



Efeito da aplicação de ultrassons e ácido peracético na conservação de castanhas frescas

Auryo de Ceita Gomes

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança
para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança
Alimentar*

Orientado por

**Professora Doutora Maria de Fátima Alves Pinto Lopes da Silva
Professora Doutora Ermelinda Lopes Pereira**

Bragança

2023

Dedicatória

Dedico essa conquista especialmente ao papai do céu por ter me fornecido a enorme força necessária para não desistir e por ter enviado mensagens através de pessoas especiais me encorajando a acreditar e seguir;

Dedico a mim mesmo, como uma forma de lembrete de que sou sim capaz de realizar coisas incríveis e que o primeiro passo é ACREDITAR.

Agradecimentos

Agradeço às minhas orientadoras Professora Doutora Maria de Fátima Alves Pinto Lopes da Silva e a Professora Doutora Ermelinda Lopes Pereira, pela enorme paciência, concelhos, ajuda e até pelos puxões de orelha que me permitiram chegar aqui hoje.

Às pessoas que se importaram mesmo do fundo do seu de coração, e que de alguma maneira me ajudaram a concluir mais esta etapa com sabor de vitória na boca.

Que as portas se abram!

Resumo

As castanhas frescas, por serem muito suscetíveis a perda de peso e a danos por insetos e decomposição fúngica na fase pós-colheita, têm um tempo de vida útil limitado. Os métodos de conservação pós-colheita de castanha fresca utilizados atualmente de forma comercial apresentam limitações relevantes. Atualmente, a sua conservação pós-colheita é feita através do armazenamento à temperatura ambiente ou sob temperaturas de refrigeração e humidades relativas elevadas (90-95%). Mas antes da comercialização, os operadores industriais submetem as castanhas frescas a um tratamento por água quente, para aumentar a sua conservação e segurança alimentar, especialmente a castanha destinada à exportação. Tendo em conta a importância económica deste fruto em Portugal, justifica-se o esforço na exploração de métodos alternativos ou complementares aos existentes, que permitam disponibilizar ao mercado castanha fresca com qualidade satisfatória nas semanas seguintes à colheita. Ao consegui-lo, diminuir-se-á o seu desperdício e as perdas económicas ao longo da cadeia.

Assim, este estudo teve como objetivo explorar a utilização de ultrassons, como técnica de lavagem, e a utilização de ácido peracético, como agente desinfetante, para aumentar a conservação de castanha fresca, de forma isolada ou em conjunto. Utilizaram-se castanhas frescas da variedade Longal, que foram submetidas aos seguintes tratamentos: (Q) calor (imersão em banho de água quente a 50 °C/45 min.); (P) ácido peracético (imersão em banho de ácido peracético a 262 p.p.m./15 min.); (U) ultrassons (imersão em água num banho de ultrassons a 50 Hz, 200 W/15 min.); (UP) ultrassons e ácido peracético, em simultâneo (imersão em solução de ácido peracético a 262 p.p.m., num banho de ultrassons a 50Hz, 200 W/15 min.); (S) ultrassons + ácido peracético, de forma sucessiva (imersão em água num banho de ultrassons a 50Hz, 200 W/7,5 min., seguido da imersão numa solução de ácido peracético a 262 p.p.m./7,5 min.). Imediatamente após os tratamentos (T0) e após 30, 60 e 90 dias de armazenamento das castanhas numa câmara de refrigeração industrial (a 0 - 2 °C e sem controlo da humidade relativa do ar), amostras de castanhas tratadas foram submetidas a análises físico-químicas (cor, textura, perda de massa, atividade da água, teor de humidade e teor de cinza) e microbiológicas (microrganismos a 30 °C e bolores e leveduras). Os resultados obtidos mostraram que os diferentes tratamentos pós-colheita aplicados tiveram efeitos distintos nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos das castanhas ao longo de 3 meses de armazenamento. No final do período de armazenamento (90 dias), o tratamento de ácido peracético (P),

apresentou os menores valores de perda de massa, com as diferenças a terem significado estatístico. O tratamento convencional (Q) foi o que mais promoveu a desidratação das castanhas. Os tratamentos testados não tiveram impacto na atividade da água, nem no teor de cinzas. O tipo de tratamento influenciou cor externa das castanhas nos parâmetros L^* , b^* e C^* , enquanto o fator tempo (de conservação), influencia mais a coordenada a^* e a tonalidade (h). O tratamento só com o ácido peracético (P) apresentou, de um modo geral, as menores contagens de microrganismos durante o armazenamento, mostrando ser o melhor método de preservação das castanhas. Deste modo, este método poderá constituir uma alternativa ou um complemento na descontaminação de castanhas na fase pós-colheita.

Palavras-chave: Castanha, conservação, pós-colheita, indicadores de qualidade, descontaminação.

Abstract

Fresh chestnuts, being very susceptible to weight loss and to insect damage and fungal decay in the post-harvest phase, have a limited shelf life. The post-harvest preservation methods of fresh chestnuts currently used commercially present relevant limitations. Currently, their postharvest conservation is done through storage at room temperature or under refrigeration temperatures and high relative humidities (90-95%). But before marketing, industrial operators subject fresh chestnuts to hot water treatment to increase their conservation and food safety, especially chestnuts destined for export. In view of the economic importance of this fruit in Portugal, efforts are justified to explore alternative or complementary methods to existing ones, which allow fresh chestnuts of satisfactory quality to be made available to the market in the weeks following harvest. By achieving this, its waste and economic losses along the chain will be reduced.

Thus, this study aimed to explore the use of ultrasound, as a washing technique, and the use of peracetic acid, as a disinfectant agent, to increase the conservation of fresh chestnuts, alone or together. Fresh chestnuts of the Longal variety were used, which were subjected to the following treatments: (Q) heat (immersion in a hot water bath at 50 °C/45 min.); (P) peracetic acid (immersion in a peracetic acid bath at 262 p.p.m./15 min.); (U) ultrasound (immersion in water in an ultrasound bath at 50 Hz, 200 W/15 min.); (UP) ultrasound and peracetic acid, simultaneously (immersion in peracetic acid solution at 262 p.p.m., in an ultrasonic bath at 50Hz, 200 W/15 min.); (S) ultrasound + peracetic acid, successively (immersion in water in an ultrasonic bath at 50Hz, 200 W/7.5 min, followed by immersion in a peracetic acid solution at 262 p.p.m./7.5 min). Immediately after the treatments (T0) and after 30, 60 and 90 days of storage of the chestnuts in an industrial refrigeration chamber (at 0 - 2 °C and without control of relative humidity), samples of treated chestnuts were submitted to physicochemical (color, texture, mass loss, water activity, moisture content and ash content) and microbiological (microorganisms at 30 °C and molds and yeasts) analyses. The results obtained showed that the different postharvest treatments applied had different effects on the physicochemical and microbiological parameters of the nuts over 3 months of storage. At the end of the storage period (90 days), the peracetic acid treatment (P) presented the lowest values of mass loss, with the differences having statistical significance. The conventional treatment (Q) was the one that most promoted dehydration of the nuts. The treatments tested had no impact on water activity or ash

content. The type of treatment influenced the external color of the nuts in the parameters L^* , b^* and C^* , while the time factor (conservation), influences more the coordinate a^* and the hue (h). The treatment only with peracetic acid (P) presented, in general, the lowest counts of microorganisms during storage, showing to be the best method of preservation of nuts. Thus, this method may be an alternative or a complement in the decontamination of chestnuts in the post-harvest phase.

Keywords: Chestnut, conservation, post-harvest, quality indicators, decontamination.

Índice

RESUMO	IV
ABSTRACT	VI
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 IMPORTÂNCIA DA CASTANHA.....	1
1.2 PROBLEMAS DE CONSERVAÇÃO DA CASTANHA FRESCA	3
1.3 MÉTODOS APLICADOS À CASTANHA APÓS A COLHEITA	4
1.3.1 “Cura” ou “esterilização” com água fria	5
1.3.2 Tratamento hidrotérmico ou “cura” com água quente.....	6
1.3.3 Conservação em câmara frigorífica.....	7
1.3.4 Conservação em câmara de atmosfera controlada (AC)	8
1.3.5 Conservação em atmosfera modificada (AM).....	9
1.4 PRINCIPAIS MÉTODOS TESTADOS NA HIGIENIZAÇÃO E DESINFESTAÇÃO PÓS- COLHEITA DE MATÉRIAS-PRIMAS DE ORIGEM VEGETAL FRESCAS	10
1.4.1 Métodos químicos	14
1.4.1.1 Desinfetantes à base de cloro.....	14
1.4.1.2 Peróxido de hidrogénio.....	15
1.4.1.3 Ácido peracético	16
1.4.1.4 Água eletrolisada	21
1.4.1.5 Ozono	21
1.4.1.6 Ácidos orgânicos	22
1.4.2 Métodos físicos.....	23
1.4.2.1 Ultrassom.....	23
1.4.2.2 Alta pressão hidrostática.....	25
1.4.2.3 Radiação ultravioleta	25
1.4.2.4 Irradiação gama	26
1.4.2.5 Vapor	26
1.4.2.6 Radiofrequência (RF)	27
2 OBJETIVOS.....	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1 AMOSTRAS	29
3.2 TRATAMENTOS APLICADOS ÀS CASTANHAS	30
3.2.1 Calor	31
3.2.2 Ácido peracético	31
3.2.3 Ultrassons	32
3.2.4 Ultrassons e ácido peracético em simultâneo	32
3.2.5 Ultrassons e ácido peracético sucessivamente.....	32
3.3 AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	33
3.3.1 Perda de massa	33
3.3.2 Atividade da água (a_w).....	33
3.3.3 Teor de humidade e teor de cinza bruta.....	34
3.3.4 Cor	34
3.3.5 Textura.....	35

3.4	AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS	36
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
4	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	37
4.1	EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE OS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS AVALIADOS NAS CASTANHAS	37
4.1.1	Perda de massa	37
4.1.2	Teor de humidade e atividade da água	38
4.1.3	Teor de cinza	40
4.1.4	Avaliação instrumental da textura	42
4.1.5	Avaliação instrumental da cor	46
4.2	EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A CARGA MICROBIANA DAS CASTANHAS DURANTE O ARMAZENAMENTO	49
5	CONCLUSÃO.....	53
6	REFERÊNCIAS	54
7	ANEXO	65

1 Introdução

1.1 Importância da castanha

O castanheiro europeu (*Castanea sativa* Mill.) é uma árvore caducifólia pertencente à família Fagaceae (Kim *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2017). Existem 12 espécies de castanheiro, sendo as quatro principais, a castanha chinesa (*C. molissima*), a japonesa (*C. crenata*), a europeia (*Castanea sativa* Mill.) e a americana (*C. dentata* Borkh) (Yadav *et al.*, 2021).

De acordo com dados da *Food and Agriculture Organization* (FAO), em 2021, a área total de cultivo de castanha (*Castanea* spp.) no mundo era de 595 703 hectares, e a produção total de castanha era de 2 406 903 toneladas (FAOSTAT, 2021). Entre os anos de 1994 e 2019, a China foi o principal país produtor do mundo, com uma média de 1 140 745,73 toneladas, seguida pela Coreia do Sul (77 257,27 toneladas), Turquia (58 951,85 toneladas), Bolívia (56 227,15) e Itália (56 225,96 toneladas). Neste mesmo intervalo de tempo, Portugal ocupou a sexta posição na lista dos maiores produtores mundiais de castanha, com uma média de 27 105,85 toneladas (FAOSTAT, 2021).

Em Portugal, a cultura da castanha é de elevada importância, sendo muito cultivada em regiões como Trás-os-Montes (Corregidor *et al.*, 2020) e Beira Interior, onde são encontradas as melhores condições climáticas e ecológicas para o desenvolvimento da espécie (Ferreira-Cardoso *et al.*, 1999). Segundo Corregidor *et al.* (2020) e Fernandes *et al.* (2020), esta cultura, de certa forma, também é responsável pelo desenvolvimento da região de Trás-os-Montes, uma vez que gera receitas que contribuem para isso. Os dados estatísticos mais recentes indicam uma produção total de 37146 toneladas de castanha fresca em Portugal em 2021, dos quais 77,60% na região norte, 19,22% na região centro e 1,28 % no Alentejo (INE, 2021).

De modo a valorizar a produção em Portugal, em 1994 foram criadas três Denominações de Origem Protegida: Castanha da Terra Fria DOP, Castanha dos Soutos da Lapa DOP e Castanha da Padrela DOP (Borges *et al.*, 2008), mas atualmente há mais uma: Castanha de Marvão-Portalegre DOP (Ribeiro, *et al.*, 2020a), na região do Alto Alentejo.

A castanha europeia ou castanha doce, é preferencialmente consumida fresca (na época da colheita), com métodos de confeção como a cozedura e assada, mas também pode ser congelada e consumida noutras épocas do ano (Suna *et al.*, 2021), possuindo benefícios

para a saúde associados ao seu consumo (Gulsunoglu-Konuskan *et al.*, 2021; Sirini *et al.*, 2022). Esses benefícios existem pelo facto da castanha fresca ter na sua composição nutricional, para além da água (entre 46,3 e 53,3%) um alto teor em amido (entre 38,6% e 47,9%) e um baixo teor em gordura (entre 1,73.% e 3,10%) (Borges *et al.*, 2008; Corregidor *et al.*, 2020), possuir um alto teor em fibra - que é tida como uma aliada na prevenção da obesidade, devido ao seu efeito no intestino,- e minerais como cobre, ferro, potássio, magnésio e manganês (Delgado *et al.*, 2017). Em Portugal, onde se produzia castanha antes das populações rurais disporem de eletricidade e dos equipamentos de frio domésticos, o consumo de castanha, fora da época, era feito a partir de castanha pilada.

Existe também um produto delicado, feito com castanha, chamado “marron-glacé”, que, não tendo tradição em Portugal, é muito apreciado há décadas em países como França, Itália e Espanha. Mas para além destas formas de consumo mais convencionais, a castanha é atualmente matéria-prima para variados produtos, designadamente, farinha (de castanha secada em secadores industriais) e produtos derivados (pães, bolos, massas alimentícias), purés, cremes e castanha de doces (por exemplo, bombons de chocolate com recheio e castanha), bebidas e outros produtos fermentados, como cerveja, licor, aguardente e vinagre de castanha (Ramalhosa *et al.*, 2020).

Adicionalmente, já se reportou que extratos obtidos a partir dos subprodutos da castanha, podem ser utilizados com segurança para aplicações na indústria alimentar e cosmética, representando assim uma alternativa à crescente procura por produtos antioxidantes naturais para uso na saúde (Vella *et al.*, 2018).

Também Squillaci *et al.* (2018) relataram o interesse da casca de castanha, que é um subproduto desvalorizado pela indústria. No seu estudo, foram usados resíduos desta casca para a obtenção de extratos fenólicos, com o objetivo de testar o seu potencial para serem usados na produção de cosméticos. Os extratos são ricos em ácido gálico e taninos e esses extratos demonstraram uma notável capacidade de eliminação de espécies reativas de oxigénio, tendo concluído que os extratos da casca de castanha têm potencial para serem usados no desenvolvimento de cosméticos para cuidados com a pele.

Em termos agro-florestais, na Europa, o castanheiro é uma cultura que tem estado sob ameaça. Doenças como a doença da tinta (provocada por oomicetas do género *Phytophthora* spp.) (Camisón *et al.*, 2019), o cancro do castanheiro (provocado pelo fungo *Cryphonectria parasitica*) (Pérez-Sierra *et al.*, 2020), a vespa-das-galhas-do-

castanheiro (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu) (Pérez-Sierra *et al.*, 2020) e *Gnomoniopsis smithogilvyi* (Coelho & Gouveia, 2021) representam ameaças atuais à espécie. *Gnomoniopsis smithogilvyi* é o agente causal de uma das principais doenças, conhecida como “podridão castanha” do fruto, levando a enormes prejuízos para os produtores. Em Portugal, o primeiro relato de isolamento de *G. smithogilvyi* foi em 2017 por Coelho & Gouveia (2017), e mais recentemente por Driss (2019) e Possamai (2020). Porém, a sua presença já vem sendo relatada, desde 2008, na Austrália, Nova Zelândia, Ásia, e em algumas regiões da Europa, como Itália, França, Espanha (Coelho & Gouveia, 2021; Vettraino *et al.*, 2019; Possamai *et al.*, 2023).

1.2 Problemas de conservação da castanha fresca

Em Portugal, o ciclo anual da cultura decorre de abril a novembro, passando por diferentes estados fenológicos. No final, após o engrossamento do ouriço, ocorre a maturação: deiscência do ouriço e queda das castanhas (Costa, 2020). Ao caírem ao chão, as castanhas tornam-se suscetíveis a deterioração, pois há uma rápida perda de humidade e, estando no chão, pode ser acompanhada de ataque de parasitas que, em conjunto, põem em causa a qualidade da castanha (Migliorini *et al.*, 2010), para além do contacto com um grande número de inóculos de patógenos presentes no solo (Possamai, 2020). Estima-se que seja no intervalo entre a queda dos ouriços ao chão e a colheita, que ocorra a maioria das infeções das castanhas por microrganismos de deterioração (Possamai, 2020), especialmente quando a coleta dos frutos decorre em períodos chuvosos, em que cerca de 30% da safra pode ser comprometida (Moscetti *et al.*, 2014a). Constatou-se já que gravidade das infeções por fungos varia, dependendo de muitos fatores, como: humidade relativa e temperatura do ar, precipitação e outros fatores meteorológicos; constrangimentos bióticos; a cultivar em questão; e as condições de armazenamento (Moscetti *et al.*, 2014b). Os produtores e a indústria da castanha enfrentam, pois, vários problemas durante a sua armazenagem (Massantini *et al.*, 2021), uma vez que as castanhas secam com certa facilidade, levando à diminuição do sabor e são muito sensíveis a crescimento de fungos (Fernandes, *et al.*, 2020a). As castanhas frescas podem ser consideradas perecíveis (ou semi-perecíveis) pela sua elevada atividade da água, atividade enzimática, e teor de açúcares, que fazem com que sejam muitos suscetíveis a danos por insetos e decomposição fúngica pós-colheita (Di Girolamo *et al.*, 2021).

De facto, os maiores problemas no armazenamento das castanhas são, para além da perda de água, a presença de larvas de insetos e o desenvolvimentos de fungos, que podem levar a distúrbios internos, com efeito negativo sobre a qualidade das castanhas (Ertan *et al.*, 2015), como se mostra na Figura 1.



Aurvo Gomes, 2022

Figura 1 - Castanhas contaminadas por fungos e infestada por larvas.

1.3 Métodos aplicados à castanha após a colheita

Tendo em conta a estrutura do fruto, o facto de ser colhido diretamente do solo, a composição química, com elevada atividade da água, aliado a um pH favorável ao desenvolvimento microbiano, é quase inevitável que surjam problemas de conservação da castanha fresca. Segundo Delgado *et al.* (2018), o facto de ser uma matéria-prima sazonal também contribui para comprometer a sua disponibilidade e qualidade ao longo do ano.

Com o objetivo de aumentar o tempo de vida útil das castanhas na fase pós-colheita, os métodos usados há mais tempo são a chamada “cura” em água fria e a “cura” em água quente (Bounous, 2002; Mencarelli, 2003; Pino-Hernández *et al.*, 2021).

Antes de ser proibida a utilização do brometo de metilo – por ser tóxico para a saúde humana e para o meio ambiente - este composto era amplamente usado como desinfetante no tratamento pós-colheita de diversos produtos agrícolas, incluindo castanhas frescas, numa técnica denominada fumigação (Henriques, 2017).

Esta era uma técnica de desinfestação muito usada, com o objetivo de prolongar a conservação das castanhas e deixá-las em condições de serem exportadas. Esta técnica era dotada de grande versatilidade, uma vez que podia ser usada para controlar um amplo espectro de pragas, incluindo ervas daninhas, insetos, roedores, nemátodes, etc. (UNEP, 2014), mas também vírus, fungos, entre outros. Mas devido à sua ação nefasta no ambiente e nos seres humanos, foi proibida (Ortiz *et al.*, 2018).

O tratado internacional conhecido como *Protocolo de Montreal*, é um acordo global que visa proteger a camada de ozono estratosférico através da eliminação progressiva dos compostos químicos que a empobrecem (ODS - *ozone depleting substances*) - de entre os quais, o brometo de metilo - e desde que entrou em vigor, em 1989, visou-se a diminuição gradual do seu uso ao longo dos anos, apontando a sua proibição total até ao ano de 2005 (Schneider *et al.*, 2003). Mas por ser difícil encontrar uma alternativa à altura, esse prazo veio sendo alargado. Atualmente, a sua utilização é proibida na União Europeia na conservação de castanhas, desde março de 2010 (Carocho *et al.*, 2013). Com a sua proibição, surgiu a necessidade de encontrar e desenvolver alternativas de conservação mais ecológicas e inócuas à saúde humana.

1.3.1 “Cura” ou “esterilização” com água fria

Este é um método que se denomina “*novena*” porque se baseia na imersão das castanhas em água fria por um período de até 9 dias. Este método tem dois objetivos concretos: 1) a redução da possibilidade de desenvolvimento de fungos na fase de armazenamento e 2) a tentativa de eliminação das larvas na castanha (Mencarelli, 2003). A maioria das castanhas podres, ocas ou danificadas, são eliminadas, uma vez que têm tendência a flutuar, enquanto as sãs, por outro lado, afundam-se (Ertan *et al.*, 2015). Para que se obtenham bons resultados, é necessário primeiramente mergulhar as castanhas em água a aproximadamente 15 °C e deixar repousar por três a sete dias. Após esse tempo, retiram-se as castanhas da água, repousando-as espalhadas em filme plástico para que estas

seque com as correntes de ar e ir girando-as diariamente. É preferível que a humidade externa seja baixa e a temperatura seja alta, e se assim não for, recomenda-se que se faça fluxo de ar, por exemplo, entre duas janelas (Mencarelli, 2003). Alguns estudos demonstraram que a preservação pode resultar da diminuição do pH, resultante da leve fermentação causada por bactérias do ácido láctico no fruto, uma vez que uma diminuição do pH da água pode levar à inibição do crescimento de bolores e outros patogénicos nos frutos (Migliorini *et al.*, 2010).

A cura das castanhas afeta imensamente o seu metabolismo, provocando mudanças significativas que podem ser o motivo do efeito antisséptico dessa “cura”. De entre essas mudanças estão o aumento de CO₂, o aumento de polifenóis e de acetaldeído, que deve estar relacionado com um aumento do ácido láctico (Botondi *et al.*, 2009). Migliorini *et al.* (2010) concluíram que, após passar pelo processo de “cura”, há uma diminuição da perda de água na fase de armazenamento, o que implica uma maior vida útil das castanhas.

1.3.2 Tratamento hidrotérmico ou “cura” com água quente

O tratamento térmico pós-colheita com imersão em água quente, combinado com o armazenamento refrigerado pode ser usado como tratamento físico para o controlo de agentes fúngicos, particularmente os patogénicos, uma vez que a maioria dos esporos de fungos se encontram na superfície ou nas camadas mais externas das frutas e vegetais (Ban *et al.*, 2015). Pode-se controlar a deterioração pós-colheita com base no uso de água a temperatura superior a 40 °C. O uso de água quente com essa função pode ser implementado sem muitas complicações porque é uma técnica segura, isto é, não causa danos ao Homem nem ao meio ambiente, tornando-a muito adequada para o tratamento pós-colheita de produtos em que o mercado exige o mínimo tratamento químico (Usall *et al.*, 2016). De entre os métodos em que se recorre ao calor, este é dos mais baratos, sendo usado no controlo de pragas em diferentes frutas, uma vez que constitui uma boa alternativa em frutas que são sensíveis a tratamentos com baixas temperaturas (Bokhary *et al.*, 2020; Usall *et al.*, 2016).

Relativamente às castanhas, esta técnica, que também é chamada como “esterilização” com água quente, as castanhas são colocadas em gaiolas de aço, e estas últimas são imersas em água a 50 °C, que é a temperatura máxima suportada pelas castanhas, por 45

minutos, que é o tempo necessário para matar larvas e insetos que possam estar presentes, seguidos de um banho em água fria, para baixar a sua temperatura. Nesta fase do processo, as castanhas que permanecerem flutuando devem ser retiradas, porque não estão em boas condições (Henriques, 2017). Este processo pode ser usado antes da cura com água fria como também pode substituí-la. Costuma ser mais usado em castanhas cujo destino é a exportação (Bounous, 2002). Mas segundo Massantini *et al.* (2021), o tratamento hidrotérmico pode favorecer o desenvolvimento de bolores pós-colheita.

Em Portugal, este é o método que a Direcção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) impõe seguir às Centrais de Armazenagem e Embalagem de castanha para exportação. O manual de procedimentos estabelecido pela DGAV refere que, de forma a exportar castanha livre de insetos ou larvas vivas de bichado (*Cydia pomonella*, *Cydia flagiglandana*, *Cydia splendana*) e gorgulho (*Curculio elephas*), estas centrais têm de demonstrar que realizam um tratamento com água quente em sistema contínuo, com água a uma temperatura igual ou superior a 48 °C, durante 45 minutos. Já nas exportações de Portugal para o Canadá, exige-se um tratamento com água quente igual ou superior a 50 °C, durante 45 minutos. Após este tratamento, a castanha deve ser rapidamente arrefecida e o excesso de água retirado (DGAV, 2018; Ramalhosa *et al.*, 2020).

1.3.3 Conservação em câmara frigorífica

Presentemente, este é o método generalizado em Portugal, entre os operadores económicos que atuam na fileira da castanha. O armazenamento da castanha fresca é feito acondicionando-a, a granel, em caixas plásticas - comumente designadas por palotes ou “paloxes” - a temperaturas baixas (entre -1 e 0 °C) e humidades relativas elevadas, em torno dos 90-95%. Nestas situações é possível manter a castanha em boas condições durante cerca de 4 meses (Kader, 2003; Mencarelli, 2001).

Num documento técnico francês (Chambre d’Agriculture de la Corrèze, 2009), refere-se a utilização da câmara a uma temperatura de refrigeração - entre 0 e +2°C - ou então a temperaturas ligeiramente negativas: -2°C a -3°C. A higrometria recomendada situa-se entre 85 a 90% de humidade relativa, com uso de ventilação forte e constante.

1.3.4 Conservação em câmara de atmosfera controlada (AC)

A tecnologia de Atmosfera Controlada (AC) baseia-se na redução da atividade metabólica das castanhas por redução do teor de oxigénio e aumento do teor de dióxido de carbono na atmosfera envolvente dos frutos, fazendo-se um controlo preciso da composição desta atmosfera numa câmara especificamente preparada para o efeito, que assegure hermeticidade e a manutenção de uma temperatura de refrigeração ou mesmo negativa. Nestas condições, a atividade respiratória das castanhas diminui drasticamente e, conseqüentemente, o seu metabolismo.

A operação desta técnica requer experiência e deve ser ajustada às características de cada produto. No caso das castanhas frescas, está indicado na literatura proceder em duas etapas (Kader, 2003; Mencarelli, 2001): 1.^a etapa – fazer uma exposição inicial dos frutos a uma atmosfera composta por 40-50% CO₂, entre 5 – 7 dias, a 0 °C; 2.^a etapa – adotar as condições finais de armazenamento - atmosfera composta por 15-20% CO₂ e 2-3% de O₂, a uma temperatura entre -1 e 0 °C.

Já a Câmara de Agricultura de Corrèze (em França), na sua nota técnica, recomenda para castanhas frescas, temperaturas entre +1° e -1°C, não havendo indicação da composição gasosa a adotar (Chambre d'Agriculture de la Corrèze, 2009).

Num estudo desenvolvido com a variedade italiana *Marrone Fiorentino*, Cecchini *et al.* (2011) fazem uma comparação das vantagens e desvantagens entre o armazenamento de castanha fresca em atmosfera normal (composição da atmosfera: 21% O₂ e 0,03% CO₂) e atmosfera controlada (composição da atmosfera: 3% O₂ e 15% CO₂), em câmara, à mesma temperatura (-1 °C) e humidade relativa (90%). Evidenciou-se que a AC: permitiu manter a firmeza da castanhas; não afetou a facilidade de remoção da casca e a doçura; e apresentou melhor aspeto visual e menor desenvolvimento de bolores relativamente às castanhas armazenadas em atmosfera normal. O aspecto desfavorável da AC consistiu no desenvolvimento de um aroma alterado nos frutos. Já as castanhas armazenadas em atmosfera normal – nas mesmas condições – desenvolveram um maior amarelecimento dos frutos e apresentaram uma perda de massa superior (3,05 % ± 0,56) relativamente aos frutos armazenados em AC.

1.3.5 Conservação em atmosfera modificada (AM)

Neste método, os frutos são acondicionados em embalagens ou recipientes fechados, cuja atmosfera inicial se modifica, sendo distinta da atmosfera normal; uma vez selada a embalagem, não é possível controlar mais a sua composição, evoluindo de acordo com a atividade metabólica dos frutos.

No caso das castanhas, há experiência nesta técnica, registando-se bons resultados sanitários com lotes de castanhas sãs (no início) e constatando-se uma redução significativa do potencial fúngico, dependendo da variedade. Adicionalmente, nenhuma perda de peso é registada e o valor gustativo é positivo pelo ganho de açúcares e de sabor (Chambre d'Agriculture de la Corrèze, 2009).

Desconhece-se a extensão da utilização destes dois últimos métodos – AC e AM - em Portugal e a forma como os operadores da fileira eventualmente procedem na prática. Pelo menos, da vasta pesquisa feita, não foi possível obter essa informação. No Manual Técnico do Castanheiro (capítulo “Estado da Transformação”) editado pelo Centro Nacional de Competência dos Frutos Secos (Henriques, 2017), apenas se afirma ser cada vez mais utilizada a técnica de AC, pois é capaz de reduzir as perdas na pós-colheita e de manter o valor nutritivo e as características organolépticas dos produtos alimentares, observando-se geralmente, que estas atmosferas diminuem o crescimento fúngico, a esporulação e a produção de aflatoxinas.

Contudo, as técnicas AC e AM comportam custos acrescidos aos agentes económicos (câmaras adaptadas, equipamentos, gases, etc.), admitindo-se que só a partir de uma determinada escala, possam ser economicamente viáveis.

Já os tratamentos com a água fria ou a água quente, apresentam também algumas desvantagens. Segundo Jermini *et al.* (2006), enquanto a “esterilização” com água fria (15 °C, 8 dias) ocupa bastante espaço, reduz a doçura e o aroma dos frutos e não garante a eliminação total de larvas de *Curculio elephas* (gorgulho), a “esterilização” com água quente (45-48 °C/45 minutos) exige equipamento apropriado e é mais intensiva em termos de trabalho (e de energia), ainda que controle, de forma (quase) completa, as larvas dos insetos.

Estas desvantagens, somadas ao interesse da agroindústria na melhoria da conservação da castanha, a procura por alimentos de elevada qualidade, seguros e com uma extensa

vida útil e as preocupações ecológicas, continuam a exigir a busca por novas tecnologias e metodologias de processamento pós-colheita para castanhas. Assim, têm-se estudado alternativas a aplicar à castanha fresca, como se mostrará a seguir.

1.4 Principais métodos testados na higienização e desinfestação pós-colheita de matérias-primas de origem vegetal frescas

Numerosos estudos têm sido feitos com o intuito de alcançar novos métodos de higienização e desinfestação pós-colheita de produtos de origem vegetal frescos, no sentido de aumentar o seu período de conservação. Na Tabela 1 estão listados alguns desses estudos, que incluem os métodos de tratamento pós-colheita e os respectivos efeitos sobre os produtos testados, incluindo castanhas frescas.

Distinguem-se, basicamente, métodos químicos, métodos físicos e mistos. Nos químicos, habitualmente a água incorpora princípios desinfetantes nela dissolvidos, tais como, cloro, ácido peracético (ou peroxiacético), água eletrolisada, peróxido de hidrogênio, entre outros, que têm sido utilizados para higienizar frutas e vegetais frescos. Já os métodos físicos mais estudados baseiam-se na aplicação de radiação gama, aquecimento ôhmico, radiofrequência e ultrassons.

A maioria destas metodologias não térmicas são baseadas em processos de oxidação avançados, como geração de radicais livres, que podem auxiliar na morte de microrganismos e acabam por afetar menos as qualidades nutricionais e sensoriais dos produtos (Bhilwadikar *et al.*, 2019).

As alternativas indicadas, estão aprovadas, de uma forma ou outra, para uso em algumas funções de contato com alimentos. Nos EUA, os desinfetantes são regulamentados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), pela *Food and Drug Administration* (FDA) e por agências estaduais. Na Europa, a *European Food Safety Authority* (EFSA) é a agência independente que aconselha as autoridades europeias sobre os riscos associados à cadeia alimentar e à segurança de todos os aditivos alimentares e produtos fitofarmacêuticos autorizados na União Europeia. Mas são os Estados-Membros europeus, os responsáveis por controlar o uso de desinfetantes de acordo com as recomendações da EFSA (Feliziani, Lichter, Smilanick, & Ippolito, 2016).

Tabela 1 - Lista, não exaustiva, de estudos sobre os principais métodos de tratamento estudados com a finalidade de higienizar e/ou desinfestar, em pós-colheita, matérias-primas vegetais frescas. A negrito assinalam-se estudos feitos em castanha fresca.

Princípio usado no tratamento	Matriz	Condições ensaiadas	Organismo-alvo	Redução microbiana alcançada	Referência
Formulação à base de cinamaldeído	Citrinos	2% / 2 min	<i>Xanthomonas citri</i>	-4 log ₁₀ UFC/mL	Zamuner <i>et al.</i> , 2020
Dióxido de cloro	Citrinos	70 ppm / 1- 2 min	<i>Xanthomonas citri</i>	2,0 a 3,0 log ₁₀ CFU/mL	Behlau <i>et al.</i> , 2021
Oxicloreto de cálcio	Citrinos	200 ppm / 1- 2 min	<i>Xanthomonas citri</i>	2,0 a 3,0 log ₁₀ CFU/mL	Behlau <i>et al.</i> , 2021
Ácido peroxiacético	Citrinos	100 ppm / 1- 2 min	<i>Xanthomonas citri</i>	2,0 a 3,0 log ₁₀ CFU mL	Behlau <i>et al.</i> , 2021
Ozono	Alface	5 ppm / 5 min	<i>E. coli</i> O157: H7	1,09 log ₁₀ CFU/g	Yuk <i>et al.</i> , 2006
Ozono	Alface	5 ppm / 5 min	<i>L. monocytogenes</i>	0,94 log ₁₀ CFU/g	Yuk <i>et al.</i> , 2006
Ozono e ácido cítrico	Alface	3 ppm ozono + 1% ác. cítrico/1 min	<i>E. coli</i> O157: H7	2.31 log ₁₀ CFU/g	Yuk <i>et al.</i> , 2006
Ozono e ácido cítrico	Alface	3 ppm ozono+ 1% ác. cítrico/1 min	<i>L. monocytogenes</i>	1,84 log ₁₀ CFU/g	Yuk <i>et al.</i> , 2006
Vapor de peróxido de hidrogénio	Alface	10% / 10 min	<i>S. typhimurium</i>	3,12 log ₁₀ CFU/g	Back <i>et al.</i> , 2014
Vapor de peróxido de hidrogénio	Alface	10% / 10 min	<i>E. coli</i> O157: H7	3,15 log ₁₀ CFU/g	Back <i>et al.</i> , 2014
Vapor de peróxido de hidrogénio	Alface	10% / 10 min	<i>L. monocytogenes</i>	2,95 log ₁₀ CFU / g	Back <i>et al.</i> , 2014
Ultrassom	Sumo de manga	20 kHz, 600W / 10 min	Bactérias patogénicas	Extinção completa de bactérias patogénicas	J. Wang <i>et al.</i> , 2020
Aquecimento óhmico	Castanha (<i>C. sativa</i> Mill.)	55 °C/3,33 min	Mesófilos aeróbios	0 CFU	Pino-Hernández <i>et al.</i> , 2021
Água eletrolizada	Castanha (<i>C. sativa</i> Mill.)	470 mg/L	Mesófilos aeróbios	1,61log ₁₀ CFU / g	Kim <i>et al.</i> , 2019

Princípio usado no tratamento	Matriz	Condições ensaiadas	Organismo-alvo	Redução microbiana alcançada	Referência
Água eletrolizada	Castanha (<i>C. sativa</i> Mill.)	470 mg/l	Bolores e leveduras	1,65 log ₁₀ CFU / g	Kim <i>et al.</i> , 2019
Água quente	Castanha	70°C ± 0,5°C, 80°C ± 0,5°C e 90°C ± 0,5°C por 5 e 10 min	Bolores	Água quente a 70° e 80°C não controlou o crescimento fúngico	Panagou <i>et al.</i> , 2005
Hipoclorito de sódio	Castanha	Imersão em soluções de cloro de 100 e 150 mg/L a 25°C por 15, 30 e 45 min	Bolores	Cloração com solução de hipoclorito de sódio reduziu a incidência de infecção (150 mg/L para 45 min reduziu a infecção em 68%)	Panagou <i>et al.</i> , 2005
Ácidos sórbico e propiónico	Castanha	Imersão em soluções independentes de ácidos sórbico e propiónico a 1, 2 ou 3% (p/v) durante 1 min	Bolores	Os ácidos sórbico e propiónico foram muito eficazes na suprimir o crescimento fúngico, mesmo na menor concentração aplicada (1% (p/v) por 1 min); ácido sórbico com maior eficácia que o ácido propiónico	Panagou <i>et al.</i> , 2005
Natamicina	Castanha	Imersão em soluções de natamicina (50, 100, 150 ou 200 mg/L) durante 1 min	Bolores	A natamicina controla completamente a infecção fúngica, mesmo na concentração mais baixa de 50 mg/L	Panagou <i>et al.</i> , 2005
Calor + atmosferas de CO2 ou N2	Castanha		Bichado-da-castanha (<i>Cydia splendana</i> (Hübner))		Luroi <i>et al.</i> (2016)
Radiofrequência + calor	Castanha (<i>C. molíssima</i>)	Radiofrequência + ar a 50°C/5 min + 2 pausas para homogeneização	<i>Conogethes punctiferalis</i>	100% de mortalidade	Hou <i>et al.</i> , 2021
	Castanha	Alginato (2%, m/v) / 1 min	Bolores e leveduras	≤1 log ₁₀ CFU	Fernandes <i>et al.</i> , 2020a

Princípio usado no tratamento	Matriz	Condições ensaiadas	Organismo-alvo	Redução microbiana alcançada	Referência
Revestimentos comestíveis	(C. sativa Mill.)	Quitosano (2%, m/v)/ 1 min			
		Proteína de soro (2.5% v/v)			
Radiação gamma	Tomate, cebola e pimentão	5KGy	Coliformes	Não detetado	Bandyopadhyay <i>et al.</i> , 2020
			Mesófilos aeróbios		
			Bolores e leveduras		
Radiação gama	Páprica	4 KGy	<i>Botrytis cinerea</i>	100% de mortalidade	M. Yoon <i>et al.</i> , 2014
Vapor	Pitaia	49°C/70 min	<i>Planococcus lilacinus</i>	Não detetado	Ren <i>et al.</i> , 2021
Cloro comercial	Espinafres	300 ppm/3 min	<i>E. coli</i> O157:H7	<1 log ₁₀ CFU	Niemira, 2007
Peróxido de Hidrogénio	Folha de gergelim	2 %/10 min	Mesófilos aeróbios	1,5 log ₁₀ CFU	Yeon <i>et al.</i> , 2005
			Coliformes	1,7 log ₁₀ CFU	
			<i>E. coli</i>	0,8 log ₁₀ CFU	
			<i>S.Typhimurium</i>	0,9 log ₁₀ CFU	
			<i>L. monocytogenes</i>	1,0 log ₁₀ CFU	
Ácido peroxiacético	Maçã	80 ppm, 17–22 °C / 1 min	<i>E. faecium</i> NRRL B-2354	1,12–1,32 log ₁₀ CFU	Shen <i>et al.</i> , 2020
Cloreto de sódio acidificado	Folhas de Tatsoi	500 ppm/1 min	<i>E. coli</i> O157:H7	1,9 log ₁₀ CFU	Tomás-Callejas <i>et al.</i> , 2012
Ácido málico	Limonada	0,5 %	<i>L. monocytogenes</i>	2,4 log ₁₀ CFU	Hashemi & Jafarpour, 2020

1.4.1 Métodos químicos

1.4.1.1 Desinfetantes à base de cloro

Uma vez que os produtos frescos, como frutas e vegetais se contaminam facilmente, de modo a controlar essas possíveis contaminações, a indústria alimentar faz uso de soluções comerciais à base de cloro para proceder à sua higienização. Essas soluções à base cloro inativam os microrganismos ao fazer variar a permeabilidade da membrana, ou causando danos ao ADN, ou interferindo com a síntese da parede celular (Yoon & Lee, 2018).

As soluções desinfetantes mais frequentemente usadas no mundo para diminuir o número de microrganismos nas superfícies de frutas e vegetais colhidos, têm na sua constituição cloro (Behlau *et al.*, 2021; Yoon & Lee, 2018); no entanto, quando utilizado no tratamento de produtos frescos contaminados com patogénicos, os efeitos foram muitos variáveis. Segundo o painel consultivo científico da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América, um tratamento só é considerado significativo se, da sua aplicação, obtivermos uma diminuição da carga microbiana de 2 *logs* ou mais (Bhilwadikar *et al.*, 2019). Sendo assim, o uso dessa metodologia pode não ser assim tão eficiente contra alguns patogénicos. Depois de analisar exaustivamente diversos artigos onde foram estudados os efeitos de cloro comercial, hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio, Yoon & Lee, (2018) observaram que, em média, as diminuições da carga microbiana após aplicação deste método eram de $\leq 1,2 \log_{10}$ UFC/g e que a atividade antimicrobiana dos desinfetantes à base de cloro não era afetada pela variação da concentração desses agentes desinfetantes, nem pelo aumento do tempo de tratamento a que os produtos frescos eram submetidos, independente das estirpes de microrganismos envolvidas e dos produtos frescos testados.

Esses compostos à base de cloro apresentam como vantagens, o preço relativamente baixo, a praticidade - uma vez que pode ser implementada em operações de qualquer tamanho ou escala, a ação de contato e ser não sistémica (Behlau *et al.*, 2021). Como desvantagens encontram-se: a volatilidade do cloro dissociado do hipoclorito de sódio, que faz com que perca a sua eficiência ao ligar-se à matéria orgânica, a formação de potenciais compostos carcinogénicos a partir do uso de hipoclorito, a corrosão de equipamentos e libertação de gás prejudicial à saúde dos colaboradores (Zamuner *et al.*, 2020) e ainda a reprovação por parte de alguns clientes devido ao cheiro que resulta do tratamento (Bhilwadikar *et al.*, 2019).

Nos últimos anos, têm-se dedicado esforços de investigação na procura de alternativas ao uso de desinfetantes à base de cloro. O cloro (Cl_2) ou o hipoclorito (OCl^-) em solução, são os desinfetantes aquosos mais comuns na indústria alimentar e na desinfecção de água potável, devido à sua eficácia contra microrganismos patogénicos. Para fins de desinfecção comercial, cloro gasoso, soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) ou hipoclorito de cálcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) são usados para fazer soluções aquosas de hipoclorito (Feliziani, Lichter, Smilanick, & Ippolito, 2016). No entanto, as crescentes preocupações da saúde pública sobre a possível formação de compostos orgânicos clorados e o surgimento de novos patogénicos mais tolerantes, têm levantado dúvidas em relação ao uso de cloro pela indústria (Allende *et al.*, 2008). De facto, na União Europeia, a lavagem de alimentos derivados de plantas com água desinfetada com cloro, pode ser permitida por regulamentos nacionais (EFSA, 2015), mas tendo em consideração essas preocupações, novos métodos de desinfecção de base química e física têm vindo a ser investigados, com o objetivo de garantir a obtenção de produtos seguros e a preços acessíveis à generalidade dos consumidores.

1.4.1.2 Peróxido de hidrogénio

O peróxido de hidrogénio é um biocida e esporicida eficaz (Fu *et al.*, 2012). O seu uso foi proposto como alternativa aos compostos químicos para tratamento pós-colheita de frutas e vegetais visando maior tempo de vida útil dos mesmos, uma vez que é “amigo” do ambiente e tem capacidade de oxidar fungos e bactérias (Bayoumi, 2008). Um dos principais motivos de sua popularidade como desinfetante está na sua capacidade de se transformar em água e oxigénio, sem deixar resíduos tóxicos (Bhilwadikar *et al.*, 2019). Ao contrário de outros tipos de biocidas, os mecanismos gerais de ação deste composto acabam por reduzir de forma significativa os riscos de desenvolvimento de resistência ao biocida ao longo do tempo (Ciriminna *et al.*, 2016). O seu uso pós-colheita permite reduzir a perda de massa, a taxa de podridão, melhorar a aparência geral, a qualidade nutricional, a vida útil dos frutos e, conseqüentemente, aumentar os lucros para os envolvidos na indústria (Bayoumi, 2008). Ciriminna *et al.* (2016) acreditam que, com a tendência de adoção de políticas ambientais rígidas por parte de muitos países do mundo, haverá um eventual aumento da produção de peróxido de hidrogénio e um declínio nos seus custos de produção. Num estudo levado a cabo por Back *et al.* (2014) com objetivo de avaliar a eficácia bactericida do vapor de peróxido de hidrogénio (HPV, do inglês *hydrogen peroxide vapor*), determinando a concentração deste vapor e o tempo de

exposição que seriam necessários para reduzir o número de *S. Typhimurium*, *E. coli* O157: H7 e *L. monocytogenes* em alface, os autores observaram que o HPV tem a capacidade de controlar efetivamente os microrganismos patogénicos na alface sem gerar níveis significativos de células lesadas, sem deixar resíduos e sem afetar a textura e a cor das alfaces.

1.4.1.3 Ácido peracético

O ácido peracético (PA, do inglês *peracetic acid*), de fórmula molecular C₂H₄O₃ ou CH₃COOOH, também conhecido como ácido peroxiacético ou ácido etaneperoxóico (nomenclatura IUPAC), é um composto obtido a partir do ácido acético, no qual o grupo OH é substituído por um grupo hidropoxi (Figura 2).



Figura 2 – Estrutura do ácido peracético: (a) conformação 3D; (b) estrutura 2D.

Fontes: (a) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Peracetic-acid>;

(b) <http://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:42530>

Este ácido é um líquido incolor com um odor acre forte e pungente, sendo um produto de uma reação de equilíbrio entre ácido acético e peróxido de hidrogénio: produzem-se soluções contendo ácido peracético, peróxido de hidrogénio, ácido acético e água, pela reação de ácido acético glacial com peróxido de hidrogénio, na presença de um catalisador (como um ácido mineral): ácido acético + peróxido de hidrogênio <--> ácido peracético + água (fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Peracetic-acid#section=Methods-of-Manufacturing>). Muitas vezes é usado como catalisador o ácido sulfúrico a 1% (Luukkonen & Pehkonen, 2017; Semedo, 2018):



O PA não é produzido no seu estado puro, estando, comercialmente disponível numa mistura aquosa ácida, em equilíbrio estável de ácido acético, peróxido de hidrogénio, ácido peracético e água, com concentrações de ácido peracético, tipicamente, entre 5 e 15 % p/p (Leverenz, 2006; Luukkonen e Pehkonen, 2016; Luukkonen *et al.*, 2014); 25% p/p de peróxido de hidrogénio e até 35% p/w de ácido acético e o restante é água. Os produtos

da degradação do PA são o ácido acético, peróxido de hidrogénio e água; por sua vez o ácido acético é biodegradável em dióxido de carbono, enquanto o peróxido de hidrogénio degrada-se em água e oxigénio - compostos atóxicos para os organismos aquáticos, podendo também originar alguns ácidos carboxílicos inócuos (Semedo, 2018). Os fatores que afetam a taxa de decomposição dos perácidos são: a concentração doseada, o modo de aplicação, a temperatura, o pH, a quantidade de matéria orgânica, a presença de sólidos ou iões de metais de transição, a salinidade e dureza da água. Este desinfetante é termodinamicamente instável e tem a capacidade de se decompor espontaneamente ou explodir quando altamente concentrado, aquecido, sob tensão mecânica ou exposto aos efeitos catalíticos das impurezas (Luukkonen e Pehkonen, 2017). É também corrosivo, afetando aço, cobre, latão, bronze e ferro galvanizado e pode afetar vinil e borracha, mas o vidro, fibras óticas, aço inoxidável, alumínio puro e alguns plásticos (PVC, PP, PE) são resistentes ao PA (Semedo, 2018). Por uma questão de segurança e estabilidade, a temperatura de armazenamento recomendada é inferior a 30 °C e deve ser armazenado nos recipientes originais (Kitis, 2004; Luukkonen e Pehkonen, 2017).

Sendo um líquido oxidante e desinfetante forte (Bang *et al.*, 2017; Luukkonen & Pehkonen, 2017), tem um potencial de oxidação maior do que o do cloro ou do dióxido de cloro, é límpido e sem capacidade de formação de espuma, mas com um odor muito forte a ácido acético (Kitis, 2004). Dotado de grande versatilidade, é usado em diversas áreas. Na área da saúde é usado como desinfetante para esterilização de endoscópios e para desinfecção de superfícies em hospitais (Luukkonen & Pehkonen, 2017); na indústria do papel e têxtil, é usado como agente de branqueamento (Bhilwadikar *et al.*, 2019) e na indústria química, é usado em processos de epoxidação e hidroxilação (Luukkonen & Pehkonen, 2017).

Na União Europeia (UE), o ácido peracético está aprovado como substância ativa para utilização em produtos biocidas do tipo 1 (produtos biocidas utilizados na higiene humana), do tipo 2 (desinfetantes utilizados nos domínios privado e da saúde pública e outros produtos biocidas), do tipo 3 (produtos biocidas utilizados na higiene veterinária), do tipo 4 (desinfetantes das superfícies em contacto com os géneros alimentícios e alimentos para animais), do tipo 5 (desinfetantes para água de consumo) e do tipo 6 (produtos de proteção de enlatados), nos termos de certas especificações e condições, definidas no Regulamento de Execução (UE) 2016/672 da Comissão, de 29 de abril de 2016. Neste regulamento, ressalva-se que produtos biocidas do tipo 4 não devem ser

incorporados em materiais e objetos destinados a entrar em contacto com alimentos, na aceção do artigo 1.º, n.º 1, do Regulamento (CE) n.º 1935/2004, a menos que a Comissão tenha estabelecido limites específicos aplicáveis à migração de ácido peracético para os alimentos ou se tenha concluído, em conformidade com o mesmo regulamento, não ser necessário fixá-los.

Está também aprovada na UE a utilização de ácido peracético como substância ativa em biocidas do tipo 11 (produtos de proteção de líquidos utilizados nos sistemas de arrefecimento e processamento) e do tipo 12 (produtos de proteção contra secreções viscosas), nos termos de certas especificações e condições (Regulamento de Execução (EU) 2016/2290 da comissão de 16 de dezembro de 2016).

Quanto à utilização direta sobre géneros alimentícios, a EFSA, num artigo publicado em 2014 da autoria do Painel para os Perigos Biológicos da EFSA (BIOHAZ), considera que o uso de soluções contendo ácido peracético para reduzir a contaminação de patogénicos em carcaças e carne de aves, não representa problemas de toxicidade, tendo os especialistas da EFSA também concluído que é improvável que o uso deste ácido leve ao surgimento de resistência a antimicrobianos e reduza a suscetibilidade a biocidas. Não manifestaram preocupações com riscos ambientais de todos os componentes da solução, exceto para HEDP (ácido 1-hidroxietilideno-1,1-difosfónico), que pode ser adicionado à formulação do ácido peracético para formar complexos com iões metálicos, evitando a destruição do ácido peroxiacético e do peróxido de hidrogénio. Em alguns casos, adiciona-se ácido octanóico, que funciona como tensoativo, e forma-se o ácido peroxioctanóico. É de salientar ainda que, neste estudo, constatou-se que algumas aplicações de tratamento com PA são mais eficazes do que outras; por exemplo, a imersão em banho é mais eficaz do que a pulverização (EFSA BIOHAZ Panel, 2014).

Esta mesma utilização como agente antimicrobiano em carcaças, partes, guarnições e órgãos de carne vermelha, está permitida nos Estados Unidos da América pela FDA, que aprova esta sua utilização na concentração máxima de 220 ppm como ácido peroxiacético, e na concentração máxima de 75 ppm de peróxido de hidrogénio (FDA, 2023a).

Este composto está também aprovado como desinfetante nos EUA pela FDA, em concentrações até 80 ppm, na água de lavagem de frutas e verduras que não estejam como produtos brutos, vindos do campo (FDA, 2023b), podendo ser usado como auxiliar na lavagem de produtos, sem necessidade de passar por água potável (Shen *et al.*, 2020). O

mesmo regulamento limita a 59 ppm e a 48 ppm as concentrações máximas de peróxido de hidrogénio e de HEDP. Neste país, por exemplo, o ácido peroxiacético tem sido usado por embaladores de maçã como biocida em tanque de descarga ou em *spray* de frutas (Kupferman, 2008).

Segundo dados estimados em 2013, a indústria alimentar, na época, ocupava o primeiro lugar de entre os maiores utilizadores de PA à escala global (Luukkonen & Pehkonen, 2017). Na indústria alimentar é usado principalmente como desinfetante em água de lavagem de produtos frescos e em processos de limpeza nos equipamentos de processamento de alimentos (Luukkonen & Pehkonen, 2017). A sua eficácia como desinfetante não está sujeita à variação de pH como a do cloro (Buchholz & Matthews, 2010), para além de que a sua estabilidade na presença de matéria orgânica e a ausência de risco de emissão de gases, faz com que o ácido peracético se destaque ainda mais em relação a outros desinfetantes (Gombas *et al.*, 2017).

Em 2017, Luukkonen e Pehkonen afirmavam que o PA mostrava potencial para substituir vários outros biocidas industriais,- nomeadamente, os que têm propriedades indesejáveis - possuindo as características desejadas num desinfetante ideal, como alta toxicidade para microrganismos mas pouca ou nenhuma toxicidade para formas de vida superiores; preço razoável e grande disponibilidade, estável ao longo do tempo e eficaz à temperatura ambiente.

Pensa-se que a sua ação de desinfeção e oxidação se baseia na formação de espécies de oxigénio altamente reativas (ROS), tais como o radical hidroxilo (HO•), o anião superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$), o radical hidroperóxido ($\text{HO}_2\bullet$), acilo e radicais perácidos. Os danos causados por PA numa célula viva e que podem resultar na morte dos microrganismos, baseiam-se sobretudo em (Luukkonen e Pehkonen, 2017):

- Oxidação de sulfidrilo (-SH), dissulfureto (S-S) e duplas ligações de proteínas, enzimas e outras biomoléculas;
- Inativação da enzima catalase, peroxidase e de outras enzimas responsáveis por processos metabólicos;
- Desnaturação de proteínas;
- Interrupção da quimiosmose que ocorre na membrana citoplasmática;
- Bases da molécula de ADN com efeitos adversos.

O H_2O_2 na solução de equilíbrio de perácido tem um efeito sinérgico na desinfecção mecanismo: é uma fonte adicional de radicais hidróxilo. No entanto, o peróxido de hidrogénio sozinho, em concentrações aplicáveis, é um desinfetante relativamente ineficaz e oxidante, pois a enzima catalase é capaz de proteger os microrganismos da sua ação. Assim, a inativação inicial da catalase pelo PA é necessária para alcançar o efeito sinérgico. As bactérias são incapazes de recuperar dos danos causados pelo PA; no caso dos vírus, a sua inativação pelo PA pode ocorrer danificando a superfície do vírus, como o revestimento proteico dos sítios necessários para a infecção das células hospedeiras. (Luukkonen e Pehkonen, 2017).

A exposição humana a PA, pode causar irritação e danos permanentes à pele, olhos e sistema respiratório (Luukkonen & Pehkonen, 2017), podendo até mesmo levar a desenvolvimento de asma ocupacional (Cristofari-Marquand *et al.*, 2007), pelo que exige uso de equipamentos de proteção individual, mas comparando com alguns outros desinfetantes convencionais, incluindo o cloro, o PA apresenta vantagens como ampla capacidade de esterilização, uma menor dependência do pH e menor geração de compostos tóxicos (Ao *et al.*, 2021).

Num estudo feito com o objetivo geral de avaliar a eficácia do PA contra *L. monocytogenes* em maçãs frescas durante a intervenção pós-colheita, concluiu-se que o ácido peracético a 80 ppm e 17–22 °C reduziu *E. faecium* NRRL B-2354, em maçãs frescas em 1,12–1,32 \log_{10} UFC/maçã por aproximadamente 1 minuto; quando aumentaram a temperatura para 43–45 °C o tratamento mostrou-se muito mais eficaz, com valores de redução de até 2,3 \log_{10} de *E. faecium* em maçãs frescas, numa exposição de 30 ou 60 segundos (Shen *et al.*, 2020).

Num outro estudo, com o objetivo de verificar a eficácia do hipoclorito de sódio e ácido peracético contra *Aspergillus nomius* em castanha do Pará, tendo como condições 250 mg/L/8,5 min e 80 mg/L/15 min respetivamente, obtiveram-se reduções logarítmicas inferiores a 2 para bactérias mesófilas aeróbicas, bolores e leveduras e para *Aspergillus flavi* e constataram também que do ponto de vista sensorial, os tratamentos utilizados não causam efeitos negativos significativos na qualidade das castanhas (Ribeiro *et al.*, 2020b).

Num outro estudo, testaram-se 7 cultivares da espécie *Castanea mollissima* e uma cultivar interespecífica (*C. mollissima* × *C. crenata* × *C. dentata*), com o intuito de primeiramente avaliar a suscetibilidade dessas variedades ao aparecimento de deterioração no interior e

no exterior das cultivares de castanha e avaliar também o quão impactante eram os tratamentos químicos utilizados na supressão de fungos nas mesmas variedades. Os autores demonstraram que no intervalo de 0 a 60 dias de armazenamento, o tratamento à base de ácido peracético a 100 e 200 ppm não apresentou diferenças significativas quando comparado com o controlo. Entretanto, se as castanhas fossem armazenadas por um período de tempo maior (igual ou superior a 120 dias), haveria uma diminuição na percentagem de frutos contaminados (Webber *et al.*, 2022).

1.4.1.4 Água eletrolisada

A água eletrolisada (EO, do inglês *electrolysed oxidising water*) é geralmente gerada pela passagem de uma solução com aproximadamente 1% de cloreto de sódio NaCl através de uma célula eletroquímica de osmose, onde ocorre a conversão do ião cloreto e moléculas de água em oxidantes de cloro tais como Cl^2 , HOCl e ClO^- dentro do ânodo; a água oxidante eletrolisada (EO) é considerada um promissor agente de descontaminação, ambientalmente aceitável, sendo usado para reduzir as populações microbianas (Yoon & Lee, 2018). Num estudo realizado por Jadeja *et al.* (2013) foi demonstrado que o uso desta técnica apresenta resultados mais eficazes que o hipoclorito de sódio quando usado na mesma concentração. Como possíveis resultados desse tratamento, pode ocorrer uma libertação de β -galactosidase das células de *E. coli* O157: H7, causando o colapso das membranas externa e interna, podendo também causar a formação de pares de glutathione dissulfeto-glutathione em células microbianas, resultando na morte celular (Yoon & Lee, 2018).

Uma limitação deste tratamento seria a aplicação a longo prazo (Guentzel *et al.*, 2008), uma vez que a pH baixo, a EO torna-se muito volátil, podendo esvair-se para a atmosfera, perdendo assim a eficácia a longo prazo, o que leva a uma necessidade de ajuste do pH das soluções de EO para alcançar as melhores reduções microbianas (Yoon & Lee, 2018).

1.4.1.5 Ozono

O ozono é uma molécula altamente reativa, composta por 3 átomos de oxigénio, com um poder sanitizante ótimo na faixa de 0,5–2,0 ppm (Reddy *et al.*, 2021), que pode ser gerado pela passagem do gás oxigénio (O_2) por uma descarga elétrica de alta voltagem, ou por irradiação de luz ultravioleta (Vettrano *et al.*, 2019). Altamente instável, o ozono reage rapidamente com os microrganismos devido ao seu grande potencial oxidativo e dissocia-

se instantaneamente em moléculas com 2 átomos de oxigénio (O₂) (Raghunathan *et al.*, 2021). Após ser aprovado pela FDA como um desinfetante, passou a ser usado com grande frequência, com o intuito de diminuir os riscos microbianos na indústria alimentar, em matrizes como carnes e aves, dispondo de grande atividade antimicrobiana contra uma grande variedade de bactérias patogénicas (Yoon & Lee, 2018). O seu modo de ação envolve dificultar o metabolismo celular dos microrganismos por meio da inibição dos sistemas enzimáticos. Quando usado de forma imprudente em relação ao binómio tempo e concentração, pode acabar sendo prejudicial à saúde, mas quando usado com o devido cuidado pode ter as características desejadas na indústria da horticultura (Reddy *et al.*, 2021). Yoon & Lee (2018) após o estudo onde fazem uma revisão dos métodos de higienização para frutas e legumes frescos, verificaram que, de facto, EO e o ozono, em termos médios, apresentam maiores reduções contra vários microrganismos, estando o ozono em primeiro lugar, seguido de EO.

1.4.1.6 Ácidos orgânicos

Diversos estudos têm sido conduzidos para demonstrar os efeitos dos antimicrobianos naturais, incluindo ácidos orgânicos e óleos essenciais de plantas herbáceas, uma vez que os consumidores se tornaram mais críticos em relação ao uso de desinfetantes químicos sintéticos, informando-se sobre os perigos para a segurança alimentar que advêm da presença de resíduos potencialmente tóxicos no produto.

Os ácidos orgânicos são substâncias naturais presentes de forma natural em frutas e vegetais (Bhilwadikar *et al.*, 2019), ou sendo extraídos de microrganismos como resultado da fermentação (Eswaranandam *et al.*, 2006), e todos possuem atividade desinfetante específica e fortemente atribuída aos seus valores de pKa (Bhilwadikar *et al.*, 2019). Os ácidos orgânicos fracos têm um efeito bactericida mais forte que os ácidos orgânicos fortes, por serem mais lipofílicos e penetrar nas membranas celulares mais rapidamente, acidificando o interior das células microbianas (Yuk *et al.*, 2006). O modo de ação desses ácidos envolve penetração dos mesmos nas células-alvo, levando à sua acidificação, assim interferindo com o transporte de nutrientes e levando à destruição das células (Bhilwadikar *et al.*, 2019).

A aplicação de ácidos orgânicos no controle da podridão de frutas refere-se, dentro da patologia pós-colheita, ao uso de agentes desinfetantes permitidos na agroindústria e aplicados na superfície de frutas e vegetais, devido às suas propriedades antimicrobianas.

Os mais comuns são os ácidos acético, cítrico, málico, tartárico e propiónico, que estão classificados pela FDA como compostos GRAS (geralmente reconhecidos como seguros). Podem ser adicionados às matrizes alimentares como conservantes, pois podem atuar como antimicrobianos, evitando a deterioração dos alimentos por bactérias e fungos, ou como antioxidantes, retardando ou evitando alterações na cor, sabor ou textura e retardando o ranço.

1.4.2 Métodos físicos

O emprego de métodos físicos na higienização dos produtos alimentares, com intuito de reduzir as populações microbianas e assim garantir uma vida útil extensa dos produtos, tem demonstrado eficácia, com uma atenção especial para a pressão hidrostática (HP), a radiação ultravioleta (UV), a irradiação e o ultrassom, por terem sido profundamente estudados nos últimos tempos (Yoon & Lee, 2018).

1.4.2.1 Ultrassom

Os campos ultrassônicos ou ultrassons (US) consistem em ondas de alta amplitude, em frequência geralmente acima de 20 kHz, num processo de propagação de vibração mecânica no meio. Quando propagados através de uma estrutura biológica, os US induzem compressões e depressões das partículas do meio e uma grande quantidade de energia pode ser transmitida (Pinheiro *et al.*, 2015). Na sua definição mais básica, refere-se a ondas sonoras com frequência de 20 kHz ou mais, com a capacidade de causar cavitação, que pode ser usada para inativar microrganismos (Torlak & Sert, 2013). No processo de cavitação, as bolhas geradas a partir da compressão e a expansão do meio são capazes de quebrar ou formar poros nas membranas celulares; a intensidade da pressão desencadeia o aumento da penetração de compostos extracelulares no meio intracelular, e, por fim, também pode causar danos ao DNA microbiano e induzir reações de oxidação, por meio da formação de espécies reativas, como radicais livres (Duarte *et al.*, 2018). No processo da cavitação, geram-se radicais altamente reativos, entre eles o os radicais hidroperoxil (HO_2^\bullet), levando posteriormente à formação de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) que, em conjunto, degradam por hidroxilação e por oxidação (Anandan *et al.*, 2020). O mecanismo de inativação microbiana por US é principalmente devido ao afinamento das membranas celulares, aquecimento localizado, produção de radicais livres (por exemplo, o já citado HOO^\bullet , $^\bullet\text{OH}$, e O^\bullet) e formação de peróxido de hidrogénio. Dependendo da frequência utilizada e da amplitude da onda sonora aplicada, diversos

efeitos físicos, químicos e bioquímicos podem ser observados, o que possibilita diversas aplicações. Na indústria alimentar, os efeitos combinados de mecânica, aquecimento e cavitação são utilizados como ação de limpeza em superfícies para matar algumas bactérias, inativar vírus ou mesmo danificar a parede celular de alguns microrganismos menores (Pinheiro *et al.*, 2015). O ultrassom (US) é pois uma técnica de lavagem já conhecida, usada em várias indústrias alimentares (Bang *et al.*, 2017).

Possuindo características como fácil operação, menor consumo de energia e água, menor tempo de processamento, menor geração de compostos tóxicos, excelência na preservação das características nutricionais e perfil sensorial, o ultrassom torna-se uma tecnologia promissora de processamento não térmico de alimentos (Wang *et al.*, 2020).

O uso de US na descontaminação de produtos frescos é relativamente recente. Seymour *et al.* (2002), Scouten e Beuchat (2002), entre outros investigadores, usaram ultrassom de frequência única para descontaminar diferentes frutas e vegetais. Foram relatados resultados mistos, com alguns autores a concluir alcançar um logaritmo de redução adicional, enquanto outros não relataram nenhuma redução adicional.

A eficácia dos tratamentos de US pode ser afetada pelo nível de potência (%), tempo de tratamento (min) e temperatura (°C), como constataram Pinheiro *et al.* (2015), que otimizaram os tratamentos de ultrassom a 45 kHz de frequência constante por metodologia de superfície de resposta na qualidade do tomate (cor, textura e teor de fenólicos totais). Especialmente em níveis de potência mais altos, obtiveram também maior redução microbiana, em comparação com frutas não tratadas, durante 15 dias de armazenamento a 10 °C. O tratamento com ultrassom foi eficaz em retardar desenvolvimento da cor e perda de textura, preservando a qualidade sensorial do tomate inteiro, com aumento do teor de fenólicos totais e redução da carga microbiana. Também Anandan *et al.* (2020) sugerem que um possível aumento na taxa de degradação pode ser conseguido com um aumento da potência a uma frequência fixa, que se traduz no aumento de bolhas colapsando na cavitação, que por sua vez se reflete num aumento da geração de radicais hidroxil e peróxido de hidrogénio.

São José *et al.*, (2014) chama atenção para a importância de se proceder a uma avaliação cuidadosa e detalhada de todos os parâmetros envolvidos no tratamento antes de definir a eficácia de um certo método em frutas e vegetais.

Hashemi & Jafarpour, (2020) no estudo onde procuravam entender o efeito do tratamento com ultrassom na qualidade microbiológica da ameixa *Mirabelle* durante o armazenamento pós-colheita, observaram que as ameixas, se tratadas com ultrassons, tanto pulsados como contínuo, de 30 kHz e a 20°C, sofriam uma redução significativa no número de microrganismos, e uma melhoria na qualidade.

Cao *et al.*, (2010) mostraram que o uso da tecnologia de ultrassons a uma frequência de 40 kHz, com uma potência de 250 W por 9,8 min, pode ser usado para reduzir a incidência de populações microbianas, preservar a qualidade e por fim prolongar a vida de prateleira em morangos.

1.4.2.2 Alta pressão hidrostática

Em comparação com outros modos de ação antimicrobiana, a pressão hidrostática (PH) mostrou também um efeito promissor para higienizar produtos frescos (Yoon & Lee, 2018).

A PH é considerado uma das mais promissoras técnicas de preservação não térmica de alimentos, sendo usado para pasteurização comercial de um número crescente de produtos alimentícios e tem visto o número de venda de unidades de alta pressão crescendo exponencialmente a uma taxa anual em todo o mundo mas sendo usado principalmente na região do continente americano (Wang *et al.*, 2016). Desnatura as proteínas e causa lesão celular, levando a uma possível inativação da carga inicial de microrganismos de origem alimentar. A diminuição da fluidez da membrana, resultante de uma linha através do processo de fase líquido-cristalina e fase gel, causam a solubilização e posterior vazamento do conteúdo intracelular, seguido de uma redução do volume celular que acaba por levar à morte da célula (Yoon & Lee, 2018). A PH envolve o uso de líquidos (geralmente água) para transmitir pressão a 100–800 MPa (geralmente não menos que 100 MPa) para tratar produtos alimentares (Wang *et al.*, 2016).

1.4.2.3 Radiação ultravioleta

Conhecida pelas suas proeminentes atividades antimicrobianas contra uma variedade de microrganismos, a radiação ultravioleta (UV) pode ser definida resumidamente como

uma radiação não térmica e não ionizante, que possui atividades germicidas e antimicrobianas num comprimento de onda entre 200-280 nm, e que geralmente tem sido usada para proceder à descontaminação de água, frutas e vegetais de raiz (Yoon & Lee, 2018).

Ao longo dos anos, a partir de diversos estudos, constatou-se que a radiação UV pode ter diversos papéis de interesse na área alimentar, de entre eles, o de controlar o desenvolvimento da podridão, mantendo a qualidade geral em frutas e vegetais pós-colheita, o de indutor de diminuição de atividades enzimáticas na parede celular, retardando o amolecimento dos frutos e o de indutor de atraso de amadurecimento das frutas e vegetais pós-colheita (Lin *et al.*, 2017).

Com distintos tipos de luz UV (A,B,C), o mais eficiente quando se fala de efeito antimicrobiano em matrizes alimentares é o tipo C (Al-Juhaimi *et al.*, 2018). A intensidade do tratamento com a luz UV deve ser minimizada para evitar a perda de qualidade como um efeito indesejado, uma vez que diferentes componentes dos alimentos possuem distintos graus de sensibilidade (Wang *et al.*, 2020).

1.4.2.4 Irradiação gama

Tecnologia muito estudada como método de preservação durante muitos anos e aprovada como tal para diversas matrizes alimentares (António *et al.*, 2013). A dose de raio gama necessário para proceder a controle de fungos (até 1 kGy), acaba por ter efeito negativo sobre a cor e textura da pele de frutas e vegetais frescos onde são aplicados (Yoon *et al.*, 2014). No caso das castanhas, foi observado que sobre elas podem ser aplicadas doses de radiação de até 5 kGy sem desencadear efeitos negativos significativos nas características do fruto (Koç Güler, 2021). Essa técnica foi considerada uma alternativa à fumigação, pois reduz consideravelmente a quantidade de produto perdido na fase pós-colheita devido ao apodrecimento, decorrente do desenvolvimento de fungos e bolores (António *et al.*, 2011).

1.4.2.5 Vapor

Num estudo feito por Ren *et al.* (2021) com o intuito de estimar um esquema de tratamento ótimo por calor para fruta-dragão infestado com *Planococcus lilacinus* - praga que assola as produções deste fruto causando graves perdas económicas - os autores avaliaram o efeito do tratamento térmico de vapor em *P. lilacinus* e na qualidade pós-

colheita. Obtiveram um nível de eficácia de 99,99910% usando tratamento térmico de vapor a 49 °C por 70 min, concluindo que o tratamento térmico de vapor pode garantir a segurança fitossanitária da fruta. Adicionalmente, a ausência de efeitos adversos significativos na qualidade da fruta após o tratamento, um maior poder de penetração na fruta levando a uma distribuição mais uniforme ao redor das pragas, e o facto de causar menos danos do que a imersão em água quente dá a esse tratamento vantagens exclusivas para atender aos requisitos de segurança de quarentena quando comparado com outros tratamentos fitossanitários.

1.4.2.6 Radiofrequência (RF)

Trata-se de um tipo de tecnologia de aquecimento em que as moléculas vão se mover sempre que o material é posicionado num campo elétrico alternado de alta frequência, fazendo com que haja aumento da temperatura em virtude das colisões entre as moléculas (Ye *et al.*, 2020). A radiofrequência é uma tecnologia alternativa, que tem sido muito estudada e aprimorada para o controlo de pragas, tendo assim tido um avanço significativo no processamento de alimentos nos últimos tempos (Carbajal-Padilla *et al.*, 2022). Torna-se mais promissora em frequências intermédias, uma vez que possui um maior poder de penetração do que, por exemplo, o aquecimento por micro-ondas (Ye *et al.*, 2020). Com elevado poder de penetração devido ao uso de ondas eletromagnéticas de 1 a 100 MHz, esta tecnologia mostra-se superior a outras que envolvem o aquecimento, devido à sua capacidade de penetrar em matrizes espessas e gerar calor interno por um mecanismo diferente da condução interna, possuindo a particular vantagem de penetrar em embalagens de papel e plástico, sem o contato com o produto (Ling *et al.*, 2020). Carbajal-Padilla *et al.* (2022), num estudo onde aplicaram tratamentos de RF em feijão-preto, para prevenir a infestação pelo gorgulho-do-feijão (*Acanthoscelides obtectus* (Say.)), analisaram a sua influência nas propriedades físico-químicas dos feijões tratados à escala piloto. Demonstraram que pode ser uma alternativa viável para o tratamento do feijão preto, tendo em conta que não mostrou efeitos severos nas qualidades mais importantes. Já Hou *et al.*, (2015), aplicaram no seu estudo RF a castanha chinesa, com o objetivo de eliminar *Conogethes punctiferalis*. Observaram que o tratamento a 55 °C por 5 minutos eliminava completamente o inseto, não alterando significativamente as características e os parâmetros de qualidade das castanhas.

2 Objetivos

Os métodos de conservação pós-colheita de castanha fresca utilizados atualmente de forma comercial - a refrigeração em câmara, com temperatura controlada e humidade relativa controlada (preferencialmente), a cura em água fria mas, especialmente, o tratamento com água quente - apresentam limitações relevantes: o tratamento prolongado com a água fria pode originar perdas organoléticas e implica uma grande ocupação de espaço; já o armazenamento em câmara de refrigeração permite fazer uma conservação de curto e médio prazo, mas não impede a ocorrência de alterações provocadas por fungos, larvas e insetos e as próprias alterações enzimáticas e físicas decorrentes do envelhecimento do fruto, para além de que acarreta importantes consumos de energia e exige equipamento de frio, eventualmente com controlo da humidade relativa, que encarece o processo de conservação. Por seu lado, o tratamento com a água quente, implica consumos de energia elevados e a existência de uma infraestrutura e de equipamentos desenhados para o efeito, com necessidade de controlo de temperatura com dispositivos que têm de ser sujeitos a calibração. Em Portugal, a própria Direcção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV, 2018), que recomenda este tratamento, evidencia abertura para a procura de novas soluções de conservação que se demonstre poderem constituir verdadeiras alternativas de tratamento.

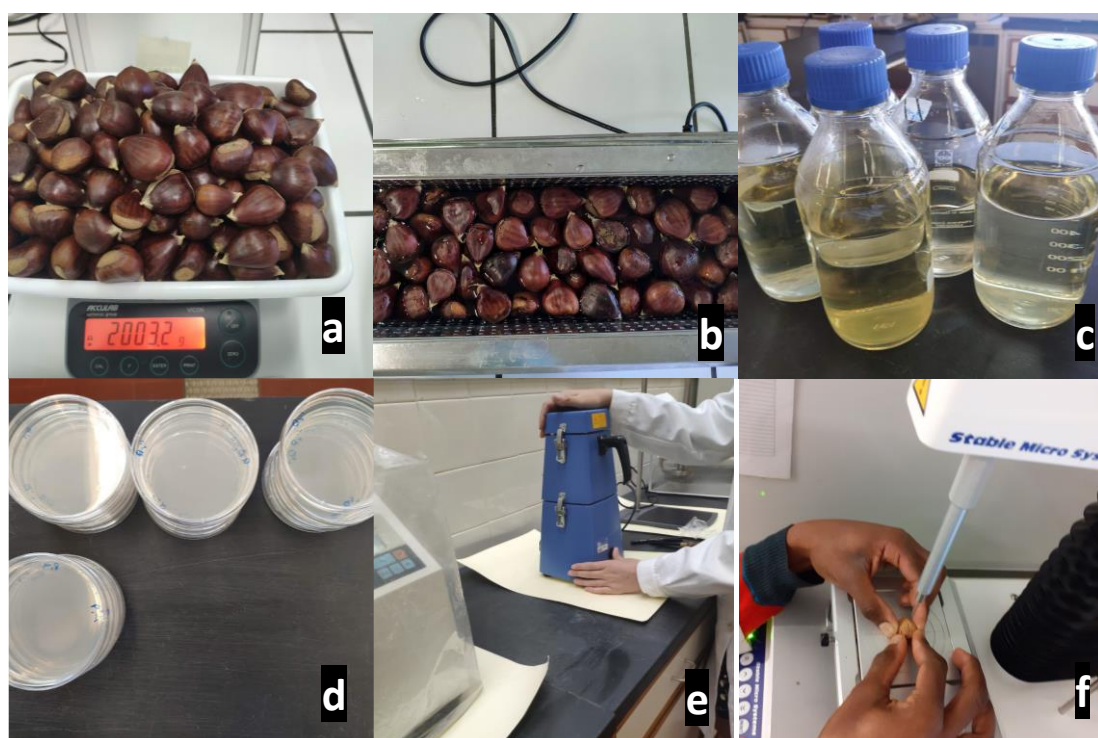
É nesta perspetiva que surge o presente estudo, da necessidade de encontrar métodos alternativos e/ou complementares aos atualmente utilizados, economicamente viáveis, ambientalmente sustentáveis e inócuos para o consumidor, que assegurem uma melhor conservação do fruto em fresco, não transformado.

Feito o levantamento do que já foi feito e do que se tem ensaiado com outras matrizes alimentares de origem vegetal frescas, estabeleceu-se este estudo, que tem como objetivo explorar, do que é nosso conhecimento, pela primeira vez, a utilização da tecnologia de ultrassons em castanhas, de forma isolada ou complementar ao uso de uma solução desinfetante à base de ácido peroxiacético, e em concreto, fazer uma avaliação comparativa da eficácia de conservação de castanhas frescas sujeitas aos diferentes tratamentos pós-colheita acima mencionados, ao longo de três meses de armazenamento sob refrigeração, numa câmara de um operador industrial da fileira.

3 Materiais e métodos

3.1 Amostras

As amostras testadas correspondem a castanhas da variedade Longal, que foram adquiridas *in natura* no início de dezembro de 2021, a uma cooperativa de Macedo de Cavaleiros, na região de Trás-os-Montes (Bragança, Portugal). Estavam acondicionadas em saco de rede, tendo sido transportadas para o laboratório de Agroindústrias da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, onde foi efetuada uma triagem das castanhas visando a separação dos galhos, folhas e pedras, de entre outros inertes, bem como o descarte de castanhas secas e/ou murchas, danificadas (como, por exemplo, fissuradas, com exposição do endocarpo), com podridão, infetadas com bolor e castanhas visivelmente infestadas, isto é, castanhas com orifícios visíveis causados por larvas e até mesmo com larvas vivas, assim como eventuais frutos com sinais de leve germinação visíveis externamente.



Aurvo Gomes, 2022

Figura 3 - Algumas etapas realizadas ao longo do trabalho: (a) pesagem de castanhas; (b) castanhas no banho de ultrassons, durante a realização de um dos tratamentos; (c) preparação dos meios de cultura microbiológica; (d) preparação das placas; (e) trituração de castanhas após descasque e pelagem manual; (f) realização de ensaio no texturómetro.

3.2 Tratamentos aplicados às castanhas

Após a seleção, o conjunto das castanhas foi sujeito à determinação do respetivo calibre, conforme descrito no ponto IIIa) da Norma CEE-ONU FFV-39, relativa à comercialização e controlo de qualidade comercial de castanhas (United Nations, 2017). Assim, o calibre foi determinado pelo número de frutos por quilograma.

De seguida, as castanhas foram divididas em cinco grupos distintos, cada um contendo aproximadamente 5 kg de castanhas. Cada grupo viria a ser destinado a cada um dos cinco tratamentos pós-colheita estabelecidos: Calor (Q); Ácido peracético (P); Ultrassons (U); Ultrassons + Ácido peracético, em simultâneo (UP); Ultrassons + Ácido peracético, de forma sucessiva (S). Após a aplicação destes tratamentos, as castanhas seriam distribuídas equitativamente por tabuleiros, por forma a podermos dispor de lotes de castanhas independentes para amostrar nos distintos tempos de conservação a ser testados (0, 1, 2 e 3 meses).

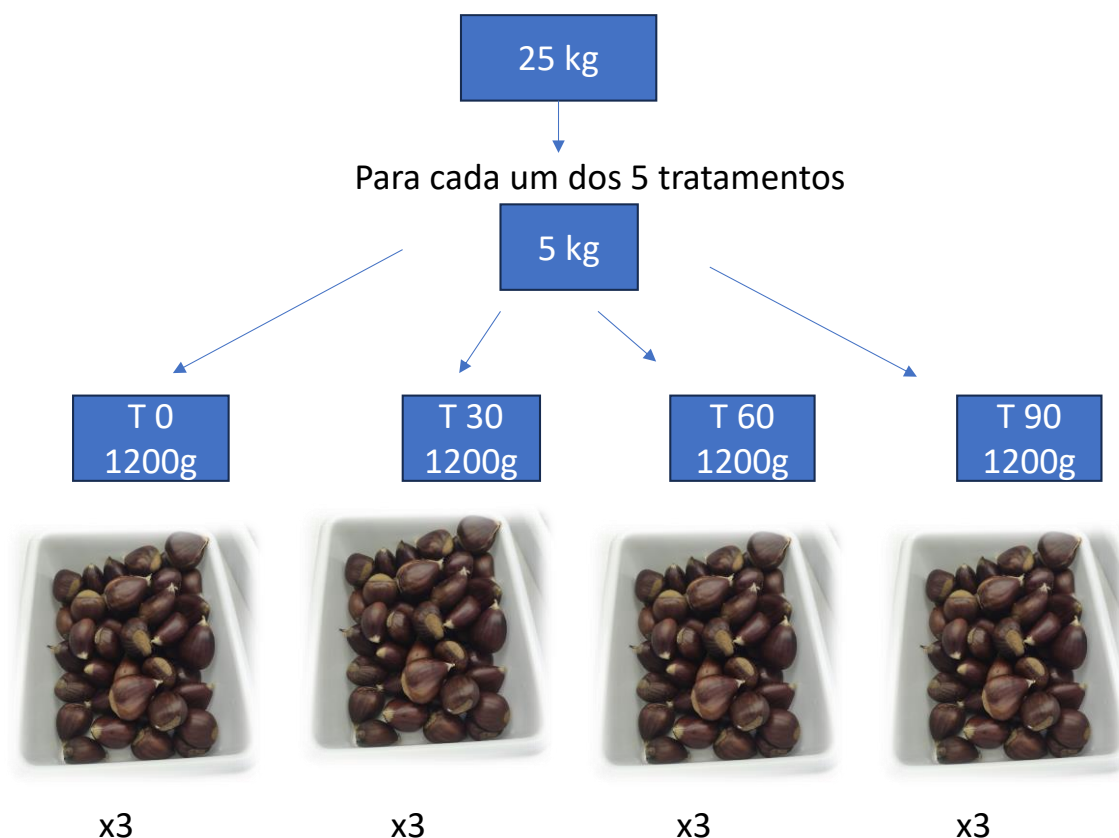


Figura 4 - Esquema da distribuição das castanhas para cada tratamento efetuado: a partir de uma amostra global de 25 kg, destinaram-se 5 kg por cada tratamento, os quais foram distribuídos equitativamente por 12 tabuleiros.

3.2.1 Calor

O tratamento que representa o controlo, é o tratamento convencional, com calor húmido, por imersão em água quente (Q). Este tratamento, conforme referido anteriormente, é conhecido como tratamento hidrotérmico ou cura em água quente, sendo o método recomendado em Portugal pela Direcção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) às centrais de armazenagem e embalagem de castanha para exportação.

Os 5 kg de castanhas foram imersos em água da torneira a 50 °C durante 45 minutos, numa proporção de 3:7 (p/v) (3 kg de castanha para 7 L de água) num banho-maria (Julabo, modelo sw22). Passados os 45 minutos, as castanhas foram retiradas da água quente, escorridas e, de seguida, imersas em água fria por 5 minutos, visando o seu arrefecimento. As castanhas foram então escorridas num coador e espalhadas sobre folhas de papel absorvente de modo a acelerar o seu processo de secagem. Seguidamente, as castanhas foram separadas em 12 tabuleiros devidamente etiquetados, definindo-se 3 tabuleiros para cada tempo de amostragem.

3.2.2 Ácido peracético

Neste tratamento (P), fez-se uso de um desinfetante comercial à base de ácido peracético (ASEP 150, Proquimia, S.A.) com as seguintes características: 15,5 ±1,5% de ácido peracético; 21-24% de peróxido de hidrogénio; pH (a 1%) é 2,6 ± 0,5 (ver ficha técnica em anexo). Na preparação da solução de tratamento, seguiu-se a indicação do fabricante, preparando uma concentração de 262 ppm de ASEP 150, para não superar os limites estabelecidos na regulamentação da agência FDA (80 ppm para o ácido paracético/ 59 ppm de peróxido de hidrogénio/ 4.8 ppm fosfonato HEDP) para a lavagem de frutas e verduras. Para que tal não ocorresse, foi necessária uma proporção de $2,32 \times 10^{-2}$ L de desinfetante para 1 L de água da torneira e, como no tratamento hidrotérmico, uma proporção de 3 kg de castanha para 7 L de solução de tratamento.

O tratamento consistiu na imersão de cerca de 5 kg de castanhas num recipiente com a solução de ácido peracético, onde permaneceram por 15 minutos à temperatura ambiente. Passados o tempo de contato das castanhas com a solução, foram retiradas da solução, escorridas e secas com ajuda de papel absorvente. Depois de secas, foram separadas e distribuídas de igual forma em 12 tabuleiros devidamente rotulados, seguindo o mesmo princípio descrito na seção 3.2.1.

3.2.3 Ultrassons

Este tratamento consistiu na imersão de castanhas num banho-maria com ultrassons, marca Selecta, Ultrassons-H, (Barcelona, Espanha), contendo água fria da torneira, na proporção 3:7 (p/v), tendo em atenção que não ultrapassasse a capacidade máxima do equipamento. As castanhas foram expostas a ultrassons (50 Hz, 200 W), durante 15 minutos, correspondentes ao tempo do tratamento, após o que foram escorridas, secadas e distribuídas por 12 tabuleiros como descrito na secção 3.2.1.

3.2.4 Ultrassons e ácido peracético em simultâneo

Neste tratamento (UP), o banho de ultrassons foi preenchido com solução de ácido peracético (preparada como descrito na secção 3.2.2) e as castanhas foram adicionadas à solução na proporção de 3:7 (p/v), à temperatura ambiente, durante 15 minutos. O processo de escorrimento, secagem e a distribuição das sub-amostras foi realizada conforme descrito na secção 3.2.1.

3.2.5 Ultrassons e ácido peracético sucessivamente

Neste tratamento (S), o método aplicado foi uma combinação de dois dos tratamentos anteriores, aplicados sucessivamente. Primeiramente fez-se o tratamento com ultrassons (secção 3.2.3) e no momento em que geralmente se passaria à fase de secagem das castanhas, iniciou-se o tratamento com ácido peracético (secção 3.2.2). A diferença entre os métodos aplicados isoladamente e esta combinação está no tempo de duração dos tratamentos, ou seja, os tratamentos quando feitos isolados o tempo de duração de cada um foi de 15 minutos, enquanto nesta combinação, cada tratamento teve uma duração de 7,5 minutos, totalizando assim 15 minutos para o tratamento denominado “Ultrassons + Ácido peracético sucessivamente (S)”.

Concluídos os tratamentos estabelecidos, procedeu-se ao agrupamento dos tabuleiros resultantes dos tratamentos em 4 caixas plásticas perfuradas, expostas ao ar (sem tampa, mas com uma rede plástica sobre os tabuleiros). Assim, a caixa destinada ao momento considerado para início do período de conservação, imediatamente após os tratamentos (T0), foi encaminhada para avaliação dos parâmetros microbiológicos e físico-químicos, enquanto as outras 3 caixas (uma do tempo 1 mês, outra do tempo 2 meses e outra do tempo 3 meses), contendo cada uma 12 tabuleiros (3 de cada um dos tratamentos), foram

guardadas numa câmara de refrigeração de um operador industrial de Bragança, com controlo de temperatura (0 - 2 °C), mas não de humidade relativa do ar, de acordo com a prática da indústria, por 30 (T30), 60 (T60) e 90 (T90) dias. Em cada data de amostragem, as amostras respetivas foram trazidas para o laboratório para serem submetidas às análises físico-químicas e microbiológicas definidas.

3.3 Avaliação de parâmetros físico-químicos

3.3.1 Perda de massa

Para determinar a perda de massa, todas as amostras foram pesadas logo após a aplicação dos tratamentos (no dia 0 de conservação) e no final do respetivo período de armazenagem das amostras. A perda de massa (PM) foi determinada de acordo com a seguinte equação:

$$PM (\%) = [(M_0 - M) / M_0] * 100$$

onde M_0 se refere à massa inicial de castanhas, no dia 0, após a aplicação dos tratamentos, e M é a massa de castanhas após o tempo de armazenamento considerado (30 dias, 60 dias ou 90 dias).

Após a determinação da perda de massa, procedeu-se com a maior brevidade à medição da atividade da água.

3.3.2 Atividade da água (a_w)

As amostras moídas foram de imediato colocadas num prato de plástico para avaliar a atividade de água (a_w), a qual foi determinada num medidor portátil de atividade da água (*Novasina, LabSwift-aw*, Lachen, Suíça). O equipamento foi previamente calibrado com os seguintes padrões (Nalgene, Olivais Sul, Portugal): SAL_T 11 (11% - constituído por LiCl), SAL_T 84 (84% - constituído por KCl) e SAL_T 58 (58% - constituído por NaBr) da marca *Nalgene* (Portugal).

Este parâmetro foi avaliado em todas as amostras, imediatamente após a preparação da toma de amostra - descasque manual e trituração (moinho IKA, M20, Staufen, Alemanha). Para cada momento de amostragem, foram escolhidas aleatoriamente

algumas castanhas de cada tabuleiro; tendo sido descascadas, trituradas e estabilizadas nas caixas de ensaio antes de submetidas ao medidor de atividade da água (higrómetro).

3.3.3 Teor de humidade e teor de cinza bruta

O teor de humidade das amostras foi determinado pelo método de secagem até peso constante, a 100-105 °C. Cerca de 2g de castanha triturada de cada amostra foi colocada em cadinho de porcelana e seca em estufa até massa constante. Após atingir a constância de massa, os cadinhos foram transferidos para uma mufla a 550 °C, de modo a calcinar por completo as tomas de amostras.

O teor de humidade, expresso em base húmida, foi obtido através da expressão:

$$\text{Teor de humidade (\%)} = (M1-M2) / (M1-M0) \times 100$$

onde

M0 = massa (g) do cadinho vazio e seco

M1 = massa (g) do cadinho com a toma de amostra de castanha fresca

M2 = massa (g) do cadinho com a toma de amostra de castanha seca

Já o teor de cinza bruta, expresso em base húmida, foi obtido através da expressão:

$$\text{Teor de cinza (\%)} = [(M1 - M0) / P] \times 100$$

onde

M0 = massa (g) do cadinho vazio e seco

M1 = massa (g) do cadinho com a toma de amostra após incineração (cinza)

P = massa (g) da toma de amostra de castanha

Para cada tratamento e tempo de conservação foram feitos ensaios por triplicado.

3.3.4 Cor

Para a determinação da cor interior - no endosperma, após corte longitudinal das castanhas - e da cor exterior (casca) das castanhas, utilizou-se um colorímetro digital Konica Minolta CR-400 (Osaka, Japão), previamente calibrado. A cor foi avaliada pelas coordenadas do sistema CIELab, a^* , b^* , L^* , h e C^* . O eixo cromático a^* varia do verde ($-a^*$) ao vermelho ($+a^*$), o eixo cromático b^* varia do azul ($-b^*$) ao amarelo ($+b^*$) e o

parâmetro L^* (luminosidade) varia entre 0 (preto) e 100 (branco). O parâmetro C^* (croma) corresponde à cromaticidade coordenada; um valor mais alto, traduz uma maior pureza ou intensidade de cor. O parâmetro h (*hue*) é o ângulo de matiz que define a tonalidade da cor pura. Foram analisadas 10 castanhas, escolhidas aleatoriamente de cada tabuleiro, ou seja, foi feita a avaliação da cor em 30 castanhas/ tratamento/ tempo de conservação.

3.3.5 Textura

A avaliação da textura nas castanhas, foi realizada num texturómetro TA.XT.plus (*Stable Micro Systems*, Goldaming, Reino Unido). Os ensaios de textura consistiram em testes de penetração que mediram, de forma destrutiva, a firmeza das castanhas após o seu descasque, mas mantendo preservada a película. O software *Exponent* associado ao equipamento, registava a força necessária para uma sonda cilíndrica de punção Magness-Taylor (de 2 mm de diâmetro) penetrar na castanha até uma distância escolhida, à velocidade de 1 mm/s. A sonda era introduzida na zona equatorial da castanha – que estava colocada no centro da plataforma, com a face mais convexa virada para cima - perfurando a película e o endosperma. Esta é uma sonda que é usada frequentemente para testar a resistência da pele e a firmeza da polpa de frutos inteiros e o teste de penetração permite testes flexíveis e repetíveis em produtos vegetais (*Stable Micro Systems*, 2020). Procedeu-se à avaliação da textura em dez castanhas por cada repetição (tabuleiro) dos tratamentos, escolhidas de forma aleatória. Os resultados são apresentados como média±desvio-padrão.

Para cada castanha determinaram-se três parâmetros diferentes: 1) a resistência da castanha, medida pela força de rutura, isto é, a força que é necessária para a sonda do texturómetro romper a película e penetrar na castanha – obtida através da “força máxima positiva” ($F_{m\acute{a}x.}$), aqui expressa em g; 2) a elasticidade, que é representada pelo deslocamento da sonda (D_p), expresso em mm, e corresponde ao valor da posição da sonda em $F_{m\acute{a}x.}$; e 3) a área positiva, que representa o trabalho de penetração (W_1) da castanha, traduzido no trabalho mecânico necessário para atingir o ponto de rutura, pois é considerada a área positiva sob a curva para $F_{m\acute{a}x.}$, expresso em g.s.

3.4 Avaliação de parâmetros microbiológicos

De modo a determinar a qualidade microbiológica das castanhas sujeitas aos diferentes tratamentos pós-colheita, retirou-se de cada tabuleiro, de forma assética, três castanhas para um saco esterilizado em cada data de amostragem (0, 30, 60 e 90 dias). Após pesagem das castanhas adicionou-se uma quantidade apropriada de água peptonada (Liofilchem, Itália) estéril, de modo a obter uma diluição de 1/10. Após agitação das amostras, realizaram-se diluições decimais seriadas e alíquotas de 0,2 mL de cada diluição foram semeadas, em duplicado:

- para a superfície dos meios de cultura Plate Count agar (PCA, Liofilchem, Italy), para a contagem de microrganismos a 30 °C (ISO 4833:2, 2013);

- e para a superfície dos meios de cultura Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC, Liofilchem, Italy) para a contagem de bolores e leveduras (ISO 21527-1, 2008).

As placas PCA foram incubadas durante 48 h a 30 °C e as DRBC durante 5 dias a 25 °C. No final do período de incubação, procedeu-se à contagem de colónias e os resultados foram expressos em logaritmo do número de unidades formadoras de colónias (log 10 UFC/g) de amostra fresca.

3.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software JMP, versão 11. Após a avaliação da normalidade e homogeneidade da variância, aplicou-se um teste de Análise de Variância (ANOVA), seguida do test post-hoc de Tukey, para a comparação múltipla de médias, isto é, para comparar as médias entre tratamentos diferentes ($p < 0,05$).

4 Apresentação e discussão dos resultados

4.1 Efeitos dos tratamentos sobre os parâmetros físico-químicos avaliados nas castanhas

4.1.1 Perda de massa

Nas frutas, a perda de massa está principalmente ligada à respiração e à evaporação da humidade através da casca; a sua alteração pode fazer variar diversos outros parâmetros (Alvarenga *et al.*, 2020). Constitui um parâmetro de grande importância, uma vez que a perda de massa pode implicar perda económica para os envolvidos (Fernandes *et al.*, 2020).

A Figura 5 traduz a perda de massa média (%) sofrida pelas amostras de castanha sujeitas aos diferentes tratamentos ao longo do período de armazenamento.

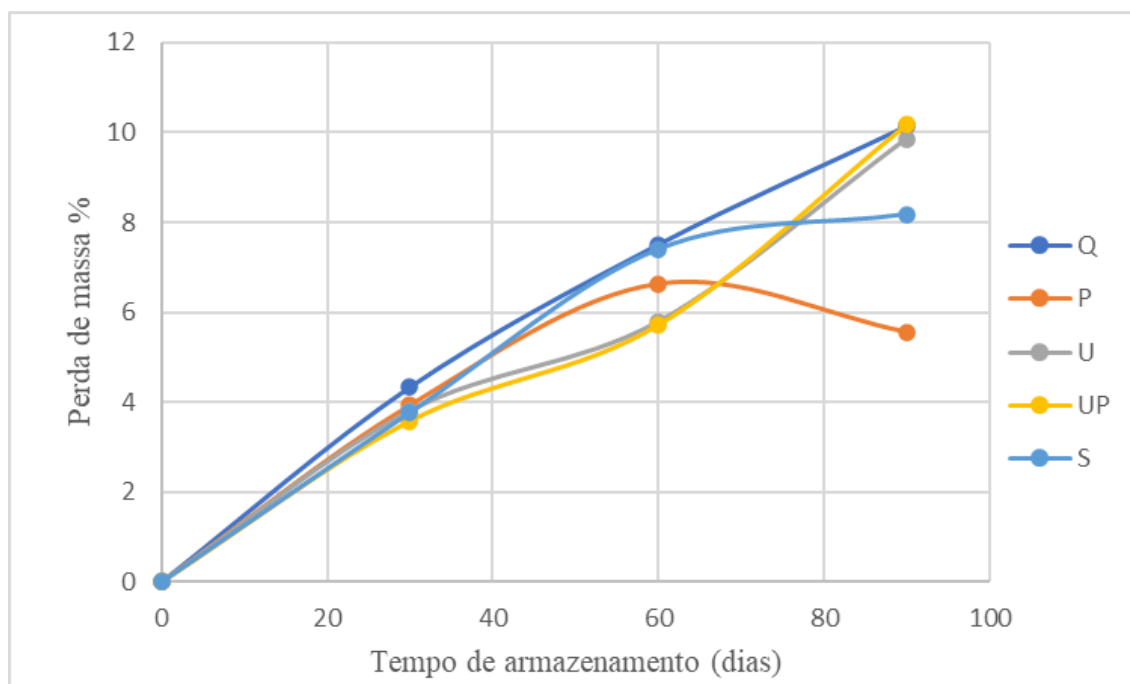


Figura 5 - Perda de massa média (%) sofrida pelas amostras de castanha frescas (com casca) sujeitas aos diferentes tratamentos ao longo do período de armazenamento. Q – Calor; P – Ácido peracético; U – Ultrassons; UP – Ultrassons + Ácido peracético em simultâneo; S – Ultrassons + Ácido peracético sucessivamente.

Após 30 dias de armazenamento na câmara industrial, a temperaturas na gama 0 - 2 °C e sem controlo da humidade relativa do ar, como se esperava, verificou-se uma perda de

massa nas castanhas de todos os tratamentos ao longo do período de conservação. Porém, até aos 60 dias, entre tratamentos, não houve diferenças significativas, apesar do tratamento convencional (por calor) exibir os maiores valores de perda de massa ($7,51 \pm 0,72$ %). Apenas após 90 dias de conservação é possível observar diferenças significativas entre os tratamentos, sendo o tratamento com ácido peracético (P) aquele cujos valores ($5,57 \pm 2,89$ %). diferiram significativamente do controlo (Q) ($10,14 \pm 0,26$ %). Com exceção das castanhas do tratamento P, as castanhas dos restantes tratamentos apresentaram uma contínua perda de massa ao longo do tempo. No caso do tratamento S, podemos ver um aumento mais acentuado dos valores entre o primeiro mês (aos 30 dias) e o segundo mês (aos 60 dias), e um aumento mais subtil entre o segundo e o terceiro mês (aos 90 dias), já não apresentando diferenças com significado no teste de Tukey. Os valores de perda de massa apresentados neste trabalho mostraram-se, em geral, superiores aos relatados por Fernandes *et al.*, (2020) no seu estudo em castanhas cobertas com revestimentos comestíveis. Temizkan *et al.*, (2019) relataram que tangerinas submetidas a tratamentos com ultrassons (300 W) obtiveram uma redução de 12 % na perda de peso em comparação com as tangerinas não tratadas. Já Wang & Fan, (2019) relataram que espargos verdes submetidos a tratamento combinado de ultrassom (360 W) com ácido acético e ácido giberélico apresentaram uma perda de massa mínima (de 1,83%), significativamente inferior às amostras não tratadas armazenadas pelo mesmo período. Também Alvarenga *et al.* (2020), ao submeterem morangos a uma solução de ácido peracético 2 mL/L combinada com ultrassom de 40 kHz/110 W por 10 min, constataram que a perda de peso ao fim de 9 dias esteve num intervalo de 0,36% a 0,63%, não apresentando diferenças significativas. No presente estudo, a aplicação do tratamento com a solução de ácido peracético (P) resultou nas menores perdas de massa nas castanhas frescas ao fim de 3 meses de conservação na câmara, expostas ao ar e sem controlo da humidade relativa do ar, com as diferenças relativamente aos outros tratamentos a terem significado estatístico.

4.1.2 Teor de humidade e atividade da água

O elevado teor de humidade de um fruto constitui um parâmetro de grande importância para seu armazenamento pós-colheita, uma vez que pode estimular a proliferação de bolores e o apodrecimento do fruto (Pino-Hernández *et al.*, 2021).

A Tabela 2 exhibe os resultados obtidos relativamente ao teor médio de humidade das castanhas sujeitas aos diversos tratamentos.

Tabela 2 - Teores de humidade das castanhas (g H₂O/100 g) nas amostras sujeitas aos diferentes tratamentos ao longo do período de armazenamento.

Tratamentos	Tempo de conservação após o tratamento			
	0 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Q	50,48±0,90 ^{A,a}	49,40±2,73 ^{A,ab}	48,12±3,94 ^{A,ab}	43,25±0,77 ^{AB,b}
P	50,43±3,32 ^{A,a}	47,34±0,56 ^{A,a}	48,15±3,93 ^{A,a}	50,02±2,13 ^{A,a}
U	47,24±2,26 ^{A,a}	44,76±3,53 ^{A,a}	45,65±2,57 ^{A,a}	41,77±3,24 ^{AB,a}
UP	44,83±1,05 ^{A,a}	44,17±0,73 ^{A,a}	45,21±0,52 ^{A,a}	46,35±4,97 ^{AB,a}
S	48,66±7,05 ^{A,a}	46,99±2,16 ^{A,a}	45,37±2,13 ^{A,a}	41,41±2,96 ^{B,a}

Valores expressos como média ± desvio padrão (em base húmida). Diferentes letras maiúsculas por coluna, e diferentes letras minúsculas por linha indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Q – Calor; P – Ácido peracético; U – Ultrassons; UP – Ultrassons + Ácido peracético em simultâneo; S – Ultrassons + Ácido peracético sucessivamente.

O teor de humidade das castanhas referentes ao tratamento convencional no dia inicial (T₀) foi de 50,48%, semelhante aos valores relatados por Barreira, *et al.* (2012a) e Fernandes *et al.* (2020), respetivamente, 53-54% e 46,7%. Genericamente, as castanhas tratadas não sofreram diminuição significativa ($p > 0,05$) dos seus teores de humidade. Os valores apresentaram relativa pouca variação ao longo de todo o período de armazenamento, situando-se entre 50,48% (tratamento Q no tempo 0) e 41,41% (tratamento S aos 90 dias). Só o tratamento com água quente (Q) apresentou uma diferença significativa no teor de humidade, entre o dia 0 e o dia 90 de conservação. Esta manutenção dos valores de humidade pode dever-se ao facto das amostras terem sido mantidas a baixas temperaturas de refrigeração durante todo o armazenamento, fazendo diminuir a sua intensidade respiratória. À semelhança de Fernandes *et al.* (2020a) os valores de humidade permaneceram praticamente constantes, quase não exibindo diferenças significativas entre os tratamentos e os tempos, assim os tratamentos não afetaram o teor de humidade durante o armazenamento. O mesmo sucedeu com pepinos frescos (Bang *et al.*, 2017), no estudo onde se combinaram tratamentos por ultrassons (60 min) e ácido peracético (200 ppm).

Quanto à atividade da água (a_w) das castanhas tratadas, a Tabela 3 mostra os resultados obtidos.

Tabela 3 - Valores de atividade da água (*média ± desvio-padrão*) das amostras de castanhas frescas sujeitas aos diversos tratamentos ao longo dos 3 meses de armazenamento.

Tratamentos	Tempo de conservação após o tratamento			
	0 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Q	0,944 ± 0,006 ^{A,a}	0,939±0,009 ^{A,a}	0,943±0,003 ^{A,a}	0,931±0,007 ^{A,a}
P	0,938± 0,001 ^{A,a}	0,938±0,007 ^{A,a}	0,940±0,009 ^{A,a}	0,940±0,005 ^{A,a}
U	0,935±0,008 ^{A,a}	0,943±0,002 ^{A,a}	0,939±0,007 ^{A,a}	0,940±0,009 ^{A,a}
UP	0,935± 0,007 ^{A,a}	0,943±0,005 ^{A,a}	0,937±0,011 ^{A,a}	0,931±0,002 ^{A,a}
S	0,934±0,007 ^{A,a}	0,941±0,009 ^{A,a}	0,936±0,001 ^{A,a}	0,931±0,012 ^{A,a}

Diferentes letras maiúsculas por coluna, e diferentes letras minúsculas por linha indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Q – Calor; P – Ácido peracético; U – Ultrassons; UP – Ultrassons + Ácido peracético simultaneamente; S – Ultrassons + Ácido peracético sucessivamente.

Os valores de a_w das castanhas mantiveram-se elevados e isentos de variações significativas, quer entre si, quer ao longo do tempo considerado. Ou seja, até 3 meses de conservação, nenhum dos métodos testados mostrou impacto na atividade da água das castanhas.

A maior parte dos alimentos frescos tem valores de a_w entre 0,95-0,99, o que permite o crescimento de diversos tipos de microrganismos; contudo, valores de a_w inferiores a este intervalo favorecem o desenvolvimento de diversos tipos de fungos (Grant, 2004). Ao analisarem o efeito de três revestimentos comestíveis diferentes na qualidade da castanha, Fernandes *et al.* (2020) obtiveram valores de a_w no intervalo entre 0,978 e 0,954, valores que são superiores aos apresentados neste trabalho; acreditamos que isso se deve ao facto do nosso estudo se ter iniciado aproximadamente 2 meses após o início da colheita das castanhas, desconhecendo-se há quantos dias estariam no armazém da cooperativa à qual foram adquiridas. Admitimos que tenham sido usadas castanhas já com um certo grau de desidratação, pese embora os valores relativos ao teor de humidade das próprias castanhas serem semelhantes.

4.1.3 Teor de cinza

O teor de cinzas dos alimentos está relacionado com os resíduos inorgânicos ou resíduos minerais fixo na amostra após serem calcinadas numa mufla a 500-600°C (Araújo *et al.*,

2006), e a sua quantificação numa amostra alimentar mostra-nos o conteúdo total de minerais (sódio, potássio, magnésio, cálcio, ferro, fósforo, entre outros) podendo assim, ser utilizado como critério na identificação de alimentos e como medida geral da qualidade (Krumreich *et al.*, 2013), assim como indicador de possíveis adulterações da matriz com compostos inorgânicos (Araújo *et al.*, 2006). Neste trabalho, o teor em cinza das amostras sofreu alguma variação ao longo do tempo de armazenamento, permanecendo no intervalo entre 1,169 (UP no tempo 90) e 0,601 (UP no tempo 60) e no geral não apresentando tendência alguma de crescimento ou de declínio.

Tabela 4 Teor de cinza, expresso em % (*média ± desvio-padrão*) das amostras de castanhas (descascadas), que previamente foram sujeitas aos tratamentos estudados, durante o armazenamento.

Tratamentos	Tempo de conservação após o tratamento			
	0 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Q	1,04±0,11 ^{A,a}	0,84±0,06 ^{A,a}	0,61±0,45 ^{A,a}	1,11±0,02 ^{A,a}
P	0,83±0,20 ^{A,a}	1,07±0,04 ^{A,a}	0,94±0,14 ^{A,a}	0,94±0,08 ^{BCa}
U	0,92±0,03 ^{A,a}	1,01±0,08 ^{A,a}	1,02±0,13 ^{A,a}	1,04±0,04 ^{AB,a}
UP	0,85±0,10 ^{A,ab}	0,97±0,11 ^{A,ab}	0,60±0,37 ^{A,b}	1,16±0,06 ^{A,a}
S	0,86±0,17 ^{A,a}	0,98±0,14 ^{A,a}	0,87±0,12 ^{A,a}	0,86±0,06 ^{C,a}

Diferentes letras maiúsculas por coluna, e diferentes letras minúsculas por linha indicam diferenças significativas pelo teste de tukey ($p < 0.05$). Q – Calor; P – Ácido peracético; U – Ultrassons; UP – Ultrassons + Ácido peracético, em simultâneo; S – Ultrassons + Ácido peracético sucessivamente

Verifica-se que os tratamentos ensaiados não influenciam de forma significativa o teor de cinza das castanhas ao longo dos 3 meses de conservação. Apenas aos 90 dias de armazenamento os teores de cinza dos tratamentos P e S são estatisticamente inferiores aos do tratamento controlo (convencional). (Barreira, et al., 2012a) relataram teores muito semelhantes aos teores desse estudo; porém Gonçalves *et al.*, (2010) relataram teores de cinza superiores ($\approx 2\%$) aos obtidos neste estudo. Também Pino-Hernández *et al.* (2021) no seu estudo onde avaliam o efeito de um outro potencial método físico (campos elétricos moderados) para aumentar o tempo de prateleira das castanhas, constataram que os teores de cinzas das amostras não se alteraram de forma significativa, mantendo ($\approx 2\%$).

Assim, aparentemente, no curto prazo, quaisquer dos tratamentos descontaminantes ensaiados não influencia o teor de matéria mineral das castanhas, o que é um indicador positivo para a indústria que processa este fruto.

4.1.4 Avaliação instrumental da textura

A textura é um parâmetro muito importante quando se fala da qualidade dos alimentos e da posterior aceitação dos mesmos pelos consumidores (Fernandes, *et al.*, 2020); refere-se à sensação que nos é proporcionada quando experimentamos, mastigamos ou engolimos um alimento. Nos alimentos, este parâmetro é amplamente variável e dependente de diversos fatores, existindo alimentos com diversos tipos de textura (Zhang *et al.*, 2022), desde alimentos muito macios a alimentos muito duros (por exemplo uma bolacha “crocante” ou um bife “macio. As propriedades de textura podem ser vistas como indicadores de qualidade dos alimentos, uma vez que, analisando a textura, podemos perceber e conhecer o grau de frescura ou o nível de “envelhecimento” dos alimentos (Jaiboon *et al.*, 2011) , constituindo assim uma outra forma de avaliar a qualidade dos alimentos (Zhang *et al.*, 2022). A textura dos alimentos pode sofrer alterações durante o período em que estão armazenados devido a diversos fatores: condições ambientais - especialmente a temperatura e a humidade relativa do ar envolvente, composição química, tipo de microrganismos presentes e sua contagem (Ertan *et al.*, 2015), etc. No caso das hortofrutícolas, elas podem perder água durante o armazenamento, o que as leva a murchar e a deixar de serem crocantes culminando, eventualmente, na perda da aceitabilidade por parte dos consumidores (Liu *et al.*, 2020).

A tabela 5 mostra os resultados dos três parâmetros da textura, ao longo do tempo de armazenamento: $F_{m\acute{a}x.}$, “força máxima positiva”, medida pela força de rutura, isto é, a força que é necessária para a sonda do texturómetro romper a película e penetrar na castanha, aqui expressa em g; a elasticidade, que é representada pelo deslocamento da sonda (D_p), expresso em mm, e que corresponde ao valor da posição da sonda em $F_{m\acute{a}x.}$; e a área positiva, que representa o trabalho de penetração (W_1) da castanha, traduzido no trabalho mecânico necessário para atingir o ponto de rutura, pois é considerada a área positiva sob a curva para $F_{m\acute{a}x.}$, expresso em g.s.

Tabela 5 Valores médios dos parâmetros de textura considerados para este estudo em castanhas com a película, inicialmente sujeitas aos diversos tratamentos aos 0, 30 60 e 90 dias de conservação.

Parâmetros	Tratamentos	Tempo de conservação após o tratamento			
		0 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Fmáx. (g)	Q (controle)	3259,41±62,16 ^{A,a}	3372,82±107,95 ^{A,a}	2728,09±383,29 ^{A,a}	3214.03±107.82 ^{A,a}
	P	3118,39±547,86 ^{A,a}	3320,05±216,32 ^{A,a}	2036,46±98,38 ^{AB,b}	3164.65±92.21 ^{A,a}
	U	3446,61±100,21 ^{A,a}	3240,88±230,21 ^{A,a}	1701,76±252,94 ^{B,b}	3393.59±115.89 ^{A,a}
	UP	3399,69±98,42 ^{A,a}	3314,35±190,87 ^{A,a}	1941,7±201,28 ^{B,b}	3002±219.98 ^{A,a}
	S	3329,09±156,59 ^{A,ab}	3578,49±134,87 ^{A,a}	2108,18±2108,17 ^{AB,c}	3114,20±140,62 ^{A,b}
Elasticidade (mm)	Q (controle)	2,93±0,19 ^{A,a}	2,65±0,25 ^{A,a}	2,46±0,26 ^{B,a}	2,6±0,15 ^{A,a}
	P	2,94±0,24 ^{A,a}	2,75±0,21 ^{A,a}	3,27±0,22 ^{A,a}	3,16±0,24 ^{A,a}
	U	3,03±0,25 ^{A,a}	3,01±0,10 ^{A,a}	3,14±0,07 ^{AB,a}	3,16±0,15 ^{A,a}
	UP	2,74±0,16 ^{A,ab}	2,88±0,10 ^{A,ab}	2,65±0,09 ^{AB,b}	3,13±0,18 ^{A,a}
	S	2,92±0,20 ^{A,a}	2,79±0,24 ^{A,a}	3,14±0,35 ^{AB,a}	2,77±0,30 ^{A,a}
Trabalho de penetração (W1, g.s)	Q (controle)	12554,40±41,44 ^{A,a}	13254,54±795,21 ^{A,a}	10269,45±1788,67 ^{A,a}	10777,93±778,96 ^{A,a}
	P	10494,97±1840,50 ^{A,a}	10972,90±698,92 ^{A,a}	6856,50±108,75 ^{B,b}	11314,70±865,08 ^{A,a}
	U	12517±643,23 ^{A,a}	11264,10±1046,49 ^{A,a}	6271,04±1071,86 ^{B,b}	11234.90±360.88 ^{A,a}
	UP	12552±321,43 ^{A,a}	11940,83±1419,19 ^{A,a}	7547,12±338,72 ^{AB,c}	9738,97±1005,49 ^{A,b}
	S	11803,82±343,12 ^{A,a}	13103,01±853,60 ^{A,a}	7614,93±907,15 ^{AB,b}	11324,24±369,27 ^{A,b}

Valores expressos como: Média ± Desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas por coluna, e diferentes letras minúsculas por linha indicam diferenças significativas pelo teste de tukey (p < 0.05).

Q – Calor; P – Ácido peracético; U – Ultrassons; UP – Ultrassons + Ácido peracético; S – Ultrassons + Ácido peracético sucessivamente.

Com exceção do método P esperava-se que os valores referentes à força de rutura fossem diminuindo progressivamente a partir dos 60 dias de armazenamento, uma vez que todas as outras amostras apresentaram um elevado crescimento de bolores que poderia ocasionar diminuição da firmeza do fruto (Fernandes, *et al.*, 2020b), admitindo que a atividade enzimática do próprio fruto se mantenha.

Se se considerar a evolução ao longo do tempo de conservação, verifica-se que não houve diferenças significativas entre os tempos 0, 30 e 90 dias para os três parâmetros, $F_{m\acute{a}x.}$, elasticidade e o trabalho W_1 , mas aos 2 meses, curiosamente, evidenciam-se diferenças significativas para os tratamentos U e UP relativamente ao controlo no parâmetro $F_{m\acute{a}x.}$ e P e U relativamente ao controlo no parâmetro W_1 , diminuindo estes valores. Depois, aos 3 meses, voltam a ser superiores (a força máxima e o trabalho de penetração), não apresentando quaisquer diferenças relativamente ao tratamento Q.

Constata-se igualmente que não houve diferenças entre os tratamentos para quaisquer dos tempos ensaiados (0, 30, 60 e 90 dias). Ou seja, o tratamento não teve impacto na força de rutura, nem na elasticidade dos frutos. Já o trabalho de penetração apresentou diferenças significativas entre Q e P e Q e U (isoladamente), havendo uma redução no valor do trabalho despendido para as castanhas destes tratamentos, mas só aos 2 meses (60 dias). Isto levanta a possibilidade de que o metabolismo do próprio fruto, determina estas diferenças aos 60 dias. Sabe-se que a evolução dos frutos vai implicando a progressiva perda de firmeza, por ação das enzimas pectinolíticas e celulasas, que degradam os polissacáridos que conferem estrutura aos tecidos vegetais. Por outro lado, este fruto vai perdendo água progressivamente, o que pode contribuir para um maior trabalho de penetração. Aparentemente, a força máxima e o trabalho positivo reduzem-se de forma significativa aos 60 dias, comparativamente aos dias 0, 30 e 90 de armazenamento, e sucedeu para os métodos distintos do tratamento térmico moderado (controlo).

Constata-se que no tempo 0, todos os tratamentos testados apresentaram valores na ordem dos 3000 g de força máxima de rutura, não apresentando diferenças significativas entre os métodos testados.

Aos 30 dias de armazenamento a situação é parecida, não apresentando diferenças significativas entre os tratamentos, com os valores rondando os 3000 g de força. Aos 60 dias de armazenamento há uma redução geral dos valores comparados aos dois últimos tempos, com o tratamento U atingindo os menores valores (1701,76 g), enquanto

podemos observar alguma significância na diferença entre os valores, com U e UP apresentado essas diferenças em relação a controle, ou seja, com 60 dias de armazenamento esses dois tratamentos foram capazes de reduzir significativamente a resistência da pele da castanha. Porém aos 90 dias de armazenamento observamos uma subida nos valores, rondando novamente o patamar de 3000g de força, repetindo o que aconteceu nos dois primeiros tempos, não apresentando significância em relação ao tempo 0 o que nos leva a concluir que os tratamentos testados não impactaram significativamente na força necessária para perfurar a castanha, a semelhança do que acontece com o controle.

Ao observarmos a forma como cada método se comporta ao longo do tempo perceberemos que o tratamento calor é o que apresentou uma maior constância nos valores, não havendo nenhuma diferença significativa entre os diferentes tempos. No caso dos tratamentos P, U e UP todos eles demonstram exatamente o mesmo comportamento, tendo o tempo 60 como o único onde os valores diferem significativamente dos outros tempos.

Podemos considerar que os tratamentos testados não tiveram o poder de impactar significativamente a força de rutura à semelhança de Fernandes, *et al.* (2020a), como também não houve algum efeito sinérgico na combinação dos métodos. Rosario *et al.*, (2018), no seu estudo onde avalia os efeitos da combinação de ultrassons e hipoclorito de sódio no melão, observaram que com a aplicação dos ultrassons por curtos períodos de tempo (≈ 5 min) em frutas aumenta a dureza do melão e acreditam que a aplicação por períodos mais longos de tempo pode levar a destruição dos tecidos vegetais pela cavitação. Quanto à elasticidade, a tabela mostra-nos resultados muito semelhantes aos obtidos por (Fernandes, *et al.*, 2020a). Há poucas diferenças significativas entre os valores, grande estabilidade nos resultados, e ao contrário do Cecchini *et al.*, (2011) não se observa uma diminuição da elasticidade e o conseqüente aumento da firmeza nos resultados dos métodos testados. Aos 90 dias de armazenamento nenhum dos tratamentos testados diferiu significativamente do tratamento convencional, mostrando assim que a esse tempo de conservação, esses métodos não têm impacto sobre estes parâmetros de qualidade da castanha. Resumindo, os resultados mostraram que a textura não foi muito influenciada pelos tratamentos testados, não interferindo assim na qualidade das castanhas.

4.1.5 Avaliação instrumental da cor

A cor da parte externa (casca) da castanha é um aspeto de grande importância, uma vez que muitos consumidores se baseiam nela no momento da compra (Fernandes, *et al.*, 2020a). Na tabela 6 e 7 constam os valores nos parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h) no exterior e no interior das castanhas ao longo do armazenamento.

Tabela 6 Parâmetros de avaliação da cor externa das castanhas sujeitas aos distintos tratamentos, ao longo do armazenamento.

Parâmetro	Tratamentos	Tempo de conservação			
		0 dias	30 dias	60 dias	90 dias
L^*	Q(controlo)	29,77 ± 0,95 ^{B,b}	29,79±0,32 ^{B,b}	31,64±1,35 ^{A,b}	34,05±0,73 ^{A,a}
	P	30,52 ± 0,33 ^{AB,b}	31,12± 0,25 ^{A,ab}	31,90±0,39 ^{A,a}	32,13±0,54 ^{B,a}
	U	31,36 ± 0,13 ^{A,a}	31,35±0,55 ^{A,a}	32,25±0,38 ^{A,a}	31,89±0,47 ^{B,a}
	UP	31,41 ± 0,63 ^{A,a}	30,89±0,53 ^{AB,a}	31,84±0,07 ^{A,a}	31,75±0,62 ^{B,a}
	S	30,73 ± 0,41 ^{AB,b}	30,75±0,63 ^{AB,b}	32,23±0,39 ^{A,a}	31,75±0,72 ^{B,a}
a^*	Q(controlo)	12,76±0,32 ^{A,a}	12,28±0,43 ^{B,ab}	11,48±0,28 ^{A,ab}	10,62±1,12 ^{A,b}
	P	13,24±0,51 ^{A,a}	13,70±0,35 ^{A,a}	12,38±0,22 ^{A,a}	12,42±1,26 ^{A,a}
	U	13,79±0,23 ^{A,a}	13,85±0,43 ^{A,a}	12,49±0,74 ^{A,b}	12,46±0,27 ^{A,b}
	UP	13,93±0,74 ^{A,a}	13,85±0,64 ^{A,ab}	12,49±0,46 ^{A,ab}	11,95±0,56 ^{A,b}
	S	13,21±0,15 ^{A,ab}	13,85±0,60 ^{A,a}	12,47±0,56 ^{A,b}	12,48±0,17 ^{A,b}
b^*	Q(controlo)	8,84±0,91 ^{B,a}	9,91±1,04 ^{B,a}	10,08±1,74 ^{A,a}	9,48±1,01 ^{A,a}
	P	9,55±0,09 ^{AB,a}	11,09±0,40 ^{AB,a}	10,45±0,59 ^{A,a}	11,26±1,40 ^{A,a}
	U	10,28±0,28 ^{A,a}	11,49±0,36 ^{A,a}	10,38±0,71 ^{A,a}	10,44±0,63 ^{A,a}
	UP	10,01±0,61 ^{AB,a}	10,30±0,93 ^{AB,a}	10,21±0,32 ^{A,a}	10,20±1,05 ^{A,a}
	S	9,45 ± 0,21 ^{AB,a}	10,99±0,89 ^{AB,a}	10,68±0,63 ^{A,a}	10,53±0,70 ^{A,a}
C^*	Q(controlo)	15,58±0,80 ^{B,a}	15,41±0,97 ^{B,a}	15,38±1,39 ^{A,a}	14,32±1,45 ^{A,a}
	P	16,39±0,44 ^{AB,a}	17,66±0,41 ^{AB,a}	16,27±0,51 ^{A,a}	16,82±1,87 ^{A,a}
	U	17,24±0,01 ^{A,ab}	18,06±0,53 ^{A,a}	16,30±0,97 ^{A,b}	16,31±0,55 ^{A,b}
	UP	17,19±0,95 ^{A,a}	16,71±1,10 ^{AB,a}	16,19±0,57 ^{A,a}	15,80±1,04 ^{A,a}
	S	16,27±0,03 ^{AB,a}	17,85±1,01 ^{A,a}	16,48±0,80 ^{A,a}	16,39±0,45 ^{A,a}
h	Q(controlo)	33,95 ± 1,82 ^{A,b}	36,26±2,10 ^{A,ab}	40,15±4,40 ^{A,ab}	42,25±2,01 ^{A,a}
	P	35,52±0,95 ^{A,c}	38,64±1,16 ^{A,b}	39,52±1,35 ^{A,ab}	41,67±0,87 ^{A,a}
	U	36,38±1,20 ^{A,b}	39,10±0,30 ^{A,ab}	39,10±0,98 ^{A,ab}	39,46±1,54 ^{A,a}
	UP	35,43±0,15 ^{A,b}	37,40±1,02 ^{A,ab}	38,78±0,40 ^{A,a}	39,49±1,74 ^{A,a}
	S	35,28±1,08 ^{A,b}	37,64±1,24 ^{A,ab}	40,11±0,90 ^{A,a}	39,78±2,07 ^{A,a}

Valores expressos como: Média ± Desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas por coluna, e diferentes letras minúsculas por linha indicam diferenças significativas pelo teste de tukey ($p < 0.05$). Q – Calor; P – Ácido peracético; U – Ultrassons; UP – Ultrassons + Ácido peracético; S – Ultrassons + Ácido peracético sucessivamente.

Em relação à luminosidade (L^*), a partir dos 60 dias, há um ligeiro aumento deste parâmetro (com significado estatístico) para as castanhas de todos os tratamentos, exceto as castanhas sujeitas a ultrassons (U e UP). Após 90 dias de armazenamento todos métodos testados variaram de forma significativa em relação ao controlo, com esse último apresentando os maiores valores, isto é, as amostras mostraram-se mais claras, o que tem sentido, uma vez que as amostras estavam cobertas por fungos de forma extensa. No estudo de Fernandes, *et al.*, (2020a) não analisaram a cor após 90 dias devido à alta incidência de fungos. Para o parâmetro a^* , a partir essencialmente dos 60 dias, houve diferenças significativas para todos os tratamentos relativamente aos primeiros trinta dias de armazenamento - exceto no tratamento com ácido peracético (P), que se manteve estável durante os 3 meses - com uma diminuição, ainda que ligeira, do seu valor, ou seja, diminuiu a tonalidade vermelha das cascas a partir dos 2 meses. Já relativamente ao parâmetro b^* , os resultados mostraram-se estáveis ao longo dos 3 meses para todos os tratamentos, e só houve diferenças significativas entre os tratamentos Q e U nos primeiros 2 meses. Também para o croma (C^*) Não há diferenças com significado ao longo dos 3 meses e apenas nos dois primeiros tempos de armazenamento se observam diferenças entre o tratamento controlo (Q) e os tratamentos com ultrassons (U e UP).

Já a tonalidade, h , apresenta diferenças significativas entre o primeiro mês e os meses seguintes, para, praticamente, todos os tratamentos, mas não há diferenças entre estes. Em resumo, no que diz respeito à cor externa da castanha - que condiciona a sua aparência - o fator tratamento tem essencialmente influência sobre os parâmetros L^* , b^* e C^* , enquanto o fator tempo (de conservação), influencia mais a coordenada a^* e a tonalidade (h).

Tabela 7 Parâmetros de avaliação da cor interna das castanhas sujeitas aos distintos tratamentos, ao longo do armazenamento.

Parâmetro	Tratam.	Tempo de conservação			
		0 dias	30 dias	60 dias	90 dias
L*	Q (controle)	86,62±0,77 ^{A,a}	85,07±1,03 ^{A,a}	84,26±0,73 ^{A,a}	83,96±1,83 ^{AB,a}
	P	85,91±0,69 ^{A,a}	85,41±1,09 ^{A,a}	85,79±0,70 ^{A,a}	83,48±2,14 ^{AB,a}
	U	86,38±0,78 ^{A,a}	83,59±0,95 ^{A,a}	83,75±0,11 ^{A,a}	79,90±1,77 ^{B,b}
	UP	84,82±1,68 ^{A,a}	84,50±0,75 ^{A,a}	82,98±3,91 ^{A,a}	85,17±1,03 ^{A,a}
	S	84,30±0,94 ^{A,a}	83,81±0,95 ^{A,a}	85,39±1,07 ^{A,a}	84,87±1,02 ^{A,a}
a*	Q (controle)	-1,18±0,42 ^{A,a}	-1,20±0,22 ^{A,a}	-2,85±0,52 ^{A,b}	-2,31±0,11 ^{A,b}
	P	-1,33±0,22 ^{A,a}	-1,23±0,27 ^{A,a}	-2,76±0,21 ^{A,b}	-2,60±0,48 ^{A,b}
	U	-1,03±0,05 ^{A,a}	-1,07±0,02 ^{A,a}	-2,58±0,23 ^{A,b}	-1,66±0,55 ^{A,a}
	UP	-1,04±0,42 ^{A,b}	-0,76±0,27 ^{A,a}	-2,67±0,68 ^{A,c}	-2,21±0,48 ^{A,bc}
	S	-1,12±0,13 ^{A,a}	-0,97±0,32 ^{A,a}	-2,74±0,32 ^{A,b}	-2,11±0,17 ^{A,b}
b*	Q (controle)	24,58±0,84 ^{A,a}	23,60±0,61 ^{A,a}	24,74±1,49 ^{A,a}	24,68±1,64 ^{A,a}
	P	25,36±1,52 ^{A,a}	25,37±2,04 ^{A,a}	25,09±1,30 ^{A,a}	24,61±1,16 ^{A,a}
	U	24,29±0,52 ^{A,a}	25,77±0,48 ^{A,a}	24,59±1,33 ^{A,a}	25,25±1,14 ^{A,a}
	UP	24,50±1,63 ^{A,a}	23,87±1,76 ^{A,a}	25,55±1,21 ^{A,a}	26,22±1,40 ^{A,a}
	S	25,05±0,49 ^{A,a}	26,81±0,37 ^{A,a}	25,78±1,16 ^{A,a}	26,24±0,76 ^{A,a}
C*	Q (controle)	24,62±0,85 ^{A,a}	23,63±0,59 ^{A,a}	24,93±1,51 ^{A,a}	24,85±1,67 ^{A,a}
	P	25,41±1,53 ^{A,a}	25,41±2,04 ^{A,a}	25,27±1,29 ^{A,a}	24,77±1,20 ^{A,a}
	U	24,32±0,52 ^{A,a}	25,80±0,48 ^{A,a}	24,75±1,28 ^{A,a}	25,38±1,10 ^{A,a}
	UP	24,55±1,63 ^{A,a}	23,90±1,76 ^{A,a}	25,72±1,25 ^{A,a}	26,36±1,40 ^{A,a}
	S	25,09±0,49 ^{A,a}	26,83±0,38 ^{A,a}	25,96±1,12 ^{A,a}	26,36±0,77 ^{A,a}
h	Q (controle)	92,70±0,91 ^{A,b}	92,78±0,48 ^{A,b}	96,43±1,13 ^{A,a}	95,25±0,66 ^{AB,a}
	P	92,91±0,39 ^{A,b}	92,76±0,42 ^{A,b}	96,26±0,92 ^{A,a}	95,94±0,83 ^{A,a}
	U	92,43±0,11 ^{A,b}	92,34±0,06 ^{A,b}	95,81±0,41 ^{A,a}	93,43±1,33 ^{B,b}
	UP	92,23±0,94 ^{A,b}	91,65±0,66 ^{A,b}	95,95±1,22 ^{A,a}	94,81±0,92 ^{AB,a}
	S	92,52±0,38 ^{A,b}	92,07±0,62 ^{A,b}	96,19±0,85 ^{A,a}	94,59±0,51 ^{AB,a}

Valores expressos como: Média ± Desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas por coluna, e diferentes letras minúsculas por linha indicam diferenças significativas pelo teste de tukey ($p < 0.05$). Q – Calor; P – Ácido peracético; U – Ultrassons; UP – Ultrassons + Ácido peracético; S – Ultrassons + Ácido peracético sucessivamente.

Em relação à cor interna, até os 60 dias de armazenamento não houve diferenças com significado; nenhum dos parâmetros foi afetado pelos novos tratamentos testados, nem houve quaisquer diferenças entre os diversos tratamentos.

Contudo, aos 60 e 90 dias verificou-se que o parâmetro a* foi diminuindo significativamente, para todos os tratamentos, comparativamente ao dia do tratamento e

aos 30 dias na câmara de refrigeração industrial. Ou seja, o interior da castanha tendeu a tornar-se mais “verde” e menos “vermelho” a partir dos 2 meses.

Verificou-se também que aos 60 e 90 dias, em todos os tratamentos, incluindo o tratamento convencional (com tratamento térmico moderado), os valores de *h* (pureza da cor) foram significativamente superiores em termos estatísticos, relativamente aos valores dos primeiros 30 dias, ou seja, também este parâmetro de cor interna sofreu evolução a partir dos 2 meses.

4.2 Efeito dos tratamentos sobre a carga microbiana das castanhas durante o armazenamento

As castanhas frescas devido ao seu alto teor de açúcares e humidade são suscetíveis ao crescimento de microrganismos (Di Girolamo *et al.*, 2021) e como consequência tem um tempo de vida útil limitado. Assim, com o objetivo de aumentar o tempo de vida útil das castanhas foram aplicados os seguintes tratamentos às castanhas: imersão em banho de água quente (controlo, Q), ultrassons (U), ácido peracético (P), e as combinações dos dois últimos tratamentos ao longo de 3 meses de armazenamento (UP e S). Os resultados das contagens de microrganismos a 30°C e de bolores e leveduras encontram-se apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 Contagem média (log ufc/g ± desvio padrão) de microrganismos a 30 °C e de bolores e leveduras ao longo do armazenamento.

Microrganismos	Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			
		T0	T30	T60	T90
Microrganismos a 30°C	Q (controlo)	1,47±0,40 ^{C,b}	4,17±0,68 ^{A,a}	5,10±0,68 ^{A,a}	5,38±0,48 ^{A,a}
	P	2,45±0,22 ^{BC,ab}	2,37±0,60 ^{B,b}	3,08±0,30 ^{B,ab}	3,70±0,67 ^{B,a}
	U	3,48±0,22 ^{A,a}	3,89±0,60 ^{AB,a}	3,20±0,28 ^{B,a}	4,00±0,75 ^{AB,a}
	UP	2,73±0,65 ^{B,b}	3,13±0,55 ^{AB,b}	4,82±0,91 ^{A,a}	3,59±0,23 ^{B,ab}
	S	3,16±0,05 ^{AB,c}	3,25±0,37 ^{AB,c}	3,90±0,24 ^{AB,b}	4,07±0,25 ^{AB,a}
Bolores e leveduras	Q (controlo)	1,00±0,00 ^{B,c}	4,24±0,70 ^{A,b}	6,00±0,44 ^{A,a}	6,74±0,25 ^{A,a}
	P	3,37±0,24 ^{A,b}	4,19±0,72 ^{A,ab}	4,62±0,13 ^{C,a}	4,59±0,40 ^{B,a}
	U	4,22±0,61 ^{A,a}	4,68±0,89 ^{A,a}	5,00±0,50 ^{B,a}	5,52±0,47 ^{B,a}
	UP	4,11±0,66 ^{A,a}	4,13±0,76 ^{A,a}	5,18±0,23 ^{B,a}	4,92±0,76 ^{B,a}
	S	3,74±0,04 ^{A,b}	4,59±1,00 ^{A,ab}	5,55±0,09 ^{AB,a}	5,66±0,14 ^{AB,a}

Letras maiúsculas diferentes por coluna e letras minúsculas diferentes por linha indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Q – Calor; P – Ácido peracético; U – Ultrassons; UP – Ultrassons + ácido peracético; S – Ultrassons + ácido peracético sucessivamente.

Constatou-se que imediatamente após a aplicação dos tratamentos (T0), as castanhas que obtiveram uma menor contagem de microrganismos a 30°C, e de bolores e leveduras foram as do tratamento controlo (tratamento convencional), cujas contagens foram respetivamente de $1,47 \pm 0,40$ e de $1,0 \pm 0,00$ log ufc/g, seguido do tratamento com ácido peracético ($2,45 \pm 0,22$ e de $3,37 \pm 0,24$ log ufc/g, respetivamente). Porém, após 30 dias de armazenamento observou-se um acréscimo significativo da carga microbiana nas castanhas sujeitas ao tratamento controlo sendo visível a presença de bolores a partir dos 60 dias de armazenamento (Figura 6). No final do período de ensaio as castanhas deste tratamento (Q) apresentavam uma contagem de bolores e leveduras significativamente mais elevada ($6,74 \pm 0,25$ log ufc/g) que os restantes tratamentos aplicados, com exceção do tratamento S (ultrassons + ácido peracético sucessivamente), cujos valores foram estatisticamente semelhantes ao tratamento controlo ($5,66 \pm 0,14$ log ufc/g).



Figura 6- Aparência das castanhas no tratamento controlo após 30 dias (a); 60 dias (b) e 90 dias (c) de armazenamento.

Em relação ao tratamento com ácido peracético, observou-se a partir dos 60 dias um aumento da carga microbiana de bolores e leveduras. Porém, os valores observados foram inferiores aos do tratamento controlo, bem como dos restantes tratamentos ensaiados. Este resultado deve-se ao efeito oxidante do ácido peracético que promove a oxidação da membrana celular externa de bactérias, leveduras e bolores (Alvarenga *et al.*, 2020). A ação sobre as membranas pode ser devida a diferentes mecanismos, como a desnaturação de proteínas e enzimas e aumento da permeabilidade da parede celular pela oxidação de ligações sulfidrílica e dissulfeto; e através da rutura das membranas celulares e bloqueio de

sistemas enzimáticos e de transporte dos microrganismos. Além disso, o ácido peracético pode também danificar o DNA e os lipídios através da produção de espécies reativas de oxigênio (Zudaire *et al.*, 2018). Num trabalho realizado por Behlau *et al.*, (2021), onde foi testado o poder desinfetante de diversos bactericidas incluindo o ácido peracético, foi constatando que o ácido peracético quando usado numa concentração de 100 ppm, por 2 min para a lavagem de frutas cítricas, promove uma diminuição de até 2,8 log₁₀ ufc/mL. Zudaire *et al.*, (2018) mostraram também que a população de bactérias aeróbicas totais de cebolas diminuiu significativamente após a desinfecção com 80 mg L⁻¹ (39%) de ácido peracético por 60 segundos quando comparados com o controle (processamento mínimo: corte e descasque), assim como após o tratamento de calor. Porém, ao contrário do nosso estudo, o tratamento de calor mostrou-se significativamente melhor que o ácido peracético após 15 dias de armazenamento, diminuindo ainda mais a carga de mesófilos totais. Essa disparidade de resultados pode ser devido à natureza distinta das matrizes (Zudaire *et al.*, 2018).

Nas castanhas submetidas ao tratamento com ultrassons (U) observaram-se poucas oscilações na carga microbiana de mesófilos (3,48±0,22 a 4,00±0,75 log ufc/g) e de bolores e leveduras (4,22±0,61 e 5,52±0,47 log ufc/g) durante o armazenamento. Comportamento semelhante foi observado com a combinação ultrassons e ácido peracético (UP) para os bolores e leveduras, que variaram de 4,11±0,66 a 4,92±0,76 log ufc/g. Para os microrganismos mesófilos as variações ocorridas foram de 2,73±0,65 a 4,82±0,76 log ufc/g, sendo o valor máximo aos 60 dias após armazenamento.

Assim, no final do período de armazenamento a menor carga microbiana de mesófilos e de fungos foi observada nos tratamentos com ácido peracético (3,70±0,67 e 4,59±0,40 log ufc/g, respetivamente), ultrassons (4,00±0,75 e 5,52±0,47 log ufc/g, respetivamente) e a combinação de ultrassons com ácido peracético (3,59±0,23 e 4,92 ±0,76 log CFU/g, respetivamente). Trabalhos desenvolvidos por Görgüç *et al.* (2021) em que investigaram os efeitos sinérgicos de tratamentos sanitários com ultrassons e ácido peracético em figos secos inoculados com microrganismos patogénicos (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Penicillium expansum*) e por Bang *et al.* (2017) onde investigaram os mesmos efeitos sinérgicos e em pepinos inoculados com *Cronobacter sakazakii*, observaram que a combinação obteve melhores resultados que os tratamentos isolados. Levando em conta que os seus resultados foram mais influentes na presença de ultrassons (mesmo em concentrações baixas), Görgüç *et al.* (2021) acreditam que as ondas de ultrassons provavelmente enfraquecem a parede celular microbiana aumentando assim a difusão do

ácido peracético consequentemente aumentando a sua ação. Entretanto os resultados de Bang *et al.* (2017) sugerem que por outro lado, a concentração de ácido peracético é mais influente, ou seja, as reduções dependem principalmente da concentração de ácido peracético, e não do tempo de tratamento com ultrassons. Essa diferença entre os resultados desses dois últimos trabalhos pode residir provavelmente no fato de que no trabalho realizado por Bang *et al.* (2017), o objetivo passa por eliminar biofilme que é uma estrutura que confere mais resistência as bactérias possuidoras do mesmo. Alvarenga *et al.*, (2020) ao testarem os efeitos de ultrassons, ácido peracético, e sua combinação em morangos, constataram que os melhores resultados microbiológicos foram obtidos com a combinação dos métodos (microrganismos a 30°C: $3,92 \pm 0,81$ log ufc/g; bolores e leveduras: $3,0 \pm 0,33$ log ufc/g), seguido do ácido peracético (microrganismos a 30°C: $4,86 \pm 0,82$ log ufc/g; bolores e leveduras: $3,89 \pm 0,60$ log ufc/g) e ultrassons isolado (microrganismos a 30°C: $5,34 \pm 0,66$ log ufc/g; bolores e leveduras: $4,31 \pm 0,49$ log ufc/g). No presente trabalho, o tratamento com ácido peracético apresentou globalmente cargas microbianas mais baixas relativamente aos tratamentos ultrassons e entre a combinação ultrassons com o ácido peracético (UP) e S.

5 Conclusão

Neste estudo, explorou-se a utilização da tecnologia de ultrassons em castanhas, de forma isolada e complementar ao uso de uma solução desinfetante à base de ácido peroxiacético, fazendo-se uma avaliação comparativa da eficácia de conservação de castanhas frescas sujeitas aos diferentes tratamentos já mencionados, ao longo de três meses de armazenamento. Os diferentes tratamentos pós-colheita estudados mostraram efeitos distintos nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos das castanhas ao longo de 3 meses de armazenamento. Enquanto decorria o tempo de conservação os resultados da perda de massa mostraram-se semelhantes em todos os tratamentos, inclusive no controle, porém decorrido os 3 meses de armazenamento, o tratamento de peracético, demonstrou as menores reduções de massa, com as diferenças a terem significado estatístico. No caso do teor de humidade, no fim do mesmo período o tratamento convencional foi o que mais promoveu a desidratação das castanhas, e novamente ácido peracético, foi o que melhor preservou a humidade das castanhas. Contudo, de uma forma geral, os resultados foram muito parecidos entre si, o que também é corroborado pelos resultados da atividade da água das castanhas, que se manteve constante durante todo o tempo de conservação em todos os tratamentos, ou seja, os tratamentos testados não impactaram na desidratação das amostras. Quanto ao teor de cinzas, concluiu-se que, aparentemente, no curto prazo, quaisquer dos tratamentos descontaminantes ensaiados não influenciaram o teor de matéria mineral das castanhas, o que é um indicador positivo para a indústria que processa este fruto. No que diz respeito à cor externa da castanha – que condiciona a sua aparência – ficou claro que o fator tratamento tem essencialmente influência sobre os parâmetros L^* , b^* e C^* , enquanto o fator tempo (de conservação), influencia mais a coordenada a^* e a tonalidade (h). Quanto aos resultados de microbiologia, o tratamento só com o ácido peracético apresentou, de um modo geral, as menores contagens de microrganismos durante o armazenamento, mostrando ser o melhor método de preservação das castanhas. Além disso, este tratamento não teve um impacto negativo nos parâmetros físico-químicos analisados. Deste modo, este método poderá constituir uma alternativa ou um complemento na descontaminação de castanhas na fase pós-colheita. No entanto, mais trabalhos devem ser feitos, no futuro, sobre os efeitos desses tratamentos na qualidade sensorial de castanhas durante o armazenamento, a fim de selecionar as melhores combinações a serem utilizadas pelos produtores e industriais de castanha.

6 Referências

- Al-juhaimi, F., Ghafoor, K., Özcan, M. M., Jahurul, M. H. A., Babiker, E. E., Jinap, S., Sahena, F., Sharifudin, M. S., & Zaidul, I. S. M. (2018). Effect of various food processing and handling methods on preservation of natural antioxidants in fruits and vegetables. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 3872–3880. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3370-0>
- Alvarenga, P. D. L., Mileib Vasconcelos, C., & de São José, J. F. B. (2020). Application of Ultrasound Combined with Acetic Acid and Peracetic Acid: Microbiological and Physicochemical Quality of Strawberries. *Molecules*, 26(1), 16. <https://doi.org/10.3390/molecules26010016>
- Anandan, S., Kumar Ponnusamy, V., & Ashokkumar, M. (2020). A review on hybrid techniques for the degradation of organic pollutants in aqueous environment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 67, 105130. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105130>
- Antonio, A. L., Fernandes, Â., Barreira, J. C. M., Bento, A., Botelho, M. L., & Ferreira, I. C. F. R. (2011). Influence of gamma irradiation in the antioxidant potential of chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) fruits and skins. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 1918–1923. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.02.016>
- Antonio, A. L., Fernandes, A., Bento, A., Ferreira, A., Trigo, M. J., Botelho, M. L., Quintana, B., & Ramalhosa, E. (2013). Gamma Irradiation Preservation Of Chestnut Fruits: Effects On Color And Texture. 7.
- Ao, X., Eloranta, J., Huang, C.-H., Santoro, D., Sun, W., Lu, Z., & Li, C. (2021). Peracetic acid-based advanced oxidation processes for decontamination and disinfection of water: A review. *Water Research*, 188, 116479. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116479>
- Araújo, A. A. de S., Mercuri, L. P., Seixas, S. R. S., Storpirtis, S., & Matos, J. do R. (2006). Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42(2). <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000200013>
- Back, K.-H., Ha, J.-W., & Kang, D.-H. (2014). Effect of hydrogen peroxide vapor treatment for inactivating *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. *Food Control*, 44, 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.046>
- Ban, Z., Wei, W., Yang, X., Feng, J., Guan, J., & Li, L. (2015). Combination of heat treatment and chitosan coating to improve postharvest quality of wolfberry (*Lycium barbarum*). *International Journal of Food Science & Technology*, 50(4), 1019–1025. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12734>
- Bandyopadhyay, N. C., More, V., Tripathi, J., & Gautam, S. (2020). Gamma radiation treatment to ensure microbial safety of ready to bake (RTB) vegetable toppings/ fillers and retain their nutritional qualities during cold storage. *Radiation Physics and Chemistry*, 176, 108939. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.108939>

- Bang, H.-J., Park, S. Y., Kim, S. E., Md Furkanur Rahaman, M., & Ha, S.-D. (2017). Synergistic effects of combined ultrasound and peroxyacetic acid treatments against *Cronobacter sakazakii* biofilms on fresh cucumber. *LWT*, *84*, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.037>
- Barreira, J. C. M., Antonio, A. L., Günaydi, T., Alkan, H., Bento, A., Luisa Botelho, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2012). Chemometric characterization of gamma irradiated chestnuts from Turkey. *Radiation Physics and Chemistry*, *81*(9), 1520–1524. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2012.01.005>
- Barreira, J. C. M., Casal, S., Ferreira, I. C. F. R., Peres, A. M., Pereira, J. A., & Oliveira, M. B. P. P. (2012). Chemical characterization of chestnut cultivars from three consecutive years: Chemometrics and contribution for authentication. *Food and Chemical Toxicology*, *50*(7), 2311–2317. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.04.008>
- Bayoumi, Y. A. (2008). Improvement of postharvest keeping quality of white pepper fruits (*Capsicum annuum*, L.) by hydrogen peroxide treatment under storage conditions. *Acta Biologica Szegediensis*, *52*(1), Artigo 1.
- Behlau, F., Paloschi, A., Marin, T. G. S., Santos, T. A., Ferreira, H., & Nascimento, L. M. do. (2021). Chlorine dioxide, peroxyacetic acid, and calcium oxychloride for post-harvest decontamination of citrus fruit against *Xanthomonas citri* subsp. *Citri*, causal agent of citrus canker. *Crop Protection*, *146*, 105679. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105679>
- Bhilwadikar, T., Pounraj, S., Manivannan, S., Rastogi, N. K., & Negi, P. S. (2019). Decontamination of Microorganisms and Pesticides from Fresh Fruits and Vegetables: A Comprehensive Review from Common Household Processes to Modern Techniques. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *18*(4), 1003–1038. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12453>
- Bokhary, S. U. F., Wang, L., Zheng, Y., & Jin, P. (2020). Pre-storage hot water treatment enhances chilling tolerance of zucchini (*Cucurbita pepo* L.) squash by regulating arginine metabolism. *Postharvest Biology and Technology*, *166*, 111229. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111229>
- Borges, O., Gonçalves, B., de Carvalho, J. L. S., Correia, P., & Silva, A. P. (2008). Nutritional quality of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars from Portugal. *Food Chemistry*, *106*(3), 976–984. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.011>
- Botondi, R., Vailati, M., Bellincontro, A., Massantini, R., Forniti, R., & Mencarelli, F. (2009). Technological parameters of water curing affect postharvest physiology and storage of marrons (*Castanea sativa* Mill., Marrone fiorentino). *Postharvest Biology and Technology*, *51*(1), 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.06.010>
- Bounous, G. (2002). *Inventory of Chestnut Research, Germplasm and References*. <https://www.fao.org/3/ad235e/ad235e00.htm#Contents>
- Buchholz, A., & Matthews, K. R. (2010). Reduction of Salmonella on alfalfa seeds using peroxyacetic acid and a commercial seed washer is as effective as treatment with 20 000

- ppm of Ca(OCl)₂: Salmonella reduction on alfalfa seed. *Letters in Applied Microbiology*, 51(4), 462–468. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02929.x>
- Camisón, Á., Martín, M. Á., Oliva, J., Elfstrand, M., & Solla, A. (2019). Increased tolerance to *Phytophthora cinnamomi* in offspring of ink-diseased chestnut (*Castanea sativa* Miller) trees. *Annals of Forest Science*, 76(4), 119. <https://doi.org/10.1007/s13595-019-0898-8>
- Cao, S., Hu, Z., & Pang, B. (2010). Optimization of postharvest ultrasonic treatment of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 55(3), 150–153. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.11.002>
- Carbajal-Padilla, D., Cerón-García, A., Gómez-Salazar, J. A., Rojas-Laguna, R., & Sosa-Morales, M. E. (2022). Postharvest treatments with radio frequency for 10 and 20 kg batches of black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *International Journal of Food Science & Technology*, 57(6), 3244–3250. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15584>
- Carocho, M., Barros, L., Antonio, A. L., Barreira, J. C. M., Bento, A., Kaluska, I., & Ferreira, I. C. F. R. (2013). Analysis of organic acids in electron beam irradiated chestnuts (*Castanea sativa* Mill.): Effects of radiation dose and storage time. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 348–352. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.01.031>
- Cecchini, M., Contini, M., Massantini, R., Monarca, D., & Moschetti, R. (2011). Effects of controlled atmospheres and low temperature on storability of chestnuts manually and mechanically harvested. *Postharvest Biology and Technology*, 61(2–3), 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.03.001>
- Chambre d'Agriculture de la Corrèze (2009). Châtaigne - Les différents procédés de Conservation. 06/11/2009. Chambre d'Agriculture de la Corrèze (France)
- Ciriminna, R., Albanese, L., Meneguzzo, F., & Pagliaro, M. (2016). Hydrogen Peroxide: A Key Chemical for Today's Sustainable Development. *ChemSusChem*, 9(24), 3374–3381. <https://doi.org/10.1002/cssc.201600895>
- Coelho, V., Gouveia, E., (2017). Fungos associados com as podridões da castanha. I Congresso Luso-Brasileiro de Horticultura. Lisboa, 1-4 Novembro, Livro de resumos, p. 162
- Coelho, V., Gouveia, E. (2021). *Gnomoniopsis smithogilvyi*, the causal agent of chestnut brown rot reported from Portugal. *New Disease Reports*, 43(2). <https://doi.org/10.1002/ndr2.12007>
- Corregidor, V., Antonio, A. L., Alves, L. C., & Cabo Verde, S. (2020). *Castanea sativa* shells and fruits: Compositional analysis by proton induced X-ray emission. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 477, 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2019.08.018>
- Costa, R. L. (2020). *Manual de Boas Práticas de Fruticultura - Castanheiro*. 6º Fascículo, edição nº 214. Revista Frutas, Legumes e Flores, em parceria com INIAV, I.P. (Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade) e COTR (Eds.)

- Cristofari-Marquand, E., Kacel, M., Milhe, F., Magnan, A., & Lehucher-Michel, M. (2007). Asthma Caused by Peracetic Acid-Hydrogen Peroxide Mixture. *Journal of Occupational Health*, 49(2), 155–158. <https://doi.org/10.1539/joh.49.155>
- Delgado, T., Pereira, J. A., Ramalhosa, E., & Casal, S. (2017). Comparison of different drying methods on the chemical and sensory properties of chestnut (*Castanea sativa* M.) slices. *European Food Research and Technology*, 243(11), 1957–1971. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2902-6>
- Di Girolamo, F. V., Pagano, M., Tredicucci, A., Bitossi, M., Paoletti, R., Barzanti, G. P., Benvenuti, C., Roversi, P. F., & Toncelli, A. (2021). Detection of fungal infections in chestnuts: A terahertz imaging-based approach. *Food Control*, 123, 107700. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107700>
- Driss, J.O. (2019) Chestnut rots: disease incidence and molecular identification of causal agents. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biotecnológica. Instituto Politécnico de Bragança, 53 pp.
- Duarte, A. L. A., do Rosário, D. K. A., Oliveira, S. B. S., de Souza, H. L. S., de Carvalho, R. V., Carneiro, J. C. S., Silva, P. I., & Bernardes, P. C. (2018). Ultrasound improves antimicrobial effect of sodium dichloroisocyanurate to reduce *Salmonella Typhimurium* on purple cabbage. *International Journal of Food Microbiology*, 269, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.007>
- Ertan, E., Erdal, E., Alkan, G., & Algül, B. E. (2015). Effects of Different Postharvest Storage Methods on the Quality Parameters of Chestnuts (*Castanea sativa* Mill.). *HortScience*, 50(4), 577–581. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.4.577>
- Eswaranandam, S., Hettiarachchy, N. S., & Johnson, M. G. (2006). Antimicrobial Activity of Citric, Lactic, Malic, or Tartaric Acids and Nisin-incorporated Soy Protein Film Against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella gaminara*. *Journal of Food Science*, 69(3), FMS79–FMS84. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb13375.x>
- FAOSTAT. (2019, Dezembro 10). Crops and livestock products <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
- Fernandes, L., Pereira, E. L., do Céu Fidalgo, M., Gomes, A., & Ramalhosa, E. (2020). Physicochemical properties and microbial control of chestnuts (*Castanea sativa*) coated with whey protein isolate, chitosan and alginate during storage. *Scientia Horticulturae*, 263, 109105. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109105>
- Fernandes, L., Pereira, E. L., Fidalgo, M. D. C., Gomes, A., & Ramalhosa, E. (2020). Effect of Modified Atmosphere, Vacuum and Polyethylene Packaging on Physicochemical and Microbial Quality of Chestnuts (*Castanea sativa*) during Storage. *International Journal of Fruit Science*, 20(sup2), S785–S801. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1768619>
- Ferreira-Cardoso, J. V., Sequeira, C. A., Torres-Pereira, J. M. G., Rodrigues, L., & Gomes, E. F. (1999). Lipid Composition Of *Castanea Sativa* Mill. Fruits Of Some Native

Portuguese Cultivars. *Acta Horticulturae*, 494, 133–138. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.494.19>

Fu, T. Y., Gent, P., & Kumar, V. (2012). Efficacy, efficiency and safety aspects of hydrogen peroxide vapour and aerosolized hydrogen peroxide room disinfection systems. *Journal of Hospital Infection*, 80(3), 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2011.11.019>

Gombas, D., Luo, Y., Brennan, J., Shergill, G., Petran, R., Walsh, R., Hau, H., Khurana, K., Zomorodi, B., Rosen, J., Varley, R., & Deng, K. (2017). Guidelines To Validate Control of Cross-Contamination during Washing of Fresh-Cut Leafy Vegetables. *Journal of Food Protection*, 80(2), 312–330. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-258>

Gonçalves, B., Borges, O., Costa, H. S., Bennett, R., Santos, M., & Silva, A. P. (2010). Metabolite composition of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) upon cooking: Proximate analysis, fibre, organic acids and phenolics. *Food Chemistry*, 122(1), 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.032>

Görgüç, A., Gençdağ, E., Okuroğlu, F., Yılmaz, F. M., Bıyık, H. H., Öztürk Köse, S., & Ersus, S. (2021). Single and combined decontamination effects of power-ultrasound, peroxyacetic acid and sodium chloride sanitizing treatments on *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Penicillium expansum* inoculated dried figs. *LWT*, 140, 110844. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110844>

Grant, W. D. (2004). Life at low water activity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1448), 1249–1267. <https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1502>

Guentzel, J. L., Liang Lam, K., Callan, M. A., Emmons, S. A., & Dunham, V. L. (2008). Reduction of bacteria on spinach, lettuce, and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. *Food Microbiology*, 25(1), 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.08.003>

Gulsunoglu-Konuskan, Z., Karbancioglu-Guler, F., & Kilic-Akyilmaz, M. (2021). Development of a bioprocess for production of ellagic acid from chestnut (*Castanea sativa* Mill.) waste by fermentation with *Aspergillus* spp. *Food Bioscience*, 42, 101058. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101058>

Hashemi, S. M. B., & Jafarpour, D. (2020). Ultrasound and malic acid treatment of sweet lemon juice: Microbial inactivation and quality changes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(11). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14866>

Henriques, C. (2017). *Castanheiro: Estado da Transformação*. <http://www.cncfs.pt/>

Hou, L., Hou, J., Li, Z., Johnson, J. A., & Wang, S. (2015). Validation of radio frequency treatments as alternative non-chemical methods for disinfesting chestnuts. *Journal of Stored Products Research*, 63, 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2015.07.004>

Jadeja, R., Hung, Y.-C., & Bosilevac, J. M. (2013). Resistance of various shiga toxin-producing *Escherichia coli* to electrolyzed oxidizing water. *Food Control*, 30(2), 580–584. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.027>

- Jaiboon, P., Prachayawarakorn, S., Devahastin, S., Tungtrakul, P., & Soponronnarit, S. (2011). Effect of high-temperature fluidized-bed drying on cooking, textural and digestive properties of waxy rice. *Journal of Food Engineering*, *105*(1), 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.008>
- Jermi, M., Conedera, M., Sieber, T. N., Sassella, A., Schärer, H., Jelmini, G., & Höhn, E. (2006). Influence of fruit treatments on perishability during cold storage of sweet chestnuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *86*(6), 877–885. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2428>
- Kim, J., Puligundla, P., & Mok, C. (2019). Microbial Decontamination of Peeled Chestnuts by Electrolyzed Water and Its Effect on Biochemical and Sensory Properties. *Sains Malaysiana*, *48*(12), 2641–2647. <https://doi.org/10.17576/jsm-2019-4812-05>
- Kitis, M. (2004). Disinfection of wastewater with peracetic acid: A review. *Environment International*, *30*(1), 47–55. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00147-8](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00147-8)
- Koç Güler, S. (2021). Effect of Gamma Irradiation on Physico-chemical and Nutritional Parameters of Chestnuts. *Bahçe*. <https://doi.org/10.53471/bahce.970509>
- Krumreich, F. D., Sousa, C. T., Corrêa, A. P. A., Krolow, C. R., & Zambiasi, R. C. (2013). *Teor de cinzas em acessos de abóboras (cucurbita máxima l.) do Rio Grande do Sul*. 8. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/94505/1/cinzas-em-aboboras.pdf>
- Kupferman, E. (2008). Evaluation of sweet cherry fruit and stem damage when applying peroxyacetic acid or sodium hypochlorite after harvest. Washington State University - Tree Fruit Research and Extension center. Postharvest Information Network. pp 1-8. Disponível em <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/EMK2007A.pdf> (acedido em 14/03/2018).
- Lin, M. G., Lasekan, O., Saari, N., & Khairunniza-Bejo, S. (2017). The Effect of the Application of Edible Coatings on or before Ultraviolet Treatment on Postharvested Longan Fruits. *Journal of Food Quality*, *2017*, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/5454263>
- Ling, B., Cheng, T., & Wang, S. (2020). Recent developments in applications of radio frequency heating for improving safety and quality of food grains and their products: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(15), 2622–2642. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1651690>
- Liu, J., Bi, J., McClements, D. J., Liu, X., Yi, J., Lyu, J., Zhou, M., Verkerk, R., Dekker, M., Wu, X., & Liu, D. (2020). Impacts of thermal and non-thermal processing on structure and functionality of pectin in fruit- and vegetable- based products: A review. *Carbohydrate Polymers*, *250*, 116890. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116890>
- Luukkonen, T., & Pehkonen, S. O. (2017). Peracids in water treatment: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *47*(1), 1–39. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1272343>
- Massantini, R., Moscetti, R., & Frangipane, M. T. (2021). Evaluating progress of chestnut quality: A review of recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, *113*, 245–254. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.036>

- Mencarelli, F. (2003). *Postharvest Handling And Storage Of Chestnuts*. <https://www.fao.org/3/ac645e/ac645e00.htm#Table%20of%20Contents>
- Migliorini, M., Funghini, L., Marinelli, C., Turchetti, T., Canuti, S., & Zanoni, B. (2010). Study of water curing for the preservation of marrons (*Castanea sativa* Mill., Marrone fiorentino cv). *Postharvest Biology and Technology*, 56(1), 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.12.001>
- Moscetti, R., Haff, R. P., Saranwong, S., Monarca, D., Cecchini, M., & Massantini, R. (2014a). Nondestructive detection of insect infested chestnuts based on NIR spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 87, 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.08.010>
- Moscetti, R., Monarca, D., Cecchini, M., Haff, R. P., Contini, M., & Massantini, R. (2014b). Detection of Mold-Damaged Chestnuts by Near-Infrared Spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 93, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.02.009>
- Niemira, B. A. (2007). Relative Efficacy of Sodium Hypochlorite Wash Versus Irradiation To Inactivate *Escherichia coli* O157:H7 Internalized in Leaves of Romaine Lettuce and Baby Spinach†. *Journal of Food Protection*, 70(11), 2526–2532. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.11.2526>
- Ortiz, C. M., Franceschinis, F., Gergoff Grozeff, G. E., Chan, H., Labavitch, J. M., Crisosto, C., & Vicente, A. R. (2018). Pre-treatment with 1-methylcyclopropene alleviates methyl bromide-induced internal breakdown, softening and wall degradation in blueberry. *Postharvest Biology and Technology*, 146, 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.08.018>
- Pérez-Sierra, A., Linde, S., Romón-Ochoa, P., Jones, B., & Gorton, C. (2020). First report of *Cryphonectria parasitica* on abandoned galls of *Dryocosmus kuriphilus* on sweet chestnut in the United Kingdom. *New Disease Reports*, 41(1), 34–34. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2020.041.034>
- Pinheiro, J., Alegria, C., Abreu, M., Gonçalves, E. M., & Silva, C. L. M. (2015). Influence of postharvest ultrasounds treatments on tomato (*Solanum lycopersicum*, cv. Zinac) quality and microbial load during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 552–559. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.04.009>
- Pino-Hernández, E., Pereira, R. N., Ballesteros, L. F., Vicente, A. A., Abrunhosa, L., & Teixeira, J. A. (2021). Effects of Moderate Electric Fields on the Post-harvest Preservation of Chestnuts. *Food and Bioprocess Technology*, 14(5), 920–934. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02612-3>
- Possamai, G., Dallemole-Giaretta, R., Gomes-Laranjo, J., Sampaio, A., & Rodrigues, P. (2023). Chestnut Brown Rot and *Gnomoniopsis smithogilvyi*: Characterization of the Causal Agent in Portugal. *Journal of Fungi*, 9(4), 401. <https://doi.org/10.3390/jof9040401>

- Raghunathan, R., Pandiselvam, R., Kothakota, A., & Mousavi Khaneghah, A. (2021). The application of emerging non-thermal technologies for the modification of cereal starches. *LWT*, *138*, 110795. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110795>
- Ren, L., Qian, L., Xue, M., Peng, C., Chen, N., Zhan, G., & Liu, B. (2021). Vapor heat treatment against *PLANOCOCCUS LILACINUS* COCKERELL (HEMIPTERA:PSEUDOCOCCIDAE) on dragon fruit. *Pest Management Science*, ps.6616. <https://doi.org/10.1002/ps.6616>
- Ribeiro, M., Freitas, M., Domínguez-Perles, R., Barros, A. I. R. N. A., Ferreira-Cardoso, J., & Igrejas, G. (2020a). Nutriproteomics survey of sweet chestnut (*Castanea sativa* Miller) genetic resources in Portugal. *Food Bioscience*, *36*, 100622. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100622>
- Ribeiro, M. S. S., Freitas-Silva, O., Castro, I. M., Teixeira, A., Marques-da-Silva, S. H., Sales-Moraes, A. C. S., Abreu, L. F., & Sousa, C. L. (2020b). Efficacy of sodium hypochlorite and peracetic acid against *Aspergillus nomius* in Brazil nuts. *Food Microbiology*, *90*, 103449. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103449>
- Rodrigues, F., Santos, J., Pimentel, F. B., Braga, N., Palmeira-de-Oliveira, A., & Oliveira, M. B. P. P. (2015). Promising new applications of *Castanea sativa* shell: Nutritional composition, antioxidant activity, amino acids and vitamin E profile. *Food & Function*, *6*(8), 2854–2860. <https://doi.org/10.1039/C5FO00571J>
- Rosario, D. K. A., Duarte, A. L. A., Madalao, M. C. M., Libardi, M. C., Teixeira, L. J. Q., Conte-Junior, C. A., & Bernardes, P. C. (2018). Ultrasound Improves Antimicrobial Effect of Sodium Hypochlorite and Instrumental Texture on Fresh-Cut Yellow Melon. *Journal of Food Quality*, *2018*, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2018/2936589>
- Santos, C., Nelson, C. D., Zhebentyayeva, T., Machado, H., Gomes-Laranjo, J., & Costa, R. L. (2017). First interspecific genetic linkage map for *Castanea sativa* x *Castanea crenata* revealed QTLs for resistance to *Phytophthora cinnamomi*. *PLOS ONE*, *12*(9), e0184381. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184381>
- São José, J. F. B. de, Andrade, N. J. de, Ramos, A. M., Vanetti, M. C. D., Stringheta, P. C., & Chaves, J. B. P. (2014). Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. *Food Control*, *45*, 36–50. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.04.015>
- Schneider, S. M., Roskopf, E. N., Leesch, J. G., Chellemi, D. O., Bull, C. T., & Mazzola, M. (2003). United States Department of Agriculture Agricultural Research Service research on alternatives to methyl bromide: Pre-plant and post-harvest. *Pest Management Science*, *59*(6–7), 814–826. <https://doi.org/10.1002/ps.728>
- Scouten, A.J.; Beuchat, L.R. (2002). Combined effects of chemical, heat and ultrasound treatments to kill *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds, *J. Appl. Microbiol.* *92* (2002) 668–674.
- Semedo, F. A. E. (2018). Remoção de 17 α -Ethinilestradiol de uma Água Residual Urbana Tratada através da adição de Ácido Peracético. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia do Ambiente, perfil de Engenharia Sanitária. Faculdade e Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, 143 pp.

Seymour, I.J.; Burfoot, D.; Smith, R.L., Cox, L.A.; Lockwood, A. (2002). Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables, *Int. J. Food Sci. Technol.* 37 (2002) 547–557

Shen, X., Su, Y., Hua, Z., Cong, J., Dhowlaghar, N., Sun, Q., Lin, S., Green, T., Perrault, M., Galeni, M., Hanrahan, I., Suslow, T. V., & Zhu, M.-J. (2020). Verification of peroxyacetic acid treatment against *L. monocytogenes* on fresh apples using *E. faecium* NRRL B-2354 as a surrogate in commercial spray-bar operations. *Food Microbiology*, 92, 103590. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103590>

Sirini, N., Lucas-González, R., Fernández-López, J., Viuda-Martos, M., Pérez-Álvarez, J. A., Frizzo, L. S., Signorini, M. L., Zbrun, M. V., & Rosmini, M. R. (2022). Effect of probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* and chestnut flour (*Castanea sativa* mill) on microbiological and physicochemical characteristics of dry-cured sausages during storage. *Meat Science*, 184, 108691. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108691>

Squillaci, G., Apone, F., Sena, L. M., Carola, A., Tito, A., Bimonte, M., Lucia, A. D., Colucci, G., Cara, F. L., & Morana, A. (2018). Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) industrial wastes as a valued bioresource for the production of active ingredients. *Process Biochemistry*, 64, 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.09.017>

Suna, S., Avşar, B., Koçer, S., & Çopur, Ö. U. (2021). Effects of different pretreatments on the physicochemical characteristics and quality criteria of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) pickle: A new value-added product. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(7). <https://doi.org/10.1111/jfpp.15669>

Temizkan, R., Atan, M., Büyükcan, M. B., & Caner, C. (2019). Efficacy evaluation of ultrasound treatment on the postharvest storability of white nectarine by both physicochemical and image processing analyses. *Postharvest Biology and Technology*, 154, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.04.014>

Tomás-Callejas, A., López-Velasco, G., Artés, F., & Artés-Hernández, F. (2012). Acidified sodium chlorite optimisation assessment to improve quality of fresh-cut tatsoi baby leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(4), 877–885. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4664>

Torlak, E., & Sert, D. (2013). Combined effect of benzalkonium chloride and ultrasound against *Listeria monocytogenes* biofilm on plastic surface. *Letters in Applied Microbiology*, 57(3), 220–226. <https://doi.org/10.1111/lam.12100>

UNECE (2017). *UNECE Standard FFV-39, concerning the marketing and commercial quality control of sweet chestnuts*. 2017 Edition. United Nations Economic Commission for Europe (UNECE). United Nations. New York and Geneva. p. 1-7. https://unece.org/fileadmin/DAM/trade/agr/standard/standard/fresh/FFV-Std/English/39_SweetChestnuts.pdf

UNEP (2014). *Phasing-out Methyl Bromide in Developing Countries - A success story and its challenges*. United Nations Environment Programme (UNEP). UNEP Division of Technology, Industry and Economics (UNEP DTIE), pp. 8.

- United Nations. (2017). *UNECE Standard FFV-39 concerning the marketing and commercial quality control of Sweet Chestnuts*. https://unece.org/fileadmin/DAM/trade/agr/standard/standard/fresh/FFV-Std/English/39_SweetChestnuts.pdf
- Usall, J., Ippolito, A., Sisquella, M., & Neri, F. (2016). Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, *122*, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.05.002>
- Vella, F. M., Laratta, B., La Cara, F., & Morana, A. (2018). Recovery of bioactive molecules from chestnut (*Castanea sativa* Mill.) by-products through extraction by different solvents. *Natural Product Research*, *32*(9), 1022–1032. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1378199>
- Vettraino, A. M., Bianchini, L., Caradonna, V., Forniti, R., Goffi, V., Zambelli, M., Testa, A., Vinciguerra, V., & Botondi, R. (2019). Ozone gas as a storage treatment to control *Gnomoniopsis castanea*, preserving chestnut quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(13), 6060–6065. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9883>
- Vijay Rakesh Reddy, S., Sudhakar Rao, D. V., Sharma, R. R., Preethi, P., & Pandiselvam, R. (2021). Role of Ozone in Post-Harvest Disinfection and Processing of Horticultural Crops: A Review. *Ozone: Science & Engineering*, 1–20. <https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1994367>
- Wang, C.-Y., Huang, H.-W., Hsu, C.-P., & Yang, B. B. (2016). Recent Advances in Food Processing Using High Hydrostatic Pressure Technology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *56*(4), 527–540. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.745479>
- Wang, J., & Fan, L. (2019). Effect of ultrasound treatment on microbial inhibition and quality maintenance of green asparagus during cold storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, *58*, 104631. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104631>
- Wang, J., Liu, Q., Xie, B., & Sun, Z. (2020). Effect of ultrasound combined with ultraviolet treatment on microbial inactivation and quality properties of mango juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, *64*, 105000. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105000>
- Webber, J. B., Gordon, D., Rosati, A., Meier, N., Gold, M., & Revord, R. (2022). Postharvest Spoilage Incidence and Prestorage Treatment in Chinese Chestnut and Complex Hybrid Cultivars. *HortTechnology*, *32*(2), 164–171. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH04981-21>
- Yadav, P., Bhujel, P., & Kafle, N. (2021). chestnut production and its prospects in nepal. <https://doi.org/10.26480/sfna.01.2022.01.10>
- Ye, C., He, C., Zhang, B., Wang, L., & Wang, L. (2020). Inhibition of lignification of *Zizania latifolia* with radio frequency treatments during postharvest. *BMC Chemistry*, *14*(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s13065-019-0647-y>
- Yeon, J.-H., Lee, D.-H., & Ha, S.-D. (2005). Bacteriocidal Effect of Calcium oxide (CaO, Scallop-shell Powder) on Natural Microflora and Pathogenic Bacteria in Sesame Leaf. *Korean Journal of Food Science and Technology*, *37*(5), 844–849.

- Yoon, J.-H., & Lee, S.-Y. (2018). Review: Comparison of the effectiveness of decontaminating strategies for fresh fruits and vegetables and related limitations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(18), 3189–3208. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1354813>
- Yoon, M., Jung, K., Lee, K.-Y., Jeong, J.-Y., Lee, J.-W., & Park, H.-J. (2014). Synergistic effect of the combined treatment with gamma irradiation and sodium dichloroisocyanurate to control gray mold (*Botrytis cinerea*) on paprika. *Radiation Physics and Chemistry*, 98, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2013.12.039>
- Yuk, H.-G., Yoo, M.-Y., Yoon, J.-W., Moon, K.-D., Marshall, D. L., & Oh, D.-H. (2006). Effect of Combined Ozone and Organic Acid Treatment for Control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on Lettuce. *Journal of Food Science*, 71(3), M83–M87. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb15636.x>
- Zamuner, C. F. C., Dilarri, G., Bonci, L. C., Saldanha, L. L., Behlau, F., Marin, T. G. S., Sass, D. C., Bacci, M., & Ferreira, H. (2020). A cinnamaldehyde-based formulation as an alternative to sodium hypochlorite for post-harvest decontamination of citrus fruit. *Tropical Plant Pathology*, 45(6), 701–709. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00338-9>
- Zhang, Y., Pandiselvam, R., Zhu, H., Su, D., Wang, H., Ai, Z., Kothakota, A., Khaneghah, A. M., & Liu, Y. (2022). Impact of radio frequency treatment on textural properties of food products: An updated review. *Trends in Food Science & Technology*, 124, 154–166. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.014>
- Zudaire, L., Viñas, I., Abadias, M., Simó, J., & Aguiló-Aguayo, I. (2018). Efficacy of chlorine, peroxyacetic acid and mild-heat treatment on the reduction of natural microflora and maintenance of quality of fresh-cut calçotsperox. *LWT*, 95, 339–345. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.005>

7 Anexo


Anexo 1- ficha técnica de ASEP 150



PROQUIMIA
www.proquimia.com

ASEP 150

Ficha Técnica
02/2018



Desinfetante de superfícies, equipamentos e circuitos baseado em ácido paracético a 15%. Utilização na indústria alimentar (bebidas, lácteas, cervejelas e alimentos processados) e em circuitos de ordenha. Adequado também como desinfetante por via aérea

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS:

- > Líquido incolor com cheiro característico.
- > Densidade a 20°C: $1,13 \pm 0,02 \text{ g/cm}^3$.
- > pH a 1%: $2,6 \pm 0,5$.
- > % Ácido paracético: $15,5 \pm 1,5$.
- > % Peróxido de hidrogénio: 21-24%.

CARACTERÍSTICAS:

- > Combinação estabilizada de ácido paracético e peróxido de hidrogénio.
- > Contém ingredientes específicos para aumentar a estabilidade do produto numa ampla gama de temperaturas.
- > Excelente atividade a baixa temperatura e concentração contra todo o tipo de microrganismos, incluindo bactérias, leveduras, fungos, esporo, etc.
- > Evita fenómenos de resistência de microrganismos no processo de desinfecção.
- > Atua por oxidação.
- > Produto de ação imediata.
- > A eficiência do ácido paracético é minimamente afetada por contaminações orgânicas, contrariamente a outros biocidas oxidantes.
- > Elevada eficácia contra biofilmes.
- > Produto de espuma controlada. Especialmente indicado para limpeza CIP.
- > De fácil enxaguamento, o que evita possíveis restos de produto nos alimentos.
- > Excelente poder branqueador e desoxidante.
- > Excelente perfil ecotoxicológico. A sua reação com a matéria orgânica produz oxigénio, água e ácido acético. O ácido acético é fácil e rapidamente biodegradado a dióxido de carbono por atividade microbiana.
- > Pode ser utilizado como aditivo desinfetante para processos de limpeza e desinfecção em fase única, em combinação com um produto detergente ácido.
- > Adequado para todo o tipo de dureza de água.
- > Não utilizar em águas com elevados conteúdos de cloretos (mais de 200 ppm). A combinação dos cloretos com a ação oxidante do produto pode ocasionar corrosão por picaduras sobre aço.
- > Os princípios ativos do produto foram aceites pela FDA, para limpeza de frutas e verduras, segundo o título 21 parte 173:

TITLE 21—FOOD AND DRUGS
CHAPTER I—FOOD AND DRUG ADMINISTRATION DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES
SUBCHAPTER B—FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION
PART 173—Part B—Specific Usage Additives
Sec. 173.113 Chemicals used in washing or to assist in the peeling of fruits and vegetables.

Trabalhar a uma concentração de 262 ppm de ASEP 150 para não superar os limites estabelecidos pela norma FDA (80 ppm para o ácido paracético / 59ppm de peróxido de hidrogénio/4,8ppmfosfonato HEDP).

A informação apresentada tem caráter apenas informativo.
Não se deve tomar ações conformes da mesma a não ser através de um aviso prévio.
Proquimia, S.A. não se responsabiliza pela utilização incorreta do produto.



Suplemento
Código para
o comércio
externo
N.º 10000000000000000000

PROQUIMIA PORTUGAL
UNIPRESSOAL, LDA
Rua Cidade de Bolama, Nº10
8.º Esclatório D - 1800-079 Lisboa
Tel +351 21 947 27 23
Fax +351 21 090 60 59



ASEP 150

Ficha Técnica
02/2018

- > Como desinfetante por via aérea aplicado com os equipamentos de nebulização e micronebulização, consegue a desinfecção do ar das salas onde se aplica assim como das superfícies difíceis de aceder por métodos de desinfecção habituais. Aplicar em zonas de produção, como salas brancas, zonas de secagem de embalagens da Indústria alimentar.
- > Compatibilidade com materiais:
 - Compatível com superfícies de aço inoxidável (AISI 304 ou 316) e alumínio. Para outros metais (aço, aço galvanizado, cobre e ligas, etc.) recomenda-se realizar um teste de corrosão prévio, nas condições de trabalho.
 - Compatível com materiais plásticos PP, PE, PTFE (Teflon), PVDF, nas condições normais de trabalho. Para outros materiais plásticos, recomenda-se realizar um teste de envelhecimento nas condições de trabalho
- > AÇÃO MICROBICIDA:
 - De acordo com os estudos realizados pelo Instituto de Saúde Carlos III, o produto cumpre com a norma UNE-EN 1276, em condições sujas, com 0,1% de concentração a 20°C e durante um tempo de contacto de 5 minutos face a: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus hirae* e *Staphylococcus aureus*.
 - De acordo com a norma UNE-EN 13697 bactericida o produto diluído à concentração de 0,1% em água dura possui atividade bactericida depois de 5 minutos de atuação a 20°C em condições limpas (solução de albumina bovina 0,3 g/l) para as culturas: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Enterococcus hirae*.
 - Cumpre a norma UNE-EN-1275 à concentração de 0,5% a 20°C durante um tempo de contacto de 15 minutos frente a: *Candida albicans*.
 - Cumpre a norma UNE-EN 13697 fungicida à concentração de 1,25% a 23°C em condições limpas durante um tempo de contato de 15 minutos frente a: *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*.
 - Cumpre a norma UNE-EN 13697 leveduricida à concentração de 0,8% a 23°C em condições limpas durante um tempo de contato de 15 minutos frente a: *Candida albicans*.
 - Registo Biocida na DGSP nº 15-20-02618 HA.

MODO DE UTILIZAÇÃO:

Como desinfetante de superfícies:

Aplicar por pulverização, imersão ou circulação o produto diluído em água a uma concentração de 0,1 a 0,5%, e um tempo de contacto entre 10 a 15 minutos à temperatura ambiente.

Antes da aplicação deste produto, deverá realizar-se uma profunda limpeza. Ventilar adequadamente antes de entrar no recinto.

A aplicação do produto na Indústria alimentar, para utilização como desinfetante de superfícies e equipamentos, deverá levar-se a cabo na ausência de alimentos.

Tomar-se-ão todas as medidas necessárias para que os alimentos e utensílios que sejam manipulados nos locais ou nas instalações previamente tratadas com o produto, não contenham resíduos de nenhum dos seus ingredientes ativos. Sendo assim, deve-se enxaguar com água as partes tratadas antes da sua utilização.

A informação apresentada tem caráter apenas informativo.
Baseia-se nos nossos atuais conhecimentos da matéria e pode ser alterada sem aviso prévio.
Proquímia, S.A. não se responsabiliza pela utilização incorreta do produto.



ASSOCIAÇÃO
DA
INDÚSTRIA
QUÍMICA
DE
PORTUGAL

PROQUÍMIA PORTUGAL
UNIPessoal, Lda
Rua Cidade de Bolama, Nº10
8º Eschão D - 1808-079 Lisboa
Tel. +351 21 847 27 22
Fax +351 21 093 66 59



ASEP 150

Ficha Técnica
02/2018

Como desinfetante por via aérea:

Restringida a utilização a pessoal especializado.
Em função do equipamento a utilizar:

- **NEITEC:** Este equipamento é recomendado para tratar salas superiores a 1000 m³. Utilizar o produto diluído de 1% a 2%, em doses de 2 a 3L de diluição por 1000 m³ de volume de sala. Tempo de aplicação de 40-60 minutos. Aplicar na ausência de pessoas e alimentos. Respeitar um prazo de segurança de 8 horas.
- **PROFOG 2B:** Este equipamento é recomendado para tratar salas inferiores a 1000 m³. Utilizar o produto diluído de 1% a 2%, em doses de 200 a 300 ml de diluição por 100 m³ de volume de sala. Tempo de aplicação de 40-60 segundos. Aplicar na ausência de pessoas e alimentos. Respeitar um prazo de segurança de 8 horas.
- **MINI-FOGGER:** Este equipamento é recomendado para tratar salas inferiores 1000 m³. É adequado para instalações com alta densidade de máquinas. Utilizar o produto diluído de 1% a 2%, em doses de 200 a 300 ml de diluição por 100 m³ de volume de sala. Tempo de aplicação de 60-180 segundos segundo a dose e caudal utilizado. Aplicar na ausência de pessoas e alimentos. Respeitar um prazo de segurança de 8 horas.

NORMAS DE MANIPULAÇÃO:

Consultar a ficha de segurança.

Não misturar este produto com outros produtos químicos puros.

É um produto estável em armazenamento em condições adequadas. Deve evitar-se a exposição aos raios solares e a altas temperaturas. As embalagens devem ser mantidas sempre fechadas.

Incompatível com alcalinos, metais, sais metálicos, agentes redutores, matéria orgânica e materiais inflamáveis.

A informação apresentada tem carácter apenas informativo.
Baseia-se nos nossos atuais conhecimentos da matéria e pode ser alterada sem aviso prévio.
Proquímia, S.A. não se responsabiliza pela utilização incorreta do produto.



ASSOCIAÇÃO
DA
INDÚSTRIA
QUÍMICA
DE
PORTUGAL

PROQUIMIA PORTUGAL
UNIPESSOAL, LDA
Rua Cidade de Bolama, Nº10
8º Eschêdo D - 1800-079 Lisboa
Tel. +351 21 847 27 22
Fax +351 21 093 66 59



ASEP 150

Ficha Técnica
02/2018

MÉTODO DE VALORAÇÃO:

Reativos:

- > Solução a 10% de iodeto de potássio
- > Ácido sulfúrico 2N
- > Permanganato potássio 0,1N
- > Solução a 1% de amido
- > Tiosulfato de sódio 0,1N

Determinação:

1. Recolher uma amostra de 50 ml de banho, passar para um erlenmeyer de titulações.
2. Adicionar 10 ml de ácido sulfúrico 2N. Titular com permanganato de potássio 0,1N até uma coloração rosada tênue e persistente ("a" mililitros consumidos). Adicionar 10 ml de solução de iodeto de potássio a 10%.
3. Titular com tiosulfato de sódio 0,1N até que vire para cor amarelo claro.
4. Adicionar umas gotas da solução de amido a 1%, ficando com uma tonalidade escura. Voltar a titular com tiosulfato de sódio a 0,1N até que adquira um aspeto incolor ("b" mililitros consumidos).

Cálculos:

Sejam "a" os mililitros consumidos de Permanganato de potássio:

$$a \cdot 37 = \text{ppm Água oxigenada (H}_2\text{O}_2)$$

Sejam "b" os cc de tiosulfato de sódio 0,1N consumidos:

$$b \cdot 74 = \text{ppm ácido paracético}$$

$$b \cdot 510 = \text{ppm ASEP 150}$$

COMPOSIÇÃO:

- > Ácido paracético
- > Peróxido de hidrogénio
- > Outros coadjuvantes

A informação apresentada tem carácter apenas informativo.
Baseado no mais recente estado de conhecimento da matéria e pode ser alterada sem aviso prévio.
Proquímia S.A. não se responsabiliza pelo conteúdo ou o erro do produto.



PROQUÍMIA PORTUGAL
UNIPERSONAL, LDA
Rua Cidade de Évora, Nº10
1º Esplanado D-1800-079 Lisboa
Tel: +351 21 847 27 22
Fax: +351 21 093 66 39