

MARCELA ZONTA RODRIGUES

IMPREGNAÇÃO A VÁCUO DE MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS EM
GOIABA MINIMAMENTE PROCESSADA

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

R696i
2013

Rodrigues, Marcela Zonta, 1988-

Impregnação a vácuo de micro-organismos probióticos em
goiaba minimamente processada / Marcela Zonta Rodrigues. –
Viçosa, MG, 2013.

xiv, 82f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Afonso Mota Ramos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.54-67.

1. Goiaba - Processamento. 2. *Lactobacillus acidophilus*. 3.
Lactobacillus plantarum. 4. Microscopia eletrônica.

I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia
de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 664.804421

MARCELA ZONTA RODRIGUES

IMPREGNAÇÃO A VÁCUO DE MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS EM
GOIABA MINIMAMENTE PROCESSADA

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

APROVADA: 25 de julho de 2013.

Ellen Silva Lago Vanzela

Edimar Aparecida Filomeno Fontes
(Coorientadora)

Afonso Mota Ramos
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

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

Ao meu orientador, professor Afonso Mota Ramos, por ter me apoiado na escolha do tema e por toda a orientação e dedicação, pelos ensinamentos transmitidos, estímulo, colaboração e pela excelente convivência e amizade.

À professora Edimar Filomeno Aparecida Fontes pelos ensinamentos sempre muito valiosos, pelas sugestões e contribuição na realização deste trabalho.

Ao professor Maurilio Lopes Martins, pelos ensinamentos durante a graduação e por todo o ensinamento durante o desenvolvimento deste experimento. Por todas as sugestões e por toda a disponibilidade e atenção sempre dedicada.

À professora Ellen Silva Lago Vanzela, pelas valiosas sugestões e colaboração durante o desenvolvimento do trabalho.

À professora Eliane Maurício Furtado Martins que durante a graduação me inseriu no mundo das frutas e hortaliças e com a sua paixão por esta área me contagiou. Além de todas as idéias propostas que motivaram o estudo e a execução dos experimentos. E por todas as orientações prestadas e por dúvidas e dúvidas e mais dúvidas tiradas.

Aos meus pais, Alaíde e Robson, meu porto seguro, pelo incentivo e por toda a dedicação e esforço que tornaram possível minha formação.

Aos meus irmãos, Ariadna e Lucas, e meu cunhado Leonardo pelo carinho e companheirismo durante a vida.

À minha sobrinha Luiza (minha princesinha), amor da vida da titia, pelos sorrisos e abraços mais gostosos e pelas ligações com “Titia, Te amo. Beijo, Tchau.” Que tornava cada semana mais fácil de viver e amenizaram as dificuldades encontradas.

A todos os amigos do laboratório de Frutas e Hortaliças, representados por Aline, Marcos, Patrícia, Ligia, Daniele, Mônica, Manoela, Biancas (loira e

morena), Fabíola, Marcel, Anderson, pela amizade, pelo apoio e pela agradável convivência.

Em especial aos amigos Aline, Marcos e Patrícia que mais que colegas de laboratório se tornaram verdadeiros amigos. Não tenho nem palavras para agradecer toda a ajuda e conselhos. São amigos que vou levar para toda a vida e onde quer que eu esteja sempre os terei próximos a mim. Para a Aline não tenho nem como descrever em palavras o meu agradecimento por toda a ajuda e por todos os “pensamentos comigo”, ela foi parte essencial do desenvolvimento dessa pesquisa.

À Kéllen, que foi uma amiga que encontrei no primeiro dia de curso e que seguimos juntas até o final, muito obrigada por todos os dias de estudos, conversas e desabafos.

Aos amigos Virgílio e Amanda amigos de longa data e que sempre torceram por e sempre estarão no meu coração.

A todos os funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV.

Agradeço também o Núcleo de Microscopia e Micro-análiseda UFV, aqui representados por Gilmar, Karla e Arthur que nos auxiliaram na microscopia de varredura, pela excelente convivência e pela ajuda prestada, além da oportunidade de desenvolver parte desse trabalho. Agradeço ainda as agência financiadoras CNPq, Capes e Fapemig.

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

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

A Deus por último, mas acima de tudo e de todos, por ter me proporcionado a vida e a sabedoria, força e perseverança para vencer os obstáculos e pela presença insubstituível em cada instante da minha vida.

BIOGRAFIA

Marcela Zonta Rodrigues, filha de Robson Oliveira Rodrigues e Alaíde Erli Zonta Rodrigues, nasceu em Visconde do Rio Branco, Minas Gerais no dia 18 de setembro de 1988.

Em fevereiro de 2010, graduou-se em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Campus Rio Pomba, em Rio Pomba-MG. No período de 2009 a 2010 foi bolsista de iniciação científica e trabalhou com adição de antioxidantes em vegetais minimamente processados.

Em agosto de 2011, iniciou o curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. Objetivos.....	3
2.1. Objetivo Geral.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1. Probiótico.....	4
3.1.1. Gênero <i>Lactobacillus</i>	7
3.2. Vegetais Minimamente Processados.....	9
3.2.1. Goiaba.....	11
3.3. Impregnação a Vácuo.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1. Processamento mínimo da goiaba.....	18
4.2. Preparo da suspensão probiótica.....	18
4.3. Delineamento Experimental.....	19
4.4. Determinação do tempo de impregnação a vácuo.....	21
4.5. Impregnação à vácuo.....	21
4.6. Avaliação da viabilidade de <i>L. acidophilus</i> e <i>L. plantarum</i> em goiaba minimamente processada.....	22
4.7. Avaliação da adesão, distribuição e morfologia dos micro-organismos probióticos impregnados a vácuo em goiaba minimamente processada ao longo do tempo de armazenamento.....	23
4.7.1. Preparo das amostras.....	23

4.7.2. Desidratação das amostras e metalização com ouro.....	23
4.8. Avaliação da influência da etapa de impregnação a vácuo na cor e na firmeza das goiabas minimamente processadas	24
4.9. Avaliação da incorporação de componentes após a impregnação a vácuo.....	24
4.10. Determinação das características físico-químicas de goiaba minimamente processada impregnada a vácuo com solução contendo <i>L. acidophilus</i> e <i>L. plantarum</i> e tratamento controle, ao longo do período de armazenamento.....	25
4.10.1. Determinação objetiva de cor.....	25
4.10.2. Análise de Firmeza	26
4.10.3. Teor de Sólidos Solúveis Totais	26
4.10.4. Potencial hidrogeniônico (pH)	26
4.10.5. Acidez total titulável (ATT).....	26
4.10.6. Perda de massa	27
4.10.7. Determinação de Carotenoides Totais	27
4.10.8. Vitamina C.....	28
4.11. Determinação das características microbiológicas de goiaba minimamente processada impregnada a vácuo com <i>L. acidophilus</i> e <i>L. plantarum</i> , ao longo do período de armazenamento.	28
4.12. Análise Sensorial.....	29
4.13. Análise Estatística.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1. Determinação do tempo de impregnação a vácuo	31
5.2. Viabilidade de <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Lactobacillus plantarum</i> ao longo do período de armazenamento	32
5.3. Avaliação da adesão, distribuição e morfologia dos micro-organismos probióticos impregnados a vácuo em goiaba minimamente processada ao longo do tempo de armazenamento por microscopia eletrônica de varredura.....	34
5.4. Influência da etapa de impregnação a vácuo na cor e na firmeza das goiabas minimamente processadas.....	39

5.5. Avaliação da incorporação de componentes pelo processo de impregnação a vácuo	41
5.6. Determinação das características físicas e químicas.....	42
5.6.1. Avaliação da cor das goiabas minimamente processadas do tratamento controle e adicionadas de <i>L. acidophilus</i> e <i>L. plantarum</i> ao longo do período de armazenamento.....	42
5.6.2. Determinação de sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável, perda de massa, carotenoides e vitamina C	44
5.7. Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos e coliformes a 30 °C e a 45 °C.....	49
5.8. Análise Sensorial.....	51
6. CONCLUSÕES.....	53
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
ANEXO	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema do processo de impregnação à vácuo (Fito, 1994).....	13
Figura 2 – Esquema do primeiro experimento para definir o tempo de vácuo a ser utilizado para a produção de goiabas probióticas minimamente processadas.....	20
Figura 3 – Esquema do delineamento experimental em parcela sub dividida (segundo experimento).....	20
Figura 4 – Esquema do experimento para definir a influência da impregnação a vácuo sobre as propriedades de cor e firmeza das goiabas minimamente processadas.....	21
Figura 5 – Equipamento utilizado para realizar a impregnação a vácuo.....	22
Figura 6 – Variação da contagem de <i>L. plantarum</i> em goiaba minimamente processada submetida a diferentes tempos de impregnação a vácuo.....	31
Figura 7 – Micrografia eletrônica de varredura do mesocarpo de goiaba logo após o processamento mínimo (aumento: 3500).....	35
Figura 8 – Micrografias eletrônicas de varredura mostrando adesão e a forma de <i>L. acidophilus</i> (aumento: 6000) (a) e <i>L. plantarum</i> (aumento: 4000) (b) em goiabas minimamente processadas impregnadas a vácuo. As setas indicam os locais onde as culturas probióticas estão aderidas.....	36
Figura 9 – Microscopia eletrônica de varredura da adesão de <i>L. acidophilus</i> em goiaba minimamente processada, impregnada a vácuo nos tempos 0, 5 e 10 dias de armazenamento (aumento: dia 0 – 3500; dia 5 e 10 – 6000). As setas indicam os locais onde as culturas probióticas estão aderidas.....	37
Figura 10 – Microscopia eletrônica de varredura da adesão de <i>L. plantarum</i> em goiaba minimamente processada, impregnada a vácuo nos tempos 0, 5 e 10 dias de armazenamento (aumento: dia 0 e 5 – 10000; dia 10 – 6000). As setas indicam os locais onde as culturas probióticas estão aderidas.....	38
Figura 11 – Goiaba minimamente processada antes de passar pela etapa de impregnação a vácuo (a) e goiaba minimamente processada após de passar pela etapa de impregnação a vácuo (b).....	40

Figura 12 - Variação do parâmetro de cor Luminosidade (L*) de goiaba minimamente processada dos tratamentos controle e adicionados de <i>L. acidophilus</i> e de <i>L. plantarum</i> ao longo do período de armazenamento.....	44
Figura 13 - Variação do pH (a) e da acidez total titulável (b) de goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo em diferentes tratamentos dos tratamentos (controle e adicionadas de <i>L. acidophilus</i> ou <i>L. plantarum</i>) por 10 dias a 7 °C.....	46
Figura 14 - Variação da perda de massa (%) de goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo em diferentes tratamentos (controle e adicionadas de <i>L. acidophilus</i> ou de <i>L. plantarum</i>) ao longo do período de armazenamento.....	47
Figura 15 - Variação da firmeza (N) de goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo dos diferentes tratamentos (controle e adicionada de <i>L. acidophilus</i> ou de <i>L. plantarum</i>) por 10 dias a 7 °C.....	48
Figura 16 - Variação da contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos (a) e psicrotróficos (b) de goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo em diferente tratamentos (controle, adicionada de <i>L. acidophilus</i> ou adicionada de <i>L. plantarum</i>) ao longo do período de armazenamento.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos recentes sobre a aplicação de bactérias probióticas em matrizes vegetais.....	8
Tabela 2 – Estudos da aplicação da técnica de impregnação a vácuo em matrizes vegetais.....	17
Tabelas 3 - Valores da contagem (Log UFC·g ⁻¹) de bactérias probióticas em goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo.....	33
Tabela 4 - Média dos parâmetros de cor (L*, a*, b*, IC, IE, c* e h°) e da firmeza de goiabas minimamente processadas antes e após o tratamento de impregnação a vácuo.....	39
Tabela 5 - Valores médios do índice de incorporação (%) da solução e das suspensões nas goiabas minimamente processadas.....	42
Tabela 6 - Valores médios dos parâmetros de cor de goiaba dos tratamentos controle e adicionados de cultura probiótica submetida a impregnação a vácuo e estocada por 10 dias a 7 °C.....	43
Tabela 7 - Valores médios das características físicas e químicas (sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez total titulável (ATT), perda de massa, firmeza, carotenoides e vitamina C) das goiabas minimamente processadas submetidas a impregnação a vácuo em diferentes tratamentos.....	44
Tabela 8 - Valores médios da contagem de mesófilos e psicrotróficos na estocagem de goiaba probiótica submetida a impregnação a vácuo.....	50
Tabela 9 – Valores médios das notas para os atributos sensoriais de goiaba minimamente processada tratamento controle e probiótica submetida a impregnação a vácuo.....	52

RESUMO

Rodrigues, Marcela Zonta, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2013. **Impregnação a vácuo de micro-organismos probióticos em goiaba minimamente processada.** Orientador: Afonso Mota Ramos. Coorientadores: Edimar Aparecida Filomeno Fontes e Maurílio Lopes Martins.

As culturas probióticas estão disponíveis para o consumidor, principalmente, em produtos lácteos, contudo o interesse pela incorporação de probióticos em outros alimentos tem aumentado nos últimos anos. Assim, as matrizes vegetais tem se tornado uma boa alternativa para a incorporação destes micro-organismos. Esta pesquisa teve como objetivo desenvolver um alimento probiótico a partir de goiaba utilizando a técnica de impregnação a vácuo. As goiabas foram minimamente processadas e, em seguida foram impregnadas sob uma pressão de vácuo de 500 mmHg utilizando solução controle constituído por tampão citrato:ácido cítrico, suspensões de *Lactobacillus acidophilus* em tampão citrato:ácido cítrico e *Lactobacillus plantarum* em tampão citrato:ácido cítrico. As suspensões das culturas probióticas continham inicialmente 10^{10} UFC.mL⁻¹. A fim de se determinar o tempo de vácuo ideal as goiabas minimamente processadas foram impregnadas com suspensão de *L. plantarum* avaliando-se 5 tempos (5, 10, 15, 20 e 30 minutos) e, posteriormente, foi realizada a contagem das bactérias viáveis aderidas as goiabas. Avaliou-se, também, a adição de *L. acidophilus* e *L. plantarum* em goiaba minimamente processada impregnada a vácuo através da determinação da viabilidade de lactobacilos e a adesão por microscopia eletrônica de varredura. Também determinou-se pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, cor, perda de massa, firmeza, vitamina C, carotenoides totais, contagem total em placas de micro-organismos mesófilos e psicrotóxicos e Número Mais Provável de coliformes a 35 °C e 45 °C, ao longo da vida de prateleira das goiabas. Para a análise sensorial, utilizou-se escala hedônica de 9 pontos. O tempo de impregnação influenciou no número de *L. plantarum* aderidos na goiaba ($p < 0,05$) sendo que o tempo de 30 minutos foi definido como o que apresentou a maior contagem e utilizado para a produção de goiaba probiótica

impregnada a vácuo. A viabilidade das culturas probióticas nas goiabas se manteve constante (média de 8,64 Log UFC·g⁻¹) até o décimo dia de vida de prateleira não havendo diferença entre as culturas estudadas (p>0,05). Constatou-se por MEV que o tecido vegetal da goiaba, em forma de colméia, danificado pelo processamento facilitou a entrada e serviu de abrigo para os micro-organismos probióticos, sendo verificado a adesão de *L. acidophilus* e *L. plantarum* à superfície da goiaba. A cor das goiabas minimamente processadas foi afetada pela etapa de impregnação a vácuo e apenas o parâmetro L* foi influenciado durante o período de armazenamento (p<0,05). Constatou-se também que a adição de culturas probióticas não alterou (p>0,05) as características físico-químicas (pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, perda de massa, carotenoides e vitamina C) de goiaba. Entretanto, a adição dos micro-organismos influenciou a textura da fruta. O período de armazenamento também influenciou (p<0,05) os parâmetros de pH, acidez, perda de massa e firmeza. Não se verificou degradação significativa (p>0,05) de vitamina C e carotenoides totais ao longo do período de armazenamento. A adição de culturas probióticas em goiabas minimamente processadas reduziu (p<0,05) em relação ao tratamento controle a contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicotróficos ao longo do período de armazenamento. Além disso, a goiaba minimamente processada atendeu aos padrões microbiológicos para coliformes a 45 °C estabelecidos pela legislação vigente. As goiabas minimamente processadas controle e contendo *L. acidophilus* e *L. plantarum* foram aceitas pelos consumidores, com notas acima de 6,0, gostei ligeiramente, na escala hedônica de nove pontos para os atributos impressão global, cor, sabor e textura. Diante do exposto, as goiabas minimamente processadas adicionadas de culturas probióticas podem ser uma alternativa para o consumo de alimentos funcionais.

ABSTRACT

Rodrigues, Marcela Zonta, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2013. **Vacuum impregnation of probiotic micro-organisms in minimally processed guava.** Adviser: Afonso Mota Ramos. Co-advisers: Edimar Aparecida Filomeno Fontes and Maurilio Lopes Martins.

Probiotic cultures are available to the consumer, especially in dairy products, but the interest in incorporating probiotics in other foods has increased in recent years. Thus, the matrices vegetables has become a good alternative to the incorporation of these micro-organisms. This research aimed to develop a probiotic food from guava using the technique of vacuum impregnation. The guava minimally processed, and then were impregnated under a vacuum pressure of 500 mm Hg using the control solution comprising citrate: citric acid, *Lactobacillus acidophilus* suspensions in citrate: citric acid and *Lactobacillus plantarum* in citrate: citric acid. The suspensions probiotic cultures initially contained 10^{10} CFU·mL⁻¹. In order to determine the time vacuum ideal minimally processed guavas were impregnated with a suspension of *L. plantarum* evaluating five times (5, 10, 15, 20 and 30 minutes), and subsequently were counted viable bacteria adhered guavas. It was evaluated, too, the addition of *L. acidophilus* and *L. plantarum* in minimally processed guava vacuum impregnated by determining the viability of lactobacilli and the adherence by electron microscopy varredurra. Also determined pH, titratable acidity, soluble solids, color, weight loss, firmness, vitamin C, total carotenoids, total plate count of microorganisms mesophilic and psychrotrophic and Most Probable Number of coliforms at 35 °C and 45 °C throughout the shelf life of guavas. The time of impregnation influence the number *L. plantarum* adhered on guava ($p < 0.05$) and the time 30 minutes was defined as the one with the highest score and used for the production of probiotic guava impregnated under vacuum. The viability of cultures probiotics in guavas remained constant (mean 8.64 CFU·g⁻¹) until the tenth day of shelf life with no difference between the cultures studied ($p > 0.05$). It was found by SEM that the plant tissue guava, honeycombed,

damaged by processing facilitated the entry and served as shelter for the probiotic micro-organisms, confirmed the adherence of *L. acidophilus* and *L. plantarum* surface guava. The color of guava minimally processed was affected by vacuum impregnation stage and only the L * parameter was affected during the storage period ($p < 0.05$). It was also found that the addition of probiotic cultures did not change ($p > 0.05$) the physico-chemical (pH, titratable acidity, total soluble solids, weight loss, carotenoids and vitamin C) guava. However, the addition of micro-organisms affect the texture of the fruit. The storage period also influenced ($p < 0.05$) the parameters of pH, acidity, weight loss and firmness. There was no significant degradation ($p > 0.05$) of vitamin C and total carotenoids during the storage period. The addition of probiotic cultures in minimally processed guavas reduced ($p < 0.05$) compared to the control treatment the count of micro-organisms aerobic mesophilic and psychrotrophic throughout the storage period. In addition, minimally processed guava met the microbiological standards for coliforms at 45 °C established by law. The minimally processed guavas control and containing *L. acidophilus* and *L. plantarum* were accepted by consumers, with grades above 6.0, like slightly, the nine-point hedonic scale for overall impression attributes, color, flavor and texture. Given the above, the minimally processed guavas added probiotic cultures can be an alternative to the consumption of functional foods.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, existe um grande interesse dos consumidores por uma alimentação saudável, que favoreça o bem estar e auxilie na prevenção de doenças. Para atender a esta demanda, a indústria de alimentos busca cada vez mais o desenvolvimento de produtos alimentícios inovadores, tais como os alimentos funcionais, sem deixar de lado a preocupação com as características sensoriais do produto. Entre os seguimentos de alimentos funcionais destacam-se os alimentos adicionados de probióticos.

Probióticos são micro-organismos vivos não patogênicos que são administrados para melhorar o equilíbrio microbiano no trato gastrointestinal. Consistem de bactérias do ácido láctico, tais como alguns *Lactobacillus*, espécies de *Bifidobacterium* e a levedura *Saccharomyces boulardii*, e são regulamentados como suplementos alimentares. Os probióticos exercem seus efeitos benéficos por meio de vários mecanismos, tais como a redução do pH intestinal, diminuição da colonização e invasão do intestino por micro-organismos patogênicos e modificação da resposta imune do hospedeiro (WILLIAMS, 2010). Para que esses benefícios sejam produzidos é necessário um número em torno de 10^6 a 10^9 UFC·g⁻¹ de micro-organismos probióticos viáveis em toda a vida útil do produto (GUEIMONDE e SALMINEN, 2006).

Os produtos lácteos são os principais carreadores de probióticos disponíveis no mercado mundial, entretanto a intolerância à lactose e o aumento do número de pessoas vegetarianas são motivos para a redução do consumo desses alimentos por determinada parcela da população (BETORET et al., 2012). Como uma alternativa surge a proposta da produção de alimentos como os vegetais minimamente processados probióticos.

Frutas e hortaliças minimamente processadas são alimentos prontos para o consumo que são submetidos às etapas de classificação, pré-lavagem, descascamento, corte/fatiamento, sanitização, enxágue, centrifugação, embalagem e refrigeração. Em outras palavras, são aqueles alimentos que foram fisicamente alterados de sua forma original passando por operações que

eliminam as partes não comestíveis dos vegetais, como cascas, talos e sementes, mas permanecem em estado próximo ao fresco (GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2009).

Diversas frutas cultivadas no Brasil, tais como maçã, banana, melancia, melão, abacaxi, mamão, goiaba, manga, carambola e jaca, apresentam características desejáveis ao processamento mínimo e são bem aceitas por consumidores que procuram alimentos naturais (MORETTI, 2007).

Alguns estudos apontam a viabilidade da adição de bactérias probióticas em produtos minimamente processados (MARTINS et al., 2013; RÖßLE et al., 2010). Segundo Martins (2012), as culturas probióticas (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* ou *Lactobacillus plantarum*) apresentaram boa capacidade para adesão em abacaxi, banana, goiaba, maçã, mamão e manga. Este autor também observou uma maior adesão e excelente distribuição dessas culturas em banana, maçã e goiaba.

A adição de compostos ativos nas estruturas porosas dos alimentos pode ser realizada através de um processo simples de difusão, mas como esse mecanismo de transporte de massa é lento a impregnação a vácuo veio como uma alternativa para acelerar esse processo. A técnica de impregnação a vácuo é um método no qual o ar e o exsudado dos alimentos são removidos do espaço poroso de um dado material e substituída por uma solução externa (LAURINDO et al., 2007), que possui os compostos fisiologicamente ativos.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Adicionar *Lactobacillus acidophilus* ou *Lactobacillus plantarum* por impregnação a vácuo em goiaba minimamente processada a fim de produzir um alimento probiótico de origem vegetal.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Determinar o tempo de pressão de vácuo para maior impregnação de *L. plantarum* em goiaba minimamente processada.
- ✓ Avaliar a viabilidade de *L. acidophilus* e *L. plantarum* em goiaba minimamente processada impregnada a vácuo com culturas probióticas.
- ✓ Verificar a adesão, distribuição e morfologia dos micro-organismos probióticos impregnados a vácuo em goiaba minimamente processada por microscopia eletrônica de varredura.
- ✓ Avaliar a influência da impregnação a vácuo sobre as características de cor e firmeza da goiaba minimamente processada.
- ✓ Determinar as características físicas e químicas e microbiológicas de goiaba minimamente processada adicionada de *L. acidophilus* e *L. plantarum* por impregnação a vácuo.
- ✓ Avaliar a vida de prateleira de goiaba minimamente processada adicionada de *L. acidophilus* e *L. plantarum*, por impregnação a vácuo, embaladas em bandeja de PET e armazenadas a 7 °C.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Probiótico

As tendências de consumo com relação à escolha dos alimentos têm mudado devido à crescente consciência da relação existente entre dieta e saúde, conseqüentemente, a ingestão de alimentos funcionais tem aumentado significativamente ao longo dos últimos anos. São considerados alimentos funcionais aqueles que, além de fornecerem a nutrição básica, promovem saúde por meio de mecanismos não previstos pela nutrição convencional e, deve ser salientado que esse efeito restringe-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (SHORTT e O'BRIEN, 2004). Os principais segmentos do mercado de alimentos funcionais são os alimentos adicionados de probióticos, prebióticos ou simbióticos (SHEEHAN; ROSS e FITZGERALD, 2007).

Segundo Goldin (1998), a palavra probiótico foi introduzida por Lilley e Stillwell, em 1965, para descrever micro-organismos que desempenham atividades benéficas. Posteriormente, os probióticos foram definidos como ingredientes alimentares microbianos vivos que apresentam efeito benéfico sobre a saúde humana (FAO/WHO, 2002; BROWN e VALIERE, 2004) ou como suplemento alimentar microbiano vivo que afeta benéficamente o hospedeiro, melhorando o equilíbrio da microbiota intestinal (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

Assim, os alimentos adicionados de culturas probióticas apresentaram, nos últimos anos, consideráveis avanços no mercado de alimentos funcionais. Espera-se que em 2013 esse mercado gire em torno de 19,6 bilhões de dólares (ROSS et al., 2010). O interesse crescente dos consumidores por alimentos probióticos justifica-se pela extensa divulgação de estudos que apontam que o consumo regular destes micro-organismos tem efeito benéfico sobre a saúde humana. Dentre os benefícios do consumo de culturas probióticas destacam-se controle de infecções gastrointestinais, redução da intolerância à lactose (SHAH, 2007), redução nos níveis de colesterol, controle da pressão arterial (MANZONI; CAVALLINI; ROSSI, 2008), propriedades antimutagênica,

anticarcinogênicas e anti-diarreicas, redução de doença inflamatória intestinal, supressão da infecção por *Helicobacter pylori* (SHAH, 2007), melhoria às respostas imunológicas por meio da ativação dos macrófagos, aumento dos níveis de citocinas e de imunoglobulinas (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010; COSTA e VARAVALLO, 2011) e menor risco de incidência de câncer de cólon (RAFTER, 2003).

Dentre as bactérias probióticas destacam-se as do ácido láctico, tais como *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus lactis*. Entretanto, estirpes de *Bifidobacterium* também são consideradas probióticas (PRADO et al., 2008). Assim, as bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são frequentemente empregadas como suplementos probióticos para alimentos (BARRETO et al., 2003).

A eficácia da adição de bactérias probióticas em alimentos depende da concentração de células do inóculo e de sua viabilidade que deve ser mantida durante a vida de prateleira do produto. Para que seja observado o efeito benéfico em humanos, a população de bactérias probióticas viáveis deve variar de 10^6 a 10^{10} UFC·mL⁻¹ ou g⁻¹ (BERNARDEAU et al., 2008).

Um micro-organismo probiótico deve não só sobreviver no alimento, mas as células também devem sobreviver às condições adversas do estômago e colonizar o intestino (SAARELA et al., 2006). A maioria dos estudos mostra que o melhor efeito é alcançado quando estes micro-organismos colonizam o epitélio intestinal, uma vez que podem afetar o sistema imunológico, deslocar os agentes patogênicos entéricos e fornecer antimutagênicos e anti-oxidantes para o organismo (PARK; MIN e GEUN, 2007). A tolerância às extremas condições gastrointestinais (ácidos biliares, enzimas e baixos níveis de oxigênio), a capacidade de aderir à mucosa gastrointestinal e a exclusão competitiva de micro-organismos patogênicos têm sido alguns critérios para selecionar probióticos (COLLADO; MERILUOTO e SALMINEN, 2008). A resistência das células probióticas para os ácidos biliares é a garantia de que um micro-organismo em particular irá chegar vivo ao trato intestinal (TARANTO; PEREZ-MARTINEZ e FONT DE VALDEZ, 2006). Também tem

sido demonstrado que a matriz dos alimentos afeta a sobrevivência destes micro-organismos no ambiente gástrico (SAARELA et al., 2006).

Por outro lado, as bactérias lácticas não apenas melhoram a saúde quando consumidas, mas também podem desempenhar um papel protetor durante o armazenamento contra os agentes patogênicos do produto, por meio da competição por nutrientes (vitaminas, minerais, oligoelementos e peptídeos) e da produção de ácidos orgânicos e bacteriocinas (peptídeos antimicrobianos) (RYDLO; MILTZ e MOR, 2006). A presença de culturas com propriedades inibidoras podem postergar a vida de prateleira e aumentar a segurança dos produtos reduzindo, assim, a necessidade da utilização de níveis crescentes de aditivos químicos (SCHUENZEL e HARRISON, 2002). Vale ressaltar que os benefícios de saúde promovidos pelos micro-organismos probióticos são específicos e que nenhuma estirpe irá fornecer todos os benefícios propostos (SHAH, 2007).

A principal linha de alimentos probióticos é a de produtos lácteos (HEENAN et al., 2004). Entretanto, a demanda de produtos probióticos não lácteos vem aumentando (SHEEHAN; ROSS e FITZGERALD, 2007; RIVERA-ESPINOZA e GALLARDO-NAVARRO, 2010) devido ao vegetarianismo, elevado conteúdo de colesterol presente no leite integral, intolerância à lactose e outros fatores relacionados com o consumo de produtos lácteos (BETORET et al., 2012). Com isso, os probióticos foram incorporados em bebidas e suplementos sob a forma de comprimidos, cápsulas e preparações liofilizadas (SHAH, 2001). Além disso, observa-se o desenvolvimento de produtos probióticos a partir de matrizes de alimentos diversos, incluindo as frutas (BERNI-CANANI et al., 2007; PRADO et al., 2008; MARTINS et al., 2013) e produtos hortícolas (YOON, WOODAMS e HANG, 2006).

Os avanços tecnológicos tem tornado possível alterar algumas características estruturais das matrizes alimentícias por meio da adição, de maneira controlada, de componentes modificadores (BETORET et al., 2003). Estes produtos apresentam grande potencial de mercado, uma vez que possuem a vantagem de serem ricos em componentes tais como sais minerais, vitaminas, fibras e antioxidantes (fitoquímicos) e não possuírem alérgenos

lácteos que possam impedir o uso por determinados segmentos da população (LUCKOW e DELAHUNTY, 2004; MARTINS et al., 2013).

3.1.1. Gênero *Lactobacillus*

O gênero *Lactobacillus* apresenta 167 espécies e 27 subespécies compreendendo um grupo grande e heterogêneo de micro-organismos que pertencem às bactérias lácticas (BAL) (FELIS e DELLAGLIO, 2007). São bastonetes, gram positivos, retos ou curvos, ocorrendo isolados ou em cadeia, catalase negativos, anaeróbios facultativos, não esporulados, fastidiosos, mesofílicos e acidúricos. Podem ser encontrados em uma variedade de habitats, tais como, membranas das mucosas da espécie humana e animal, cavidade oral, intestino e vagina, plantas e material orgânico e habitats artificiais, como esgotos (BERNARDEAU et al., 2008). Também estão presentes em muitos tipos de alimentos como cereais, bebidas fermentadas, queijos e produtos lácteos, carnes e derivados, dentre outros (HAMMES e HERTEL, 2006).

As espécies do gênero *Lactobacillus* foram agrupadas com base em suas características fenotípicas, como a temperatura ótima de crescimento e a fermentação de hexoses (PANESAR et al., 2007). Posteriormente, foram classificadas como homofermentativas obrigatórias, heterofermentativas facultativas e heterofermentativas obrigatórias (KANDLLER e WEISS, 1986). Os lactobacilos obrigatoriamente fermentativos são aqueles que fermentam glicose exclusivamente em ácido láctico e/ou etanos e dióxido de carbono, sendo a produção de gás a partir da glicose uma característica marcante dessas bactérias. Os heterofermentativos facultativos incluem os lactobacilos que fermentam hexoses em ácido láctico e podem produzir gás a partir de gliconato, mas não através da glicose. Esses micro-organismos também fermentam pentoses por meio da atividade de uma fosfoacetolase induzida para produzir ácido láctico e acético (VÁSQUEZ et al., 2005; GIRAFFA; CHANSHVILI; WIDYASTUTI, 2010).

As bactérias pertencentes ao gênero *Lactobacillus* são frequentemente empregadas como probióticos por serem consideradas seguras (GRAS –

“generally recognized as safe”) pela *Food and Drug Administration* (FDA), pois não são patogênicas, o que é um aspecto importante em relação aos riscos de saúde pública e segurança dos produtos (SANTOS et al., 2003).

Com a intenção de diversificar os produtos probióticos, pesquisas no sentido de associar as características das bactérias probióticas do gênero *Lactobacillus* a produtos não lácteos incluindo outras matrizes a base frutas e hortaliças são bastante promissoras (Tabela 1).

Tabela 1 – Estudos recentes sobre a aplicação de bactérias probióticas em matrizes vegetais

Matriz Alimentar	Micro-organismo utilizado	Produto alimentício	Referência
Abacaxi	<i>Lactobacillus casei</i>	Suco	Costa et al. (2013)
Abacaxi, banana, goiaba, maçã, mamão e manga	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Lactobacillus plantarum</i>	Minimamente Processado	Martins (2012)
Batata	<i>Lactobacillus casei</i>	Bebida	Kim, Jang, Yoon, (2012)
Maçã	<i>Lactobacillus casei</i> e <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Suco	Ellendersen et al. (2012)
Maçã	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Minimamente processado	Alegre et al. (2011)
Maçã	<i>Lactobacillus casei</i>	Suco	Pereira; Maciel; Rodrigues (2011)
Melão	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Minimamente processado	Oliveira et al. (2011)
Maçã	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Minimamente processado	Rößle et al. (2010)
Alface	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Minimamente processado	Da Cruz et al. (2010)
Cenoura	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Minimamente processado	Lima; Martins; Martins (2009)

3.2. Vegetais Minimamente Processados

O consumo de frutas e hortaliças, bem como produtos derivados, tem aumentado significativamente ao longo dos anos, uma vez que os consumidores estão à procura de alimentos que tenham qualidade e praticidade (ALVES et al., 2010b). As frutas e hortaliças são componentes essenciais da dieta humana e existem evidências consideráveis dos seus benefícios à saúde (ABADIAS et al., 2008), podendo ser utilizadas como uma ferramenta importante para prevenir determinadas doenças degenerativas (BERGER et al., 2010; CLARO e MONTEIRO, 2010).

Mudanças no estilo de vida das pessoas, como maior participação da mulher no mercado de trabalho, famílias cada vez menores, aumento do número de pessoas morando sozinhas e a preocupação dos consumidores com uma dieta saudável e diversificada, têm influenciado positivamente a demanda por produtos minimamente processados (KENNEDY e WALL, 2007). Os vegetais minimamente processados são definidos como frutas ou hortaliças ou qualquer combinação destas que tenham sido alteradas fisicamente, mas que mantenham seus atributos e qualidade similares ao produto *in natura* (IFPA, 2007; SILVA et al., 2011). Trata-se de um alimento fresco com os tecidos das células ainda vivos, o que preserva as características necessárias para manter o frescor dos alimentos (SILVA et al., 2011). Estes produtos devem cumprir a funcionalidade esperada sem alterações significativas das propriedades físico-químicas e do valor nutricional durante a sua vida de prateleira (RICO et al., 2007).

O processamento destes alimentos consiste nas etapas de seleção, lavagem, sanitização, descascamento, corte/fatiamento, embalagem e posterior armazenamento e distribuição (IFPA, 2007). As operações de descascamento e corte provocam estresse mecânico no vegetal, o que acelera o seu metabolismo levando à uma rápida deterioração e, conseqüentemente, reduzindo a sua vida de prateleira (GUERZONI et al., 1996; LUENGO e LANA, 1997). Diante disso, os vegetais minimamente processados apresentam exigências específicas de preparo e manuseio, para que sejam garantidas as qualidades sensoriais, nutricionais e microbiológicas do produto para o

consumidor final (LUENGO e LANA, 1997). Por isso, é essencial que esses alimentos sejam mantidos sob refrigeração, a fim de promover a manutenção e o prolongamento do tempo de estocagem, bem como minimizar os efeitos deletérios ocasionados pelo processamento.

Segundo Moretti e Machado (2006), o surgimento dos alimentos minimamente processados data de 1938, onde vários tipos de saladas embaladas já podiam ser encontradas em quitandas e pequenos mercados na costa oeste dos Estados Unidos. Entretanto, a atividade de processamento mínimo de frutas e hortaliças começou realmente a crescer nos Estados Unidos a partir da década de 50, com o surgimento das redes de alimentação rápida (*fast-food*). Na França, os produtos minimamente processados foram introduzidos em 1980, registrando-se aumento na produção de 400 toneladas, em 1985, para 35.000 toneladas em 1989 (SILVA et al., 2011). No Brasil, o início da atividade de processamento mínimo ocorreu com a chegada das redes de *fast-food*, no final da década de 70, principalmente nos Estados do Sudeste (MORETTI e MACHADO, 2006).

Além da maior praticidade no preparo, os produtos minimamente processados apresentam outras vantagens, tais como, manutenção das características sensoriais e nutricionais, padronização na forma e tamanho, redução na geração de resíduos e a possibilidade de conhecer a procedência do produto, escolher marcas e comprar menores quantidades (ALLENDE; TOMÁS-BARBERÁN e GIL, 2006; OMS-OLIU et al., 2010).

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

As frutas minimamente processadas também vêm ganhando rapidamente o mercado mundial, inclusive como sobremesas prontas em embalagens práticas, vendidas em lugares públicos ou acompanhando *kits* de refeições prontas, embora ainda apresentem menor participação no consumo do que as hortaliças minimamente processadas. Elas podem ser apresentadas

acondicionadas em embalagens contendo um único tipo de fruta, ou uma mistura de frutas, acompanhadas ou não de algum complemento para ser adicionado no momento do consumo (um pacotinho ou sachê contendo creme ou calda, por exemplo, além de talheres).

3.2.1. Goiaba

A goiaba (*Psidium guajava* L.) é considerada uma fruta climatérica originária da região tropical da América do Sul, havendo a suposição de que sua origem estenda-se desde o sul do México até a América do Sul. Pertencente à família *Myrtaceae*, a goiabeira se adapta a diferentes condições edafoclimáticas (NEVES, 2009). A fruta é composta por uma baga com formato ovóide, arredondado ou piriforme e com tamanho variável, de 5 cm a 8 cm de diâmetro. O epicarpo é fino e de coloração amarela quando a fruta está madura. O mesocarpo de coloração branca, rósea ou vermelha é polpudo, doce e aromático e envolve numerosas sementes duras, pequenas e uniformes (CHITARRA e CHITARRA, 2006).

É uma excelente fruta para o consumo humano, dada sua riqueza em vitamina C, carotenoides, potássio, fibras, cálcio e ferro. Além de apresentar quantidades razoáveis de pró-vitamina A, vitaminas do complexo B, e possuir baixo conteúdo calórico e ótimo potencial antioxidante (BRUNINI; OLIVEIRA e VARANDA, 2003). As qualidades nutricionais fazem com que a goiaba tenha merecida atenção, tanto para o consumo *in natura* como para o desenvolvimento de novos produtos (DURIGAN; MATTIUZ e MORGADO, 2009).

Dentre as frutas tropicais brasileiras, a goiaba ocupa lugar de destaque, o que leva o Brasil a ser considerado um dos maiores produtores mundiais da fruta (NASCIMENTO; ARAÚJO e MELO, 2010). Segundo a Agência Brasileira de Promoção de Exportações e Investimentos (ApexBrasil), o Brasil é o terceiro maior produtor de frutas com uma produção anual em torno de 42 milhões de toneladas (APEXBRASIL, 2012). De acordo com o setor, 28% do total produzido no país é levado para o mercado externo (AGRIANUAL, 2013).

O Brasil é um dos maiores produtores de goiaba no mundo, apresentando no ano 2010 um volume de produção acima de 342.528 mil toneladas, distribuída principalmente nas regiões sudeste e nordeste do país (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2013). Mesmo o país sendo um dos maiores produtores mundiais de goiaba, a expansão do mercado consumidor desta fruta *in natura* está condicionado à sua qualidade e ao aumento da sua vida de prateleira. Altamente perecível, devido ao seu intenso metabolismo, com aumento típico da respiração e da produção de etileno durante o amadurecimento, a goiaba tem vida útil de 3 a 5 dias sob temperatura ambiente (GONGATTI NETTO; GARCIA e ARDITO, 1996; ALI e LAZAN, 2001). Dentre seus principais aspectos de deterioração estão o rápido amolecimento dos frutos, a perda da coloração verde e do brilho da casca, o murchamento e a incidência de podridões nos frutos (JACOMINO, 1999).

A maior parte de sua produção é destinada à indústria, uma vez que a fruta tem como desvantagem a sazonalidade, dificultando a oferta durante o ano inteiro. Assim, torna-se necessário o emprego de processos de conservação que proporcionem tal durabilidade (REIS et al., 2007). Estão disponíveis no mercado diversos produtos, tais como polpa congelada, sucos, néctares, doces cremosos e de massa, geleias, entre outros (NASCIMENTO; ARAÚJO e MELO, 2010).

Portanto, a escolha da goiaba foi definida em virtude desta fruta ser nutricionalmente rica e por conter outros compostos importantes para o homem, além de possuir sabor conhecido e ter boa aceitabilidade.

3.3. Impregnação a Vácuo

Processos de impregnação realizados a pressão atmosférica, sob condições de vácuo ou por uma combinação de impregnação a vácuo seguida por períodos à pressão atmosférica podem ser empregados para incorporar compostos fisiologicamente ativos em tecidos vegetais sem destruir a matriz dos alimentos (ALZAMORA et al., 2005).

A impregnação a vácuo é adequada para a introdução de componentes presentes numa fase líquida (solução, suspensão ou emulsão) em uma

estrutura porosa de uma matriz sólida (BETORET et al., 2005). Dessa forma, o processo de impregnação a vácuo consiste na imersão da matriz alimentar numa solução líquida e, em seguida, na aplicação da pressão de vácuo por um determinado período para garantir que o ar retido no material poroso seja removido. Posteriormente, a pressão atmosférica é restabelecida e a solução externa penetra nos espaços intercelulares do produto por ação capilar e pelo gradiente de pressão que são impostos ao sistema, auxiliando a incorporação de diversos compostos na estrutura do material poroso (Figura 1) (FITO et al., 2001; BADILLO; SEGURA; LAURINDO, 2011).

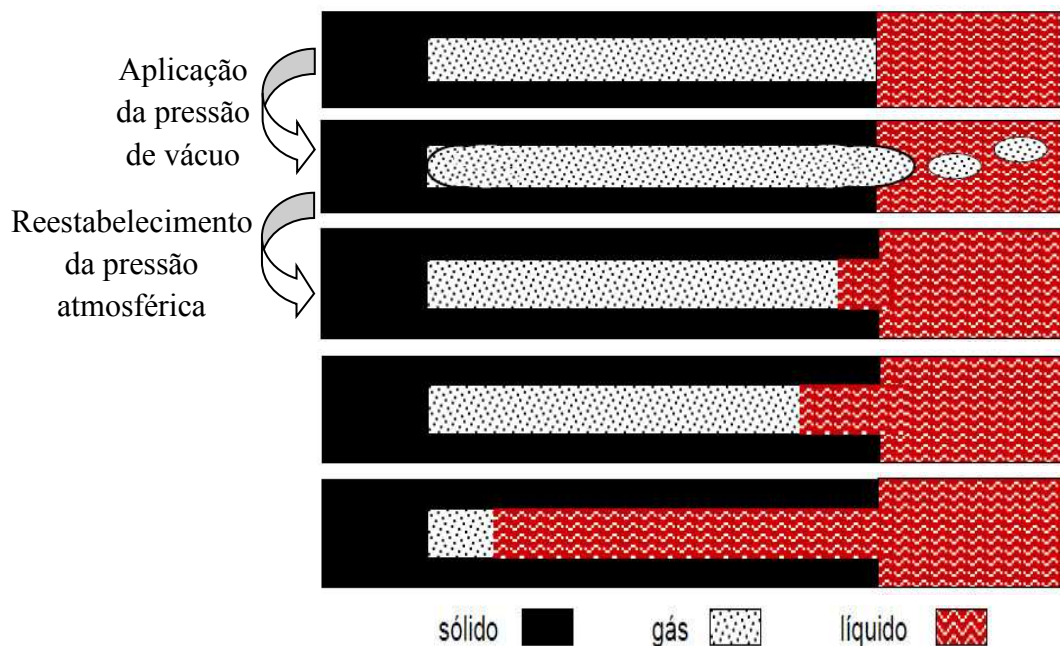


Figura 1 – Esquema do processo de impregnação à vácuo (Fito, 1994).

A cinética de impregnação é afetada pela microestrutura, porosidade, tamanho, distribuição e comunicação dos poros presentes no alimento. A quantidade de líquido impregnado na estrutura porosa depende, entre outros fatores, do nível de desgaseificação e da pressão de trabalho (ANDRÉS; FITO; CHIRALT, 1995).

Esforços têm sido feitos para elucidar os mecanismos utilizados na impregnação a vácuo de um material poroso (FITO, 1994; FITO e PASTOR, 1994; ZHAO e XIE, 2004; LAURINDO et al., 2007), mas este é um problema

complexo, uma vez que são muitas as variáveis e os mecanismos de transferência de massa envolvidos no processo. O primeiro modelo matemático do processo de impregnação a vácuo em materiais porosos, mais especificamente em alimentos porosos, foi proposto por Fito e colaboradores (FITO, 1994; FITO e PASTOR, 1994). O modelo foi chamado mecanismo hidrodinâmico (HDM) e é descrito como um fenômeno de transferência de massa rápida que ocorre quando estruturas porosas são imersas numa fase líquida e envolve o fluxo do líquido externo através dos poros (FITO, 1994; FITO e PASTOR, 1994).

Dessa forma, a impregnação a vácuo de um alimento poroso foi modelada como uma função da eficácia da porosidade alimentar (BADILLO; SEGURA; LAURINDO, 2011). Entretanto, materiais porosos são estruturas complexas e a interação de todas as interfaces entre vapor-líquido deve ser considerada numa situação verdadeira (STARK e MANGA, 2000).

A substituição dos gases internos por uma fase líquida de composição ajustável permite alterar a composição de um alimento através de modificações da matriz sólida, sem expor a estrutura do alimento ao estresse devido a uma longa exposição a concentração de soluto, como no caso do processo a pressão atmosférica (FITO et al., 1996; MUJICA-PAZ et al., 2003).

A impregnação a vácuo tem sido apontada como uma ferramenta muito útil em engenharia de alimentos, uma vez que nos permite introduzir no tecido vegetal, solutos específicos que podem desempenhar diferentes funções (antioxidantes, reguladores de pH, conservantes, etc.) (ATARÉS; CHIRALT; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, 2008). Além disso, essa transferência de massa que ocorre na impregnação a vácuo traz como consequência melhorias nas características físico-químicas e nutricionais e nas propriedades sensoriais dos alimentos, levando a significativas vantagens como aumento da vida de prateleira e a introdução de produtos inovadores no mercado de alimentos (ZHAO e XIE, 2004).

Esta técnica é geralmente utilizada em processamento de frutas e hortaliças, para obter diversos tipos de produtos, tais como, minimamente processados, produtos de umidade intermediária (ALZAMORA et al., 1997), ou

ainda pode ser utilizada como um pré-tratamento para secagem (NIETO et al., 1998) ou congelamento (ZHAO e XIE, 2004). Também tem sido investigada para incorporar compostos fisiologicamente ativos (minerais, probióticos, e vitaminas) na estrutura de frutas e hortaliças (FITO et al., 2001; BETORET et al., 2003) nos quais os produtos finais podem ser considerados alimentos funcionais.

A produção de alimentos funcionais através da impregnação a vácuo depende da quantidade de compostos fisiologicamente ativos que será incorporado no tecido vegetal, ou seja, depende da resposta do tecido da fruta ou hortaliça à impregnação (SALVATORI et al., 1998; GRAS et al., 2002). Esta resposta é afetada pelo comportamento viscoelástico e pelas propriedades físico-químicas do tecido vegetal, pelos meios de impregnação, bem como pelas condições do processo, e pode ser avaliada usando parâmetros característicos de impregnação, tais como a fração volumétrica do líquido incorporado (X), a deformação volumétrica (γ), e a porosidade eficaz (ϵ_e) (FITO et al., 1996):

$$X = \frac{(M_f - M_i)}{\rho_{SI}/V_i} \quad (1)$$

$$\gamma_1 = \frac{V_1 - V_i}{V_i} \quad (2)$$

$$\gamma = \frac{V_f - V_i}{V_i} \quad (3)$$

$$\epsilon_e = \frac{(X - \gamma)r + \gamma_1}{r - 1} \quad (4)$$

Em que: M_f a massa de líquido impregnado na amostra no final do processo de impregnação a vácuo; M_i a massa de líquido inicial; ρ_{SI} densidade da solução de impregnação; γ_1 deformação volumétrica após a etapa de vácuo; V_1 volume da amostra no final da etapa de vácuo; V_i volume inicial da amostra; V_f o

volume da amostra no final do processo de impregnação a vácuo; r taxa de compressão.

A localização e distribuição dos compostos fisiologicamente ativos incorporados afetam algumas propriedades físicas e químicas, bem como alguns atributos nutricionais e sensoriais do vegetal impregnado (KONISHI; TAKEZOE; MURASE, 1998).

A viabilidade das frutas e hortaliças tratadas por impregnação a vácuo depende do volume de solução impregnada, que é também ligada à porosidade do alimento. A porosidade eficaz depende de muitos fatores, mas em geral, a maçã é uma fruta que apresenta a maior porosidade, seguida de melão, pêssigo e morango em níveis semelhantes, enquanto frutas como ameixa, pêra e damasco tem uma porosidade inferior (ANDRÉS et al., 2001). Em geral, a maior porosidade permite ao vegetal um tratamento de vácuo mais eficaz (BLANDA et al., 2008).

Está técnica pode ser aplicada em inúmeros processos nos quais as interações entre um material poroso e um líquido estão presentes, tais como: a salga (de presunto, aves, peixes, queijos), a desidratação osmótica de frutas, a acidificação, a adição de conservantes, a adição de probióticos e prebióticos, a adição de reforçadores estruturais, a atenuação do escurecimento enzimático, a valorização de resíduos de frutas, a adição de componentes nutricionais, entre outros (Tabela 2).

Tabela 2 – Estudos da aplicação da técnica de impregnação a vácuo em matrizes vegetais

Matriz Alimentar	Composto ativo utilizado	Referência
Morango	Sacarose	Moreno et al. (2012)
Groselha indiana	Solução osmótica	Chinprahast et al. (2012)
Morango, mirtilo, cenoura e milho	Cálcio	Gao et al. (2011)
Batata	Ácido ascórbico	Hironaka et al. (2011)
Aipo e Pepino	Cloreto de sódio	Martelo et al. (2011)
Abobrinha	Maltodextrinas, Cloreto de sódio e Cloreto de cálcio	Occhino et al. (2011)
Pêra	Ácido ascórbico e Lactato de cálcio	Perez-Cabrera et al. (2011)
Morango	Pectina	Reno; Prado; Resende (2011)
Couve-flor, escarola, brócolis, cenoura	Aloe Vera	Sanzana; Gras; Vidal-Brotóns (2011)
Maçã	Glicosídeos de quercetina de casca de maçã	Schulze et al. (2011)
Melão	Cloreto de cálcio, Amido gelatinizado e Glicose	Reno; Resende; Prado (2010)
Maçã	<i>Lactobacillus salivarius</i> spp. <i>salivarius</i>	Betoret et al. (2010)
<i>Physalis peruviana, L.</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Marín; Cortés; Montoya (2010)
Berinjela, aipo e cogumelos	Cálcio	Vidal-Brótons et al. (2010)
Cenoura	Quitosana	Vargas et al. (2009)
Abacaxi	Pectina e Propionato de cálcio	Cruvinel et al. (2009)
Maçã	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Puente; Betoret; Cortés (2009)
Mamão e goiaba	<i>Lactobacillus casei</i>	Krasaekoopt e Suthanwong (2008)
Maçã	Pectinametilesterase e Cálcio	Guillemin et al. (2008)
Maçã	Cálcio e Ferro	Betoret et al. (2005)
Morango	Crioprotetores de xarope de milho rico em frutose, pectina de alta metoxilação e sais de cálcio e de zinco.	Xie e Zhao (2004)
Maçã	<i>Lactobacillus casei</i>	Betoret et al. (2003)
Goiaba	<i>Bifidobacterium</i> sp.	Ortiz et al. (2002)

4. MATERIAL E MÉTODOS

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

4.1. Processamento mínimo da goiaba

Foram adquiridas no comércio local de Viçosa, Minas Gerais, aproximadamente 20 Kg de goiaba da variedade 'Paluma' no estágio de maturação 2, que corresponde à fase de início de mudança de cor da casca de verde-escura para verde-clara (AZZOLINI; JACOMINO; BRON, 2004). Estas foram encaminhadas para a Planta Piloto de Processamento de Frutas e Hortaliças do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV, onde foram armazenadas sob refrigeração (7 °C) até o início do processamento mínimo.

Em seguida, as frutas foram lavadas em água potável a 5 °C e, posteriormente, sanitizadas em solução clorada (Sumaveg®) a 200 mg·L⁻¹ de cloro ativo por um período de 15 minutos a 5 °C. Após a sanitização, as frutas foram enxaguadas em solução clorada a 20 mg·L⁻¹ por 5 minutos e, então fatiadas em rodela de, aproximadamente, 1 cm com o auxílio de facas de aço inoxidável.

4.2. Preparo da suspensão probiótica

Inicialmente, as culturas liofilizadas de *L. acidophilus* e *L. plantarum* foram suspendidas isoladamente em solução tampão estéril de citrato:ácido cítrico (1:1), pH 3,8, na proporção de 1:10, ou seja, para cada grama de células foram adicionados 10 mL da solução tampão para se obter no final concentração de 10¹⁰ células por mililitro (Rößle et al., 2010).

Foi realizada lavagens consecutivas com solução tampão estéril citrato:ácido cítrico (1:1) da cultura liofilizada de *L. plantarum* a fim de reduzir a concentração do corante azul presente no produto.

Desta forma, a fim de se obter goiaba minimamente processada contendo *L. acidophilus* e *L. plantarum* por impregnação a vácuo, para cada grama do produto foi utilizado 1 mL da suspensão de células preparada previamente.

4.3. Delineamento Experimental

No estudo da adição de *L. acidophilus* ou *L. plantarum* por impregnação a vácuo em goiaba minimamente processada, o delineamento experimental foi dividido em dois.

O primeiro foi montado no delineamento inteiramente casualizado tendo como tratamentos os diferentes tempos de impregnação (5 min, 10 min, 15 min, 20 min e 30 min) a vácuo de 500 mmHg (Figura 2), sendo utilizado como teste preliminar o *L. plantarum* para estabelecer o tempo ideal de impregnação uma vez que esta cultura já pertencia ao Laboratório de Ciência de Produtos de Frutas e Hortaliças.

O segundo também foi montado no delineamento inteiramente casualizado disposto em esquema de parcela subdividida, estando na parcela os três tratamentos (T) sendo eles, goiaba impregnada a vácuo na solução tampão citrato:ácido cítrico (controle) e goiabas impregnadas a vácuo na suspensão de *L. acidophilus* ou *L. plantarum* em tampão citrato:ácido cítrico, e na sub parcela os tempos de armazenamento (TA), (0 dia, 3 dias, 6 dias, 8 dias e 10 dias), e a interação T*TA (Figura 3).

Também foi determinada as características de cor e firmeza das goiabas minimamente processadas antes e após a aplicação da etapa de impregnação a vácuo. Onde foi montado o delineamento inteiramente casualizado tendo como tratamento a etapa de impregnação a vácuo (Figura 4).

As amostras de goiaba tratamento controle e adicionadas de culturas probióticas foram acondicionadas em bandejas de PET a 7 °C. Todo o experimento foi realizado em três repetições e as análises microbiológicas e físico-químicas em duplicata.

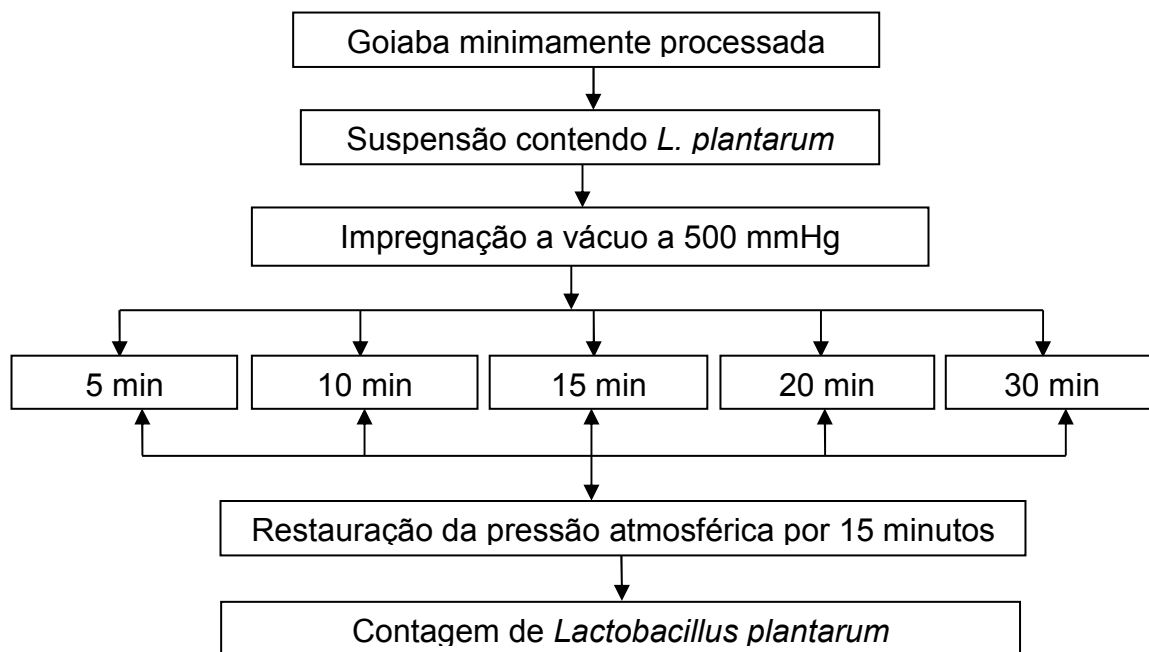


Figura 2 – Esquema do primeiro experimento para definir o tempo de vácuo a ser utilizado para a produção de goiabas probióticas minimamente processadas.

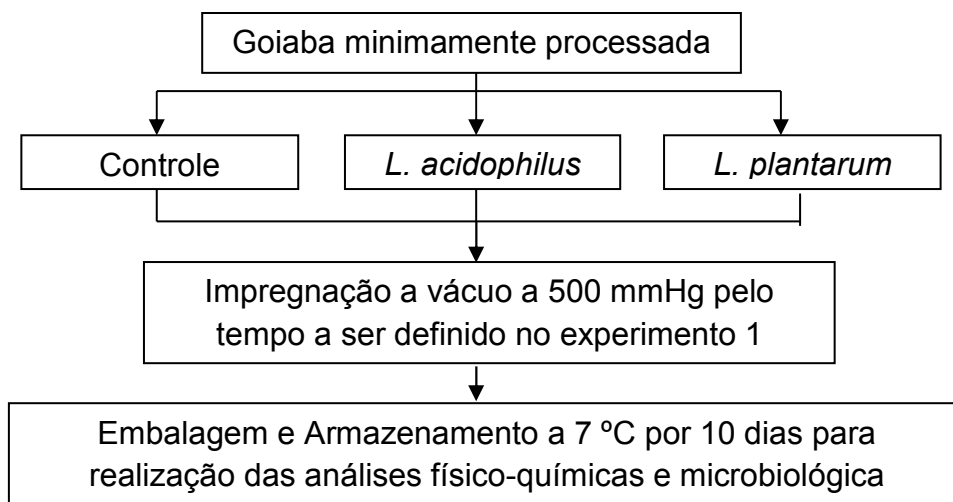


Figura 3 – Esquema do delineamento experimental em parcela sub dividida (segundo experimento).

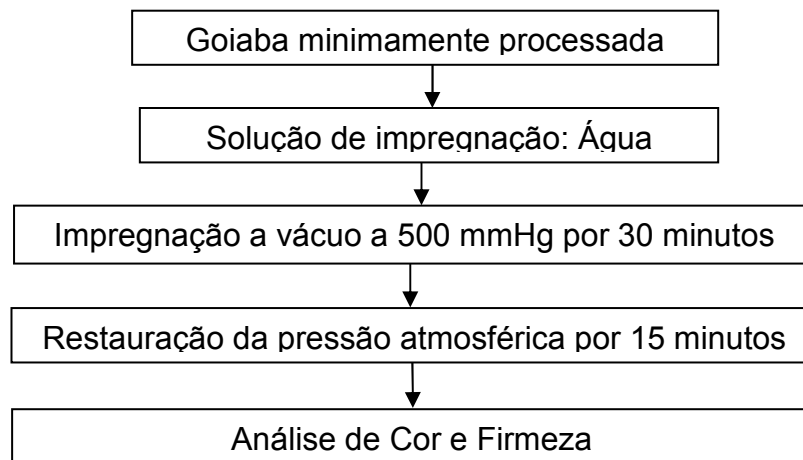


Figura 4 – Esquema do experimento para definir a influência da impregnação a vácuo sobre as propriedades de cor e firmeza das goiabas minimamente processadas.

4.4. Determinação do tempo de impregnação a vácuo

As goiabas minimamente processadas foram imersas em suspensões contendo, aproximadamente, 10^{10} UFC·mL⁻¹ de *Lactobacillus plantarum*. Essa solução, com as frutas imersas, foi submetida a uma pressão de vácuo de 500 mmHg (leitura direta em vacuômetro) por 5min, 10min, 15 min, 20 min e 30 min, e, em seguida, a pressão atmosférica foi restabelecida durante 15 minutos (BETORET et al., 2010).

Logo após a impregnação foi determinada a viabilidade dos lactobacilos nas goiabas minimamente processadas impregnadas a fim de estabelecer o tempo que seria utilizado na etapa de pressão de vácuo.

4.5. Impregnação à vácuo

Após o corte, as goiabas minimamente processadas foram imersas separadamente na suspensão contendo, aproximadamente, 10^{10} UFC·mL⁻¹ de *L. acidophilus* ou *L. plantarum*. A suspensão probiótica, com as frutas imersas, foi submetida a uma pressão de vácuo de 500 mmHg pelo período definido no primeiro experimento, e, em seguida, a pressão atmosférica foi restabelecida por 15 minutos (BETORET et al., 2010).

Após este tratamento, as goiabas minimamente processadas foram embaladas em bandejas de tereftalato de polietileno (PET) com tampa do mesmo material e armazenadas a 7 °C em diferentes tempos de estocagem (0 a 10 dias) para acompanhamento da vida de prateleira por meio de análises físico-químicas e microbiológicas em três repetições. Como controle as goiabas minimamente processadas foram imersas em solução tampão citrato:ácido cítrico (1:1), pH 3,8, e foram submetidas ao mesmo processo de impregnação a vácuo (Figura 5).



Figura 5 – Equipamento utilizado para realizar a impregnação a vácuo.

4.6. Avaliação da viabilidade de *L. acidophilus* e *L. plantarum* em goiaba minimamente processada

A determinação da viabilidade de *L. acidophilus* e *L. plantarum* foi estabelecida por meio da contagem de lactobacilos após 0, 2, 4, 6, 8 e 10 dias de processamento mínimo da goiaba armazenada em temperatura de 7 °C.

Amostras de 25 g de goiaba minimamente processada foram homogeneizadas com agitação manual em 225 mL de solução salina peptonada (0,85 % de NaCl e 0,1 % de peptona). Posteriormente, foram realizadas diluições seriadas. A contagem foi efetuada pelo método de plaqueamento em profundidade ("*pour plate*"), adicionando-se 1 mL das respectivas diluições e em seguida uma camada de ágar Rogosa SL (Himedia) em placas de Petri, após a solidificação adicionou-se uma sobrecamada de ágar Rogosa SL. As placas foram posteriormente mantidas em jarras de anaerobiose a 37 °C por 72 h (RICHTER e VEDAMUTHU, 2001).

4.7. Avaliação da adesão, distribuição e morfologia dos micro-organismos probióticos impregnados a vácuo em goiaba minimamente processada ao longo do tempo de armazenamento

Após tratamento da goiaba com os micro-organismos probióticos, foram realizadas análises por microscopia eletrônica de varredura a fim de verificar a adesão, distribuição e morfologia dos micro-organismos no tecido vegetal com 0, 5 e 10 dias de armazenamento a 7 °C.

4.7.1. Preparo das amostras

As frutas foram fatiadas em secções de 0,5 cm x 0,5 cm com, aproximadamente, 1 mm a 2 mm de espessura. Para realização da análise, a parte externa das frutas ficou voltada em direção ao feixe de elétrons.

4.7.2. Desidratação das amostras e metalização com ouro

Para a fixação das células e do tecido vegetal, os fragmentos da fruta foram transferidos para solução de glutaraldeído 5 % (v/v) em tampão fosfato 0,1 mol·L⁻¹, 1:1, de forma que a concentração final fosse 2,5 % de glutaraldeído e tampão fosfato 0,05 mol·L⁻¹. Os fragmentos das frutas permaneceram nesta solução por 18 horas a 7 °C. Em seguida, foi realizada lavagem de 1 minuto em tampão PBS 0,05 mol·L⁻¹, pH 7,2. A etapa de desidratação consistiu de tratamentos seriados em acetona, nas graduações de 30 °GL, 50 °GL, 70 °GL e 90 °GL, por 10 minutos cada e três tratamentos de 10 min, em acetona 100 °GL. Os cortes das frutas foram transferidos para o secador ao ponto crítico (Critical Point Dryer – modelo CPD020, Balzers, Liechtenstein) para a desidratação total e, então metalizados com ouro em metalizador (modelo FDU 010, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein) para posterior observação ao microscópio eletrônico de varredura (modelo LEO 1430 VP Zeiss, Cambridge, Inglaterra) e registro das imagens.

4.8. Avaliação da influência da etapa de impregnação a vácuo na cor e na firmeza das goiabas minimamente processadas

As goiabas minimamente processadas foram avaliadas quanto a cor (coordenada L*, a* e b*, índice de escurecimento, índice de cor, índice chroma e angulo hue) e a firmeza. Posteriormente, as amostras foram imersas em água e foi submetida a uma pressão de vácuo de 500 mmHg (leitura direta em vacuômetro) por 30 min, e, em seguida, a pressão atmosférica foi restabelecida durante 15 minutos (BETORET et al., 2010).

Logo após o processamento foi determinada, novamente, todos os parâmetros de cor e a firmeza das goiabas minimamente processadas impregnadas a fim de verificar a influência da etapa de impregnação a vácuo sobre estas características da fruta.

4.9. Avaliação da incorporação de componentes após a impregnação a vácuo

A incorporação de componentes após a impregnação a vácuo foi determinada por meio de pesagem em balança analítica, estabelecendo-se a relação entre a massa das frutas minimamente processadas antes e após a etapa de impregnação a vácuo. Os resultados foram expressos em porcentagem e foram determinados a partir da equação:

$$IC = \frac{m_1 - m}{m} \times 100 \quad (5)$$

Em que:

IC: índice de incorporação;

m₁: massa, em gramas, das goiabas minimamente processadas antes da etapa de impregnação;

m: massa, em gramas, das goiabas minimamente processadas após a etapa de impregnação;

4.10. Determinação das características físico-químicas de goiaba minimamente processada impregnada a vácuo com solução contendo *L. acidophilus* e *L. plantarum* e tratamento controle, ao longo do período de armazenamento.

As propriedades físicas e químicas foram avaliadas nos tempos 0, 3, 6, 8 e 10 dias nos tratamentos controle e adicionados de micro-organismos probióticos.

4.10.1. Determinação objetiva de cor

A cor superficial das amostras de goiaba dos tratamentos controle e inoculado com *L. acidophilus* e *L. plantarum* armazenados a 7 °C foram avaliadas utilizando-se o equipamento Color Reader CR-10 (Minolta). A determinação de cor foi realizada pela leitura direta das coordenadas L*, a*, b* empregando a escala CIELAB L*, sendo que L* mede a luminosidade e varia de 0 (preto) a 100 (branco), a* indica a posição da cor entre vermelho (+a) e verde (-a) e a coordenada b* entre amarelo (+b) e azul (-b).

Foi realizada a medida de cor das amostras ao longo do período de armazenamento. Para cada amostra foram realizadas três leituras em diferentes pontos dos produtos a fim de se obter o resultado médio.

O índice de cor (IC) que mede a cor característica do produto, o índice de escurecimento (IE), a intensidade de cor ou Chroma (c*) e o ângulo hue (h°), foram determinados segundo Mazzuz (1996), Palou et al. (1999), McGuire (1992) e Rößle et al. (2009), respectivamente, sendo calculados de acordo com as equações a seguir:

$$IC = \frac{1000 \cdot a^*}{L^* \cdot b^*} \quad (6)$$

$$IE = \frac{[100 \cdot (x - 0,31)]}{0,172} \quad \text{em que,} \quad x = \frac{a^* + 1,75 \cdot L^*}{(5,645 \cdot L^*) + a^* - (3,02 \cdot b^*)} \quad (7)$$

$$c^* = \sqrt{[(a^*)^2 + (b^*)^2]} \quad (8)$$

$$h = \arctang \frac{b^*}{a^*} \quad (9)$$

4.10.2. Análise de Firmeza

A firmeza das frutas minimamente processadas adicionadas de cultura probiótica de *L. acidophilus* ou *L. plantarum* e do tratamento controle mantidos a 7 °C foram determinadas nos tempos 0, 3, 6, 8 e 10 dias de armazenamento em texturômetro TA-TX2 (Texture Technologies Corp./Stable Micro systems), com sonda cilíndrica de 5 mm de diâmetro (Aluminum Cylinder Probe SMS, P/25) e célula de carga de 5 Kg. As amostras foram comprimidas, na região do mesocarpo da fruta, em 30 % da altura original, em um ciclo de compressão, com velocidade de pré-teste de 2 mm·s⁻¹, teste de 1 mm·s⁻¹ e pós-teste de 2 mm·s⁻¹. Os índices de firmeza foram calculados a partir das curvas características do perfil de textura gerada no programa Texture Expert Stable Micro Systems, sendo os resultados expressos em Newton (N).

4.10.3. Teor de Sólidos Solúveis Totais

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

4.10.4. Potencial hidrogeniônico (pH)

Para a determinação do pH das amostras, foi pesado, aproximadamente, 10 g da fruta triturada e esta foi diluída em 100 mL de água destilada. Em seguida foi agitado e analisada utilizando potenciômetro (Tecnonon), conforme a AOAC (2000).

4.10.5. Acidez total titulável (ATT)

A acidez total titulável foi determinada através da maceração de 10 g de polpa de goiaba diluídas em 100 mL de água destilada, sendo posteriormente adicionado ao homogenato 3 gotas de indicador fenolftaleína. Em seguida, procedeu-se a titulação com uma solução padronizada de NaOH 0,1 mol·L⁻¹

(AOAC, 2000) e esta etapa foi acompanhada com pHmetro até o ponto de viragem da fenoftaleína (pH 8,3). A acidez total titulável foi calculada em relação % (m/m) de ácido cítrico.

4.10.6. Perda de massa

A perda de massa foi determinada por meio de pesagem em balança analítica, estabelecendo-se a relação entre o peso inicial das frutas minimamente processadas após a etapa de impregnação a vácuo e durante o período de armazenamento a 7 °C. A perda de massa foi expressa em porcentagem.

4.10.7. Determinação de Carotenoides Totais

Os carotenoides totais foram determinados por análise espectrofotométrica, conforme metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001). As amostras de goiaba minimamente processadas, tratamento controle e adicionadas de micro-organismos probióticos, foram trituradas e, em seguida, foram pesadas em torno de 1 g para realização da análise.

Em cada amostra foram adicionados 40 mL de acetona para a extração dos carotenoides. Em seguida, as amostras foram filtradas e transferidas para um funil de separação onde foram adicionados 30 mL de éter de petróleo ocorrendo a migração dos carotenoides presente na acetona para o éter de petróleo. Então realizou-se cinco lavagens consecutivas com água destilada até remoção total da acetona. A solução dos pigmentos em éter de petróleo foi transferida para um balão volumétrico completando-se o volume para 100 mL com éter de petróleo. A leitura foi realizada em espectrofotômetro digital (modelo SP-200, BIOSPECTRO) no comprimento de onda de 469 nm. Para o cálculo do teor de carotenoides totais foi utilizada a fórmula abaixo:

$$C = \frac{A \cdot V \cdot 10^4}{A^{1\%}_{1\text{cm}} \cdot P} \quad (10)$$

Em que:

C = carotenoides totais (µ/mg)

A = absorvância da solução no comprimento de onda de 469nm;

V = volume final da solução (mL);

$A^{1\% 1\text{cm}}$ = coeficiente de extinção ou coeficiente de absorvidade molar de um pigmento em um determinado solvente específico. No caso do licopeno em éter de petróleo o valor é 3450 a 469 nm (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001);

P = massa da amostra (gramas).

O resultado foi expresso em microgramas por grama de carotenoides totais expresso em licopeno, uma vez que este é o carotenoide em maior concentração na goiaba.

4.10.8. Vitamina C

A análise de vitamina C foi realizada pelo método de Tillmans com modificações de acordo com Souza et al. (2010). Para a determinação da vitamina C foram pesados aproximadamente 10 gramas da amostra. Em seguida, realizou-se uma diluição utilizando-se 20 mL de água destilada.

Posteriormente, mediu-se a quantidade de suco total em uma proveta e transferiu-se uma alíquota de 10 mL do suco para um balão volumétrico de 100 mL; adicionou-se 2 mL de acetato neutro de chumbo e 1 mL da solução fosfato oxalato com a finalidade de clarificar a amostra, então o volume do balão foi completado com água destilada. Filtrou-se em papel de filtro e pipetou-se 2 mL do filtrado para um erlenmeyer contendo 5 mL de ácido oxálico e seguiu-se a titulação da amostra com solução de 2,6 - diclorofenol indofenol até viragem da cor da solução para rósea.

Os resultados foram expressos em miligramas de ácido ascórbico por grama de polpa de goiaba.

4.11. Determinação das características microbiológicas de goiaba minimamente processada impregnada a vácuo com *L. acidophilus* e *L. plantarum*, ao longo do período de armazenamento.

Pesou-se 25 gramas de amostra (tratamento controle, *L. acidophilus* e *L. plantarum*), adicionou-se 225 mL de solução salina peptonada 0,1%.

Homogeneizou-se manualmente por aproximadamente 60 segundos. Realizou-se diluições seriadas.

A contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos foi realizada segundo Vanderzant e Splittstoesser (2001) utilizando plaqueamento em profundidade e Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas. A contagem de micro-organismos psicotróficos foi determinada segundo Cousin; Jay e Vasavada (2001) utilizando-se Ágar Padrão para Contagem (PCA) e incubação a 7 °C por 10 dias.

Para a contagem das colônias de aeróbios mesófilos e psicotróficos foram selecionadas as placas contendo de 25 a 250 colônias e, posteriormente, foi calculado o número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama do produto.

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

Todas as análises microbiológicas foram realizadas em duplicata e foram analisadas após armazenamento a 7 °C nos dias 0, 5 e 10, a fim de avaliar as condições do produto durante a sua vida de prateleira.

4.12. Análise Sensorial

O teste de aceitação das goiabas minimamente processadas do tratamento controle e adicionada de *L. acidophilus* e *L. plantarum* foi realizada por 50 julgadores não treinados, utilizando escala hedônica de nove pontos, variando-se de “gostei extremamente” (escore 9) a “desgostei extremamente” (escore 1) para os atributos cor, sabor, impressão global e textura, segundo Minim (2006) logo após o processamento.

4.13. Análise Estatística

Os dados obtidos para determinar o tempo de vácuo a ser utilizado foram interpretados por análise de variância (ANOVA) utilizando teste F e teste de Tukey para comparação de médias ao nível de 5 % de probabilidade.

Para análise do efeito da impregnação a vácuo na cor e firmeza das goiabas minimamente processadas os dados foram interpretados por análise de variância aplicando o teste F ao nível de 5 % de probabilidade.

Os dados obtidos das análises microbiológicas e físico-químicas foram interpretados por análise de variância (ANOVA) utilizando teste F, teste de Tukey para comparação de médias e análise de regressão ao nível de 5 % de probabilidade.

Para isso foi utilizado o programa Statistical Analysis Systems (SAS), versão 9.2, licenciado pela Universidade Federal de Viçosa.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Determinação do tempo de impregnação a vácuo

O tempo de impregnação afetou significativamente ($p < 0,05$) a concentração de *L. plantarum* no tecido vegetal de goiaba minimamente processada (Figura 6). Isso pode ter sido causado pela estrutura celular rígida que ofereceu resistência para a entrada da solução de impregnação na estrutura do tecido vegetal da fruta. Desta forma, o aumento do tempo de impregnação possibilitou uma maior retirada do ar presente no tecido vegetal e, conseqüentemente, aumentou os espaços para a entrada da suspensão contendo a bactéria probiótica.

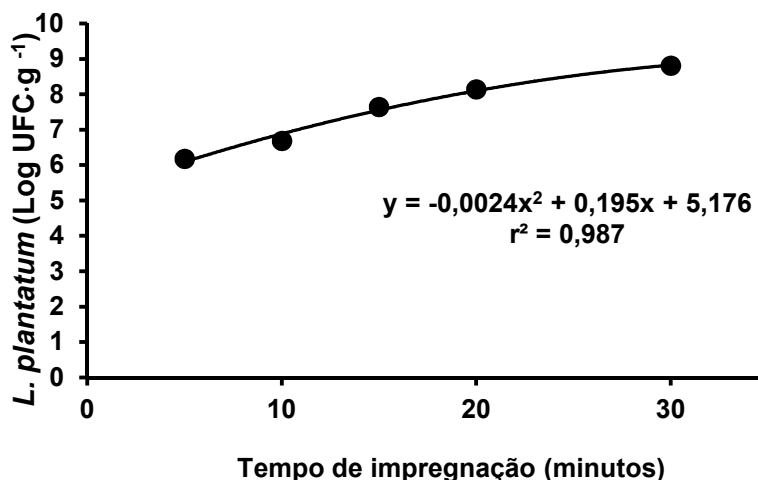


Figura 6 – Variação da contagem de *L. plantarum* em goiaba minimamente processada submetida a diferentes tempos de impregnação a vácuo.

Esses dados corroboram com os relatados por Krasaekoopt e Suthanwong (2008), que avaliaram a incorporação de *Lactobacillus casei* 01 em goiaba e mamão por impregnação a vácuo a 37,5 mmHg. Estes autores verificaram que com o aumento do tempo da aplicação da pressão de vácuo houve um aumento da incorporação do líquido de impregnação para a goiaba, entretanto, para o mamão ocorreu o inverso, ou seja, a medida que aumentou-

se o tempo de pressão de vácuo houve uma redução no volume do líquido de impregnação incorporado na fruta.

Rodríguez (1998) estudou a adição de diferentes micro-organismos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus* e *Phoma glomerata*) em maçã cortada em cubos por impregnação a vácuo. Foram utilizadas cinco diferentes pressões de vácuo (685, 635, 535, 435, 335 mmHg) por 2 minutos e constatou-se que as maiores contagens 5,05; 5,40 e 5,28 Log UFC·g⁻¹ para *S. cerevisiae*, *L. acidophilus* e *P. glomerta*, respectivamente, foram obtidas quando utilizou a pressão de vácuo igual a 685 mmHg.

De acordo com dados encontrados na literatura constatou-se que a impregnação a vácuo utilizando pressões de vácuo mais elevadas, em torno de 500 mmHg, foram efetivas para adicionar micro-organismos probióticos no tecido vegetal de frutas.

Portanto, foi estabelecido um tempo ideal para o período de vácuo de 30 minutos a uma pressão de vácuo de 500 mmHg, uma vez que após a aplicação deste período de vácuo foi encontrada a maior concentração (8,8 Log UFC·g⁻¹) de *L. plantarum*.

5.2. Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus plantarum* ao longo do período de armazenamento

Verificou-se que a viabilidade dos micro-organismos probióticos nas goiabas minimamente processadas apresentaram valor médio de 8,64 Log UFC·g⁻¹ durante 10 dias de armazenamento a 7 °C (Tabela 3), sendo o produto considerado probiótico por conter acima de 7,00 Log UFC·g⁻¹. A sobrevivência das bactérias probióticas no produto alimentício é fundamental sendo necessário alcançar populações suficientemente elevadas para ser de importância fisiológica ao consumidor (SAAD, 2006). Dessa forma, a goiaba minimamente processada probiótica obtida oferece ao consumidor quantidade suficiente de bactérias para promover benefícios ao organismo hospedeiro.

Tabelas 3 - Valores da contagem (Log UFC·g⁻¹) de bactérias probióticas em goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo

Micro-organismos Probióticos	Média da Viabilidade
<i>L. acidophilus</i>	8,47 ^a
<i>L. plantarum</i>	8,74 ^a

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

Resultados semelhantes foram encontrados por Marín; Cortés; Montoya (2010) que constataram contagem em torno de 9,0 Log UFC·g⁻¹ de *L. plantarum* adicionados por impregnação a vácuo com pressão de 150 mmHg em *Physalis peruvian* L. ecotipo colombiana após 15 dias de armazenamento a 4 °C. Puente; Betoret; Cortés (2009) obtiveram contagens de *Lactobacillus rhamnosus* em torno de 9,0 Log UFC·g⁻¹ em fatias de maçã impregnadas a vácuo, numa pressão de 37,5 mmHg, durante 60 dias armazenamento a 4 °C.

Krasaekoopt e Suthanwong (2008) avaliaram a adição por impregnação a vácuo a 37,5 mmHg de *L. casei* em goiaba e mamão e constataram que os conteúdos de todos os tratamentos apresentaram uma contagem acima de 8,0 Log UFC·g⁻¹. Já Betoret et al. (2003) estudaram a adição de *L. casei* spp. *rhamnosus* e verificaram a contagem da cultura probiótica de 5,65 Log UFC·g⁻¹ após 6 dias de armazenamento a 8 °C.

Oliveira et al. (2011) estudaram a viabilidade de *L. rhamnosus* HN001 adicionados por imersão em melão minimamente processado armazenados a 6 °C e 15 °C e observaram contagem da cultura probiótica acima de 8,0 Log UFC·g⁻¹ por até 6 dias de armazenamento. Martins (2012) trabalhou com salada de frutas minimamente processada adicionada de *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *L. plantarum* por imersão e constatou que a viabilidade dos micro-organismos probióticos nas saladas de frutas se manteve acima de 7,83 Log UFC·g⁻¹ ao longo de 6 dias de armazenamento a 8 °C.

No presente estudo, constatou-se que o tempo não apresentou influência significativa ($p>0,05$) sobre a viabilidade das culturas probióticas e

também que não houve interação entre tempo e os micro-organismos probióticos ($p>0,05$) apresentando valor médio de 8,47 Log UFC.g⁻¹ de *L. acidophilus* e 8,74 Log UFC.g⁻¹ de *L. plantarum*. Como não houve interação significativa entre as culturas probióticas utilizadas e o tempo de armazenamento constata-se que os micro-organismos incorporados nas goiabas minimamente processadas por impregnação a vácuo apresentaram o mesmo comportamento durante a estocagem por 10 dias de armazenamento a 7 °C.

5.3. Avaliação da adesão, distribuição e morfologia dos micro-organismos probióticos impregnados a vácuo em goiaba minimamente processada ao longo do tempo de armazenamento por microscopia eletrônica de varredura

A partir da microscopia eletrônica de varredura pode-se observar no tecido vegetal a presença de poros, capilares e espaços inter-celulares (Figura 7). Segundo Abreu et al. (2012), o mesocarpo da goiaba logo após o processamento apresenta células em formato de colméia e com o decorrer do período de armazenamento ocorre a deformação progressiva da estrutura. A estrutura do mesocarpo em formato de colméia pode ser observada na Figura 7.

O tecido vegetal em formato de colméia possibilita a entrada dos micro-organismos probióticos e serve como abrigo facilitando a aderência dos mesmos.

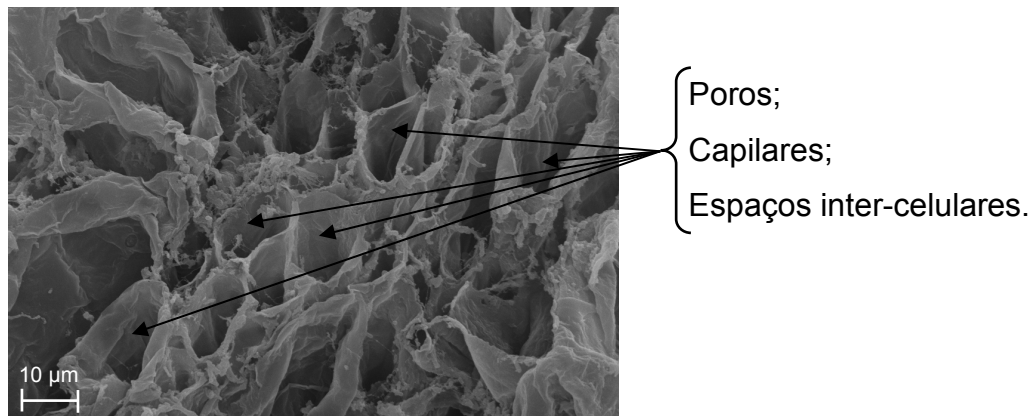


Figura 7 – Micrografia eletrônica de varredura do mesocarpo de goiaba logo após o processamento mínimo (aumento: 3500).

No processamento mínimo de frutas, a etapa de fatiamento rompe as membranas celulares expondo o tecido interno do vegetal o que permite a entrada de micro-organismos, e promove o extravasamento do suco celular possibilitando o crescimento microbiano por disponibilizar substrato rico em nutrientes (MORETTI, 2007). Dessa forma, as bactérias se alojam nas estruturas com espaços interconectados e adaptam-se a um habitat heterogêneo, mas com alto potencial de oferecer condições para seu crescimento, em função da presença de nutrientes (SOLOMON; BRANDL; MANDRELL 2006).

Constatou-se que as culturas probióticas de *L. acidophilus* e *L. plantarum* apresentaram boa adesão ao tecido vegetal da goiaba (Figura 8) e que o meio ácido da fruta não alterou as características morfológicas destes micro-organismos, uma vez que eles apresentaram-se na forma de bastonetes e ocorreram isolados ou em cadeia.

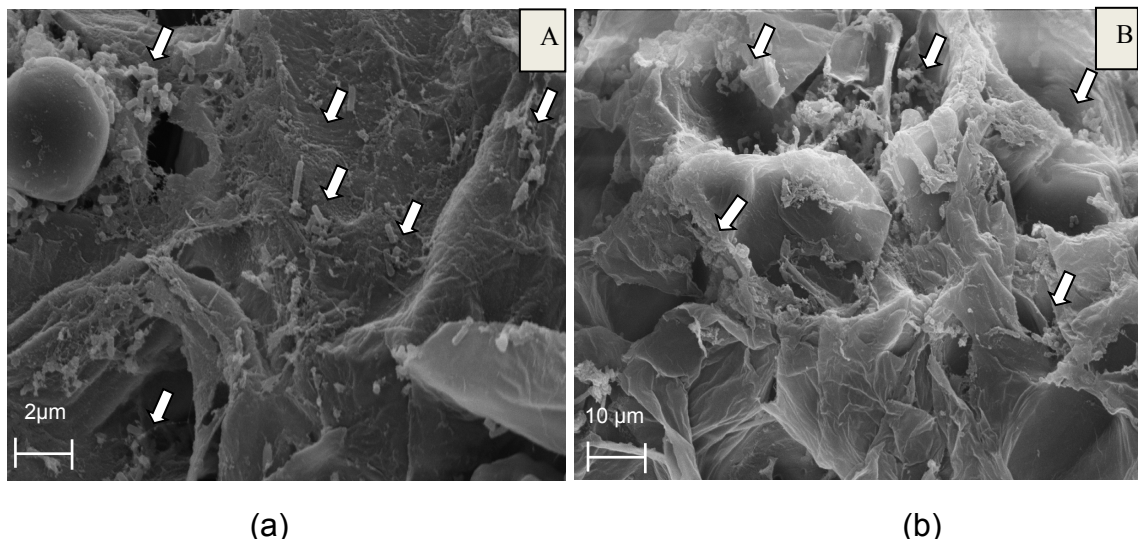


Figura 8 – Micrografias eletrônicas de varredura mostrando adesão e a forma de *L. acidophilus* (aumento: 6000) (a) e *L. plantarum* (aumento: 4000) (b) em goiabas minimamente processadas impregnadas a vácuo. As setas indicam os locais onde as culturas probióticas estão aderidas.

A microscopia eletrônica de varredura revelou a presença de inúmeras bactérias em forma de bastonete nas fatias de goiaba adicionadas de culturas probióticas. Foram observadas bactérias nas junções intercelulares do tecido de goiaba (Figura 8).

As micrografias indicaram que as células de *L. acidophilus* e *L. plantarum* estavam aderidas ao tecido vegetal da goiaba. Isto implica que o tamanho dos espaços intercelulares do tecido de goiaba era grande o suficiente para permitir a difusão das células destas culturas probióticas. Verificou-se também que com o decorrer do período de armazenamento as culturas probióticas avaliadas tiveram a capacidade de formar aglomerados (Figura 9 e 10).

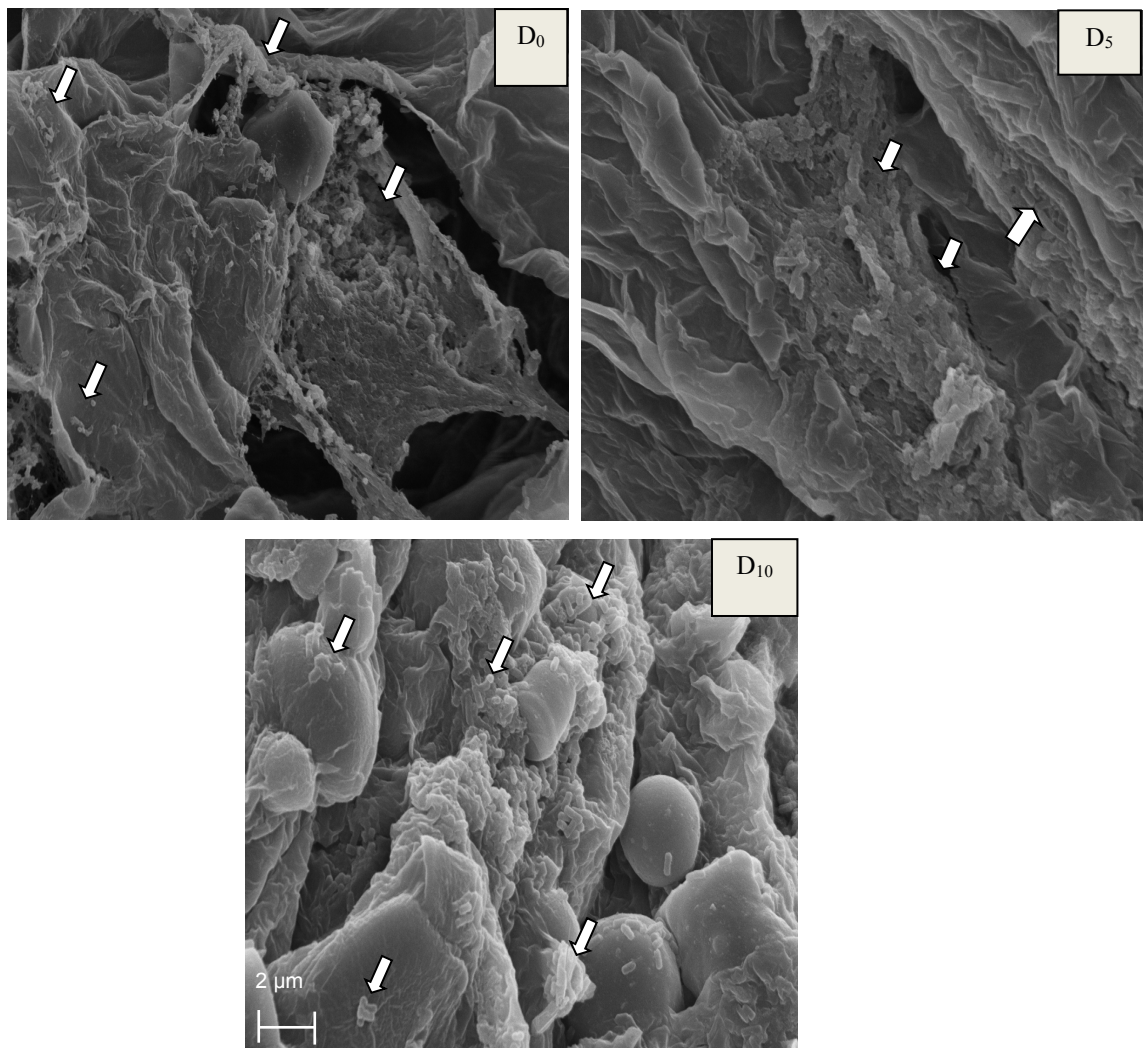


Figura 9 – Microscopia eletrônica de varredura da adesão de *L. acidophilus* em goiaba minimamente processada, impregnada a vácuo nos tempos 0, 5 e 10 dias de armazenamento (aumento: dia 0 – 3500; dia 5 e 10 – 6000). As setas indicam os locais onde as culturas probióticas estão aderidas.

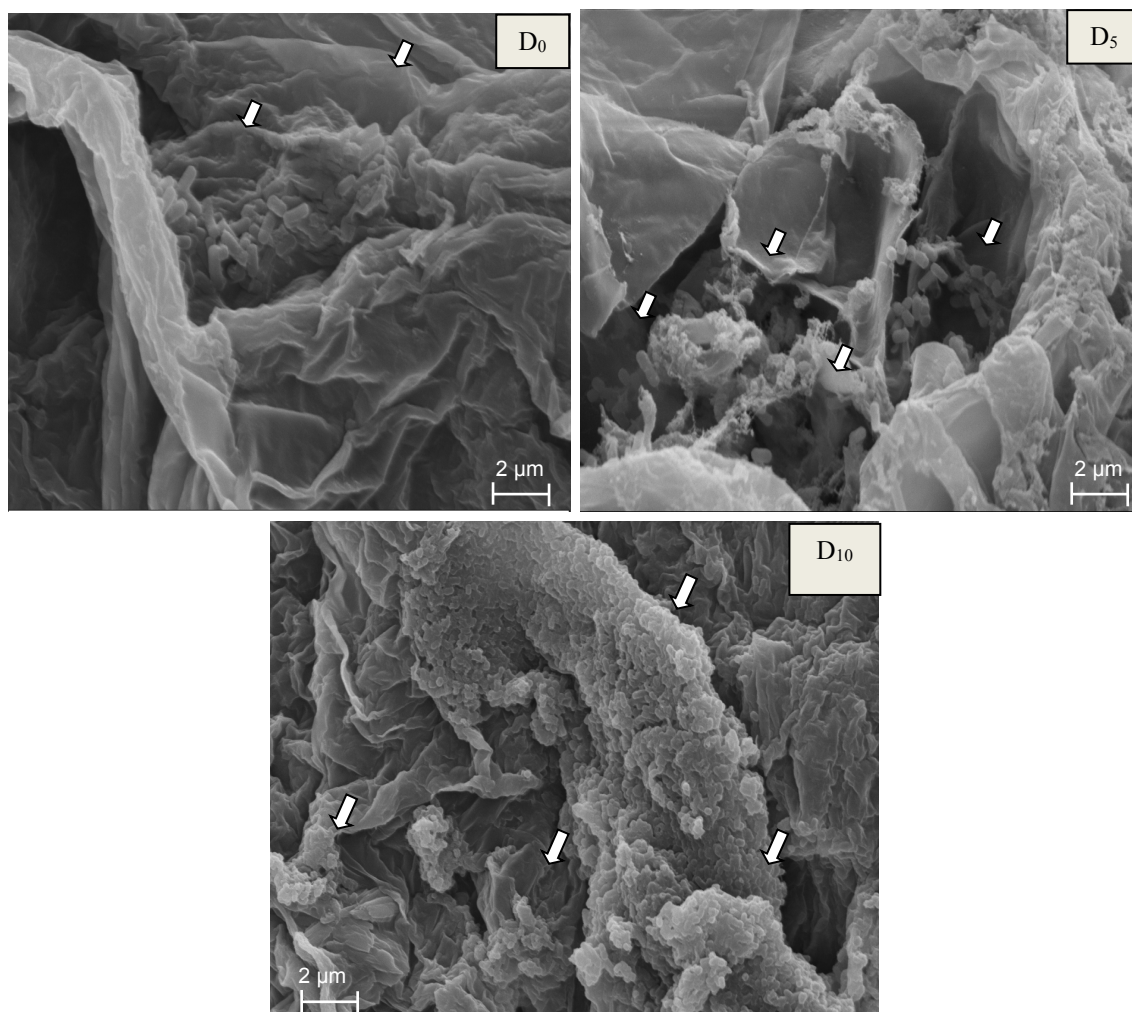


Figura 10 – Microscopia eletrônica de varredura da adesão de *L. plantarum* em goiaba minimamente processada, impregnada a vácuo nos tempos 0, 5 e 10 dias de armazenamento (aumento: dia 0 e 5 – 10000; dia 10 – 6000). As setas indicam os locais onde as culturas probióticas estão aderidas.

Martins (2012), Röβle (2010), Marín; Cortés; Montoya (2010), Puente; Betoret; Cortés (2009), Krasaekoopt e Suthanwong (2008) também verificaram a adesão de *L. rhamnosus* em goiaba minimamente processada, *L. rhamnosus* GG em maçã, *L. plantarum* em *Physalis peruviana*, *L. rhamnosus* em maçã e *L. casei* em goiaba e mamão, respectivamente.

A incorporação de bactérias probióticas em frutas ainda é um desafio, entretanto ela é altamente vantajosa, uma vez que as frutas são ricas em nutrientes e são consumidas pela maioria da população (SAAD et al., 2011).

5.4. Influência da etapa de impregnação a vácuo na cor e na firmeza das goiabas minimamente processadas

Na avaliação da cor das goiabas minimamente processadas antes e após o tratamento de impregnação a vácuo, utilizando como solução de impregnação a água, foi constatada diferença significativa ($p < 0,05$) para os parâmetros L^* , IC, IE, h° e não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os parâmetros coordenada a^* e b^* e índice c^* .

Tabela 4 - Média dos parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , IC, IE, c^* e h°) e da firmeza de goiabas minimamente processadas antes e após o tratamento de impregnação a vácuo

Tratamento	L^*	a^*	b^*	IC	IE	c^*	h°	Firmeza (g)
1	47,0 ^a	+ 38,9 ^a	+ 24,5 ^a	33,91 ^a	126,02 ^a	45,99 ^a	32,12 ^a	458,68 ^a
2	38,6 ^b	+ 39,1 ^a	+ 22,7 ^a	45,19 ^b	148,41 ^b	45,18 ^a	29,98 ^b	120,93 ^b

1 – goiaba minimamente processada antes da etapa de impregnação a vácuo.

2 - goiaba minimamente processada após a etapa de impregnação a vácuo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F.

A luminosidade das goiabas minimamente processadas foi mensurada pela variação de escala da coordenada L^* , sendo que quanto mais próximo for o valor de 0, mais escuro é o produto, enquanto que valores próximos de 100 representam um produto mais claro. Assim os resultados obtidos indicam que após a etapa de impregnação a vácuo as amostras tornaram mais escuras (Figura 11).

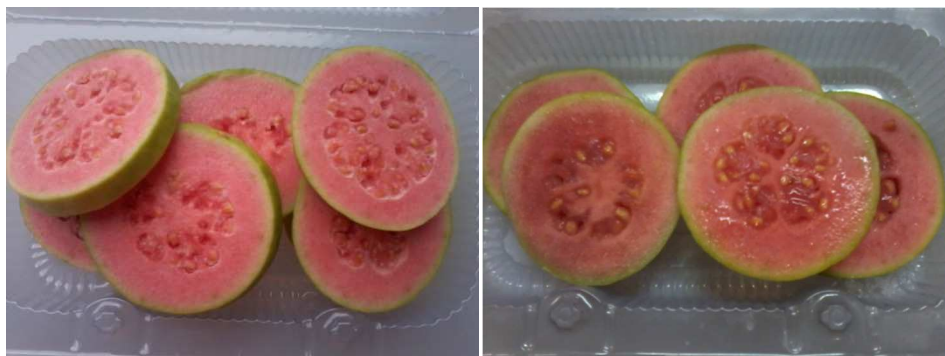


Figura 11 – Goiaba minimamente processada antes de passar pela etapa de impregnação a vácuo (a) e goiaba minimamente processada após de passar pela etapa de impregnação a vácuo (b).

Puente; Betoret; Cortés (2009) também verificaram que após a impregnação a vácuo fatias de maçã se tornaram mais escura. Portanto, a impregnação a vácuo reduz a luminosidade das frutas devido à remoção do oxigênio dos poros.

A coordenada a^* representa a variação do verde ao vermelho. Valores positivos representam tonalidades de vermelho, quanto maior for este valor mais vermelho é o produto. Por meio da análise, verificou-se que a coordenada a^* não foi influenciada significativamente ($p > 0,05$) pela etapa de impregnação a vácuo, portanto mesmo após o tratamento a amostra continua sendo vermelha.

Em relação ao índice de cor constatou-se que após a etapa de impregnação a goiaba minimamente processada coloração vermelha mais intensa, uma vez que quanto mais negativo, mais verde é a cor da fruta e quanto mais positivo, mais intensa é a coloração vermelha da fruta.

Observou-se que o tratamento de impregnação a vácuo influenciou significativamente ($p < 0,05$) o índice de escurecimento (mede a pureza da cor marrom) das goiabas minimamente processadas.

Outro parâmetro da cor avaliado foi o índice Chroma (c^*), que explica a saturação ou intensidade da cor. Valores de Chroma menores correspondem ao padrão de cor mais fraco (“aspecto fosco do objeto”) e, valores mais altos, ao padrão de cor mais forte (“cores vivas”), sendo o padrão de cor mais forte é o desejado para os alimentos (CARDOSO et al., 2007). Verificou-se neste

trabalho que não houve diferença significativa após o tratamento de impregnação a vácuo e que esta etapa não influenciou o padrão de cor do alimento. Como o c^* assumi valores próximos a zero para cores neutras (cinza) e ao redor de 60 para cores vívidas (MARTINS, 2012) constatou-se que após a impregnação a vácuo foi mantida a intensidade de C_{rhom} das goiabas minimamente processadas, e estas mantiveram sua coloração mais próxima das cores vivas.

O ângulo hue (h°) é um parâmetro muito utilizado também para expressar a variação da coloração em produtos vegetais (McGUIRE, 1992). O h° assume valor zero para a cor vermelha, 90° para amarela, 180° para verde e 270° para azul. Observou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para este parâmetro entre as goiabas minimamente processadas antes e após a impregnação a vácuo, mas ambos os resultados situam-se no primeiro quadrante evidenciando a predominância da coloração vermelha.

Também foi verificado diferença significativa ($p > 0,05$) na firmeza das amostras antes da impregnação em relação a firmeza das amostras após a impregnação (Tabela 4). A firmeza do tecido vegetal é um dos parâmetros mais importantes relacionados à qualidade do produto sendo determinada principalmente pelas propriedades da parede celular e da pressão de turgor. Durante a impregnação a vácuo as amostras são submetidas a mudanças de pressão que resultam na deformação de sua estrutura celular. Esta deformação pode provocar danos nas junções entre as células e a separação das mesmas, afetando o comportamento mecânico da amostra (CHIRALT et al., 2001).

5.5. Avaliação da incorporação de componentes pelo processo de impregnação a vácuo

Observou-se que a solução e as suspensões utilizadas como líquido de impregnação em goiaba minimamente processada não apresentaram influencia ($p > 0,05$), apresentando valor médio geral de 20,4 % incorporação de solução ou suspensão (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores médios do índice de incorporação (%) da solução e das suspensões nas goiabas minimamente processadas

Tratamentos	Índice de Incorporação (%)
Controle	20,90 ^a
<i>L. acidophilus</i>	20,76 ^a
<i>L. plantarum</i>	19,60 ^a

Médias (n = 3) seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Betoret et al. (2003) estudaram a impregnação de micro-organismo probiótico em fatias de maçã, utilizando uma pressão de vácuo de 37,5 mmHg, a partir de duas soluções, sendo elas suco de maçã e leite, e constataram que não houve diferença no volume de solução impregnado na fruta para as diferentes soluções. Por outro lado, Krasaekoopt e Suthanwong (2008) verificaram que os diferentes líquidos de impregnação (sucos da fruta contendo 4, 15 e 30 °Brix) utilizados influenciaram ($p < 0,05$) no volume de líquido incorporado na goiaba e mamão a uma pressão de 37,5 mmHg. Reno; Resende; Prado (2010) observaram que os líquidos de impregnação, amido e glicose, influenciaram ($p < 0,01$) a transferência de massa, incorporando ou retirando componentes de melão minimamente processado durante a etapa de impregnação a vácuo a 633, 378 e 124 mmHg.

Portanto, a viscosidade da solução de impregnação é particularmente importante no processo de impregnação a vácuo estando diretamente relacionada com a quantidade de líquido incorporado ao material poroso.

5.6. Determinação das características físicas e químicas

5.6.1. Avaliação da cor das goiabas minimamente processadas do tratamento controle e adicionadas de *L. acidophilus* e *L. plantarum* ao longo do período de armazenamento

A partir da determinação da cor das goiabas minimamente processadas do tratamento controle, adicionada de *L. acidophilus* e *L. plantarum* foi

constatada diferença significativa ($p < 0,05$) para os parâmetros L^* , a^* , b^* , IE, c^* e não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para IC e h° (Tabela 6).

A diferença entre o tratamento adicionado de *L. plantarum* para os demais tratamentos, em relação à redução no valor de alguns parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , IE, c^*) pode ter ocorrido devido à cultura probiótica liofilizada possuir corante azul em sua composição e esta ter sido diretamente inoculada no líquido de impregnação. Este fato pode ser comprovado pela coordenada b^* que varia de azul (valores negativos) a amarelo (valores positivos), onde foi observada uma redução significativa no valor desta coordenada (tendendo ao azul) nas goiabas minimamente processadas adicionadas de *L. plantarum*.

Tabela 6 - Valores médios dos parâmetros de cor de goiaba dos tratamentos controle e adicionados de cultura probiótica submetida a impregnação a vácuo e estocada por 10 dias a 7 °C

Tratamentos	L^*	a^*	b^*	IC	IE	c^*	h°
Controle	38.34 ^a	24,71 ^a	26,72 ^a	24,56 ^a	153,53 ^a	36,48 ^a	47,13 ^a
<i>L. acidophilus</i>	37.77 ^a	22,95 ^a	23,59 ^a	26,20 ^a	135,70 ^a	32,97 ^a	45,80 ^a
<i>L. plantarum</i>	31.34 ^b	12,63 ^b	15,27 ^b	28,87 ^a	101,35 ^b	20,08 ^b	48,92 ^a

Médias seguidas de letras iguais na coluna para cada parâmetro de cor diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na avaliação dos parâmetros de cor objetiva durante a vida de prateleira, constatou-se que o período de armazenamento apresentou influência significativa ($p < 0,05$) apenas sobre o parâmetro L^* dos tratamentos, controle e contendo *L. acidophilus*, observando-se um decréscimo na luminosidade das amostras (Figura 12), ou seja, ao longo do tempo houve escurecimento das fatias de goiaba destes tratamentos. Já as goiabas adicionadas de *L. plantarum* não sofreram influência significativa ($p > 0,05$) do período de armazenamento apresentando uma luminosidade média de 31,44.

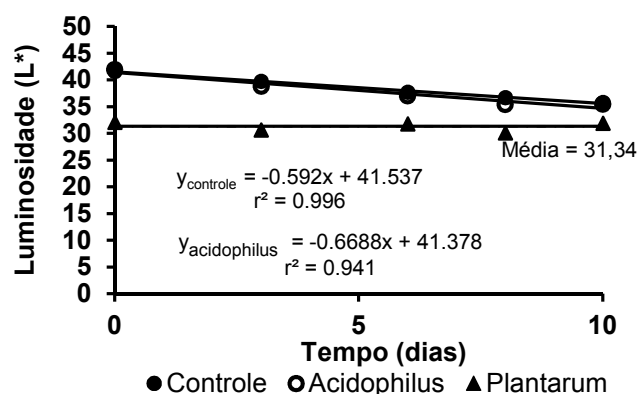


Figura 12- Variação do parâmetro de cor Luminosidade (L*) de goiaba minimamente processada dos tratamentos controle e adicionados de *L. acidophilus* e de *L. plantarum* ao longo do período de armazenamento.

5.6.2. Determinação de sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável, perda de massa, carotenoides e vitamina C

Verificou-se que a goiaba minimamente processada do tratamento controle e adicionadas de *L. acidophilus* e *L. plantarum* não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável, perda de massa, carotenoides e vitamina C. Por outro lado, foi observado diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras com relação a firmeza (Tabela 7).

Tabela 7 - Valores médios das características físicas e químicas (sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez total titulável (ATT), perda de massa, firmeza, carotenoides e vitamina C) das goiabas minimamente processadas submetidas a impregnação a vácuo em diferentes tratamentos

Tratamentos	SST (°Brix)	pH	ATT (% m/m)	Perda de massa (%)	Firmeza (N)	Vitamina C (mg/100g)	Carotenoides (µg/g)
Controle	10,31 ^a	3,83 ^a	12,45 ^a	22,20 ^a	28,77 ^b	28,89 ^a	33,38 ^a
<i>L. acidophilus</i>	9,30 ^a	3,92 ^a	13,06 ^a	21,92 ^a	31,60 ^b	22,56 ^a	32,07 ^a
<i>L. plantarum</i>	9,30 ^a	3,98 ^a	8,31 ^a	20,77 ^a	40,42 ^a	29,34 ^a	28,46 ^a

Médias (n=15) seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Martins (2012) também não verificou alteração desta característica em saladas de frutas minimamente processada inoculadas com diferentes culturas probióticas (*L. rhamnosus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus*) armazenadas a 8 °C por 6 dias. Resultados semelhantes foram encontrados por Rößle et al. (2010b) trabalhando com maçãs minimamente processadas adicionadas de *L. rhamnosus* GG e mantidas a 2 e 4 °C por 14 dias. Melo; Vilas-Boas; Justo (2009) constataram que não houve variação significativa das características físico-químicas de banana maçã minimamente processada logo após o processamento armazenadas a 5 °C.

Nas goiabas minimamente processadas dos diferentes tratamentos estudados foi encontrado um teor médio de 26,07 mg/100g de vitamina C. Segundo Beaulieu (2011), o conteúdo de vitamina C geralmente reduz após o processamento e tende a diminuir com o armazenamento, devido aos danos mecânicos causados pelo processamento mínimo nos tecidos vegetais.

Foi verificado um teor médio de 31,30 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carotenoides nas goiabas minimamente processadas dos três tratamentos ao longo do período de armazenamento. De acordo com Rodríguez-Amaya; Kimura; Amaya-Farfan (2008), as goiabas possuem 53 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de licopeno sendo este o principal carotenoide encontrado na fruta e estes se encontram naturalmente protegidos no tecido vegetal e as etapas de descascamento e corte que ocorrem durante o processamento mínimo das frutas acarretam na liberação de enzimas que catalisam a oxidação, bem como aumentam a exposição dos carotenoides ao oxigênio. Portanto, verifica-se uma redução no teor de carotenóides na goiaba minimamente processada.

O tempo de armazenamento influenciou significativamente ($p < 0,05$) o pH e a acidez total titulável das goiabas minimamente processadas (Figuras 13). O aumento da acidez titulável e a redução do pH durante o armazenamento, pode ocorrer devido ao baixo metabolismo respiratório, que gera o acúmulo de ácidos nos vacúolos à medida que os teores de sólidos solúveis aumentam (ALVES et al., 2010a).

Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2013), que verificaram aumento na acidez total titulável e redução no pH de manga

'Tommy Atkins' minimamente processada durante 6 dias de armazenamento em diferentes temperaturas (3 °C, 6 °C e 9 °C).

Normalmente, os ácidos orgânicos tendem a diminuir no decorrer do armazenamento, à medida que são utilizados durante a respiração ou convertidos em açúcares. Contudo, podem aumentar atingindo altos níveis no estágio pleno de amadurecimento (DAMIANI et al., 2008) assemelhando-se ao comportamento da acidez das goiabas minimamente processadas pesquisadas neste estudo.

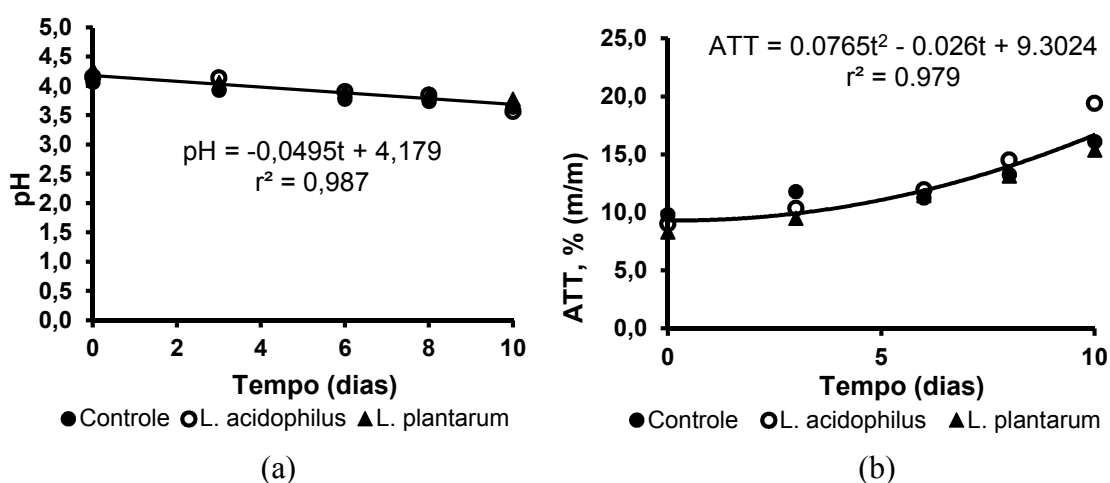


Figura 13 - Variação do pH (a) e da acidez total titulável (b) de goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo em diferentes tratamentos (controle e adicionadas de *L. acidophilus* ou *L. plantarum*) por 10 dias a 7 °C.

As goiabas minimamente processadas também sofreram influência ($p < 0,05$) do período de armazenamento para a característica perda de massa (Figuras 14), ocorrendo um aumento da perda de massa no decorrer do período de armazenamento.

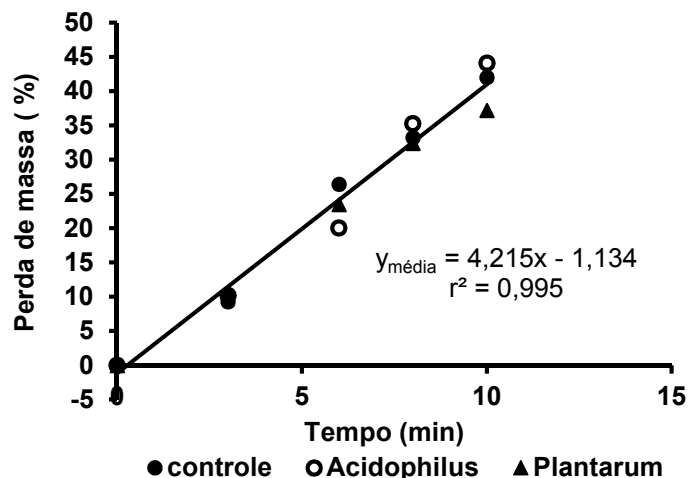


Figura 14 - Variação da perda de massa (%) de goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo em diferentes tratamentos (controle e adicionadas de *L. acidophilus* ou de *L. plantarum*) ao longo do período de armazenamento.

Pizato et al. (2013) verificaram perda de massa significativa em maçã minimamente processada durante 15 dias de armazenamento a 4 °C. Freitas (2012) também constatou perda de massa em kiwi minimamente processado ao longo de 5 dias de armazenamento a 8 °C. A perda de massa de mangas minimamente processadas aumentaram gradualmente ao longo do armazenamento (ALVES et al., 2010a). Segundo Chitarra e Chitarra (2005), frutas e hortaliças, mesmo quando mantidas em condições ideais, podem apresentar perda de massa durante o armazenamento, em razão do efeito combinado da respiração e da transpiração.

As goiabas minimamente processadas, tratamento controle e adicionadas de culturas probióticas, apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) na sua firmeza ao longo do período de armazenamento (Figura 15). Essa redução na firmeza das frutas é esperada, uma vez que os tecidos vegetais lesionados apresentam aumento da produção de etileno, o qual acelera a deterioração e a senescência, promovendo modificações na firmeza, além dos danos sofridos nos tecidos promoverem à liberação de água e exsudado. Durante o armazenamento continua ocorrendo à atividade de enzimas hidrolíticas, principalmente a pectinametilesterase (PME) e

poligalacturonase (PG), que promovem intensa solubilização dos constituintes da parede celular do vegetal (OLIVEIRA; COSTA; MAIA, 2006).

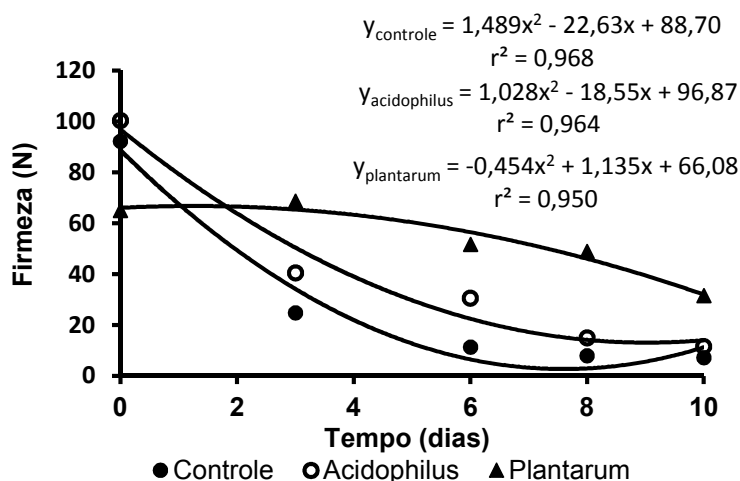


Figura 15 - Variação da firmeza (N) de goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo dos diferentes tratamentos (controle e adicionada de *L. acidophilus* ou de *L. plantarum*) por 10 dias a 7 °C.

A perda da firmeza durante o tempo de armazenamento também pode ser observada na Figura 8, onde a microscopia eletrônica de varredura mostrou a desestruturação da parede das células. Resultados semelhantes foram encontrados por Abreu et al. (2012) que relacionaram a perda de firmeza das frutas com a desestruturação da parede celular.

Souza et al. (2009) também constataram a perda da firmeza em goiabas 'Kumagai' e 'Pedro Sato' minimamente processadas ao longo do período de armazenamento, e obtiveram valores iniciais da firmeza do mesocarpo de aproximadamente 40 N, e os valores finais, em torno de 10 N, em ambas as variedades.

Martins (2012) também verificou perda na firmeza de salada de frutas minimamente processada ao longo do período de armazenamento de 5 dias a 8 °C.

5.7. Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos e coliformes a 30 °C e a 45 °C

A qualidade e a segurança dos produtos minimamente processados dependem da adoção das boas práticas agrícolas e das boas práticas de fabricação durante todas as etapas de processamento, sobretudo das condições higiênicas dos manipuladores e da temperatura de estocagem (MARTINS, 2012).

Em todas as amostras estudadas foram encontradas contagens de coliformes a 35 °C e a 45 °C inferiores a 3,0 NMP·g⁻¹, valor muito inferior ao limite máximo estabelecido pela legislação vigente, a RDC nº 12 (Brasil, 2001), que indica contagens de 5 x 10² NMP·g⁻¹ destes micro-organismos para o grupo de alimentos designados como "frutas frescas, in natura, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto", no qual a frutas minimamente processadas se enquadram. Resultados semelhantes foram encontrados por Martins (2012), trabalhando com salada de frutas minimamente processada, Oliveira; Costa; Maia (2006), estudando abacaxi 'Pérola' minimamente processado e Antonioli et al. (2005), ao avaliarem as características de abacaxi minimamente processado.

Na Tabela 8, está apresentada a contagem microbiológica das goiabas minimamente processadas do tratamento controle e adicionadas de culturas probióticas em relação aos micro-organismos deterioradores, aeróbios mesófilos e psicrotróficos. Verificou-se que as goiabas minimamente processadas adicionadas de *L. acidophilus* e *L. plantarum* apresentaram contagem de micro-organismos mesófilos e psicrotróficos menores ($p < 0,05$) que o tratamento controle.

Tabela 8 - Valores médios da contagem de mesófilos e psicotróficos na estocagem de goiaba probiótica submetida a impregnação a vácuo

Tratamento	Mesófilos, UFC g ⁻¹	Psicotróficos, UFC g ⁻¹
Controle	7,90 ^a	7,11 ^a
<i>L. acidophilus</i>	5,10 ^b	5,11 ^b
<i>L. plantarum</i>	4,95 ^b	4,90 ^b

Médias (n=9) seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Ao longo do tempo, constatou-se aumento dos micro-organismos aeróbios mesófilos e psicotróficos em todos os tratamentos. Entretanto, este aumento ocorreu de forma mais acentuada ($p < 0,05$) nas goiabas minimamente processadas do tratamento controle. Assim, as goiabas contendo as culturas probióticas apresentaram contagens de micro-organismos mesófilos e psicotróficos inferiores em relação às goiabas do tratamento controle após 10 dias de armazenamento a 7 °C (Figura 16).

Resultados semelhantes foram encontrados por Martins (2012) trabalhando com salada de frutas minimamente processadas e por Vescovo et al. (1996) trabalhando com saladas mistas minimamente processada. De acordo com Moretti (2007), as bactérias do ácido lático apresentam a capacidade de reduzir significativamente o número de bactérias mesofílicas durante o armazenamento sob refrigeração, além de produzir substâncias antimicrobianas. Essa redução do número de micro-organismos deterioradores do tratamento com culturas probióticas em relação ao tratamento controle se deve a biopreservação, uma vez que estas culturas probióticas produzem ácidos que promovem a redução do pH do meio, criando condições desfavoráveis ao crescimento de micro-organismos deterioradores, além de produzirem peptídeos antimicrobianos que podem inibir ou inativar o desenvolvimento de bactérias indesejáveis em alimentos (MARTINS, 2012).

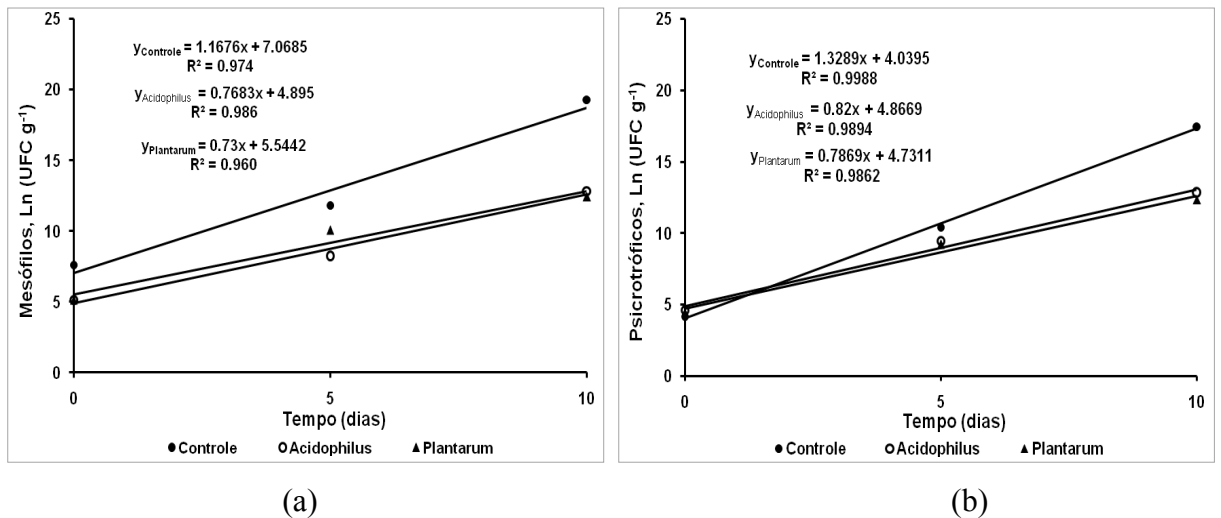


Figura 16 - Variação da contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos (a) e psicrotrofos (b) de goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo em diferente tratamentos (controle, adicionada de *L. acidophilus* ou adicionada de *L. plantarum*) ao longo do período de armazenamento.

5.8. Análise Sensorial

Os resultados de aceitabilidade sensorial constataram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os atributos impressão global, firmeza e sabor. Já o atributo cor influenciou significativamente ($p < 0,05$) a aceitação sensorial dos diferentes tratamentos, onde as amostras controle e *L. acidophilus* e as amostra controle e *L. plantarum* não diferiram entre si ($p > 0,05$). Os dados obtidos na determinação sensorial da cor podem ser correlacionados com os dados obtidos na determinação objetiva da cor onde foi verificada a diferença significativa do tratamento adicionado de *L. plantarum* para os demais tratamentos.

As goiabas minimamente processadas tratamento controle e adicionadas de culturas probióticas apresentaram notas acima de 6 pontos o que indica na escala hedônica de nove pontos 'gostei ligeiramente' (Tabela 9).

Tabela 9 – Valores médios das notas para os atributos sensoriais de goiaba minimamente processada tratamento controle e probiótica submetida a impregnação a vácuo

Tratamentos	Impressão global	Cor	Textura	Sabor
Controle	6,98 ^a	6,46 ^{ab}	6,48 ^a	7,12 ^a
<i>L. acidophilus</i>	7,02 ^a	7,00 ^a	6,92 ^a	6,96 ^a
<i>L. plantarum</i>	7,04 ^a	6,16 ^b	6,68 ^a	7,02 ^a

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

Portanto, verificou-se que a adição de culturas probióticas em goiabas minimamente processadas não promoveu alteração na aceitação quando comparado com o tratamento controle. Martins (2012) trabalhando com salada de frutas minimamente processadas adicionadas de culturas probióticas observou que as saladas de frutas de todos os tratamentos testados foram aceitos pelos consumidores. Rößle et al. (2010a) estudando a aceitação de maçãs minimamente processadas adicionadas com cultura probiótica também verificaram que o produto foi aceito pelos julgadores.

6. CONCLUSÕES

A técnica de impregnação a vácuo demonstrou ser eficiente na introdução de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus plantarum* na estrutura vegetal de goiaba.

As goiabas minimamente processadas contendo *L. acidophilus* e *L. plantarum* podem ser consideradas veículos de bactérias probióticas por até 10 dias de armazenamento a 7 °C, uma vez que os resultados de viabilidade encontrados manteve acima de 8,64 Log UFC·g⁻¹, sendo superiores aos encontrados para produtos lácteos disponíveis no mercado.

A goiaba apresentou-se como uma matriz promissora para veicular as culturas probióticas havendo uma excelente adesão e distribuição dos micro-organismos, provavelmente devido à estrutura interna de seus tecidos.

As estirpes probióticas utilizadas neste estudo mostraram ser estáveis durante o armazenamento por 10 dias a 7 °C. Este fato significa que o produto obtido mantém um número de micro-organismos probióticos viáveis durante todo o período de armazenamento e pode ser considerado como alimento funcional. Além disso, esse alimento pode ser consumido por indivíduos vegetarianos, intolerantes a lactose, com alergia as proteínas do leite e que possuem restrição de colesterol na dieta.

O tempo de impregnação afetou a quantidade de micro-organismos aderidos ao tecido vegetal da goiaba. Além disso, a etapa de impregnação a vácuo apresentou influência positiva sobre a cor da goiaba minimamente processada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ABREU, J. R.; SANTOS, C. D.; ABREU, C. M. P.; CASTRO, E. M. Histochemistry and morphoanatomy study on guava fruit during ripening. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 1, p. 179-186, 2012.

AGRIANUAL. **Anuário da Agricultura Brasileira**. Informa Economics| FNP. p. 309 – 312, 2013.

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

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

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

ALI, Z.M.; LAZAN, H. Guava. In: MITRA, S.K. **Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits**. New York: CAB International, 2001. p.146-165.

ALLENDE, A.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GIL, M. I. Minimal processing for healthy traditional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 9, p. 513-519, 2006.

ALVES, J.A.; NASSUR, R. de C.M.R.; PIRES, C.R.F.; ALCÂNTARA, E.M.de; GIANNONI, J.A.; LIMA, L.C. de O. Cinética de degradação de vitamina C em mangas “Palmer” minimamente processadas armazenadas em diferentes temperaturas. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 714-721, 2010a.

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

ALZAMORA, S.M.; SALVATORI, D.; TAPIA, M.S.; LÓPEZ-MALO, A.; WELTI-CHANGES, J.; FITO, P. Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 205–214, 2005.

ALZAMORA, S. M., VIDALES, S.L.; NIETO, A. Structural changes in the minimal processing of fruits: Some effects of blanching and sugar impregnation. **Food Engineering 2000**, p. 117-140, 1997.

ANDRÉS, A.; SALVATORI, D.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. In: Fito, P.; Chiralt, A.; Barat, J.M.; Spiess, W.; Behnsilian, D. (eds). **Osmotic dehydration and vacuum impregnation: food preservation technology series**, Chapter 6. Technomic Publishing, Lancaster, 2001.

ANDRÉS, A.; FITO, P.; CHIRALT, A. **Impregnacion a Vacio em Alimentos Porosos. Aplicacion al Salado de Quesos**. 1995. 187 f. Universidad Politecnica de Valencia, Valencia (Espanha), 1995.

ANTONIOLLI, L. R.; BENEDETTI, B. C.; FILHO, M. S. M. S.; BORGES, M. F. Efeito do hipoclorito de sódio sobre a microbiota de abacaxi 'pérola' minimamente processado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 157-160, 2005.

APEXBRASIL. **Agência Brasileira de Promoção de Exportações e Investimentos**. 2012. Disponível em: <<http://www2.apexbrasil.com.br/atrainvestimentos/noticias/produtores-brasileiros-do-setor-de-frutas-participam-da-fruit-attraction-2012-na-espanha>>. Acessado em: 8 de novembro de 2012.

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

ATARÉS, L.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Effect of solute on osmotic dehydration and rehydration of vacuum impregnated apple cylinders (cv. *Granny Smith*). **Journal of Food Engineering**, v. 89, p. 49–56, 2008.

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

BARRETO, G.P.M.; SILVA, N.; SILVA, E.N.; BOTELHO, L. Quantificação de *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobactérias e bactérias totais em produtos probióticos comercializados no Brasil. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 6, n.1, p. 119-126, 2003.

BEAULIEU, J.C. Factors Affecting Sensory Quality of Fresh-Cut Produce. In: Martín-Belloso, O.; Soliva-Fortuny, R. (Eds.). **Advances in Fresh-Cut Fruits**

and Vegetables Processing. London, New York, CRC Press, 2011. p. 115-143.

BERGER, C.N.; SODHA, S.V.; SHAW, R.K.; GRIFFIN, P.M.; PINK, D.; HAND, P.; FRANKEL, G. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens: Minireview. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 9, p. 2385–2397, 2010.

BERNARDEAU, M.; VERNOUX, J.P.; KENRI-DUBERNET, S.; GUÉGUEN, M. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. **International Journal of Food Microbiology**, v. 126, p. 278-285, 2008.

BERNI-CANANI, R.; CIRILLO, P.; TERRIN, G.; CESARANO, L.; SPAGNUOLO, M.I.; DE VICENIO, A.; ALBANO, F.; PASSARIELLO, A.; DE MARCO, G.; MANGUSO, F.; GUARINO, A. Probiotics for treatment of acute diarrhea in children: randomized clinical trail of five different preparations. **BMJ**, p. 335–340. 2007.

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

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

BETORET, N.; MARTINEZ-MONZO, J.; FITO, P.J.; FITO, P. Calcium and Iron Distribution in Fortified Vacuum-impregnated Fruits Determined by Electron Dispersion X-ray Microanalysis. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, p. 26-30, 2005.

BETORET, N.; PUENTE, L.; DÍAZ, M.J.; PAGÁN, M.J.; GARCÍA, M.J.; GRAS, M.L. Development of probioticenriched dried fruits by vacuum impregnation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 273–277, 2003.

BLANDA, G.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; CARDINALI, A.; LERCKER, G. Phenolic content and antioxidant capacity versus consumer acceptance of soaked and vacuum impregnated frozen nectarines. **European Food Research and Technology**, v. 227, p. 191–197, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.

BROWN, A.C.; VALIERE, A. Probiotics and medical nutrition therapy. **Nutrition in Clinical Care**, v. 7, p. 56–68, 2004.

BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; VARANDA, D. B. Avaliação da qualidade de polpa de goiaba “Paluma” armazenada a -20°C. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 394-396, 2003.

CAMPOS, F. M. Avaliação das práticas de manipulação de hortaliças visando à preservação de vitamina C e carotenoides. 2006. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Universidade Federal de Viçosa. 2006

CARDOSO, W.S.; PINHEIRO, F.A.; PATELLI, T.; PEREZ, R.; RAMOS, A.M. Determinação da concentração de sulfito para a manutenção da qualidade da cor em maçã desidratada. **Revista Analytica**, n.29, 2007.

CHINPRAHAST, N.; SIRIPATRAWAN, U.; LEERAHAWONG, A.; TRAIANANWUTTİKUL, K. Effects of blanching and vacuum impregnation on physicochemical and sensory properties of indian gooseberry (*Phyllanthus emblica* L.). **Journal of Food Processing and Preservation**, DOI: 10.1111/j.1745-4549.2011.00613.x, 2012.

CHIRALT, A.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; TALENS, P. MORAGA, G. AYALA, A.; FITO, P. Changes in mechanical properties throughout osmotic processes: Cryoprotectant effect. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 129-135, 2001.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: glossário**. Lavras: Editora UFLA, 2006, 256 p.

CLARO, R.M.; MONTEIRO, C.A. Renda familiar, preço de alimentos e aquisição domiciliar de frutas e hortaliças no Brasil. **Revista Saúde Pública**, v. 44, n. 6, p. 1014-1020, 2010.

COLLADO, M.C.; MERILUOTO, J.; SALMINEN, S. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. **European Food Research and Technology**, v. 226, p. 1065–1073, 2008.

COSTA, E. S.; VARAVALLO, M. A. Probióticos e prebióticos: relações com a imunidade e promoção da saúde. **Revista Científica do ITAC**, v. 4, n. 2, 2011.

COSTA, M. G. M.; FONTELES, T. V.; JESUS, A. L. T.; RODRIGUES, S. Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: process optimization and product stability, *Food Chemistry*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.059>, 2013.

COUSIN, M. A.; JAY, J. M.; VASAVADA, P. C. Psychrotrophic microorganisms. DOWNES, F.P; ITO, K. (Ed.). In: **Compendium of methods for the**

microbiological examination of foods. 4.ed. Washington: American Public Health Association – APHA, p. 159-166, 2001.

CRUVINEL, R. S. R.; PRADO, M. E. T.; RESENDE, J. V.; CIRILLO, M. A. Preservação de abacaxis congelados por impregnação a vácuo de pectina e propionato de calico. *Revista de Ciências Agrônômicas*, v. 40, n. 4, p. 539-548, 2009.

DA CRUZ, W.F.; CHAVES, K. F.; MARTINS, E. M. F.; MARTINS, M. L. Alface minimamente processada enriquecida com *Lactobacillus paracasei*. In: III Simpósio de Ciência, Inovação e Tecnologia, 2010, Rio Pomba. III Simpósio de Ciência, Inovação e Tecnologia, 2010.

DENIPOTE, F. G.; TRINDADE, E. B. S. M.; BURINI, R. C. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon: Revisão. **Arquivo de Gastroenterologia**, v. 47, n. 1, 2010.

DAMIANI, C.; VILAS-BOAS, E.V.B.; PINTO, D.M.; RODRIGUES, L.J. Influência de diferentes temperaturas na manutenção da qualidade de pequi minimamente processado. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 1, p. 203-212, 2008.

DURIGAN, J.F.; MATTIUZ, B.H.; MORGADO, C.M.A. Pós-colheita e processamento mínimo de goiabas. In: NATALE, W.; ROZANE, D.E.; SOUZA, H.A. de; AMORIM, A.A. (Org.). **Cultura da goiaba: do plantio à comercialização**. Jaboticabal: FUNEP, v. 2, p.429-470, 2009.

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

FAO/WHO, 2002. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. **Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization**. Working Group Report.

FELIS, G.E.; DELLAGLIO, F. Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v. 8, p. 44-61, 2007.

FITO, P.; CHIRALT, A.; BETORET, N.; GRAS, M.; CHÁFER, M.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; ANDRÉS, A.; VIDAL, D. Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 175–183, 2001.

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

FITO, P. Modelling of vacuum osmotic dehydration of foods. **Journal of Food Engineering**, v. 23, p. 313–328, 1994.

FITO, P.; PASTOR, R. Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. **Journal Food Engineering**, v. 21, p. 513–519, 1994.

FREITAS, J. P. **Tratamento com atmosfera modificada em kiwis (*Actinidea deliciosa*) minimamente processados**. 2012. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2012

GAO, L.; SUN, J.; ZHANG, M.; MUJUMDAR, A. S.; AN, J. Effects of pre-drying and vacuum impregnation with nanocalcium carbonate solution on strawberry, carrot, corn and blueberry. In: **European Drying Conference – EuroDrying**, 2011, Espanha. European Drying Conference, 2011.

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

GOLDIN, B.R. Health benefits of probiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 80, p. 203-207, 1998.

GÓMEZ-LÓPEZ, V.M.; RAJKOVIC, A.; RAGAERT, P.; SMIGIC, N.; DEVLIEGHERE, F. Review: Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 17-26, 2009.

GONGATTI NETTO, A.; GARCIA, A.E.; ARDITO, E.F.G. **Goiaba para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, 1996. 35 p.

GRAS, M.; VIDAL-BROTONS, D.; BETORET, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. The response of some vegetables to vacuum impregnation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 3, n. 3, p. 263–269, 2002.

GUEIMONDE, M.; SALMINEN, S. New methods for selecting and evaluating probiotics. **Digestive and Liver Disease**, v. 38, Suppl. 2, p. 242–247, 2006.

GUERZONI, M.E.; GIANOTTI, A.; CORBO, M.R.; SINIGAGLIA, M. Shelf-life modeling for fresh-cut vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 9, p. 195–207, 1996.

GUILLEMIN, A.; DEGRAEVE, P.; NĚL, C.; SAUREL, R. Influence of impregnation solution viscosity and osmolarity on solute uptake during vacuum impregnation of apple cubes (var. Granny Smith). **Journal of Food Engineering**, v. 86, p. 475–483, 2008.

HAMMES, W.P.; HERTEL, C. The genera *Lactobacillus* and *Canobacterium*. In: DWORKIN, M. et al. **The Prokaryotes**. New York: Springer. 3 ed., v. 1, p. 320-403, 2006.

HEENAN, C.N.; ADAMS, M.C.; HOSKEN, R.W.; FLEET, G.H. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, p. 461-466, 2004.

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

IFPA. **Internacional freshcut produce association**. 2007. Disponível em: <<http://www.fresh-cuts.org>>. Acesso em: 15 de julho de 2012.

JACOMINO, A.P. **Conservação de goiabas “Kumagai” em diferentes temperaturas e materiais de embalagem**. 1999. 90 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. 1999.

KANDLLER, O.; WEISS, N. Genus *Lactobacillus*. In: SNEATH, P.H.A.; MAIR, N.S.; SHARPE, M.E.; HOLT, J.G. (Eds.). **Bergey's Manual of Systematics Bacteriology**, v. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, M.D., USA, p. 1209-1234, 1986.

KENNEDY, J.; WALL, P. 'Food safety challenges'. In: STORRS, M.; DEVOLUY, M.C.; CRUVEILLER, P. (Eds.). **Food safety handbook: Microbiological challenges**, BioMérieux Education, France, p. 8-19, 2007.

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

KONISHI, Y.; TAKEZOE, R.; MURASE, J. Energy dispersive X-ray microanalysis of element distribution in amaranth seed. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 62, n. 11, p. 2288–2290, 1998.

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

KRASAEKOOPT, W.; SUTHANWONG, B. Vacuum Impregnation of Probiotics in Fruit Pieces and Their Survival During Refrigerated Storage. **Natural Science**, v. 42, p. 723 – 731, 2008.

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

LIMA, D. C. N.; MARTINS, E. M. F.; MARTINS, M. L.; CARVALHO, C. M. Avaliação da viabilidade de *Lactobacillus paracasei* em cenoura minimamente processada cultivada em sistema agroecológico. In: **II Simpósio de Ciência, Inovação e Tecnologia**, 2009, Rio Pomba. II Simpósio de Ciência, Inovação e Tecnologia, 2009.

LUCKOW, T.; DELAHUNTY, C. Which juice is healthier? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. **Food Quality and Preference**, v. 15, p. 751–759, 2004.

LUENGO, R. F. A.; LANA, M. M. Processamento mínimo de hortaliças. In: EMBRAPA HORTALIÇAS. **Comunicado Técnico**, n. 2, Brasília, 1997.

MANZONI, M. S. J.; CAVALLINI, D. C. U.; ROSSI, E. A. Efeitos do consumo de probióticos nos lipídeos sanguíneos. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 351-360, 2008.

MARÍN, Z. T. A.; CORTÉS, M. R.; MONTOYA, O. I. C. Uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo Colombia, mínimamente processada com a cepa nativa *Lactobacillus plantarum* LPBM10 mediante la técnica de impregnación a vacío. **Rev Chil Nutr**, v. 37, n. 4, 2010.

MARTELO, C. Y.; CORTÉS, R. M.; RESTREPO, M. D. Dinámica de impregnación al vacío en apio (*Apium graveolens* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.). **Revista MVZ Córdoba**, v. 16, n. 2, p. 2584-2592, 2011.

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

MARTINS, E. M. F.; RAMOS, A. M.; VANZELA, E. S. L.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, C. L. DE O.; MARTINS, J. M. Products of Vegetable Origin: A New Alternative for the Consumption of Probiotic Bacteria. **Food Research International**. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.031>, 2013.

MAZZUZ, C.F. Calidad de frutos citricos: manual para su gestion desde la recoleccion hasta la expedicion. Barcelona: Ediciones de Horticultura, S.L., 1996. 317p

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

MELO, A.A.M.; VILAS-BOAS, E.V. de B.; JUSTO, C.F. Uso de aditivos químicos para a conservação pós-colheita de banana „maçã“ minimamente

processada. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 228-236, jan./fev., 2009.

MINIM, V.P.R. **Análise Sensorial: Estudos com consumidores**. 2ª ed. Viçosa, Editora UFV. 2006, 225p.

MORENO, J.; SIMPSON, R.; PIZARRO, N.; PARADA, K.; PINILLA, N.; REYES, J. E.; ALMONACID, S. Effect of ohmic heating and vacuum impregnation on the quality and microbial stability of osmotically dehydrated strawberries (cv. Camarosa). **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 310–316, 2012.

MORETTI, C.L.; MACHADO, C.M.M. Aproveitamento de resíduos sólidos do processamento mínimo de frutas e hortaliças. In: IV Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças e I Simpósio Ibero-Americano de Vegetais Frescos e Cortados. **Anais...** São Pedro (SP), 2006.

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

MUJICA-PAZ, H.; VALDÉZ-FRAGOSO, A.; LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E.; WELTI-CHANES, J. Impregnation properties of some fruits at vacuum pressure. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 307–314, 2003.

NASCIMENTO, R.J.; ARAÚJO, C.R.; MELO, E.A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*Psidium guajava* L.). **Revista Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 2, p. 209-216, 2010.

NEVES, L.C. **Manual Pós-Colheita da Fruticultura Brasileira**, Londrina: EDUEL, 1 ed., 494 p., 2009.

NIETO, A.; SALVATORI, D.; CASTRO, M.A.; ALZAMORA, S.M. Air drying behavior of apples as affected by blanching and glucose impregnation. **Journal of Food Engineering**, v. 36, n. 1, p. 63-79, 1998.

OCCHINO, E.; HERNANDO, I.; LLORCA, E.; NERI, L.; PITTIA, P. Effect of vacuum impregnation treatments to improve quality and texture of zucchini (*Cucurbita pepo*, L). **Procedia Food Science**, v. 1, p. 829-835, 2011.

OLIVEIRA, I. P.; OLIVEIRA, L. C.; MOURA, C. S. F. T.; LIMA JÚNIOR, A. F.; ROSA, S. R. A. Cultivo da goiabeira: do manejo da planta ao armazenamento de frutos. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 5, n. 4, 2012.

OLIVEIRA, P. M.; LEITE JUNIOR, B. R. C.; MARTINS, E. M. F.; MARTINS, M. L.; RAMOS, A. M. Características físico químicas de melão minimamente processado inoculado com *Lactobacillus rhamnosus*. In: **II Congresso Brasileiro de Processamento de Frutas e Hortaliças**, 2011, Rio de Janeiro. II Congresso Brasileiro de Processamento de Frutas e Hortaliças, 2011.

OLIVEIRA, A. M. C.; COSTA, J. M. C.; MAIA, G. A. Qualidade higiênico-sanitária de abacaxi “Pérola” minimamente processado. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 19, n. 1, p. 19-24, 2006.

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

ORTIZ, E.; SANCHEZ, D.; RODRIGUEZ, C.; TAPIA, M.; MEDINA, V.; SANCHEZ, C. Incorporacion de *Bifidobacterium* sp. em guajava (*Psidium guajava* L.) mediante impregnacion a vacio. In: **III Congresso Venezuelano de Ciência e Tecnologia de Alimentos e II Congresso Panamericano de Qualidade Sanitaria dos Alimentos**, 2002.

PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; WELTI-CHANES, J.; SWANSON, B. G. Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of Food Science*, v.64, p.42-45, 1999

PANESAR, P.S.; KENNEDY, J.F.; GANDHI, D.N.; BUNKO, K. Bioutilisation of whey for lactic acid production. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1-14, 2007.

PARK, M.S.; MIN, J.K.; GEUN, E.J. Assessment of lipopolysaccharide-binding activity of *Bifidobacterium* and its relationship with cell surface hydrophobicity, autoaggregation, and inhibition of interleukin-8 production. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, p. 1120–1126, 2007.

PEREIRA, A. L. F.; MACIEL, T. C.; RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, v.44, p. 1276–1283, 2011.

PEREZ-CABRERA, L.; CHAFER, M.; CHIRALT, A.; GONZALEZ-MARTINEZ, C. Effectiveness of antibrowning agents applied by vacuum impregnation on minimally processed pear. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 2273-2280, 2011.

PINTO, P. M.; JACOMINO, A. P.; CAVALINII, F. C.; CUNHA JUNIOR, L. C.; INOUEII, K. N. Estádios de maturação de goiabas ‘Kumagai’ e ‘Pedro Sato’ para o processamento Mínimo. **Ciência Rural**, 2009.

PIZATO, S.; CORTEZ-VEJA, W. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; BORGES, C. D. Efeito da aplicação de diferentes revestimentos comestíveis na conservação de maçãs ‘Royal Gala’ minimamente processadas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 253-264, 2013.

PRADO, F.C.; PARADA, J.L.; PANDEY, A.; SOCCOL, C.R. Trends in non-dairy probiotic beverages. **Food Research International**, v. 41, n. 2, p. 111–123, 2008.

PUENTE, L. D.; BETORET, N. V.; CORTÉS, M. R. Evolution of probiotic content and color of apples impregnated with lactic acid bacteria. **Revista de la Facultad de Química Farmacéutica**, v. 16, n. 3, p. 297-303, 2009.

RAFTER, J. Probiotics and colon cancer. **Best Practice and Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, n. 5, p. 849–859, 2003.

REIS, K.C.; AZEVEDO, L.F.; SIQUEIRA, H.H.; FERRUA, F.Q. Avaliação físico-química de goiabas desidratadas osmoticamente em diferentes soluções. **Ciências Agrotécnicas**, v. 31, n. 3, p. 781-785, 2007.

RENO, M. J.; PRADO, M. E. T.; RESENDE, J. V. Microstructural changes of frozen strawberries submitted to pre-treatments with additives and vacuum impregnation. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 247-256, 2011.

RENO, M. J.; RESENDE, J. V.; PRADO, M. E. T. Avaliação do processo de impregnação a vácuo em melão, utilizando diferentes substâncias. **Revista Ciências Agrotécnicas de Lavras**, v. 34, n. 5, p. 1270-1278, 2010.

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

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

RIVERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARRO, Y. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, v. 27, p. 1–11, 2010.

RYDLO, T.; MILTZ, J.; MOR, A. Eukaryotic antimicrobial peptides: promises and premises in food safety. **Journal of Food Science**, v. 71, p. 125-135, 2006.

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

RÖßLE, C.; BRUNTON, N.; GORMLEY, R.T.; ROSS, P.R.; BUTLER, F. Development of potentially symbiotic fresh-cut apple slices. **Journal of Functional Foods**, v.2, p. 245-254, 2010b.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. **A Guide to Carotenoids Analysis in Food**. Washington: International Life Sciences Institute Press, 2001. 64p.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. Fontes brasileiras de carotenoides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. 2 ed. Brasília: MMA/SBF, 2008. 100 p.

RODRÍGUEZ, M. I. **Estudio de la penetración de microorganismos en frutas mediante el modelo Hidrodinámico (HDM)**. Thesis. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Central de Venezuela. (1998).

ROSS, R.P.; MILLS, S.; HILL, C.; FITZGERALD, G.F.; STANTON, C. Specific metabolite production by gut microbiota as a basis for probiótico function. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 269-276, 2010.

SAAD, S.M.I.; BEDANI, R.; MAMIZUKA, E.M. Benefícios à Saude dos Probióticos e Prebióticos. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. (Eds.). **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, 2011. Cap. 2, p. 51-84.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, jan./mar., 2006.

SAARELA, M.; VIRKAJARVI, I.; ALAKOMI, H.L.; SIGVART-MATTILA, P. e MATTO, J. Stability and functionality of freeze-dried probiotic Bifidobacterium cells during storage in juice and milk. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 1477-1482, 2006.

SALVATORI, D.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. **Journal of Food Process Engineering**, v. 21, p. 59–73, 1998.

SANTOS, M. S.; FERREIRA, C. L. L. F.; GOMES, P. C.; SANTOS, J. L.; POZZA, P. C.; TESHIMA, E. Influência do fornecimento de probiótico à base de *Lacobacillus* sp. sobre a microbiota intestinal de leitões. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 6, p. 1395-1400, 2003.

SANZANA, S.; GRAS, M. L.; VIDAL-BROTÓNS, D. Functional foods enriched in Aloe vera. Effects of vacuum impregnation and temperature on the respiration rate and the respiratory quotient of some vegetables. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1528 – 1533, 2011.

SCHULZE, B.; PETH, S.; HUBBERMANN, E. M.; SCHWARZ, K. The influence of vacuum impregnation on the fortification of apple parenchyma with quercetin derivatives in combination with pore structures X-ray analysis. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 380–387, 2012.

SCHUENZEL, K. M.; HARRISON, M. A. Microbial antagonists of foodborne pathogens on fresh, minimally processed vegetables. **Journal of Food Products**, v. 65, p. 1909-1915, 2002.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n.11, p. 1262–1277, 2007.

SHAH, N.P. Functional foods from probiotics and prebiotics. **Food Technology**, v. 55, n. 11, p. 46–53, 2001.

SHEEHAN, V.M.; ROSS, P.; FITZGERALD, G.F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. **Innovative Food Science&Emerging**, v. 8, p. 279-284, 2007.

SHORTT, C.; O'BRIEN, J. **Handook of functional dairy products**. Florida: CRC Press, 2004. 293 p.

SILVA, E.O.; PINTO, P.M.; JACOMINO, A.P.; SILVA, L.T. **Processamento Mínimo de Produtos Hortifrutícolas**. Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2011.

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

SOLOMON, E. B.; BRANDL, M. T.; MANDRELL, R. E. Biology of foodborne pathogens on produce. In: Matthew, K.R. (Ed.). **Emerging issues in food safety. Microbiology of Fresh Produce**. Washington, D.C.: ASM Press, 2006. p. 55–48.

SOUZA, L. M.; BARRETO, L. P.; MORAES, T. M.; SILVA, D. F. N.; OLIVEIRA, C. G.S.; SILVA, G. C. Determinação de Vitamina C comparando dois métodos volumétricos em sucos de acerola (*Malpighia emarginata*), goiaba (*Psidium guajava*) e caju (*Anacardium occidentale*). In: X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, Recife, 18 a 22 de outubro, 2010.

SOUZA, S. M. A.; CAVALINI, F. C.; JACOMINO, A. P.; ORTEGA, E. M. M. Conservação de produto minimamente Processado de goiabas 'Kumagai' e 'Pedro Sato'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 847-855, 2009.

STARK, J., MANGA, M. The motion of long bubbles in a network of tubes. **Transport in Porous Media**, v. 40, p. 201–218, 2000.

TARANTO, M.P.; PEREZ-MARTINEZ, G.; FONT DE VALDEZ, G. Effect of bile acid on the cell membrane functionality of lactic acid bacteria for oral administration. **Research in Microbiology**, v. 157, p. 720–725, 2006.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 718p.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. American Public Health Association. 3 ed. Washington, 2001. 1087 p.

VARGAS, M.; CHIRALT, A.; ALBORS, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Effect of chitosan-based edible coatings applied by vacuum impregnation on quality preservation of fresh-cut carrot, **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, p. 263–271, 2009.

VÁSQUEZ, A.; MOLIN, G.; PETTERSSON, B.; ANTONSSON, M. e AHRNE, S. DNA-based classification and sequence heterogeneities in the 16S rRNA genes of *Lactobacillus casei/paracasei* and related species. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 28, p. 430-441, 2005.

VE스코VO, M.; TORRIANI, S.; ORSI, C.; MACCHIAROLO, F.; SCOLARI, G. Application of antimicrobial-producing lactic acid bacteria to control pathogens in ready-to-use vegetables. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 81, p. 113-119, 1996.

VIDAL-BROTÓNS, D.; GRAS, M.L.; ESTERAS, I.; FITO, P. Fresh or blanched vegetables enriched in calcium by vacuum impregnation. In: **International Conference on Food Innovation**, Universidad Politecnica de Valencia, 2010.

XIE, J.; ZHAO, Y. Use of vacuum impregnation to develop high quality and nutritionally fortified frozen strawberries. **Journal of Food Processing Preservation**, v.28, p. 117-132, 2004.

WILLIAMS, N.T. Probiotics. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 67, n. 6, p. 449-458, 2010.

YOON, K.Y.; WOODAMS, E.E.; HANG, Y.D. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 12, p. 1427–1430, 2006.

ZHAO, Y.; XIE, J. Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetables processing. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 434–451, 2004.

ANEXO

Na Tabela 1A está apresentado o resumo da análise de variância da contagem de *Lactobacillus plantarum* (Log.UFC.g⁻¹) em goiaba minimamente processada submetida a diferentes tempos de impregnação a vácuo com o objetivo de se determinar o tempo de vácuo ideal.

Tabela 1A – Resumo da análise de variância para contagem de *Lactobacillus plantarum* (Log.UFC.g⁻¹) em goiaba submetida a diferentes tempos de impregnação a vácuo

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tempo de impregnação	4	3,4468*	< 0,0001
Resíduo	10	0,006980	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Na Tabela 2A está apresentado o resumo da análise de variância do índice de incorporação das diferentes soluções de impregnação a fim de se verificar se as culturas probióticas adicionadas influenciaram a entrada do líquido de impregnação nos poros da fruta.

Tabela 2A – Resumo da análise de variância para índice de incorporação (%) em goiaba impregnada com diferentes soluções

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Meio de impregnação	2	1,5344 ^{n.s}	0,9667
Resíduo	6	45,0578	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n.s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Na Tabela 3A está apresentado o resumo da análise de variância da viabilidade de *L. plantarum* e *L. acidophilus* com o objetivo de verificar se as diferentes culturas apresentaram contagem diferente na fruta e observar o comportamento destes micro-organismos adicionados na goiaba durante a vida de prateleira da mesma.

Tabela 3A – Resumo da análise de variância da viabilidade de bactérias probióticas em goiaba impregnadas com *L. plantarum* e *L. acidophilus*

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Cultura probiótica (CP)	1	1,2395 ^{n-s}	0,1004
Erro (a)	4	0,2737	
Tempo de armazenamento (TA)	5	0,0263 ^{n-s}	0,6023
CP*TA	5	0,0487 ^{n-s}	0,2774
Erro (b)	20	0,0356	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Nas Tabelas 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 4F e 4G estão apresentados os resumos das análises de variância dos parâmetros de cor (L*, a*, b*, IC, IE, c*, h°) da goiaba tratamento controle avaliadas antes e após a etapa de impregnação a vácuo.

Tabela 4A – Resumo da análise de variância do efeito da impregnação a vácuo no parâmetro de cor Luminosidade (L*) de goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Etapa de impregnação	1	366,6017*	0,0003
Resíduo	4	2,8017	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4B – Resumo da análise de variância do efeito da impregnação a vácuo no parâmetro de cor coordenada a* de goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Etapa de impregnação	1	39,5267*	0,0112
Resíduo	4	1,9867	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4C – Resumo da análise de variância do efeito da impregnação a vácuo no parâmetro de cor coordenada b* de goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Etapa de impregnação	1	29,5350 ^{n-s}	0,3797
Resíduo	4	2,6050	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n-s} Não Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4D – Resumo da análise de variância do efeito da impregnação a vácuo no parâmetro de cor índice de cor das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Etapa de impregnação	1	126,1333*	0,0051
Resíduo	4	4,0529	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4E – Resumo da análise de variância do efeito da impregnação a vácuo no parâmetro de cor índice de escurecimento das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Etapa de impregnação	1	6072,5291*	0,0142
Resíduo	4	352,1643	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4F – Resumo da análise de variância do efeito da impregnação a vácuo no parâmetro de cor índice Crhoma (c*) das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Etapa de impregnação	1	35,7704*	0,0460
Resíduo	4	4,3759	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4G – Resumo da análise de variância do efeito da impregnação a vácuo no parâmetro de cor ângulo Hue (h°) das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Etapa de impregnação	1	0,0028*	0,0080
Resíduo	4	0,0001	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Nas Tabelas 5A, 5B, 5C, 5D, 5E, 5F e 5G estão apresentados os resumos das análises de variância dos parâmetros de cor (L*, a*, b*, IC, IE, c*, h°) da goiaba minimamente processada (tratamento controle e adicionadas de culturas probióticas) impregnadas a vácuo avaliadas durante o período de armazenamento.

Tabela 5A – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no parâmetro de cor Luminosidade (L*) das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Meio de impregnação (MI)	2	226,5769*	< .0001
Erro (a)	6	3,2575	
Tempo de armazenamento (TA)	4	29,0948*	0,0025
MI*TA	8	6,1508 ^{n.s}	0,3477
Erro (b)	24	5,1856	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. ^{n.s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5B – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no parâmetro de cor coordenada a* das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Meio de impregnação (MI)	2	638,8160*	< .0001
Erro (a)	6	9,2647	
Tempo de armazenamento (TA)	4	6,3039 ^{n.s}	0,4500
MI*TA	8	5,4532 ^{n.s}	0,5882
Erro (b)	24	6,6024	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. ^{n.s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5C – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no parâmetro de cor coordenada b* das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Meio de impregnação (SI)	2	525,5475*	0,0033
Erro (a)	6	30,7084	
Tempo de armazenamento (TA)	4	19,4152 ^{n-s}	0,5195
MI*TA	8	10,7359 ^{n-s}	0,8727
Erro (b)	24	23,4040	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5D – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no parâmetro de cor do índice de cor das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Meio de impregnação (MI)	2	70,4179 ^{n-s}	0,1632
Erro (a)	6	28,2797	
Tempo de armazenamento (TA)	4	33,2943 ^{n-s}	0,5679
MI*TA	8	11,7674 ^{n-s}	0,9714
Erro (b)	24	44,4085	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5E – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no parâmetro de cor do índice de escurecimento das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Meio de impregnação (MI)	2	10550,5523*	0,0545
Erro (a)	6	2147,0950	
Tempo de armazenamento (TA)	4	2168,5300 ^{n-s}	0,3752
MI*TA	8	845,9496 ^{n-s}	0,8896
Erro (b)	24	1955,14033	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5F – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no parâmetro de cor índice Chroma (c*) das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Meio de impregnação (MI)	2	1118,6317*	0,0005
Erro (a)	6	31,9229	
Tempo de armazenamento (TA)	4	22,7669 ^{n-s}	0,3981
MI*TA	8	10,8823 ^{n-s}	0,8396
Erro (b)	24	21,4925	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5G – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no parâmetro de cor ângulo Hue (h°) das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Meio de impregnação (MI)	2	36,8801 ^{n-s}	0,3238
Erro (a)	6	26,9428	
Tempo de armazenamento (TA)	4	13,6612 ^{n-s}	0,3982
MI*TA	8	16,0768 ^{n-s}	0,9132
Erro (b)	24	40,8430	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Nas Tabelas 6A, 6B, 6C, 6D, 6E, 6F e 6G estão apresentados os resumos das análises de variância das características físicas e químicas (sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável, perda de massa, firmeza, vitamina C, carotenoides) da goiaba minimamente processada (tratamento controle e adicionadas de culturas probióticas) impregnadas a vácuo avaliadas durante o período de armazenamento.

Tabela 6A – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no teor de sólidos solúveis das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos (T)	2	8,5086 ^{n-s}	0,5134
Erro (a)	6	11,3966	
Tempo de armazenamento (TA)	4	8,1484 ^{n-s}	0,1257
T*TA	8	3,7132 ^{n-s}	0,5216
Erro (b)	24	4,0612	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 6B – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no parâmetro pH das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos (T)	2	0,0850 ^{n-s}	0,5567
Erro (a)	6	0,1314	
Tempo de armazenamento (TA)	4	0,3524 *	0,0005
T*TA	8	0,0122 ^{n-s}	0,9733
Erro (b)	24	0,0472	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 6C – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento na acidez total titulável das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos (T)	2	8,3959 ^{n-s}	0,8671
Erro (a)	6	57,4864	
Tempo de armazenamento (TA)	4	84,9687*	< .0001
T*TA	8	3,3137 ^{n-s}	0,6021
Erro (b)	24	4,1005	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 6D – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento na perda de massa das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos (T)	2	8,5919 ^{n-s}	0,9676
Erro (a)	6	259,7096	
Tempo de armazenamento (TA)	4	2538,8487*	< .0001
T*TA	8	16,8765 ^{n-s}	0,9534
Erro (b)	24	53,9039	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 6E – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento na firmeza das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos (T)	2	2252,1174*	< .0001
Erro (a)	6	35,5881	
Tempo de armazenamento (TA)	4	6753,6065*	< .0001
T*TA	8	855,3614*	< .0001
Erro (b)	24	24,1084	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. *Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 6F – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no conteúdo de vitamina C das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos (T)	2	155,3440 ^{n-s}	0,5858
Erro (a)	6	265,3166	
Tempo de armazenamento (TA)	4	26,4106 ^{n-s}	0,9317
T*TA	8	65,9843 ^{n-s}	0,8308
Erro (b)	24	127,2856	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 6G – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento no conteúdo de carotenoides das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos (T)	2	97,1799 ^{n-s}	0,3586
Erro (a)	6	79,4816	
Tempo de armazenamento (TA)	4	82,8819 ^{n-s}	0,4764
T*TA	8	73,4631 ^{n-s}	0,6064
Erro (b)	24	91,5284	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Nas Tabelas 7A e 7B estão apresentados os resumos das análises de variância da contagem dos micro-organismos mesófilos e psicrotróficos em goiaba minimamente processada (tratamento controle e adicionadas de culturas probióticas) impregnadas a vácuo avaliadas durante o período de armazenamento.

Tabela 7A – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento na concentração de micro-organismos mesófilos das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos (T)	2	7,8123 *	0,0083
Erro (a)	6	0,6607	
Tempo de armazenamento (TA)	4	35,6438 *	< .0001
T*TA	8	1,3066 *	0,0063
Erro (b)	24	0,2130	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 7B – Resumo da análise de variância dos tratamentos e do tempo de armazenamento na concentração de micro-organismos psicotróficos das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos (T)	2	1,8472 *	0,0195
Erro (a)	6	0,2268	
Tempo de armazenamento (TA)	4	39,9974 *	< .0001
T*TA	8	1,2860 *	< .0001
Erro (b)	24	0,0739	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Nas Tabelas 8A, 8B, 8C e 8D estão apresentados os resumos das análises de variância da análise sensorial para os atributos impressão global, cor, textura e sabor das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de culturas probióticas) impregnadas a vácuo logo após o processamento.

Tabela 8A – Resumo da análise de variância da análise sensorial para o parâmetro impressão global das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos	2	0,0467 ^{n-s}	0,9741
Resíduo	6	1,7815	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 8B – Resumo da análise de variância da análise sensorial para o parâmetro cor das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos	2	9,0600*	0,0358
Resíduo	6	2,6608	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. * Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 8C – Resumo da análise de variância da análise sensorial para o parâmetro textura das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos	2	2,4267 ^{n-s}	0,3342
Resíduo	6	2,1975	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 8D – Resumo da análise de variância da análise sensorial para o parâmetro sabor das goiabas minimamente processadas (tratamento controle e adicionadas de *L. plantarum* e *L. acidophilus*)

Fonte de variação	g.l	QM	P > F
Tratamentos	2	0,3267 ^{n-s}	0,8692
Resíduo	6	2,3277	

g.l: grau de liberdade; QM: quadrado médio. ^{n-s} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.