,2339
		30,00	,19333*	,00422	,000	,1795	,2072
		1,00	-,22333*	,00422	,000	-,2372	-,2095
	2,00	3,00	-,06667*	,00422	,000	-,0805	-,0528
		15,00	-,00333	,00422	,928	-,0172	,0105
		30,00	-,03000*	,00422	,000	-,0439	-,0161
7,00		1,00	-,15667*	,00422	,000	-,1705	-,1428
	3,00	2,00	,06667*	,00422	,000	,0528	,0805
		15,00	,06333*	,00422	,000	,0495	,0772
		30,00	,03667*	,00422	,000	,0228	,0505
		1,00	-,22000*	,00422	,000	-,2339	-,2061
	15,00	2,00	,00333	,00422	,928	-,0105	,0172
		3,00	-,06333*	,00422	,000	-,0772	-,0495
		30,00	-,02667*	,00422	,001	-,0405	-,0128
	30,00	1,00	-,19333*	,00422	,000	-,2072	-,1795
		2,00	,03000*	,00422	,000	,0161	,0439

		3,00	-,03667*	,00422	,000	-,0505	-,0228
		15,00	,02667*	,00422	,001	,0128	,0405
		2,00	,05000*	,00596	,000	,0304	,0696
	1,00	3,00	,15000*	,00596	,000	,1304	,1696
		15,00	,14333*	,00596	,000	,1237	,1630
		30,00	,12333*	,00596	,000	,1037	,1430
		1,00	-,05000*	,00596	,000	-,0696	-,0304
	2,00	3,00	,10000*	,00596	,000	,0804	,1196
		15,00	,09333*	,00596	,000	,0737	,1130
		30,00	,07333*	,00596	,000	,0537	,0930
		1,00	-,15000*	,00596	,000	-,1696	-,1304
	3,00	2,00	-,10000*	,00596	,000	-,1196	-,0804
10,00		15,00	-,00667	,00596	,794	-,0263	,0130
		30,00	-,02667*	,00596	,008	-,0463	-,0070
		1,00	-,14333*	,00596	,000	-,1630	-,1237
	15,00	2,00	-,09333*	,00596	,000	-,1130	-,0737
		3,00	,00667	,00596	,794	-,0130	,0263
		30,00	-,02000*	,00596	,045	-,0396	-,0004
		1,00	-,12333*	,00596	,000	-,1430	-,1037
	30,00	2,00	-,07333*	,00596	,000	-,0930	-,0537
		3,00	,02667*	,00596	,008	,0070	,0463
		15,00	,02000*	,00596	,045	,0004	,0396
		2,00	,24667*	,00596	,000	,2270	,2663
	1,00	3,00	,29000*	,00596	,000	,2704	,3096
		15,00	,26000*	,00596	,000	,2404	,2796
		30,00	,27667*	,00596	,000	,2570	,2963
		1,00	-,24667*	,00596	,000	-,2663	-,2270
	2,00	3,00	,04333*	,00596	,000	,0237	,0630
		15,00	,01333	,00596	,242	-,0063	,0330
		30,00	,03000*	,00596	,004	,0104	,0496
		1,00	-,29000*	,00596	,000	-,3096	-,2704
	3,00	2,00	-,04333*	,00596	,000	-,0630	-,0237
13,00		15,00	-,03000*	,00596	,004	-,0496	-,0104
		30,00	-,01333	,00596	,242	-,0330	,0063
		1,00	-,26000*	,00596	,000	-,2796	-,2404
	15,00	2,00	-,01333	,00596	,242	-,0330	,0063
		3,00	,03000*	,00596	,004	,0104	,0496
		30,00	,01667	,00596	,107	-,0030	,0363
		1,00	-,27667*	,00596	,000	-,2963	-,2570
	30,00	2,00	-,03000*	,00596	,004	-,0496	-,0104
		3,00	,01333	,00596	,242	-,0063	,0330
		15,00	-,01667	,00596	,107	-,0363	,0030

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabela 7.39 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do pH em cada dia, amostra a amostra.

Amostra		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1,00	Between Groups	,089	4	,022	332,650	,000
	Within Groups	,001	10	,000		
	Total	,089	14			
2,00	Between Groups	,020	4	,005	82,889	,000
	Within Groups	,001	10	,000		
	Total	,020	14			
3,00	Between Groups	,008	4	,002	73,750	,000
	Within Groups	,000	10	,000		
	Total	,008	14			
15,00	Between Groups	,011	4	,003	71,083	,000
	Within Groups	,000	10	,000		
	Total	,012	14			
30,00	Between Groups	,008	4	,002	73,375	,000
	Within Groups	,000	10	,000		
	Total	,008	14			

Tabela 7.40 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do pH em cada dia, amostra a amostra.

Multiple Comparisons
Dependent Variable: pH
Tukey HSD

Amostra		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1,00	4,00	-,14000*	,00667	,000	-,1619	-,1181
	7,00	,02333*	,00667	,036	,0014	,0453
	10,00	,09000*	,00667	,000	,0681	,1119
	13,00	-,05000*	,00667	,000	-,0719	-,0281
4,00	1,00	,14000*	,00667	,000	,1181	,1619
	7,00	,16333*	,00667	,000	,1414	,1853
	10,00	,23000*	,00667	,000	,2081	,2519
	13,00	,09000*	,00667	,000	,0681	,1119

		1,00	-,02333*	,00667	,036	-,0453	-,0014
	7,00	4,00	-,16333*	,00667	,000	-,1853	-,1414
		10,00	,06667*	,00667	,000	,0447	,0886
		13,00	-,07333*	,00667	,000	-,0953	-,0514
		1,00	-,09000*	,00667	,000	-,1119	-,0681
	10,00	4,00	-,23000*	,00667	,000	-,2519	-,2081
		7,00	-,06667*	,00667	,000	-,0886	-,0447
		13,00	-,14000*	,00667	,000	-,1619	-,1181
		1,00	,05000*	,00667	,000	,0281	,0719
	13,00	4,00	-,09000*	,00667	,000	-,1119	-,0681
		7,00	,07333*	,00667	,000	,0514	,0953
		10,00	,14000*	,00667	,000	,1181	,1619
		4,00	-,03333*	,00632	,003	-,0541	-,0125
	1,00	7,00	,05333*	,00632	,000	,0325	,0741
		10,00	-,05333*	,00632	,000	-,0741	-,0325
		13,00	,00333	,00632	,982	-,0175	,0241
		1,00	,03333*	,00632	,003	,0125	,0541
	4,00	7,00	,08667*	,00632	,000	,0659	,1075
		10,00	-,02000	,00632	,061	-,0408	,0008
		13,00	,03667*	,00632	,001	,0159	,0575
		1,00	-,05333*	,00632	,000	-,0741	-,0325
2,00	7,00	4,00	-,08667*	,00632	,000	-,1075	-,0659
		10,00	-,10667*	,00632	,000	-,1275	-,0859
		13,00	-,05000*	,00632	,000	-,0708	-,0292
		1,00	,05333*	,00632	,000	,0325	,0741
	10,00	4,00	,02000	,00632	,061	-,0008	,0408
		7,00	,10667*	,00632	,000	,0859	,1275
		13,00	,05667*	,00632	,000	,0359	,0775
		1,00	-,00333	,00632	,982	-,0241	,0175
	13,00	4,00	-,03667*	,00632	,001	-,0575	-,0159
		7,00	,05000*	,00632	,000	,0292	,0708
		10,00	-,05667*	,00632	,000	-,0775	-,0359
		4,00	-,01667*	,00422	,018	-,0305	-,0028
	1,00	7,00	-,05667*	,00422	,000	-,0705	-,0428
		10,00	,00333	,00422	,928	-,0105	,0172
		13,00	,00333	,00422	,928	-,0105	,0172
		1,00	,01667*	,00422	,018	,0028	,0305
	4,00	7,00	-,04000*	,00422	,000	-,0539	-,0261
3,00		10,00	,02000*	,00422	,005	,0061	,0339
		13,00	,02000*	,00422	,005	,0061	,0339
		1,00	,05667*	,00422	,000	,0428	,0705
	7,00	4,00	,04000*	,00422	,000	,0261	,0539
		10,00	,06000*	,00422	,000	,0461	,0739
		13,00	,06000*	,00422	,000	,0461	,0739
	10,00	1,00	-,00333	,00422	,928	-,0172	,0105

		4,00	-,02000*	,00422	,005	-,0339	-,0061
		7,00	-,06000*	,00422	,000	-,0739	-,0461
		13,00	0,00000	,00422	1,000	-,0139	,0139
		1,00	-,00333	,00422	,928	-,0172	,0105
	13,00	4,00	-,02000*	,00422	,005	-,0339	-,0061
		7,00	-,06000*	,00422	,000	-,0739	-,0461
		10,00	0,00000	,00422	1,000	-,0139	,0139
		4,00	-,01667	,00516	,055	-,0337	,0003
	1,00	7,00	,05667*	,00516	,000	,0397	,0737
		10,00	,04667*	,00516	,000	,0297	,0637
		13,00	,02333*	,00516	,008	,0063	,0403
		1,00	,01667	,00516	,055	-,0003	,0337
	4,00	7,00	,07333*	,00516	,000	,0563	,0903
		10,00	,06333*	,00516	,000	,0463	,0803
		13,00	,04000*	,00516	,000	,0230	,0570
		1,00	-,05667*	,00516	,000	-,0737	-,0397
	7,00	4,00	-,07333*	,00516	,000	-,0903	-,0563
		10,00	-,01000	,00516	,359	-,0270	,0070
		13,00	-,03333*	,00516	,001	-,0503	-,0163
		1,00	-,04667*	,00516	,000	-,0637	-,0297
	10,00	4,00	-,06333*	,00516	,000	-,0803	-,0463
		7,00	,01000	,00516	,359	-,0070	,0270
		13,00	-,02333*	,00516	,008	-,0403	-,0063
		1,00	-,02333*	,00516	,008	-,0403	-,0063
	13,00	4,00	-,04000*	,00516	,000	-,0570	-,0230
		7,00	,03333*	,00516	,001	,0163	,0503
		10,00	,02333*	,00516	,008	,0063	,0403
		4,00	,00667	,00422	,539	-,0072	,0205
	1,00	7,00	,04667*	,00422	,000	,0328	,0605
		10,00	,04333*	,00422	,000	,0295	,0572
		13,00	,05667*	,00422	,000	,0428	,0705
		1,00	-,00667	,00422	,539	-,0205	,0072
	4,00	7,00	,04000*	,00422	,000	,0261	,0539
		10,00	,03667*	,00422	,000	,0228	,0505
		13,00	,05000*	,00422	,000	,0361	,0639
	30,00	1,00	-,04667*	,00422	,000	-,0605	-,0328
		4,00	-,04000*	,00422	,000	-,0539	-,0261
	7,00	10,00	-,00333	,00422	,928	-,0172	,0105
		13,00	,01000	,00422	,200	-,0039	,0239
		1,00	-,04333*	,00422	,000	-,0572	-,0295
	10,00	4,00	-,03667*	,00422	,000	-,0505	-,0228
		7,00	,00333	,00422	,928	-,0105	,0172
		13,00	,01333	,00422	,061	-,0005	,0272
	13,00	1,00	-,05667*	,00422	,000	-,0705	-,0428

4,00	-,05000*	,00422	,000	-,0639	-,0361
7,00	-,01000	,00422	,200	-,0239	,0039
10,00	-,01333	,00422	,061	-,0272	,0005

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

7.2 Amostras com QC e controle

7.2.1 Avaliação da firmeza e atributo crocante

Tabela 7.41 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito da firmeza na amostra, dia-a-dia.

Área						
Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	4106070,89	2	2053035,444	1,678	0,264
	Within Groups	7341000	6	1223500		
	Total	11447070,9	8			
3	Between Groups	1469664,89	2	734832,444	2,876	0,133
	Within Groups	1532989,33	6	255498,222		
	Total	3002654,22	8			
5	Between Groups	7443176,22	2	3721588,111	2,643	0,15
	Within Groups	8448958	6	1408159,667		
	Total	15892134,2	8			

Tabela 7.42 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito da firmeza na amostra, dia-a-dia.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: Área							
Tukey HSD							
Dia	(I) Amostra	(J) Amostra	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	2	1638,33333	903,14266	0,243	-1132,7564	4409,423
		3	1019	903,14266	0,533	-1752,0897	3790,0897
	2	1	-1638,33333	903,14266	0,243	-4409,423	1132,7564
		3	-619,33333	903,14266	0,78	-3390,423	2151,7564
	3	1	-1019	903,14266	0,533	-3790,0897	1752,0897
		2	619,33333	903,14266	0,78	-2151,7564	3390,423
3	1	2	-989,33333	412,71315	0,116	-2255,6506	276,984
		3	-522	412,71315	0,463	-1788,3173	744,3173
	2	1	989,33333	412,71315	0,116	-276,984	2255,6506

		3	467,33333	412,71315	0,531	-798,984	1733,6506
	3	1	522	412,71315	0,463	-744,3173	1788,3173
		2	-467,33333	412,71315	0,531	-	798,984
5	1	2	-	968,90305	0,436	-	1694,1939
		3	1278,66667	968,90305	0,62	4251,5273	3913,1939
	2	1	940,33333	968,90305	0,62	-	2032,5273
		3	1278,66667	968,90305	0,436	1694,1939	4251,5273
	3	1	2219	968,90305	0,133	-753,8606	5191,8606
		2	-940,33333	968,90305	0,62	-	2032,5273
		2	-2219	968,90305	0,133	-	5191,8606

Tabela 7.43 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito da firmeza em cada dia, amostra a amostra.

Área						
Amostra		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	5379296	2	2689648	1,617	0,274
	Within Groups	9981634	6	1663605,67		
	Total	15360930	8			
2	Between Groups	4960456,22	2	2480228,11	7,067	0,026
	Within Groups	2105631,33	6	350938,556		
	Total	7066087,56	8			
3	Between Groups	1648229,56	2	824114,778	0,944	0,44
	Within Groups	5235682	6	872613,667		
	Total	6883911,56	8			

Tabela 7.44 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito da firmeza em cada dia, amostra a amostra.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable:							
Área							
Tukey HSD							
Amostra	(I) Dia	(J) Dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	3	1884	1053,12414	0,251	-1347,274	5115,274
		5	1108	1053,12414	0,575	-2123,274	4339,274
	3	1	-1884	1053,12414	0,251	-5115,274	1347,274
		5	-776	1053,12414	0,752	-4007,274	2455,274
	5	1	-1108	1053,12414	0,575	-4339,274	2123,274
		3	776	1053,12414	0,752	-2455,274	4007,274
2	1	3	-743,66667	483,69312	0,34	-2227,77	740,4367

	3	5	- 1809,00000*	483,69312	0,022	- 3293,1033	-324,8967
		1	743,66667	483,69312	0,34	-740,4367	2227,77
		5	-1065,33333	483,69312	0,149	- 2549,4367	418,77
	5	1	1809,00000*	483,69312	0,022	324,8967	3293,1033
		3	1065,33333	483,69312	0,149	-418,77	2549,4367
	3	1	3	343	762,72042	0,896	- 1997,2357
5			1029,33333	762,72042	0,422	- 1310,9024	3369,569
3		1	-343	762,72042	0,896	- 2683,2357	1997,2357
		5	686,33333	762,72042	0,66	- 1653,9024	3026,569
5		1	-1029,33333	762,72042	0,422	-3369,569	1310,9024
		3	-686,33333	762,72042	0,66	-3026,569	1653,9024

Tabela 7.45 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do atributo crocante na amostra, dia-a-dia.

Picos						
Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	587,556	2	293,778	12,413	0,007
	Within Groups	142	6	23,667		
	Total	729,556	8			
3	Between Groups	106,889	2	53,444	1,286	0,343
	Within Groups	249,333	6	41,556		
	Total	356,222	8			
5	Between Groups	11,556	2	5,778	0,201	0,823
	Within Groups	172,667	6	28,778		
	Total	184,222	8			

Tabela 7.46- Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do atributo crocante na amostra, dia-a-dia.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: picos							
Tukey HSD							
Dia	(I) amostra	(J) amostra	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	2	6	3,97213	0,351	-6,1876	18,1876
		3	19,33333*	3,97213	0,007	7,1458	31,5209
	2	1	-6	3,97213	0,351	- 18,1876	6,1876
		3	13,33333*	3,97213	0,035	1,1458	25,5209
	3	1	- 19,33333*	3,97213	0,007	- 31,5209	-7,1458
		2	- 13,33333*	3,97213	0,035	- 25,5209	-1,1458

3	1	2	-1,66667	5,26343	0,947	-17,8163	14,483
		3	-8	5,26343	0,347	24,1497	8,1497
	2	1	1,66667	5,26343	0,947	-14,483	17,8163
		3	-6,33333	5,26343	0,494	-22,483	9,8163
	3	1	8	5,26343	0,347	-8,1497	24,1497
		2	6,33333	5,26343	0,494	-9,8163	22,483
5	1	2	-2,66667	4,38009	0,821	-16,106	10,7727
		3	-2	4,38009	0,893	15,4393	11,4393
	2	1	2,66667	4,38009	0,821	10,7727	16,106
		3	0,66667	4,38009	0,987	12,7727	14,106
	3	1	2	4,38009	0,893	11,4393	15,4393
		2	-0,66667	4,38009	0,987	-14,106	12,7727

Tabela 7.47 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do atributo crocante em cada dia, amostra a amostra.

picos						
amostra		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	144,667	2	72,333	2,946	0,128
	Within Groups	147,333	6	24,556		
	Total	292	8			
2	Between Groups	0,889	2	0,444	0,015	0,985
	Within Groups	181,333	6	30,222		
	Total	182,222	8			
3	Between Groups	561,556	2	280,778	7,159	0,026
	Within Groups	235,333	6	39,222		
	Total	796,889	8			

Tabela 7.48 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do atributo crocante em cada dia, amostra a amostra.

Dependent Variable: picos							
Tukey HSD							
amostra	(I) Dia	(J) Dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	3	8,33333	4,04603	0,179	-4,081	20,7477
		5	8,66667	4,04603	0,161	-3,7477	21,081
	3	1	-8,33333	4,04603	0,179	-20,7477	4,081
		5	0,33333	4,04603	0,996	-12,081	12,7477
	5	1	-8,66667	4,04603	0,161	-21,081	3,7477
		3	-0,33333	4,04603	0,996	-12,7477	12,081
2	1	3	0,66667	4,48867	0,988	-13,1058	14,4391
		5	0	4,48867	1	-13,7725	13,7725

	3	1	-0,66667	4,48867	0,988	-14,4391	13,1058
		5	-0,66667	4,48867	0,988	-14,4391	13,1058
	5	1	0	4,48867	1	-13,7725	13,7725
		3	0,66667	4,48867	0,988	-13,1058	14,4391
3	1	3	-19,00000*	5,11353	0,023	-34,6897	-3,3103
		5	-12,66667	5,11353	0,105	-28,3564	3,023
	3	1	19,00000*	5,11353	0,023	3,3103	34,6897
		5	6,33333	5,11353	0,476	-9,3564	22,023
	5	1	12,66667	5,11353	0,105	-3,023	28,3564
		3	-6,33333	5,11353	0,476	-22,023	9,3564

7.2.2 Avaliação da cor

Tabela 7.49 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro L* na amostra, dia-a-dia.

L						
Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	34,673	2	17,337	30,793	0,001
	Within Groups	3,378	6	0,563		
	Total	38,051	8			
3	Between Groups	18,709	2	9,355	5,303	0,047
	Within Groups	10,583	6	1,764		
	Total	29,292	8			
5	Between Groups	4,739	2	2,37	1,285	0,343
	Within Groups	11,066	6	1,844		
	Total	15,805	8			

Tabela 7.50 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro L* na amostra, dia-a-dia.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: L							
Tukey HSD							
Dia	(I) Amostra	(J) Amostra	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	2	-0,06667	0,61264	0,994	-1,9464	1,8131
		3	-4,19667*	0,61264	0,001	-6,0764	-2,3169
	2	1	0,06667	0,61264	0,994	-1,8131	1,9464
		3	-4,13000*	0,61264	0,001	-6,0098	-2,2502
	3	1	4,19667*	0,61264	0,001	2,3169	6,0764
		2	4,13000*	0,61264	0,001	2,2502	6,0098
3	1	2	-2,11667	1,0844	0,205	-5,4439	1,2106
		3	1,39	1,0844	0,454	-1,9372	4,7172

	2	1	2,11667	1,0844	0,205	-1,2106	5,4439
		3	3.50667*	1,0844	0,041	0,1794	6,8339
	3	1	-1,39	1,0844	0,454	-4,7172	1,9372
		2	-3.50667*	1,0844	0,041	-6,8339	-0,1794
5	1	2	-1,71333	1,10884	0,337	-5,1156	1,6889
		3	-0,44667	1,10884	0,916	-3,8489	2,9556
	2	1	1,71333	1,10884	0,337	-1,6889	5,1156
		3	1,26667	1,10884	0,526	-2,1356	4,6689
	3	1	0,44667	1,10884	0,916	-2,9556	3,8489
		2	-1,26667	1,10884	0,526	-4,6689	2,1356
* The mean difference is significant at the 0.05 level.							

Tabela 7.51 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro L* em cada dia, amostra a amostra.

L						
Amostra		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	2,046	2	1,023	0,87	0,466
	Within Groups	7,054	6	1,176		
	Total	9,1	8			
2	Between Groups	16,201	2	8,1	6,694	0,03
	Within Groups	7,261	6	1,21		
	Total	23,461	8			
3	Between Groups	33,356	2	16,678	9,341	0,014
	Within Groups	10,712	6	1,785		
	Total	44,068	8			

Tabela 7.52- Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro L* em cada dia, amostra a amostra.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: L							
Tukey HSD							
Amostra	(I) Dia	(J) Dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	3	-0,88333	0,8853	0,605	-3,5997	1,833
		5	-1,10333	0,8853	0,472	-3,8197	1,613
	3	1	0,88333	0,8853	0,605	-1,833	3,5997
		5	-0,22	0,8853	0,967	-2,9364	2,4964
	5	1	1,10333	0,8853	0,472	-1,613	3,8197
		3	0,22	0,8853	0,967	-2,4964	2,9364
2	1	3	-2.93333*	0,8982	0,039	-5,6892	-0,1774
		5	-2,75	0,8982	0,05	-5,5059	0,0059

	3	1	2,93333*	0,8982	0,039	0,1774	5,6892
		5	0,18333	0,8982	0,977	-2,5726	2,9392
	5	1	2,75	0,8982	0,05	-0,0059	5,5059
		3	-0,18333	0,8982	0,977	-2,9392	2,5726
3	1	3	4,70333*	1,09099	0,012	1,3559	8,0508
		5	2,64667	1,09099	0,112	-0,7008	5,9941
	3	1	-4,70333*	1,09099	0,012	-8,0508	-1,3559
		5	-2,05667	1,09099	0,223	-5,4041	1,2908
	5	1	-2,64667	1,09099	0,112	-5,9941	0,7008
		3	2,05667	1,09099	0,223	-1,2908	5,4041
* The mean difference is significant at the 0.05 level.							

Tabela 7.53 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro a* na amostra, dia-a-dia.

a						
Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	5,213	2	2,607	34,302	0,001
	Within Groups	0,456	6	0,076		
	Total	5,669	8			
3	Between Groups	1,659	2	0,829	9,355	0,014
	Within Groups	0,532	6	0,089		
	Total	2,191	8			
5	Between Groups	6,179	2	3,09	72,022	0
	Within Groups	0,257	6	0,043		
	Total	6,437	8			

Tabela 7.54 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro a* na amostra, dia-a-dia.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: a							
Tukey HSD							
Dia	(I) Amostra	(J) Amostra	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	2	1,66667*	0,22508	0,001	0,9761	2,3573
		3	1,55667*	0,22508	0,001	0,8661	2,2473
	2	1	-1,66667*	0,22508	0,001	-2,3573	-0,9761
		3	-0,11	0,22508	0,879	-0,8006	0,5806
3	3	1	-1,55667*	0,22508	0,001	-2,2473	-0,8661
		2	0,11	0,22508	0,879	-0,5806	0,8006
	1	2	1,01333*	0,24311	0,014	0,2674	1,7593
		3	.75000*	0,24311	0,049	0,0041	1,4959

	2	1	-1.01333*	0,24311	0,014	-1,7593	-0,2674
		3	-0,26333	0,24311	0,557	-1,0093	0,4826
	3	1	-.75000*	0,24311	0,049	-1,4959	-0,0041
		2	0,26333	0,24311	0,557	-0,4826	1,0093
5	1	2	-.52333*	0,16912	0,048	-1,0422	-0,0044
		3	-1.96000*	0,16912	0	-2,4789	-1,4411
	2	1	.52333*	0,16912	0,048	0,0044	1,0422
		3	-1.43667*	0,16912	0	-1,9556	-0,9178
	3	1	1.96000*	0,16912	0	1,4411	2,4789
		2	1.43667*	0,16912	0	0,9178	1,9556
* The mean difference is significant at the 0.05 level.							

Tabela 7.55 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro a* em cada dia, amostra a amostra.

a						
Amostra		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	15,424	2	7,712	452,182	0
	Within Groups	0,102	6	0,017		
	Total	15,527	8			
2	Between Groups	2,011	2	1,006	23,144	0,002
	Within Groups	0,261	6	0,043		
	Total	2,272	8			
3	Between Groups	0,846	2	0,423	2,876	0,133
	Within Groups	0,882	6	0,147		
	Total	1,728	8			

Tabela 7.56 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro a* em cada dia, amostra a amostra.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: a							
Tukey HSD							
Amostra	(I) Dia	(J) Dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	3	0,16667	0,10663	0,33	-0,1605	0,4938
		5	2.85667*	0,10663	0	2,5295	3,1838
	3	1	-0,16667	0,10663	0,33	-0,4938	0,1605
		5	2.69000*	0,10663	0	2,3628	3,0172
	5	1	-2.85667*	0,10663	0	-3,1838	-2,5295
		3	-2.69000*	0,10663	0	-3,0172	-2,3628
2	1	3	-0,48667	0,17021	0,065	-1,0089	0,0356

		5	.66667*	0,17021	0,018	0,1444	1,1889
	3	1	0,48667	0,17021	0,065	-0,0356	1,0089
		5	1.15333*	0,17021	0,001	0,6311	1,6756
	5	1	-.66667*	0,17021	0,018	-1,1889	-0,1444
		3	-1.15333*	0,17021	0,001	-1,6756	-0,6311
3	1	3	-0,64	0,31309	0,182	-1,6006	0,3206
		5	-0,66	0,31309	0,168	-1,6206	0,3006
	3	1	0,64	0,31309	0,182	-0,3206	1,6006
		5	-0,02	0,31309	0,998	-0,9806	0,9406
	5	1	0,66	0,31309	0,168	-0,3006	1,6206
		3	0,02	0,31309	0,998	-0,9406	0,9806
* The mean difference is significant at the 0.05 level.							

Tabela 7.57 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro b* na amostra, dia-a-dia.

b						
Dia		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	65,07	2	32,535	44,235	0
	Within Groups	4,413	6	0,736		
	Total	69,484	8			
3	Between Groups	1,734	2	0,867	1,069	0,401
	Within Groups	4,868	6	0,811		
	Total	6,602	8			
5	Between Groups	3,958	2	1,979	16,027	0,004
	Within Groups	0,741	6	0,123		
	Total	4,699	8			

Tabela 7.58- Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro b* na amostra, dia-a-dia.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: b							
Tukey HSD							
Dia	(I) Amostra	(J) Amostra	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	2	6.40667*	0,70024	0	4,2581	8,5552
		3	4.52667*	0,70024	0,002	2,3781	6,6752
	2	1	-6.40667*	0,70024	0	-8,5552	-4,2581
		3	-1,88	0,70024	0,081	-4,0285	0,2685
	3	1	-4.52667*	0,70024	0,002	-6,6752	-2,3781
		2	1,88	0,70024	0,081	-0,2685	4,0285
3	1	2	0,08333	0,73547	0,993	-2,1733	2,34

		3	0,97	0,73547	0,436	-1,2866	3,2266
	2	1	-0,08333	0,73547	0,993	-2,34	2,1733
		3	0,88667	0,73547	0,493	-1,37	3,1433
	3	1	-0,97	0,73547	0,436	-3,2266	1,2866
		2	-0,88667	0,73547	0,493	-3,1433	1,37
5	1	2	-1.34667*	0,28691	0,008	-2,227	-0,4663
		3	-1.46000*	0,28691	0,005	-2,3403	-0,5797
	2	1	1.34667*	0,28691	0,008	0,4663	2,227
		3	-0,11333	0,28691	0,919	-0,9937	0,767
	3	1	1.46000*	0,28691	0,005	0,5797	2,3403
		2	0,11333	0,28691	0,919	-0,767	0,9937
* The mean difference is significant at the 0.05 level.							

Tabela 7.59 - Aplicação do teste ANOVA simples - Efeito do parâmetro b* em cada dia, amostra a amostra.

b						
Amostra		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Between Groups	16,724	2	8,362	21,22	0,002
	Within Groups	2,364	6	0,394		
	Total	19,088	8			
2	Between Groups	37,414	2	18,707	27,712	0,001
	Within Groups	4,05	6	0,675		
	Total	41,465	8			
3	Between Groups	15,853	2	7,927	13,183	0,006
	Within Groups	3,608	6	0,601		
	Total	19,461	8			

Tabela 7.60 - Aplicação do teste ANOVA simples com comparações múltiplas - Efeito do parâmetro b* em cada dia, amostra a amostra.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: b							
Tukey HSD							
Amostra	(I) Dia	(J) Dia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1	1	3	2.88667*	0,51254	0,003	1,3141	4,4593
		5	2.89667*	0,51254	0,003	1,3241	4,4693
	3	1	-2.88667*	0,51254	0,003	-4,4593	-1,3141
		5	0,01	0,51254	1	-1,5626	1,5826
		1	-2.89667*	0,51254	0,003	-4,4693	-1,3241
2	1	3	-0,01	0,51254	1	-1,5826	1,5626
		3	-3.43667*	0,67085	0,005	-5,495	-1,3783

		5	-4.85667*	0,67085	0,001	-6,915	-2,7983
	3	1	3.43667*	0,67085	0,005	1,3783	5,495
		5	-1,42	0,67085	0,166	-3,4783	0,6383
	5	1	4.85667*	0,67085	0,001	2,7983	6,915
		3	1,42	0,67085	0,166	-0,6383	3,4783
3	1	3	-0,67	0,63312	0,571	-2,6126	1,2726
		5	-3.09000*	0,63312	0,007	-5,0326	-1,1474
	3	1	0,67	0,63312	0,571	-1,2726	2,6126
		5	-2.42000*	0,63312	0,02	-4,3626	-0,4774
	5	1	3.09000*	0,63312	0,007	1,1474	5,0326
		3	2.42000*	0,63312	0,02	0,4774	4,3626
* The mean difference is significant at the 0.05 level.							