

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

VIDA DE PRATELEIRA DE *Agaricus bisporus* EM EMBALAGENS ATIVAS
COM FILMES DE QUITOSANA E CÚRCUMA

Maria Lídia M. de Oliveira Pilger -
Engenheira de Alimentos/FURG
Mestre em Fitotecnia/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Fitotecnia Área de Concentração Sistemas de Produção Vegetal.

Porto Alegre (RS), Brasil

Dezembro de 2021

CIP - Catalogação na Publicação

Pilger, Maria Lídia M. de Oliveira Pilger
VIDA DE PRATELEIRA DE *Agaricus bisporus* EM
EMBALAGENS ATIVAS COM FILMES DE QUITOSANA E CÚRCUMA /
Maria Lídia M. de Oliveira Pilger Pilger. -- 2021.
80 f.
Orientador: João Rennar Bender Bender.

Coorientador: Suse Botelho da Silva Silva.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2021.

1. armazenamento de cogumelos. 2. compostos
bioativos. 3. embalagens recobertas. 4. bactérias
psicrotróficas. I. Bender, João Rennar Bender, orient.
II. Silva, Suse Botelho da Silva, coorient. III.
Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

MARIA LÍDIA MARIANO DE OLIVEIRA PILGER
Engenheira de Alimentos

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em:21/12/2021
Pela Banca Examinadora

Dr. Renar João Bender
Orientador(a)
UFRGS

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

Dra. Suse Botelho da Silva
Coorientador(a)
UNISINOS

Dr. Lauri Lourenço Radünz
UFRGS

Dra. Tâmmila Venzke Klug
UFRGS

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de
Agronomia

Dra. Bethania Brochier
UNISINOS

Aluno: Maria Lídia M. de Oliveira Pilger

VIDA DE PRATELEIRA DE *Agaricus bisporus* EM EMBALAGENS ATIVAS
COM FILMES DE QUITOSANA E CÚRCUMA

Orientador: Prof. Dr. Rennar João Bender -
UFRGS

Coorientadora: Profa. Dra. Suse Botelho da Silva
- Unisinos

Porto Alegre (RS), Brasil

Dezembro de 2021

AGRADECIMENTOS

Bertotto Cogumelos – Glorinha - RS.

Laboratório de Pós-colheita da Faculdade de Agronomia da UFRGS

Laboratório de Virologia Vegetal – Faculdade de Agronomia da UFRGS, em especial ao prof. Dr. Edson Bertolini.

Laboratório de Análise de Propriedades Físicas dos Alimentos – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS em especial a Ana Raisa Paiva e Michele Utpott

Laboratório de Microbiologia dos Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS, ao Prof. Dr. Eduardo Tondo e ao bolsista pós-doutorado Cristian Maurício Barreto Pinilla.

Apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES)

VIDA DE PRATELEIRA DE *Agaricus bisporus* EM EMBALAGENS ATIVAS COM FILMES DE QUITOSANA E CÚRCUMA

Autor: Maria Lídia M. de Oliveira Pilger

Orientador: Prof. Dr. Renar João Bender - UFRGS

Coorientadora: Profa. Dra. Suse Botelho da Silva – Unisinos

RESUMO

A produção e consumo de cogumelos frescos está em expansão no Brasil, apesar de ser um alimento de curto prazo de validade. Manuseio pós-colheita adequado, uso da cadeia do frio e embalagem adequada são essenciais para proteger e preservar os cogumelos frescos por maior tempo possível. A embalagem ativa é uma alternativa para prolongar a vida útil dos cogumelos, preferencialmente utilizando biopolímeros e princípios ativos naturais em sua composição. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do uso de sistemas de embalagens ativas nas características de qualidade do cogumelo-botão (*A. bisporus*) durante a sua vida de prateleira. Filmes de quitosana e quitosana mais cúrcuma foram desenvolvidos para revestir o fundo de bandejas de isopor. Cogumelos frescos embalados nas bandejas foram cobertos com filme esticável de PVC. No tratamento controle os cogumelos também foram armazenados em bandejas sem revestimento interno de biofilme. As embalagens de cogumelos foram armazenadas por 17 dias a $7 \pm 1,5$ °C e retiradas do armazenamento após 0,4,8,12 e 17 dias para avaliação de pH, perda de massa fresca, atividade de água, textura, cor, taxa respiratória, polifenóis totais e contagem em placas de bactérias psicotróficas. Diferenças significativas nas perdas de massa fresca foram determinadas entre os tratamentos e os tempos de armazenamento. A contaminação microbiológica foi menor nos cogumelos embalados em bandejas com tratamento de quitosana e cúrcuma. Uma indicação de aptidão bacteriostática da quitosana complementada pelas propriedades da cúrcuma. Todas as outras variáveis avaliadas não foram influenciadas nem pelos tratamentos nem ao longo dos períodos de armazenamento.

Palavras-chave: armazenamento de cogumelos, compostos bioativos, embalagens recobertas, bactérias psicotróficas.¹

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (80 f.) Dezembro, 2021.

SHELF LIFE OF *Agaricus bisporus* IN ACTIVE PACKAGES WITH CHITOSAN AND TURMERIC FILMS

Author: Maria Lídia M. de Oliveira Pilger

Advisor: Prof. Dr. Rennar João Bender

Co-advisor: Profa. Dra. Suse Botelho da Silva

ABSTRACT

The production and consumption of fresh mushrooms is expanding in Brazil despite being a food item with a brief shelf life. Postharvest handling with care, cold chain continuation and adequate packaging are necessary to protect and preserve mushroom freshness for as long as possible. Active packaging is an alternative to extend the shelf life of mushrooms, preferably using biopolymers and plant active compounds in their composition. This work aimed to evaluate active packaging systems' influence on button mushrooms' quality characteristics (*A. Bisporus*) during their shelf life. Films of chitosan and chitosan plus turmeric were developed to layer the bottom of polystyrene trays. Packed fresh mushrooms in the trays were covered with PVC stretch film. Control mushrooms were also stored in trays without internal film coating. The mushroom packages were stored for 17 days at 7 ± 1.5 °C and retrieved from storage after 0, 4, 8, 12 or 17 days to evaluate for pH, fresh mass loss, water activity, texture, color, respiratory rates, total polyphenols, and psychotropic bacteria plate counts. Significant differences in fresh mass losses were determined in between the treatments and storage times. Microbiological contamination was lower in mushrooms packed with layers of chitosan and turmeric. An indication of the bacteriostatic aptitude of chitosan fortified by properties of turmeric. All other evaluated variables were not influenced by the treatments or over the storage periods.

Keywords: mushroom storage, bioactive compounds, package layering, psychotropic bacteria.²

² Master Dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (80 p.) December, 2021.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Cogumelos	3
2.1.2 Pós-colheita de Cogumelos	4
2.1.3 Cogumelos e problemas pós-colheita	5
2.2 Parâmetros da qualidade em Cogumelos	6
2.2.1 Perda de massa fresca	6
2.2.2 Atividade de água	7
2.2.3 Polifenóis	8
2.2.4 Textura	10
2.2.5 Taxa respiratória	10
2.2.6 pH	11
2.2.7 Aspectos microbiológicos	12
2.2.8 Cor	13
a) Brancura (L*)	14
b) Escurecimento	14
2.3 Embalagens	15
2.3.1 Embalagens ativas	16
2.3.2 Filmes de quitosana	17
2.3.3 Filme de quitosana mais cúrcuma	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 Material	20
3.2 Obtenção dos Filmes	22

	Página
3.2.1 Filmes de quitosana	22
3.2.2 Filmes de quitosana mais cúrcuma	22
3.3 Elaboração de cobertura (<i>casting</i>) em bandejas de poliestireno expandido	23
3.3.1 Detalhamento da metodologia de preparação das bandejas	23
3.4 Condições de armazenagem e preparação das amostras	24
3.5 Análises	25
3.5.1 Perda de massa fresca	25
3.5.2 Determinação do pH	25
3.5.3 Cor da superfície dos cogumelos	25
3.5.3.1 Luminosidade	26
3.5.3.2 Índice de escurecimento (BI)	26
3.5.4 Atividade de água	26
3.5.5 Textura	26
3.6 Análise Microbiológica	27
3.6.1 Preparo da 1 ^a diluição	28
3.6.2 Diluições sucessivas decimais	28
3.6.3 Plaqueamento em superfície	28
3.7 Compostos fenólicos totais (CFT's)	29
3.7.1 Extração dos compostos fenólicos totais	29
3.7.2 Quantificação dos CFT's	30
3.7.3 Preparo da curva padrão	30
3.7.4 Determinação dos compostos fenólicos totais	31
3.8 Taxa respiratória	31
3.9 Análise de dados	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 Perda de massa fresca	33
4.2 Textura	35
4.3 Atividade de água	37
4.4 pH	38
4.5 Avaliações microbiológicas	40

	Página
4.6 Polifenóis totais	43
4.7 Cor	45
4.7.1 Luminosidade (L*)	46
4.7.2 Índice de escurecimento dos cogumelos	48
4.8 Taxa respiratória	50
4.9 Considerações finais sobre armazenamento dos Cogumelos	53
5 CONCLUSÕES	55
6 REFERÊNCIAS	56

RELAÇÃO DE TABELAS

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Tabela 1 Valores obtidos por Anova

Página
33

Tabela 2 Atividade de água dos cogumelos (*A. bisporus*) armazenados por 17 dias a temperatura de $7\pm 1,5$ °C e 85-90 %UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle. Letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

37

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
FIGURA 2.1 - Figura esquemática das principais estruturas e fases dos cogumelos. Morfologia do cogumelo <i>A. bisporus</i> em diferentes estádios de maturidade. (a) cogumelo maduro; (b) cogumelo imaturo com o chapéu fechado; (c) imagem longitudinal do cogumelo imaturo.	4
FIGURA 2.2 – Representação da interação molecular através de ligações de hidrogênio entre molécula de quitosana e cúrcuma	19
FIGURA 3.1.1 - Imagem do interior de uma unidade de produção na propriedade Bertotto localizada em Glorinha, RS. No momento da colheita de cogumelos da espécie <i>Agaricus bisporus</i>	20
FIGURA 3.1.2 - Cogumelos acondicionados em caixas plásticas higienizadas para transferência para unidade de armazenagem refrigerada	21
FIGURA 3.1.3 - Bandejas com cogumelos <i>Agaricus bisporus</i> em embalagens de poliestireno recobertos com filme PVC esticável/ <i>stretch</i>	22
FIGURA 3.2.1- Imagem da solução filmogênica de quitosana com adição de cúrcuma e Tween 80 para aplicação em bandejas para acondicionar cogumelos da espécie <i>Agaricus bisporus</i> .	23
FIGURA 3.3.1 - Bandejas para proceder experimento. a) Imagem à esquerda - bandeja de poliestireno recoberta com filme de quitosana e b) imagem à direita bandeja de poliestireno recoberta com filme de quitosana + cúrcuma. Ambas as bandejas após secagem em estufa a 38 °C	24
FIGURA 3.5 - Imagem do texturômetro modelo TA.XT da Stable Micro Systems obtendo leitura da textura de chapéu de cogumelo <i>Agaricus bisporus</i> .	27
FIGURA 3.6 – Imagem de contagem em placas de colônias psicotróficas	29
FIGURA 3.7: Imagem do banho ultrassônico para sonificação das amostras de extração de compostos fenólicos totais em cogumelos <i>Agaricus bisporus</i> .	30

FIGURA 3.7.1: Imagem curva padrão de ácido gálico

FIGURA 4.1 - Perda de massa fresca (%) de cogumelos (*Agaricus bisporus*) armazenados por até 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ ° C e 85-90 %UR em bandejas de poliestireno com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle. As barras representam os desvios padrão e letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente em ($p < 0,05$) entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento e letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas em ($p < 0,05$).

34

FIGURA 4.2 - Textura de cogumelos (*A. bisporus*) armazenados por 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ ° C e 85-90 %UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle. Barras verticais representam os desvios padrão. As barras representam os desvios padrão e letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente em ($p < 0,05$) entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento.

36

FIGURA 4.4 - Valores de pH dos cogumelos (*A. bisporus*) armazenados por 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ ° C e 85 – 90 %UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle. Barras verticais representam os desvios padrão e letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

39

FIGURA 4.4 Contagem total de psicotróficos de cogumelos *Agaricus bisporus* armazenados por até 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ ° C e 85 – 90 %UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle. As barras representam os desvios padrão e letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente em ($p < 0,05$) entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento e letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas em ($p < 0,05$).

40

FIGURA 4.5 - Polifenóis totais extraídos de cogumelos *Agaricus bisporus* armazenados por até 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ ° C e 85-90 %UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle. Barras verticais representam os desvios padrão e letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

44

FIGURA 4.6 - Parâmetro L^* fornecido pelo aparelho medidor de cor Konica/Minolta em cogumelos *A. bisporus* armazenados por até 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90 %UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle. Barras verticais representam os desvios padrão e letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

48

FIGURA 4.7 - Índice de escurecimento de cogumelos *Agaricus bisporus* armazenados por 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90 %UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle. Barras verticais representam os desvios padrão e letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

49

FIGURA 4.8 - Taxa respiratória (produção de CO_2) de cogumelos *Agaricus bisporus* armazenados por até 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90 %UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle. Barras verticais representam os desvios padrão e letras minúsculas diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

51

1 INTRODUÇÃO

Os cogumelos comestíveis pertencem ao reino *Fungi* e correspondem aos corpos de frutificação de basidiomicetos. Os cogumelos são consumidos em todo o mundo; principalmente como hortaliça fresca, possuindo alto valor nutricional (Blumfield *et al.*, 2020). O cultivo necessita de pouca área, e de investimento em infraestrutura e, sob essas condições são cultivados em todas as estações do ano, principalmente em países subtropicais. Devido a isso, em 2006, a FAO recomendou o cultivo de cogumelos para países emergentes, a fim de atender demandas econômicas, nutricionais e de sustentabilidade (Marshall & Nair; 2009).

Os cogumelos frescos possuem comportamento climatérico (LI *et al.*, 2019), requerendo cadeia logística (manuseio, beneficiamento e armazenamento) eficiente para preservar por maior período de tempo a qualidade dos cogumelos frescos. O Brasil possui uma modesta produção de cogumelos, frente aos demais países do mundo; sendo a produção gerada, principalmente, pela agricultura familiar. O *Agaricus bisporus* representa aproximadamente 66% dos cogumelos produzidos e comercializados *in natura* no Brasil (“Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos”, 2021.).

A necessidade de dispor de embalagens de manuseio fácil, baixo custo, não tóxicas e que preservem o frescor dos cogumelos por maior período de tempo é uma necessidade atual. O uso de filmes ativos, utilizando biopolímeros, incorporando compostos ativos ou não é uma alternativa. A produção de embalagens ativas, elaboradas com compostos ativos de reconhecida ação de preservação em alimentos, é uma alternativa viável para aplicação em cogumelos, junto a outros biopolímeros para constituição de

embalagens ou adicionado a essas na forma de recobrimento interno de bandejas.

A cúrcuma, usada comumente como especiaria gastronômica, é naturalmente rica em polifenóis possuindo poder antioxidante e antibacteriano (Choi *et al.*, 2021). O uso de filmes ativos elaborados com biopolímeros e com compostos ativos, como a curcumina, é uma proposta que tem sido investigada em diferentes aplicações. O biopolímero quitosana tem diversas aplicações industriais, há recentes estudos que apontam para satisfatórias respostas no uso como constituinte de embalagens na forma pura ou aditivada com compostos ativos. Esses sistemas promovem a liberação de compostos gradualmente e com propriedades antimicrobianas que prologam a vida de alimentos frescos com baixo impacto ambiental (Priyadarshi & Rhim, 2020).

Shaefer *et al.* (2020) elaboraram filme à base de quitosana, amido de milho e curcumina; apresentando bom resultado na inibição de *Staphylococcus aureus*, assim como boa adesividade e elasticidade, sugerindo várias aplicações para o biofilme de quitosana com cúrcuma. Um filme de quitosana e curcumina também foi estudado por Liu *et al.* (2016), os filmes obtidos apresentaram boa resistência à tração, bem como, reduziram o caráter hidrofílico da quitosana, mostrando poder antibacteriano. A partir desses resultados, os autores recomendaram o uso desses filmes como embalagem primária para produtos agrícolas frescos.

A falta de alternativa comercial disponível de embalagens que contribuam com o aumento da vida útil dos cogumelos frescos, bem como a preservação de seus nutrientes traz a necessidade de estudos para o desenvolvimento de soluções para este produto. Sugerindo o desenvolvimento de um sistema de embalagem ativa como uma alternativa simples de baixo custo e baixo impacto ambiental para o armazenamento de cogumelos frescos. Tendo essas considerações. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do uso de sistemas de embalagens ativas, constituídas de filme de quitosana e filme de quitosana mais cúrcuma, nas características de qualidade do cogumelo-botão (*A. bisporus*) durante a sua vida de prateleira.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo apresenta uma breve revisão sobre as temáticas discutidas nesse trabalho.

2.1 Cogumelos

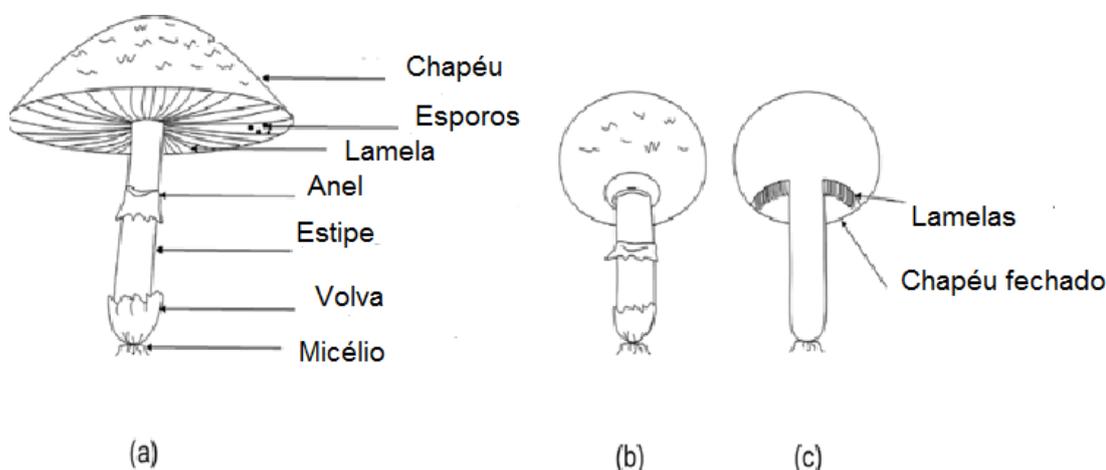
Os cogumelos são comercializados mundialmente para alimentação humana como produtos frescos ou secos (incluindo fungos liofilizados e outros derivados) (Gry *et al.*, 2012). O cogumelo Paris (*Agaricus bisporus*) representa cerca de 30% da produção mundial de cogumelos comerciais (Zhang *et al.*, 2018). Os cogumelos, na forma de dessecados ou liofilizados, e em pequenas partículas também podem ser usados como matrizes para transportar agentes ativos (lipofílicos, preservação, nutracêuticos e outras finalidades) melhorando a qualidade dos alimentos, através da incorporação na elaboração desses. (Choi *et al.*, 2021).

Os cogumelos têm em sua estrutura celular a capacidade de retenção de água, possuindo poros (espaço de ar) em seu corpo, que possuem capacidade de absorver água (Biekman *et al.*, 1996). A estrutura celular é composta de vacúolos contendo solutos solúveis como sais e açúcares; citoplasma e a parede celular; todos separados por membrana celular permeável, porém impermeável a solutos, que promove pressão osmótica dentro do vacúolo, favorecendo a migração de água (Ifuku *et al.*, 2011). A parede celular dos cogumelos é constituída de: quitina (responsável pela rigidez celular e perda de umidade) beta-glucanos e proteínas. A maioria das proteínas está presente na parede celular dos fungos como glicoproteínas, e em sua maioria reticuladas com os polissacarídeos (Paudel *et al.*, 2016). A capacidade de retenção de água no interior celular dos cogumelos é função da quitina e das proteínas, sendo as proteínas responsáveis pelo equilíbrio

osmótico e a quitina responde pela resistência mecânica da parede celular. Essa contribuição, atribuída ao comportamento polieletrólito, é influenciada, por exemplo, pelo pH do meio (Paudel *et al.*, 2016).

2.1.2 Pós-colheita de Cogumelos

Os cogumelos comestíveis são cultivados e colhidos em estágio de desenvolvimento requerido mínimo para sua comercialização, apresentando a qualidade ótima no momento da colheita. Os cogumelos são cultivados, sob o mesmo substrato produzindo corpos de frutificação em intervalos de 7-10 dias, o que é conhecido como *flushes* ou *breaks*; (Burton & Noble, 1993). Cogumelos colhidos em primeiro, segundo, ou até terceiro *flushes*, apresentam decrescente características qualitativas, que são influenciadas pelos períodos pré e pós-colheita. De forma que as condições pré-colheita apontam tendências de manutenção de qualidade durante a vida de prateleira dos cogumelos (Burton & Noble, 1993). Os cogumelos são colhidos por maturidade (Figura 2.1) e não por tamanho, visto que, a maturidade é alcançada quando os chapéus estão bem arredondados e o véu intacto, a estipe deve ter um pequeno comprimento em relação ao chapéu (Chang *et al.*, 2004).



Fonte: Zhang *et al.*, 2018.

FIGURA 2.1- Figura esquemática das principais estruturas e fases dos cogumelos. Morfologia do cogumelo *A. bisporus* em diferentes estádios de maturidade. (a) cogumelo maduro; (b) cogumelo imaturo com o chapéu fechado; (c) imagem longitudinal do cogumelo imaturo.

Os cogumelos imediatamente pós-colheita possuem temperatura próxima de 15–17 °C, podendo esta aumentar durante o armazenamento, devido à respiração e a temperatura de armazenamento. Entretanto, sabe-se que temperaturas elevadas de armazenamento favorecem o aumento da taxa respiratória. Devido a isso, é recomendado temperaturas de refrigeração (2–5 °C), imediatamente após a colheita, para que a taxa de respiração seja reduzida e, assim, desacelerar processos metabólicos que geram as perdas pós-colheita, como exemplo: deterioração microbiológica, perda de umidade e outras (Burton *et al.*, 1987; Zhu *et al.*, 2006).

A manutenção de temperaturas baixas é fundamental para os cogumelos, visto que, a cada 10 ° C incrementa a velocidade de reações deletérias nos cogumelos em 2 a 3 vezes, desencadeando aceleração do processo de senescência (Singh *et al.*, 2018). No armazenamento de cogumelos, assim como outros produtos com elevada atividade de água, como frutos e hortaliças, a umidade relativa do ambiente deve ser elevada (maior que 90%) para minimizar a perda de água e manter a turgescência celular; porém não deve causar a condensação sobre os produtos. Em geral, frutos pequenos perdem água com maior rapidez que os grandes da mesma espécie (Luengo & Calbo, 2001).

2.1.3 Cogumelos e problemas pós-colheita

Os cogumelos sofrem estresse abiótico, após a colheita, devido às condições de cultivo serem diferentes das condições de armazenagem; com elevação da concentração de oxigênio ativo e a atividade enzimática, ocasionando a obstrução de transporte de elétrons no interior celular (Li *et al.*, 2013). A manutenção da qualidade é dependente de alguns fatores, no pós-colheita tais como: a classificação dos cogumelos (tamanho dos chapéus, dano físico, por exemplo), embalagem a ser usada, variabilidade dos estádios dos cogumelos de igual colheita, condições de temperatura e umidade relativa na armazenagem. Esses fatores ocasionam a variabilidade de qualidade dentro de cada lote de produto a comercializar, refletindo em perdas ao varejista e consumidor (Aguirre *et al.*, 2008).

Como referido anteriormente, a umidade relativa, durante o armazenamento deve ser alta (95-98%), sendo essencial para evitar a perda de

umidade e, conseqüentemente, o brilho dos chapéus dos cogumelos. E impedir manuseios bruscos ou danos físicos, durante a colheita e beneficiamento dos cogumelos é primordial, pois são pontos de partida de reações enzimáticas no local ferido, formando pigmentos escuros (melanoidinas) (Adamicki, 2004).

Outro fator fundamental para manutenção da qualidade na logística de cogumelos é o controle da concentração de oxigênio. O armazenamento pós-colheita de cogumelos recebe influência das condições de cultivo, levando a alterações no metabolismo como obstrução de transporte de elétrons, levando a instabilidade e reatividade celular, principalmente derivada de íons de oxigênio e suas formas ionizadas (formas reativas do oxigênio). Isto ocasiona reações de degradação em proteínas, polissacarídeos, inibição da atividade enzimática e danos à estrutura celular (Wang, 2021).

A manutenção da qualidade dos cogumelos, durante o período pós-colheita pode ser mensurada através de parâmetros analíticos, tais como: aparência visual, cor (escurecimento e clareza), atividade enzimática, estágio de maturidade, firmeza, perda de massa fresca e outras análises (Burton, 1989; Aguirre *et al.*, 2008).

2.2 Parâmetros de qualidade em cogumelos

2.2.1 Perda de massa fresca

Segundo Kim *et al.* (2006), a perda de massa em cogumelos frescos é induzida pelo gradiente de temperatura provocado no interior da embalagem em relação ao ambiente externo, decorrentes da respiração de cogumelos: consumo de carbono e formação de CO₂ que gera pressão de vapor. A umidade relativa do ambiente em que os cogumelos estão armazenados deve manter-se alta, dessa forma não há formação de gradiente de umidade associado a baixas temperaturas, reduzindo a transpiração vegetativa, e a conseqüente perda de massa dos cogumelos frescos (Mahajan *et al.*, 2008).

A perda de massa também é associada à perda de água da embalagem para a atmosfera circundante e ao processo respiratório dos cogumelos, com a formação e liberação de CO₂. Uma das conseqüências da perda de massa

fresca, na qualidade dos cogumelos, durante o período pós-colheita é a aceleração da senescência, com a abertura do chapéu e exposição das lamelas e decréscimo da textura (Jiang *et al.*, 2011).

2.2.2 Atividade de água

Ribeiro & Seravalli (2007) definiram a atividade de água como a razão entre a pressão de vapor da água no alimento e a pressão de vapor da água pura, numa mesma temperatura. Esse parâmetro varia de 0 a 1 e fornece uma indicação da água que está disponível nos alimentos e que não está ligada a outros compostos, sendo um indicador de comportamento da estabilidade dos alimentos e a segurança microbiológica (Ribeiro & Seravalli, 2007). Os cogumelos possuem elevada atividade de água (a_w), possuindo umidade superior a 90% devido ao alto teor de água na sua composição, que afeta a textura e o tempo de vida útil. Por essa razão a quantidade de matéria seca dos cogumelos é muito baixa, variando, geralmente, entre 80-140 g.kg⁻¹ (Kalac, 2013).

A umidade relativa do ambiente é importante durante o armazenamento dos cogumelos, pois, altos níveis de água favorecem ao crescimento microbiológico e atividade enzimática; baixos níveis de água leva a perda de massa fresca, afetando textura (Borchert *et al.*, 2014). Segundo Mattila *et al.* (2001) o conteúdo de água no corpo dos cogumelos pode ser influenciado por diferentes causas, tais como gênero e espécie do *A. bisporus*, fatores ambientais como temperatura e umidade relativa (UR) durante o cultivo e armazenamento, bem como, pela quantidade relativa de água metabolizada durante o armazenamento.

Aguirre *et al.* (2008) estudaram a relação da umidade relativa e temperatura com a capacidade de retenção de água pelos tecidos dos cogumelos e indicaram as condições de armazenagem mais favoráveis, como umidade relativa próxima à saturação e temperatura entre 5-6 °C e temperatura próxima a 3 °C com umidade relativa de 95% preservam melhor a cor e textura nos chapéus por maior período de tempo.

A atividade de água em cogumelos frescos, de modo geral, não apresenta variabilidade expressiva, durante o *shelf life*, devido os cogumelos reterem água em sua estrutura celular ao serem armazenados em ambientes

refrigerados com alta umidade relativa. Essas condições não provocam gradiente de migração de água significativo para o meio externo, conforme demonstrado por Mahajan *et al.* (2008).

2.2.3 Polifenóis

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários sintetizados pelos cogumelos, tanto durante o desenvolvimento normal como uma resposta a situação adversa de estresse. Compostos fenólicos são compostos hidroxilados aromáticos, possuindo um ou mais anéis aromáticos com uma ou mais grupos hidroxilas. Integrando várias subclasses, tais como: flavonoides, ácidos fenólicos, lignina, taninos e outros; apresentando distintas estruturas químicas (D'archivio *et al.*, 2010; Palacios *et al.*, 2011). Esses compostos agem como antioxidantes, pela capacidade de doar hidrogênio ou elétrons, e pela presença de radicais estáveis, que impedem o processo oxidativo de várias substâncias presentes em alimentos (Silva *et al.*, 2010).

Os polifenóis são potencialmente benéficos para saúde, sendo estes substratos naturais de enzimas como peroxidases ou polifenoloxidasas, presentes em quantidade expressiva em cogumelos. A presença e quantidade de compostos fenólicos em vegetais, em geral, são resultado de: condições de cultivo, cultivar, processo de amadurecimento, bem como condições de processamento e condições logísticas (Naczki & Shahidi, 2006). Em cogumelos, especificamente os danos causados por presença bacteriana, hematomas e outras lesões nos tecidos, ou manuseio inadequado nos corpos de frutificação ocasiona o fermento dos tecidos desencadeando processos enzimáticos, onde há o consumo dos compostos fenólicos, oxidando esses e produzindo pontos de cor marrom ou polímeros semelhantes. Esse processo reduz a defesa natural dos cogumelos pelo consumo desses fenóis totais (Ramirez-Anguiano *et al.*, 2007). Os compostos fenólicos totais em cogumelos localizam-se em maior quantidade no chapéu em relação a estipe, sendo mais concentrado na pele de recobrimento desses que na parte interna do chapéu (Burton; Noble, 1993).

A solubilidade dos fenólicos é função de sua natureza química podendo conter quantidades variáveis de ácidos fenólicos, fenilpropanóides, antocianinas e outros, podendo esses compostos interagir com carboidratos e

proteínas, por exemplo. A solubilidade dos fenólicos também é afetada pela polaridade dos solventes usados, dificultando o processo de extração ideal desses compostos. Normalmente, são usados solventes como metanol, etanol, acetona e outros misturados em soluções com diferentes proporções de água (Antolovich *et al.*, 2000). A eficiência de extração dos polifenóis é influenciada pelo tempo de extração e fatores relacionados, podendo variar de um minuto a 24 horas (Price & Butler, 1977).

As metodologias de quantificação de polifenóis por espectrofotometria UV/VIS são amplamente usadas, devido ao baixo custo e simplicidade de operação. Geralmente, as metodologias são aplicáveis a várias matrizes, normalmente são feitas através de curva padrão, comumente utilizando ácido gálico, expressando os resultados em mg de ácido gálico em 100 g de massa da amostra (Silva *et al.*, 2010). A quantificação de fenólicos totais por espectrofotometria UV/VIS fornece uma estimativa aproximada do conteúdo fenólico total, não individualizando compostos presentes no extrato (Granato *et al.*, 2016).

A tendência, durante o período de armazenamento de cogumelos frescos, é o consumo dos fenóis totais pelas reações enzimáticas desencadeadas pelo metabolismo dos cogumelos, com a formação de pontos escuros (Nasiri *et al.*, 2018). Como alternativas de redução de perda de fenólicos totais, durante a conservação pós-colheita, poderemos citar a adição de compostos com propriedades antioxidantes em biofilmes ou nanopartículas, como constituintes da embalagem com a finalidade de reações ativas durante o período de armazenamento dos cogumelos, por exemplo.

O uso de sistemas com compostos antioxidantes contribui para a preservação de cogumelos, visto que, aumentam a capacidade antioxidante natural, logo mantendo a menor perda dos compostos fenólicos nativos durante o período pós-colheita, e como consequência preservando a capacidade antioxidante do produto por maior período de tempo (Wang *et al.*, 2021). Os filmes a base de quitosana, incorporados com compostos ativos contendo polifenóis apresentam satisfatória liberação controlada de fenólicos totais. E essa propriedade é explicada pelas ligações de hidrogênio e interações iônicas entre os grupos amina da quitosana e os grupos fenólicos (Talón *et al.*, 2017).

2.2.4 Textura

Segundo Szczesniak (2002), a textura é a manifestação sensorial e funcional das propriedades estruturais, mecânicas e superficiais dos alimentos detectadas através dos sentidos da visão, audição, tato e cinestésica, percebida pelo ser humano. As propriedades dos cogumelos, durante o armazenamento, estão sujeitas a alterações fisiológicas provocadas tanto pela atividade enzimática quanto pela perda de água, esses fenômenos foram estudados por vários autores (Gholami *et al.*, 2017; Qin *et al.*, 2015; Palacios *et al.*, 2011). A temperatura e umidade relativa utilizadas no armazenamento dos cogumelos determinam a velocidade de abertura do véu, e a consequente, perda de turgência do chapéu, (Kang *et al.*, 2001).

A textura é extremamente importante para a etapa de pós-colheita em cogumelos, sendo o amolecimento ou perda de turgência o parâmetro sensorial mais suscetível a decréscimo durante a vida de prateleira em decorrência do processo de senescência. Esse fenômeno é mais perceptível em cogumelos frescos armazenados, e está relacionado à ação enzimática das células e da perda de umidade, bem como degradação de polissacarídeos e proteínas (Antmann *et al.*, 2008). Cogumelos sofrem ação enzimática, durante o período pós-colheita, ocasionando o amolecimento do chapéu dos cogumelos. Isso é devido à ação das enzimas nas paredes celulares por ação microbiológica, o que aumenta a atividade das autolisinas endógenas, ocasionando perda de água. O vacúolo central na célula é danificado, e como resultado as células perdem a turgência (Khan *et al.*, 2014; Zivanovic *et al.*, 2000).

Algumas técnicas utilizadas em pós-colheita de vegetais, também podem ser empregadas a fim de reduzir os efeitos deletérios em cogumelos, tais como: uso da cadeia do frio, atmosferas modificadas no interior da embalagem, recobrimentos com biopolímeros e utilização de biofilmes ativos (Li *et al.*, 2016).

2.2.5 Taxa Respiratória

A respiração é o principal processo fisiológico após a colheita, responsável pela síntese de compostos, a partir do consumo de nutrientes e oxigênio e a liberação de dióxido de carbono e energia. A velocidade desse

processo determina o processo de senescência (Fonseca *et al.*, 2002). Sendo assim, a respiração é uma série de processos oxidativos, onde o fator limitante é a concentração de oxigênio. Em situações de baixa concentração de oxigênio há o desenvolvimento da respiração anaeróbica, processo metabólico que leva a liberação de energia a partir de reações químicas, mas em taxas de geração de ATP menores; tendo como consequência aceleração de degradação de tecidos. Sendo assim, técnicas de manejo de pré e pós-colheita, como acondicionamento e armazenamento refrigerado de vegetais é de fundamental importância para o controle da taxa de respiração desses produtos (Wang *et al.*, 2021).

Do ponto de vista do manejo pós-colheita, os cogumelos (*A. bisporus*) são considerados frutos climatéricos, devido aos processos acelerados de senescência, após a colheita (Meng *et al.*, 2012). O controle da temperatura e concentração de oxigênio no ambiente de armazenagem, tem como consequência o retardo do processo de senescência, durante o período pós-colheita dos cogumelos (Castellanos *et al.*, 2017).

Segundo Singh *et al.* (2010) o comportamento respiratório dos cogumelos pode ser dividido em duas fases. Após a colheita a taxa respiratória decai em torno de 50%, em 5 a 10 h e a velocidade de redução está associada à maturidade do cogumelo colhido e a temperatura de armazenagem. A segunda fase se caracteriza pela redução da velocidade respiratória, até o esgotamento dos nutrientes e senescência dos tecidos. Wu *et al.* (2019) estudaram a composição de embalagens com nanocompósitos, para acondicionamento de cogumelos frescos, usando Ti-O_2 obtendo menor taxa respiratória nessa condição em relação à situação controle, onde obtiveram menor produção de CO_2 e menor formação de íons ativos de oxigênio.

2.2.6 pH

A medida de pH corresponde a concentração de íon H^+ livres e em equilíbrio ou dissociados na solução e expresso como $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$ (Aroucha *et al.*, 2010). A variação do pH em cogumelos está associada a presença e concentração de ácidos orgânicos, causado principalmente pelo desenvolvimento microbológico (Oliveira *et al.*, 2012); e em menor proporção à

presença de CO₂ que reage com a umidade do ambiente formando ácido carbônico, o que causa a redução de pH (Daniels *et al.*, 1985).

Oz *et al.* (2015) e Zhao *et al.* (2021) observaram em estudos de *shelf life* de cogumelos, a relação da variabilidade de pH durante o período avaliado em condições de embalagem com atmosfera modificada e a consequente ocorrência de redução de pH nos tempos avaliados. Os autores atribuíram essa redução de pH aos processos metabólicos dos cogumelos, tais como a respiração e o consumo de nutrientes gerando subprodutos como ácidos orgânicos.

2.2.7 Aspectos microbiológicos

O desenvolvimento de bactérias aeróbicas em alimentos armazenados sob refrigeração pode ser ocasionado por microrganismos psicotróficos, também chamados de psicrófilos facultativos ou psicrotolerantes, pois são microrganismos com temperatura ótima de crescimento entre 7-20 °C. Esses microrganismos possuem habilidade de desenvolver-se em temperaturas oscilantes e são responsáveis pela maioria da deterioração microbiológica de alimentos refrigerados. A contaminação microbiológica de cogumelos ocorre no cultivo, manipulação e logística, continuando o desenvolvimento durante o período de armazenamento sob refrigeração, embora de forma mais lenta (Doores *et al.*, 1987).

Dentre as bactérias psicotróficas aeróbicas estão espécies dos gêneros: *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Listeria*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Campylobacter*, *Enterobacter*, *Lactococcus* e *Lactobacillus* (Sperber & Doyle, 2009). A prevalência desses microrganismos depende também das condições de desenvolvimento, como tempo, temperatura e meio de cultura (Jay *et al.*, 1998). A possibilidade de crescimento de microrganismo psicotróficos patógenos, como a *Listeria monocytogenes* é substancialmente maior em cogumelos, assim como em vegetais, ao contrário de frutas, devido as frutas terem tendência a ter pH mais ácido (Hui & Barta, 2006).

Em alimentos armazenados em condições de refrigeração, que estão suscetíveis a presença e desenvolvimento de bactérias psicotróficas aeróbicas, essas bactérias que podem ser consideradas um subgrupo das mesófilas, podem desenvolver-se em temperaturas superiores a 7 °C, acelerando o

processo de degradação dos alimentos. Para quantificá-las é possível utilizar o meio de cultura PCA (ágar padrão de contagem) em placas incubadas em temperatura de 22 °C por 4-5 dias. Salientando que há diferença em bactérias psicrófilas (desenvolvem-se somente em temperaturas inferiores a 7 °C) e as bactérias psicrotróficas que desenvolvem-se em temperaturas superiores a 7 °C (Munshch-Alatossava & Alatossava, 2006).

Doores *et al.* (1987) estudaram a relação da contaminação microbiológica inicial de cogumelos (*A. bisporus*) e o número de *flushes* de colheita. Encontraram entre 6,3 e 7,2 log UFC g⁻¹ de bactérias aeróbias, decaindo esse valor conforme o número de *flushes* do mesmo substrato, identificando essas bactérias como na maioria *Pseudomonas*. A contaminação inicial por bactérias em cogumelos recém-colhidos é o ponto inicial da evolução da contaminação durante o armazenamento, acelerando processos de degradação como escurecimento e outros; abreviando o *shelf life* de cogumelos frescos (Singh *et al.*, 2010).

2.2.8 Cor

A colorimetria é a representação de cores utilizando um sistema de coordenadas, como por exemplo o CIELAB (L^* , a e b) (Francis & Clydesdale, 1975). Gormley (1975) baseado em valores de luminosidade (chamada de escala de Hunter L^*) estabeleceu categorias desse parâmetro até o valor 100, sendo para cogumelos: acima de 93 - excelente; 90-93 - muito bom; 86-89 - bom; 80-85 - razoável; 69-79 - ruim e valores inferiores a 69 são muito ruins. O mesmo autor estabeleceu que cogumelos com valores inferiores a 80 são inaceitáveis no atacado e 69 inaceitável no varejo.

A cor é um parâmetro importante a ser avaliado nos cogumelos (*A. bisporus*), pois para apresentar boa qualidade e ser atrativo ao consumidor, o produto deve apresentar chapéu de cor branca uniforme na superfície e as bordas sem pigmentos, tons escuros ou amarelados e sem hematomas (Nunes, 2008). Esse parâmetro quantitativo de cor é muito importante comercialmente para os cogumelos (*A. bisporus*) e pode estar relacionado ao tempo de colheita. Bartley *et al.* (1991) relata em seu trabalho que os primeiros cogumelos colhidos no substrato (primeiro *flush*) são mais brancos e

permanecem mais tempo com essa cor durante o armazenamento, em relação aos cogumelos colhidos pela segunda vez de igual substrato.

a) Brancura (L^*)

Segundo Ranjbar *et al.* (2019) o parâmetro brancura dos cogumelos *A. bisporus* está relacionado ao substrato de cultivo utilizado, assim como, o tempo de permanência desse parâmetro durante a vida de prateleira e é influenciado pelo substrato e condições de cultivo.

A brancura dos cogumelos está relacionada ao fluxo de *flush* que é originando a ordem de brancura que decai em função do número de *flush*, ou seja, o número de colheitas de cogumelos do mesmo substrato. Sendo assim, cogumelos colhidos no primeiro *flush* terão maior valor de L^* , em relação aos colhidos em segundo *flush* (Nunes, 2008). Sendo considerados valores ótimos de L^* os superiores a 80. Burton & Noble (1993) relataram em seus trabalhos que *A. bisporus*, recém-colhidos, apresentaram valores de L^* entre 85,5 e 90. Valores esperados de L^* deveriam encontrar-se entre 91,5 para o primeiro *flush* e 89 para o segundo *flush*; sendo que a perda de cor durante o armazenamento é proporcional ao valor inicial de L^* (Shewfelt *et al.*, 2002).

b) Escurecimento

O *A. bisporus*, tem no escurecimento do chapéu um dos problemas qualitativos de maior impacto visual, que prejudicam sua comercialização. Esse defeito pode ser em função de atividades enzimáticas celulares, em específico, a enzima tirosinase pertencente às enzimas polifenol oxidases, relacionadas à biossíntese de melanina; que são pigmentos escuros e insolúveis (Nerya *et al.*, 2006).

O escurecimento é um parâmetro de cor, avaliado e calculado através dos parâmetros obtidos em leitura de espectrofotômetro específico (coordenadas: L^* , a e b). Sendo que o parâmetro escurecimento, em cogumelos, é função principalmente da evolução da atividade enzimática e do crescimento microbiológico, que ocasionam pontos escurecidos chamados melanoidinas. A tendência do índice de escurecimento é aumentar com o

tempo de armazenamento dos cogumelos, devido à ação das enzimas responsáveis pelo escurecimento (Aday, 2016).

Após a colheita, há aumento de atividade enzimática nos cogumelos (*A. bisporus*), a enzima tirosinase presente nos tecidos é ativada. A ação dessa enzima sobre compostos fenólicos leva à formação de quinonas, que são compostos reativos e reagem com eles próprios e outros compostos celulares formando pigmentos de cor escura, levando ao escurecimento dos tecidos dos cogumelos (Nerya *et al.*, 2006).

A influência do substrato de cultivo na composição dos cogumelos está relacionada à presença de metais e nutrientes; os quais são à base de alimentação dos cogumelos. Relaciona-se também ao conteúdo e grupos de proteínas presentes nos cogumelos, visto que, proteínas são sensíveis a processos oxidativos (Ranjbar *et al.*, 2017). Altas umidades relativas no interior das embalagens induzem a formação de uma fina camada de umidade sobre o chapéu do cogumelo, propiciando o desenvolvimento de *Pseudomonas tolaasii*, resultando em escurecimento ou amarelecimento da superfície dos esporóforos, conhecido como mancha bacteriana, conforme relatado por Mahajan *et al.* (2008).

2.3 Embalagens

A embalagem é a responsável pela preservação da qualidade dos produtos frescos durante o período de comercialização, garantindo a menor perda qualitativa e nutricional até o consumo. Os cogumelos geralmente são recobertos e comercializados com filmes plásticos, como o cloreto de polivinila (PVC) e outros filmes extensíveis e acondicionados em caixas ou bandejas de poliestireno ou outro polímero (Marçal *et al.*, 2021). Em filmes extensíveis, em geral, quanto maior sua elasticidade, mais poroso a gases o filme se torna (Chalier *et al.*, 2007). A permeabilidade de filmes como o PVC ao O₂ é de 3 a 6 vezes maior do que o CO₂, essa condição não é favorável ao acondicionamento de alimentos climatéricos que têm grande aumento na taxa respiratória após a colheita, como exemplo os cogumelos (Hussein *et al.*, 2015).

A elasticidade e a conseqüente permeabilidade a gases (CO_2 e O_2) faz com que embalagens recobertas com filmes de PVC entrem em equilíbrio de concentração de gases em até 20 horas, em condições de armazenamento de pós-colheita de cogumelos (Guillaume *et al.*, 2010). Por conseqüência polímeros como o PVC, por exemplo, possuem baixa taxa de transmissão de vapor de água proporcionando condições de transpiração aparente dentro das embalagens. Essas condições tornam o ambiente propício ao desenvolvimento microbiológico e processos metabólicos, devido à água livre sobre a superfície dos cogumelos (Rux *et al.*, 2015).

Segundo Marçal *et al.* (2021) há 3 métodos de preservação de cogumelos: tratamento térmico (secagem/congelamento); químico (revestimentos comestíveis, filmes e soluções de lavagem) e físico (embalagem, irradiação, campos elétricos pulsados e ultrassom). Os métodos de preservação química em cogumelos frescos, em sua maioria, consistem em: uso de atmosferas modificadas e revestimentos bioativos. Porém essas técnicas, na maioria, requerem alto investimento e podem deixar resíduos, além de terem difícil aplicabilidade industrial (Xue *et al.*, 2017; Wang, 2021).

2.3.1 Embalagens ativas

Embalagens que tenham a capacidade de interagir com o produto e o ambiente em que este se encontra são designadas como embalagens ativas. Este tipo de embalagem é importante ferramenta para reduzir processos fisiológicos ou microbiológicos deletérios em cogumelos frescos (Li *et al.*, 2014).

As embalagens ativas são fornecedoras ou receptoras de compostos ativos, que participam do metabolismo do alimento armazenado, retardando ou amenizando efeitos deletérios durante o período de armazenamento. Essas embalagens possuem a capacidade de liberar gradualmente substâncias ativas ou absorver compostos que degradam os alimentos e, assim, manter as condições ótimas de consumo por maior período (Wang *et al.*, 2021).

Os filmes de quitosana produzidos a partir da dissolução ácida de quitosana, são alternativas para composição de embalagens ativas, pois possuem inúmeras propriedades físico-químicas e biológicas desejáveis. Essas propriedades podem apresentar variação em relação a viscosidade da solução,

secagem e temperatura utilizadas para obtenção do filme, o percentual de dissolução ácida; assim como o tipo de compósito misturado a solução de quitosana, se estes filmes forem compostos com outros. Essa adição de compósitos bioativos altera parâmetros responsáveis pelas propriedades físico-químicas e biológicas, incluindo resistência a tração e deformação, propriedades de barreira, estabilidade térmica, capacidade hidrofílica, capacidade bacteriostática e antioxidante. (Mujtaba *et al.*, 2019)

Liu *et al.* (2019) compararam cogumelos embalados com filme de quitosana e ácido gálico e filme de polietileno usado comercialmente. O filme de quitosana com ácido gálico mostrou melhor preservação qualitativa dos cogumelos, pois melhorou as condições antioxidantes do meio, apresentando menor taxa de respiração, grau de escurecimento, taxa de vazamento de eletrólitos, taxa de produção de ânions e índice de peróxido de hidrogênio, e consequente preservação do frescor dos cogumelos por maior período em relação à condição controle.

2.3.2 Filmes de quitosana

A quitosana é um biopolímero que possui excelentes propriedades para composição de filmes para uso em alimentos, devido ser biodegradável é considerado e reconhecido como GRAS (Generally Recognized as Safe), ser o segundo biopolímero mais abundante na natureza e ter valor comercial acessível. Além disso, a quitosana possui atividade antimicrobiana e baixa permeabilidade ao oxigênio (No *et al.*, 2007).

A obtenção de uma solução filmogênica de quitosana requer várias horas de homogeneização sendo que essa característica é proporcional a sua massa molar, que também influencia sua viscosidade e efeito bacteriostático (NO *et al.*, 2006). Soluções de quitosana são solubilizadas em ácidos orgânicos, sendo comumente empregado o ácido acético, que promove a solubilização de forma mais eficaz em comparação ao ácido láctico (No *et al.*, 1995).

A incorporação de compostos antioxidantes sintéticos ou naturais ao filme de quitosana podem retardar a deterioração, rancidez e descoloração resultantes da oxidação e podem ampliar o tempo de vida útil dos alimentos, no filme acondicionado. Os antioxidantes naturais (principalmente polifenóis

extraídos de plantas e frutas) estão sendo preferidos aos antioxidantes sintéticos, devido a possíveis danos que possam causar a saúde dos consumidores, quando empregado antioxidantes sintéticos (Souza *et al.*, 2017).

Compostos bioativos tais como óleos essenciais e polifenóis extraídos de frutas e folhas são reconhecidos pela ação de estabilizar radicais livres, como as substâncias reativas de oxigênio (SRO). Esses compostos agem por meio da transferência de moléculas de hidrogênio, reduzindo-as e estabilizando-as, assim evitando o processo oxidativo dos alimentos, que em geral é responsável pela aceleração de degradação dos alimentos (perda de cor, sabor e textura, como exemplo) (Cushen *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2017).

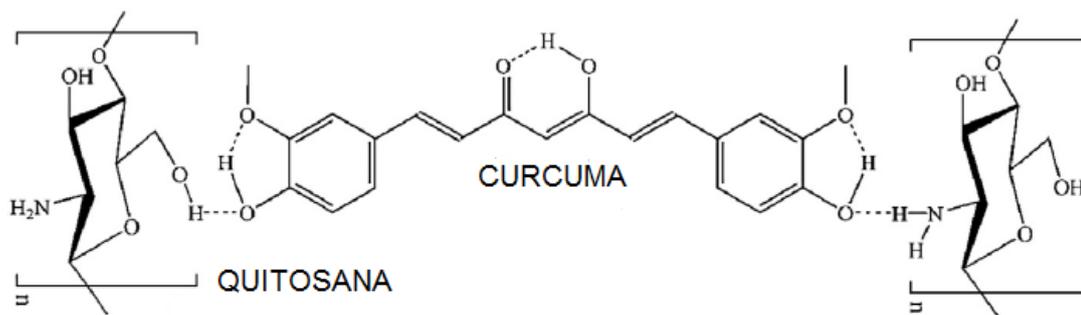
2.3.3 Filme de Quitosana e Cúrcuma

A curcumina é extraída da cúrcuma longa, é um polifenol natural, com poder antioxidante e antibacteriano entre outras benéficas ações nutraceuticas (Sonkaew *et al.*, 2012). A curcumina é composta por grupos hidroxila fenólicos (tendo como sua estrutura mais simples, o fenol), ligações duplas e a estrutura de dicetona são os grupos funcionais que permitem o eficiente desempenho das funções bioativas atribuídas a cúrcuma de origem vegetal ou sintética (Ruby *et al.*, 1995).

A curcumina empregada junto a filmes de quitosana melhora a maleabilidade e resistência à tração, bem como aumenta o poder hidrofílico e a atividade antibacteriana (Liu *et al.*, 2016). Taghavi Kevij *et al.* (2020) em seus estudos empregando filmes à base de isolado de proteína de soro de leite incorporando curcumina concluíram que os filmes produzidos são capazes de retardar reações de oxidação dos alimentos quando embalados. Musso *et al.* (2017) estudaram a adição de curcumina em filmes à base de gelatina, observando alteração de coloração em função do pH da solução filmogênica (pH 6 = cor amarela e cor vermelha em pH=11). Os filmes também apresentaram importantes propriedades antioxidantes, mas sem atividade antibacteriana.

Liu *et al.* (2016) estudaram a interação entre as moléculas de quitosana e curcumina (Figura 2.2), propondo geometrias otimizadas das moléculas de quitosana e curcumina exibindo interações entre as ligações de hidrogênio (quitosana) e as moléculas de curcumina, sendo que a ligação de hidrogênio

intramolecular é de interação primária constituindo dois grupos de hidroxilas, uma no anel benzênico e outra no grupo ceto (C=O), a curcumina apresenta tautomerismo cetoenólico; equilíbrio entre uma molécula (cetona ou aldeído) e um enol (álcoóis que possuem um ou mais radicais hidroxila). Essa proposta de geometria molecular específica propõe a capacidade de ação microbiológica e antioxidante das blendas de soluções filmogênicas de quitosana e cúrcuma.



Fonte: Liu *et al.*, 2016.

FIGURA 2.2 – Representação da interação molecular através de ligações de hidrogênio entre molécula de quitosana e cúrcuma

Portes *et al.* (2009) estudaram a incorporação de compostos derivados da cúrcuma em filme de quitosana, apresentando nesse blend excelentes propriedades antioxidantes e poder de combater linhagens de *Listeria*. A liberação dos compostos ativos foi gradual e efetiva, atribuídos à interação molecular da quitosana e compostos cumarínicos; provavelmente, pela força eletrostática entre os grupamentos amônio da quitosana e os anéis aromáticos da curcumina. A curcumina potencializou a bioatividade da quitosana em relação à ação contra cepas de *Listeria*.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material

Os cogumelos (*Agaricus bisporus*) foram colhidos na Fazenda Bertotto localizada no município de Glorinha – RS (Figura 3.1.1).



Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 3.1.1- Imagem do interior de uma unidade de produção na propriedade Bertotto localizada em Glorinha, RS. No momento da colheita de cogumelos da espécie *Agaricus bisporus*

Os cogumelos oriundos do segundo *flush* foram imediatamente acondicionados em bandejas de poliestireno. Foram colhidos, aproximadamente, oito quilos de cogumelos de tamanho 3 a 6 cm de diâmetro

de chapéu, armazenados em caixa térmica com gelo, temperatura média de 16 ° C, sendo transportados até o laboratório de pós-colheita da Faculdade de Agronomia da UFRGS. Os cogumelos nas bandejas foram retirados da caixa térmica, e as bandejas dispostas em caixas plásticas vazadas, limpas e higienizadas com álcool 70%, acondicionadas em única camada dentro das caixas plásticas (Figura 3.1.2).



Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 3.1.2 - Cogumelos acondicionados em caixas plásticas higienizadas para transferência para unidade de armazenagem refrigerada

Os cogumelos foram armazenados, por aproximadamente 24 horas a temperatura de $7 \pm 1,5$ ° C e 85-90 %UR em câmara fria com dimensões de 1,8 m x 2,8 m e 2,9 m de altura, devidamente limpa e higienizada com álcool 70%. Após esse período os cogumelos foram previamente selecionados e excluídos aqueles chapéus que apresentavam danos físicos severos, pesados em balança semianalítica e acondicionados em bandeja de poliestireno expandido, tamanho 15 x 15 cm e profundidade de 3 cm, acomodando cerca de 100 a 140 gramas de cogumelos por bandeja e recoberta com filme de PVC de 10 micrômetros de espessura (Figura 3.1.3).



Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 3.1.3 - Bandejas com cogumelos *Agaricus bisporus* em embalagens de poliestireno recobertos com filme PVC esticável. Imagem à esquerda filme de quitosana (fundo mais claro) e à direita filme de quitosana mais cúrcuma (fundo mais escuro)

3.2 Obtenção dos Filmes

3.2.1 Filmes de quitosana

Os filmes de quitosana foram obtidos através da técnica de *casting*. As soluções filmogênicas foram preparadas utilizando quitosana comercial (Polymar e Nutrição S/A, Brasil), grau de desacetilação de 86,3%. A dispersão de quitosana a 2% em ácido acético 0,1 Molar foi realizada por 20 horas, em agitador magnético à temperatura ambiente, com adição de 0,1% de glicerol no tempo de agitação de 17 horas.

3.2.2 Filmes de quitosana mais cúrcuma

À solução filmogênica de quitosana foi adicionada a concentração de 0,1% de curcumina (*Curcuma longa* a 96% de pureza, China) (CAS 458-37-7), importado pela Florien Fitoativos (Piracicaba, Brasil) no formato de formulado em pó. Adicionou-se, ainda, 0,1% de *Tween* 80 (Marca Dinâmica), um surfactante não iônico, agitado em banho ultrassônico por 15 minutos (Figura 3.2.1).



Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

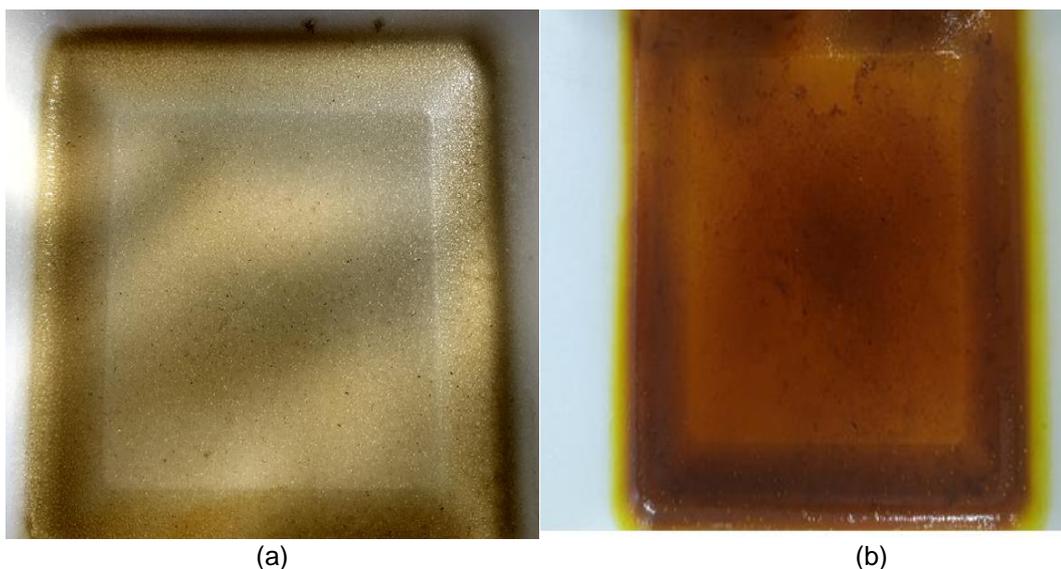
FIGURA 3.2.1 - Solução filmogênica de quitosana com adição de cúrcuma e Tween 80 para aplicação ao fundo das bandejas destinadas a acondicionar cogumelos da espécie *Agaricus bisporus*

3.3 Elaboração de cobertura (*casting*) em bandejas de poliestireno expandido.

Utilizou-se 60 gramas de solução filmogênica vertidas sobre bandejas de poliestireno, para obtenção uma fina camada ao fundo das bandejas. Os filmes foram obtidos após secagem em estufa a temperatura de 38 °C graus, por 72 horas.

3.3.1 Detalhamento da Metodologia de preparação das bandejas

Os cogumelos selecionados como livre de defeitos foram distribuídos em três diferentes condições de acondicionamento para posterior armazenagem: Condição A – bandeja sem qualquer cobertura (tratamento controle); Condição B – bandejas com cobertura de filme de quitosana, denominado condição CQ; Condição C – bandejas com cobertura de filme de quitosana mais cúrcuma, denominado condição CQC (Figura 3.3.1).



Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 3.3.1- Sistemas com embalagens ativas: a) Imagem à esquerda bandeja de poliestireno recoberta com filme de quitosana e b) imagem à direita bandeja de poliestireno recoberta com filme de quitosana + cúrcuma. Ambas as bandejas após secagem em estufa a 38 °C

3.4 Condições de armazenagem e preparação das amostras para análise.

Os cogumelos após acondicionados nas bandejas, foram armazenados sob refrigeração à temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90% UR. Aos 4, 8, 12 e 17 dias, as amostras foram retiradas da armazenagem (pela manhã) para as análises. As quantidades respectivas para cada análise foram separadas e armazenadas em câmara fria até o momento da análise, retirando uns minutos antes para equalizar a temperatura ambiente. Observação: Uma amostra de cogumelos, em triplicata, foi analisada no dia da colheita, quando da instalação do experimento, chamada amostra do tempo zero, cerca de 4 horas após a colheita, deu início às análises aqui apresentadas.

3.5 Análises

Todas as análises foram realizadas com amostras em triplicata e realizadas no laboratório de Pós-Colheita e no Laboratório de Virologia Vegetal, ambos da Faculdade de Agronomia/UFRGS. Outra parte das análises foi realizada no Laboratório de Análise de Propriedades Físicas dos Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

No Laboratório de Pós-Colheita foram determinados: pH, perda de massa fresca, taxa respiratória (produção de CO₂) e foram realizadas as análises de espectrofotometria (compostos fenólicos). A análise microbiológica (contagem total de psicotróficos em superfície) foi realizada no Laboratório de Virologia Vegetal enquanto no Laboratório de Análises Físicas dos Alimentos foram determinadas as análises de atividade de água e textura dos cogumelos.

3.5.1 Perda de massa fresca

A perda de massa fresca foi determinada de acordo com as recomendações de Singh *et al.* (2018) consistindo na pesagem dos cogumelos, nas respectivas condições e em triplicatas no dia zero (no início do armazenamento), determinado como peso inicial e nos dias subsequentes (8, 12 e 17 dias). O resultado é expresso em % de perda de massa, conforme a equação 1.

$$\% \text{ Perda de massa} = \frac{(\text{massa inicial} - \text{massa final})}{\text{massa inicial}} \times 100 \quad [\text{Equação 1}]$$

3.5.2 Determinação do pH

Para a determinação do potencial hidrogeniônico (pH) dos cogumelos foram utilizados 10 gramas de cada unidade experimental, cogumelos inteiros finamente fatiados e posteriormente imersos em 100 mL de água deionizada e com agitação manual por 2 minutos e repouso de 15 minutos em temperatura ambiente, de acordo com os procedimentos indicados por Xue & Farid (2015) A leitura foi realizada em potenciômetro R-Tec-7- MP (Tecnal, Brasil) com precisão de resolução de 0,01.

3.5.3 Cor de superfície dos cogumelos

A cor de superfície dos cogumelos foi medida por aparelho medidor de cor (Konica/Minolta, modelo CR400, Japão) em que foram determinadas as coordenadas L^* , a^* e b^* . Onde L^* eixo principal (preto = 0 e o branco = 100); a^* (verde (-) , vermelho (+) , b^* (azul (-) e amarelo (+)) (Pathare *et al.*, 2013). De cada unidade experimental escolheu-se aleatoriamente três cogumelos e em cada chapéu foram feitas três leituras de cor para compor uma média dos valores obtidos (L^* , a^* e b^*).

3.5.3.1 – Luminosidade

A luminosidade expressa como o parâmetro L^* representa a brancura do chapéu dos cogumelos ao longo do período avaliado.

3.5.3.2 – Índice de Escurecimento (BI)

O índice de escurecimento mede a pureza do escurecimento e foi determinado de acordo com o método descrito por Gao *et al.* (2014), usando o mesmo aparelho medidor de cores utilizado para determinação da cor de cobertura dos cogumelos. O índice de escurecimento dos cogumelos foi calculado de acordo com a equação 2 e 3.

$$BI = 100(x - 0,31)0,17 \quad [\text{Equação 2}] \text{ sendo,}$$

$$x = (a * -1,75L *)5,645L * + (a * -3,012b *) \quad [\text{Equação 3}]$$

Onde BI é expresso como índice de escurecimento. Os valores de “ x ” são calculados com os valores de L^* , a^* e b^* fornecidos pelo aparelho medidor de cor.

3.5.4 Atividade de água

A atividade de água foi medida com um medidor de bancada, (Aqualab, modelo Pre Dew Point, Brasil) instalado no laboratório de Microbiologia dos Alimentos ICTA (Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS). A leitura foi realizada nas respectivas amostras experimentais a temperatura ambiente (25 °C).

3.5.5 Textura

A textura dos cogumelos, expressa em Newton (N), foi determinada em um texturômetro (Stable Micro Systems, modelo TA.XT, Reino Unido) instalado no Laboratório de Análise de Propriedades Físicas dos Alimentos/ICTA (Figura 3.5). O teste de penetração foi realizado no chapéu do cogumelo, até a profundidade de 5 mm, utilizando como parâmetro 2 g. de gatilho, altura máxima de 22 cm, *probe* cilíndrica de 5 mm e velocidade de sonda de 2 mm/s conforme a metodologia descrita em SINGH *et al.* (2018). Os dados de força e

tempo forma registrados pelo *software* Texture Expert (Versão 1.0) da fabricante do equipamento.



Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 3.5 - Texturômetro modelo TA.XT da Stable Micro Systems obtendo leitura da textura de chapéu de cogumelo *Agaricus bisporus*

3.6 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas seguiram metodologia descrita por Silva (2002). As análises foram feitas com amostras em triplicata de cada condição (C; CQ e CQC).

A contagem total de bactérias psicotróficas foram realizadas por plaqueamento em superfície com PCA (ágar padrão para contagem). Seguindo a metodologia descrita por Jacxsens *et al.* (2001) as placas foram incubadas por 4 dias a 22 °C procedendo a leitura das unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g).

Os materiais utilizados foram autoclavados a 121 °C por 15 minutos e armazenados em ambiente refrigerado (aproximadamente 3–5 °C) até o momento da análise. A preparação das placas e as análises foram conduzidas em câmara de fluxo laminar esterilizada (uso de lâmpada germicida e limpeza de paredes com álcool 70%). Todo o material usado à temperatura ambiente.

Foram utilizadas micropipetas de 1000 e 100 μ l, com ponteiros descartáveis e estéreis, alça de vidro tipo Drigalsky, flambada e resfriada entre uma sementeira e outra.

3.6.1 Preparo da primeira diluição- Os cogumelos (25 g) de cada unidade experimental foram fatiados grosseiramente adicionando-se 225 mL de solução salina peptonada 0,1% em água deionizada; dispostos em frascos reagentes antigotas, agitados manualmente por dois minutos.

3.6.2 Diluições sucessivas- Foram realizadas em tubos de ensaio de vidro, contendo 9 mL de água peptonada 0,1%, vedados com bucha de algodão. As diluições seriadas foram conduzidas em 10 a 10, adicionado 1 ml por frasco de diluente, na ordem decrescente de concentração.

3.6.3 Plaqueamento em superfície- Foram vertidos 100 μ l de cada diluição sobre ágar PCA em placa e espalhados com auxílio de alça de vidro. Após as placas foram invertidas e incubadas por 4 dias em temperatura de 22 °C, após este período procedendo a contagem de colônias visíveis. Resultados foram expressos em UFC/g (unidades formadoras de colônia por grama) e em log base 10.



Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 3.6 - Contagem em placas de colônias psicotróficas

3.7 Compostos fenólicos totais (CFT's)

Os compostos fenólicos totais (CFT's) foram determinados por método espectrofotométrico conforme metodologia descrita em Wolff *et al.* (2019) utilizando comprimentos de onda de 720 a 760 nm. O método se baseia na reação de redução entre os compostos fenólicos com os íons metálicos gerando cor azul derivada da reação do fosfomolibdato-fosfotungstato a molibdênio.

3.7.1 Extração dos Compostos fenólicos totais

Realizou-se pela lixiviação de uma grama de cogumelos (chapéu) frescos fatiados em pedaços menores que 5 mm. A metodologia de extração está descrita em Altiok *et al.* (2008) em que foram feitas pequenas modificações. Como solvente de extração foram utilizados 10 mL de água destilada e acetona (1:1) em tubo de ensaio de acordo com a metodologia de extração modificada de Shieber *et al.* (2003) e sonificação conforme recomendação de Granato *et al.* (2016).

Os tubos de ensaio foram dispostos em banho ultrassônico (marca Spenser) com frequência de 40 kHz por 28 minutos em temperatura variando

de 30 a 35 ° C (Figura 3.7). Após a sonificação os tubos foram mantidos em repouso por 60 minutos ao abrigo da luz. Logo após os extratos foram filtrados, em papel filtro qualitativo sanfonado e algodão e a solução translúcida transferida para frascos âmbar e armazenados em freezer (-15 ° C por até 30 dias) até quantificação.



Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 3.7- Banho ultrassônico para sonificação das amostras de extração de compostos fenólicos totais em cogumelos *Agaricus bisporus*

3.7.2 Quantificação dos CFT's

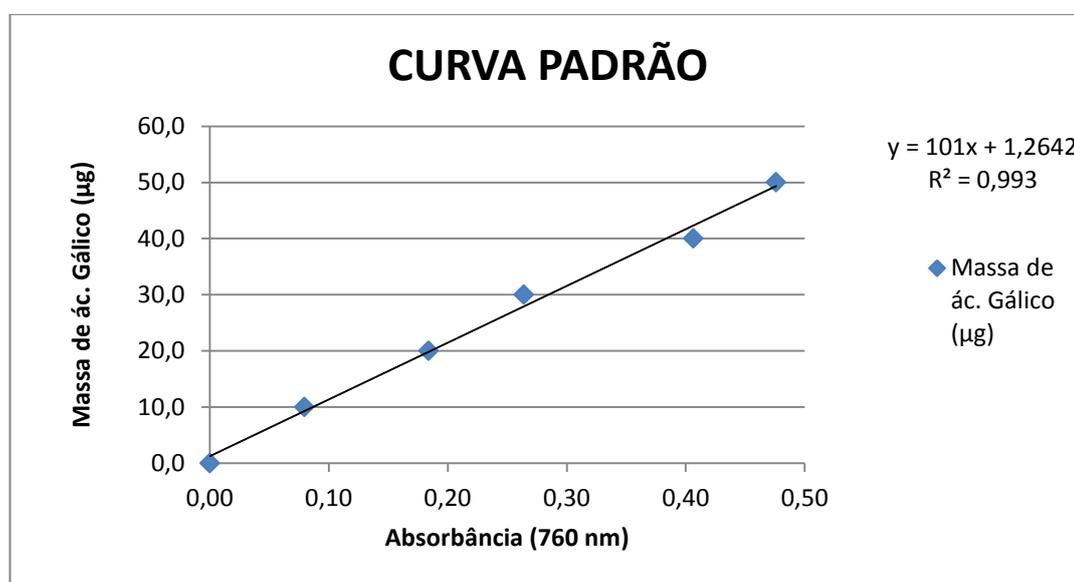
Foram realizadas em espectrofotômetro (PG Instruments, modelo T60, Reino Unido) com comprimento de onda de 760 nm em Absorbância (Xue *et al.*, 2015).

3.7.3 Preparo da curva padrão

Preparou-se a partir de solução de estoque de 5 mg de ácido Gálico (Dinâmica, Brasil) diluídos em balão volumétrico de 100 mL. Em tubos de ensaio e em duplicata foram adicionados 0, 200, 400, 600, 800 e 1000 µl de solução estoque de ácido gálico completando-se até 1 mL de água deionizada. Adicionou-se em seguida 2 mL de solução de 20% (p/v) de carbonato de sódio (Dinâmica, Brasil) e 1 mL de solução 2N de Folin Cioucalteau (Sigma Aldrich, Estados Unidos) em concentração de 1:10. Para finalizar, foram adicionados 2

mL de água deionizada e deixando em repouso por 60 minutos, mantendo ao abrigo da luz.

O espectrofotômetro foi calibrado com a solução sem presença de ácido gálico e leituras feitas em duplicatas de cada tubo transferindo para cubetas de vidro. As leituras de igual concentração ou amostra que não apresentaram variação superior a 0,02 de absorbância foram consideradas não diferentes. A Figura 3.7.1 demonstra a curva padrão obtida. Resultado foi expresso em mg de polifenóis por 100 g de amostra.



Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 3.7.1 - Curva padrão de ácido gálico

3.7.4 Determinação de compostos fenólicos totais

Obedeceu-se ao procedimento descrito para a curva padrão, porém substituindo o ácido gálico por 200 µl de solução extraída.

3.8 Taxa respiratória

Para determinação da taxa respiratória (produção de CO₂) foi utilizada a metodologia desenvolvida por Yang & Zhang (2000) com modificações propostas por (LI *et al.*, 2006). A produção de CO₂ foi quantificada em sistema estático. De 25 a 40 gramas de cogumelos foram colocados em frascos de vidro hermeticamente fechados durante 40 minutos. A cada frasco antes do

fechamento adicionou-se em placa de Petry 10 mL de NaOH 0,5M. Após este tempo de respiração dos cogumelos e consequente produção de CO₂, a solução de NaOH foi titulada com ácido oxálico (C₂H₂O₄) 0,34 M e uma gota de indicador fenolfetaleína a 1% (p/v). A atividade respiratória foi calculada de acordo com a equação 4.

$$T_x = \frac{(V_f - V_0) \cdot c \cdot 44}{W \cdot t} \quad [\text{Equação 4}]$$

Onde:

T_x = taxa respiratória expressa em mg de CO₂/kg de cogumelos por hora

V_f = volume final de ácido oxálico (mL)

V₀ = volume inicial de ácido oxálico (mL)

c = concentração do ácido oxálico (Molaridade)

44 = massa molecular do CO₂

W = peso de cogumelos em gramas

t = tempo expresso em horas.

3.9 Análise dos dados

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições. Os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade da variância. Posteriormente, aplicou-se a análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e a análise de normalidade dos resíduos. Os tratamentos foram comparados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) e os resultados apresentados em gráficos de colunas. As análises foram realizadas com auxílio do software R.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Abaixo apresentamos os resultados obtidos nos experimentos e as respectivas discussões relacionadas à influência do uso de sistemas de embalagens ativas sobre as características de qualidade de cogumelos armazenados por 17 dias sob refrigeração. Ressalta-se que os cogumelos frescos comercializados no Brasil, acondicionados em bandejas de poliestireno e recobertos com filme PVC possuem, em média, 14 – 16 dias de vida de prateleira.

Todas as discussões foram baseadas nos na avaliação estatística dos resultados obtidos. A Tabela 1 traz um resumo da Análise de Variância (ANOVA) realizada para cada parâmetro de qualidade avaliado nos cogumelos. A tabela apresenta o valor da probabilidade de rejeição da hipótese de que os tratamentos são iguais entre si, considerando a influência do tempo e do tipo de tratamento.

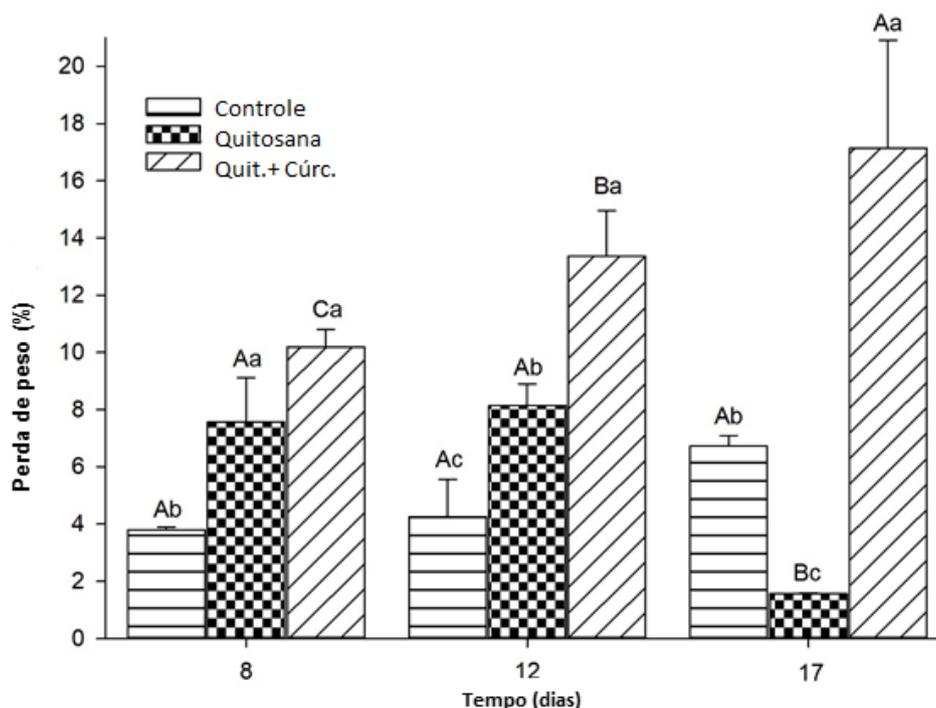
TABELA 1– Resumo da análise de variância para dados de perda de peso (PP), firmeza (FIR), atividade de (a_w), pH, psicrotróficos (PSI), fenóis totais (FT), luminosidade (L^*), índice de escurecimento (BI) e taxas respiratórias (TR) de cogumelos (*Agaricus bisporus*) armazenados a $7^\circ\text{C} \pm 1,5^\circ\text{C}$ e 85-90%UR por até 17 dias

Fontes de variação	GL	Valor de p								
		PP (%)	FIR (N)	a_w	pH	PSI	FT	L^*	BI	TR
Condição	2	<0.001	0.55	0.92	0.32	<0.001	0.64	0.94	0.99	0.95
Tempo	4	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Cond. x tempo	8	<0.001	0.23	0.98	0.45	0.05	0.16	0.89	0.46	0.47

Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

4.1 Perda de massa fresca

A perda de massa fresca é uma variável importante para o pós-colheita de cogumelos, visto que, estes produtos são constituídos de 85 a 90% de água. A Figura 4.1 apresenta a perda de massa fresca dos cogumelos ao longo do período de armazenagem de 17 dias.



Barras verticais representam os desvios padrões. Letras minúsculas distintas representam diferenças entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenagem e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tempos de armazenagem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 4.1– Perda de massa fresca (%) de cogumelos (*A. bisporus*) armazenados por até 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90% UR em bandejas de poliestireno com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle

Durante o período avaliado de 17 dias de armazenagem houve aumento do percentual de perda de massa fresca dos cogumelos em todos os tratamentos aplicados. No tratamento controle os cogumelos apresentaram menor perda de massa fresca em comparação com os tratamentos de quitosana e quitosana + cúrcuma. A perda de massa fresca foi perceptível no exame visual dos cogumelos, com aspecto de “murchamento aparente”.

Os cogumelos não apresentaram uma cobertura cerosa na epiderme com efeito de inibição da transpiração. Deste modo os cogumelos dispostos e acondicionados sobre os filmes dentro das bandejas apresentaram maior perda

de massa fresca com destaque ao tratamento de filme de quitosana + cúrcuma. Este tratamento após o oitavo dia ultrapassou os 10% em perda de massa, que segundo Zhang *et al.* (2020) torna o cogumelo impróprio para comercialização.

Ambos os filmes utilizados apresentaram ao final do experimento um aspecto de gel indicando absorção de umidade o que favoreceu a perda de massa dos cogumelos. Em contrapartida, os cogumelos do tratamento controle, acondicionados em bandejas, apresentaram um volume de água livre dentro da embalagem. A mais provável explicação para este resultado pode ser atribuída a uma interação dos cogumelos com o filme, de forma que o filme de cobertura da bandeja contribuiu para a migração de água dos cogumelos para o filme. A hidrofobicidade dos filmes de quitosana podem induzir a absorção de umidade extraída dos cogumelos que repousam sobre este filme (Nakilcioglu-Tas *et al.*, 2020). A perda de massa fresca dos cogumelos ocorre rapidamente após a colheita devido à respiração acelerada uma vez que a estrutura dos chapéus não é um órgão de reserva dos cogumelos.

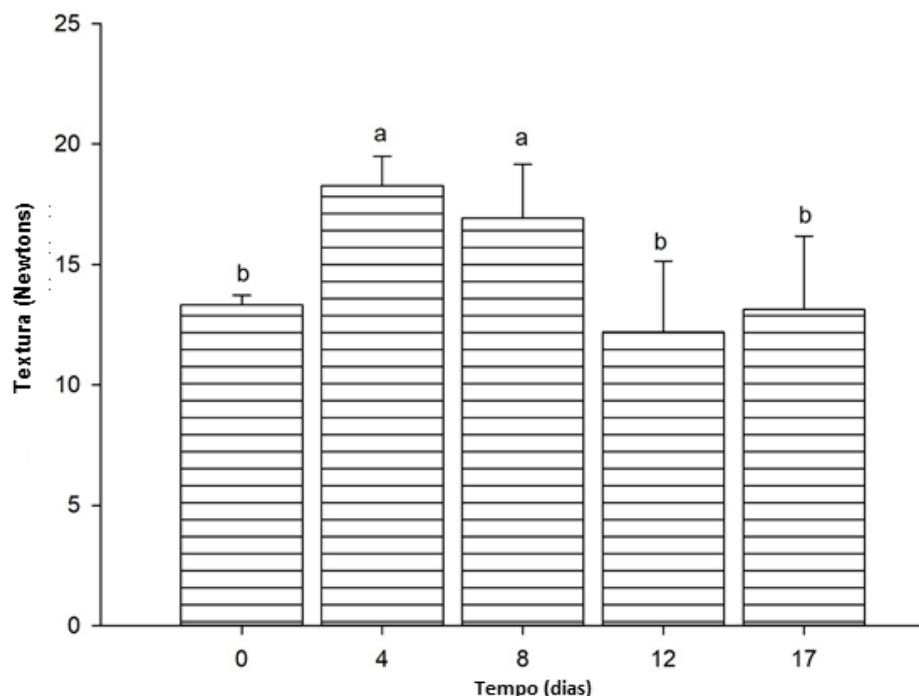
Resultados semelhantes em relação a perdas de massa fresca foram relatados por Gholami *et al.* (2017). Os autores observaram perdas de massa fresca constantes durante o armazenamento de igual variedade de cogumelos em *A. bisporus*.

Devido ao alto teor de água nos cogumelos, muito comum em espécies hortícolas, a película que recobre o corpo frutífero não está estruturada suficientemente para impedir as perdas de umidade para o ambiente externo. A consequência são as reações metabólicas deletérias, ocasionadas pelo desequilíbrio celular e condições ambientais presentes no meio externo que dão origem a taxas de transpiração e as consequentes perdas nutricionais e visuais como o murchamento (Rai *et al.*, 2008).

4.2 Textura

As análises de textura indicam a resistência dos tecidos às forças mecânicas sobre chapéu e corpo dos cogumelos e que sofrem alterações desde a colheita e durante a vida de prateleira. Na Figura 4.2, estão apresentados os resultados obtidos para a determinação de textura dos cogumelos ao longo do armazenamento. Os tratamentos utilizando os filmes de quitosana e quitosana + cúrcuma, em recobrimento de bandejas de poliestireno

não resultaram em diferença significativa entre os tratamentos, porém apresentaram diferença em relação ao tempo avaliado das condições de armazenagem de cogumelos em bandejas recobertas com biofilmes em relação ao tratamento controle (Figura 4.2). Os resultados são expressos em Newtons ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-2}$).



Barras verticais representam os desvios padrões. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tempos de armazenagem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 4.2- Textura de cogumelos (*A. bisporus*) armazenados por 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90% UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle

Os valores iniciais de textura refletem a condição de recente pós-colheita, cerca de 4 horas, sendo a temperatura dos cogumelos próximas a 17 °C, apresentando o melhor estado de frescor dos cogumelos colhidos. No quarto e oitavo dia houve aumento dos valores de textura em todas as condições estudadas, provavelmente pela perda de massa fresca, ocasionados pela desidratação, a qual torna os tecidos dos chapéus mais resistentes. Nos dois últimos períodos avaliados houve redução dos valores de textura em todos os tratamentos, o que pode ser atribuído à senescência do produto e ao aumento da deterioração de origem microbiana, que podem desintegrar paredes celulares, ocasionando perda de umidade e solutos (proteínas,

polissacarídeos, por exemplo) para o meio circundante, que ocasiona a perda da turgência. Wang (2021) obteve valores decrescentes de firmeza em *A. bisporus*, durante o período analisado em seu experimento empregando cogumelos de tamanhos uniformes e em condições de armazenagem semelhantes à do presente estudo.

A perda de umidade dos cogumelos avaliados no presente trabalho, muito provavelmente contribuiu para a redução da capacidade de coesão hidrofílica entre as moléculas, como proteínas, as quais contribuem pela integridade das paredes celulares do chapéu e véu dos cogumelos, contribuindo na perda de firmeza (Gao *et al.*, 2014).

A falta de mecanismos de proteção contra a transpiração em cogumelos é favorável para perda de turgescência e o consequente murchamento dos chapéus. O teste penetrométrico com uso de texturômetro é uma metodologia adequada para determinar as alterações na textura de cogumelos (Qu *et al.*, 2020), porém, no presente trabalho, essa medida não evidenciou diferenças significativas entre os tratamentos, apresentando apenas diferença entre os tempos de armazenamento avaliados.

4.3 Atividade de água (a_w)

A atividade de água é compreendida como a razão entre a pressão de vapor acima da amostra teste e a pressão acima do solvente puro, esse valor quanto mais próximo a um; maior é a atividade de água tornando o alimento propício a desencadear reações químicas e bioquímicas, dentre elas o crescimento microbiológico, sendo para cogumelos frescos um importante parâmetro de avaliação de qualidade (Szadzinska *et al.*, 2022). Os resultados obtidos para a_w constam na tabela 2.

TABELA 2- Atividade de água dos cogumelos (*A. bisporus*) armazenados por 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90%UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle

Tempo (dias)	0	4	8	12	17
A_w	0,99 b	0,992 a	0,995 a	0,993 a	0,995 a

Letras minúsculas distintas representam diferenças entre os tempos de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)
 Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

Os resultados obtidos, entre os tratamentos aplicados e o controle, indicam que não houve variação ao longo dos dias de armazenagem. Em todos os tratamentos, a atividade de água em cogumelos frescos é quase invariável, principalmente quando avaliado o chapéu dos cogumelos, como é o caso do presente estudo. Aguirre *et al.* (2008) encontraram pouca variabilidade na atividade de água quando avaliou o chapéu dos cogumelos *A. bisporus*, segundo este autor a maior variabilidade desse parâmetro, durante a vida de prateleira de *A. bisporus* são nas brânquias e estipe.

A atividade de água (a_w) é uma medida que demonstra a estabilidade das amostras durante o armazenamento, os resultados refletem o equilíbrio da água presente na fase líquida nos tecidos e a água em fase vapor presente no espaço livre (*headspace*) da embalagem (Das & Arora, 2018).

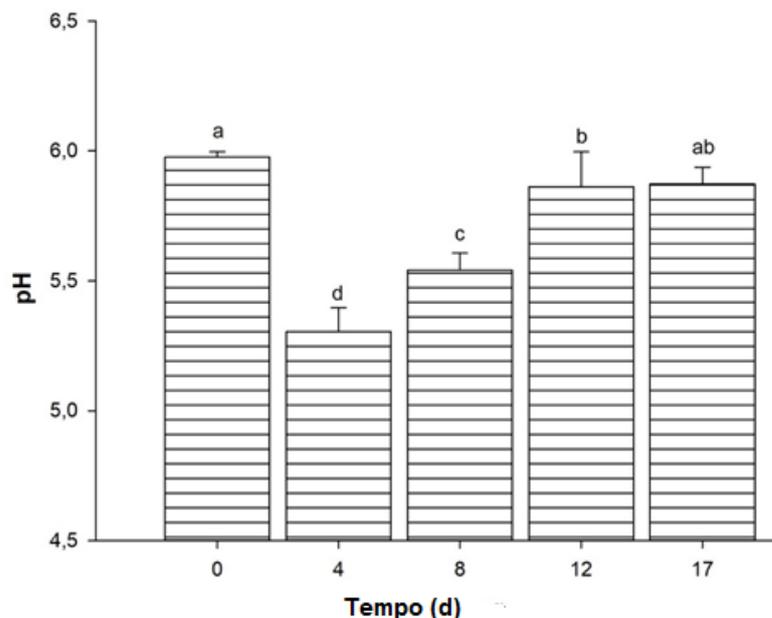
A a_w também está relacionada à textura e é importante para tornar o alimento agradável para a mastigação. A maioria dos alimentos classificados como produtos frescos apresentam $a_w > 0,8$ tornando atrativo ao paladar quando consumidos (Bourne, 1987). Mahajan *et al.* (2008) demonstraram que a baixa umidade relativa (UR) no interior da embalagem, durante o período de armazenamento, contribui para migração de água do produto para o exterior e a absorção por absorvedores de umidade presentes na embalagem, influenciando diretamente o equilíbrio de água no produto.

Porém os tratamentos aplicados nas bandejas, no presente trabalho, não influenciaram a a_w entre os tratamentos e o controle, bem como nos tempos estudados, permanecendo praticamente invariável os valores encontrados de atividade de água. Isso pode ser atribuído à baixa permeabilidade ao vapor de água dos filmes esticáveis de PVC, que mantiveram uma elevada umidade relativa no interior das embalagens durante o armazenamento; observado pela transpiração interna das embalagens com cogumelos.

4.4 pH

Os valores das médias obtidas de leituras de pH não diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre os tratamentos aplicados e o controle, porém diferiram ao longo do tempo de armazenagem, provavelmente pelas mudanças bioquímicas sofridas na vida de prateleira dos cogumelos (Figura

4.3). A medida de pH é um parâmetro que está relacionado com a acidez do produto. O pH pode indicar a ocorrência de alterações fisiológicas ou metabólicas durante a vida de prateleira do produto, principalmente presença de ácidos orgânicos e CO₂ dissolvido ou degradação de proteínas.



Barras verticais representam os desvios padrões. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tempos de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 4.3- Valores de pH dos cogumelos (*A. bisporus*) armazenados por 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90% UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle

Os valores iniciais (tempo zero) de pH próximo a 6 (5,98) são ligeiramente menores aos observados em estudo semelhante por Singh *et al.* (2018). Estes autores encontraram um pH inicial de cogumelos frescos (*A. bisporus*) de 6,75. Essa variação de valores de pH encontrados no presente estudo e os publicados pode ser atribuído às diferentes condições de cultivo, tais como cepas e substrato.

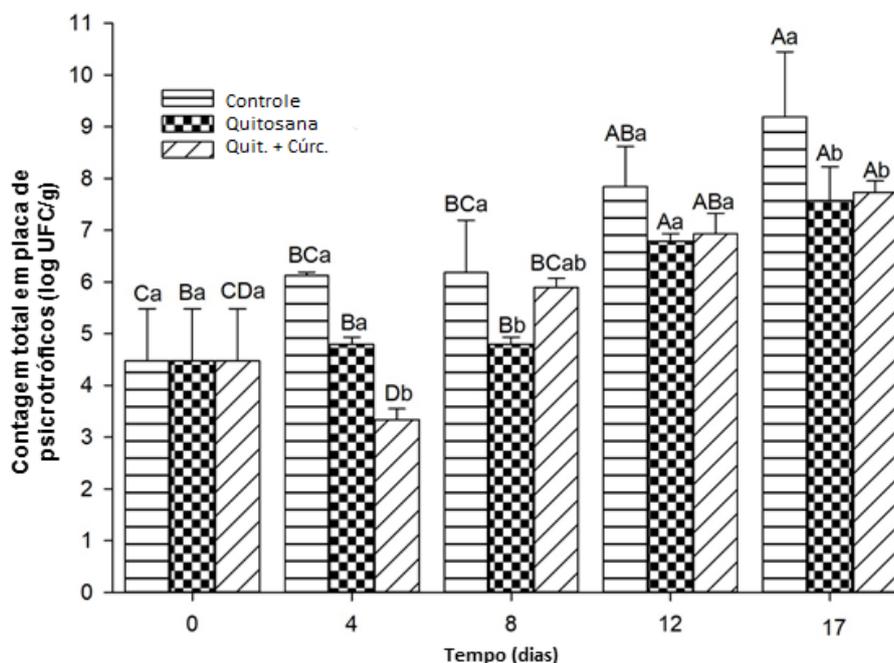
Observa-se que houve pequena redução de pH do quarto dia e aumento gradual até o décimo segundo dia em todos os tratamentos avaliados. A pequena redução pode ser atribuída à concentração de CO₂ no interior da embalagem, decorrente da respiração dos cogumelos, que se difunde nos tecidos do cogumelo e provocar uma ligeira diminuição no valor do pH pela formação de ácido carbônico. O acúmulo de CO₂ na embalagem pode ser

resultado da menor permeabilidade do CO₂ em relação ao O₂ dos filmes de PVC esticável. Conforme Hussein *et al.* (2015) utilizando filmes de PVC esticável para recobrir frutas processadas armazenadas em bandejas também observaram a formação de ácido carbônico nestes produtos. A pequena elevação de pH na condição controle e nos tratamentos aplicados durante o armazenamento tiveram a tendência a manter o valor de pH próximos; até o final do experimento. Esse comportamento pode ser atribuído a elevação da contaminação microbiológica, uma vez que microrganismos deteriorantes podem levar a degradação de proteínas e consequente elevação do pH (Golasz *et al.*, 2013)

Para os tratamentos com bandejas recobertas ao fundo com filme de quitosana e quitosana + cúrcuma não se observou diferença estatisticamente significativa em relação à bandeja controle. Os valores de pH permaneceram uniformes entre os tratamentos aplicados nos dias estudados, apresentando comportamentos semelhantes em relação a valores de pH, denotando baixa acidez (pH>4,5) que está de acordo com os resultados microbiológicos encontrados, que serão apresentados mais adiante neste trabalho. Salienta-se que produtos de baixa acidez permitem o crescimento microrganismos deteriorantes em maior grau que produtos ácidos. Os valores de pH encontrados são considerados ótimos para o desenvolvimento de *Listeria monocytogenes*, uma bactéria psicrotrófica (Hui & Barta, 2006), e outros microrganismos.

4.5 Avaliações microbiológicas

Na Figura 4.4 são apresentados os resultados obtidos para bactérias psicrotróficas expressos em log UFC g⁻¹.



Barras verticais representam os desvios padrões. Letras minúsculas distintas representam diferenças entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tempos de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 4.4 - Contagem total de psicrotróficos de cogumelos *A. bisporus* armazenados por até 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85 – 90 %UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle

Os resultados observados nas análises microbiológicas, em sua maioria apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos e nos tempos avaliados. Os cogumelos (*A. bisporus*) não possuem cutícula natural para proteção de danos físicos e contaminação microbiológica tornando-os passíveis de contaminação durante o crescimento e manuseio dos cogumelos. A contaminação é crescente durante os períodos estudados, com acentuado aumento de colônias na condição controle em relação às condições de tratamento, considerando o tratamento em bandejas recobertas com quitosana e de quitosana + cúrcuma (CQC).

A partir do quarto dia houve significativo aumento das médias das amostras de bactérias psicrotróficas, principalmente no tratamento controle (C) e em menor magnitude no filme de quitosana (CQ). No tratamento com

quitosana + cúrcuma (CQC) foi observada uma redução significativa de contagem de colônias em relação ao dia inicial. Esta redução provavelmente é decorrente da interação da cúrcuma com a quitosana, que potencializa a atividade antimicrobiana da quitosana (Portes *et al.*, 2009). No oitavo dia de armazenagem, observou-se que a condição CQ apresentou os menores valores de contagem microbiana durante o período estudado, mas estatisticamente igual à condição CQC, denotando também o poder da quitosana como inibidor microbiológico (Priyadarshi & Rhim, 2020).

No décimo segundo dia, as médias entre as condições observadas demonstraram pouca variação de carga microbiológica entre as condições testadas. Ao final do experimento (décimo sétimo dia), a condição controle apresentou maior evolução de contaminação em relação às condições CQ e CQC, tendo como provável causa a ação bioativa dos biopolímeros utilizados nas condições testes. Kalaycioglu *et al.* (2017) estudaram efeitos da incorporação de curcumina aos filmes de quitosana e verificaram a ação microbiológica, por contagem em placa, melhorando a ação bactericida em relação ao *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*. O uso de filmes bioativos com quitosana e cúrcuma, provavelmente colaboraram com os resultados microbiológicos de menor carga microbiológica desenvolvida durante os períodos avaliados.

As amostras iniciais apresentaram carga de bactérias psicrotróficas, que pode ser atribuído a condições de colheita (manuseio) e principalmente por serem originários de segundo fluxo de brotação (*flushes*). De acordo com Hayes & Nair (1984) a presença de colônias de *Pseudomonas* aumenta no substrato em proporção ao número de *flushes*, contribuindo para aumento da contaminação microbiológica dos cogumelos colhidos em tempos mais longos de cultivo. O gênero *Pseudomonas* é de bactérias gram negativas, psicrotróficas e proteolíticas, sua presença em cogumelos, na fase pós-colheita, pode ser atribuída ao substrato ou manuseio (Eastwood & Burton, 2002). A carga microbiológica inicial observada no presente trabalho ($4,47 \log \text{UFC g}^{-1}$) é semelhante aos valores iniciais encontrados por Gao *et al.* (2014) em estudos conduzidos com *A. bisporus*.

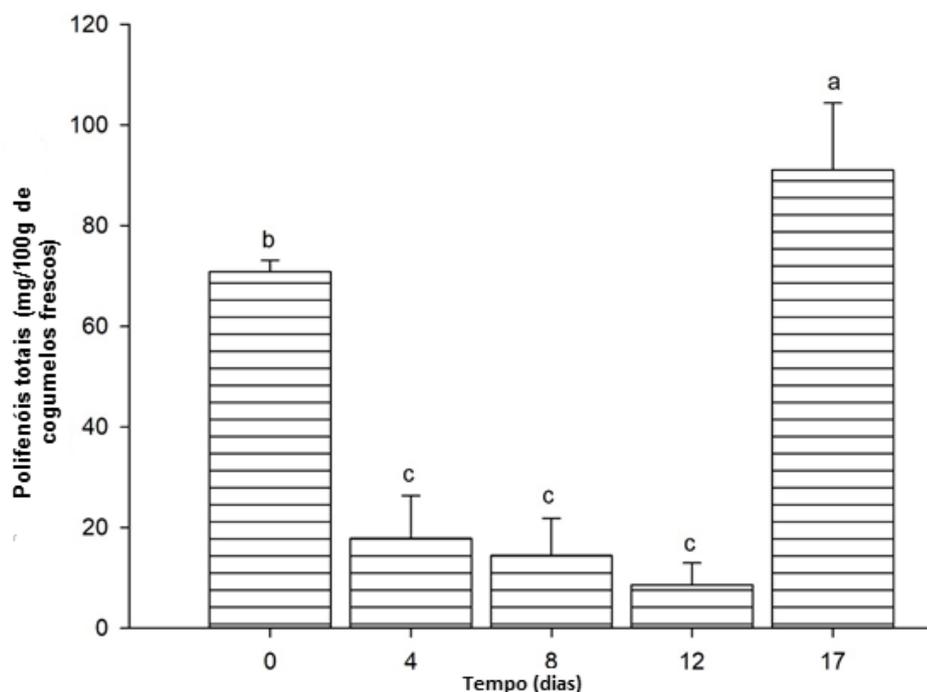
Jacxsens *et al.* (2001) avaliaram a carga microbiana de cogumelos fatiados e obtiveram resultados de $6,46 \pm 0,46$ e $7,34 \pm 0,87 \log \text{UFC/g}$ de

bactérias psicrotróficas em 7 dias de armazenamento em temperatura de refrigeração (4 °C). Os valores observados no presente trabalho aproximam-se dos valores observados por Jacxsens *et al.* (2001) apenas após o décimo segundo dia de experimento, na condição controle. Nas demais condições (CQ e CQC), as contagens permaneceram em valores semelhantes até o final do experimento. Estes resultados muito provavelmente estão relacionados à qualidade do produto inicial e a boas condições de armazenagem e, também, à atividade inibitória (microbiológica) dos filmes de quitosana e quitosana + cúrcuma empregados nos tratamentos.

Sabe-se que as condições de cultivo, logística e distribuição dos cogumelos até o consumidor final podem contribuir para o desenvolvimento de bactérias aeróbias. As bactérias psicrotróficas aeróbias são as mais prováveis de multiplicação em cogumelos frescos com pH próximo a neutralidade e armazenamento entre 6 a 9 °C e que sofram oscilações de temperatura durante a logística, que envolvem temperaturas usuais de colheita e transporte próximo a 16 °C (Sperber & Doyle, 2009).

4.6 Polifenóis totais

Na Figura 4.5 são apresentados os resultados referentes a polifenóis totais. Os compostos fenólicos totais podem estar associados com a atividade antioxidante presente naturalmente nos tecidos dos cogumelos e seu conteúdo está associado à integridade dos tecidos celulares, em resposta às condições de manuseio e armazenagem e existe uma tendência à redução no teor destes compostos ao longo da armazenagem (Zhang *et al.*, 2020).



Barras verticais representam os desvios padrões. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tempos de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 4.5- Polifenóis totais extraídos de cogumelos *Agaricus bisporus* armazenados por até 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90% UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle

O conteúdo de compostos fenólicos totais ao longo do tempo de armazenamento refrigerado apresentou redução significativa nos primeiros quatro dias de condução do experimento permanecendo esses valores quase constantes de polifenóis até o décimo segundo dia. Todavia, os teores não diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre os tratamentos com as bandejas recobertas com filmes de quitosana e quitosana + cúrcuma em relação ao tratamento controle.

Os resultados observados de polifenóis no tempo inicial são próximos a 700 mg de polifenóis totais por quilograma de cogumelos frescos, sendo esses valores iniciais encontrados de polifenóis totais são semelhantes as quantidades descritas por Gao *et al.* (2014) encontradas em seus estudos em *A. bisporus*. A metodologia empregada por esses autores é semelhante à utilizada neste trabalho, com pequenas alterações. A quantidade de polifenóis

inicial é elevada em relação aos demais resultados observados nos dias posteriores. Porém, isso pode ser atribuído à presença natural desses compostos e a possíveis danos (dano mecânico ou stress de corte do estipe durante a colheita). A extração de polifenóis totais no dia zero foi realizada aproximadamente 5 horas após a colheita. Segundo Kang *et al.* (2001), no momento de colheita, se houver algum dano físico e aumento de superfície exposta (corte do estipe, por exemplo) o mecanismo metabólico pode desencadear a biossíntese e acúmulo de alguns compostos fenólicos, como sistema de defesa.

Após o quarto dia de experimento houve uma significativa redução de polifenóis totais permanecendo com valores próximos até o décimo segundo dia. Esses resultados observados na quantificação de polifenóis totais são corroborados pelos valores encontrados no índice de escurecimento dos cogumelos, que segundo Liu & Wang (2012) polifenóis totais são substrato para o escurecimento enzimático.

O crescente índice de escurecimento que será discutido na próxima seção deste trabalho denota o crescimento microbiológico e prováveis ações enzimáticas, com oxidação de compostos fenólicos e perda de nutrientes pelos cogumelos (Ding *et al.*, 2016).

Ao final da condução do experimento, aos 17 dias, em todos os tratamentos foi observado incremento significativo de compostos fenólicos totais. Este incremento pode ser atribuído à alta contaminação microbiológica, perda de peso e a degradação celular dos tecidos; que ocasiona a dissolução de proteínas e outros solutos presentes no interior celular. O método empregado para quantificação de polifenóis totais usando Folin Cioucaulteau, não é uma metodologia seletiva apenas a estes compostos, podendo ser quantificados outros compostos de estrutura semelhante como as proteínas, como exemplo (Singleton & Rossi, 1965). E no décimo sétimo dia foi observado alta contaminação microbiológica, com possível degradação dos tecidos e estes solutos podem estar presente no resultado dos polifenóis totais quantificados.

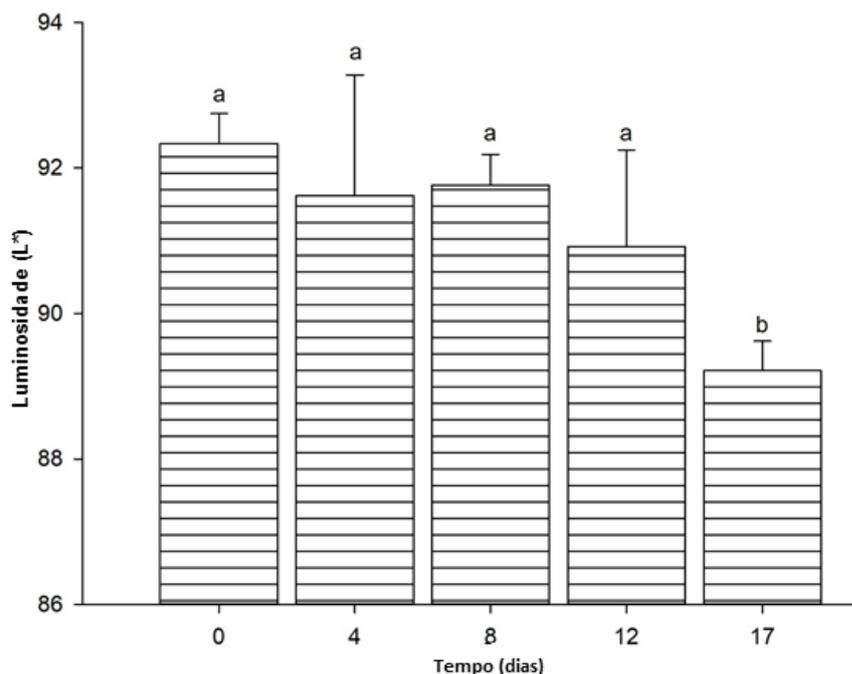
4.7 Cor

A colorimetria é a representação de cores utilizando um sistema de coordenadas colorimétricas, cujo sistema usa as coordenadas (L^* , a e b) e é um dos mais usuais (Francis & Clydesdale, 1975). As coordenadas mensuradas permitem determinar vários parâmetros analíticos que auxiliam na determinação de qualidade de vários alimentos. Utilizando equações desenvolvidas para tal fim é possível determinar: índice de escurecimento e Luminosidade. As mudanças de cor e o escurecimento durante a vida de prateleira de cogumelos frescos, em especial em *A. bisporus*, determina a aceitação pelo consumidor ao alimento , 2017).

No presente trabalho, essa determinação analítica representa uma ferramenta importante para avaliação da qualidade do produto. A cor de cobertura dos cogumelos é um dos atributos mais importantes para o consumidor, pois traduz a qualidade e preservação dos cogumelos pelo sentido visual. (Pathare *et al.*, 2013). As Figuras 4.6 e 4.7 apresentam os valores encontrados de Luminosidade e índice de escurecimento.

4.7.1 Luminosidade (L^*)

O parâmetro L^* fornecido pelo aparelho medidor de cor traduz a reflexão de um feixe de luz emitido pelo equipamento em relação a um padrão branco a que se atribui o máximo de reflexão de 100%. Então, quanto maior o valor de L^* em luminosidade tanto mais próximo o valor do branco, ou com máximo de reflexão os cogumelos *A. bisporus* se apresentam.



Barras verticais representam os desvios padrões. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tempos de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 4.6 - Parâmetro L^* fornecido pelo aparelho medidor de cor Konica/Minolta em cogumelos *A. bisporus* armazenados por até 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90 % UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle

No presente estudo não houve diferença entre as médias dos tratamentos aplicados nas bandejas e a condição controle, observando diferença em relação ao tempo apenas no último dia avaliado, em que os tratamentos apresentaram valores abaixo de 90 de luminosidade. Porém em todas as condições de tratamento o valor permaneceu maior que 80, sendo esse valor adotado como limitante a comercialização (Hu *et al.*, 2015).

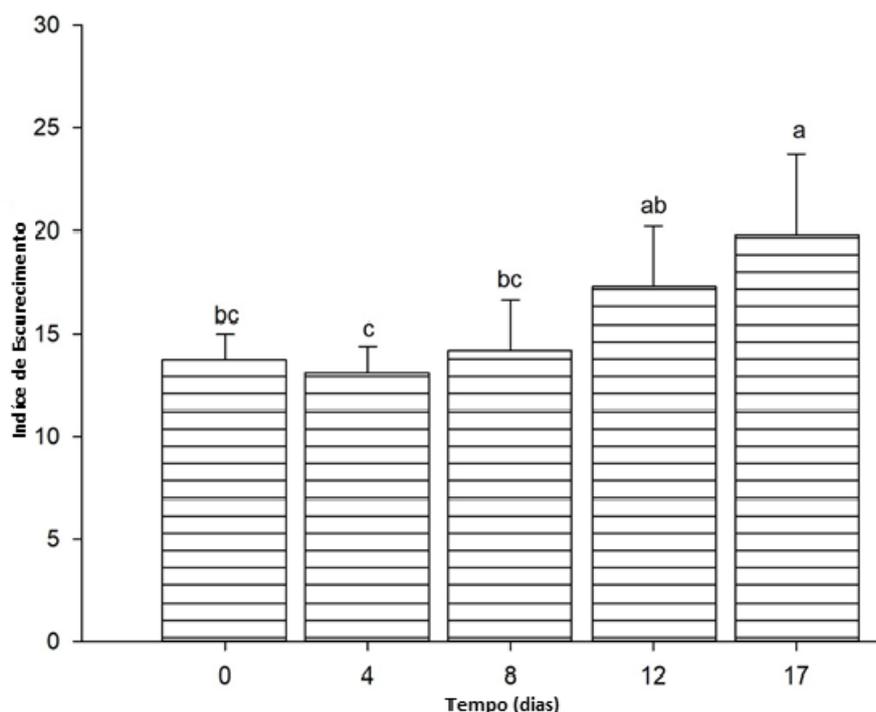
Tendo essas considerações, a condição de luminosidade inicial se manteve praticamente constante até o décimo segundo dia, nas condições de tratamentos experimentados, indicando que a cor branca dos tecidos dos cogumelos não foi em total afetada, na sua extensão dos chapéus, pelas reações metabólicas ocorridas nesse período. Podendo atribuir esse resultado aos valores iniciais de qualidade dos cogumelos que permaneceram durante o armazenamento, não sofrendo alterações significativas. Considerando também que a cobertura das bandejas, ao fundo, com filmes de quitosana ou quitosana + cúrcuma, não afetaram a cor dos cogumelos, principalmente o parâmetro L^* ;

pois segundo Gholami *et al.* (2017) os recobrimentos em *A. bisporus* utilizando quitosana tendem a tornar o cogumelo mais amarelado, porém, no presente trabalho isso não ocorreu.

Os valores obtidos de L^* durante o período de armazenamento demonstraram que as condições de armazenagem foram satisfatórias, pois preservaram os valores mínimos aceitáveis para a comercialização. Ao final do experimento houve redução desse parâmetro, possivelmente, pela deterioração dos tecidos, causados principalmente pela contaminação microbiológica e demais reações bioquímicas decorrentes. Esses resultados encontrados para L^* durante o período estudado e sua tendência a redução desse parâmetro são semelhantes aos observados durante a vida de prateleira de cogumelos estudados por Yan *et al.* (2020).

4.7.2 Índice de Escurecimento dos Cogumelos

O índice de escurecimento (BI), reflete as reações metabólicas sofridas pelos cogumelos ao longo da vida de prateleira. Quanto maior o índice escurecimento mais facilmente é percebido o escurecimento nos tecidos do chapéu do cogumelo, e a conseqüente aceitação visual pelo consumidor. O índice de escurecimento relaciona-se aos parâmetros L^* , a^* e b^* do aparelho espectrofotômetro (Gupta & Bhat, 2016). Os resultados encontrados apresentam-se na (Figura 4.7).



Barras verticais representam os desvios padrões. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tempos de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 4.7 - Índice de escurecimento de cogumelos *Agaricus bisporus* armazenados por 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90 % UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle

Os resultados das médias obtidas não diferiram significativamente entre os tratamentos aplicados e a condição controle, mas com tendência de elevação dos valores de escurecimento ao longo do tempo de armazenamento. As amostras apresentaram BI próximo a nove, mostrando que, no tempo inicial, as amostras já possuíam certo grau de escurecimento nos chapéus, podendo atribuir-se aos cogumelos serem cultivos de segundo *flush*, o qual há um esgotamento natural do substrato, tornando o meio mais suscetível ao desenvolvimento de microrganismos (Burton and Noble, 1993).

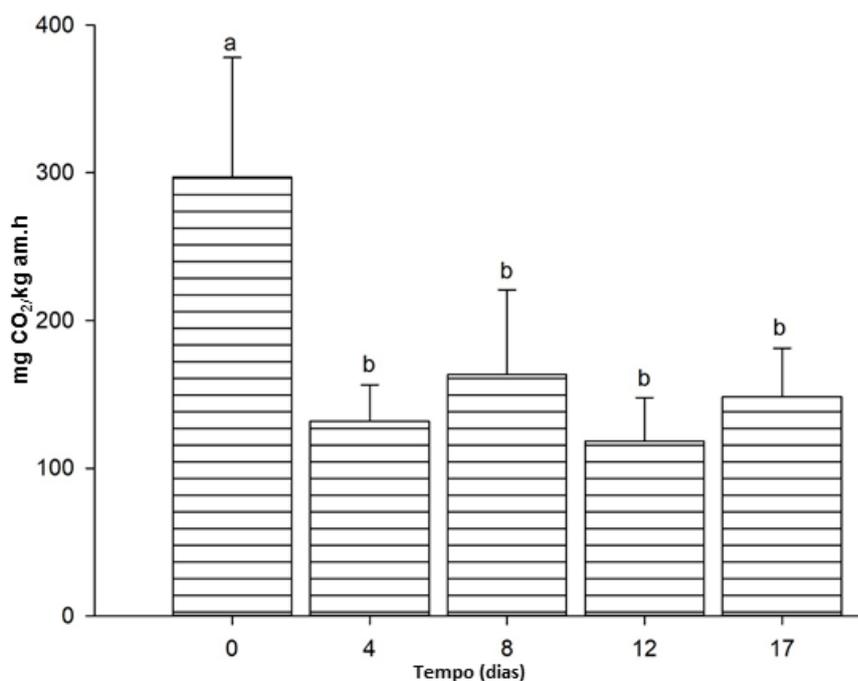
O BI apresentou crescentes valores em função do tempo, sendo a provável causa às ações enzimáticas, principalmente pela ação das polifenol oxidases que consomem polifenóis; e produzem quinonas e estas se oxidam e formam pontos escuros no chapéu do cogumelo (Oms-Oliu *et al.*, 2010). Ao final dos experimentos o índice de escurecimento mais que dobrou,

possivelmente pela alta contaminação microbiológica e demais reações decorrentes do processo de senescência dos cogumelos.

Resultados semelhantes de evolução dos índices de escurecimento, ao longo do período de oito dias de armazenamento foram observados por Mohapatra *et al.* (2010). Os autores observaram em diferentes temperaturas de armazenagem (3, 5 e 15 ° C) de *A. bisporus* que o índice de escurecimento ultrapassou o dobro do valor inicial dos experimentos. Vale ressaltar que o decréscimo dos valores de L* para os diferentes tratamentos do presente estudo não foi em igual proporção ao crescimento do índice de escurecimento (BI), visto que, esse foi proporcionalmente maior. Sugerindo que a proporção maior de escurecimento foi devido ao surgimento dos pontos escuros no chapéu, resultado da ação de oxidação dos tecidos celulares. A variação dos parâmetros de cor, como a Luminosidade e índice de escurecimento são influenciados pela taxa respiratória dos cogumelos, visto que, alta atividade respiratória consome nutrientes formando dióxido de carbono e ácidos orgânicos que danificam os tecidos, promovendo alteração de cor (Li *et al.*, 2017).

4.8 Taxa Respiratória

A taxa respiratória é um parâmetro para determinar a velocidade de deterioração dos vegetais e cogumelos, sendo proporcional à senescência e inversamente proporcional à vida útil dos cogumelos frescos (Farber *et al.*, 2003). A elevação na taxa respiratória, em geral, consome nutrientes, acelerando o processo de degradação e comprometendo a vida de prateleira do produto (Gonzales-Buesa *et al.*, 2019).



Barras verticais representam os desvios padrões. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tempos de armazenamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Fonte: elaborado pelo autor, 2021.

FIGURA 4.8 - Taxa respiratória (produção de CO₂) de cogumelos *A. bisporus* armazenados por até 17 dias a temperatura de $7 \pm 1,5$ °C e 85-90% UR em bandejas com diferentes tratamentos de revestimento (quitosana e quitosana + cúrcuma) e bandeja controle

As médias de produção de CO₂ entre os diferentes tratamentos não apresentaram diferença significativa, porém houve variação com o tempo de armazenamento em relação à taxa respiratória avaliada logo após a colheita, em torno de aproximadamente 4 horas (Figura 4.8). Essa medida mostrou-se elevada na comparação às leituras ao longo do armazenamento. Porém, a elevada taxa respiratória pode ser justificada pelo breve intervalo de tempo entre a colheita e as avaliações de taxa respiratória.

Podendo ser este tempo insuficiente para equalizar a temperatura de refrigeração e, conseqüentemente, ocorrer uma aparente desaceleração dos processos metabólicos desencadeados pela colheita recente. Liu *et al.* (2019) estudou a utilização de filmes de quitosana com ácido gálico na preservação de *A. bisporus* em temperatura de 4 ± 1 °C e 90% de umidade relativa por 15 dias. Observaram elevação na taxa respiratória dos cogumelos durante os primeiros seis dias de colheita reduzindo posteriormente até o final do experimento.

Na colheita os cogumelos são retirados do substrato e perdem o fornecimento de água e nutrientes. Porém o corpo de frutificação continua seus processos metabólicos, onde a respiração se torna o processo metabólico dominante (Zhang *et al.*, 2020). No quarto dia, a taxa respiratória foi reduzida, em todas as condições estudadas (bandejas recobertas com quitosana, quitosana + cúrcuma e controle), cerca de 50% do valor inicial de produção de CO₂.

Esse resultado denota a tendência a amenizar as reações metabólicas adversas, desenvolvidas pelos cogumelos imediatamente após o período pós-colheita; essa redução de taxa respiratória favorecida pelas condições de refrigeração e umidade relativa da câmara fria. Nos demais períodos, a taxa respiratória manteve-se em valores semelhantes nas diferentes condições estudadas. Atribuindo-se ao equilíbrio ambiente entre produto e atmosfera circundante, bem como o uso de filme PVC, no recobrimento das embalagens que oferece maior permeabilidade ao oxigênio em relação ao CO₂.

Segundo El-Kazzaz *et al.* (1983) nos alimentos com características climáticas há uma tendência em manter o metabolismo de reações químicas com elevadas taxas respiratórias após a colheita, com consumo de nutrientes e a consequente tendência de aceleração de processo de senescência, por esse motivo boas condições de refrigeração, acondicionamento e meios tecnológicos aplicáveis disponíveis para uso em cogumelos frescos se fazem necessários.

Em relação à taxa de respiração, avaliada através da quantificação de CO₂ em cerca de 300 mg kg⁻¹ h⁻¹ no momento da instalação do experimento, pode-se afirmar que o valor é inferior ao que Wu *et al.* (2019) encontraram em estudos também com a espécie *A. bisporus* e em igual tempo de análise e uso de igual metodologia de quantificação de taxa respiratória. Estes autores determinaram taxa respiratória de 500 mg kg⁻¹ h⁻¹ de CO₂. Esta dissimilaridade entre taxas respiratórias leva a considerar que as condições de cultivo, os procedimentos de colheita e as formas de acondicionamento imediato após a colheita podem influenciar as taxas respiratórias dos cogumelos.

4.9 Considerações finais sobre o armazenamento dos cogumelos

A demanda por melhorias no sistema de acondicionamento de cogumelos frescos, com a finalidade de melhor preservação do frescor e consequente aumento da vida útil é urgente para o setor da fungicultura comestível. Os biofilmes de quitosana com a adição de curcumina no interior da embalagem é uma proposta preliminar de melhoria dessas condições de aumento de vida útil.

Em relação a perda de massa fresca e a evolução da contaminação microbiológica apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos e nos tempos estudados. Na condição de perda de massa considerando o parâmetro comercial de aceitabilidade de perda máxima de 10%, a condição controle até o décimo sétimo dia de experimento foi satisfatória. A carga microbiológica foi maior nas condições controle em todos os dias estudados, frente aos tratamentos com filmes de quitosana e quitosana adicionada de cúrcuma. Tanto a quitosana quanto a curcumina demonstraram ação bactericida sobre a microbiota contaminante dos cogumelos, impedindo a maior evolução dessa contaminação ao longo do armazenamento, em relação à condição controle.

Os demais parâmetros avaliados não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, porém nos tempos avaliados houve variações. Os presentes resultados obtidos apontam ocorrência de fenômenos pós-colheita, tais como: A luminosidade apresentou leve queda de valores durante o tempo estudado, porém não significativos, reforçado pelo índice de escurecimento que teve evolução linear, denotando ações enzimáticas, com possível consumo de polifenóis criando pontos escuros nos chapéus como característica visíveis.

O parâmetro textura não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, porém apresentou variação ao longo do período avaliado, apresentando nos primeiros quatro dias de armazenagem evolução de valores, podendo ser atribuído a perda de massa fresca deixando os tecidos mais resistentes. Permanecendo valores semelhantes com leve evolução até o oitavo dia; e a textura reduz do décimo segundo dia em diante, provavelmente pelo aumento da contaminação microbiológica, que tem como consequência a

degradação dos tecidos celulares. Esses valores são compatíveis com os resultados de polifenóis totais, onde há redução nos primeiros doze dias, provavelmente ocasionados pelo consumo desses pelos metabolismos desenvolvidos pelos cogumelos, durante esse período de pós-colheita; criando estresse abiótico e intensificando a proliferação microbiológica, e a possível atividade enzimática que consome substratos fenólicos.

A taxa respiratória medida nos dias de armazenagem aponta decréscimo em relação ao primeiro dia, com manutenção média dos valores nos demais dias, sugere que houve pequena variação na velocidade de reações oxidativas. Tendo essas considerações a provável causa das ações deletérias nos cogumelos foi devido à ação microbiológica e perda de massa fresca, que também deve ter sido influenciada pela evolução da contaminação. A cobertura das embalagens por filmes de PVC, que tem pouca permeabilidade à água, ocasionou transpiração aparente em todas as condições de tratamento, colaborando para evolução da contaminação microbiológica.

O presente estudo demonstrou a melhoria da qualidade microbiológica dos cogumelos armazenados em sistemas de embalagens ativas com filmes de quitosana e quitosana e curcumina, porém os filmes induziram a uma maior perda de massa fresca dos produtos. Sugere-se para trabalhos futuros mais aprofundamento no estudo de adaptação na formulação dos filmes e estudo do impacto dessas adaptações em suas propriedades e o reflexo desses na melhoria da qualidade dos cogumelos frescos.

5 CONCLUSÕES

Os biofilmes apresentam efeito positivo no controle microbiológico em *Agaricus bisporus*, reduzindo a contaminação microbiana na ordem de 2 log UFC g⁻¹

A perda de massa foi significativa entre os tempos, porém entre os tratamentos não obteve diferença significativa, denotando que não há influência dos tratamentos de acondicionamento sobre essa resposta.

Os parâmetros pH, atividade de água, firmeza do tecido do chapéu dos cogumelos, atividade respiratória e compostos fenólicos não são influenciados pelo uso de embalagens ativas com filmes de quitosana e quitosana adicionada de cúrcuma.

6 REFERÊNCIAS

- ADAMICKI, F. Effects of pre-harvest treatments and storage conditions on quality and shelf-life of onions. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 688, p. 229-238, 2005. Trabalho apresentado no IV International Symposium on Edible Alliaceae, realizado em 2004.
- ADAY, M. S. Application of electrolyzed water for improving postharvest quality of mushroom. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 68, p. 44–51, May 2016.
- AGUIRRE, L. *et al.* Assessing the effect of product variability on the management of the quality of mushrooms (*Agaricus bisporus*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 49, n. 2, p. 247–254, Aug. 2008.
- ALTIOK, E. *et al.* Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. **Separation and Purification Technology**, Amsterdam, v. 62, n. 2, p. 342–348, Sept. 2008.
- ANTMANN, G. *et al.* Influence of modified atmosphere packaging on sensory quality of shiitake mushrooms. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 49, n. 1, p. 164–170, July 2008.
- ANTOLOVICH, M. *et al.* Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. **The Analyst**, Cambridge, v. 125, n. 5, p. 989–1009, 2000.
- ARKOUN, M. *et al.* Mechanism of action of electrospun chitosan-based nanofibers against meat spoilage and pathogenic bacteria. **Molecules**, Basel, v. 22, n. 4, [art.] 585, Apr. 2017.
- AROUCHA, E. M. M. *et al.* Acidez em frutas e hortaliças. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 5, n. 2, p. 1-4, 2010.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES DE COGUMELOS. [Dados obtidos da página]. São José dos Pinhais: ANPC, 2018. Disponível em: <https://www.anpccogumelos>. Acesso em: 10 out. 2021.
- BARTLEY, C. E. *et al.* Factors affect cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*) prior to harvest and during postharvest storage. **Mushroom Science**, Kiryu, v. 13, n. 2, p. 689-694, 1991.

- BIEKMAN, E. S. A. *et al.* Loss of solutes during blanching of mushrooms (*Agaricus bisporus*) as a result of shrinkage and extraction. **Journal of Food Engineering**, London, v. 28, n. 2, p. 139–152, May 1996.
- BLUMFIELD, M. *et al.* Examining the health effects and bioactive components in *Agaricus bisporus* mushrooms: a scoping review. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 84, [art.] 108453, Oct. 2020.
- BOURNE, M. C. Effects of water activity on textural properties of food. *In*: ROCKLAND, L. B.; BEUCHAT, L. R. (ed.). **Water activity: theory and applications to food**. New York: Marcel Dekker, 1987. p. 75-99.
- BURTON, K. S. The quality and storage life of *Agaricus bisporus*. **Mushroom Science**, Kiryu, v. 12, n. 1, p. 287–293, 1989.
- BURTON, K. S.; FROST, C. E.; ATKEY, P. T. Effect of vacuum cooling on mushroom browning. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 22, n. 6, p. 599–606, 1987.
- BURTON, K. S.; NOBLE, R. The influence of flush number, bruising and storage temperature on mushroom quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 3, n. 1, p. 39–47, July 1993.
- CASTELLANOS, D. A.; HERRERA, A. O. Modified atmosphere packaging: design and optimization strategies for fresh produce. *In*: KAHRAMANOGLU, I. (ed.). **Postharvest handling**. London: IntechOpen, 2017. p. 85-100.
- CHALIER, P. *et al.* Effect of concentration and relative humidity on the transfer of alkan-2-ones through paper coated with wheat gluten. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 55, n. 3, p. 867–875, 2007.
- CHANG, S. T.; MILES, P. G.; CHANG, S. T. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2004.
- CHOI, I.; LI, N.; ZHONG, Q. Co-loading curcumin and quercetin in freeze-dried mushroom microparticles to inhibit lipid oxidation in beef patties. **Food Chemistry**, London, v. 374, [art.] 131625, Nov. 2021.
- CUSHEN, M. *et al.* Nanotechnologies in the food industry– Recent developments, risks and regulation. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 24, n. 1, p. 30–46, 2012.
- D'ARCHIVIO, M. *et al.* Bioavailability of the polyphenols: status and controversies. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 11, n. 4, p. 1321–1342, 2010.

- DANIELS, J. A.; KRISHNAMURTHI, R.; RIZVI, S. S. H. A review of effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 48, n. 6, p. 532–537, June 1985.
- DAS, I.; ARORA, A. Alternate microwave and convective hot air application for rapid mushroom drying. **Journal of Food Engineering**, London, v. 223, p. 208–219, Apr. 2018.
- DING, Y. *et al.* Effects of postharvest brassinolide treatment on the metabolism of white button mushroom (*Agaricus bisporus*) in relation to development of browning during storage. **Food and Bioprocess Technology**, New York, v. 9, n. 8, p. 1327–1334, Aug. 2016.
- DOORES, S.; KRAMER, M.; BEELMAN, R. Evaluation and bacterial populations associated with fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*). In: WUEST, P. J.; ROYSE, D. J.; BEELMAN, R. B. (ed.). **Cultivating edible fungi**. Amsterdam: Elsevier, 1987. (Developments in Crop Science, v. 10). p. 283–294.
- EASTWOOD, D.; BURTON, K. Mushrooms – a matter of choice and spoiling oneself. **Microbiology Today**, Reading, v. 29, p. 18-19, 2002.
- EL-KAZZAZ, M. K.; SOMMER, N. F.; FORTLAGE, R. J. Effect of different atmospheres on postharvest decay and quality of fresh strawberries. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, n. 2, p. 282-285, 1983.
- FARBER, J. N. *et al.* Microbiological safety of controlled and modified atmosphere packaging of fresh and fresh-cut produce. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, London, v. 2, n. s1, p. 142–160, Jan. 2003.
- FONSECA, S. C.; OLIVEIRA, F. A. R.; BRECHT, J. K. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. **Journal of Food Engineering**, London, v. 52, n. 2, p. 99–119, Apr. 2002.
- FRANCIS, F. J.; CLYDESDALE, F. M. **Food colorimetry: theory and applications**. Westport: AVI Publishing, 1975.
- GAO, M.; FENG, L.; JIANG, T. Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment. **Food Chemistry**, London, v. 149, p. 107–113, Apr. 2014.
- GHOLAMI, R.; AHMADI, E.; FARRIS, S. Shelf life extension of white mushrooms (*Agaricus bisporus*) by low temperatures conditioning, modified atmosphere, and nanocomposite packaging material. **Food Packaging and Shelf Life**, Amsterdam, v. 14, p. 88–95, Dec. 2017.
- GOLASZ, L. B.; SILVA, J.; SILVA, S. B. Filme com antocianinas como indicador da deterioração de carne suína refrigerada. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 33, p. 155–162, 2013.

GONZÁLEZ-BUESA, J.; SALVADOR, M. L. An arduino-based low cost device for the measurement of the respiration rates of fruits and vegetables.

Computers and Electronics in Agriculture, Amsterdam, v. 162, p. 14–20, July 2019.

GORMLEY, R. Vacuum cooling and mushroom whiteness. **Mushroom Journal**, London, n. 27, p. 84-86, 1975.

GRANATO, D. *et al.* Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 80, p. 266–279, June 2016.

GRY, J. *et al.* **Mushrooms traded as food**: Nordic Risk assessments and background on edible mushrooms, suitable for commercial marketing and background lists. For industry, trade and food inspection. Background information and guidance lists on mushrooms. Copenhagen: Nordic Council of Ministers, 2012. (TemaNord, 543). v. 2, sec. 1, 118 p. Disponível em: <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:norden:org:diva-2445>. Acesso em: 24 mar. 2021.

GUILLAUME, C. *et al.* Biobased packaging for improving preservation of fresh common mushrooms (*Agaricus bisporus* L.). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, New York, v. 11, n. 4, p. 690–696, Oct. 2010.

GUPTA, P.; BHAT, A. Efficacy of different washing treatments on quality of button mushrooms (*A. bisporus*). **Journal of Food Processing and Technology**, Los Angeles, v. 7, n. 6, [art.] 1000590, 2016.

HUI, Y. H.; BARTA, J. (ed.). **Handbook of fruits and fruit processing**. Ames: Blackwell, 2006.

HU, Y.-H. *et al.* Postharvest application of 4-methoxy cinnamic acid for extending the shelf life of mushroom (*Agaricus bisporus*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 104, p. 33–41, June 2015.

HUSSEIN, Z.; CALEB, O. J.; OPARA, U. L. Perforation-mediated modified atmosphere packaging of fresh and minimally processed produce—A review. **Food Packaging and Shelf Life**, Amsterdam, v. 6, p. 7–20, Dec. 2015.

IFUKU, S. *et al.* Preparation of chitin nanofibers from mushrooms. **Materials**, Basel, v. 4, n. 8, p. 1417–1425, 2011.

JACXSENS, L. *et al.* Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 71, n. 2/3, p. 197–210, Dec. 2001.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. Intrinsic and extrinsic parameters of foods that affect microbial growth. *In*: JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern food microbiology**. Boston: Springer, 1998. (Food Science Text Series). cap. 3, p. 38–66.

JIANG, T. *et al.* Integrated application of nitric oxide and modified atmosphere packaging to improve quality retention of button mushroom (*Agaricus bisporus*). **Food Chemistry**, London, v. 126, n. 4, p. 1693–1699, June 2011.

KAŁA, K. *et al.* Determining the amount of potentially bioavailable phenolic compounds and bioelements in edible mushroom mycelia of *Agaricus bisporus*, *Cantharellus cibarius*, and *Lentinula edodes*. **Food Chemistry**, London, v. 352, [art.] 129456, Aug. 2021.

KALACĀ, P. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms: chemical composition of edible mushrooms. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 93, n. 2, p. 209–218, Jan. 2013.

KALAYCIOĞLU, Z. *et al.* Antimicrobial and physical properties of chitosan films incorporated with turmeric extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 101, p. 882–888, 2017.

KANG, J.-S.; PARK, W.-P.; LEE, D.-S. Quality of enoki mushrooms as affected by packaging conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 81, n. 1, p. 109–114, Jan. 2001.

KHAN, Z. U. *et al.* Effects of composite chemical pretreatment on maintaining quality in button mushrooms (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 95, p. 36–41, Sept. 2014.

KIM, K. M. *et al.* Effect of modified atmosphere packaging on the shelf-life of coated, whole and sliced mushrooms. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 39, n. 4, p. 365–372, May 2006.

LI, D. *et al.* Toughening and its association with the postharvest quality of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) stored at low temperature. **Food Chemistry**, London, v. 196, p. 1092–1100, Apr. 2016.

LI, N. *et al.* Improved postharvest quality and respiratory activity of straw mushroom (*Volvariella volvacea*) with ultrasound treatment and controlled relative humidity. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 225, p. 56–64, Nov. 2017.

LI, P. *et al.* High carbon dioxide and low oxygen storage effects on reactive oxygen species metabolism in *Pleurotus eryngii*. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 85, p. 141–146, 2013.

LI, T. *et al.* The molecular mechanism for the ethylene regulation of postharvest button mushrooms maturation and senescence. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 156, [art.] 110930, Oct. 2019.

LI, W.; ZHANG, M.; YU, H. Study on hypobaric storage of green asparagus. **Journal of Food Engineering**, London, v. 73, n. 3, p. 225–230, Apr. 2006.

LI, Y. *et al.* Effect of active modified atmosphere packaging with different initial gas compositions on nutritional compounds of shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 92, p. 107–113, June 2014.

LIU, J. *et al.* Effect of gallic acid grafted chitosan film packaging on the postharvest quality of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 147, p. 39–47, Jan. 2019.

LIU, Y. *et al.* Molecular interactions, characterization and antimicrobial activity of curcumin–chitosan blend films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 52, p. 564–572, Jan. 2016.

LIU, Z.; WANG, X. Changes in color, antioxidant, and free radical scavenging enzyme activity of mushrooms under high oxygen modified atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 69, p. 1–6, July 2012.

LUENGO, R. F. A.; CALBO, A. G. **Armazenamento de hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa, 2001

MAHAJAN, P. V.; OLIVEIRA, F. A. R.; MACEDO, I. Effect of temperature and humidity on the transpiration rate of the whole mushrooms. **Journal of Food Engineering**, London, v. 84, n. 2, p. 281–288, Jan. 2008

MARÇAL, S. *et al.* Impact of postharvest preservation methods on nutritional value and bioactive properties of mushrooms. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 110, p. 418–431, Apr. 2021.

MARSHALL, E.; NAIR, N. G. **Make money by growing mushrooms**. Rome: FAO, Rural Infrastructure and Agro-Industries Division, 2009. (Diversification Booklet, n. 7).

MATTILA, P. *et al.* Contents of vitamins, mineral elements and some phenolics compounds in cultivated mushrooms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 60, n. 23, p. 2343–2348, 2001.

MENG, D. *et al.* Postharvest application of methyl jasmonate for improving quality retention of *Agaricus bisporus* fruit bodies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 23, p. 6056–6062, June 2012.

MILES, P. G.; CHANG, S. T. **Mushroom biology: concise basics and current developments**. Singapore: World Scientific, 1997.

MUJTABA, M. *et al.* Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 121, p. 889–904, Jan. 2019.

MUNSCH-ALATOSSAVA, P.; ALATOSSAVA, T. Phenotypic characterization of raw milk-associated psychrotrophic bacteria. **Microbiological Research**, Jena, v. 161, n. 4, p. 334–346, Nov. 2006.

MUSSO, Y. S.; SALGADO, P. R.; MAURI, A. N. Smart edible films based on gelatin and curcumin. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 66, p. 8–15, May 2017.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 41, n. 5, p. 1523–1542, Aug. 2006.

NAKILCIOĞLU-TAŞ, E.; ÖTLEŞ, S. Kinetics of colour and texture changes of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) coated with chitosan during storage at low temperature. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 2, [art.] e20181387, 2020.

NASIRI, M. *et al.* Application of Tragacanth gum impregnated with *Satureja khuzistanica* essential oil as a natural coating for enhancement of postharvest quality and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*). **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 106, p. 218–226, Jan. 2018.

NERYA, O. *et al.* Prevention of *Agaricus bisporus* postharvest browning with tyrosinase inhibitors. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 272–277, Mar. 2006.

NO, H. K. *et al.* Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. **Journal of Food Science**, Malden, v. 72, n. 5, p. R87–R100, June 2007.

NO, H. K. *et al.* Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 65, n. 2, p. 174–178, July 2006.

NO, H. K.; MEYERS, S. P. Preparation and characterization of chitin and chitosan—a review. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, Abingdon, v. 4, n. 2, p. 27–52, 1995.

NUNES, M. C. DO N. **Color atlas of postharvest quality of fruits and vegetables**. Ames, Iowa: Blackwell Pub, 2008.

OLIVEIRA, F. *et al.* Evaluation of MAP engineering design parameters on quality of fresh-sliced mushrooms. **Journal of Food Engineering**, London, v. 108, n. 4, p. 507–514, Feb. 2012.

OMS-OLIU, G. *et al.* Effects of pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of fresh-cut mushrooms (*Agaricus bisporus*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 56, n. 3, p. 216–222, June 2010.

OZ, A. T. *et al.* The postharvest quality, sensory and shelf life of *Agaricus Bisporus* in active map. **Journal of Food Processing and Preservation**, Oxford, v. 39, n. 1, p. 100-106, 2015.

PALACIOS, I. *et al.* Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. **Food Chemistry**, London, v. 128, n. 3, p. 674–678, Oct. 2011.

PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A.-J. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. **Food and Bioprocess Technology**, New York, v. 6, n. 1, p. 36–60, Jan. 2013.

PAUDEL, E. *et al.* Effects of cellular structure and cell wall components on water holding capacity of mushrooms. **Journal of Food Engineering**, London, v. 187, p. 106–113, Oct. 2016.

PORTES, E. *et al.* Environmentally friendly films based on chitosan and tetrahydrocurcuminoid derivatives exhibiting antibacterial and antioxidative properties. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 76, n. 4, p. 578–584, May 2009.

PRICE, M. L.; BUTLER, L. G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 25, n. 6, p. 1268–1273, Nov. 1977.

PRIYADARSHI, R.; RHIM, J.-W. Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, New York, v. 62, [art.] 102346, June 2020.

QIN, Y. *et al.* Effect of PLA/PCL/cinnamaldehyde antimicrobial packaging on physicochemical and microbial quality of button mushroom (*Agaricus bisporus*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 99, p. 73–79, Jan. 2015.

QU, T. *et al.* Effect of peppermint oil on the storage quality of white button mushrooms (*Agaricus bisporus*). **Food and Bioprocess Technology**, New York, v. 13, n. 3, p. 404–418, Mar. 2020.

RAI, R. D.; ARUMUGANATHA, T. **Post harvest technology of mushrooms**. New Delhi: National Research Centre for Mushroom, Indian Council of Agricultural Research, 2008.

RAMÍREZ-ANGUIANO, A. C. *et al.* Radical scavenging activities, endogenous oxidative enzymes and total phenols in edible mushrooms commonly consumed in Europe. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 87, n. 12, p. 2272–2278, Sept. 2007.

RANJBAR, M. E.; GHAHREMANI, Z.; CARRASCO, J. Effect of compost formulation and postharvest management on quality parameters of button mushroom. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, Berlin, v. 8, n. S1, p. 507–513, Dec. 2019.

RANJBAR, M. E.; OLFATI, J. A.; AMANI, M. Influence of enriched soaking water on shiitake (*Lentinus edodes* (Berk.) Singer) mushroom yield and properties. **Acta Agriculturae Slovenica**, Ljubljana, v. 109, n. 3, p. 555-560, Dec. 2017.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2007.

ROYSE, D. J. A global perspective on the high five: *agaricus*, *pleurotus*, *lentinula*, *auricularia* & *flammulina*. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MUSHROOM BIOLOGY AND MUSHROOM PRODUCTS, 8., 2014, New Delhi, India. **Proceedings of the [...]**. Solan: Mushroom Society of India, 2014. p. 1-6.

RUBY, A. J. *et al.* Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids. **Cancer Letters**, Kidlington, v. 94, n. 1, p. 79–83, 1995.

RUX, G. *et al.* Application of humidity-regulating tray for packaging of mushrooms. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 108, p. 102–110, Oct. 2015.

SCHAEFER, E. W. *et al.* Influence of turmeric incorporation on physicochemical, antimicrobial and mechanical properties of the cornstarch and chitosan films. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 148, p. 342–350, Apr. 2020.

SCHIEBER, A. *et al.* A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, New York, v. 4, n. 1, p. 99–107, Mar. 2003.

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate**. 2002. 87 f. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SILVA, M. L. C. *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, set. 2010.

SINGH, P. *et al.* Recent advances in extending the shelf life of fresh *Agaricus mushrooms*: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 90, n. 9, p. 1393–1402, Apr. 2010.

SINGH, S. *et al.* Thermally buffered corrugated packaging for preserving the postharvest freshness of mushrooms (*Agaricus bisporus*). **Journal of Food Engineering**, London, v. 216, p. 11–19, Jan. 2018.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In*: PACKER, L. **Methods in enzymology**. New York: Academic Press, 1999. v. 299. p. 152–178.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, Jan. 1965.

SONKAEW, P.; SANE, A.; SUPPAKUL, P. Antioxidant activities of curcumin and ascorbyl dipalmitate nanoparticles and their activities after incorporation into cellulose-based packaging films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 60, n. 21, p. 5388–5399, 2012.

SPERBER, W. H.; DOYLE, M. P. (ed.). **Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages**. New York: Springer New York, 2009.

SOUZA, V. G. L. *et al.* Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 107, p. 565–572, Nov. 2017.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, Harlow, v. 13, n. 4, p. 215–225, June 2002.

SZADZIŃSKA, J.; MIERZWA, D.; MUSIELAK, G. Ultrasound-assisted convective drying of white mushrooms (*Agaricus bisporus*). **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 172, [art.] 108803, Feb. 2022.

SHEWFELT, R. L.; BARTZ, J. A.; BRECHT, J. K. **Postharvest physiology and pathology of vegetables**. Baton Rouge: CRC Press, 2002. p. 294-303.

TALÓN, E. *et al.* Release of polyphenols from starch-chitosan based films containing thyme extract. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 175, p. 122–130, Nov. 2017.

TARLAK, F.; OZDEMIR, M.; MELIKOGLU, M. Predictive modelling for the growth kinetics of *Pseudomonas* spp. on button mushroom (*Agaricus bisporus*) under isothermal and non-isothermal conditions. **Food Research International**, New York, v. 130, [art.] 108912, Apr. 2020.

TAGHAVI KEVIJ, H. *et al.* Fabrication and investigation of physicochemical, food simulant release, and antioxidant properties of whey protein isolate-based films activated by loading with curcumin through the pH-driven method. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 108, [art.] 106026, Nov. 2020.

- WANG, T. Effects of ozone fumigation combined with nano-film packaging on the postharvest storage quality and antioxidant capacity of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 176, [art.] 111501, [p. 1-11], 2021.
- WANG, X. *et al.* Preparation and characterization of chitosan/zein film loaded with lemon essential oil: effects on postharvest quality of mushroom (*Agaricus bisporus*). **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 192, p. 635–643, Dec. 2021.
- WOLFF, S. M.; SILVEIRA, A. C.; LAZZAROTTO, M. Metodologia para extração de fenólicos totais e antioxidantes da erva-mate. **Iniciação Científica Cesumar**, Maringá, v. 21, n. 1, p. 45-54, jun. 2019.
- WU, Y. *et al.* Effect of nanocomposite-based packaging on microstructure and energy metabolism of *Agaricus bisporus*. **Food Chemistry**, London, v. 276, p. 790–796, Mar. 2019.
- XUE, D.; FARID, M. M. Pulsed electric field extraction of valuable compounds from white button mushroom (*Agaricus bisporus*). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, New York, v. 29, p. 178–186, May 2015.
- XUE, Z. *et al.* Effects of processing and storage preservation technologies on nutritional quality and biological activities of edible fungi: a review. **Journal of Food Process Engineering**, Malden, v. 40, n. 3, [art.] e12437, June 2017.
- YANG, Z. J.; ZHANG, H. Y. **A laboratory course manual of storage in fruit and vegetable**. LaiYang: LaiYang Agriculture College, 2000.
- ZHANG, L. *et al.* Combined antioxidant and sensory effects of active chitosan/zein film containing α -tocopherol on *Agaricus bisporus*. **Food Packaging and Shelf Life**, Amsterdam, v. 24, [art.] 100470, June 2020.
- ZHANG, K.; PU, Y.-Y.; SUN, D.-W. Recent advances in quality preservation of postharvest mushrooms (*Agaricus bisporus*): a review. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 78, p. 72–82, Aug. 2018.
- ZHAO, Z.; WANG, X.; MA, T. Properties of plasma-activated water with different activation time and its effects on the quality of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 147, [art.] 111633, July 2021.
- ZHU, J.; WANG, X.; XU, Y. Effects of the postharvest storage temperature and its fluctuations on the keeping quality of *Agaricus bisporus*. **International Journal of Food Engineering**, Berlin, v. 2, n. 1, [art.] 3, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.2202/1556-3758.1064>. Acesso em: 12 nov. 2021.

ZIVANOVIC, S.; BUSER, R. W.; KIM, K. S. Textural changes in mushrooms (*Agaricus bisporus*) associated with tissue ultrastructure and composition. **Journal of Food Science**, Malden, v. 65, n. 8, p. 1404–1408, Nov. 2000.