

# **Impacto do revestimento comestível à base de algas no tempo de vida útil da batata minimamente processada**

Joel Pedrosa Ferreira

# **Impacto do revestimento comestível à base de algas no tempo de vida útil da batata minimamente processada**

Joel Pedrosa Ferreira

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

Projeto de Mestrado realizado sob orientação de Doutora Maria Joaquina Pinheiro, Doutora Ana Luísa de Sousa Augusto e Doutora Susana Filipa Jesus Silva

2022



Título: Impacto do revestimento comestível à base de algas no tempo de vida útil da batata minimamente processada.

Copyright © Joel Pedrosa Ferreira  
Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche  
Instituto politécnico de Leiria  
2022

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar 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 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.

## Agradecimentos

Após a conclusão desta tese, quero agradecer a todos os que contribuíram:

Às minhas orientadoras Professora Doutora Maria Joaquina Pinheiro, Doutora Ana Luísa Augusto e Professora Doutora Susana Filipa Jesus Silva por toda a disponibilidade, exigência, força, conhecimento e ensinamentos que me transmitiram ao longo deste ano. Agradeço-vos ainda por toda a vossa ajuda no meu trabalho laboratorial, por me ajudarem durante a minha estadia no Cetemares e por toda ajuda na escrita desta tese;

Aos meus colegas de curso e do Cetemares por toda a vossa sabedoria;

Aos meus pais, Jorge e Elisabete, por toda a força e apoio que me foram dando durante esta jornada;

Aos meus familiares e amigos por toda a compreensão e por todo o apoio;

Ao meu irmão, Rafael, por toda a ajuda e força que me deu e também sermões para não desistir dos meus sonhos. Sem ti provavelmente não tinha chegado até aqui. Não volto a falar de batatas tão cedo, juro!

Para todas as pessoas que tornaram isto possível: Obrigado!

## Resumo

Devido ao estilo de vida acelerado da sociedade contemporânea, o consumidor dedica cada vez menos tempo à preparação das suas refeições, optando por alimentos prontos a consumir. Os produtos minimamente processados respondem a esta exigência do mercado, fornecendo ao consumidor alimentos frescos com o mínimo de processamento, prontos a consumir.

Como a maioria dos produtos minimamente processados, também a batata apresenta um tempo de prateleira curto devido principalmente à alteração de cor, ou seja, escurecimento. De forma a aumentar o tempo de prateleira, são usados na indústria aditivos químicos sintéticos não compatíveis com a atual tendência “clean label”. Para colmatar este problema, o presente trabalho tem como principal objetivo o desenvolvimento de um revestimento alimentar à base de extratos de algas para aplicação em batata minimamente processada.

Numa primeira etapa, foram formulados seis revestimentos aquosos com uma concentração de 0,5% (m/v) a partir de três algas (*Codium tomentosum*, *Fucus vesiculosus* e *Ulva sp.*) com recurso a dois métodos de extração: 1) extração sólido-líquido estática e 2) extração assistida por ultrassons), tendo sido posteriormente realizada uma caracterização dos mesmos. As formulações obtidas após a extração assistida por ultrassons demonstraram resultados promissores no rendimento de extração, teor total de polifenóis e na capacidade de redução dos radicais livres de DPPH e de ABTS. Das formulações obtidas, a de *F. vesiculosus* assistida por ultrassons foi a que mais se destacou nos parâmetros analisados, traduzindo-se na espécie de alga com maior teor de polifenóis ( $0,1294 \pm 0,0098$  mg equivalentes de ácido gálico/ mL de solução de extrato) e maior percentagem de redução dos radicais de DPPH ( $59,08\% \pm 2,63$ ), de ABTS ( $99,77\% \pm 0,26$ ).

Numa segunda etapa, as soluções de revestimento selecionadas (*F. vesiculosus* assistida por ultrassons, *C. tomentosum* assistida por ultrassons) foram aplicadas por imersão em batata minimamente processada, e avaliada a eficácia dos revestimentos para reduzir o escurecimento. A eficácia dos revestimentos foi comparada com uma solução controlo (imersão em água destilada) e com um aditivo comercial atualmente utilizado (imersão em 0,2% (m/v) metabissulfito de sódio).

As soluções de extratos de algas desenvolvidas mostraram ter a capacidade de prevenir o escurecimento enzimático da batata minimamente processada. O revestimento que apresentou maior eficácia na prevenção do escurecimento da batata foi o de *C. tomentosum*. Após 10 dias de armazenamento, foi observada uma diferença

total de cor em relação ao controlo de cerca de 329%. Por sua vez, as batatas tratadas com a solução de *F. vesiculosus* apresentaram uma diferença total de cor ao dia 10 de 179% relativamente ao controlo. Quanto à atividade enzimática, para o mesmo tempo de armazenamento em comparação com o controlo, nas amostras revestidas com a solução de *F. vesiculosus*, foi possível observar uma redução de 50% e 23% na atividade das enzimas polifenol oxidase e peroxidase, respetivamente, o que poderá estar relacionado com a diminuição de escurecimento na presença deste tratamento.

A aplicação destes revestimentos com base em extratos de algas em batata minimamente processada poderá assim apresentar-se como uma alternativa viável a utilizar como substituto aos aditivos atualmente utilizados pela indústria alimentar, nomeadamente na redução do escurecimento superficial.

**Palavras-Chave:** produtos minimamente processados, batata, revestimentos edíveis, extratos de algas, escurecimento enzimático.

## Abstract

Due to the fast-paced lifestyle of contemporary society, nowadays consumers have less time to prepare meals, opting preferring the ready-to-eat foods. Minimally processed products respond to this market demand, providing consumers with fresh food with minimal processing.

Like most minimally processed products, potatoes also have a short shelf-life due mainly to the color changes (browning). In order to increase the food products shelf-life, synthetic chemical additives are being used by food industry, which is not compatible with the current “clean label” trend. To address this problem, the present work has as main objective the development of seaweed extracts based an edible coating for application on minimally processed potatoes.

In a first step, six aqueous coatings were formulated at a concentration of 0.5% (w/v) from three algae (*Codium tomentosum*, *Fucus vesiculosus* and *Ulva* sp.) using two distinct extraction methods: 1) solid-liquid extraction and 2) ultrasonic extraction, and their characterization was subsequently performed. The formulations obtained after ultrasonic extraction showed promising results in extraction yield, total polyphenol content and DPPH and ABTS free radical scavenging capacity. Within the different formulations, *F. vesiculosus* with ultrasound was the one that stood out the most in the parameters analysed, translating into the algae species with the highest polyphenol content ( $0.1294 \pm 0.0098$  mg gallic acid equivalent /mL of extract solution) and the highest percentage of reduction of DPPH radicals ( $59.08\% \pm 2.63$ ), of ABTS ( $99.77\% \pm 0.26$ ).

In a second step, the selected coating solutions (*F. vesiculosus* with ultrasound, *C. tomentosum* with ultrasound) were applied by immersion on minimally processed potato, and the effectiveness of the coatings to reduce browning was evaluated. The effectiveness of the coatings was compared with a control solution (immersion in distilled water) and a currently used commercial additive (immersion in 0.2% (w/v) sodium metabisulfite).

The algae extract solutions developed were shown to have the ability to prevent enzymatic browning of minimally processed potatoes. The coating that showed the highest efficacy in preventing browning of potatoes was *C. tomentosum*. After 10 days of storage, a total color difference compared to the control of about 329% was observed. In turn, potatoes treated with the *F. vesiculosus* solution showed a total color difference at day 10 of 179% compared to control. As for the enzymatic activity, for the same storage time compared to the control, in the samples coated with the *F. vesiculosus*

solution, it was possible to observe a reduction of 50% and 23% in the activity of the enzymes polyphenol oxidase and peroxidase, respectively, which may be related to the decrease in browning in the presence of this treatment.

The application of these coatings based on algae extracts in minimally processed potatoes may thus be a viable alternative to be used as a substitute for additives currently used by the food industry, particularly in reducing surface browning.

Keywords: minimally processed products, potato, edible coatings, algae extracts, enzymatic browning.

# Índice

Agradecimentos .....	I
Resumo.....	II
Abstract .....	IV
Índice de figuras .....	VIII
Índice de Tabelas.....	IX
1. Introdução .....	1
1.1. Batata .....	1
1.2. Produtos minimamente processados .....	3
1.3. Percepção do consumidor.....	6
1.4 Processamento mínimo de batata .....	7
1.4. Perda de qualidade dos Produtos Minimamente Processados .....	8
1.4.1. Escurecimento enzimático .....	8
1.4.2. Taxa de respiração .....	9
1.4.3. Microbiologia .....	10
1.5. Preservação dos produtos minimamente processados .....	11
1.5.1. Temperatura.....	11
1.5.2. Revestimentos comestíveis.....	11
1.6. Algas .....	12
2. Objetivos .....	14
3. Materiais e Métodos .....	15
3.1. Obtenção dos extratos de algas .....	15
3.2. Rendimento das extrações.....	16
3.3. Formulação da solução de revestimento de extrato de algas .....	16
3.4. Caracterização das soluções de extratos de algas .....	17
3.4.1. Avaliação do pH.....	17
3.4.2. Quantificação total de polifenóis (QTP).....	17
3.4.3. Avaliação da capacidade de redução do radical livre DPPH .....	18
3.4.4. Avaliação da capacidade de redução do radical livre ABTS .....	18
3.5. Avaliação dos extratos de algas como revestimento alimentar em batata minimamente processada.....	20
3.5.1. Preparação da batata minimamente processada e aplicação do revestimento. 20	
3.5.2. Avaliação da cor da batata .....	22
3.5.3. Determinação da percentagem de perda de massa .....	23

3.5.4.	Determinação da atividade enzimática das enzimas polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD).....	23
3.6.	Tratamento estatístico .....	24
4.	Resultados e Discussão .....	25
4.1.	Caracterização dos extratos de algas .....	25
4.2.	Avaliação dos efeitos dos extratos de algas na batata minimamente processada.....	28
4.2.1.	Avaliação da cor .....	28
4.2.2.	Percentagem de perda de massa .....	32
4.2.3.	Determinação da atividade enzimática.....	32
5.	Conclusão e Perspetivas futuras .....	36
6.	Bibliografia .....	38
7.	Anexos.....	45

## Índice de figuras

Figura 1 – Exemplo de diferentes variedades de batata .....	2
Figura 2 – Consequências da etapa de corte em produtos minimamente processados 5	
Figura 3 – Figura representativa de batata minimamente processada em cubos, palitos e fatias.....	5
Figura 4 – Fluxograma das etapas de processamento de batata minimamente processada.....	7
Figura 5 – Mecanismo de ação da polifenol oxidase.....	8
Figura 6 – Fluxograma do procedimento de preparação da batata minimamente processada .....	20
Figura 7 – Zona de aplicação das soluções de revestimento na batata minimamente processada.....	21
Figura 8 – Representação da amostra de palitos de batata após processamento e embalagem em saco de polietileno.....	21
Figura 9 – Diferença total de cor das amostras revestidas com água (controlo), solução de metabissulfito de sódio, solução de <i>Fucus Vesiculosus</i> e solução de <i>Codium tomentosum</i> .....	29
Figura 10 - Registo fotográfico das amostras revestidas com água (controlo), solução de metabissulfito de sódio, solução de <i>Fucus Vesiculosus</i> e solução de <i>Codium tomentosum</i> .....	30
Figura 11 – Estado das embalagens das amostras revestidas água (controlo), solução de metabissulfito de sódio, solução de <i>Fucus Vesiculosus</i> e solução de <i>Codium tomentosum</i> .....	31
Figura 12 – Actividade enzimática da enzima polifenol oxidase (PPO) das amostras revestidas com água (controlo), solução de metabissulfito de sódio, solução de <i>Fucus Vesiculosus</i> e solução de <i>Codium tomentosum</i> .....	33
Figura 13 - – Actividade enzimática da enzima polifenol oxidase (PPO) das amostras revestidas com água (controlo), solução de metabissulfito de sódio, solução de <i>Fucus Vesiculosus</i> e solução de <i>Codium tomentosum</i> .....	34

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Tabela nutricional da batata crua .....	3
Tabela 2 – Comparação das taxas de respiração de diferentes produtos hortofrutícolas .....	10
Tabela 3 – Rendimento das extrações.....	25
Tabela 4 – Valores de pH, quantificação total de polifenóis, capacidade antioxidante expressa pela percentagem de redução do radical DPPH e pela redução do radical ABTS das soluções de <i>C. tomentosum</i> , <i>Ulva</i> sp. e <i>Fucus</i> sp. produzidos após extração de sólido-líquido estática (1) e assistida por ultrassons (2) .....	27
Tabela 5 – Perda de peso das amostras revestidas com água (controlo), solução de metabisulfito de sódio, solução de <i>F. Vesiculosus</i> e solução de <i>C. tomentosum</i> .....	32

# 1. Introdução

## 1.1. Batata

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é um tubérculo originário da América do Sul, mais especificamente da zona sul do Peru e norte da Bolívia, onde já é usada na alimentação humana há mais de 10 mil anos. Estas chegaram à Europa nos finais do século XVI, sendo um dos principais alimentos usados para combater o escorbuto na época, dado que é um alimento rico em vitamina C. Estas tornaram-se de tal forma parte integrante na alimentação do povo europeu que, devido a pragas que destruíram grande parte das plantações de batata, foi também responsável por grandes crises de fome como por exemplo na Irlanda em 1845 (Doa et al, 2000). Atualmente, com exceção dos cereais, a batata é o alimento mais consumido no mundo, inclusivamente é o quarto alimento com maior área de cultivo em todo o mundo (Abuarab et al., 2019). Em termos de rendimento da área de cultivo quando comparado com o arroz ou o trigo, é dos alimentos com maior rendimento. A sua produção tem aumentado substancialmente nos últimos anos. Estima-se que em 2018 a sua produção tenha alcançado as 368 milhões de toneladas (Levy et al, 2020). De acordo com a FAO, em 2018 foram plantados mais de 17 milhões de hectares de batatas em todo o mundo com um rendimento médio de 20,9 toneladas de batata por hectare. O maior produtor de batata mundial atualmente é a China, produzindo 25% da produção total de batatas, com mais de 90 milhões de toneladas de batata produzidas (FAO, 2021). Em Portugal, foram produzidas 413 mil toneladas em 2021 (INE, 2022).

Existem mais de 4000 variedades de batatas (figura 1), produzidas em quase todos os países. O tipo das batatas pode ser classificada de acordo com determinadas características, sendo o tempo de maturação a mais utilizada. As batatas que apresentam tempos ciclos de cultura de 65 a 70 dias são classificadas como temporãs, enquanto as batatas com ciclos de cultura entre 90 e 100 dias são classificadas como “meia-estação” (Camire et al., 2009). Outro fator diferenciador e característico é a qualidade do tubérculo quanto à sua adequação de preparação/confeção ou processamento, ou seja, batata para cozer, fritar, desidratar, entre outros. Tipicamente, batatas com baixo teor de amilopectina são utilizadas para assar e fritar, enquanto cultivares com uma quantidade mais altas de amilopectina são utilizadas para cozer (Yang et al., 2020).

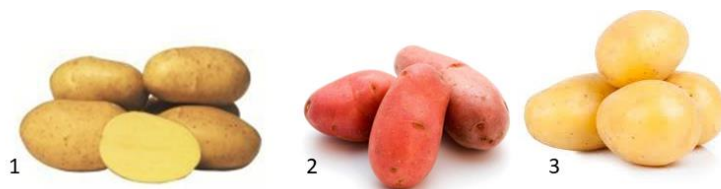


Figura 1 – Exemplo de diferentes variedades de batata. 1- Batata Ágria, 2- Batata Ásterix, 3- Batata Monalisa. Fonte: [www.seed.pt](http://www.seed.pt)

A sua principal utilização continua a ser para consumo direto fresco, sem qualquer processamento, no entanto o seu uso como snack e após processamento mínimo têm aumentado de forma exponencial nos países desenvolvidos (Ierna et al., 2017).

Dependendo da variedade, as batatas apresentam diferentes cores (amarela, branca, vermelha e castanha), tempos de maturação e qualidade do tubérculo (mais alongado ou mais redondo). A preferência do consumidor pelo tipo de batata encontra-se geralmente ligada à cor, a espessura da periderme (pele da batata) e à forma do tubérculo. Em países desenvolvidos, onde os consumidores são mais rigorosos nas suas escolhas, são consumidas maioritariamente batatas com uma cor branca uniforme e uma periderme fina (Levy et al, 2020).

A batata é uma excelente fonte de hidratos de carbono (cerca de 75% da massa seca da batata), sendo o amido o hidrato de carbono predominante servindo como reserva de energia da planta. Acresce a percentagem em fibras, com cerca de 1,6%. Quanto à quantidade de proteínas, as batatas contêm cerca de 2%, sendo uma boa fonte de lisina, mas com muito pouca quantidade de aminoácidos como a metionina e cisteína (Camire et al., 2009). No caso dos lípidos, apresentam uma quantidade residual (cerca de 0,1% da massa fresca)(Tabela 1). Além serem uma boa fonte de hidratos de carbono, são também fonte de minerais, vitaminas, fibras e antioxidantes (Ali et al., 2021). Tal como referido anteriormente, a vitamina C é a vitamina predominante, podendo encontrar cerca de 15 a 25 mg por 100g de batata (30% da dose diária recomendada) (Levy et al, 2020). Estas também possuem diversos pigmentos como antocianinas, carotenoides e precursores fenólicos e flavonoides. Estes pigmentos antioxidantes contribuem positivamente para a saúde humana, nomeadamente para as doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares e diabetes (Camire et al., 2009).

Tabela 1 - Tabela nutricional da batata crua (fonte INSA)

Energia/ 100g (kcal/ kJ)	89/373
Hidratos de carbono (g/100g parte edível)	19,2
Dos quais açúcares (g/100g parte edível)	18
Lípidos (g/100g parte edível)	0
Dos quais saturados (g/100g parte edível)	0
Proteínas (g/100g parte edível)	2,5
Fibras (g/100g parte edível)	1,6

## 1.2. Produtos minimamente processados

Atualmente, os habitantes de países desenvolvidos apresentam um estilo de vida muito acelerado, consequência do desenvolvimento da tecnologia, das estruturas e meios de transporte, da centralização da sociedade, entre outros fatores. Com isto, as pessoas dedicam cada vez menos tempo na preparação e confeção das suas refeições. A par da crescente preocupação com o ambiente e a própria saúde, as pessoas cada vez mais procuram alimentos frescos, nutritivos, de acesso rápido e de fácil confeção (Park et al., 2020). Várias organizações como a Organização Mundial de Saúde (OMS), a *Food and Agricultural Organization* (FAO) e a Autoridade para a Segurança Alimentar Europeia (EFSA), recomendam o aumento do consumo de frutas e vegetais de forma a reduzir o risco de doenças cardiovasculares bem como do cancro (Allende et al., 2006).

Segundo a *International Fresh-cut Produce Association* (IFPA), os produtos minimamente processados (PMP) (também conhecidos como produtos de IV gama) são quaisquer frutas ou legumes frescos, prontos a consumir e que foram submetidos a processos de alteração física (como o descasque e corte) mas que continuam no estado fresco. As saladas preparadas e embaladas, as couves cortadas, as saladas de frutas, os palitos de batata e as batatas descascadas e cortadas são exemplos desta tipologia de produtos (“Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods,” 1998). De uma forma geral, podem ser definidos como produtos frescos, saudáveis, de rápida preparação e consumo, de qualidade e seguros. Estes mantêm as mesmas qualidades nutricionais e sensoriais dos produtos frescos. Os produtos minimamente processados no mercado apareceram no mercado desde o ano de 1930, mas a sua maioria era utilizada nos serviços de catering, hotéis e restaurantes (Martín-Belloso &

Soliva-Fortuny, 2006). Do ponto de vista do consumidor, a sua maior vantagem é a facilidade e rapidez de preparação e consumo dos mesmos, por se encontrarem na gama dos alimentos prontos a consumir ou a confeccionar. Devido ao estilo de vida acelerado da sociedade, são produtos cada vez mais procurados pelos consumidores, sendo um mercado em rápida expansão (Rodgers, 2016).

Existem diversas operações no processamento dos alimentos minimamente processados dependendo do tipo de produto final, no entanto, a maioria das operações unitárias destes alimentos é semelhante (Cenci, 2011). O processo inicia-se com a colheita da matéria-prima, seguindo-se o transporte, lavagem, desinfecção, corte, pesagem e embalamento do produto final. A qualidade da matéria-prima é de extrema importância para a obtenção do produto final de excelência. A qualidade e a uniformidade da matéria-prima não só contribuem para a qualidade do produto final, como também auxiliam na execução e concretização das diversas partes do processamento (Cenci, 2011). Por exemplo, um alimento que apresente uma estrutura irregular dificulta o processo de descasque e de corte o que irá originar um produto final de menor qualidade e maior desperdício.

Devido aos processos a que os alimentos minimamente processados são submetidos, como o descasque e o corte, o mercado deste tipo de produto enfrenta enormes desafios ao qual é necessário dar uma resposta que vá ao encontro tanto dos industriais como dos consumidores. Durante estes processos, os tecidos da batata são danificados, provocando a alteração de diversos fatores e como consequência uma diminuição da qualidade e da segurança do alimento e por consequência uma redução do tempo de prateleira (Wu, 2019; Ali et al., 2021).

Em todo o processo de produção da batata minimamente processada, a principal etapa responsável pela perda de qualidade do produto e redução do tempo de prateleira é a etapa de corte (Angós et al., 2008; Kang et al., 2019). Durante o processo de corte, os tecidos da batata sofrem alterações físicas, induzindo processos de oxidação, envelhecimento dos tecidos da batata, aumento da taxa de respiração e danificação dos tecidos da batata (Figura 2).

Para prevenir a perda da qualidade e segurança da batata, são usadas pela indústria tecnologias como a refrigeração através da utilização de temperaturas baixas, embalagens com atmosfera modificada ou a aplicação de aditivos sintéticos como o usado pela Empresa de Hortofrutícolas a Campotec S.A. (Torres Vedras, Portugal). A Campotec S.A. é uma empresa que se dedica ao comércio de frutas, batatas e produtos hortícolas minimamente processados.

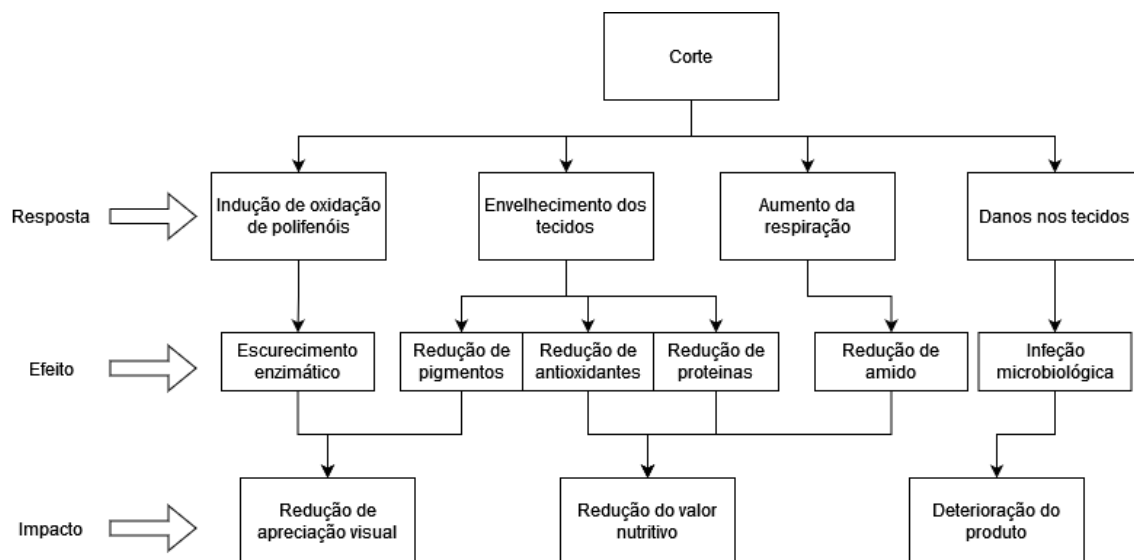


Figura 2 - Consequências da etapa de corte em produtos minimamente processados (Adaptado de Bansal et al., 2015).

A batata contém naturalmente compostos que inibem o escurecimento enzimático, como os compostos antioxidantes. No entanto, 50% destes compostos encontram-se na pele da batata e tecidos adjacentes sendo os restantes 50% distribuídos pela polpa da batata. Uma vez que a batata é descascada, a maioria destes compostos protetores da degradação da batata é rejeitada (Limbo et al, 2006). A batata minimamente processada encontra-se disponível no mercado sob a forma de cubos, palitos e fatias de batata.



Figura 3 – Figura representativa de batata minimamente processada em cubos, palitos e fatias. Imagens retiradas de: [www.processadoravegetable.com.br](http://www.processadoravegetable.com.br)

### 1.3. Percepção do consumidor

Para o consumidor, os principais atributos que determinam a qualidade dos PMP são a aparência, a textura, o sabor, o valor nutricional e a segurança do alimento (Park et al., 2020). Dentro dos quais destacando-se a aparência como o fator mais importante e decisivo no momento da compra. No entanto, os produtos minimamente processados são suscetíveis a processos que podem acelerar algumas reações não desejadas como o escurecimento enzimático e a taxa de respiração dos alimentos. Estes processos levam a alterações nos alimentos quer ao nível da cor como nas propriedades nutricionais levando a uma redução do tempo de prateleira (Liu et al., 2018).

No caso do escurecimento enzimático, para prolongar o tempo de prateleira, diversos agentes antioxidantes têm sido usados pela Indústria Alimentar com o objetivo de prevenir o escurecimento dos PMP. São exemplo de aditivos antioxidantes os sulfitos, o ácido cítrico, o ácido ascórbico e vários extratos de plantas como a beldroega (*Portulaca oleracea* L.) e cacto (*Opuntia dillenii*) (Buta et al., 1999; Liu et al., 2018; Wu, 2019). No entanto, os consumidores têm uma crescente preocupação no que diz respeito ao uso de aditivos de origem sintética, quer sejam usados para preservar os alimentos ou para enaltecer as suas características sensoriais como o sabor e a cor (Rico et al., 2007).

O fator limitante do tempo de prateleira de batata minimamente processadas é a degradação da cor natural, conduzindo a alterações indesejáveis da sua aparência bem como da sua qualidade nutricional. O escurecimento da batata é principalmente provocado pela ação enzimática da polifenol oxidase e da peroxidase que, para além de levarem a alterações de cor, reduzem também os valores nutricionais da batata, uma vez que os compostos fenólicos presentes na batata são oxidados (Ali et al., 2016; Park et al., 2020).

Desta forma, a Indústria Alimentar enfrenta um enorme desafio que se traduz em disponibilizar aos consumidores batata minimamente processada de elevada qualidade sem aditivos sintéticos. Vários tipos de tratamentos têm sido estudados como por exemplo a aplicação do tratamento térmico (Park et al., 2020), da atmosfera modificada (Gunes et al., 1997), o tratamento antioxidante através da ação de extratos de plantas (Wu, 2019) e o tratamento antioxidante com a adição de peptídeos (Liu et al., 2018).

## 1.4 Processamento mínimo de batata

Na Figura 4 é possível observar as principais etapas na produção de batata minimamente processada (Martín-Belloso et al, 2006)

Assim, numa primeira etapa, após a colheita da batata, a batata é lavada e desinfetada num tanque com escovas. Esta etapa do processo serve para retirar resíduos como terra e para reduzir carga microbiana superficial. É uma etapa importante para eliminar qualquer microrganismo que possa estar na superfície da batata, comprometendo a segurança do mesmo (Wu et al, 2010).

Na etapa seguinte, as batatas são descascadas com recurso a uma lixa abrasiva, retirando apenas a casca. Após este processo, a batata é cortada por um conjunto de laminas, que são diferentes dependendo do que se deseja como produto final (batatas às rodelas ou palitos). É principalmente após este último processo abrasivo que os tecidos da batata sofrem maiores lesões, levando ao desenvolvimento de reações secundárias como o escurecimento e aumento da taxa de respiração (Petri et al., 2008; Rico et al., 2007).

Geralmente, para evitar perdas de qualidade da batata, após o corte, as rodelas de batata são submetidas a um tratamento antioxidante (Ali et al., 2021; Petri et al., 2008). Depois da aplicação do tratamento é realizada uma calibração, onde são retiradas as batatas com tamanho diferente do definido. De seguida, é realizada uma centrifugação para remoção do excesso de solução. Depois são pesadas para assegurar que cada saco contém aproximadamente a quantidade necessária de batata e de seguida embalada. Por fim, as batatas são armazenadas a 4°C antes de serem distribuídas pelos canais de distribuição.

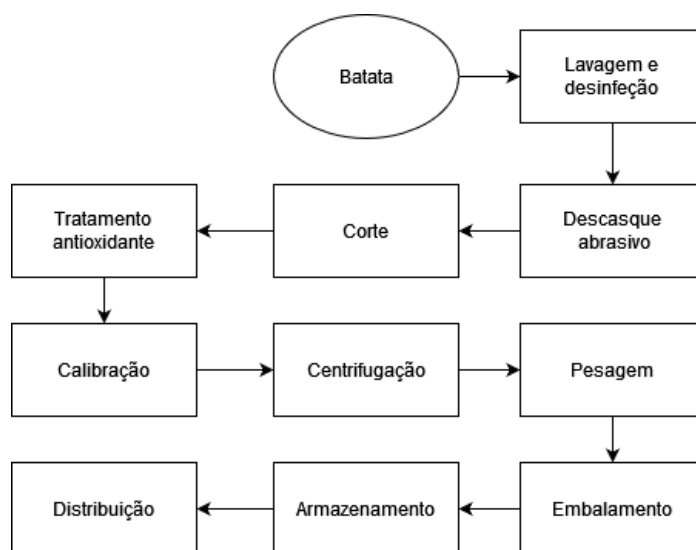


Figura 4 – Fluxograma das etapas de processamento de batata minimamente processada. Adaptado de Martín-Belloso et al (2006).

## 1.4. Perda de qualidade dos Produtos Minimamente Processados

### 1.4.1. Escurecimento enzimático

O escurecimento enzimático é um processo gradual, no qual os produtos hortofrutícolas vão produzindo pigmentos castanhos, como as melaninas, ao longo do tempo. Este processo além de alterar visualmente as frutas e legumes, é responsável também por alterações sensoriais e nutricionais (Martín-Belloso et al, 2006). A principal causa no impacto da qualidade da batata minimamente processada é o escurecimento (Limbo et al, 2006). Durante os processos de descasque e corte da batata, os tecidos da batata sofrem lesões, levando a uma resposta dos mesmo com reações secundárias. Entre estas reações, ocorrem diversas reações enzimáticas que provocam a alteração da cor e a redução do valor nutritivo das mesmas. Este é também o fator limitante no que diz respeito ao tempo de prateleira da batata minimamente processada (Rico et al., 2007).

O escurecimento enzimático acontece principalmente devido á atividade das enzimas polifenol oxidase (PPO) (Zhang et al., 2020) e pela peroxidase (POD) (Freitas et al., 2008).

A PPO é uma enzima presente naturalmente em todos os tecidos das plantas e que reage na presença de oxigénio. Esta enzima possui quatro átomos de cobre e está envolvida em 2 reações: a reação de hidroxilação de monofenóis a ortodifenóis e na reação de oxidação de ortodifenóis a ortoquinonas (Park et al., 2020). Estas moléculas são muito reativas, que reagem por via não enzimática, produzindo pigmentos castanhos, pretos e vermelhos como as melaninas que provocam o escurecimento dos alimentos, alteração da qualidade nutricional das batatas e seu sabor (Figura 5). Esta enzima, que tem uma atividade ideal a um pH entre 5 e 7 e é inibida a pH abaixo de 3. Por esta razão, algumas frutas e legumes são tratados com agentes ácidos de modo a inibir a atividade desta enzima (Moon et al., 2020).

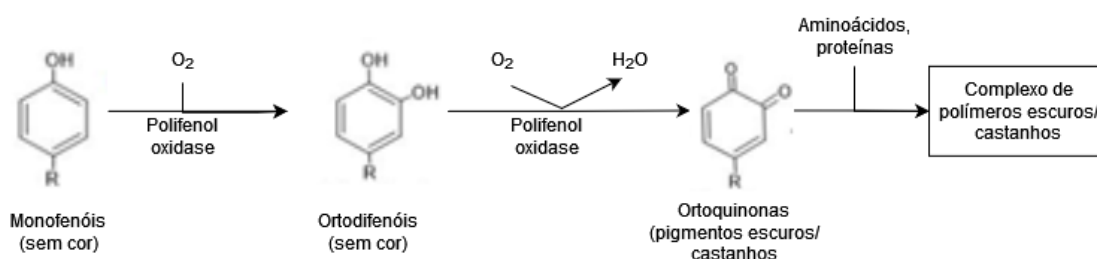


Figura 5 – Mecanismo de ação da polifenol oxidase (Fonte: Moon et al., 2020).

A POD é outra enzima relacionada na oxidação de polifenóis. Esta enzima reage com peróxidos e catalisa a oxidação de composto fenólicos, produzindo radicais livres (Park et al., 2020). Durante o processamento da batata, os tecidos da batata são rompidos, permitindo que os substratos e as enzimas entrem em contacto, acelerando assim o processo de escurecimento (Limbo et al, 2006).

Para inibir estes processos enzimáticos podem ser usados diversas tecnologias e tratamentos, desde tratamentos térmicos a adição de compostos químicos. Atualmente, na Indústria o mais comum é a aplicação de um tratamento com incorporação de um agente anti escurecimento como o ácido ascórbico, ácido cítrico ou sulfitos (Limbo et al, 2006; Liu et al., 2018). Estes tratamentos são eficazes, mas podem levar à produção de alguns sabores e odores não desejados nos produtos em que são incorporados. Além deste problema, muitos dos agentes usados podem causar diversos problemas de saúde, pelo que são regulamentados, existindo valores máximos que podem ser aplicados, dependendo da fruta ou vegetal. Por exemplo, os sulfitos (aditivos alimentares E220- E228) têm um limite máximo permitido pela lei europeia de 50 mg por cada quilo de batata (Reg EU nº1129/2011). Para além disso, alguns destes aditivos deixam um cheiro a enxofre, podem provocar irritações na pele a quem o manuseia e ainda algumas reações alérgicas aos consumidores (Dalefield et al, 2016; Lester, 1995; Pineli et al., 2005).

#### 1.4.2. Taxa de respiração

A respiração é um dos processos metabólicos mais importantes em todos os produtos minimamente processados (Fonseca et al., 2002; Petri et al., 2008). É a partir deste processo metabólico que as células produzem energia necessária aos processos bioquímicos de manutenção da célula, quebrando as macromoléculas presentes nesta, como o amido, a sacarose, a frutose e outros açúcares, em moléculas mais simples. Como qualquer tecido vivo, durante o processo de respiração é geralmente consumido oxigénio e libertado dióxido de carbono e água (Fonseca et al., 2002).

A taxa de respiração é um bom indicador da atividade dos produtos hortofrutícolas, sendo que estes podem ser classificados segundo a sua taxa de respiração em 6 classes, como descrito na Tabela 2. A taxa de respiração é inversamente proporcional à capacidade de conservação dos alimentos (Kader, 2002). Como se pode constatar, a batata é um dos produtos classificados com uma taxa de respiração baixa.

Tabela 2 – Comparação das taxas de respiração de diferentes produtos hortofrutícolas (Adaptado de Kader, 2002).

Classe	Taxa de respiração a 5°C (mg CO <sub>2</sub> /kg.h)	Produtos
Muito baixa	Inferior a 5	Noz, avelã, castanha, amêndoa, tâmara
Baixa	Entre 5 e 10	Maça, citrinos, uva, kiwi, cebola, batata
Moderada	Entre 10 e 20	Damasco, banana, cereja, pêssego, nectarina, pera, ameixa, figo, tomate, couve, cenoura, alface, pimento
Alta	Entre 20 e 40	Morango, framboesa, amora, couve-flor, abacate
Muito alta	Entre 40 e 60	alcachofra, feijão-verde, couve-de-bruxelas, flores cortadas
Extremamente alta	Superior a 60	Espargos, brócolos, cogumelos, ervilhas frescas, espinafre, milho doce

No entanto, no caso dos produtos minimamente processados este processo torna-se mais importante porque devido aos processos a que estes são sujeitos, a taxa de respiração pode aumentar significativamente. Existem também fatores externos como a temperatura e a exposição à luz, e fatores internos como o tipo de produto, a sua variedade e estado de desenvolvimento após a colheita, que podem influenciar este valor (Almeida, 2012).

#### 1.4.3. Microbiologia

Geralmente, a batata não é considerada um vetor de transporte de microrganismos patogénicos. No entanto, durante o processamento desta como um PMP, criam-se condições favoráveis à contaminação e desenvolvimento de microrganismos. Até ao início do século XXI, nos Estados Unidos, Países Baixos e Reino Unido, registaram-se diversas intoxicações alimentares associadas à contaminação de batatas minimamente processadas (Doan et al, 2000). O desenvolvimento da Indústria Alimentar, aliado às boas práticas de processamento, ao controlo realizado através da implementação do sistema de Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos (HACCP), e à formação das equipas técnicas, têm levado à redução da presença de microrganismos nas batatas após processamento. Para além destas ações acresce ainda a operação unitária de descontaminação dos PMP a qual consiste em imergir a batata num agente desinfetante durante aproximadamente 30 segundos, seguindo-se o embalamento em sacos de polietileno e armazenamento à temperatura de 4 °C (Doan et al, 2000; Lester, 1995). Sendo o tempo de prateleira da batata tão curto e devido a todos os esforços da indústria para controlar todos os perigos microbiológicos, a contaminação microbiológica é um fator limitante para a batata minimamente processada (Doan et al, 2000).

## 1.5. Preservação dos produtos minimamente processados

### 1.5.1. Temperatura

O controlo de temperatura dos PMP é dos processos mais importantes para a qualidade e segurança dos alimentos. A partir do controlo desta é possível controlar as diversas atividades biológicas anteriormente referidas como a taxa de respiração e o escurecimento enzimático bem como a inibição do desenvolvimento microbiano (Doan et al, 2000; Gunes et al, 1997). No controlo do sistema de HACCP, a temperatura é grande parte das vezes um ponto crítico de controlo. É importante que, desde o processo de produção da batata minimamente processada até à sua comercialização, a temperatura seja sempre inferior a 4 °C. Com isto, o aumento de temperatura em qualquer uma das etapas de processamento ou transporte da batata minimamente processada coloca em risco a qualidade e a segurança do produto. Sem um controlo eficaz de temperatura, o tempo de prateleira será muito inferior ou até mesmo impossibilitar a comercialização dos produtos minimamente processados (Cenci, 2011).

### 1.5.2. Revestimentos comestíveis

Hoje em dia, a População debate-se com a crescente preocupação com a saúde e bem-estar, ao mesmo tempo com o seu estilo de vida mais apressado, tem levado à procura de alimentos com o mínimo de aditivos e com embalagens mais amigas do ambiente. Os aditivos usados na Indústria são de origem sintética, e têm como objetivo estender o tempo de prateleira sendo para tal controlados, existindo limites máximos a respeitar na incorporação dos alimentos, como é o caso dos sulfitos. Apesar dos aditivos já serem usados à mais de 100 anos em diversos alimentos e bebidas, estes não são isentos de problemas. Uma parte da população é sensível a estes aditivos, causando muitas vezes reações adversas. Para além do problema de saúde que estes podem causar, podem também, através de mecanismos biológicos do alimento, libertar sabores e aromas indesejados (Dalefield et al, 2016; Lester, 1995). No caso do metabissulfito, este pode causar irritação gástrica devido à formação e libertação de ácido sulfuroso, reações alérgicas na pele, e problemas nos doentes asmáticos, bem como a redução dos teores de tiamina (Vitamina B1) quando em reação com os alimentos (Vitamina B1) (ASAE, 2022). Este composto previne o escurecimento dos alimentos libertando dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) lentamente, que por sua vez reage com as enzimas responsáveis pelo

escurecimento, inibindo a atividade destas e consequentemente o aparecimento de escurecimento mediado pela atividade enzimática (Liang et al., 2012).

Assim, diversos aditivos com origem natural têm vindo a ser testados e introduzidos na formulação de revestimentos edíveis, desde os extratos de plantas, até extratos de peptídios de bacalhau (Liu et al., 2018). (Liu e colaboradores (2019) formularam um revestimento edível com extrato de beldroega (*Portulaca oleracea* L.) tendo demonstrado a redução do escurecimento da batata, bem como a redução da atividade das enzimas que provocam o escurecimento enzimático. Por outro lado, (Wu (2019) desenvolveu um revestimento à base de extrato de catos (*Opuntia dillenii*) que permitem a redução do escurecimento enzimático, inibição do crescimento microbiano e impedir a perda de peso das batatas tratadas com este revestimento.

## 1.6. Algas

As algas (do latim *algae*, que significa planta marinha) são geralmente divididas em 3 grupos, dependendo da sua cor: algas vermelhas (*Rhodophyta*), algas verdes (*Chlorophyta*) e algas castanhas (*Phaeophyta*) (Pangestuti & Kim, 2011). Estas têm sido utilizadas durante muitos anos nas populações Orientais, na sua alimentação como para uso medicinal (Catarino et al., 2018). Com exceção de alguns países e culturas, a maioria dos países ocidentais nunca demonstrou um grande interesse no uso de algas. Recentemente, e devido à maior preocupação ambiental e nutricional por parte dos consumidores, as algas têm-se tornado bastante populares em todo o mundo e em diversas indústrias como a indústria têxtil, dos plásticos, das tintas, dos cosméticos, da farmacêutica e alimentar (Andrade et al., 2013). Uma das grandes vantagens das algas é que estas não competem por espaço de cultivo com outras culturas terrestres, como o trigo, a batata e o arroz, por não necessitarem de terras férteis e de água. Estas são boas fontes de polissacarídeos, proteínas, vitaminas e minerais e também de compostos bioativos importantes para o bom funcionamento do organismo humano (Gullón et al., 2020). Alguns dos compostos bioativos encontrados nas algas demonstram propriedades anti-inflamatórias, anti mutagénicas, anti tumorais, antidiabéticas, anti-hipertensivas e ainda propriedades hepatoprotetoras (Gamal, 2010; Pangestuti et al 2011). Acresce ainda o teor reduzido no conteúdo lipídico (Cardoso et al., 2015; Casas et al., 2019).

Em Portugal estima-se que existam mais de 460 espécies e variedades de algas identificadas (246 espécies de *Rhodophyta*, 98 de *Ochrophyra*, 60 de *Chlorophyta*, 61 de *Cyanophyta* e 1 de *Xanthophyceae*) (Gaspar et al., 2019). Algumas destas algas estão

classificadas como comestíveis, como a *Codium tomentosum*, *Fucus vesiculosus* e *Ulva* sp. podendo ser usadas na indústria alimentar (Gaspar et al., 2019).

Por terem diversos compostos de interesse, como o agar, o carragenano, o alginato e diversos pigmentos, as algas têm sido alvo de estudos de avaliação da sua eficácia na aplicação em diversas indústrias, e em particular na Indústria Alimentar. Dado as propriedades das algas e dos diversos compostos que podem ser extraídos destas, observa-se um grande investimento na produção destas. A sua produção triplicou de 2000 para 2016, para uma produção de 32,4 milhões de toneladas (Matos et al., 2021) e estima-se que o crescimento aumente nos próximos anos.

Como referido anteriormente, as algas possuem diversos compostos de interesse. Devido à sua elevada proporção de compostos fenólicos e de outros compostos com propriedades interessantes, os extratos de algas têm vindo a demonstrar que são promissores na aplicação em produtos minimamente processados como revestimento edível com o objetivo de estender o tempo de prateleira, com a substituição dos aditivos sintéticos por alternativas mais saudáveis e sustentáveis (Augusto et al., 2016; Reboleira et al., 2020) ou como aditivos alimentares para reduzir o risco de problemas de saúde como a obesidade, a diabetes ou doenças cardiovasculares (Neto et al., 2018).

Existem diversas técnicas usadas para extrair compostos de interesse das algas. Atualmente os estudos de técnicas de extração centram-se em técnicas mais amigas do ambiente, em que em vez de usarem solventes como o etanol ou o metanol, fazem uso de ultrassons, enzimas ou microondas (Casas et al., 2019; Kumar et al., 2020; Matos et al., 2021).

Tendo em conta a crescente preocupação das pessoas com a saúde e bem-estar, a adição destes extratos de fonte natural em produtos minimamente processados tem o potencial de aumentar o seu valor comercial. Entre as aplicações de algas no setor alimentar encontra-se a aplicação de extratos de algas em filmes e revestimentos alimentares. Augusto e colaboradores (2016), desenvolveram um revestimento com extrato etanoico de algas (*C. tomentosum*) aplicado nas maçãs Fuji. O estudo revelou que a aplicação do extrato permitiu uma redução significativa no índice de escurecimento quando comparado com outros tratamentos.

## 2. Objetivos

A batata minimamente processada apresenta um período de vida útil baixo devido aos processos degradativos, consequência do processamento a que é submetida. Um dos fatores que mais contribui para a diminuição da qualidade e segurança alimentar da batata é o escurecimento enzimático. A aplicação de revestimentos edíveis a partir de extratos naturais para substituição dos aditivos sintéticos tem sido alvo de estudo nos últimos anos. Com a adição destes revestimentos pretende-se disponibilizar à sociedade um alimento sem adição de aditivos sintéticos. Assim, no presente estudo, o objetivo principal foi desenvolver um revestimento à base de algas edíveis para aumentar o tempo de vida útil da batata minimamente processada. Para alcançar este objetivo, traçaram-se as seguintes etapas:

- Avaliação do processo de extração dos compostos de interesse das algas;
- Desenvolvimento das formulações dos revestimentos à base de algas edíveis;
- Caracterização da funcionalidade dos extratos produzidos relativamente ao potencial de extensão do tempo de vida útil de batata minimamente processada;
- Avaliação do efeito da aplicação de extratos selecionados na manutenção da qualidade de batata minimamente processada ao longo de 10 dias de armazenamento à temperatura de 4°C (+/- 1°C).

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1. Obtenção dos extratos de algas

As algas *C. tomentosum* (em pó, Algaplus, Ilhavo, Portugal), *F. vesiculosus* (em flocos, Algaplus, Ilhavo, Portugal) e *Ulva. sp.* (em flocos, Algaplus, Ilhavo, Portugal) foram sujeitas a dois processos de extração:

- I. Extração sólido-líquido estática – Adaptou-se a metodologia de Heffernan et al., (2014) .Os extratos foram obtidos com recurso a uma mistura de etanol e água (80% etanol e 20% de água), tendo sido pesados cerca de 10 g de cada uma das algas e adicionadas a 100 mL de mistura etanol/água. A solução ficou em agitação (Stuart Shaking Incubator SI500, Cole-Parmer, Reino Unido) durante 24h, protegida da luz, à temperatura ambiente. De seguida, os extratos foram submetidos à centrifugação (Centrifuge 5810R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) a 5000 g durante 10 min a 4°C tendo-se recolhido o sobrenadante. De seguida, o sobrenadante foi submetido a evaporação a vácuo a 40°C (Laborota 4000-efficient, Heidolph, Alemanha), para evaporação do etanol presente na solução. Por fim, o extrato contendo a parte aquosa, foi liofilizado para remoção da água e estabilização do extrato. O extrato seco foi conservado em local seco à temperatura ambiente até à sua utilização.
- II. Extração sólido-líquido assistida por ultrasons – Adaptou-se a metodologia de Rodrigues et al., (2015). Resumidamente, os extratos foram obtidos com recurso a um banho de ultrasons. A 2g de alga foram adicionados 50 mL de água destilada. A solução ficou em agitação (Stuart Shaking Incubator SI500, Cole-Parmer, Reino Unido) durante 24 h a uma temperatura de 50 °C, protegida da luz. De seguida, as soluções foram colocadas num banho de ultrasons (Ultrasonic USC600TH, VRW, Malásia)) a 50 °C durante 60 minutos (5 ciclos de sonicação durante 10 minutos seguido de pausa de 2 min). Posteriormente, as soluções foram centrifugadas (Centrifuge 5810R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) a 5000 g durante 10min a 4°C. O sobrenadante foi liofilizado para remoção da água e estabilização do extrato. O extrato seco foi conservado em local seco á temperatura ambiente até a sua utilização.

### 3.2. Rendimento das extrações

Foram também calculados os rendimentos de extração. Para calcular os rendimentos das extrações foi usada a seguinte equação (Rodrigues et al., 2015):

$$\text{Equação 1} \quad \text{Rendimento extração (\%)} = \frac{\text{massa extrato obtido (g)}}{\text{massa alga usada (g)}} \times 100$$

### 3.3. Formulação da solução de revestimento de extrato de algas

Para a análise dos diferentes extratos obtidos, prepararam-se soluções de extratos das algas anteriormente mencionadas, com concentração de 0,5% (m/v) em água destilada (Augusto et al., 2016; Wu, 2019).

Durante este trabalho, foi usada a seguinte nomenclatura para os extratos de algas obtidos:

- Extrato de *C. tomentosum* com extração sólido-líquido assistida por ultrassons: Cd1
- Extrato de *C. tomentosum* com extração sólido-líquido estática: Cd2
- Extrato de *Ulva. sp* com extração sólido-líquido assistida por ultrassons: Uv1
- Extrato de *Ulva. Sp.* cm extração sólido-líquido estática: Uv2
- Extrato de *F. vesiculosus* com extração sólido-líquido assistida por ultrassons: Fc1
- Extrato de *F. vesiculosus* com extração sólido-líquido estática: Fc2

### 3.4. Caracterização das soluções de extratos de algas

#### 3.4.1. Avaliação do pH

Para a avaliação do pH das soluções dos extratos de algas utilizou-se um potenciômetro (WTW inoLab pH Level 2, Weilheim, Alemanha), calibrado previamente. A sonda do potenciômetro foi mergulhada diretamente nas soluções. Foram realizadas determinações em triplicado para cada solução de extrato.

#### 3.4.2. Quantificação total de polifenóis (QTP)

A quantificação total de polifenóis dos diferentes extratos foi efetuada através do método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, adaptado de (Silva et al., 2021).

Num microtubo adicionaram-se 12,5 µL de água destilada, 12,5 µL de solução de extrato e 95 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha) previamente diluído em água mili-q (diluição 1:10), seguida de uma pré-incubação de 6 minutos (no escuro). De seguida foi adicionado 80 µL de carbonato de sódio a 7,5% (m/v) (Biochem Chemophama, Cosne-Cours-sur-Loire, França). As amostras foram incubadas no escuro durante 2 horas à temperatura ambiente. Após incubação, foi medida a absorvância a 765 nm no leitor de microplacas (Epoch, Biotek Instruments, Inc.). Como padrão para a curva de calibração foi utilizado o ácido gálico (Merck KgaA, Darmstadt, Alemanha).

As amostras foram analisadas em triplicado e os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por mililitro de solução de extrato (mg de equivalentes de ácido gálico/ mL solução de extrato).

### 3.4.3. Avaliação da capacidade de redução do radical livre DPPH

O método da capacidade de redução do radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) baseia-se na redução do radical DPPH. Trata-se de um método espectrofotométrico em que a absorvância do radical pode ser monitorizada entre os 515 e os 520 nanômetros. Para a realização deste teste recorreu-se à metodologia descrita por Rodrigues et al., (2015), com alterações.

Foi preparada previamente uma solução de DPPH (TCI Chemical Industry, Tóquio, Japão) em etanol absoluto (0,1mM) (AGA – Álcool e Géneros Alimentares, Lisboa, Portugal). Em cada poço da microplaca adicionou-se 50 µL de extrato de alga e 150 µL de solução DPPH. Para os brancos adicionou-se 50 µL de etanol a 150 µL de solução DPPH na microplaca e a amostra controlo colocando 200 µL de solução DPPH. As amostras foram incubadas no escuro durante 30 minutos à temperatura ambiente, e depois medida a absorvância a 517 nm. As amostras foram analisadas em triplicado. A capacidade de redução do radical DPPH foi calculada através da seguinte equação:

$$\text{Equação 2:} \quad \% \text{ redução DPPH} = \left( 1 - \frac{Abs_{Amostra} - Abs_{Branco}}{Abs_{Controlo}} \right) \times 100$$

### 3.4.4. Avaliação da capacidade de redução do radical livre ABTS

O método da capacidade de redução do radical ácido 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic (ABTS) baseia-se na redução do radical ABTS. A solução ABTS apresenta uma cor violeta e quando reduzido apresenta torna-se incolor (Xiao et al., 2020). Trata-se de um método espectrofotométrico em que a absorvância do radical pode ser monitorizada aos 734 nanômetros, observando a redução da absorvância a esse comprimento de onda. Para a realização deste teste recorreu-se à metodologia descrita por Yuan et al., (2018) com alterações.

Foram preparadas previamente 2 soluções. Na solução 1 dissolveram-se 96,02 miligramas de ABTS (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha) em 50 ml de água Mili-q. Na solução 2 dissolveram-se 66,24mg de persulfato de potássio (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha) em 50 mL de água Mili-q. Juntaram-se 5 mL de cada uma das soluções e deixou-se no escuro à temperatura ambiente durante 12h. A solução de ABTS é depois diluída com água até se registar uma absorvância de  $0,700 \pm 0,02$  a um comprimento de onda de 734 nm.

Em cada poço da microplaca adicionou-se 50 µl de extrato de alga e 150 µl de solução ABTS. Os brancos foram obtidos substituindo a amostra por água Milli-q, e a amostra controle colocando apenas 200 µL de solução ABTS. As amostras foram incubadas no escuro durante 6 min à temperatura ambiente e depois medida a absorvância a 734 nm no leitor de microplacas (Epoch, Biotek Instruments, Inc.). As amostras foram analisadas em triplicado. A capacidade de redução do radical ABTS foi calculada através da seguinte equação:

Equação 3

$$\% \text{ redução ABTS} = \left( 1 - \frac{Abs_{Amostra} - Abs_{Branco}}{Abs_{Controlo}} \right) \times 100$$

### 3.5. Avaliação dos extratos de algas como revestimento alimentar em batata minimamente processada

#### 3.5.1. Preparação da batata minimamente processada e aplicação do revestimento

Para a preparação da batata minimamente processada, utilizou-se uma adaptação do protocolo descrito por Ali et al. (2021). O fluxograma do protocolo encontra-se na Figura 6.

As batatas da variedade *Agría* foram fornecidas pela Campotec SA (Torres Vedras, Portugal) e armazenadas num local seco à temperatura ambiente até à sua utilização. Cada batata apresentou uma variação de massa entre os 100 g e 300 g.

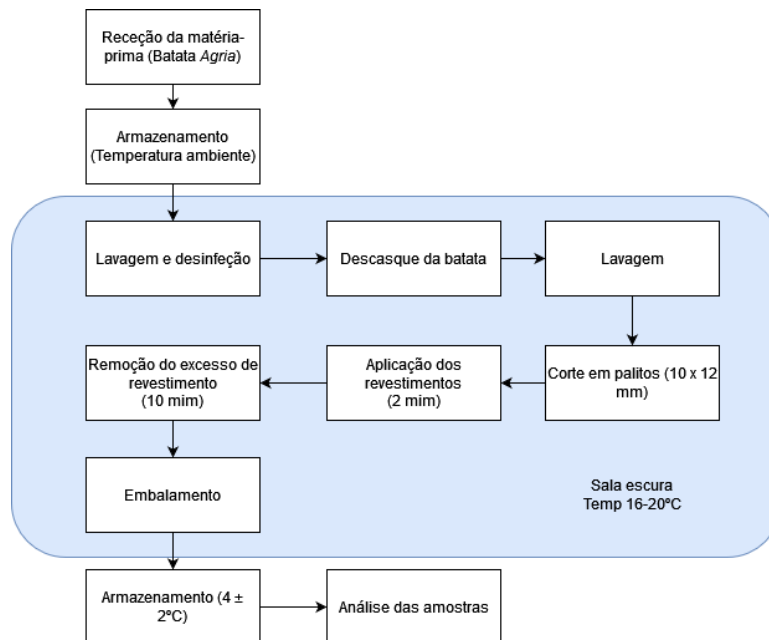


Figura 6 - Fluxograma do procedimento de preparação da batata minimamente processada.

A aplicação dos revestimentos foi realizada em sala com iluminação reduzida a temperatura entre os 16°C e os 20°C. As batatas foram submetidas a uma desinfecção com solução de hipoclorito de sódio (2%), mergulhando-as na solução durante 2 min. Após esta etapa, foram descascadas manualmente, lavadas em água para retirar impurezas que se encontravam na superfície da batata e de seguida cortadas em palitos, com aproximadamente 10x12 mm, com recurso a um cortador de batatas industrial (Robot Coupe CL50, França). Foram processadas 3 batatas de cada vez de forma a minimizar o tempo de exposição da batata ao ambiente, evitando o aparecimento de escurecimento e assim garantir a qualidade do produto final (Figura 7).



Figura 7 – Zona de aplicação das soluções de revestimento (controlo, soluções de extratos de algas e metabissulfito de sódio) na batata minimamente processada.

De seguida, os palitos de batata foram colocados nas soluções de revestimento durante 2 minutos (razão de 100 g de batata para 250 mL de solução). Seguindo resultados preliminares, foram seleccionadas 2 soluções de extratos de algas a aplicar na batata: solução de extrato de *C. tomentosum* e solução de extrato de *F. vesiculosus*, ambos com recurso a extração assistida por ultrassons. Foram utilizados 4 tratamentos: solução de extrato de *C. tomentosum* (0,5% m/v), solução de extrato de *F. vesiculosus* (0,5% m/v), metabissulfito de sódio (0,2% m/v) e água (controlo).

Após imersão na solução de revestimento, os palitos de batata foram colocados num escorredor durante 10 min para remoção do excesso da solução de revestimento. Para finalizar, os palitos foram embalados em sacos de polietileno com dimensões 100x150mm (Figura 8), com aproximadamente 100g e armazenados à temperatura de refrigeração ( $4 \pm 2$  °C) durante 10 dias com análises periódicas (0, 2, 4, 6, 8 e 10 dias). A cada dia de análise retiraram-se 3 a 4 palitos para análise colorimétrica e os restantes foram congelados a  $-28$  °C para posterior determinação de atividade enzimática.

Simultaneamente, para o cálculo da percentagem de perda de peso, foram considerados 3 sacos com aproximadamente 50 g de palitos de batata por cada tipo de revestimento, tendo sido efetuadas pesagens a cada tempo de amostragem.



Figura 8 – Representação da amostra de palitos de batata após processamento e embalagem em saco de polietileno.

### 3.5.2. Avaliação da cor da batata

Para avaliar a alteração da cor da batata, os palitos de batata previamente revestidos com os tratamentos foram analisados aos dias 0, 2, 4, 6, 8 e 10, com recurso ao colorímetro (Konica Minolta CR-400, Japão). O colorímetro foi calibrado usando uma placa de cerâmica branca. Foram realizadas nove leituras para cada tratamento, realizando a medição a diferentes palitos de batata. Para avaliar os resultados obtidos pelo colorímetro, usou-se o sistema CIELAB, sendo registados os valores  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .

O sistema CIELAB é o mais utilizado para avaliar a cor dos alimentos, relacionando os valores dos parâmetros de cor obtidos pelo colorímetro com a perceção visual. O parâmetro  $L^*$  diz respeito à luminosidade da amostra, o parâmetro  $a^*$  à coordenada verde-vermelho, e o  $b^*$  à coordenada azul-amarelo. Este método de avaliação da cor é objetivo e preciso. Como cada cor do espectro visível é uma combinação destes 3 parâmetros, este método facilita a comparação de dados. (McGrath et al., 2017).

Para calcular a alteração da cor da batata minimamente processada, foi utilizada a seguinte equação (Angós et al., 2008):

Equação 4 
$$\text{Diferença Total de Cor } (\Delta E) = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$$

Em que

$$\Delta L^* = L^*(\text{controlo dia 0}) - L^*(\text{amostra})$$

$$\Delta a^* = L^*(\text{controlo dia 0}) - L^*(\text{amostra})$$

$$\Delta b^* = L^*(\text{controlo dia 0}) - L^*(\text{amostra})$$

Para comparar com os resultados obtidos pelo colorímetro, foi também feito um registo fotográfico dos palitos de batata nos mesmos dias.

### 3.5.3. Determinação da percentagem de perda de massa

No decorrer da avaliação da qualidade das amostras de batata minimamente processada registou-se o peso dos sacos para a determinação da percentagem de perda de massa. Este estudo foi realizado para avaliar a eficácia dos revestimentos quanto à perda de água da batata minimamente processada. Para isso, registou-se a massa de cada amostra com uma balança (PCB 500, Kern, Alemanha), ao longo dos 10 dias de armazenamento. A percentagem de perda de massa foi calculada segundo a seguinte equação:

$$\text{Equação 4} \quad \% \text{ perda de peso} = \left( \frac{\text{Massa inicial} - \text{Massa final}}{\text{Massa inicial}} \right) \times 100$$

### 3.5.4. Determinação da atividade enzimática das enzimas polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD)

Para a determinação da atividade enzimática das enzimas polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD) da batata com diferentes tratamentos, recorreu-se à espectrofotometria molecular, adaptando-se os métodos de Augusto et al., (2016); Rodríguez-Verástegui et al., (2016); Sulaiman et al., (2015) e Zhang et al., (2020).

Antes de se proceder à análise da atividade enzimática da batata, foram preparadas as soluções tampão necessárias: solução tampão de fosfato de sódio (0,1M) com pH 7,4 com 5g/L de polivinilpirrolidina (PVP) (PanReac AppliChem, Barcelona, Espanha), solução tampão de fosfato de sódio (0,005M) com pH 7 e solução tampão de fosfato de sódio (0,05M) com pH 6,5.

Para a extração das enzimas PPO e POD, os palitos previamente congelados a -28°C, foram cortados em pedaços de pequenas dimensões tendo o cuidado de prevenir o descongelar. De seguida, homogeneizaram-se 5 g de batata com 10mL da solução tampão de fosfato de sódio (Scharlau, Sentmenat, Espanha) 0,05 M com recurso a um homogeneizador. Após este passo, as amostras foram centrifugadas a 14000 g, 4 °C durante 30min. O sobrenadante foi recolhido e armazenado a -80 °C para posterior análise enzimática.

Para a determinação da atividade enzimática da PPO foi preparada uma solução de 20mM de catecol como substrato em solução tampão de fosfato de sódio 0,005 M, pH 7,0. Numa microplaca, adicionou-se 24 µL de extrato enzimático de batata e 246 µL de solução de catecol. De seguida foi medida a absorvância a 400 nm no leitor de

microplacas (Epoch, Biotek Instruments, Inc.) durante 1 min. Os resultados foram expressos em unidades de enzima por grama de batata.

Para a determinação da atividade enzimática da POD foi preparada uma solução com 1% guaiacol (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) como substrato, 0,3% de peróxido de hidrogénio (PanReac AppliChem, Barcelona, Espanha) como dador de hidrogénio em solução tampão de fosfato de sódio 0,05M, pH 6,5. Numa microplaca, adicionaram-se 29 µl de extrato de batata e 271 µl da solução de guaiacol. De seguida foi medida a absorvância a 470 nm no leitor de microplacas (Epoch, Biotek Instruments, Inc.) durante 10 min. Os resultados foram expressos em unidades de enzima por grama de batata.

### 3.6. Tratamento estatístico

O tratamento estatístico foi efetuado com recurso ao programa IBM® SPSS® Statistics versão 28.0.0. Os testes de Levene foi utilizado para testar a homogeneidade da variância. Os dados obtidos foram avaliados através de análise de variância com 1 fator (ANOVA-1 fator), seguido pelo teste de Dunnett para comparação com o controlo, ou seguido pelo teste de LSD para teste de comparações múltiplas. Quando a homogeneidade de variâncias não foi observada, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas Games-Howell. Todos os resultados expressos neste trabalho representam a média  $\pm$  desvio padrão. Em todas as análises, as diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando o valor de p se apresentou inferior a 0,05.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Caracterização dos extratos de algas

No presente estudo obtiveram-se seis extratos de algas (*C. tomentosum*, *F. vesiculosus* e *Ulva sp.*) após a extração de sólido-líquido estática e assistida por ultrassons tendo-se registado diferentes rendimentos após cada processo, como se observa na Tabela 3. Para todas as espécies de algas o método de extração assistida por ultrassons apresenta um rendimento de extração superior em cerca de 10% ao obtido na extração sólido-líquido estática. Esta tipologia de extração é mais amiga do ambiente, uma vez que a água é usada como solvente de extração enquanto na extração de sólido-líquido estática utiliza-se também etanol. Em ambos os tipos de extração, é possível obter um maior rendimento ao utilizar a alga *C. tomentosum*, possivelmente por, no processo de extração, esta alga ter sido fornecida em pó comparativamente com as outras duas algas que foram fornecidas em flocos, o que altera a superfície de contacto e por conseguinte o seu rendimento. Ao aumentar a superfície de contacto da alga com o solvente, seria provavelmente possível extrair uma maior quantidade de compostos presentes na mesma (Leong et al., 2022).

Tabela 3 – Rendimento das extrações. Os valores correspondem à média  $\pm$  desvio padrão (n=4). Na mesma coluna, diferentes letras representam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ , teste LSD).

Alga & Extração	Rendimento de extração (%)
<i>C. tomentosum</i> assistida por ultrassons Cd1	39,12 $\pm$ 1,87 <sup>a</sup>
<i>C. tomentosum</i> em sólido-líquido estática Cd2	26,73 $\pm$ 1,45 <sup>b</sup>
<i>Ulva sp.</i> assistida por ultrassons Uv1	24,47 $\pm$ 2,42 <sup>b</sup>
<i>Ulva sp.</i> em sólido-líquido estática Uv2	10,49 $\pm$ 0,61 <sup>c</sup>
<i>F. vesiculosus</i> assistida por ultrassons Fc1	19,74 $\pm$ 0,72 <sup>d</sup>
<i>F. vesiculosus</i> em sólido-líquido estática Fc2	10,34 $\pm$ 1,50 <sup>c</sup>

Para caracterizar bioquimicamente as soluções de revestimento produzidas (secção 3.4. dos materiais e métodos) realizaram-se diferentes técnicas nomeadamente: 1) pH, 2) quantificação total de polifenóis, 3) redução dos radicais livres de DPPH e de 4) ABTS nos extratos produzidos. Os resultados obtidos nos extratos de algas em estudo encontram-se na Tabela 4.

Em relação ao pH das soluções de revestimento, foi possível observar que em todos os revestimentos obtidos através de extração sólido-líquido estática o valor apresentado foi mais baixo o que corresponde a uma maior acidez quando comparado com os extratos obtidos através da extração assistida por ultrassons ( $p < 0,05$ ). No entanto, os extratos obtidos apresentam valores de pH neutros ou muito pouco ácidos, com um valor de pH que varia entre 5 e 7, pelo que este parâmetro não é decisivo para que a enzima polifenol oxidase seja inibida (Limbo & Piergiovanni, 2006).

De modo a perceber qual das condições de extração (sólido-líquido estática e assistida por ultrassons) bem como a espécie de alga que se consegue uma extração mais rica no teor em compostos fenólicos, realizou-se a quantificação total de polifenóis de acordo com o descrito na seção 3.4.2. Face ao exposto por estudos anteriores, os compostos fenólicos apresentam propriedades antioxidantes, que são importantes para travar ou retardar o escurecimento enzimático da batata, que é causado pelo processo oxidativo (Heffernan et al., 2014). Das soluções de extratos caracterizadas, as que demonstraram uma maior quantidade de compostos fenólicos foi a solução *F. vesiculosus* ( $0,1294 \pm 0,0098$  mg equivalentes de ácido gálico/mL de solução de extrato), que é significativamente superior em relação às restantes soluções de extratos ( $p < 0,05$ ). Este resultado era esperado, uma vez que a alga castanha contém naturalmente uma maior quantidade destes compostos fenólicos conforme reportado por Agregán et al., (2018).

Para determinar a capacidade antioxidante dos extratos obtidos foram realizados dois testes distintos: redução dos radicais livres DPPH e ABTS. Observando os resultados apresentados na Tabela 4, os extratos com extração assistida por ultrassons, independentemente da espécie de alga, apresentaram um valor de percentagem superior de redução tanto do radical livre de DPPH como de ABTS ( $p < 0,05$ ). Também é possível observar que de todos os extratos obtidos, os da alga *F. vesiculosus* são os que apresentam uma maior capacidade antioxidante (mais de 25% superior em DPPH e mais de 30% superior em ABTS) de acordo com literatura diversa (Matos et al., 2021; Neto et al., 2018; Silva et al., 2021).

No teste de redução do radical livre de DPPH, a solução de extrato de *Ulva sp.* com extração sólido-líquido estática formava um precipitado com o reagente, pelo que não foi possível efetuar a determinação.

Tabela 4 – Valores de pH, quantificação total de polifenóis (mg equivalentes de ácido gálico/mL de solução de extrato), capacidade antioxidante expressa pela percentagem de redução do radical DPPH e pela redução do radical ABTS das soluções de *C. tomentosum* (Cd), *Ulva sp.* (Uv) e *F. vesiculosus* (Fc) produzidos após extração de sólido-líquido estática (1) e assistida por ultrassons (2). Os valores correspondem à média  $\pm$  desvio padrão (n=4). Na mesma coluna, diferentes letras representam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ , K-wallis, teste de Games-Howell).

Alga	pH	QTP (mg EAG/mL extrato)	% redução DPPH	% redução ABTS
Cd1	6,27 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,0071 $\pm$ 0,0008 <sup>a</sup>	24,36 $\pm$ 0,80 <sup>a</sup>	41,37 $\pm$ 1,08 <sup>a</sup>
Cd2	5,14 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,0040 $\pm$ 0,0022 <sup>a</sup>	23,22 $\pm$ 2,16 <sup>a</sup>	28,37 $\pm$ 1,77 <sup>b</sup>
Uv1	7,05 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>	0,0152 $\pm$ 0,0030 <sup>b</sup>	13,28 $\pm$ 3,39 <sup>b</sup>	69,31 $\pm$ 1,94 <sup>c</sup>
Uv2	5,61 $\pm$ 0,09 <sup>d</sup>	0,0201 $\pm$ 0,0012 <sup>c</sup>	*	54,00 $\pm$ 2,63 <sup>d</sup>
Fc1	7,08 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>	0,1294 $\pm$ 0,0098 <sup>d</sup>	59,08 $\pm$ 2,63 <sup>c</sup>	99,77 $\pm$ 0,26 <sup>e</sup>
Fc2	4,86 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>	0,0512 $\pm$ 0,0051 <sup>e</sup>	34,95 $\pm$ 4,46 <sup>d</sup>	57,33 $\pm$ 1,51 <sup>d</sup>

\* A % de redução DPPH para as amostras Uv2 não é apresentada devido à possibilidade de realizar a análise.

Dos dois tipos de extração avaliados, sólido-líquido estática e assistida por ultrassons, o que apresentou maior potencial para incorporação na formulação de revestimentos, e considerando o rendimento de extração maior foi a extração assistida por ultrassons, razão pela qual foi o processo de extração selecionado para a extração das algas *C. tomentosum* e *F. vesiculosus* e posterior aplicação na batata minimamente processada. Após a aplicação dos revestimentos formulados, a sua eficácia em prevenir o aparecimento de escurecimento foi avaliada durante 10 dias com armazenamento à temperatura de refrigeração. No que diz respeito à seleção da espécie de alga, o valor de pH não foi tido como fator de maior importância, uma vez que em todos os extratos o valor de pH apresentou-se próximo entre si e superior a 4. Assim a primeira alga selecionada foi a *F. vesiculosus* por se destacar das outras duas algas principalmente pela proporção de compostos fenólicos encontrada ser muito superior ( $p < 0,05$ ) e também pelo valor de percentagem de redução dos radicais livres de DPPH e ABTS ser também significativamente superior ( $p < 0,05$ ). A segunda alga selecionada foi a *C. tomentosum* porque, apesar dos resultados mostrarem uma quantidade de compostos fenólicos muito baixa e de uma percentagem de redução dos radicais livres também inferior às restantes algas, estudos anteriores demonstram que apresentada um elevado potencial para aplicação como solução inibidora/retardadora do escurecimento

enzimático em produtos minimamente processados, como demonstrado por Augusto e colaboradores (2016) na maçã minimamente processada.

Assim, e considerando tanto o rendimento superior de extração da solução de *C. tomentosum* assistida por ultrassons, como a maior quantidade de compostos fenólicos e a maior atividade antioxidante da solução de extrato de *F. vesiculosus* assistida por ultrassons, procedeu-se à aplicação da formulação das soluções de revestimento dos extratos de *C. tomentosum* e *F. vesiculosus*, ambos com extração assistidas por ultrassons, na batata minimamente processada.

#### 4.2. Avaliação dos efeitos dos extratos de algas na batata minimamente processada

Ao longo de 10 dias de armazenamento à temperatura de refrigeração, avaliou-se o impacto das duas soluções de extratos de algas previamente selecionados na batata minimamente processada através da análise das propriedades físico-químicas como a cor, percentagem da perda de peso, e a atividade enzimática da polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD), principais enzimas responsáveis pela alteração de cor à superfície da batata minimamente processada. Pretendeu-se avaliar a sua eficácia para o retardamento do escurecimento superficial, em comparação com a formulação atualmente utilizada na Indústria Alimentar, o metabissulfito de sódio.

##### 4.2.1. Avaliação da cor

Quanto à avaliação da cor através da análise colorimétrica (sistema CieLab) e da diferença total de cor (equação 4) é possível observar na Figura 9 que para os resultados obtidos na amostra controlo, observou-se um aumento progressivo na diferença total de cor ao longo do tempo. Nas amostras tratadas com o metabissulfito de sódio apresentam diferenças totais de cor significativamente inferiores ao dia 10 (diferença total de cor 5% inferior) quando comparadas com o controlo ( $p < 0,05$ ). Estes resultados eram esperados, visto que o aditivo (E223) é amplamente usado como agente antioxidante pela indústria (Oner et al, 2011; Burks et al., 2020) As batatas tratadas com *F. vesiculosus* apresentam também uma diferença total de cor significativa após 10 dias à temperatura de refrigeração quando comparadas com a amostra controlo ( $p < 0,05$ ). As batatas tratadas com a solução de *C. tomentosum* apresentam uma diferença total de cor significativa ( $p < 0,05$ ) aos dias 8 e 10 em relação ao controlo. É de destacar que, até ao dia 6, as batatas tratadas com metabissulfito de sódio e *C. tomentosum* apresentam valores tendencialmente semelhantes, observando-se uma

pequena diferença a partir do dia 8. De destacar que as batatas tratadas com metabissulfito apresentam tendencialmente valores de diferença total de cor superiores aos das batatas tratadas com a solução de *C. tomentosus*. Tal fato indicia a elevada potencialidade do uso deste extrato como antioxidante de origem natural com o objetivo de retardar o escurecimento enzimático dos produtos minimamente processados como observado no presente estudo, na batata.

Todos estes resultados vão ao encontro do observado visualmente aquando as análises laboratoriais em cada dia de análise e poderá ser constatado pelo registo fotográfico apresentado na Figura 10, pelo que é possível quantificar pequenas alterações de cor normalmente não perceptíveis ao olho humano (McGrath et al., 2017).

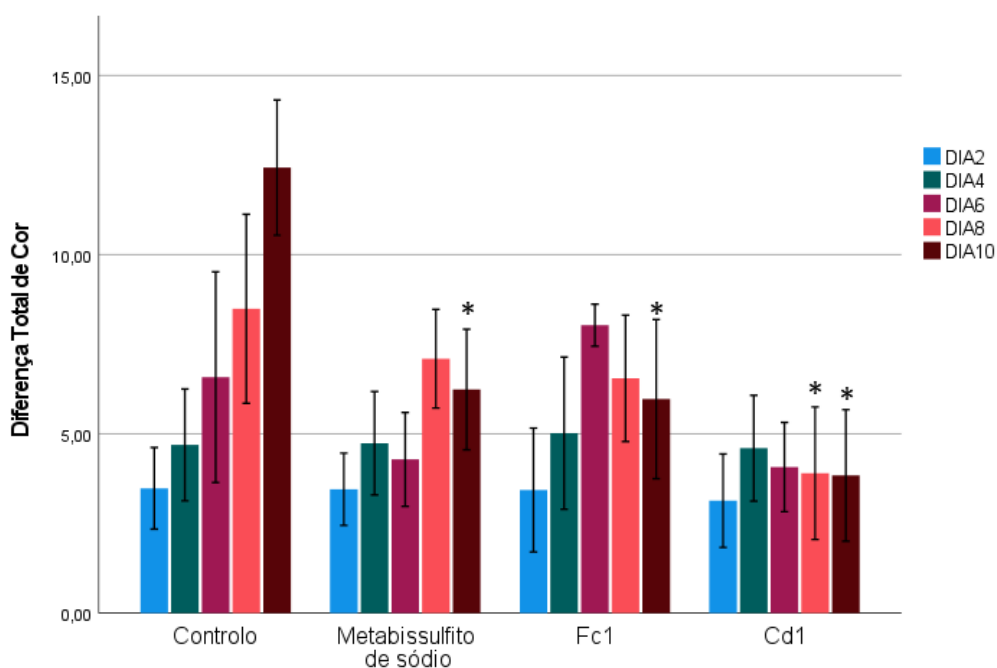


Figura 9 – Diferença total de cor das amostras revestidas com água (controlo), solução de metabissulfito de sódio (0,2% m/v), solução de *F. vesiculosus* (Fc1, 0,5% m/v) e solução de *C. tomentosum* (Cd1, 0,5% m/v) ao longo de 10 dias à temperatura de 4°C. Os valores correspondem à média  $\pm$  desvio padrão (n=9). \*Diferenças estatisticamente significativas para cada dia de análise em relação ao controlo ( $p < 0,05$ , ANOVA, teste de Dunnet).

Em relação aos dados fotográficos (Figura 10) obtidos, ao longo dos 10 dias de armazenamento a 4 °C, observa-se o aparecimento de escurecimento gradual nas batatas controlo (imersas em água). Quanto às amostras de batata tratadas com o tratamento comercial (metabissulfito de sódio) habitualmente utilizado na Indústria Alimentar verifica-se visualmente que não ocorreram alteração de cor após a imersão das batatas no banho com o agente antioxidante. Por outro lado, no dia 6, nas batatas tratadas com a solução de *F. vesiculosus*, é possível observar o início do desenvolvimento do escurecimento à superfície das amostras. Nas batatas tratadas com a solução de *C. tomentosum*, não se observa o escurecimento das batatas, contrariamente ao esperado, tendo em conta os resultados instrumentais obtidos, apresentando visualmente melhores resultados em relação à solução de *F. vesiculosus*. No entanto e apesar das batatas tratadas com a solução de *C. tomentosum* apresentarem um bom resultado, não é um tratamento tão eficaz como o que é usado na Indústria Alimentar ao comparar visualmente o estado dos palitos de batata embalados ao dia 10, como se pode verificar pela Figura 11.

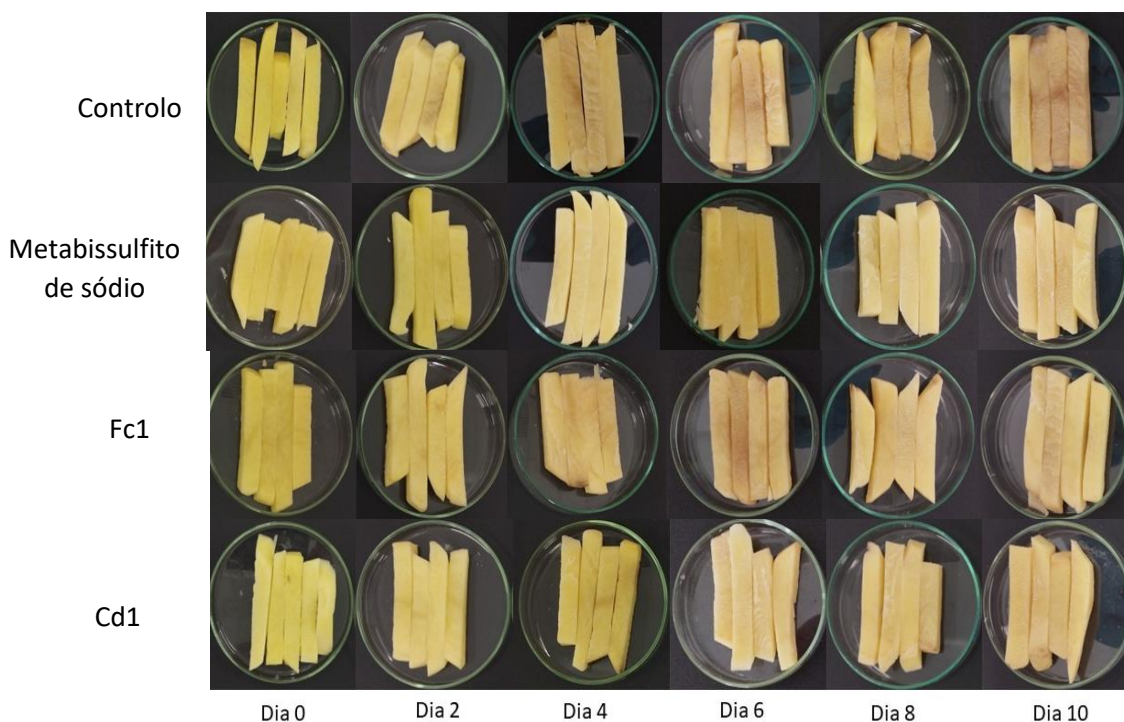


Figura 10 - Registo fotográfico das amostras revestidas com água (controlo), solução de metabissulfito de sódio (0,2% m/v), solução de *F. Vesiculosus* (Fc1, 0,5% m/v) e solução de *C. tomentosum* (Cd1, 0,5% m/v) ao longo de 10 dias à temperatura de 4°C.

Pela análise dos resultados da caracterização das soluções de extratos formuladas anteriormente, era esperado que as soluções com uma maior quantidade total de polifenóis e uma maior redução dos radicais de DPPH e ABTS, quando aplicadas na batata, permitissem menores alterações de cor comparado com as outras soluções (Zhang et al., 2022). Neste caso, esperava-se que as batatas tratadas com a solução de *F. vesiculosus*, que apresentava maior quantidade total de polifenóis e maior redução dos radicais de DPPH e ABTS, apresentassem uma diferença total de cor inferior à obtida nas batatas tratadas com *C. tomentosum*, o que não foi observado no presente estudo.

Por outro lado, e comparando com o estudo realizado em maçã Fuji minimamente processada (Augusto et al., 2016), as soluções com extrato de *C. tomentosum* apresentam melhores resultados e relativamente aos extratos de outras algas, o que se verificou no presente estudo com a batata minimamente processada.



Figura 11 – Estado das embalagens das amostras revestidas com água (controlo), solução de metabisulfito de sódio (0,2% m/v), solução de *F. vesiculosus* (Fc1, 0,5% m/v) e solução de *C. tomentosum* (Cd1, 0,5% m/v) ao longode 10 dias à temperatura de 4°C.

#### 4.2.2. Percentagem de perda de massa

Quanto à perda de massa, verificou-se uma perda residual em todas as amostras analisadas, independentemente do tipo de alga e do processo de extração aplicado como se constata na Tabela 5. Uma vez que os sacos foram selados, as perdas de peso medidas foram mínimas. No entanto, e como referido anteriormente, foi possível observar dentro dos sacos a presença de água junto das batatas, pelo que deve ter ocorrido a libertação desta da batata e permanecido no interior de cada saco selado. Como reportado em estudos anteriores (Kader, 2002; Petri et al., 2008) a batata apresenta taxas de respiração muito baixas (entre 5 e 10 mg CO<sub>2</sub>/kg.h) razão pela qual a perda de massa é mínima, sendo que a percentagem de perda de água entre os tratamentos não é significativa ( $p < 0,05$ ).

Tabela 5 – Perda de massa (%) das amostras revestidas com água (controlo), solução de 0,2% (m/v) de metabissulfito de sódio, solução de 0,5% (m/v) de *F. vesiculosus* (Fc1) e solução de 0,5% (m/v) de *C. tomentosum* (Cd1) ao longo de 10 dias à temperatura de 4°C. Os valores correspondem à média  $\pm$  desvio padrão (n=3).

Amostra	Dia 2	Dia 4	Dia 6	Dia 8	Dia 10
controlo	0,10 $\pm$ 0,09	0,13 $\pm$ 0,11	0,14 $\pm$ 0,12	0,15 $\pm$ 0,11	0,23 $\pm$ 0,09
Metabissulfito de sódio	0,04 $\pm$ 0,05	0,12 $\pm$ 0,05	0,13 $\pm$ 0,06	0,14 $\pm$ 0,05	0,16 $\pm$ 0,08
Fc1	0,12 $\pm$ 0,11	0,14 $\pm$ 0,09	0,14 $\pm$ 0,09	0,18 $\pm$ 0,08	0,21 $\pm$ 0,08
Cd1	0,05 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03	0,09 $\pm$ 0,02

#### 4.2.3. Determinação da atividade enzimática

As principais enzimas responsáveis pelo escurecimento enzimático das batatas minimamente processadas são a polifenol oxidase (PPO) e a peroxidase (POD) (Liu et al., 2019; Zhang et al., 2020), pelo que o efeito dos extratos de algas como barreira a esta ação apresenta-se na Figura 12 e 13, respetivamente. Em relação à atividade da PPO, pela análise dos dados, ao longo do tempo de armazenamento, as batatas tratadas com a solução de *F. vesiculosus* apresentaram um valor de atividade da enzima menor em cerca de 50% em comparação com a amostra controlo no dia 10 ( $p < 0,05$ ), apesar de ao dia 6 de armazenamento apresentar uma atividade superior em relação ao controlo ( $p < 0,05$ ). Na maioria dos dias, as batatas tratadas com as soluções de metabissulfito de sódio (dias 0,2,4 e 6) e *C. tomentosum* (dias 0,2 e 4) apresentam uma atividade da enzima PPO superior ao controlo. Entre as amostras tratadas com *C. tomentosum* e metabissulfito de sódio não existem diferenças significativas ao longo do ensaio (Anexo 1). Num estudo recente (Kasnak, 2022), usando quercetina, observa-se

uma redução na atividade da enzima apenas ao dia 0 e dia 8, tal como observa na atividade da enzima nas batatas tratadas com *F. vesiculosus*. Em outro estudo em que é usado extrato de *Portucala oleracea* L. (Liu et al., 2019), a atividade da PPO só é inibida durante os dias 2 e 6. Nos dias 8 e 10, mesmo não apresentando inibição a ação da enzima, o estudo demonstra que existe uma menor diferença de cor, tal como o que acontece neste ensaio. Neste estudo também se observa a importância da concentração das soluções de extratos usados, em que as soluções de extratos mais concentradas levam a maiores valores de atividade da enzima.

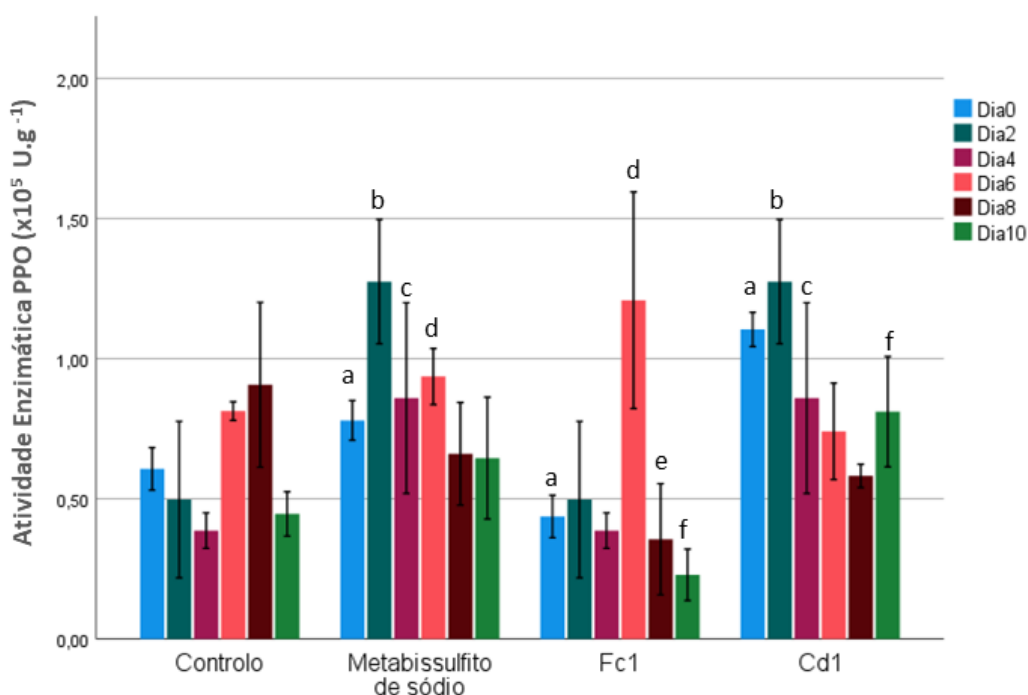


Figura 12 – Atividade enzimática da enzima polifenol oxidase (PPO) das amostras revestidas com água (controlo), solução de 0,2% (m/v) de metabissulfito de sódio, solução de 0,5% (m/v) de *F. vesiculosus* (Fc1) e solução de 0,5% (m/v) de *C. tomentosum* (Cd1) ao longo de 10 dias a temperatura de 4°C. Os valores correspondem á média  $\pm$  desvio padrão (n=3). Diferenças estatisticamente significativas em relação ao controlo no dia 0(a), dia 2(b), dia 4(c), dia 6(d), dia 8(e), dia 10(f) ( $p < 0,05$ , k-wallis, teste de Games-Howells).

Os efeitos dos tratamentos efetuados aos palitos de batata na atividade enzimática da POD podem ser observados na Figura 13. Pela análise dos dados, ao longo do tempo de armazenamento, as batatas tratadas com as soluções de metabissulfito de sódio e *C. tomentosum* não apresenta inibição da atividade da enzima ( $p < 0,05$ ). Pelo contrário, com o tratamento de *F. vesiculosus* foi possível obter amostras com uma atividade significativamente inferior de POD nos dias 0, 2 e 10 de armazenamento ( $p < 0,05$ ), sendo que ao dia 10 a atividade da enzima em batatas tratadas com *F. vesiculosus* era 23% inferior. Entre as batatas tratadas com *C. tomentosum* e metabissulfito não existe diferença significativa ao longo do ensaio (Anexo 2). Quando comparados com outros estudos, (Liu et al., 2018, 2019), verificamos que os tratamentos aplicados apenas inibem a atividade da enzima POD quando aplicados em baixas concentrações. Uma vez mais, neste estudo observa-se uma menor diferença total de cor, mesmo sem inibição da enzima.

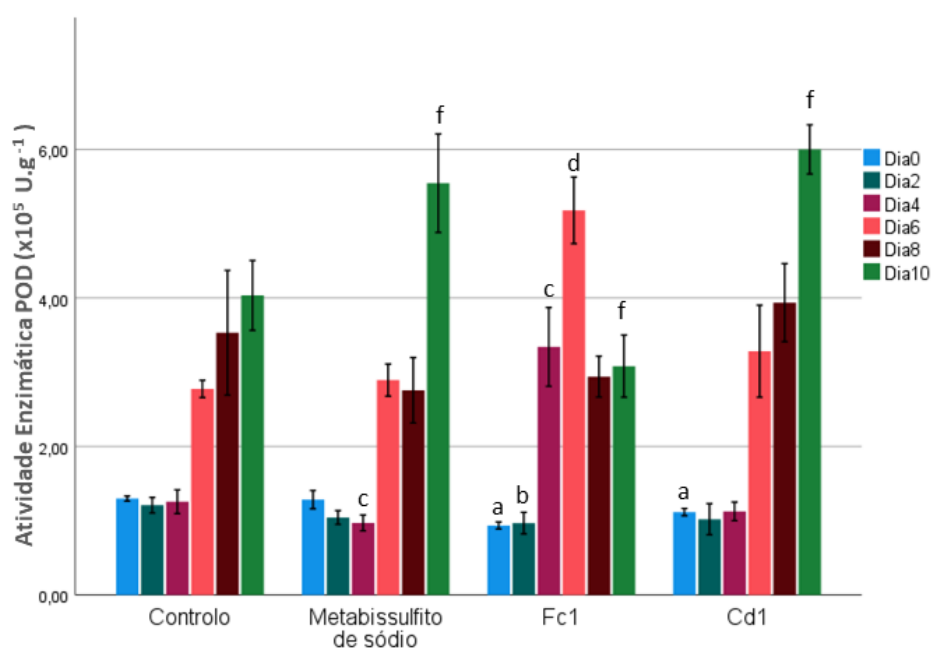


Figura 13 -- Atividade enzimática da enzima peroxidase (POD) das amostras revestidas com água (controlo), solução de 0,2% (m/v) de metabissulfito de sódio, solução de 0,5% (m/v) de *F. vesiculosus* (Fc1) e solução de 0,5% (m/v) de *C. tomentosum* (Cd1) ao longo de 10 dias a temperatura de 4°C. Os valores correspondem á média  $\pm$  desvio padrão (n=3). Diferenças estatisticamente significativas em relação ao controlo no dia 0(a), dia 2(b), dia 4(c), dia 6(d), dia 8(e), dia 10(f) ( $p < 0,05$ , ANOVA, teste de Games-Howell)

Estes resultados indicam que, no caso das batatas tratadas com a solução de *F. vesiculosus*, o escurecimento enzimático poderá estar a ser inibido pela menor atividade da enzima PPO e POD. O mesmo não se observa com as batatas tratadas com metabissulfito de sódio e *C. tomentosum* onde não se observa uma diminuição na atividade enzimática, não indo ao encontro com os resultados da diferença total de cor, onde estes tratamentos mostravam um menor escurecimento das batatas. No entanto, e como referido anteriormente, a literatura demonstra que outros extratos previnem o escurecimento mesmo não inibindo as enzimas PPO e POD.

## 5. Conclusão e Perspetivas futuras

Durante este trabalho efetuou-se a caracterização das soluções formuladas a partir de extratos de algas de *Codium tomentosum*, *Fucus vesiculosus* e *Ulva sp* obtidas em dois processos de extração e o efeito da aplicação das soluções de extrato selecionadas no tempo de prateleira de batata *Agria* minimamente processada. Atualmente o tempo de prateleira deste produto é reduzido (cerca de 10 dias) e uma forma de conseguir o prolongamento/extensão deste é a utilização de aditivos sintéticos podendo levar a alguns efeitos secundários não desejáveis como sabores e odores desagradáveis e reações alérgicas.

Primeiramente, foram caracterizadas as seis soluções de extratos de algas à concentração de 0,5% (m/v), a partir das algas *C. tomentosum*, *F. vesiculosus* e *Ulva sp*. produzidas através de dois métodos de extração (extração sólido-líquido estática e extração assistida por ultrassons). Os extratos obtidos por extração com ultrassons apresentavam um maior rendimento de extração quando comparado com os extratos obtidos por extração sólido-líquido estática. De todas as soluções formuladas, a solução de *F. vesiculosus* obtida por extração assistida por ultrassons apresentou a maior quantidade total de polifenóis ( $0,1294 \pm 0,0098$  (mg equivalentes de ácido gálico/mL de solução de extrato) e maior percentagem de redução dos radicais livres de DPPH ( $59,08 \pm 2,63$ ) e de ABTS ( $99,77 \pm 0,26$ ).

Numa segunda etapa, as soluções selecionadas de extratos obtidos por extração assistida por ultrassons de *C. tomentosum* e *F. vesiculosus*, um controlo com água destilada e uma solução de metabissulfito de sódio (0,2% m/v) foram aplicadas em batata minimamente processada e as amostras embaladas e armazenadas a 4°C ao longo de 10 dias. As batatas tratadas com a solução *C. tomentosum* e *F. vesiculosus* apresentam uma diferença total de cor menor ao longo dos 10 dias de ensaio quando comparado com o controlo. Quando comparadas com o tratamento usado na Indústria Alimentar, o metabissulfito de sódio, as batatas tratadas com a solução de *F. vesiculosus* apresentam valores de diferença total de cor próximos e as batatas tratadas com a solução de *C. tomentosum* apresentaram valores tendencialmente inferiores. Quanto aos resultados da atividade enzimática, verifica-se que as batatas tratadas com Fc1 demonstram ter um efeito significativo na redução da atividade das enzimas polifenol oxidase e peroxidase. Assim, pela análise dos resultados obtidos, ambas as soluções de extratos de algas, produzidas através de ultrassons, poderão ser consideradas promissoras na aplicação como revestimento na batata minimamente processada e na diminuição do aparecimento de escurecimento superficial.

Como perspectivas futuras, sugere-se o ensaio dos extratos obtidos com diferentes concentrações, de modo a maximizar o potencial dos extratos de algas.

Também seria de interesse realizar testes sensoriais às batatas tratadas com as soluções de extratos de algas. Estes testes seriam importantes para avaliar a real aceitação do consumidor e perceber se existem odores indesejados formados pela aplicação destes novos tratamentos.

A aplicação destes revestimentos a nível industrial seria também importante ser estudado futuramente, visto que a nível industrial, a aplicação deste revestimento poderá ter um comportamento diferente quando comparado com o ambiente laboratorial. Também a cadeia de transporte, onde a temperatura deve ser controlada, poderá influenciar, pelo que seria importante realizar todo o acompanhamento da batata minimamente processada, desde a sua produção até ao consumidor final.

De realçar ainda a necessidade de se estudar a composição dos extratos das algas aqui obtidos, assim como os mecanismos de ação pelos quais estes os extratos de *C. tomentosum* e *F. vesiculosus* apresentam eficácia para diminuir o aparecimento de escurecimento na batata minimamente processada.

## 6. Bibliografia

ASAE: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/aditivos-alimentares/conservantes.aspx>

Visitado a 12/02/22

- Abuarab, M. E., El-Mogy, M. M., Hassan, A. M., Abdeldaym, E. A., Abdelkader, N. H., & El-Sawy, M. B. I. (2019). The effects of root aeration and different soil conditioners on the nutritional values, yield, and water productivity of potato in clay loam soil. *Agronomy*, 9(8), 1–17. <https://doi.org/10.3390/agronomy9080418>
- Agregán, R., Munekata, P., Franco, D., Carballo, J., Barba, F., & Lorenzo, J. (2018). Antioxidant Potential of Extracts Obtained from Macro- (*Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* and *Bifurcaria bifurcata*) and Micro-Algae (*Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*) Assisted by Ultrasound. *Medicines*, 5(2), 33. <https://doi.org/10.3390/medicines5020033>
- Ali, H. M., El-Gizawy, A. M., El-Bassiouny, R. E. I., & Saleh, M. A. (2016). The role of various amino acids in enzymatic browning process in potato tubers, and identifying the browning products. *Food Chemistry*, 192, 879–885. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.100>
- Ali, M. R., Parmar, A., Niedbała, G., Wojciechowski, T., El-Yazied, A. A., Abd El-Gawad, H. G., Nahhas, N. E., Ibrahim, M. F. M., & El-Mogy, M. M. (2021). Improved shelf-life and consumer acceptance of fresh-cut and fried potato strips by an edible coating of garden cress seed mucilage. *Foods*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/foods10071536>
- Allende, A., Tomás-Barberán, F. A., & Gil, M. I. (2006). Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends in Food Science and Technology*, 17(9), 513–519. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.005>
- Andrade, P. B., Barbosa, M., Matos, R. P., Lopes, G., Vinholes, J., Mouga, T., & Valentão, P. (2013). Valuable compounds in macroalgae extracts. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1819–1828. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.081>
- Angós, I., Vírseda, P., & Fernández, T. (2008). Control of respiration and color modification on minimally processed potatoes by means of low and high O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 48(3), 422–430. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.10.019>
- Augusto, A., Simões, T., Pedrosa, R., & Silva, S. F. J. (2016). Evaluation of seaweed extracts functionality as post-harvest treatment for minimally processed Fuji

- apples. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33, 589–595.  
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.10.004>
- Bansal, V., Siddiqui, M. W., & Rahman, M. S. (2015). Minimally processed foods: Overview. *Food Engineering Series, October*, 1–15. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-10677-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-10677-9_1)
- Buta, J. G., Moline, H. E., Spaulding, D. W., & Wang, C. Y. (1999). Extending storage life of fresh-cut apples using natural products and their derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 1–6. <https://doi.org/10.1021/jf980712x>
- Camire, M. E., Kubow, S., & Donnelly, D. J. (2009). Potatoes and human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(10), 823–840.  
<https://doi.org/10.1080/10408390903041996>
- Cardoso, S. M., Pereira, O. R., Seca, A. M. L., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2015). Seaweeds as preventive agents for cardiovascular diseases: From nutrients to functional foods. *Marine Drugs*, 13(11), 6838–6865.  
<https://doi.org/10.3390/md13116838>
- Casas, M. P., Conde, E., Domínguez, H., & Moure, A. (2019). Ecofriendly extraction of bioactive fractions from *Sargassum muticum*. *Process Biochemistry*, 79(July 2018), 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.12.021>
- Catarino, M. D., Silva, A. M. S., & Cardoso, S. M. (2018). Phytochemical constituents and biological activities of *Fucus* spp. *Marine Drugs*, 16(8).  
<https://doi.org/10.3390/md16080249>
- Cenci, S. A. (2011). Processamento mínimo de frutas e hortaliças. In *Processamento mínimo de frutas e hortaliças. Tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem*. [http://diadecampo.com.br/arquivos/materias/%7B313501920-104D%7D\\_Livro-Processamento-Minimo.pdf](http://diadecampo.com.br/arquivos/materias/%7B313501920-104D%7D_Livro-Processamento-Minimo.pdf)
- Dalefield, R. R., & Mueller, U. (2016). Gastric mucosal irritation following oral exposure to sodium metabisulphite: A reproducible effect? *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 80, 277–282. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.07.005>
- Doan, C. H., & Davidson, P. M. (2000). Microbiology of potatoes and potato products: A review. *Journal of Food Protection*, 63(5), 668–683.  
<https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.5.668>
- el Gamal, A. A. (2010). Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18(1), 1–25. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2009.12.001>
- Fonseca, S. C., Oliveira, F. A. R., & Brecht, J. K. (2002). Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: A review. *Journal of Food Engineering*, 52(2), 99–119. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00106-6](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00106-6)

- Food, W. (2021). World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2021. In *World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2021*.  
<https://doi.org/10.4060/cb4477en>
- Freitas, A. A. de, Francelin, M. F., Hirata, G. F., Clemente, E., & Schmidt, F. L. (2008). Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(1), 172–177. doi:10.1590/s0101-20612008000100025  
 10.1590/s0101-20612008000100025
- Gaspar, R., Pereira, L., & Sousa-Pinto, I. (2019). The seaweed resources of Portugal. *Botanica Marina*, 62(5), 499–525. <https://doi.org/10.1515/bot-2019-0012>
- Gullón, B., Gagaoua, M., Barba, F. J., Gullón, P., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2020). Seaweeds as promising resource of bioactive compounds: Overview of novel extraction strategies and design of tailored meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 100(March), 1–18.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.039>
- Gunes, G., & Lee, C. Y. (1997). Color of minimally processed potatoes as affected by modified atmosphere packaging and antibrowning agents. *Journal of Food Science*, 62(3), 572–575. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb04433.x>
- Heffernan, N., Smyth, T. J., Fitzgerald, R. J., Soler-Vila, A., & Brunton, N. (2014). Antioxidant activity and phenolic content of pressurised liquid and solid-liquid extracts from four Irish origin macroalgae. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(7), 1765–1772. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12512>
- Ierna, A., Pellegrino, A., & Malvuccio, A. (2017). Effects of micronutrient fertilization on the overall quality of raw and minimally processed potatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 134(May), 38–44.  
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.08.006>
- INSA – informação nutricional da batata crua  
<http://portfir.insa.pt/foodcomp/food?21765> Visitado a 2/09/22
- Kader, A. A. (2002). Postharvest Biology and Technology: An Overview. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, 39–48.
- Kang, J. H., Roh, S. H., & Min, S. C. (2019). Inactivation of Potato Polyphenol Oxidase Using Microwave Cold Plasma Treatment. *Journal of Food Science*, 84(5), 1122–1128. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14601>
- Kasnak, C. (2022). Evaluation of the anti-browning effect of quercetin on cut potatoes during storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 31(January), 100816.  
<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100816>

- Kumar, Y., Singhal, S., Tarafdar, A., Pharande, A., Ganesan, M., & Badgujar, P. C. (2020). Ultrasound assisted extraction of selected edible macroalgae: Effect on antioxidant activity and quantitative assessment of polyphenols by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Algal Research*, 52(October), 102114. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102114>
- Leong, Y. K., Chen, C. Y., Varjani, S., & Chang, J. S. (2022). Producing fucoxanthin from algae – Recent advances in cultivation strategies and downstream processing. *Bioresource Technology*, 344(October 2021). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126170>
- Lester, M. R. (1995). Sulfite sensitivity: Significance in human health. *Journal of the American College of Nutrition*, 14(3), 229–232. <https://doi.org/10.1080/07315724.1995.10718500>
- Levy, D., & Kedar, N. (2020). Solanum Tuberosum. In *CRC Handbook of Flowering*. <https://doi.org/10.1201/9781351072564-47>
- Liang, Y. S., Chen, N. L., & Ke, L. S. (2012). Influence of dipping in sodium metabisulfite on pericarp browning of litchi cv. Yu Her Pau (Feizixiao). *Postharvest Biology and Technology*, 68, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.02.005>
- Limbo, S., & Piergiovanni, L. (2006). Shelf life of minimally processed potatoes: Part 1. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on enzymatic browning. *Postharvest Biology and Technology*, 39(3), 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.10.016>
- Liu, X., Lu, Y., Yang, Q., Yang, H., Li, Y., Zhou, B., Li, T., Gao, Y., & Qiao, L. (2018). Cod peptides inhibit browning in fresh-cut potato slices: A potential anti-browning agent of random peptides for regulating food properties. *Postharvest Biology and Technology*, 146(August), 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.08.001>
- Liu, X., Yang, Q., Lu, Y., Li, Y., Li, T., Zhou, B., & Qiao, L. (2019). Effect of purslane (*Portulaca oleracea* L.) extract on anti-browning of fresh-cut potato slices during storage. *Food Chemistry*, 283(January), 445–453. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.058>
- Martín-Belloso, O., & Soliva-Fortuny, R. (2006). Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing. In *Advances in Food Research* (Vol. 1999, Issue December).
- Matos, G. S., Pereira, S. G., Genisheva, Z. A., Gomes, A. M., Teixeira, J. A., & Rocha, C. M. R. (2021). Advances in extraction methods to recover added-value

- compounds from seaweeds: Sustainability and functionality. *Foods*, 10(3).  
<https://doi.org/10.3390/foods10030516>
- McGrath, J. R., Beck, M., & Hill, M. E. (2017). Replicating Red: Analysis of ceramic slip color with CIELAB color data. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 14(June), 432–438. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2017.06.020>
- Moon, K. M., Kwon, E. bin, Lee, B., & Kim, C. Y. (2020). Recent Trends in Controlling the Enzymatic Browning of Fruit and Vegetable Products. *Molecules*, 25(12).  
<https://doi.org/10.3390/molecules25122754>
- Neto, R. T., Marçal, C., Queirós, A. S., Abreu, H., Silva, A. M. S., & Cardoso, S. M. (2018). Screening of ulva rigida, gracilaria sp., fucus vesiculosus and saccharina latissima as functional ingredients. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10). <https://doi.org/10.3390/ijms19102987>
- Oner, M. E., & Walker, P. N. (2011). Effect of Processing and Packaging Conditions on Quality of Refrigerated Potato Strips. *Journal of Food Science*, 76(1), 35–40.  
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01937.x>
- Pangestuti, R., & Kim, S. K. (2011). Neuroprotective effects of marine algae. *Marine Drugs*, 9(5), 803–818. <https://doi.org/10.3390/md9050803>
- Park, E. Y., Moon, J. H., Park, H. Y., Lee, H. J., & Kim, J. Y. (2020). Effect of thermal shock cycling on storage stability and quality of fresh-cut potato. *Lwt*, 121(December 2019), 108972. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108972>
- Petri, E., Arroqui, C., Angós, I., & Vírseda, P. (2008). Effect of preservative agents on the respiration rate of minimally processed potato (*Solanum tuberosum* cv. Monalisa). *Journal of Food Science*, 73(3), 122–126.  
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00696.x>
- Pineli, L. L. O., Moretti, C. L., Almeida, G. C., Nascimento, A. B. G., & Onuki, A. C. A. (2005). Associação de atmosfera modificada e antioxidantes reduz o escurecimento de batatas “Ágata” minimamente processadas. *Horticultura Brasileira*, 23(4), 993–999. <https://doi.org/10.1590/s0102-05362005000400027>
- Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods. (1998). In *Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods*.  
<https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6252-5>
- Reboleira, J., Ganhão, R., Mendes, S., Adão, P., Andrade, M., Vilarinho, F., Sanches-Silva, A., Sousa, D., Mateus, A., & Bernardino, S. (2020). Optimization of extraction conditions for Gracilaria gracilis extracts and their antioxidative stability as part of microfiber food coating additives. *Molecules*, 25(18), 1–12.  
<https://doi.org/10.3390/molecules25184060>

- Regulamento (UE) Nº 1129/2011 da Comissão de 11 de Novembro de 2011 que altera o anexo II do Regulamento (CE) nº 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho mediante o estabelecimento de uma lista da União de aditivos alimentares
- Rico, D., Martín-Diana, A. B., Barat, J. M., & Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science and Technology*, *18*(7), 373–386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.011>
- Rodgers, S. (2016). Minimally Processed Functional Foods: Technological and Operational Pathways. *Journal of Food Science*, *81*(10), R2309–R2319. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13422>
- Rodrigues, D., Sousa, S., Silva, A., Amorim, M., Pereira, L., Rocha-Santos, T. A. P., Gomes, A. M. P., Duarte, A. C., & Freitas, A. C. (2015). Impact of enzyme- and ultrasound-assisted extraction methods on biological properties of red, brown, and green seaweeds from the Central West Coast of Portugal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(12), 3177–3188. <https://doi.org/10.1021/jf504220e>
- Rodríguez-Verástegui, L. L., Martínez-Hernández, G. B., Castillejo, N., Gómez, P. A., Artés, F., & Artés-Hernández, F. (2016). Bioactive Compounds and Enzymatic Activity of Red Vegetable Smoothies During Storage. *Food and Bioprocess Technology*, *9*(1), 137–146. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1609-6>
- Silva, A., Rodrigues, C., Garcia-Oliveira, P., Lourenço-Lopes, C., Silva, S. A., Garcia-Perez, P., Carvalho, A. P., Domingues, V. F., Barroso, M. F., Delerue-Matos, C., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2021). Screening of bioactive properties in brown algae from the northwest iberian peninsula. *Foods*, *10*(8), 1–14. <https://doi.org/10.3390/foods10081915>
- Sulaiman, A., Soo, M. J., Farid, M., & Silva, F. V. M. (2015). Thermosonication for polyphenoloxidase inactivation in fruits: Modeling the ultrasound and thermal kinetics in pear, apple and strawberry purees at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, *165*, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.06.020>
- Wu, S. (2019). Extending shelf-life of fresh-cut potato with cactus *Opuntia dillenii* polysaccharide-based edible coatings. *International Journal of Biological Macromolecules*, *130*, 640–644. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.022>
- Wu, V. C. H., & Rioux, A. (2010). A simple instrument-free gaseous chlorine dioxide method for microbial decontamination of potatoes during storage. *Food Microbiology*, *27*(1), 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.08.007>
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B., & Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, *1*(1), 60–69. <https://doi.org/10.1002/fft2.10>

- Yang, L., Xu, L., Wei, D., Du, C., Yang, J., & Zhou, Y. (2020). *Fine structure of amylopectin and relation with physicochemical properties of three coloured potato starches. International Journal of Food Science & Technology*. doi:10.1111/ijfs.14667
- Yuan, Y., Xu, X., Jing, C., Zou, P., Zhang, C., & Li, Y. (2018). Microwave assisted hydrothermal extraction of polysaccharides from *Ulva prolifera*: Functional properties and bioactivities. *Carbohydrate Polymers*, 181(August 2017), 902–910. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.061>
- Zhang, Z., Peng, Y., Meng, W., Pei, L., & Zhang, X. (2022). Browning inhibition of seabuckthorn leaf extract on fresh-cut potato sticks during cold storage. *Food Chemistry*, 389(April), 133076. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133076>
- Zhang, Z., Yao, Y., Shi, Q., Zhao, J., Fu, H., & Wang, Y. (2020). Effects of radio-frequency-assisted blanching on the polyphenol oxidase, microstructure, physical characteristics, and starch content of potato. *Lwt*, 125(August 2019), 109357. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109357>

## 7. Anexos

Anexo 1 – Análise estatística da atividade da enzima polifenol oxidase (PPO) das amostras revestidas com água (controlo), solução de 0,2% de metabissulfito de sódio (sulfito), solução de 0,5% de *F. Vesiculosus* (Fc1) e solução de 0,5% de *C. tomentosum* (Cd1) ao longo de 10 dias a temperatura de 4°C ( $p < 0,05$ , k-wallis, teste de Games-Howells)

Dia 0

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controlo	55885,0694	4012,26	0,00	44742,19	67027,95
	Fc1	73073,9583	4560,11	0,00	60344,47	85803,45
	Sulfito	32453,6458	4246,82	0,00	20641,51	44265,78
controlo	Cd1	-55885,0694	4012,26	0,00	-67027,95	-44742,19
	Fc1	17188,8889	4632,19	0,01	4277,15	30100,62
	Sulfito	-23431,4236	4324,12	0,00	-35449,01	-11413,84
Fc1	Cd1	-73073,9583	4560,11	0,00	-85803,45	-60344,47
	controlo	-17188,8889	4632,19	0,01	-30100,62	-4277,15
	Sulfito	-40620,3125	4836,78	0,00	-54066,05	-27174,57
Sulfito	Cd1	-32453,6458	4246,82	0,00	-44265,78	-20641,51
	controlo	23431,4236	4324,12	0,00	11413,84	35449,01
	Fc1	40620,3125	4836,78	0,00	27174,57	54066,05

Dia 2

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controlo	77756,2252	15211,89184	0,001	33652,3105	121860,1399
	Fc1	77756,2252	15211,89184	0,001	33652,3105	121860,1399
	Sulfito	0,0000	14247,02493	1,000	-39561,6491	39561,6491
controlo	Cd1	-77756,2252	15211,89184	0,001	-121860,1399	-33652,3105
	Fc1	0,0000	16119,10629	1,000	-47856,0327	47856,0327
	Sulfito	-77756,2252	15211,89184	0,001	-121860,1399	-33652,3105
Fc1	Cd1	-77756,2252	15211,89184	0,001	-121860,1399	-33652,3105
	controlo	0,0000	16119,10629	1,000	-47856,0327	47856,0327
	Sulfito	-77756,2252	15211,89184	0,001	-121860,1399	-33652,3105
Sulfito	Cd1	0,0000	14247,02493	1,000	-39561,6491	39561,6491
	controlo	77756,2252	15211,89184	0,001	33652,3105	121860,1399
	Fc1	77756,2252	15211,89184	0,001	33652,3105	121860,1399

## Dia 4

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controlo	46890,0174	15540,63152	0,048	304,3986	93475,6361
	Fc1	46890,0174	15540,63152	0,048	304,3986	93475,6361
	Sulfito	0,0000	21842,75912	1,000	-60653,7558	60653,7558
controlo	Cd1	-46890,0174	15540,63152	0,048	-93475,6361	-304,3986
	Fc1	0,0000	2432,35072	1,000	-6754,2386	6754,2386
	Sulfito	-46890,0174	15540,63152	0,048	-93475,6361	-304,3986
Fc1	Cd1	-46890,0174	15540,63152	0,048	-93475,6361	-304,3986
	controlo	0,0000	2432,35072	1,000	-6754,2386	6754,2386
	Sulfito	-46890,0174	15540,63152	0,048	-93475,6361	-304,3986
Sulfito	Cd1	0,0000	21842,75912	1,000	-60653,7558	60653,7558
	controlo	46890,0174	15540,63152	0,048	304,3986	93475,6361
	Fc1	46890,0174	15540,63152	0,048	304,3986	93475,6361

## Dia 6

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controlo	5467,0139	9452,10839	0,937	-21059,2931	31993,3209
	Fc1	-40300,3472	12628,26377	0,021	-75520,8137	-5079,8807
	Sulfito	-19568,6632	9037,02857	0,171	-45153,6939	6016,3675
controlo	Cd1	-5467,0139	9452,10839	0,937	-31993,3209	21059,2931
	Fc1	-45767,3611	11261,99246	0,004	-77809,9975	-13724,7247
	Sulfito	-25035,6771	7001,95070	0,009	-44516,7001	-5554,6540
Fc1	Cd1	40300,3472	12628,26377	0,021	5079,8807	75520,8137
	controlo	45767,3611	11261,99246	0,004	13724,7247	77809,9975
	Sulfito	20731,6840	10915,95193	0,268	-10627,9863	52091,3543
Sulfito	Cd1	19568,6632	9037,02857	0,171	-6016,3675	45153,6939
	controlo	25035,6771	7001,95070	0,009	5554,6540	44516,7001
	Fc1	-20731,6840	10915,95193	0,268	-52091,3543	10627,9863

## Dia 8

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controle	-21956,5104	10259,89621	0,197	-52504,2110	8591,1902
	Fc1	29956,9444	5669,59304	0,001	13435,0419	46478,8470
	Sulfito	-7889,4097	8528,70988	0,792	-33167,5450	17388,7256
controle	Cd1	21956,5104	10259,89621	0,197	-8591,1902	52504,2110
	Fc1	51913,4549	11412,22969	0,002	19418,7602	84408,1496
	Sulfito	14067,1007	13070,33257	0,707	-22331,4061	50465,6075
Fc1	Cd1	-29956,9444	5669,59304	0,001	-46478,8470	-13435,0419
	controle	-51913,4549	11412,22969	0,002	-84408,1496	-19418,7602
	Sulfito	-37846,3542	9884,95870	0,006	-65673,8807	-10018,8276
Sulfito	Cd1	7889,4097	8528,70988	0,792	-17388,7256	33167,5450
	controle	-14067,1007	13070,33257	0,707	-50465,6075	22331,4061
	Fc1	37846,3542	9884,95870	0,006	10018,8276	65673,8807

## Dia 10

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controle	38846,0069	9270,10962	0,005	11527,5326	66164,4813
	Fc1	59930,4688	9344,78443	0,000	32503,6868	87357,2507
	Sulfito	16571,1806	13323,56291	0,607	-20454,8344	53597,1955
controle	Cd1	-38846,0069	9270,10962	0,005	-66164,4813	-11527,5326
	Fc1	21084,4618	3647,36494	0,000	10947,5715	31221,3521
	Sulfito	-22274,8264	10173,27890	0,180	-52355,0235	7805,3707
Fc1	Cd1	-59930,4688	9344,78443	0,000	-87357,2507	-32503,6868
	controle	-21084,4618	3647,36494	0,000	-31221,3521	-10947,5715
	Sulfito	-43359,2882	10241,37038	0,005	-73533,8658	-13184,7106
Sulfito	Cd1	-16571,1806	13323,56291	0,607	-53597,1955	20454,8344
	controle	22274,8264	10173,27890	0,180	-7805,3707	52355,0235
	Fc1	43359,2882	10241,37038	0,005	13184,7106	73533,8658

Anexo 2 – Análise estatística da actividade da enzima peroxidase (POD) das amostras revestidas com água (controlo), solução de 0,2% de metabissulfito de sódio (sulfito), solução de 0,5% de *F. Vesiculosus* (Fc1) e solução de 0,5% de *C. tomentosum* (Cd1) ao longo de 10 dias a temperatura de 4°C ( $p < 0,05$ , k-wallis, teste de Games-Howells)

Dia 0

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controlo	-18241,6766	2716,47	0,00	-25859,25	-10624,11
	Fc1	18031,2128	3081,90	0,00	9471,57	26590,85
	Sulfito	-16778,24	6023,20	0,06	-34220,66	664,18
controlo	Cd1	18241,6766	2716,47	0,00	10624,11	25859,25
	Fc1	36272,8894	2627,24	0,00	28922,78	43623,00
	Sulfito	1463,44	5803,72	0,99	-15631,73	18558,61
Fc1	Cd1	-18031,2128	3081,90	0,00	-26590,85	-9471,57
	controlo	-36272,8894	2627,24	0,00	-43623,00	-28922,78
	Sulfito	-34809,4530	5983,49	0,00	-52184,19	-17434,71
Sulfito	Cd1	16778,24	6023,20	0,06	-664,18	34220,66
	controlo	-1463,44	5803,72	0,99	-18558,61	15631,73
	Fc1	34809,4530	5983,49	0,00	17434,71	52184,19

Dia 2

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controlo	-18962,49	10643,69	0,32	-49364,02	11439,05
	Fc1	5218,55	11577,98	0,97	-27242,24	37679,34
	Sulfito	-2341,02	10394,06	1,00	-32264,68	27582,63
Controlo	Cd1	18962,49	10643,69	0,32	-11439,05	49364,02
	Fc1	24181,0345	8161,48	0,04	1342,73	47019,34
	Sulfito	16621,46	6371,55	0,07	-1094,73	34337,66
Fc1	Cd1	-5218,55	11577,98	0,97	-37679,34	27242,24
	controlo	-24181,0345	8161,48	0,04	-47019,34	-1342,73
	Sulfito	-7559,57	7833,14	0,77	-29623,49	14504,34
Sulfito	Cd1	2341,02	10394,06	1,00	-27582,63	32264,68
	controlo	-16621,46	6371,55	0,07	-34337,66	1094,73
	Fc1	7559,57	7833,14	0,77	-14504,34	29623,49

## Dia 4

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controle	-13033,5315	9239,87819	0,507	-38814,5369	12747,4739
	Fc1	-221632,1065	24785,89455	0,000	-295028,3112	-148235,9018
	Sulfito	15481,1534	7466,75933	0,194	-5292,0315	36254,3383
controle	Cd1	13033,5315	9239,87819	0,507	-12747,4739	38814,5369
	Fc1	-208598,5750	25206,14454	0,000	-282586,3336	-134610,8163
	Sulfito	28514,6849	8761,37253	0,020	3896,6282	53132,7416
Fc1	Cd1	221632,1065	24785,89455	0,000	148235,9018	295028,3112
	controle	208598,5750	25206,14454	0,000	134610,8163	282586,3336
	Sulfito	237113,2599	24611,51902	0,000	163942,4518	310284,0680
Sulfito	Cd1	-15481,1534	7466,75933	0,194	-36254,3383	5292,0315
	controle	-28514,6849	8761,37253	0,020	-53132,7416	-3896,6282
	Fc1	-237113,2599	24611,51902	0,000	-310284,0680	-163942,4518

## Dia 6

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controle	50737,7778	28649,81135	0,333	-34572,1146	136047,6701
	Fc1	-189791,5556	34732,97805	0,000	-287000,3312	-92582,7799
	Sulfito	38873,5556	29832,97547	0,576	-48122,0721	125869,1832
controle	Cd1	-50737,7778	28649,81135	0,333	-136047,6701	34572,1146
	Fc1	-240529,3333	20999,02181	0,000	-302525,7963	-178532,8704
	Sulfito	-11864,2222	11161,79099	0,716	-43628,6890	19900,2446
Fc1	Cd1	189791,5556	34732,97805	0,000	92582,7799	287000,3312
	controle	240529,3333	20999,02181	0,000	178532,8704	302525,7963
	Sulfito	228665,1111	22586,58125	0,000	163994,7608	293335,4615
Sulfito	Cd1	-38873,5556	29832,97547	0,576	-125869,1832	48122,0721
	controle	11864,2222	11161,79099	0,716	-19900,2446	43628,6890
	Fc1	-228665,1111	22586,58125	0,000	-293335,4615	-163994,7608

## Dia 8

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controlo	40519,1111	45013,63399	0,805	-86398,9385	167437,1607
	Fc1	99625,1111	26932,05266	0,009	22889,8717	176360,3505
	Sulfito	117958,0000	31139,81673	0,005	31281,8058	204634,1942
controlo	Cd1	-40519,1111	45013,63399	0,805	-167437,1607	86398,9385
	Fc1	59106,0000	40171,62695	0,480	-58397,3734	176609,3734
	Sulfito	77438,8889	43105,82719	0,309	-45378,3833	200256,1610
Fc1	Cd1	-99625,1111	26932,05266	0,009	-176360,3505	-22889,8717
	controlo	-59106,0000	40171,62695	0,480	-176609,3734	58397,3734
	Sulfito	18332,8889	23605,51954	0,864	-48224,2508	84890,0286
Sulfito	Cd1	-117958,0000	31139,81673	0,005	-204634,1942	-31281,8058
	controlo	-77438,8889	43105,82719	0,309	-200256,1610	45378,3833
	Fc1	-18332,8889	23605,51954	0,864	-84890,0286	48224,2508

## Dia 10

(I) Algas		Diferença média (I-J)	Estatística do teste Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Cd1	controlo	196665,5556	26136,44873	0,000	123430,2112	269900,8999
	Fc1	291960,8889	24241,92805	0,000	224362,4322	359559,3456
	Sulfito	45493,5556	33684,93106	0,546	-50774,9579	141762,0690
controlo	Cd1	-196665,5556	26136,44873	0,000	-269900,8999	-123430,2112
	Fc1	95295,3333	28605,32818	0,015	15777,4441	174813,2226
	Sulfito	-151172,0000	36949,53728	0,003	-254668,5912	-47675,4088
Fc1	Cd1	-291960,8889	24241,92805	0,000	-359559,3456	-224362,4322
	controlo	-95295,3333	28605,32818	0,015	-174813,2226	-15777,4441
	Sulfito	-246467,3333	35634,60998	0,000	-346887,2972	-146047,3695
Sulfito	Cd1	-45493,5556	33684,93106	0,546	-141762,0690	50774,9579
	controlo	151172,0000	36949,53728	0,003	47675,4088	254668,5912
	Fc1	246467,3333	35634,60998	0,000	146047,3695	346887,2972