**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Óleo essencial associado à película de carboximetilcelulose no controle da antracnose e seu efeito na vida útil de mamão (*Carica papaya* L.)

Rafaela Rebessi Zillo

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2017**

Rafaela Rebessi Zillo
Bacharela em Ciências dos Alimentos

Óleo essencial associado à película de carboximetilcelulose no controle da antracnose e seu efeito na vida útil de mamão (*Carica papaya* L.)
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Profa. Dra. **MARTA HELENA FILLET SPOTO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Zillo, Rafaela Rebessi

Óleo essencial associado à película de carboximetilcelulose no controle da antracnose e seu efeito na vida útil de mamão (*Carica papaya* L.) / Rafaela Rebessi Zillo. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2017.

94 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Colletotrichum gloeosporioides* 2. Pós-colheita 3. *Lippia sidoides*; 4. Película comestível. I. Título

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus filhos, Davi e Pedro, que estiveram
comigo do ventre ao nascimento durante o mestrado.
Dedico também ao meu esposo, Luís, pela paz, companheirismo
e sabedoria de todos os dias.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela minha saúde e força e por acreditar em mim em cada amanhecer.

Aos meus homens amados e queridos, Luís, Davi e Pedro, pela paciência, amor, alegrias e desafios, vocês são a minha luz.

À minha professora doutora e orientadora Marta Helena Fillet Spoto, pela confiança mútua durante esses 8 anos e pela orientação horizontal e livre. Eu te admiro cada dia mais.

Ao meu estimado orientador pesquisador e doutor Eduardo Micotti da Glória, pelos ensinamentos acadêmicos, profissionais, de vida e pela amizade. Sua orientação foi fundamental para o desenvolvimento deste projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado que me possibilitou a realização deste trabalho.

Ao senhor Marcelo de Paiva pelo fornecimento dos mamões orgânicos, cujo apoio foi de grande importância para o desenvolvimento deste trabalho.

A todo o time GEFH (Grupo de Estudos e Extensão em Frutas e Hortaliças) pelo apoio nos experimentos, pela convivência agradável e terna durante o trabalho e pelo espírito de equipe e carinho que temos uns pelos outros.

Às minhas companheiras de trabalho e amigas, Jacqueline e Paula, pela ajuda indispensável nos experimentos, escritas, discussões e cafés. Vocês fazem parte de tudo isso.

À cientista de Alimentos Jéssica Thaís da Silva, pelo aprendizado das técnicas de micologia e pela amizade.

À graduanda em Ciências dos Alimentos, Danyella Guidelli, pela força de trabalho, risadas, amizade e por todo o suporte no preparo dos experimentos.

Ao meu esposo novamente, por me ajudar tão intensamente neste projeto, transportando os frutos, fazendo estatísticas e dando sugestões.

Ao laboratório de Frutas e Hortaliças e ao laboratório de Micotoxinas e Micologia por todo o suporte estrutural e financeiro para a realização das análises desse projeto, minha gratidão.

À doutora Marise pelos ensinamentos sobre os fungos e os tipos de isolamento, muito obrigada pela disponibilidade e atenção de sempre.

Ao professor doutor Pedro Augusto pelo auxílio na elaboração dos modelos matemáticos de Gompertz, pelo empréstimo do agitador mecânico e pelo carisma e alegria em nos ajudar.

Ao professor doutor Nelson Massola, pela atenção dispendida e ajuda no isolamento e na identificação morfológica do fungo *C. gloeosporioides*.

Ao professor doutor Luís Vicente Coffani, pela simpatia e ajuda na aquisição da planta *Pimenta pseudocaryophyllus*.

Ao professor doutor Ricardo Kluge e todo pessoal da pós-colheita, pelo empréstimo das câmaras de armazenamento e do Dansensor utilizados neste trabalho.

Ao professor doutor Ângelo Jacomino e ao Marcos seu técnico pela disponibilidade da câmara de armazenamento.

A doutoranda Juliana Baggio, pelo auxílio e dedicação em nos ajudar com os fungos.

A professora doutora Sandra da Cruz pelas sugestões na qualificação, amizade e auxílio na utilização do software Origin.

Ao Centro de Convivência Infantil (CCIn) e em especial às queridas professoras Adriane, Suely, Rogéria, Kelly, diretora Sandra e cozinheiras pelo aprendizado que transmitiram ao meu bebê enquanto precisei trabalhar neste projeto, minha gratidão é eterna.

Ao professor doutor José Guilherme Martin, pela prontidão em nos ajudar e pela simpatia de todos os dias.

A Denver Especialidades Químicas pela doação das películas de carboximetilcelulose.

Aos funcionários da pós-graduação, Fabio e Ana, pelo carisma, suporte e ajuda nas questões burocráticas.

Às bibliotecárias e funcionários (as) da biblioteca por todo apoio na escrita desta dissertação, assim como nas dúvidas e serviços de informação diários. Vocês são a alma desta Escola.

À professora Doutora Solange Guidolin Caniatti Brazaca, pela disponibilidade e atenção quantos aos assuntos referentes ao Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição.

À Dona Amábile pela presteza na utilização da planta piloto de processamento e pela sua simpatia e amizade de sempre.

À técnica Rose, do laboratório de Microbiologia, pela disponibilidade em autoclavar e nos ajudar a qualquer momento.

À técnica Denise, do laboratório de Laticínios, pelo empréstimo do microscópio e dos vidros Shot.

Ao meu irmão, Edson Rebessi Zillo, sempre presente nos momentos mais difíceis, meu amor eterno.

À minha irmã, Fabiola Rebessi Zillo, por todo apoio psicológico e emocional durante a jornada deste trabalho de pesquisa, meu amor eterno.

Aos meus pais, Brenda Luzia Rebessi Zillo e Fabio José Zillo, pela vida e pela educação moral e social. Amo vocês.

À minha sogra querida Fátima Gonçalves Mendes, pelo amor e atenção de sempre.

Aos amigos contemporâneos de mestrado, Bruna, Giovanna, Jaqueline Gerage, Ana e Carmen pela amizade e presença.

Aos meus eternos amigos Juliana Valeriano, Patrícia de Carli Zacariotto, Felipe de Souza Bueno, Andressa Rosa, Vanessa Rosa, Gabriele Valadão, Isabela Kojin Peres, Natália Grigol, Maira Oliveira Silva, Tatiane Del Vecchio, Tuila Teixeira, Grace Villa Boas Pontes, Jéssica Thomazini, Juliana Seregatti Antunes, Leontina Lipan, pela amizade eterna e imutável. Levo vocês sempre comigo.

Finalmente, o meu agradecimento especial é para todos os facilitadores deste projeto, aqueles que com um sorriso ou uma atitude puderam aperfeiçoar e otimizar os processos de desenvolvimento e execução do mesmo. Sou eternamente grata e consciente de que tudo nessa vida nos retorna na mesma proporção.

“Em todos esses 24 anos de escola, estudos e pesquisa, levo comigo uma grande certeza: a de que nunca vou desistir de aprender”.

(Rafaela Rebessi Zillo)

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	13
1. INTRODUÇÃO GERAL	15
1.2 Revisão bibliográfica	17
1.2.1 Mamão	17
1.2.2 Antracnose	19
1.2.3 Qualidade pós-colheita de mamão	20
1.2.4 Óleos essenciais	24
1.2.5 Película comestível	27
Referências	29
2. ASSOCIAÇÃO ENTRE UM ÓLEO ESSENCIAL E A PELÍCULA DE CARBOXIMETILCELULOSE SOBRE COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIODES NA PÓS-COLHEITA DE MAMÃO	37
Resumo	37
Abstract	38
2.1 Introdução	39
2.2 Material e Métodos	41
2.3 Resultados	47
2.4 Discussão	54
2.5 Conclusão	60
Referências	61
3. ASSOCIAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL À PELÍCULA DE CARBOXIMETILCELULOSE NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MAMÕES ORGÂNICOS ARMAZENADOS A TEMPERATURA DE 22°C	67
Resumo	67
Abstract	68
3.1 Introdução	69
3.2 Material e Métodos	70
3.3 Resultados	73
3.4 Discussão	82
3.5 Conclusão	84
Referências	85
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
5. SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS	91
ANEXOS	93

RESUMO

Óleo essencial associado à película de carboximetilcelulose no controle da antracnose e seu efeito na vida útil de mamão (*Carica papaya* L.)

O mamão (*Carica papaya* L.) é um fruto nativo de clima tropical e comercializado em todo o mundo. O Brasil é um dos grandes produtores e consumidores destes frutos, porém, anualmente, são perdidas aproximadamente 10 toneladas dos frutos devido ao escasso controle de qualidade e, principalmente, às doenças pós-colheita, como a antracnose, ocasionada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. O objetivo do presente estudo foi avaliar a associação de óleo essencial e película de carboximetilcelulose a fim de controlar a antracnose em mamão e monitorar os efeitos deste tratamento nas características físico-químicas e de aparência dos frutos. A pesquisa foi realizada em duas etapas: a primeira com caráter fitopatológico, e a segunda, quanto à qualidade físico-química e de aparência dos frutos tratados. Na primeira etapa foram realizados os seguintes testes: eficiência *in vitro* da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos de *Eucalyptus staigeriana*, *Lippia sidoides* e *Pimenta pseudocaryophyllus* e suas misturas sobre o fungo *C. gloeosporioides* pelos métodos de diluição em ágar e modelo matemático de Gompertz; avaliação do óleo selecionado (o que apresentou a menor CIM), em relação à composição química; Concentração Mínima Fungicida (CMF) e eficiência *in vivo* (determinação da incidência e severidade). Na segunda etapa, foram avaliadas as qualidades físico-químicas (cor, perda de massa, firmeza, taxa respiratória, acidez titulável, teor de sólidos solúveis e *ratio*) e de aparência (presença de murchamento e podridão) nos frutos após a aplicação do óleo essencial associado à película. Na primeira etapa, os óleos essenciais de *L. sidoides*, *E. staigeriana*, *P. pseudocaryophyllus* e suas misturas apresentaram ação inibitória nos experimentos *in vitro* contra *C. gloeosporioides*. O melhor desempenho foi do óleo de *L. sidoides*, que apresentou concentração inibitória mínima de 125 ppm no método de diluição em ágar, e 75,3 ppm pelo modelo matemático de Gompertz. A concentração fungicida mínima encontrada foi 62 ppm pelo método de caldo. Quanto à composição de *L. sidoides*, o timol, que possui ação antifúngica reconhecida, foi encontrado como composto majoritário. Os resultados da avaliação *in vivo* mostraram que os menores valores de severidade ocasionada por *C. gloeosporioides* foram observadas no tratamento envolvendo a associação da película de carboximetilcelulose com o óleo essencial de *L. sidoides*, quando aplicados preventivamente, porém não inibiu a incidência da doença. Na segunda etapa do estudo, os resultados demonstraram que a utilização da película de carboximetilcelulose em associação com o óleo essencial de *L. sidoides* (375 ppm) conservou por 9 dias as características físico-químicas e de aparência dos mamões, enquanto que no controle e no tratamento somente com a película, 5 e 7 dias, respectivamente. Com base nos dados obtidos, concluiu-se que os óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Eucalyptus staigeriana* e *Pimenta pseudocaryophyllus* e suas misturas binárias 1:1 possuíram ação antifúngica contra *C. gloeosporioides*. *Lippia sidoides* demonstrou ser altamente eficaz em menor dose, e que a associação deste óleo (375 ppm) com a película de carboximetilcelulose (0,25%) contribuiu efetivamente para o aumento da vida útil dos mamões armazenados a 22°C, conservando suas características físico-químicas e de aparência por 9 dias.

Palavras-chave: *Colletotrichum gloeosporioides*; Pós-colheita; *Lippia sidoides*;
Película comestível

ABSTRACT

Essential oil associated with carboxymethylcellulose film in controlling anthracnose and its effect on papaya lifespan (*Carica papaya* L.)

The papaya (*Carica papaya* L.) is a tropical fruit and it is commercialized around the world. Brazil is one of the major producers and consumers of these fruits, but approximately 10 tons of fruits are lost annually due to poor quality control and especially postharvest diseases such as anthracnose, caused by *Colletotrichum gloeosporioides* fungus. The objective of the present study was to evaluate the association of essential oil and carboxymethylcellulose film in order to control the anthracnose in papaya and to monitor the effects of this treatment on its physicochemical and appearance characteristics. The research had two stages: the first one had phytopathological character and the second one regarding the physicochemical quality and appearance of treated fruits. In the first stage, the following tests were carried out: Determination *in vitro* of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) for the *Eucalyptus staigeriana*, *Lippia sidoides* and *Pimenta pseudocaryophyllus* oils and their mixtures on *C. gloeosporioides* fungus by agar dilution and Gompertz mathematical model; Evaluation for the selected oil (the oil presenting the lowest MIC), of its chemical composition; Minimum Fungicidal Concentration (MFC) and *in vivo* efficiency (by incidence and severity determination). In the second stage it was evaluate the physicochemical qualities (color, weight loss, firmness, respiratory rate, titratable acidity, soluble solids content and *ratio*) and appearance (presence of shriveling and rot) of fruits after oil application associated with film. In the first stage, the essential oils of *L. sidoides*, *E. staigeriana*, *P. pseudocaryophyllus* and their mixtures showed inhibitory action in the *in vitro* experiments on *C. gloeosporioides*. The best oil was *L. sidoides*, it had a minimum inhibitory concentration of 125 ppm by agar dilution method and of 75.3 ppm by Gompertz mathematical model. The minimum fungicide concentration found was 62 ppm by the both method. About the composition of the *L. sidoides* oil, thymol, which has been reported as presenting antifungal activity, was found as its major compound. The results of *in vivo* evaluation showed that the lowest values of disease severity caused by *C. gloesporioides* were present in the treatment involving the association of carboxymethylcellulose film with *L. sidoides*, when it was applied preventively, but it did not inhibit disease incidence. In the second stage of the study the results showed that the use of carboxymethylcellulose film in association with *L. sidoides* (375 ppm) preserved the physicochemical and appearance characteristics of papaya fruits for 9 days, whereas in the control and treatment with the film sole, it preserved for 5 and 7 days, respectively. Based on the obtained data, it was concluded that the essential oils of *Lippia sidoides*, *Eucalyptus staigeriana* and *Pimenta pseudocaryophyllus* and their 1:1 binary mixtures had antifungal action on *C. gloeosporioides*. *Lippia sidoides*, which proved to be highly effective, was more prominent, and the association of this oil (375 ppm) with the carboxymethylcellulose film (0,25%) effectively contributed to increased lifespan of stored papayas at 22°C, preserving its physicochemical and appearance characteristics for 9 days.

Keywords: *Colletotrichum gloeosporioides*; Postharvest; *Lippia sidoides*; Edible film

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Fórmula estrutural da carboximetilcelulose	28
Figura 2.1 - Crescimento micelial de <i>C. gloeosporioides</i> nos OEs de <i>L.sidoideis</i> , <i>E staigeriana</i> , <i>P. pseudocaryophyllus</i> e nas misturas M1, M2, M3 e M4 aos 18 dias de incubação	49
Figura 2.2 - (A) Curvas das equações derivadas da aplicação do modelo de Gompertz para os dados de dose-resposta dos tratamentos com óleos essenciais avaliados individualmente; (B) Curvas das equações derivadas da aplicação do modelo de Gompertz para os dados de dose-resposta dos tratamentos com misturas binárias e ternária dos OEs.....	51
Figura 2.3 - Valores da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), para a severidade da antracnose, causada por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , em frutos de mamoeiro.....	54
Figura 3.1 - Análise de Componentes Principais, utilizando os parâmetros pós-colheita de mamão: projeção das variáveis (A) e das observações (B).....	78
Figura 3.2 - Dendograma obtido a partir das análises físico-químicas e de aparência de diferentes tratamentos pós-colheita de mamão.....	79
Figura 3.3 - Coloração dos frutos aos 3 dias de armazenamento (da esquerda para a direita: Tratamento controle, somente película e película + óleo essencial)	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Espécies vegetais utilizadas para a extração dos óleos essenciais.....	41
Tabela 2.2 - Rendimento dos óleos essenciais dos diferentes materiais vegetais utilizados.....	47
Tabela 2.3 - Percentagem (%) de inibição do crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , agente causal da antracnose do mamão, em meio batata-dextrose-ágar, observada aos 18 dias de incubação ($\pm$ desvio padrão, n=5 repetições).....	48
Tabela 2.4 – Parâmetros do Modelo de Gompertz para modelagem do crescimento de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolado de mamão, em meio BDA, acrescido de óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> (L), <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> (P), <i>Eucalyptus staigeriana</i> (E) e suas misturas.....	50
Tabela 2.5 – Valores de CIM calculados a partir da aplicação das equações derivadas do modelo de Gompertz, para cada tratamento com D (mm) = 0,5.....	50
Tabela 2.6 - Composição química do OE de <i>L. sidoides</i>	52
Tabela 2.7 - Valores do índice da Concentração Inibitória Fracionada (CIF) para as combinações binárias dos OEs.....	53
Tabela 3.1 - Teste MANOVA de comparações de pares de variância entre as amostras pelo teste de Lambda de Wilks.....	74
Tabela 3.2 - Correlação entre as variáveis dos tratamentos pós-colheita de mamão.....	75
Tabela 3.3 - Grupo total de dados (média, $\pm$ desvio padrão, n=4).....	76/77

1. INTRODUÇÃO GERAL

A fruticultura é um dos segmentos de maior destaque na agricultura brasileira. O Brasil ocupa a terceira posição no *ranking* da produção mundial de frutas, com colheitas significativas de laranja, banana, mamão, coco e abacaxi (SEAB, 2012).

O Brasil é fortemente competitivo no mercado mundial de mamão, pois as exportações brasileiras acompanham a tendência mundial; no ano de 2013, sua produção mundial foi de 12,4 milhões de toneladas. Deste total, 5,0 milhões correspondeu ao produzido pela Índia, seguida pelo Brasil, que ocupa o 2º lugar com 1,58 milhão de toneladas (FAO, 2013). Ainda, no ano de 2014 o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística do Brasil registrou produção de 1.602.351 toneladas de mamão no país (IBGE, 2014). O principal mercado consumidor desses frutos são os EUA e Europa (FAO, 2010).

Os maiores entraves para a produção e consumo do fruto, tanto no mercado interno, como no externo, são a escassa divulgação sobre suas características sensoriais e propriedades vitamínico-minerais, bem como as perdas por doenças na pós-colheita. Para alavancar as exportações se faz necessário um aumento na qualidade do produto (MAYORGA et al., 2008).

A cultura do mamoeiro se destaca entre as frutas de maior consumo no mundo, principalmente pelo grande aproveitamento dos frutos, consumidos *in natura* (quando maduros), em doces industrializados (quando verdes) ou para extração da papaína e pectina, produtos utilizados na indústria de alimentos para amaciamento de carnes, geleificantes, molhos e na indústria farmacêutica para cicatrizantes e digestivos (EMBRAPA, 2014).

As perdas pós-colheita têm contribuído significativamente para a redução da produção e do fornecimento de alimentos à população, sendo o volume de perdas estimado em 10 milhões de toneladas ao ano, correspondendo a mais de 40% nos países em desenvolvimento (FAO, 2011). Em relação aos mamões, a alta produtividade, aliada ao manejo inadequado e tratamento pós-colheita precário, podem reduzir a qualidade dos frutos, chegando a perdas de 50% da produção (MOURA et al., 2013).

Quando o mamão é armazenado à temperatura ambiente, condição típica do comércio, a vida útil pós-colheita do fruto é estimada em seis dias, ocorrendo

murchamento e intensa proliferação de micro-organismos deterioradores (RIBEIRO, 2002).

A composição dentre os alimentos varia muito, podendo favorecer ou até mesmo inibir o desenvolvimento microbiano, esta composição quando associada a práticas inadequadas, tanto no processamento, como no armazenamento, pode proporcionar condições favoráveis para o crescimento de micro-organismos deterioradores e patogênicos, indesejáveis para o alimento e, principalmente, à saúde do consumidor. Diante dessa realidade, é necessária a adoção de estratégias para prolongar a vida útil dos alimentos, nesse contexto, a adição de óleos essenciais é uma alternativa viável, pois mantém o alimento com qualidade em relação a suas características microbiológicas (TRAJANO et al., 2009).

A busca por substâncias naturais que possuem atividade antimicrobiana vem crescendo a cada ano (SÁ et al., 2011). Dentre essas substâncias, destacam-se os óleos essenciais, devido à constatação de que, em baixas concentrações, estes óleos possuem grande potencial frente a micro-organismos patogênicos e deterioradores (PELISSARI et al., 2009).

Outro fator importante a se considerar é que a utilização de alguns óleos essenciais com atividade fungicida surge como uma opção de baixo impacto ecológico e ambiental, podendo ser utilizados como proteção natural de plantas e indicados no controle de doenças provocadas por fungos e bactérias (GOMES et al., 2008).

Devido à elevada procura pelo fruto de mamão em nível nacional e internacional, o mercado de mamão brasileiro vem se destacando e crescendo ano após ano (FAO, 2013), porém a alta incidência de antracnose nos frutos afeta negativamente o comércio do mamão, pois ocasiona perdas econômicas significativas devido à redução do período de comercialização, desclassificação e descarte de frutos.

Neste contexto, e atrelado às questões ambientais, a utilização de óleos essenciais se torna uma alternativa viável, inovadora e ecologicamente correta quanto à manutenção da qualidade e vida útil de frutos pós-colheita. Logo, são necessários estudos que viabilizem sua utilização e associação em frutos, garantindo, assim, a qualidade para os consumidores, o retorno para os produtores, bem como a diminuição de perdas pós-colheita, e finalmente, alavancando a participação do Brasil no panorama mundial de comercialização do fruto.

Neste trabalho, o objetivo geral foi avaliar o potencial antifúngico de alguns óleos essenciais frente ao *Colletotrichum gloeosporioides* e a associação do uso de óleo essencial à película de carboximetilcelulose, a fim de controlar a antracnose em frutos de mamão, aumentando assim, a vida útil do fruto na pós-colheita. Para isso, o trabalho foi dividido em três capítulos, com os objetivos específicos, sendo eles: revisão de literatura contendo as definições básicas do presente trabalho (capítulo 1); avaliação da capacidade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais de *Eucalyptus staigeriana*, *Lippia sidoides* e *Pimenta pseudocaryophyllus* e suas combinações contra *Colletotrichum gloeosporioides*, avaliação da composição do óleo essencial e a avaliação da eficiência *in vivo* do óleo essencial selecionado na etapa *in vitro* em associação com a película de carboximetilcelulose em mamões (capítulo 2); monitoramento e avaliação da qualidade físico-química e de aparência dos frutos de mamão após a aplicação do óleo essencial de *Lippia sidoides* associado à película de carboximetilcelulose, com base nos seus parâmetros pós-colheita durante armazenamento à temperatura de 22°C (capítulo 3).

1.2 Revisão bibliográfica

1.2.1 Mamão

O fruto do mamoeiro é constituído de um único ovário, normalmente com cinco carpelos, contendo numerosas sementes. O fruto pode ser arredondado, cilíndrico ou piriforme, de tamanho variável, polpa carnosa, de coloração vermelho-alaranjada. A casca geralmente é fina, bastante resistente, aderida à polpa, lisa e de cor verde escura, que vai se tornando amarelada ou alaranjada à medida que o fruto vai amadurecendo (QUEIROZ, 2009).

Segundo o Instituto Brasileiro de Qualidade em Horticultura (2013), os padrões de qualidade do mamão são baseados nas características varietais (Formosa, Havaí ou comum, como o 'caipira'), na coloração da casca (grau de maturação do fruto) e na presença ou ausência de defeitos (podridão causada por fungos, danos mecânicos, deformação e teor de sólidos solúveis menores que 9º Brix).

Na composição da polpa do mamão predominam a água (86,8%), açúcares (12,18%) e proteínas (0,5%). O fruto é considerado uma importante fonte de carotenoides, precursores da vitamina A, e bastante rico em vitamina C (Souza,

1998). O teor de acidez do mamão é muito baixo, em torno de 0,10%, o que contribui para que seu pH seja relativamente alto, em média 5,5 a 5,9 (EMBRAPA, 2014).

O Brasil produziu 1.603.351 toneladas em 32.118 hectares em 2014, com um valor da produção estimado em R\$ 1 bilhão (IBGE, 2014). Quanto à produção nacional, os principais produtores são os Estados da Bahia (718 mil toneladas), Espírito Santo (404 mil toneladas), Minas Gerais (126 mil toneladas), Ceará (118 mil toneladas) e Rio Grande do Norte (69 mil toneladas) (EMBRAPA, 2013).

Os dados mais recentes de exportação reportam que 30 mil toneladas de mamão brasileiro geram uma receita aproximada de US\$ 38,6 milhões (IBRAF, 2010). A Comunidade Europeia (Holanda, Portugal, Espanha, Reino Unido, França, Itália, Alemanha e Suíça) e os Estados Unidos são os principais importadores do mamão brasileiro, representando 80 e 14% das exportações brasileiras, respectivamente (BRAPEX, 2010). Ainda nesse quesito, o valor total exportado cresceu 15,2%, passando dos US\$ 39,4 milhões em 2009 para US\$ 45,4 milhões em 2010 (IBGE, 2010).

O mamão é um fruto climatérico cujas transformações resultantes do amadurecimento ocorrem rapidamente após a colheita do fruto fisiologicamente maduro e são desencadeadas pela produção do etileno e aumento da taxa respiratória. Isso o caracteriza como um fruto bastante perecível na fase pós-colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Portanto, para esses frutos, o controle de amadurecimento é de fundamental importância para o aumento da vida útil pós-colheita, principalmente quando visa a atender mercados mais distantes, tanto o interno, quanto o externo.

De modo geral, são perdidos 30% do total produzido de frutas devido às alterações físicas e químicas após a colheita, como modificações da textura, aroma, sabor e cor. Além disso, por ser fruto climatérico, apresenta aumento da taxa respiratória, produção auto catalítica de etileno e alterações substanciais no amadurecimento, tais como, cor, sabor, amaciamento e produção de compostos voláteis aromáticos (PEREIRA et al., 2006).

As condições ideais de armazenamento, assim como o correto tratamento pós-colheita, correspondem àquelas em que os produtos podem ser acondicionados, pelo maior espaço de tempo possível, sem perda apreciável de seus atributos de qualidade, como sabor, aroma, textura, cor e teor de umidade (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

1.2.2 Antracnose

Dentre todas as doenças pós-colheita do mamão, a antracnose é de grande importância, pois se caracteriza como uma doença pós-colheita em várias regiões ao redor do mundo. A antracnose do mamoeiro é causada pelo fungo *C. gloeosporioides* e, embora ocorra em frutos em qualquer estágio de desenvolvimento, apresenta-se com maior frequência nos maduros. Sua nocividade para a economia é muito grande, pois os frutos atacados tornam-se imprestáveis para a comercialização e consumo, pois apresentam manchas decorrentes da doença, aparência de deteriorados e odor desagradável. Ainda que os frutos colhidos não apresentem sintomas da doença, ela se manifesta na fase de embalagem, transporte, amadurecimento e comercialização, e causa aproximadamente 30% de perdas. Os frutos jovens, quando atacados, cessam o seu desenvolvimento, mumificam e caem (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013).

A antracnose ocorre em todas as regiões produtoras de mamão no mundo e, por causar importantes perdas em pós-colheita, é um dos fatores limitantes à exportação de mamão. Nos meses mais quentes do ano, na ausência de medidas de controle, sua incidência pode atingir 70 a 100% dos frutos. Mesmo em frutos destinados à exportação que recebem tratamento pós-colheita, a antracnose é o principal problema (PEREIRA et al., 2006).

A infecção causada por *C. gloeosporioides* pode aparecer em diferentes partes da planta. Nos frutos, o fungo pode se instalar e permanecer quiescente até a pós-colheita e à medida que amadurecem surgem manchas vermelho-arroxeadas, já visíveis com 48 horas após o início da infecção, evoluindo para manchas necróticas, reduzindo a qualidade dos frutos e ampliando as perdas em até 50% da produção (MOURA et al., 2013). A severidade da doença depende das condições ambientais, sendo menos severa em períodos secos e temperaturas muito baixas. O fungo causador da antracnose penetra através da cutícula e forma uma infecção latente no fruto imaturo (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013).

Para o comércio, manchas de antracnose em qualquer número ou intensidade são classificadas como podridão (dano patológico que implica qualquer grau de decomposição, desintegração ou fermentação dos tecidos) e defeito grave, de acordo com normas de classificação, ocasionando inevitavelmente a

desclassificação do lote para comercialização, não sendo permitida a reclassificação quando a podridão for acima de 10% (EMBRAPA, 2014).

O controle dessa doença pode ser efetuado por vários métodos, como o químico, abrangendo os fungicidas; o físico, pela refrigeração, vapor, ar aquecido ou hidrotermia (água quente); atmosfera modificada ou controlada; armazenamento a vácuo; controle da umidade do armazenamento; irradiação; e biológico, baseado na utilização de antagonistas (ONG et al., 2013).

Os tratamentos pós-colheita convencionais para controlar a antracnose no mamão utilizam basicamente a aplicação de antifúngicos sintéticos, com destaque para procloraz e propiconazol (ONG et al., 2013). No entanto, a aplicação prolongada de um único fungicida em frutas pode resultar no desenvolvimento de estirpes de fungos resistentes e reduzir a eficácia do fungicida contra os organismos-alvos (MAQBOOL et al., 2011).

Os agentes com cloro têm sido amplamente utilizados para controlar o crescimento de micro-organismos em produtos *in natura*, o que afeta negativamente as propriedades físico-químicas dos produtos frescos. O uso de cloro e fungicidas sintéticos têm restrições devido à sua carcinogenicidade, longo tempo de degradação e alta toxicidade residual, que causam grave impacto para saúde humana e meio ambiente (MAQBOOL et al., 2011).

1.2.3 Qualidade pós-colheita de mamão

Durante o processo de amadurecimento de frutas, inúmeras transformações ocorrem em sua composição, principalmente considerando-se a enorme variedade de compostos químicos que elas contêm. No caso do mamão, estas transformações são perceptíveis ao consumidor, podendo ser identificadas por alterações na coloração, aroma, sabor e textura, essas alterações correspondem às transformações bioquímicas de interesse comercial, que ocorrem com os pigmentos, compostos voláteis, ácidos orgânicos e carboidratos desses frutos (BLEINROTH; SIGRIST, 1995).

O mamão, quando colhido fisiologicamente maduro, passa por profundas mudanças na fase de amadurecimento, moduladas principalmente pelo etileno, um fitormônio gasoso importante em todo o desenvolvimento dos frutos, principalmente na fase de amadurecimento (LI et al., 2013). Esse fitormônio está envolvido na

aceleração do amadurecimento e senescência de frutos climatéricos, resultando na redução do período de armazenamento desses frutos (PAULL et al., 1997).

O aumento nos níveis de produção de etileno desencadeia uma gama de transformações nos frutos, na coloração da casca, na firmeza, na cor e no sabor da polpa (LI et al., 2013). Como molécula gasosa, o etileno difunde-se livremente de uma célula para outra, através das membranas, atuando como ativador de uma cascata de sinais, que está relacionada com a expressão de genes ligados à resistência ao estresse biótico, abiótico e ao amadurecimento (SIVAKUMAR; WALL, 2013). Essa função de coordenação do etileno é reforçada pela capacidade de estimular sua própria síntese nos frutos climatéricos (GONÇALVES et al., 2013).

A inibição da ligação do etileno ao seu receptor pode reduzir a produção e a ação do mesmo e, com isso, retardar o amadurecimento e a senescência de frutos climatéricos. Vários compostos são capazes de bloquear a ação do etileno, como o gás 1-metilciclopropeno, que controla a atmosfera do ambiente e a utilização de filmes comestíveis que agem como barreira (AL-ATI; HOTCHKISS, 2003; JACOMINO et al., 2002). Estas técnicas podem ser utilizadas como um suplemento da refrigeração, por promoverem o abaixamento da taxa de respiração pelo aumento do nível de gás carbônico (CO_2) e decréscimo do nível de oxigênio (O_2) (RAI et al., 2002), além disso minimizam a perda de água (CISNERO-ZEVALLOS; KROCHTA, 2002).

A respiração acompanha a produção de etileno, fazendo com que ocorra um pico de emissão de CO_2 dos frutos, porém estes picos são dependentes da espécie vegetal e podem variar entre cultivares (KRONGYUT et al., 2011). A respiração, além de gerar energia na forma de ATP para a atividade celular, fornece também moléculas orgânicas fundamentais para várias rotas metabólicas (NUNES-NESI et al., 2010).

A temperatura exerce efeito direto no amadurecimento dos frutos, pois regula a velocidade com que as reações se processam a nível celular e, segundo a Lei de Van't Hoof, essas reações podem aumentar na razão de 2,0 a 2,5 vezes, a cada 10°C de aumento. Logo, o abaixamento da temperatura pode aumentar a vida pós-colheita dos frutos, porém é necessário utilizar a faixa ideal de refrigeração, a fim de se evitar um distúrbio fisiológico conhecido por “chilling”, que se caracteriza por depressões na casca, amadurecimento comprometido, áreas aquosas na polpa e rápido desenvolvimento de micro-organismos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

O amolecimento dos frutos por sua vez, ocorre devido à degradação da parede celular, a qual é constituída por celulose, hemicelulose, pectinas, proteínas estruturais e lignina, fenômeno também decorrente da produção do etileno. As principais modificações durante o amaciamento dos tecidos são atribuídas à degradação das pectinas, principais constituintes da lamela média (BALBOTIN et al., 2007).

Além de todos os fatores fisiológicos, é importante avaliar o ponto de colheita ideal desta fruta, que depende principalmente do tempo necessário ao transporte do campo ao local de consumo, da estação do ano e da finalidade da produção (mercado externo, interno ou indústria). Basicamente, a colheita é realizada quando começam a formar listras amareladas no mamão (GAYET et al., 1995), que podem não estar correlacionadas com a constituição química da polpa e seu sabor.

Sua vida útil pode variar, principalmente com seu estágio de maturação e com a cultivar, no entanto se observa que mamões colhidos no estágio indicado atingem as condições de consumo em uma semana, quando armazenados à temperatura ambiente (FABI et al., 2007).

Para avaliar a qualidade dos frutos, podem ser adotados vários parâmetros, sejam eles físicos, como peso, cor, aparência e firmeza, ou químicos, referentes aos sólidos solúveis (SS), pH, acidez titulável (AT), relação SS/AT, atividade respiratória e vitaminas.

No mamão, a cor da casca é considerada um índice de qualidade confiável, sendo utilizada muitas vezes para determinar o ponto de colheita do fruto. A coloração da casca e da polpa do mamão são aspectos que determinam a sua aceitação pelo consumidor, pois este tem preferência por frutos de casca amarela ou alaranjada brilhante e polpa alaranjado-escura (CARVALHO et al. 1992).

A firmeza do fruto é um atributo de qualidade que pode indicar o seu estágio de maturação ou ponto de colheita, e que influencia na sua comercialização. Assim, frutos com baixa firmeza apresentam menor resistência ao transporte, armazenamento e ao manuseio (FAGUNDES; YAMANISHI, 2001). No primeiro dia após a colheita, a firmeza de mamões Formosa é de aproximadamente 170 N e ao final de sete dias esse valor decresce para 15 N (SOUZA et al., 2014). Frutos de mamão com firmeza de polpa ≤ 20 N são considerados aptos para consumo (BRON; JACOMINO, 2006).

Os sólidos solúveis (SS) e a acidez titulável (AT) são parâmetros que também podem indicar a aceitação do fruto no mercado, uma vez que a preferência do consumidor é de frutos com alta concentração de sólidos solúveis, como os açúcares e de baixa acidez. Alguns autores reportam teores de SS em mamão entre 11,7°Brix e 12,2°Brix (SOUZA et al., 2009), 8,4°Brix e 9,3°Brix (DIAS et al., 2011) e também de 12,6°Brix a 13,4°Brix (LIMA et al., 2009). Quanto à acidez titulável, os valores observados em mamão por Fontes et al. (2012) foram entre 0,15 e 0,37 g 100 g⁻¹ e de Gayosso-García et al. (2010) esteve entre 0,05 e 0,11 g 100 g⁻¹.

A partir do teor de SS e acidez titulável é possível calcular a razão SS/AT (*ratio*), que é uma importante variável de qualidade na pós-colheita, pois expressa o equilíbrio entre a doçura e a acidez, representando, em parte, sensação agradável no paladar do consumidor (DIAS et al., 2011). Alguns autores relatam que para mamão os valores de *ratio* podem variar de 32,8 a 78,5 (FONTES et al., 2012) e 203,11 a 249,87 (SOUZA et al., 2009).

A cadeia de comercialização do mamão pode durar vários dias, pois são muitos os componentes do mercado interno envolvidos, como: produtores, intermediários, atacadistas, centrais de abastecimento, feirantes e varejistas (supermercados, quitandas, varejões e outros), que completam a distribuição aos consumidores. Existem canais de venda do produtor ao atacadista de destino, instalados próximos ao centro de abastecimento, e do produtor ao atacadista de origem, localizado junto à zona de produção. Portanto, a conservação e tratamento do fruto são de extrema importância para a sua qualidade final (FAGUNDES; YAMANISHI, 2001).

A comercialização de mamão ocorre por unidade de peso, com a perda de água sendo uma das principais causas da baixa qualidade pós-colheita, resultando na redução imediata da massa do fruto. Segundo Cenci et al. (2002), perdas de massa fresca superiores a 5% já são suficientes para a depreciação de mamões e muitas vezes tais perdas são negligenciadas na cadeia de comercialização.

Devido a sua alta perecibilidade e deficiente cadeia produtiva, é importante encorajar estudos que desenvolvam tratamentos pós-colheita eficientes no controle dos processos bioquímicos envolvidos no amadurecimento dos frutos, visando ao prolongamento da vida útil do mamão no mercado interno ou externo.

1.2.4 Óleos essenciais

Os óleos essenciais podem ser extraídos de folhas, cascas, flores ou de plantas inteiras. São caracterizados quimicamente como misturas complexas de compostos de baixo peso molecular, sendo alguns altamente voláteis, capazes de gerar sabores e aromas característicos. Fisicamente, se apresentam no estado líquido à temperatura ambiente, com aspecto incolor ou claro. São imiscíveis em água, podendo ser extraídos por hidrodestilação, destilação a vapor, CO₂ supercrítico, ou com a utilização de solventes orgânicos ou gorduras (EDRIS, 2007).

Biologicamente, os óleos essenciais, por serem voláteis, atuam como sinais de comunicação química do reino vegetal para defesa contra outros reinos. Essa característica confere às plantas produtoras fontes de agentes biocidas, sendo largamente estudadas na agricultura por apresentarem atividades bactericidas, inseticidas e fungicidas (WOLFFENBUTTEL, 2010).

Os óleos essenciais têm uma composição complexa, podendo ter entre sua composição dezenas e centenas de compostos, em diferentes concentrações. A atividade biológica do óleo normalmente é associada ao composto majoritário; contudo, outros compostos existem em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades (traços), e muitas vezes a atividade biológica resulta do sinergismo entre os compostos majoritários e os minoritários (LUBBE; VERPOORTE, 2007; CUNHA et al., 2012).

É possível encontrar nos óleos essenciais compostos de diferentes grupos químicos, tais como ésteres: principalmente de ácidos benzóico, acético, salicílico, cinâmico; álcoois: linalol, geraniol, citronelol, terpinol, mentol, borneol; aldeídos: citral, citronelal, benzaldeído, aldeído cinâmico, aldeído cumínico e vanilina; ácidos: benzóico, cinâmico e mirístico; fenóis: eugenol, timol, carvacrol; cetonas: carvona, mentona, pulegona, irona, cânfora; ésteres cineol, éter interno (eucaliptol), anetol, safrol; lactonas: cumarina; terpenos: pineno, limoneno, felandreno, cedreno; hidrocarbonetos: cimeno, estireno (fenileteno), dentre outros compostos com mais de uma função.

O composto timol, que pode ser encontrado como composto majoritário em muitos óleos essenciais foi avaliado contra três fungos: *Candida krusei*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, esse composto isolado apresentou potencial

antifúngico superior quanto comparado ao óleo essencial de *Lippia sidoides* (BRITO et al., 2015).

Um importante aspecto é a escolha do método de extração do óleo essencial, bem como a seleção de uma determinada parte da planta (folha, flor, raiz ou caule), pois são fatores que determinam a composição do óleo e, por consequência, sua utilização (BIASSI; DESCHAMPS, 2009).

Os métodos de extração de óleos essenciais mais utilizados são a hidrodestilação e o arraste a vapor; no entanto, com o surgimento de um mercado mais exigente, novas técnicas, utilizando fluidos supercríticos foram desenvolvidas para diminuir a influência da temperatura na degradação do óleo durante o procedimento de extração (CUNHA et al., 2012).

A extração por arraste a vapor é um dos métodos de extração mais utilizados, tendo os mesmos princípios da hidrodestilação. A diferença principal consiste em não colocar o material vegetal em contato com a água, apenas com o vapor. O vapor é produzido, geralmente, por uma caldeira e conduzido pelo extrator, onde entra em contato com o material vegetal. O calor rompe as paredes dos tricomas e o vapor arrasta o óleo para um condensador, local onde a mistura é resfriada, sendo recolhida e separada, assim como na hidrodestilação (WOLFFENBÜTTEL, 2010).

Em geral, as atividades biológicas dos óleos essenciais são bem conhecidas, principalmente em relação à sua capacidade antimicrobiana. Vários estudos têm sido realizados avaliando suas atividades frente a diversos tipos de micro-organismos, como os deterioradores de alimentos, patógenos e fitopatógenos, revelando o potencial de determinados óleos essenciais no controle de tais micro-organismos (BAKKALI et al., 2008).

Combrinck et al. (2011) observaram a inibição do crescimento dos fitopatógenos *C. gloeosporioides*, *Penicillium digitatum* e *Alternaria citrii*, pelo óleo essencial de capim-limão. Palhano et al. (2004) avaliaram o efeito do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) e citral, isolados ou aplicados junto com pressão hidrostática, na viabilidade de conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*. Carnellosi et al. (2009), avaliando o efeito *in vitro* de óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), eucalipto (*E. citriodora*) e menta (*Mentha arvensis*) sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, observaram total inibição do crescimento micelial do patógeno.

A coleta das plantas para obtenção dos óleos essenciais deve ser realizada nos períodos da manhã ou da noite, pois o período de exposição ao sol pode acarretar em perda quantitativa significativa do óleo existente no vegetal. Características do solo, como o grau de hidratação do terreno e os teores de macronutrientes (N, P, K) existentes também podem influenciar qualitativamente na qualidade dos óleos. Entretanto, não existe um único padrão estabelecido, pois cada espécie vegetal reage de forma diferenciada (CASTRO, 2006).

Segundo Martins et al. (2013), o óleo essencial de *Eucalypto staigeriana* apresentou ação antifúngica significativa sobre a *Candida albicans*. Para Silva et al. (2012), o eucalypto (*E. globulus*), na concentração de 0,5%, se mostrou eficiente ao inibir a germinação de *Colletotrichum gloeosporioides*. Segundo Machado et al. (2013), o óleo essencial de eucalypto foi eficiente no controle da antracnose *in vitro*, porém experimentos com esse óleo devem ser encorajados *in vivo*, para se avaliar e comparar sua eficiência em relação aos produtos convencionais.

Lippia sidoides (Verbenaceae) é um arbusto do Nordeste do Brasil, encontrado nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte, popularmente conhecido como alecrim pimenta, e contém em sua composição um óleo essencial rico em timol e carvacrol, estes compostos apresentam propriedades bactericida, fungicida, moluscicida e larvicida (CAVALCANTI et al., 2010). Segundo Silva et al. (2009) o óleo essencial de *L. sidoides* inibiu completamente o crescimento micelial e a germinação de *C. gloeosporioides* isolado do maracujazeiro.

Pimenta pseudocaryophyllus (Gomes) L.R. Landrum é uma árvore da família Myrtaceae que ocorre nos estados da Bahia, Minas Gerais, Goiás até Santa Catarina, nas regiões de altitude em florestas e caatingas. Custodio (2010) realizou o primeiro relato sobre a atividade antifúngica do óleo essencial de *P. pseudocaryophyllus*, sendo este rico em eugenol, indicado como agente antimicrobiano na agricultura e na preparação de produtos alimentícios e farmacêuticos. Não há estudos sobre o efeito antifúngico do óleo essencial de *Pimenta pseudocaryophyllus* sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. Girard (2007) avaliou o rendimento médio deste óleo essencial, encontrando cerca de 2%.

O estudo entre misturas de óleos é importante para comprovar os níveis de sinergismo ou antagonismo entre eles, podendo ocorrer interação entre os diferentes componentes do óleo ou mistura dos mesmos. A mistura também possui a finalidade de maximizar a atividade e minimizar as concentrações empregadas, visando à

redução da interferência nas características sensoriais nos alimentos, bem como, à constituição de bases para a produção de conservantes de alimentos naturais (NGUEFACK et al., 2012).

1.2.5 Película comestível

O desenvolvimento de películas comestíveis e biodegradáveis tem ganhado espaço dentre as técnicas disponíveis para a conservação pós-colheita de frutos, principalmente como alternativa para reduzir impactos ambientais causados pelas embalagens plásticas. Neste segmento, o amido tem recebido especial atenção e as pesquisas com este polímero se intensificaram nos últimos anos, devido ao baixo custo, abundância e alta aplicabilidade (SHARMA et al., 2009).

Os recobrimentos consistem em suspensões de um agente espessante, que forma uma película ao redor do fruto, reduzindo a migração de vapor e as trocas gasosas com o meio, incrementando o brilho superficial e reduzindo infecções (PEREIRA et al., 2006). Para a composição desses recobrimentos, além de proteínas e lipídeos, derivados da amilose ou da celulose, têm sido utilizados como matéria-prima, por serem biodegradáveis e consumíveis ainda no fruto (SCANAVACA JÚNIOR et al., 2007).

A carboximetilcelulose (CMC) e a dextrina, derivadas da celulose e do amido, respectivamente, possuem excelentes propriedades para prolongar a vida útil de frutos e representam barreiras eficientes à perda de umidade e à troca de gases (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A CMC também apresenta outras vantagens, como solubilidade em água e maior viscosidade; sendo produzida à pressão atmosférica, podendo ser obtida de biomassa vegetal abundante e barata, como o bagaço da cana-de-açúcar (FUJIMOTO et al., 2002). A CMC forma um biofilme flexível, sem odor, resistente, transparente e funciona como barreira à umidade e ao oxigênio (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997) (Figura 1.1).

Figura 1.1 - Fórmula estrutural da carboximetilcelulose (FAO, 1989)

Com a aplicação de revestimentos à base de CMC em frutas, tem-se a formação de uma cobertura com preenchimento parcial dos estômatos e lenticelas, reduzindo, dessa forma, a transferência de umidade (transpiração) e as trocas gasosas (respiração). No início do processo de maturação, ocorre aumento na produção de etileno; considerando que o oxigênio (O₂) é necessário para a sua produção, a redução da permeação do O₂ para o interior do fruto gerará uma correspondente redução na produção do etileno (responsável pelo amadurecimento), o que permite, em princípio, prolongar a vida útil do fruto (ASSIS et al., 2009).

A aplicação de películas comestíveis pode ser feita de duas formas: (i) por meio de imersão rápida do fruto em uma solução filmogênica, seguido de um período de repouso, até que a água evapore e a película se forme sobre a fruta ou (ii) por meio de aspersão, cujo processo é semelhante, porém a solução é aspergida sobre a fruta (JUNIOR et al., 2010).

Para alguns produtos frescos, como tomates, cerejas, feijões frescos, morangos, mangas, bananas e mamão, a CMC tem sido utilizada para retardar a perda de qualidade dos frutos, de maneira a prolongar sua vida útil pós-colheita (ZHUANG et al., 1996; BALDWIN et al., 1999; KITTUR et al., 2001; AYRANCI; TUNC, 2003; TRIGO, 2012).

De acordo com Trigo (2012), o revestimento à base de CMC em mamão minimamente processado não afetou os atributos sensoriais do fruto e corroborou com a manutenção da firmeza, coloração, respiração, além de diminuir a contagem de coliformes totais. Em condições adequadas de temperatura e umidade

respeitadas, o revestimento também preservou a vida útil dos mamões por 15 dias, seis dias a mais que o controle.

Dentre os tratamentos aplicados em frutas tropicais para prolongar a vida útil pós-colheita, o uso de compostos naturais ou biodegradáveis, não tóxicos, derivados de animais ou plantas, que apresentem efeito antifúngico ou induzam a resistência natural das plantas, tem-se destacado nos trabalhos de conservação de produtos vegetais (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013).

Estudos que correlacionem películas comestíveis e óleos essenciais ainda são escassos. Wang e colaboradores (2011) verificaram o sinergismo entre a atividade antimicrobiana de três óleos essenciais, de broto de cravo, de canela e de anis-estrelado, associados com filmes elaborados à base de quitosana, e observaram melhor atividade antimicrobiana do óleo de canela quando comparado com os demais óleos analisados contra bactérias e fungos, dentre eles: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus oryzae* e *Penicillium digitatum*.

Em vista disto, procurou-se avaliar a capacidade antifúngica dos óleos essenciais de *Eucalyptus staigeriana*, *Lippia sidoides* e *Pimenta pseudocaryophyllus* e suas combinações contra *Colletotrichum gloeosporioides*, bem como, sua eficiência na conservação pós-colheita de mamões, quando associado com película de carboximetilcelulose, como coadjuvante na aderência do produto ao fruto.

Referências

- AL-ATI, T.; HOTCHKISS, J. H. The role of packaging film permselectivity in modified atmosphere packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.51, 2003.
- ASSIS, O.B.G.; BRITO, D.; FORATO, L.A. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, São Carlos, Embrapa Instrumentação Agropecuária, p.23, 2009.
- AYRANCI, E.; TUNC, S. A method for the measurement of oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. **Food Chemistry**, Reading, v.80, p.423–431, 2003.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, Catalonia, v.46, n.2, p.446-475, 2008.
- BALBONTÍN, C.; GAETE-EASTMAN, C.; VERGARA, M.; HERRERA, R.; MOYA-LÉON, M.A. Treatment with 1-MCP and the role of ethylene in aroma development of

mountain papaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.43, p.67-77, 2007.

BALDWIN, E. A. et al. Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*Mangifera indica* L.) ripening during storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.17, n.3, p.215-226, 1999.

BAUTISTA-BAÑOS, S, SIVAKUMAR, D, BELLO-PEREZ, A, VILLANUEVA-ARCE, R AND HERNANDEZ-LOPEZ, M. A review of the management alternative for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain, **Crop Protection**, Lincoln, v.49, p.8-20, 2013.

BENGTTSSON, M.; KOCH, K.; GATENHOLM, P. Surface octanoylation of high-amylose potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, Worcester, v.54, p.1-11, 2003.

BIASSI, L. A.; DESCHAMPS, C. Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleo essencial, Curitiba, p.7, 2009.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas, **Química Nova**, São Paulo, v.32, n.3, p.588-594, 2009.

BLEINROTH, E.W.; SIGRIST, J.M.M. Matéria-prima. In: ITAL **Mamão**: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos, Campinas, p.179-254, 1995.

BRAPEX (2010). Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Papaya. Disponível em: <http://www.brapex.net/2013/index.asp>. Acesso em 28/05/2016.

BRITO, D.I.V.; MORAIS-BRAGA, M.F.B.; CUNHA, F.A.B.; ALBUQUERQUE, R.S.; CARNEIRO, J.N.P.; LIMA, M.S.F.; LEITE, N.F.; SOUZA, C.E.S.; ANDRADE, J.C.; ALENCAR, L.B.B.; LAVOR, A.K.L.S.; FIGUEREDO, F.G.; LIMA, L.F.; COUTINHO, H.D.M. Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida* spp. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.17(4, Suppl. 2), p.836-844, 2015.

BRON, I.U.; JACOMINO, A.P. Ripening and quality of 'Golden' papaya fruit harvested at different maturity stages. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 3, p.389-396, 2006.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 11, n.4, p.399-406, 2009.

CARVALHO, R. I. N.; FIORAVANÇO, J. C.; PAIVA, M, C.; MANICA, I. Características físicas e químicas do mamão "Papaya" comercializado em Porto Alegre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.14, n.1, p.143-147, 1992.

CASTRO, N. E. A. **Caracterização e fitoquímica de óleos essenciais de eucalipto e seu efeito sobre o protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai***. 82 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2006.

CAVALCANTI, S. C. H. et al. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology**, Punjab, v.101, n.2, p.829-832, 2010.

CEAGESP. Centro de Qualidade em Horticultura. **Classificação da goiaba (*Psidium guajava* L.)**. São Paulo. Folder. (Programa Brasileiro para a Melhoria dos Padrões Comerciais e Embalagens de Hortigranjeiros), 2000.

CENCI, S. A.; FONSECA, M. J. de O.; FREITAS-SILVA, O. Procedimentos pós-colheita. In: FOLEGATTI, M. I. da S.; MATSUURA, F.C. A. U. **Mamão: pós-colheita**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.24-38, 2002.

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

CISNEROS-ZEVALLOS, L.; KROCHTA, J.M. Internal modified atmospheres of coated fresh fruits and vegetables: understanding relative humidity effects. **Journal of Food Science**, Malden, v.67, p.2792-2797, 2002.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G.P.P. *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, North Dakota, v.33, p.344-349, 2011.

CUNHA, A.P.; NOGUEIRA, M.T; ROQUE, O.R. Plantas aromáticas e óleos essenciais: composição e aplicações. **Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian**, 2012.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In: ROONEY, M.L. **Active food packaging**, Glasgow, p.111-142, 1995.

CUSTÓDIO D.L.; BURGO, R.P.; MORIEL, B.; BARBOSA, A.M.; REZENDE, M.I.; DANIEL, J.F.S.; PINTO, J.P.; BIANCHINI, E.; FARIA, T.J. Antimicrobial Activity of Essential Oils from *Pimenta pseudocaryophyllus* and *Tynanthus micranthus*. **Brazilian archives of biology and technology**, Curitiba, v.53, n.6, p.1363-1369, 2010.

DIAS, T. C.; MOTA, W. F.; OTONI, B. S.; MIZOBUTSI, G. P.; SANTOS, M. G. P. Conservação pós-colheita de mamão formosa com filme de PVC e refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.2, p.666-670, 2011.

FUJIMOTO J; Formação de Multicamadas de Polissacarídeos e Proteína. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n.55, p.757-761, 2002.

EDRIS, A.E. Pharmaceutical and therapic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Reserch**, Reading, v.21, p.308-323, 2007.

EMBRAPA (2014). **Tecnologia Pós-colheita e Processamento de Mamão**. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/136936/1/N55-DOC-152.pdf>. Acesso em: 23/04/2016.

EMBRAPA (2013). **Produção brasileira de mamão em 2013**. Disponível em: https://www.embrapa.br/documents/1355135/1529009/Mamao_Brasil_2013.pdf/c55eacd9-3c37-4f49-a882-af30b7ddf442. Acesso em: 24/04/2016.

FABI, J. P.; CORDENUNSI, B. R.; BARRETO, G. P. M.; MERCADANTE, A. Z.; LAJOLO, F. M.; NASCIMENTO, J. R. do. Papaya fruit ripening: response to ethylene and 1-methylcyclopropene. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.55, p.6118-6123, 2007.

FAGUNDES, G. R.; YAMANISHI, O. K. Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo 'solo' comercializados em 4 estabelecimentos de Brasília-DF. **Revista brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.3, 2001.

FAO. Global food losses and food waste. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/014/mb060e/mb060e00.pdf>. Internacional Congress Save Food. Rome, 2011.

FONTES, R. V.; VIANA, A. P.; PEREIRA, M. G.; OLIVEIRA, J. G.; VIEIRA, H. D. Manejo da cultura do híbrido de mamoeiro (*Carica papaya* L.) do grupo 'formosa' UENF/CALIMAN - 01 para melhoria na qualidade do fruto com menor aplicação de adubação NPK. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.1, p.143-151, 2012.

FOOD AND AAGRICULTURE ORGANIZATION – FAO (2010). Faostat. Disponível em <www.fao.org>. Acesso em 15/07/2016.

FAO. Production and crops of papayas. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em 15/06/2016.

FAO. Sodium carboxymethyl cellulose (1989). Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/additive-396-m1.pdf>. Acesso em: 22/03/2017.

GAYOSSO-GARCÍA, L.; YAHIA, E.; MARTÍNEZTÉLLEZ, M.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. Effect of maturity stage of papaya Maradol on physiological and biochemical parameters. **American Journal of Agricultural and Biological**, New York, v.5, n.2, p.194-203, 2010.

GAYET, J. P.; BLEINROTH, E. W.; MATALLO, M.; GARCIA, E. E. C.; GARCIA, A. E.; ARDITO, E. F. G.; BORDIN, M. R. F. **Mamão para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**, FRUPEX – Embrapa, Brasília, 1995.

GIRARD, E. A.; KOEHLER, H.S.; NETTO, S.P. Volume, biomassa e rendimento de óleos essenciais do craveiro (*pimenta pseudocaryophyllus* (gomes) landrum). **Revista Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 2, p.147-165, 2007.

GOMES D. P. Efeito do óleo de nim na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja. XII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica – INIC – São José dos Campos-SP, 2008.

GONÇALVES, C. X.; TIECHER, A.; CHAVES, F. C.; NORA, L.; ZHENGGUO, L.; LATCHÉ, A.; PECH, J. C.; ROMBALDI, C. V. Putative role of cytokinin in differential ethylene response of two lines of antisense ACC oxidase cantaloupe melons. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.86, p.511-519, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (2010). **Produção agrícola municipal**, Rio de Janeiro, v.37, p.1-91, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (2014). **Produção brasileira de mamão em 2014**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1613&z=t&o=11&i=P>. Acesso em: 15/04/2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE QUALIDADE EM HORTICULTURA (2013). Mamão. Disponível em: http://www.hortibrasil.org.br/jnw/index.php?option=com_content&view=article&id=1076:mamao&catid=107:padrao-minimo-de-qualidade&Itemid=134. Acesso em: 01/08/2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS (2010). **Estatísticas**. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/x-es/f-esta.html>. Acesso em: 05/04/2016.

JACOMINO, A. P.; KLUGE, R. A.; BRACKMANN, A.; CASTRO, P. R. D. C. Ripening and senescence of papaya with 1-methylcyclopropene. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.2, p.303-308, 2002.

JUNIOR, E.B.; MONARIM, M.M.S.; CAMARGO, M.; MAHL, C.E.A.; SIMÕES, M.R.; SILVA, C.F. Efeito de diferentes biopolímeros no revestimento de mamão (Carica papaya L) minimamente processado. **Varia Scientia Agrárias**, Cascavel, v.1,n.1, p.131-142, 2010.

KITTUR, F. S.; SAROJA, N. S.; HABIBUNNISA, THARANATHAN, R. N. Polysaccharide based composite coating formulations for shelflife extension of fresh banana and mango. **European Food Research and Technology**, Munique, 213, 306–311, 2001.

KRONGYUT, W. ; SRILAONG, V.; UTHAIRATANAKIJ, A.; WONGS-AREE, C.; ESGUERRA, E. B.; KANLAYANARAT, S. Physiological changes and cell wall degradation in papaya fruits cv. 'Kaek Dum' and 'Red Maradol' treated with 1-methylcyclopropene. **International Food Research Journal**, Selangor, v.18, n.4, p.1.251-1.259, 2011.

KROCHTA, J.M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 2, p.61-74, 1997.

LEAL, L. K. A. M.; OLIVEIRA, V. M.; ARARUNA, S. M.; MIRANDA, M. C. C.; OLIVEIRA, F. M. A. Análise de timol por CLAE na tintura de *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta) produzida em diferentes estágios de desenvolvimento da planta. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v.13, p.09-11,2003.

LI, X.; ZHU, X.; MAO, J.; ZOU, Y.; FU, D.; CHEN, W.; LU, W. Isolation and characterization of ethylene response factor family genes during development, ethylene regulation and stress treatments in papaya fruit. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v.70, p.81-92, 2013.

LIMA, L. M.; MORAIS, P. L. D.; MEDEIROS, É. V.; MENDONÇA, V.; XAVIER, I. F.; LEITE, G. A. Qualidade pós-colheita do mamão formosa 'Tainung 01' comercializado em diferentes estabelecimentos no município de Mossoró-RN. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.3, p.902-906, 2009.

LUBBE, A.; VERPOORTE, R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. **Industrial Crops and Products**, North Dakota, v. 34, p.785-80, 2007.

MAQBOOL M.; ALI A.; ALDERSON P.G.; MOHAMED M.T.M.; SIDDIQUI Y.; ZAHID N. Postharvest application of gum Arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. **Postharvest Biology Technology**, Amsterdam, v.62, p.71–76, 2011.

MARTINS, L.C.S.; KOZUSNY-ANDREANI, D.I.; NAVARRO, R.S. et al. **Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos sobre cepa de *Candida albicans***. Encontro de Pós-Graduação e Iniciação Científica – Universidade Camilo Castelo Branco, 2013.

MAYORGA, R.D.; LIMA, P.V.P.S.; MAYORGA, R.O.;TABOSA, F.J.S. As condições sócio-econômicas dos países importadores de mamão e sua importância para os produtores brasileiros. Disponível em: http://www2.ipece.ce.gov.br/encontro/artigos_2008/7.pdf. Acesso em: 06/07/2013.

MOURA, F.T. et al. Frutos do umbuzeiro armazenados sob atmosfera modificada e ambiente em diferentes estágios de maturação. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.44, n.4, 2013.

NGUEFACK, A. J.; TAMGUEA, O.; LEKAGNE DONGMOA, J. B.; DAKOLEA, C. D.; LETHB, V.; VISMERC, H. F.; AMVAM ZOLLOA, P. H.; NKENGFACKD, A. E. Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. **Food Control**, Reading, v.23, n.2, p.377-383, 2012.

NUNES-NESI, A.; FERNIE, A. R.; STITT, M. Metabolic and signaling aspects underpinning the regulation of plant carbon nitrogen interactions. **Molecular Plant**, Shanghai, v.3, n.6, p.973-996, 2010.

ONG, M.K.; KAZI, F.K.; FORNEY, C.F.; ALI A. Effect of gaseous ozone on papaya anthracnose. **Food Bioprocess Technology**, Dublin v.6, p.2996–3005, 2013.

PAULL, R.E.; NISHIJIMA, W.; REYES, M.; CVALETTTO, C. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.11, p.165-179, 1997.

PELISSARI, F. M. et al. Antimicrobial, mechanical and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with orégano essential oil. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.57, p.7499- 7504, 2009.

PEREIRA, M. E. C.; SILVA, A. S. da; BISPO, A. S. da R.; SANTOS, D. B. dos; SANTOS, S. B. dos; SANTOS, V. J. dos. Amadurecimento de mamão Formosa com revestimento comestível à base de fécula de mandioca. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.6, p.1116-1119, 2006.

QUEIROZ, R.F. **Desenvolvimento de mamão formosa ‘tainung 01’ cultivado em Russas/CE**. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró/RN, 2009.

RAI, D. R.; OBEROI, H. S.; BABOO, B. RAI, D. R. Modified atmosphere packaging and its effect on quality and shelf-life of fruits and vegetables – an overview. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v.39, n.3, p.199-207, 2002.

RIBEIRO, M.D. **Estudos preliminares do comportamento do mamão Formosa armazenado em condições ambientais**. Monografia para obtenção do título de Agrônomo – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró/RN, 2002.

SÁ, M.C.A.; PEIXOTO, R.M.; KREWER, C.C.; ALMEIDA, J.R.G.S.; VARGAS, A.C.; COSTA, M.M. Antimicrobial activity of caatinga biome ethanolic plant extracts against gram negative and positive bacteria. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, Niterói, v.18, n.2/3, p.62-66, 2011.

SCANAVACA JÚNIOR, L. et al. Uso de fécula de mandioca na pós-colheita de manga 'Surpresa'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.29, n.1, p.67-71, 2007.

SEAB (2012). Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Fruticultura - Análise da Conjuntura Agropecuária - PANORAMA MUNDIAL. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/fruticultura_2012_13.pdf. Acesso em: 10/03/2016.

SERRANO, L.A.L.; CATTANEO, L.F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.3, 2010.

SILVA, A.C.; SALES, N.L.P.; ARAÚJO A.V.; JÚNIOR, C.F.C. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência agrotecnológica**, Lavras, v.33, 2009.

SIVAKUMAR, D.; WALL, M. M. Papaya fruit quality management during the postharvest supply chain. **Food Reviews International**, Philadelphia, v.29, n.1, p.24-48, 2013.

SOUZA, A.F.; SILVA, W.B.; GONÇALVES, Y.S.; SILVA, M.G.; OLIVEIRA, J.G. Fisiologia do amadurecimento de mamões de variedades comercializadas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.36, n.2, p.318-328, 2014.

SOUZA, T. V.; COELHO, E. F.; PAZ, V. P. S.; LEDO, C. A. S. Avaliação física e química de frutos de mamoeiro 'Tainung nº1', fertirrigado com diferentes combinações de fontes nitrogenadas. **Agrária**, Recife, v.4, n.2, p.179-184, 2009.

SHARMA, R.; SINGH, D.; SINGH, R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. **Biological Control**, Kentucky, v.50, p.205, 2009.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.3, p.542-545, 2009.

TRIGO, J.M.; ALBERTINI, S.; SPOTO, M.H.F; SARMENTO, S.B.S; REYES, A.E.L.; SARRIÉS, G.A. Effect of edible coatings on the preservation of fresh cut papayas **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.15, n.2, 2012.

ZHUANG, R.; BEUCHAT, L.R.; CHINNAN, M.S.; SHEWFELT, R.L.; HUANG, Y.W. Inactivation of *Salmonella montevideo* on tomatoes by applying cellulose based edible films. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.59, n.8, p.808-812, 1996.

WANG, L.; LIU, F.; JIANG, Y.; CHAI, Z.; LI, P.; CHENG, Y.; JING, H.; LENG, X. Synergistic antimicrobial activities of natural essential oils with chitosan films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.59, n.23, p.12411 – p.12419, 2011.

WOLFFENBUTTEL, A.N. Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia. **Abordagem técnica e científica**. São Paulo: Roca, Cap 1, p.1-25, 2010.

2. ASSOCIAÇÃO ENTRE UM ÓLEO ESSENCIAL E A PELÍCULA DE CARBOXIMETILCELULOSE SOBRE *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIODES* NA PÓS-COLHEITA DE MAMÃO

Resumo

A doença antracnose, ocasionada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, é uma das principais causas de prejuízos na pós-colheita da cultura do mamoeiro. A utilização de fungicidas é uma das opções mais comuns para o controle desta doença, e o emprego de fungicidas naturais tais como os óleos essenciais constitui-se em uma alternativa ao uso de fungicidas sintéticos. Nesse estudo, foi avaliada a eficiência antifúngica *in vitro* de óleos essenciais (OEs) e suas misturas para controlar o crescimento de *C. gloeosporioides*, bem como a eficiência *in vivo* da associação da película de carboximetilcelulose com o óleo de melhor desempenho *in vitro*, considerando a aplicação preventiva e curativa. Os OEs foram obtidos de folhas de *Lippia sidoides*, *Pimenta pseudocaryophyllus* e *Eucalyptus staigeriana*. No experimento *in vitro* determinou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos e misturas, a Concentração Inibitória Fracionada (CIF) dos óleos em misturas, e a Concentração Fungicida Mínima (CFM) do óleo que apresentou a menor CIM. No experimento *in vivo*, foi avaliado o desenvolvimento da doença durante a pós-colheita de mamões tratados com a película de CMC (0,25% p/v), mamões tratados com a película associada com 375 ppm de óleo de *L. sidoides* e os mamões sem tratamento algum. Todos os OEs e suas misturas apresentaram atividade antifúngica sobre o *C. gloeosporioides*, a melhor eficiência foi do OE de *L. sidoides* (menor CIM). A aplicação da modelagem matemática através do modelo de Gompertz aos dados de crescimento fúngico mostrou-se como uma alternativa à determinação visual da CIM. As misturas de OE apresentaram somente efeito indiferente e não apresentaram efeitos aditivos ou sinérgicos conforme as CIFs. A CMF determinada para o OE de *L. sidoides* mostrou que a ação fungistática (31 ppm) e fungicida (62 ppm) para este óleo ocorreu em concentrações diferentes. No experimento *in vivo*, os resultados demonstraram que houve uma redução na severidade, mas não na incidência da doença antracnose quando o OE foi associado à película e este tratamento aplicado preventivamente, ou seja, antes da inoculação do fungo.

Palavras-chave: *Carica papaya* L.; *Lippia sidoides*; *Pimenta pseudocaryophyllus*; *Eucalyptus staigeriana*.

Evaluation of the association between an essential oil and carboxymethylcellulose film on *Colletotrichum gloeosporioides*, fungus responsible of anthracnose in papaya postharvest

Abstract

The anthracnose disease, caused by the *Colletotrichum gloeosporioides* fungus, is one of the main causes of losses in papaya postharvest. The use of fungicides is a common way to control this disease, and the use of natural fungicides such as essential oils (EOs) is an alternative to the use of synthetic fungicides. In this study, it was evaluated *in vitro* antifungal activity of essential oils and their mixtures to control *C. gloeosporioides* growth, as well as the *in vivo* efficiency of the association between carboxymethylcellulose film and the oil presenting the best performance *in vitro*, considering the preventive and curative application. The EOs were obtained from leaves of *Lippia sidoides*, *Pimenta pseudocaryophyllus* and *Eucalyptus staigeriana*. The *in vitro* experiment determined the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) for oils and mixtures, the Fractional Inhibitory Concentration (FIC) for oils in mixtures, and the Minimal Fungicide Concentration (MFC) for the oil presenting the lowest MIC. In the *in vivo* experiment it was evaluated the disease development during the postharvest of papaya treated with CMC film (0,25% w/v), papaya treated with the film associated with 375 ppm of the *L. sidoides* oil and the untreated papaya. All OEs and their mixtures presented antifungal activity on *C. gloeosporioides*, the best result of efficiency to control this fungus was for the *L. sidoides* EO (lowest MIC). The application of mathematical modeling on fungal growth data, by the Gompertz model, represented an alternative to the visual determination of MIC. The mixtures of EO presented only indifferent effect and did not present additive or synergistic effects according to the FICs. The MFC determined for the *L. sidoides* EO showed that the fungistatic (31 ppm) and fungicidal (62 ppm) activity for this oil occurred at different concentrations. The *in vivo* experiment demonstrated that there was a reduction in the severity, but not in the incidence of anthracnose disease when EO was associated with the film before the fungal inoculation.

Keywords: *Carica papaya* L.; *Lippia sidoides*; *Pepper pseudocaryophyllus*, *Eucalyptus staigeriana*.

2.1 Introdução

O mamão (*Carica papaya* L.) se destaca como um fruto que possui altos teores de açúcares, vitamina C e carotenoides, além de exibir sabor aromático agradável, características que o tornam adequado para o consumo *in natura* (BARI et al., 2006). A produção do mamão é realizada em diferentes regiões ao redor do mundo e dados da Food and Agriculture Organization (FAO, 2016) mostram que em 2013 aproximadamente 12 bilhões de toneladas foram produzidas mundialmente, sendo a Índia, o Brasil, a Indonésia, a Nigéria e o México os principais produtores.

Contudo, o mamão assim como outros frutos, é altamente perecível e susceptível a várias doenças pós-colheita. A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum* spp. é uma das doenças mais preocupantes para vegetais e frutos em regiões tropicais do mundo (PAULL et al., 1997). Na cultura do mamão a antracnose constitui-se na doença de pós-colheita de maior importância e o seu agente causal é o *Colletotrichum gloeosporioides* (BAUTISTA-BANÕS et al., 2013). Os sintomas do desenvolvimento do *C. gloeosporioides* no fruto do mamão se iniciam com lesões pequenas, que ao aumentarem de tamanho tornam-se aprofundadas e com aparência aquosa, podendo atingir até 5 cm de diâmetro quando isoladas e ao se unirem destroem rapidamente o fruto (MAEDA; NELSON, 2014).

Atualmente o controle de doenças fúngicas de pós-colheita do mamão, tal como a antracnose, é baseado no emprego de fungicidas sintéticos ou na combinação destes fungicidas com ceras, calor ou vapor. Contudo, outros métodos têm sido estudados como alternativas ao controle desta doença, dentre eles o emprego da irradiação, de antagonistas, extratos de plantas, óleos essenciais, sais, minerais, quitosana, isotiocinamato, atmosfera modificada ou controlada, ozônio e 1-metilisociclopropano (BAUTISTA-BANÕS et al., 2013).

Os óleos essenciais (OEs) têm demonstrado a capacidade de inibir o crescimento de uma ampla variedade de micro-organismos ou mesmo eliminá-los ao mesmo tempo em que apresentam baixa toxidez, inclusive sendo muitos deles reconhecidos como seguros pelo Food and Drug Administration (FDA) (BAKKALI et al., 2008). Além disso, os óleos essenciais, por apresentarem diferentes mecanismos de ação, tornam difícil o aparecimento de resistência em populações microbianas (YAP et al., 2014).

Por outro lado, a aplicação dos óleos essenciais que tenham apresentado capacidade antimicrobiana *in vitro* representa um desafio, pois interações dos componentes do óleo com constituintes do fruto e também perdas dos compostos ativos por rápida volatilização ou ação de outros fatores, como a luz, podem reduzir ou inviabilizar a aplicação destes (TUREK; STINTZING, 2013). A combinação de óleos essenciais com ceras ou películas pode, contudo, consistir em uma alternativa a ser utilizada para viabilização das diversas aplicações dos OEs (ALI et al., 2016; AZARAKHSH et al., 2014; MAQBOOL et al., 2011).

A carboximetilcelulose (CMC) é um derivado da celulose e utilizada como película comestível em alimentos. Essa película forma um biofilme flexível, sem odor, resistente, transparente e funciona como uma barreira eficiente à perda de umidade e à troca de gases (KITUR et al., 2001). A CMC também apresenta outras características desejáveis, como solubilidade em água e maior viscosidade, produção à pressão atmosférica e possibilidade de obtenção a partir de biomassa vegetal (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997).

Diversos estudos já avaliaram o poder antifúngico de diferentes óleos essenciais (OEs) sobre o *C. gloeosporioides* em frutas (BOSQUEZ-MOLINA et al., 2010; COMBRINCK et al., 2011; BONETT et al., 2012; SOLINO et al., 2012; AQUINO, et al., 2014). Contudo, os estudos sobre a atividade antifúngica dos óleos essenciais extraídos de folhas das espécies *Eucalyptus staigeriana*, *Lippia sidoides* e *Pimenta pseudocaryophyllus* sobre fungos deteriorantes de frutas na pós-colheita são escassos ou inexistentes apesar de sua comprovada ação antimicrobiana (GILLES et al., 2010; CAVALCANTI et al., 2010; CUSTODIO et al., 2010). Diferentes óleos essenciais com diversificada composição podem representar novas alternativas ao controle da antracnose causada por *C. gloeosporioides* no mamão, assim como novas tecnologias de aplicação dos óleos essenciais.

Diante do exposto, a avaliação da capacidade de controle da doença causada por *C. gloeosporioides* na pós-colheita de mamão por óleos essenciais extraídos de folhas das espécies *E. staigeriana*, *L. sidoides* e *P. pseudocaryophyllus*, em combinação com a tecnologia de inclusão destes em película de CMC, pode resultar em alternativas interessantes para produtores desse tipo de fruto. Dessa maneira, este estudo avaliou a eficiência antifúngica *in vitro* desses OEs sobre *C. gloeosporioides*, assim como a eficiência *in vivo* da associação do óleo de melhor

desempenho *in vitro* com a CMC, considerando a aplicação preventiva e curativa deste método de controle.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Material vegetal e extração dos óleos essenciais

Os OEs foram extraídos das folhas de *E. staigeriana*, *L. sidoides* e *P. pseudocaryophyllus* (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 - Espécies vegetais utilizadas para a extração dos óleos essenciais

Espécie vegetal	Procedência
<i>Eucaliptus staigeriana</i>	Itatinga - São Paulo/Brasil ¹ 24°59'34.8"S 48°41'14.4"W
<i>Lippia sidoides</i>	Campinas – São Paulo/Brasil ² 22°47'42.5"S 47°06'40.4"W
<i>Pimenta pseudocaryophyllus</i>	Cananéia - São Paulo/Brasil ³ 25°00'257"S 47°56'56"W

¹ Estação Experimental de Ciências Florestais de Itatinga – ESALQ/USP.

² Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) – UNICAMP.

³ Herbário SPVR do Campus Experimental de Registro, UNESP, Registro, SP.

A extração dos óleos foi realizada a partir de hidrodestilação durante 4 horas, utilizando aparelho tipo Clevenger, no qual foram colocados 400 g de folhas frescas e 800 mL de água destilada. O OE foi separado da água (hidrolato) por decantação, seco em sulfato de sódio anidro e armazenado em vidro âmbar em temperatura inferior a -5°C até o momento de sua utilização.

O rendimento de cada OE foi calculado pela fórmula $R(\%) = [(volume\ OE \times densidade)/massa\ seca\ de\ folhas] \times 100$ (GIRARD, 2007). A densidade foi medida a partir do volume (mL) de óleo obtido no processo, dividido pela massa seca da amostra (g).

2.2.2 Obtenção do isolado de *C. gloeosporioides*

O fungo *C. gloeosporioides* foi obtido a partir do isolamento direto de estruturas fúngicas de frutos de mamão infectados naturalmente em cultivo convencional, localizado em Sooretama-ES, Brasil (19°11'49"S 40°05'52"W). Essas estruturas foram transferidas para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), mantidas por 15 dias em câmara de crescimento com temperatura controlada a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, para serem utilizadas como fonte de inóculo. Após o crescimento, o fungo foi identificado morfológicamente pelo método estabelecido por Sutton (1992).

2.2.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi considerada como a menor concentração do OE, entre as concentrações avaliadas, capaz de inibir totalmente o desenvolvimento do micélio fúngico. A CIM foi determinada neste trabalho utilizando o método descrito por Alvarez-castellanos (2001), no qual placas de Petri contendo ágar adicionado de diferentes concentrações do óleo de interesse são inoculadas com o fungo, vedadas e mantidas em condições controladas de temperatura e fotoperíodo, para observação periódica do crescimento micelial dentro do período de incubação. Neste estudo os óleos foram avaliados individualmente, em duas combinações binárias e uma ternária. Desta maneira, as seguintes combinações de óleos foram elaboradas: M1 (*L. sidoides* + *E. staigeriana*); M2 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus*); M3 (*E. staigeriana* + *P. pseudocaryophyllus*) e M4 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus* + *E. staigeriana*). Para o preparo do ágar contendo as doses desejadas, volumes apropriados dos OEs ou de suas misturas foram adicionados a 100 mL de BDA fundente e previamente esterilizado. Assim, as concentrações de 31,0; 62,5; 125,0; 250,0 e 500,0 ppm foram alcançadas. Para homogeneização dos óleos e misturas ao BDA foram utilizados 200 µL de emulsificante lecitina de soja (0,2% p/v em etanol)/100 mL de ágar. No preparo das placas do tratamento controle (sem OE ou misturas) somente o emulsificante foi utilizado e na mesma dose empregada nos tratamentos. Após a solidificação do ágar foi realizada a inoculação do fungo *C. gloeosporioides*. Para isto, uma haste metálica foi imersa em uma solução de inóculo contendo $2,4 \times 10^5$ conídios mL⁻¹ e utilizada para furar o ágar na região central da

placa de Petri. O inóculo foi obtido a partir de colônias do fungo com 15 dias de crescimento em BDA e a concentração de conídios na suspensão foi avaliada com auxílio da câmara de Neubauer. Cinco repetições (placas) foram utilizadas por tratamento. As placas inoculadas foram mantidas à temperatura controlada de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas, durante 18 dias. O crescimento micelial radial foi aferido a cada dois dias, com auxílio de um paquímetro graduado, a partir do diâmetro de cada colônia, tomado em duas direções perpendiculares entre si. O diâmetro final do crescimento da colônia foi considerado como sendo a média aritmética dessas duas medidas. A percentagem de inibição frente ao *C. gloesporioides* foi mensurada comparando-se o diâmetro médio do crescimento fúngico no tratamento controle com os demais tratamentos por meio da fórmula PI (%) = (Crescimento da Testemunha - Crescimento do Tratamento)/Crescimento da Testemunha x 100 (ALVAREZ-CASTELLANOS, 2001). Foram realizadas 4 repetições do experimento.

O estabelecimento da CIM foi realizado através da observação da menor dose, entre as doses avaliadas, onde não foi detectado crescimento fúngico visível a olho nu. A CIM estabelecida desta maneira foi denominada CIM observada. Contudo, a CIM também foi determinada através das equações que descreveram a dose-resposta observada no último dia de incubação, para as diferentes doses dos óleos e misturas avaliados. A CIM estabelecida desta maneira foi denominada CIM calculada.

O diâmetro de crescimento micelial (D) do fungo (mm) foi modelado usando a função sigmoidal do modelo de Gompertz, descrito abaixo:

$$D(mm) = a \cdot e^{-e^{(b-c \cdot C)}}$$

2.2.4 Avaliação da composição química do óleo essencial

A caracterização química foi realizada apenas para o OE que apresentou melhor resultado no teste *in vitro*. A caracterização foi realizada por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, utilizando equipamento CGMS 2010 (SHIMADZU), equipado com uma coluna cromatográfica capilar Difenil Dimetilpolissiloxano (5% diphenyl e 95% dimethylpolysiloxane), Rxi5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). A programação da temperatura do forno iniciou-se com 50°C por 1,5

min, elevação de $4^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 200°C e, finalmente uma elevação a $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 240°C , permanecendo nesta temperatura por 7 min. A temperatura do injetor foi estabelecida a 240°C e a fonte de íons e interface a 220°C . A injeção foi realizada no modo “Split” com uma razão do “Split” de 1:200 e o volume de amostra injetado foi de 1 μL . Gás Hélio foi utilizado para o arraste a uma vazão de $1,2 \text{ mL min}^{-1}$. O detector de massas operou no modo *scan* com faixa de varredura de 40 a 500 m/z^{-1} . Os compostos voláteis foram identificados por meio da comparação entre seus índices de Kovats (IK) e espectros de massas calculados e observados, com dados publicados na literatura (ADAMS, 2007) e com bibliotecas de espectros de massas existentes (NIST, WebBook, NIST 07 e WILEY 8). Somente picos com presença maior que 1% da área total do cromatograma foram identificados.

2.2.5 Determinação da Concentração Fungicida Mínima

O OE que apresentou a menor CIM foi avaliado também quanto a sua Concentração Fungicida Mínima (CFM), ou seja, a concentração mais reduzida do OE que tornou os conídios fúngicos incapazes de germinar após a exposição a esta dose. A CFM neste estudo foi determinada seguindo o método proposto por Shukla et al. (2009). Para esta determinação, diferentes alíquotas do OE, suficientes para proporcionar as concentrações desejadas no tubo teste, foram dissolvidas em 0,5 mL de solução aquosa de CMC (0,25%) para facilitar a emulsificação do OE ao caldo. Estes 0,5 mL foi então transferido para 9,5 mL de caldo batata contidos em tubo teste e 100 μL de uma solução de inóculo foi adicionada para atingir uma densidade de $1,0 \times 10^6$ conídios/mL no tubo. Cinco tubos testes foram assim preparados para cada uma das concentrações avaliadas nesta determinação, correspondentes a 31,0; 62,5; 125,0; 250,0 e 500,0 ppm. Cinco tubos controle negativo (testemunha) foram preparados da mesma forma, mas contendo somente a solução de CMC, sem o OE. Os tubos foram incubados a 25°C por sete dias e após esse período a presença de crescimento fúngico foi avaliada. Considerou-se como a CIM a menor concentração em que o crescimento fúngico não foi detectado a olho nu. Dos tubos dos tratamentos com concentrações do OE mais elevada que a CIM retirou-se uma alíquota de 50 μL e transferiu-se para novos tubos contendo somente 10 mL de caldo batata dextrose. Procedeu-se novo período de incubação nas mesmas condições e tempo utilizados anteriormente na primeira etapa e após isto

os tubos foram observados novamente para avaliar a presença ou não de crescimento fúngico. A menor concentração a partir da qual a alíquota de 50 µL não originou crescimento fúngico visível foi considerada como a CFM.

2.2.6 Avaliação do efeito interativo dos óleos

Os efeitos interativos da combinação dos óleos foram avaliados através do cálculo do índice de Concentração Inibitória Fracionada (CIF) (SHELZ et al., 2006). Esse índice permite determinar os efeitos interativos decorrentes da associação de dois OEs. A CIF da mistura é calculada somando-se a CIF individual dos óleos utilizados na mistura avaliada. A CIF dos óleos individualmente é calculada por sua vez por meio da relação $CIF^x = CIM^x$ na mistura/ CIM^x individual, onde x é um óleo essencial qualquer. Neste trabalho somente a combinação binária com 50% de cada óleo foi avaliada. A interação entre os OEs foi interpretada da seguinte forma: sinergismo (quando $CIF < 0,5$); aditividade (quando $0,5 < CIF < 1,0$), indiferença (quando $1,0 < CIF < 4,0$) e antagonismo (quando $CIF > 4$) (SHELZ et al., 2006).

2.2.7 Determinação *in vivo* da atividade antifúngica

A capacidade antifúngica do óleo com a menor CIM determinada *in vitro* foi verificada também *in vivo*, por meio da ação preventiva e curativa do tratamento com óleo. A CMC, fornecida pela empresa Denver Especialidades Químicas Ltda. (Cotia-SP), apresentava grau de metoxilação de 0,86, pureza de 99,74% (base seca), umidade de 6,2%, pH 7,1 (solução a 1%, 25°C) e viscosidade de 2760 cP (solução a 1%, 25°C). Para a incorporação do óleo essencial na película, a suspensão foi preparada adicionando-se 0,25 g de CMC em 1000 mL de água a 60°C sob agitação a 2000 rpm, em agitador mecânico de hélice naval (Fisatom - 713D, São Paulo – SP, Brasil) durante 10 minutos, em seguida foram adicionados 375 µL de OE de *L. sidoides*, mantendo-se a agitação por mais 5 minutos.

Para execução desta etapa utilizou-se mamão da variedade 'Caipira' proveniente de um cultivo orgânico (ANEXO 1), localizado no município de Poço Fundo (MG, Brasil, 21° 46' 59" S, 45° 57' 13" W). Os frutos foram selecionados visualmente quanto ao tamanho, cor, aparência e sanidade; sendo em seguida lavados em água corrente para a retirada de sujidades. A desinfestação foi realizada

por meio da imersão dos frutos em tanque de aço inoxidável contendo solução de 6.250 ppm de hipoclorito de sódio durante cinco minutos.

Para avaliação do modo de ação preventivo, o tratamento dos mamões foi realizado por imersão do fruto por 10 segundos em solução de CMC contendo a dose desejada do OE (375 ppm), a dose escolhida levou-se em conta a CIM *in vitro* extrapolada em 3 vezes. Após imersão, o fruto foi seco à temperatura ambiente por 30 minutos para proceder-se em seguida a inoculação do fungo *C. gloeosporioides*. A inoculação foi realizada com a deposição de 50 µL de uma suspensão de esporos, na concentração de $1,0 \times 10^6$ conídios mL⁻¹, sobre um ferimento de 3 mm de profundidade nos frutos, o qual foi produzido com o auxílio de uma agulha fitopatológica previamente esterilizada. Após essa etapa, os frutos foram individualmente acondicionados em sacos plásticos contendo uma pequena porção de algodão embebido em água, de forma a se obter uma atmosfera interna com umidade relativa (UR) de aproximadamente 95%, quando fechados. A umidade relativa da atmosfera dos sacos foi aferida por um termohigrômetro Testo 650. Os sacos contendo os mamões foram mantidos por 48 horas em ambiente com temperatura controlada a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Os frutos foram então armazenados fora dos sacos nas condições de temperatura e fotoperíodo supracitadas. Como controle um tratamento composto também de quatro repetições, com 8 mamões cada, foi montado, onde os mamões foram submetidos aos mesmos processos do tratamento preventivo, sem adição de OE à película. Cada tratamento consistiu de quatro repetições, sendo cada uma composta por oito mamões. Na avaliação do modo de ação curativo, os mesmos procedimentos aplicados aos mamões no tratamento preventivo foram utilizados; contudo, a inoculação dos mamões ocorreu 48 h antes da aplicação da CMC incorporada com o OE.

A eficiência antifúngica do OE associado à CMC foi mensurada por meio da determinação da incidência e da severidade da doença nos frutos inoculados. A incidência foi avaliada a olho nu, pela presença ou não da lesão no ponto de inoculação, avaliada até seis dias após a inoculação e expressa em porcentagem (%), calculada com base no número de frutos sintomáticos em relação ao número total de frutos em cada tratamento (CANAVAR; DI PIERO, 2011). A severidade foi considerada como a progressão diária desta lesão avaliada pela medição do diâmetro (mm) das lesões, em sentidos ortogonais, com o auxílio de um paquímetro digital graduado. A partir do valor médio do diâmetro das lesões ao longo do tempo,

em cada repetição foi calculada a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), conforme Simko e Phiepho (2012), por meio da fórmula: $AACPD = \sum [(y_i + y_{i+1})/2 \times (t_{i+1} - t_i)]$, em que y_i refere-se ao diâmetro médio da lesão no tempo t_i ; y_{i+1} ao diâmetro da lesão no tempo t_{i+1} .

O delineamento experimental neste experimento foi em esquema fatorial 5 x 6, envolvendo cinco tratamentos: Curativo (CMC + OE); Curativo (CMC); Preventivo (CMC + OE); Preventivo (CMC) e controle em seis períodos de avaliação (1, 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a retirada da câmara úmida) com 8 repetições para cada tratamento. Os resultados referentes à AACPD dos frutos foram avaliados pelo programa Statistical Analysis System modelo 9.3 (SAS, 2010) e submetidos à análise de variância (ANOVA) para o teste F. O desvio-padrão das médias foi calculado e a diferença estatística das médias, ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$), foi determinada pelo teste de Tukey.

2.3 Resultados

2.3.1 Rendimento dos óleos essenciais

Os valores de rendimento de cada OE obtidos no processo de extração podem ser observados na Tabela 2.2. O material que proporcionou o maior rendimento de OE foi o das folhas de *E. staigeriana*, seguido por *L. sidoides* e *P. pseudocaryophyllus*.

Tabela 2.2 - Rendimento dos óleos essenciais dos diferentes materiais vegetais utilizados

Espécie vegetal	Volume ¹	Densidade ²	Massa ³	R ⁴
<i>Eucaliptus staigeriana</i>	7,9	0,898	400	1,77±0,10
<i>Lippia sidoides</i>	6,4	0,9495	400	1,51±0,19
<i>Pimenta pseudocaryophyllus</i>	5,1	0,9879	550	0,91±0,11

¹ Volume de óleo essencial médio obtido nas hidrodestilações (mL)

² Densidades médias (d)

³ Massa seca média das folhas (g)

⁴ Rendimento médio em porcentagem (%), ($\pm$ desvio padrão, n=8 extrações)

2.3.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

As percentagens de inibição proporcionadas pelos OEs individualmente e em misturas são apresentadas na Tabela 2.3. Através da observação dos dados é possível verificar que a CIM observada pela ausência total do crescimento fúngico visível a olho nu foi de 125 ppm para o OE de *L. sidoides*, de 250 ppm para as misturas M1, M2 e M4 e para os demais óleos e mistura M3 foi de 500 ppm obtidas aos 18 dias de incubação (Figura 2.1).

Tabela 2.3 - Percentagem (%) de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose do mamão, em meio batata-dextrose-ágar, observada aos 18 dias de incubação na primeira repetição do experimento ($\pm$ desvio padrão, n=5 repetições)

Tratamentos	Dose (ppm)				
	31	62	125	250	500
<i>Lippia sidoides</i>	38,12 $\pm$ 0,6	86,74 $\pm$ 0,1	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,0
<i>Pimenta pseudocaryophyllus</i>	01,66 $\pm$ 0,10	8,70 $\pm$ 0,4	54,54 $\pm$ 0,3	97,28 $\pm$ 0,2	100 $\pm$ 0,0
<i>Eucaliptus staigeriana</i>	-10,30** $\pm$ 0,1	3,94 $\pm$ 0,1	62,86 $\pm$ 0,4	77,30 $\pm$ 0,5	100 $\pm$ 0,0
M1	- 10,42 $\pm$ 0,1	4,58 $\pm$ 0,1	83,52 $\pm$ 0,4	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,0
M2	36,88 $\pm$ 0,5	53,90 $\pm$ 0,6	83,78 $\pm$ 0,1	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,0
M3	- 4,14 $\pm$ 0,1	- 4,68 $\pm$ 0,2	04,80 $\pm$ 0,2	35,32 $\pm$ 0,4	100 $\pm$ 0,0
M4	- 13,5 $\pm$ 0,2	- 9,12 $\pm$ 0,8	47,88 $\pm$ 0,3	100 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 0,0

Nota: *Percentagem de inibição proporcionada pelo OE ou mistura em relação ao crescimento fúngico observado no tratamento testemunha. **A percentagem negativa corresponde ao crescimento médio maior que o observado no tratamento testemunha.

Legenda: M1 (*L. sidoides* + *E. staigeriana*); M2 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus*); M3 (*E. staigeriana* + *P. pseudocaryophyllus*) e M4 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus* + *E. staigeriana*)

Figura 2.1 - Crescimento micelial de *C. gloeosporioides* nos OEs de *L. sidoides*, *E. staigeriana*, *P. pseudocaryophyllus* e nas misturas M1, M2, M3 e M4 aos 18 dias de incubação

Legenda: M1 (*L. sidoides* + *E. staigeriana*); M2 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus*); M3 (*E. staigeriana* + *P. pseudocaryophyllus*) e M4 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus* + *E. staigeriana*)

A modelagem matemática da dose-resposta obtida pelo modelo matemático de Gompertz resultou nos parâmetros apresentados na Tabela 2.4. As curvas derivadas destas equações são apresentadas na Figura 2.2 (A e B). Através da aplicação destas equações foi possível obter-se a CIM calculada (Tabela 2.5) para os OEs e misturas. Observa-se que os resultados da CIM variaram quando dois métodos de detecção da CIM foram aplicados; dessa forma, a CIM observada para o OE de *L. sidoides*, por exemplo, foi 125 ppm, enquanto que a CIM calculada pelo modelo matemático foi de 75,3 ppm. O mesmo foi verificado em todos os tratamentos, sendo para os OEs individuais de *P. pseudocaryophyllus* e *E. staigeriana*, a CIM observada em placa de 500 ppm para ambos, enquanto que no modelo a CIM calculada foi de 370,2 e 460,0 ppm, respectivamente. Nas misturas, M1, M2 e M4, a CIM observada pela diluição em ágar foi de 250 ppm em todos os tratamentos, enquanto que pelo modelo matemático foi de 178, 194,4 e 199,7 ppm respectivamente. A mistura M3 apresentou uma CIM observada de 500 ppm e calculada de 444 ppm.

Tabela 2.4 – Parâmetros do Modelo de Gompertz para modelagem da dose-resposta de *Colletotrichum gloeosporioides* isolado de mamão, em meio de batata-dextrose-ágar, acrescido de óleo essencial de *Lippia sidoides* (L), *Pimenta pseudocaryophyllus* (P), *Eucalyptus staigeriana* (E) e suas misturas

Parâmetro	L	P	E	M1	M2	M3	M4
a	9,73	82,93	6,62	9,88	2598,3	16,00	36,36
b	-0,98	0,91	-4,13	-1,03	1,79	-0,09	0,54
c	-0,02	-0,002	-0,01	-0,01	-0,002	-0,003	-0,005

Legenda: L (*Lippia sidoides*); P (*Pimenta pseudocaryophyllus*); E (*Eucalyptus staigeriana*); M1 (*L. sidoides* + *E. staigeriana*); M2 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus*); M3 (*E. staigeriana* + *P. pseudocaryophyllus*) e M4 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus* + *E. staigeriana*)

Tabela 2.5 – Valores de CIM calculados a partir da aplicação das equações derivadas do modelo de Gompertz para cada tratamento com D (mm) = 0,5

Tratamento	CIM (ppm)
<i>L. sidoides</i>	75,3
<i>P. pseudocaryophyllus</i>	370,2
<i>E. staigeriana</i>	460,0
M1	178
M2	194,4
M3	444,0
M4	199,7

Legenda: M1 (*L. sidoides* + *E. staigeriana*); M2 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus*); M3 (*E. staigeriana* + *P. pseudocaryophyllus*) e M4 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus* + *E. staigeriana*)

Figura 2.2 - (A) Curvas das equações derivadas da aplicação do modelo de Gompertz para os dados de dose-resposta dos tratamentos com óleos essenciais avaliados individualmente; (B) Curvas das equações derivadas da aplicação do modelo de Gompertz para os dados de dose-resposta dos tratamentos com misturas binárias e ternária dos OEs

Legenda: Nas curvas geradas pelo modelo matemático, os pontos referem-se aos dados experimentais e as barras verticais ao desvio padrão. *Lippia sidoides* (■), *Pimenta pseudocaryophyllus* (●), *Eucalyptus staigeriana* (▲); (B) M1: *L. sidoides* + *E. staigeriana* (○); M2: *L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus* (□); M3: *E. staigeriana* + *P. pseudocaryophyllus* (Δ) e M4: *L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus* + *E. staigeriana* (◇).

2.3.3 Avaliação da composição química do óleo essencial

A composição química do óleo essencial de *Lippia sidoides*, selecionado como o de melhor capacidade antifúngica, pode ser observado na Tabela 2.6. O composto timol foi detectado como majoritário, apresentando aproximadamente 49%

do total de compostos, porém compostos minoritários de óleos essenciais, assim como a interação entre eles também pode apresentar alguma atividade antifúngica (ALITONOU et al., 2012).

Tabela 2.6 - Composição do óleo essencial de *L. sidoides*

Compostos¹	<i>Lippia sidoides</i> (%)²	IK³
α-Felandreno	1,51	930
α-pineno	0,54	937
Mirceno	2,37	995
α- Terpineno	2,50	1021
Cimeno	11,40	1029
Limoneno	1,08	1033
Cineol	2,31	1036
γ –Terpineno	8,06	1063
Cis Hidrato Sabineno	0,38	1072
2-Metill-6-metileno-2,7-octadien-	1,07	1151
4-Terpineol	1,31	1183
α-Terpenol	0,38	1198
Anisol	4,08	1240
Timol	49,46	1299
Copaeno	1,00	1384
Iso-cariofileno	8,80	1430
Aromadendreno	0,69	1449
Humuleno	0,55	1464
Lepidozeno	1,71	1507
δ –Cadineno	0,68	1533
Total	99,86	

¹ Identificado por CG/MS, ² Quantidades relativas dos compostos identificados com base na área de cada pico na área total do cromatograma, ³ Índices de Kovats calculados

2.3.4 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

Na avaliação da CFM do OE selecionado, realizada em caldo, o óleo de *L. sidoides* apresentou a capacidade de inibir o crescimento micelial a partir da dose de

31 ppm (CIM), enquanto a inviabilização completa da germinação dos esporos expostos ao OE ocorreu na dose de 62 ppm (CFM). É importante observar que a CIM obtida por esta metodologia foi diferente da CIM observada e da calculada, obtidas através da metodologia de diluição do OE em ágar. Isto mostra as diferenças que podem ocorrer quando diferentes metodologias são utilizadas para mensurar a CIM.

2.3.5 Avaliação do efeito interativo dos óleos

A Tabela 2.7 apresenta os valores do índice CIF para todas as misturas de OE. Observa-se que os efeitos interativos entre as óleos avaliados apresentaram valores de CIF maiores que 1 e menores que 4; dessa maneira, segundo a classificação de Shelz et al. (2006) o efeito das misturas pode ser classificado como indiferente para a interação.

Tabela 2.7 – Valores do índice da Concentração Inibitória Fracionada (CIF) para as combinações binárias dos OEs

Combinação	Índice CIF	Efeito ¹
M1	2,5	Indiferente
M2	2,5	Indiferente
M3	2,0	Indiferente

¹ Efeito: sinérgico (CIF<0,5); aditivo (CIF ≥0,5 e <1); indiferente (CIF≥1 e <4) e antagônico (CIF≥4)
 Legenda: M1 (*L. sidoides* + *E. staigeriana*); M2 (*L. sidoides* + *P. pseudocaryophyllus*) e M3 (*E. staigeriana* + *P. pseudocaryophyllus*)

2.3.6 Determinação *in vivo* da capacidade antifúngica

A avaliação *in vivo* da capacidade antifúngica do óleo de *Lippia sidoides*, que foi o óleo de melhor desempenho nos testes *in vitro*, quando combinado com a CMC, mostrou uma mesma incidência da doença causada pelo *C. gloeosporioides* em todos os tratamentos. Com relação à severidade da doença, a análise através da metodologia da AACPD mostrou que os valores variaram de 87,23 a 114,25, sendo a menor AACPD observada no tratamento preventivo, que consistiu da película incorporada com 375 ppm de óleo essencial aplicada aos frutos antes da inoculação (Figura 2.3). A AACPD dos frutos deste tratamento diferiu estatisticamente do controle negativo, ou seja, do tratamento onde os mamões foram inoculados, mas não foram tratados com a película, nem com a película combinada com o óleo

essencial. Contudo, a severidade da doença nos frutos do tratamento preventivo (CMC + OE) não diferiu da severidade observada nos frutos dos outros tratamentos preventivo (CMC), curativo (CMC + OE) e curativo (CMC). Desta maneira, estes resultados sugerem que a combinação do OE foi eficaz na redução do progresso do desenvolvimento da doença somente quando o inóculo fúngico ainda não havia se instalado e, que nesta situação a aplicação da película sem a associação não foi eficaz em diminuir significativamente o progresso da doença.

Figura 2.3 - Valores da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), para a severidade da antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, em frutos de mamoeiro de diferentes tratamentos.

Nota: Letras distintas representam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) e as barras verticais o desvio padrão.

2.4 Discussão

2.4.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A comparação dos valores de CIM observados (Tabela 2.3) e CIM calculados (Tabela 2.5) mostrou que, em todos os tratamentos empregados, a CIM calculada foi menor que a CIM observada. O OE de *Lippia sidoides* foi o tratamento que apresentou menores valores de CIM, sendo estes de 125 ppm para a CIM observada e de 75,3 ppm para CIM calculada

A determinação da CIM em ágar, em caldo, por macro ou microdiluição, envolve checar doses subsequentes do agente antifúngico, para observação da menor dose onde o crescimento fúngico não seja possível. Estes métodos podem ser considerados como métodos semi-quantitativos, pois a CIM é considerada somente como sendo uma das concentrações pontuais avaliadas. Contudo, a CIM real pode estar dentro do intervalo entre a última concentração avaliada, que permitiu crescimento fúngico e a subsequente, que não permitiu. A CIM calculada por modelos matemáticos, por sua vez, permite modelar a dose-resposta dentro de uma faixa de concentrações avaliadas e não estática somente pela observação pontual e visual das concentrações. Desta maneira, a utilização de modelos matemáticos na avaliação da CIM pode proporcionar valores mais próximos ao real valor da CIM. O uso de modelagem matemática para uma definição mais exata da CIM já foi utilizada com sucesso também por Lambert e Pearson (2000).

O OE de *L. sidoides* além de apresentar o maior potencial antifúngico quando avaliado individualmente, também influenciou o potencial antifúngico das misturas quando presente nestas. As misturas M1, M2 e M4, que apresentavam este óleo nas suas composições, foram as que apresentaram as CIMs mais reduzidas dentre os tratamentos, excetuando o tratamento individual com o OE de *L. sidoides*. Alguns autores já observaram o potencial antifúngico deste OE, inclusive sobre o *C. gloeosporioides* (MARQUES, 2015; AQUINO et al., 2014; SILVA et al., 2009). Contudo, as concentrações avaliadas e que demonstraram esta capacidade situaram-se em valores bem mais elevados que o observado neste estudo. Marques (2015) observou inibição total do crescimento micelial a partir da concentração de 200 ppm em *C. gloeosporioides* isolado de abacate (*Persea americana*) variedade “Breda”. Aquino et al (2014) observaram que somente a concentração de 7.000 ppm foi capaz de inibir o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* isolado de folhas de maracujazeiro (*Passiflora edulis*). Silva et al. (2009) também trabalhando com um isolado de *C. gloeosporioides* proveniente de folhas de maracujazeiro observaram a inibição total da germinação do fungo com a concentração de 6.667 ppm. As diferenças dos valores observados como capazes de um controle total do crescimento fúngico ou germinação podem estar relacionadas à metodologia de avaliação utilizada (HADACEK; GREGER, 2000), variabilidade no grau de susceptibilidade do isolado fúngico utilizado (BENJILALI et al. 1984) e também na composição do óleo essencial utilizado (MORAIS et al., 2012).

A capacidade antifúngica do OE de *L. sidoides* tem sido relacionada com a presença de compostos majoritários, como o timol e o carvacrol. Trabalhos têm mostrado que estes compostos isoladamente apresentam atividade antifúngica (PRADNYA; TUPE, 2014; COMBRICK et al., 2010). No entanto, a ação conjunta com os compostos minoritários presentes no óleo deve ser considerada (VILLELA et al., 2009; BURT, 2004).

Os OEs de *E. staigeriana* e *P. pseudocaryophyllus* mostraram através da mensuração da CIM um potencial mais reduzido da atividade antifúngica sobre o *C. gloeosporioides* (500 ppm) em comparação ao OE de *L. sidoides* (125 ppm). A atividade antifúngica destes óleos, apesar de já ter sido relatada para outros fungos filamentosos (MENGAI, 2010; CUSTÓDIO et al., 2010), ainda não tinha sido avaliada para a espécie fúngica em estudo. Desta maneira, os resultados mostram a importância da avaliação da capacidade antifúngica para a espécie de interesse e destacam o maior potencial do OE de *L. sidoides* para utilização no controle do patógeno aqui estudado.

A literatura científica apresenta alguns dados de CIM para OEs sobre isolados de *C. gloeosporioides* obtidos do fruto de mamão. Apesar da comparação dos dados observados com os existentes na literatura ter que ser realizada com cautela, devido a variabilidades inerentes a composição dos óleos, metodologias utilizadas e sensibilidade do isolado da espécie fúngica, como já citado, observa-se que o valor aqui encontrado foi bem inferior aos relatados para alguns óleos já avaliados, tais como de *Eucalyptus globulus*, *Telaxys abrosioides*, *Mentha piperita*, *Ruta chalepensis*, *Thymus vulgaris*, *Cinananomum zeylanicum* e *Syzygium aromaticum*, todos com uma CIM ≥ 200 ppm, como observado por Barrera-Necha (2008), *Thymus vulgaris* e Lima mexicana, com uma CIM ≥ 750 ppm, como observado por Bosquez-Molina (2010), *Schinus terebinthifolius* com uma CIM > 5.000 ppm), como observado por Oliveira Júnior et al. (2013), *Zingiber officinale* com uma CIM > 20.000 ppm como observado por Ali et al. (2016).

2.4.2 Composição do óleo essencial

A análise do óleo com melhor desempenho antifúngico *in vitro*, o óleo de *L. sidoides*, mostrou que o timol foi o composto majoritário no óleo de *L. sidoides* (49,46%). Este composto tem sido também encontrado como majoritário em OE de

L. sidoides utilizado em outros estudos. Marco et al. (2012) encontraram que o óleo essencial de folhas de *L. sidoides*, oriundas de Juazeiro do Norte, CE apresentaram 84,09% de timol em sua composição. Aquino et al. (2014) analisaram o OE extraído de folhas de *L. sidoides*, oriundas de Montes Claros-MG observaram 30,24% deste composto e Fontenelle et al (2007) que extraiu folhas de *L. sidoides*, cultivadas na cidade de Horizonte-CE encontrou 59,65%. Porém Guimarães et al. (2014) observaram o carvacrol (26,44%), um isômero do Timol e, o 1,8 cineol (22,63%) como compostos marjoritários em OE de folhas de *L. sidoides* provenientes de Itumirim-MG assim como, Lima et al. (2011), que trabalharam com folhas desta espécie coletadas em Lavras-MG e observaram 31,68% de Carvacrol. A composição do óleo essencial obtido de uma mesma espécie vegetal pode ser influenciada por vários fatores, tais como genética do material utilizado, condições edafoclimáticas de cultivo, época e horário de coleta do material e método de extração (BASER; BACHBAUER, 2010).

2.4.3 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A determinação da CFM realizada em caldo mostrou que para o OE de *L. sidoides* a dose de 62 ppm foi suficiente para inviabilizar totalmente os conídios do *C. gloeosporioides* após um período de exposição de 7 dias. Entretanto, o crescimento micelial foi inibido já a partir da dose de 31 ppm. Avaliações da CFM para o fungo *C. gloeosporioides* não foram encontradas na literatura, mas existem relatos de avaliações para outras espécies do gênero *Colletotrichum*. Begum et al. (2009) avaliando a ação antifúngica do OE de cominho (*Carum carvi* L.) sobre o fungo *C. chorchori* e, utilizando o caldo Saboraud, relatam uma CFM de 400 ppm e uma CIM de 300. Já Bajpai e Kang (2012), utilizando o caldo batata dextrose para exposição e ágar BDA para cultivo subsequente, avaliaram o OE de Magnólia (*Magnolia liliflora* Desr.) sobre *C. capsici* e observaram uma CFM de 250 ppm e a CIM de 125 ppm. Comparações dos valores observados nesta pesquisa com os observados na literatura devem considerar as metodologias utilizadas, as espécies fúngicas, as condições de desenvolvimento fúngico e os óleos essenciais empregados foram diferentes. Os valores de CIM, de 31 ou 125 ppm, obtidos nesta pesquisa quando duas diferentes metodologias foram empregadas mostram a magnitude das diferenças que podem ser produzidas por diferentes metodologias de

avaliações da capacidade antifúngica, como já observado por Hadacek e Greger (2000).

Entretanto, é importante ressaltar que a recomendação de doses para aplicação de tratamentos com potências antifúngico (inibição do crescimento e inviabilização total do conídio fúngico) precisa observar as diferenças de modo de ação, como observado neste trabalho e em outros.

2.4.4 Efeito interativo dos óleos essenciais

As misturas binárias dos OEs foram avaliadas utilizando a proporção de 1:1 de cada óleo e nesta situação as três misturas avaliadas apresentaram um valor calculado da FIC superior a 1 e inferior a 4. Assim, de acordo com o critério de Shelz et al. (2006) o efeito encontrado foi o indiferente, ou seja, as misturas binárias não apresentaram efeitos positivos e nem negativos em relação à ação antifúngica sobre *C. gloeosporioides*. Tajewini et al. (2014), também avaliaram o efeito antifúngico das misturas 1:1 dos óleos essenciais de cravo (*Dianthus caryophyllus*) e menta (*Mentha Lamiaceae*) com os compostos eugenol e cinemaldeído sobre diversos fungos filamentosos. Os valores de FIC obtidos pelos autores permitiu observar pela mesma classificação de Shelz et al. (2006) os efeitos aditivos, indiferentes e mesmo antagônicos, dependendo da mistura e do fungo avaliado. A avaliação do efeito interativo de dois compostos antimicrobianos pode produzir interações antagônicas, sinérgicas, aditivas e indiferentes (LÓPEZ-MALO et al., 2005), como resultado de fatores intrínsecos aos óleos e extrínsecos (características do meio onde se realiza a avaliação) como observado por Bassolé e Julinai (2012). Segundo Van Vuuren et al. (2009), a eficácia da interação entre os compostos de diferentes óleos essenciais depende da proporção em que os componentes de uma mistura coexistem, ou seja, o resultado indiferente encontrado neste estudo pode estar relacionado à proporção (1:1) dos óleos nas misturas, não ocorrendo eficácia na interação.

2.4.5 Determinação *in vivo* da capacidade antifúngica

O tratamento dos mamões com a película de CMC combinada ou não com o OE a 375 ppm, antes ou após a inoculação do fungo, não proporcionou menor incidência da antracnose. Bosquez-Molina (2010) observaram diferenças da

incidência de *C. gloeosporioides* nos frutos de mamão entre os tratamentos com óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (1.200 ppm) e Lima mexicana (1.000 ppm), considerando a inoculação do fungo antes da aplicação do óleo. No trabalho destes autores, quando a inoculação do fungo ocorreu após aplicação do tratamento, a dose necessária dos dois óleos para reduzir a incidência aumentou e foi de 1.500 e 1.400 ppm, respectivamente. Entretanto, a incorporação dos óleos em uma emulsão de goma de algaroba proporcionou uma redução da incidência da doença em doses de 500 ppm, para ambos os óleos, quando a aplicação da emulsão ocorreu também após a inoculação do fungo. Ali et al. (2016), estudando a aplicação do óleo de *Zingiber officinale* combinado com goma arábica, após a inoculação do fungo, obtiveram uma redução da incidência da antracnose em mamões com a utilização de 20.000 ppm do óleo.

Na avaliação da severidade da doença foi possível observar após oito dias de armazenamento, resultados semelhantes entre os tratamentos, com exceção do preventivo (CMC + OE), que diferiu do controle, onde nem película e nem óleo foram aplicados. Assim, somente o tratamento preventivo (CMC + OE) foi capaz de oferecer uma redução da severidade da doença. Bosquez-Molina (2010), que também fizeram uma avaliação do efeito da aplicação da associação de óleo e película de algaroba após a inoculação, observaram uma redução da severidade com a dose de 500 ppm do óleo de *Thymus vulgaris* e lima mexicana. Ali et al. (2016) também observaram uma menor severidade com o tratamento da emulsão de óleo de *Zingiber officinale* a 20.000 ppm e goma arábica. Estes resultados foram diferentes dos obtidos aqui, pois os tratamentos mostraram-se eficazes quando aplicados após a inoculação do fungo e os nossos resultados mostraram uma eficácia na redução da severidade da doença somente quando aplicado antes da inoculação do fungo.

Nota-se que a redução da incidência e da severidade da antracnose relatada nos trabalhos citados, apesar de ter sido obtida com doses dos OEs mais elevadas que as observadas aqui, foram as mesmas (Ali et al., 2016), ou até inferiores (Bosquez-Molina, 2010) àquelas relatadas pelos autores como as CIM obtidas *in vitro*. Nesse trabalho, a dose empregada no experimento *in vivo* foi extrapolada em três vezes a CIM obtida *in vitro* (125 ppm). Esta redução na atividade antifúngica aqui verificada entre o experimento *in vitro* e *in vivo* pode ter sido decorrente de uma menor eficiência da incorporação do óleo pela película de CMC pela perda dos

componentes do óleo ou também decorrente de uma maior interação dos compostos do óleo com os compostos da casca do mamão, reduzindo o potencial antifúngico dos mesmos. A concentração de CMC utilizada aqui foi estabelecida em testes prévios ao experimento (TRIGO et al., 2012) onde se selecionou a concentração de CMC que resultava em uma película com melhor recobrimento do fruto minimamente processado. Já a dose de óleo essencial utilizada na incorporação foi estabelecida a partir de testes preliminares como sendo três vezes a CIM obtida *in vitro*. Este aumento da dose utilizada *in vivo* em relação à CIM observada *in vitro* foi estabelecida com o objetivo de compensar possíveis perdas de atividade do óleo essencial, como observado em laboratório.

Dados de incorporação de óleos essenciais em películas de CMC são escassos na literatura. Contudo, existe o trabalho de Dashipour et al. (2014) que estudaram a incorporação de 1.000, 2.000 e 3.000 ppm do OE de *Zatharia multiflora* em filmes de CMC elaborados com 1% de CMC (p/v) e observaram que a atividade antibacteriana *in vitro* foi proporcional ao aumento de OE incorporado ao filme. Contudo, é importante observar que os autores utilizaram uma concentração de CMC quatro vezes maior que a concentração utilizada aqui e, apesar de tratar-se de um OE diferente, utilizaram também doses bem mais elevadas do OE em comparação ao que foi utilizada neste trabalho, que foi de 375 ppm.

2.5 Conclusão

A avaliação *in vitro* dos óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Eucalyptus staigeriana* e *Pimenta pseudocaryophyllus* permitiu observar que apesar de todos os óleos e misturas binárias 1:1 destes apresentarem uma atividade antifúngica sobre o *Colletotrichum gloeosporioides*, o OE de *L. sidoides* apresentou a maior capacidade antifúngica sobre esta espécie. Os resultados dos testes *in vitro* para determinação da CIM mostraram diferenças entre a CIM obtida por diluição em ágar e a obtida em caldo, e a aplicação da modelagem dos dados de dose-resposta mostrou que resultados mais exatos do valor da CIM podem ser obtidos com as curvas obtidas pela modelagem, ante a uma simples observação visual do crescimento fúngico no ágar contendo diferentes doses de OE. A diferença entre os valores da concentração inibitória mínima (CIM), que consistiu na concentração do OE no ágar que paralisou o crescimento micelial e a concentração fungicida mínima (CFM), que

consistiu na concentração capaz de inviabilizar permanentemente a germinação dos conídios e o crescimento micelial, mostra a importância de se avaliar estes dois parâmetros quanto à capacidade antifúngica dos compostos. A incorporação de 375 ppm do óleo de melhor capacidade antifúngica (*L. sidoides*) a uma emulsão de 0,25% de CMC, utilizada para recobrimento dos frutos do mamão, formando uma película, mostrou na avaliação *in vivo* que o tratamento preventivo (CMC + OE) foi capaz de reduzir a severidade da doença antracnose, causada pelo *C. gloeosporioides*, mas não a incidência da doença. Já o tratamento dos frutos com a emulsão no tratamento curativo (CMC + OE) não foi capaz de reduzir a incidência nem a severidade da doença.

Referências

- ADAMS, R.P. *Identification of essential oil by gas chromatography/mass spectrometry*. Allured Publishing, Carol Stream, Illinois. 4th Edition, 2007.
- ALI, A.; HEI, G.K.; KEAT, Y.W. Efficacy of ginger oil and extract combined with gum Arabic on anthracnose and quality of papaya fruit during cold storage. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, 2016.
- ALITONOU, G.A.; TCHOBO, F.P.; AVLESSI, F.; YEHOUENOU, B.; YEDOMONHAN, P.; KOUODO, A.Y.; MENUT, C.; SOHOUNHLOUE, D.K. Chemical and biological investigations of *Syzygium aromaticum* L. essential oil from Benin. **International Journal of Biology and Chemical Sciences**, Dschang, v.6, n.3, p.1360-1367, 2012.
- ALVAREZ-CASTELLANOS, P.P.; BISHOP, C.D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Antifungal activity of the essential oil of flower heads of Garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens. **Phytochemistry**, Oxford, v. 57, p.99-102, 2001.
- AQUINO, C.F.; SALES, N.L.P.; SOARES, E.P.S.; MARTINS, E.R.; COSTA, C.A. Composição química e atividade *in vitro* de três óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujazeiro. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.16, n.2.; p.329-336, 2014.
- AZARAKHSHA, N.; OSMANA, A.; GHAZALIA, H.M.; TANB, C.P.; ADZAHANB, N.M. Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.88 p.1–7, 2014.
- BAJPAI, V. K.; KANG, S. C. *In Vitro* and *In Vivo* Inhibition of Plant Pathogenic Fungi by Essential Oil and Extracts of *Magnolia liliflora* Desr. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Tehran, v.14, p.845-856, 2012.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food Chemistry Toxicology**, Catalonia, v.46, p.446-475, 2008.

BARI L.; HASSA, P.; ABSAR, N.; HAQUE, M.E.; KHUDA, M.I.I.E.; PERVIN, M.M. Nutritional analysis of two local varieties of papaya (*Carica papaya* L.) at different maturation stages. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Dubai, v.9 , p.137–140, 2006.

BARRERA-NECHA, L.L.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; FLORES-MOCTEZUMA, H.E.; ROJASESTUDILLO, A. Efficacy of essential oils on the conidial germination, growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc and control of postharvest diseases in papaya (*Carica papaya* L.). **Plant Pathology**, Maden, v.7, p.174-178, 2008.

BASER, K.H.C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications**. v. 1, Taylor and Francis Group - LLC, 2010.

BASSOLÉ, I.H.N.; JULIANI, H.R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, Basel, v.17, p.3989–4006, 2012.

BAUTISTA-BANÑOS, S.; SIVAKUMAR, D.; BELLO-PÉREZ, A.; VILLANUEVAARCE, R.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. A review of the management alternatives for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain. **Crop Protection**, Lincoln, v.49, p.8-20, 2013.

BEGUM, J.; BHUIYAN, M.N.I.; CHOWDHURY, J.U.; HOQUE, M.N.; L ANWAR, M.N. Antimicrobial Activity of Essential Oil from Seeds of *Carum carvi* and Its Composition. **Bangladesh Journal of Microbiology**, Dhaka, v.25, n. 2, p.85-89, 2009.

BONETT, L.P.; MULLER, G.M.; WESSLING, C.R.; GAMELLO, F. P. Extrato etanólico de representantes de cinco famílias de plantas e óleo essencial das família Asteraceae sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* coletados de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Pelotas, v.7, n.3, p.116-125, 2012.

BOSQUEZ-MOLINA, E.; RONQUILLO-DE JESÚS, E.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VERDE-CALVO, J.R.; MORALES-LÓPEZ, J. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.57, p.132-137, 2010.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, Torino, v.94, p.223–253, 2004.

CANAVER, B.S.; DI PIERO, R.M. Chitosan and adjuvants for the control of blue mold in apples. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.36, n.6, 2011.

CAVALCANTI, S. C. H. et al. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology**, Punjab, v.101, n.2, p.829-832, 2010.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G.P.P. *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, North Dakota, v.33, p.344-349, 2011.

CUSTÓDIO D.L.; BURGO, R.P.; MORIEL, B.; BARBOSA, A.M.; REZENDE, M.I.; DANIEL, J.F.S.; PINTO, J.P.; BIANCHINI, E.; FARIA, T.J. Antimicrobial Activity of Essential Oils from *Pimenta pseudocaryophyllus* and *Tynanthus micranthus*. **Brazilian archives of biology and technology**, Curitiba, v.53, n.6, p.1363-1369, 2010.

DASHIPOUR, A.; KHAKSAR, R.; HOSSEINI, H.; SHOJAEI-ALIABADI, S.; KIANDOKHT, G. Physical, Antioxidant and Antimicrobial Characteristics of Carboxymethyl Cellulose Edible Film Cooperated with Clove Essential Oil. **Zahedan Journal of Research in Medical Sciences**, Zahedan, v.16, n.8, p.34-42, 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, STATISTICS DIVISION (FAOSTAT). Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em: 26 fev. 2016.

GILLES, M. J.; ZHAO, M.; AGBOOLA, S. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. **Food Chemistry**, Reading, v.119, n.42, p.731-737, 2010.

GIRARD, E. A.; KOEHLER, H.S.; NETTO, S.P. Volume, biomassa e rendimento de óleos essenciais do craveiro (*pimenta pseudocaryophyllus* (gomes) landrum). **Revista Acadêmica**, Curitiba, v.5, n.2, p.147-165, 2007.

GUIMARÃES, L.G.L.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, R.M.; ZACARONI, A.B.; SANTOS, G.R. Essential oil of *Lippia sidoides* native to Minas Gerais: Composition, secretory structures and antibacterial activity. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n.2, p.267-275, 2014.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of Antifungal Natural Products: Methodologies, Comparability of Results and Assay Choice. **Phytochemical Analyses**, Malden, v.11, p.137-147, 2000.

KITTUR, F. S.; SAROJA, N. S.; HABIBUNNISA, THARANATHAN, R. N. Polysaccharide based composite coating formulations for shelflife extension of fresh banana and mango. **European Food Research and Technology**, Munique, v.213, p.306-311, 2001.

KROCHTA, J.M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 2, p.61-74, 1997.

LAMBERT, R.J.W.; PEARSON, J. Susceptibility testing: accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.88, p.784-790, 2000.

LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G.; MORAES, J.C.; CARVALHO, S.M.; RODRIGUES, V.; GREGÓRIO, G.; LIMA, L.G. Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and monoterpenes against *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.4, p.664-671, 2011.

LOPEZ-MALO A.; ALZAMORA, S.M.; PALOU, E. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. **International Journal of Food Microbiology**, Torino, v.99, p.119–128, 2005.

MAEDA, C.; NELSON, S. Anthracnose of Papaya in Hawai. **Plant Disease**, Saint Paul, v.103, 2014.

MARCO, C.A.; TEIXEIRA, E.; SIMPLÍCIO, A.; OLIVEIRA, C.; COSTA, J; FEITOSA, J. Chemical composition and allelopathic activity of essential oil of *lippia sidoides* cham. **Chilean journal of agricultural research**, Santiago, v.72, n.1, 2012.

MAQBOOL M.; ALI A.; ALDERSON P.G.; MOHAMED M.T.M.; SIDDIQUI Y.; ZAHID N. Postharvest application of gum Arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.62, p.71–76, 2011.

MARQUES, K. M. Quitosana e óleos essenciais no controle de antracnose e na qualidade pós-colheita de abacates. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 117 p., 2015.

MENGAI, B. Efeito dos óleos essenciais de diferentes espécies de *Eucalyptus* spp sobre a microflora do milho em pós-colheita. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 111 p., 2010.

MORAIS, S.R.; OLIVEIRA, T.L.S.; BARA, M.T.F.; CONCEICAO, E.C.; REZENDE, M.H.; FERRI, P.H.; PAULA, J.R. Chemical Constituents of Essential Oil from *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) Leaves Cultivated in Hidrolândia, Goiás, Brazil. **International Journal of Analytical Chemistry**, London, 2012.

OLIVEIRA JUNIOR, L.F.G.; SANTOS, R.B.; REIS, F.O.; MATSUMOTO, S.T.; BISPO, W.M.S.; MACHADO, L.P.; OLIVEIRA, L.F.M. Efeito fungitóxico do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* RADDI) sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.15, n.1, p.150-157, 2013.

PAULL, R.E.; WAYNE, N.; REYES, M.; CAVALETTO, C. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.11, p.165–179, 1997.

PRADNYA, S. C.; TUPE, S. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. **Food Control**, Reading, v.46, p.115-120, 2014.

SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J.A. and JEGGER, M.J. (Ed.). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Oxon: CAB International, p.1-26, 1992.

SCHELZ, Z.; MOLNARA, J.; HOHMANN, J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. **Fitoterapia**, Novara, v.77, p.279–285, 2006.

SHUKLA, R.; KUMAR, A.; SINGH, P.; DUBEY, N.K. Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. **International Journal of Food Microbiology**, Torino, v.135, p.165-170, 2009.

SILVA, A.C.; SALES, N.L.P.; ARAÚJO A.V.; JÚNIOR, C.F.C. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, 2009.

SIMKO, I.; PIEPHO, H. The Area Under the Disease Progress Stairs: Calculation, Advantage, and Application. **Analytical and Theoretical Plant Pathology**, Saint Paul, v.2, n.4, 2012.

SOLINO, A.J.S., NETO, S.E.A; SILVA, A.N.; RIBEIRO, A.M.A.S. Severidade da antracnose e qualidade dos frutos de maracujá-amarelo tratados com produtos naturais em pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n.1, p.57-66, 2012.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. SAS/QC software: usage and reference (version 9.2). Cary, SA, 2005. 1CDROM.

TEJESWINIA, M.G.; SOWMYAA, H.V.; SWARNALATHAA, S.P.; NEGIA, P.S. Antifungal activity of essential oils and their combinations in in vitro and in vivo conditions. **Archives Of Phytopathology And Plant Protection**, London, 2014.

TRIGO, J. M.; ALBERTINI, S; SPOTO. M. H. F.; SARMENTO, S. B. S.; LAI REYES, A. E.; SARRIÉS, G. A. Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.15, n.2, p.125-133, 2012.

TUREK, C.; STINTZING, F.C. Stability of Essential Oils: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Malden, v.12, 2013.

VILLELA, G.R.; ALMEIDA, G.S.; D'ARCE, M.A.B.R.; MORAES, M.H.D.; BRITO, J.O.; SILVA, M.F.; SILVA, S.C.; PIEDADE, S.M.S.; CALORI-DOMINGUES, M.A.; GLORIA, E.M. Activity of essential oil and its major compound, 1,8- cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill, against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. **Journal of Stored Products Research**, Manhattan, v.45, p.1–4, 2009.

YAP, P. S. X.; KRISHNAN, T.; YIAP, B. C.; HU, C. P.; CHAN, K. G.; LIM, S. H. E. Membrane disruption and anti-quorum sensing effects of synergistic interaction between *Lavandula angustifolia* (lavender oil) in combination with antibiotic against plasmid-conferred multi-drug-resistant *Escherichia coli*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.116, p.1119–1128, 2014.

3. ASSOCIAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL À PELÍCULA DE CARBOXIMETILCELULOSE NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MAMÕES ORGÂNICOS ARMAZENADOS À TEMPERATURA DE 22°C

Resumo

A utilização de óleos essenciais e de películas comestíveis no tratamento pós-colheita de mamão é uma alternativa pouco estudada, mas inovadora e de baixo impacto ambiental no prolongamento da sua vida útil. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade de mamões orgânicos após a aplicação do óleo essencial de *Lippia sidoides* (375 ppm) associado à película de carboximetilcelulose (0,25%) e armazenados a 22°C. Foram avaliados os parâmetros pós-colheita de cor, perda de massa, firmeza, taxa respiratória, acidez titulável, teor de sólidos solúveis, *ratio* e de aparência (presença ou ausência de murchamento e podridão) dos frutos em três tratamentos: óleo essencial associado à película (POE), somente película (P) e controle - fruto sem tratamento (C). Os dados foram submetidos à análise da variância multivariada, análise de correlação, análise de componentes principais com gráfico do tipo Biplot e à análise de Agrupamento. Os resultados demonstraram que o tratamento POE conservou a textura, a coloração da casca, o teor de sólidos solúveis, o *ratio*, e diminuiu a perda de massa e a acidez titulável, assim como retardou o aparecimento de podridões e de murchamento nos frutos aos nove dias de armazenamento, enquanto nos tratamentos C e P, esse comportamento ocorreu no quinto e sétimo dias, respectivamente. Concluiu-se que a associação do óleo essencial de *L. sidoides* com a película de carboximetilcelulose contribuiu satisfatoriamente para o aumento da vida útil dos mamões armazenados a 22°C, conservando suas características pós-colheita por nove dias, quando comparado ao controle (5 dias) e ao uso apenas da película (7 dias).

Palavras-chave: *Lippia sidoides*; *Carica papaya* L.; Película comestível; Vida útil

Association between carboxymethylcellulose film and essential oil on postharvest quality control of organic papayas stored at 22°C

Abstract

The use of essential oils and edible films in the postharvest treatment of papaya is less studied, but it is innovative and low environmental impact alternative prolongation of its lifespan. The objective of this study was to evaluate the quality of organic papayas after application of *Lippia sidoides* (375 ppm) essential oil associated to carboxymethylcellulose (0,25%) film stored at 22°C. The postharvest parameters as color, weight loss, firmness, respiratory rate, titratable acidity, soluble solid content, *ratio* and appearance (presence or absence of shriveling and rot) were evaluated in three treatments: essential oil associated with film (POE), film sole (P) and control - fruit without treatment (C). Data were submitted to analysis of multivariate of variance, correlation, and main components with Biplot type graph and group analysis. The results demonstrated that the treatment POE preserved texture, color of the peel, soluble solid content, *ratio*, which decreased the loss of mass and the titratable acidity, as well as delayed the appearance of rot and fruit shriveling at nine days of storage, while in the treatments C and P, this behavior occurred on fifth and seventh day of storage, respectively. It was concluded that the association of *L. sidoides* essential oil and carboxymethylcellulose film satisfactorily contributed to the increase of lifespan of the papaya stored at 22°C, preserving its postharvest characteristics for nine days when compared to the control (5 days) and use of the film alone (7 days).

Keywords: *Lippia sidoides*; *Carica papaya* L.; Edible film; Lifespan

3.1 Introdução

A elevada perecibilidade do mamão pode favorecer diversas contaminações microbiológicas, sendo uma das principais delas ocasionada pelo fungo deteriorante *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da doença denominada antracnose, a qual deprecia severamente o fruto na pós-colheita (SERRANO; CATANEO, 2010). O principal método para reduzir a incidência de podridões em frutas, incluindo o mamão, é a aplicação de fungicidas sintéticos. Entretanto, *C. gloeosporioides* tem desenvolvido resistência a muitos compostos sintéticos, como o benzimidazol e a quinona (MEAZZA et al., 2003). Em contrapartida, há um aumento na demanda por produtos e alimentos naturais e que não agredam a saúde e o meio ambiente. Para Trajano e colaboradores (2009), a utilização de óleos essenciais com potencial antifúngico é uma nova técnica natural de preservação dos alimentos, pois exerce um potencial sistema de bio-conservação, contribuindo assim, com o prolongamento da vida útil dos alimentos.

Bosquez-Molina et al. (2010) estudaram o potencial da utilização de óleos essenciais de tomilho e lima mexicana em associação com goma de algaroba (*Prosopis juliflora*) na redução de *C. gloeosporioides* em mamão; os resultados demonstraram efeitos inibitórios de 100% contra este fungo, comprovando a eficiência da associação de uma película comestível no controle de podridão pós-colheita. Maqbool et al. (2011) também encontraram efeito inibitório dos OEs de canela e capim-limão contra *C. gloeosporioides* quando associados à goma arábica em mamões, e Ali et al. (2016) utilizaram essa mesma goma, porém com OE de gengibre no controle de *C. gloeosporioides* em mamões refrigerados.

Outros autores também encontraram inibição do crescimento de vários fitopatógenos (*C. gloeosporioides*, *Penicillium digitatum* e *Alternaria citri*) com a utilização de óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) e menta (*Mentha arvensis*) (COMBRINCK et al., 2011; PALHANO et al., 2004; CARNELOSSI et al., 2009).

A utilização de OE na conservação de alimentos pode ser, muitas vezes, limitada, devido a seus custos de aplicação, entre outras desvantagens, tais como o seu aroma intenso e toxicidade potencial. Assim, uma alternativa interessante para reduzir a dose do óleo essencial e manter sua eficácia pode ser a associação

desses compostos na formulação de revestimentos comestíveis (PERDONES et al., 2012).

Películas comestíveis são usadas principalmente para melhorar a aparência de alimentos e prolongar a preservação do fruto, pois fornecem barreiras seletivas contra a respiração e à perda de umidade (ALI; MAHMUD, 2008; ALI et al., 2011). Os revestimentos também trazem mais vantagens do que materiais sintéticos em biocompatibilidade, atoxicidade e baixo custo (MEHDI MAQBOOL et al., 2011). A carboximetilcelulose (CMC), derivada da celulose, possui excelentes propriedades para esse fim, servindo como barreira eficiente à permeação de oxigênio ambiente (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Na literatura são escassos os trabalhos que abordam a interferência da associação de óleos essenciais e películas comestíveis nas características físico-químicas e de aparência das frutas, em sua maioria os estudos se referem ao controle de doenças pós-colheita, sem, contudo, avaliar e monitorar a qualidade final do fruto após o tratamento.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade físico-química e de aparência dos frutos de mamão após a aplicação do óleo essencial de *Lippia sidoides*, associado à película de carboximetilcelulose, durante armazenamento a temperatura de 22°C.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Matéria-prima e condução do experimento

Os frutos de mamão da variedade 'Caipira', provenientes de cultivo orgânico (ANEXO 1), foram obtidos em Poço Fundo (MG) (21° 46' 59" S, 45° 57' 13" W), colhidos nas primeiras horas da manhã e apresentando 20% de casca amarela, transportados em caixas de papel ondulado em carro de viagem à temperatura ambiente por três horas até o Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP), Piracicaba-SP. O experimento foi conduzido no Laboratório de Frutas e Hortaliças (ESALQ/USP), onde os frutos foram selecionados visualmente quanto à dimensão, cor, aparência e sanidade; procedeu-se, então, lavagem em água corrente para a retirada de sujidades. A sanitização foi realizada por meio da imersão dos frutos em tanque de

aço inoxidável contendo solução de 200 ppm de hipoclorito de sódio por 15 minutos e posteriormente enxaguados em água corrente.

As folhas de *L. sidoides*, material utilizado para obtenção do OE, foram coletadas no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) – UNICAMP, em Campinas, SP, Brasil (22°47'42.5"S). O OE foi obtido por meio de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger durante 4 horas, utilizando 400 g de folhas frescas em 800 mL de água destilada. O óleo foi separado da água (hidrolato) por decantação, seco através de sulfato de sódio anidro e armazenado em vidro âmbar sob temperatura inferior a -5°C até o momento de sua utilização.

A CMC (Denver Especialidades Químicas Ltda, Cotia-SP) utilizada como película comestível, apresentava pureza (base seca) de 99,74%, grau de substituição de 0,86, umidade de 6,2%, pH (solução a 1%, 25 °C) de 7,1 e viscosidade (solução a 1%, 25 °C) de 2760 cP. A concentração da CMC utilizada foi de 0,25%, de acordo com testes realizados por Albertini (2011). A suspensão (CMC + OE) foi preparada adicionando-se 0,25 g de CMC em 1000 mL de água a 60°C sob agitação de 2000 rpm em agitador mecânico de hélice naval (Fisatom - 713D) por 10 minutos, em seguida foram adicionados 375 ppm de OE de *L. sidoides*. A suspensão foi, então, agitada por mais 5 minutos para atingir a completa homogeneização da película com o OE.

Após a aplicação dos tratamentos, aguardou-se a secagem natural das películas nos mamões, sendo estes posteriormente acomodados em caixa de papel ondulado (dimensões de 48,0 cm comprimento x 38,0 cm largura x 15,0 cm altura) e armazenados em câmara de refrigeração (PróFrio Refrigeração Industrial, São Paulo, SP, Brasil) a 22°C e 90% UR, sendo a umidade e a temperatura controladas por termohigrômetro digital (Testo, 608-H1, São Paulo, SP, Testo do Brasil). As avaliações cessaram no período em que mais de 50% dos frutos de um tratamento apresentaram senescência total (deterioração).

O delineamento experimental nesta etapa foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 5, envolvendo três tratamentos (C - controle negativo, fruto sem película e sem OE; P - fruto somente com a película e POE - fruto com película + OE de *L. sidoides*), as avaliações físico-químicas e de aparência dos frutos foram realizadas a cada dois dias, iniciando-se no dia de instalação do experimento e estendendo-se até 10 dias de armazenamento, compreendendo assim, cinco períodos de análises (1, 3, 5, 7 e 9 dias de armazenamento). Em cada período

avaliaram-se quatro repetições de cada tratamento, as quais eram compostas por quatro frutos cada.

3.2.2 Análises físico-químicas e de aparência

Para a realização das análises destrutivas, os frutos foram seccionados ao meio com extração manual das sementes e da casca, e em seguida a polpa foi homogeneizada em mixer vertical doméstico (Black & Decker - SB40). A coloração da casca foi determinada pelos parâmetros Luminosidade (L), ângulo de cor Hue em graus ($^{\circ}$ Hue) e Cromaticidade (Croma), por meio do colorímetro (Minolta Chroma Meter - CR-400), sendo realizadas em dois lados opostos dos frutos com duas leituras por fruto de cada repetição, totalizando 32 leituras por tratamento. O pH foi medido em potenciômetro (Marconi – MA-522) (AOAC 2005); o teor de sólidos solúveis (TSS) em refratômetro (Krüss Optronic – DR 201-95), com resultados expressos em $^{\circ}$ Brix (AOAC 2005); a acidez titulável (AT) por titulometria, com resultados expressos em porcentagem (AOAC 2005) e o *ratio* foi medido pela razão entre TSS e AT. A firmeza foi determinada em penetrômetro (Fruit Pressure Test - FDN1 0,1 a 1N) com ponteira de 6 mm, de acordo com a AOAC (2005) e a perda de massa fresca (Perda) foi calculada pela relação entre a diferença do peso inicial e o final, dividido pelo peso inicial e multiplicado por 100 (FINGER et al., 1999).

A atividade respiratória (AR) foi calculada acondicionando-se as amostras em frascos de vidro, os quais foram hermeticamente fechados por 45 minutos e as concentrações de CO₂ e O₂ no interior dos frascos foram determinadas em analisador de gases portátil (PBIDansensor – CheckPointO₂/CO₂); sendo os resultados expressos em porcentagem de CO₂ e O₂. O índice de aparência de podridão (crescimento fúngico visível) na superfície dos frutos foi avaliado utilizando escala descrita por Wall et al. (2011), na qual “Nota 1” corresponde a índice “Leve” (< 25% da área da superfície com sintomas), “Nota 2” corresponde a “Moderado” (26 a 50% da área da superfície com sintomas) e “Nota 3” corresponde a índice “Grave” ($\geq$ 50% da área da superfície com sintomas) e o índice de aparência murchamento (desidratação) foi avaliado utilizando-se a escala: “Nota 1” frutos “Túrgidos”, “Nota 2” “Semi-túrgidos” e “Nota 3”, “Murchos”.

3.2.3 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise multivariada, por meio da Análise da Variância Multivariada (MANOVA), Análise de Correlação (CORR), Análise de Componentes Principais com gráfico do tipo Biplot (ACP) e Análise de Agrupamento (AA). A MANOVA foi realizada para a comparação dos vetores de média, definindo a significância entre as observações (tratamentos *versus* dias de armazenamento), para tanto foi feito teste de normalidade e homogeneidade de todas as variáveis. A CORR foi realizada para avaliar a interdependência entre as variáveis, calculando-se a matriz de correlação. A ACP foi usada para caracterizar e estabelecer relação entre os tratamentos e os dias de armazenamento. Na AA, utilizou-se o método do vizinho mais próximo com a distância euclidiana como coeficiente de semelhança com corte em 0,45. O software estatístico utilizado para a realização dos testes foi o SAS 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA 2010).

3.2.4 Comitê de ética ambiental

O projeto foi analisado pela Comissão de Ética Ambiental na Pesquisa – ESALQ/USP (ANEXO 2) no dia 16 de fevereiro de 2016, que deliberou o projeto em concordância com os Princípios Éticos Ambientais adotados das leis e decretos nos quais dizem respeito aos possíveis impactos ambientes referentes à pesquisa.

3.3 Resultados

A MANOVA foi conduzida para testar a hipótese nula, isto é, de que não há diferença significativa entre a comparação dos pares (dois a dois) entre qualquer uma das observações (Tabela 3.1). A hipótese nula foi rejeitada em quase todas as comparações, sendo aceita apenas nos pares P1XPOE1, P3XPOE3 e C1XP1. Este teste apontou que (1) os diferentes tratamentos apresentavam características pós-colheita distintas; (2) essas características são alteradas durante o armazenamento e (3) as alterações entre os tratamentos começaram a ocorrer a partir do segundo dia de armazenamento. As diferenças entre os tratamentos e as variáveis serão explicadas nas análises CORR e ACP.

Tabela 3.1 Teste MANOVA de comparações de pares de variância entre as amostras pelo teste de Lambda de Wilks

	POE1	POE3	POE5	POE7	POE9	P1	P3	P5	P7	C1	C3	C5
POE1	-	*	*	*	*	n.s	*	*	*	*	*	*
POE3	-	-	*	*	*	*	n.s	*	*	*	*	*
POE5	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*
POE7	-	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*
POE9	-	-	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*
P1	-	-	-	-	-	-	*	*	*	n.s	*	*
P3	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*	*	*
P5	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*	*
P7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*
C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
C3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
C5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: POE1 = Película + óleo essencial/dia 1, POE3 = Película + óleo essencial/dia 3, POE5 = Película + óleo essencial /dia 5, POE7 = Película + óleo essencial /dia 7, POE9 = Película + óleo essencial /dia 9, P1 = Película/dia 1, P3 = Película/dia 3, P5 = Película/dia 5, P7 = Película/dia 7, C1 = Controle/dia 1, C3 = Controle/dia 3, C5 = Controle/dia 5. *= significativo, n.s.= não significativo pelo Teste de Lambda Wilks com $p < 0,05$.

3.3.1 Análise de Correlação (CORR)

Na análise CORR do conjunto de dados das variáveis físico-químicas e de aparência foram obtidas 25 correlações fortes de acordo com o índice de Sounis (1975), que considera acentuados os valores maiores de 0,70 (Tabela 3.2). Como era esperada, a variável Perda (perda de massa) correlacionou-se positivamente com TSS (teor de sólidos solúveis), *ratio*, cor (cromaticidade), podridão e murchamento, pois são proporcionais entre si (à medida que uma variável aumenta, a outra também), uma vez que, com o avanço no período de armazenamento, o fruto continua seu amadurecimento, no qual além da desidratação natural (murchamento), os teores de sólidos solúveis e *ratio* aumentam, apresentando, assim, condições favoráveis para a incidência de podridões (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013).

Tabela 3.2 - Correlação entre as variáveis dos tratamentos pós-colheita de mamão

Variáveis	Coefficientes de correlação
Teor de sólidos solúveis – Perda de massa	0,8914
<i>Ratio</i> – Perda de massa	0,8594
Croma – Perda de massa	0,7171
Podridão – Perda de massa	0,7813
Murchamento – Perda de massa	0,8322
Firmeza – Perda de massa	-0,8462
Acidez titulável – Perda de massa	-0,8230
<i>Ratio</i> – Teor de sólidos solúveis	0,7647
Luminosidade – Teor de sólidos solúveis	0,7762
Cromaticidade – Teor de sólidos solúveis	0,7927
Murchamento – Teor de sólidos solúveis	0,9002
Podridão – Teor de sólidos solúveis	0,8978
Firmeza – Teor de sólidos solúveis	-0,7758
Ângulo de cor Hue – Teor de sólidos solúveis	-0,7469
Murchamento – <i>Ratio</i>	0,8122
Acidez titulável – <i>Ratio</i>	-0,8920
Cromaticidade – Luminosidade	0,9692
Podridão – Luminosidade	0,7112
Ângulo de cor Hue – Luminosidade	-0,9697
Podridão – Cromaticidade	0,7098
Murchamento – Cromaticidade	0,7149
Ângulo de cor Hue – Cromaticidade	-0,9437
Murchamento – Podridão	0,9110
Firmeza – Podridão	-0,8129
Firmeza – Murchamento	-0,7550

As variáveis firmeza e acidez titulável (AT) apresentaram correlação inversamente proporcional com perda, pois quando o murchamento aumenta, a firmeza diminui. Com o processo natural de amaciamento e senescência dos frutos ocorre aumento gradativo do TSS, podridão, murchamento e perda, enquanto que a AT do fruto diminui. (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Quanto às variáveis de coloração da casca do fruto, o ângulo de cor Hue (Hue) se correlacionou inversamente com TSS, luminosidade (L) e croma, pois com o amadurecimento dos frutos, a tonalidade da cor é alterada, tornando-os escuros (ALEXANDER; GRIERSON, 2002).

A variável perda apresentou sete coeficientes de correlação fortes, os quais eram diretamente proporcionais ao TSS, *ratio*, croma, podridão, murchamento e inversamente proporcionais à firmeza e AT, o que demonstra a importância deste

parâmetro na conservação do fruto, pois além de agir no murchamento, pode afetar a coloração, a presença de micro-organismos e o sabor dos frutos.

Tabela 3.3 Grupo total de dados (média, $\pm$ desvio padrão, n=4) (continua)

Tratamento	Tempo de armazenamento (Dias)				
	1	3	5	7	9
Luminosidade					
C	56,85 $\pm$ 1,22	60,40 $\pm$ 0,54	69,87 $\pm$ 1,40	-	-
P	55,23 $\pm$ 6,41	55,29 $\pm$ 2,05	64,13 $\pm$ 2,20	61,5 $\pm$ 1,00	-
POE	46,99 $\pm$ 2,72	63,76 $\pm$ 1,01	56,95 $\pm$ 2,60	56,86 $\pm$ 0,30	72,31 $\pm$ 0,24
Ângulo de cor Hue (°Hue)					
C	106,73 $\pm$ 7,36	101,30 $\pm$ 12,00	86,31 $\pm$ 2,00	-	-
P	111,88 $\pm$ 6,45	107,76 $\pm$ 3,70	99,6 $\pm$ 2,80	104,7 $\pm$ 0,90	-
POE	118,09 $\pm$ 5,07	98,55 $\pm$ 7,03	111,1 $\pm$ 7,80	108,4 $\pm$ 6,00	84,39 $\pm$ 1,35
Cromaticidade					
C	43,91 $\pm$ 3,52	50,33 $\pm$ 5,93	65,39 $\pm$ 3,40	-	-
P	45,95 $\pm$ 5,78	41,80 $\pm$ 4,44	55,39 $\pm$ 0,10	53,22 $\pm$ 1,50	-
POE	36,35 $\pm$ 4,42	58,5 $\pm$ 2,22	47,33 $\pm$ 2,00	50,86 $\pm$ 1,70	72,83 $\pm$ 4,42
pH					
C	5,43 $\pm$ 0,13	5,48 $\pm$ 0,03	5,19 $\pm$ 0,05	-	-
P	5,53 $\pm$ 0,23	5,50 $\pm$ 0,05	5,13 $\pm$ 0,05	5,43 $\pm$ 0,06	-
POE	5,67 $\pm$ 0,06	5,50 $\pm$ 0,04	5,20 $\pm$ 0,02	5,47 $\pm$ 0,08	5,47 $\pm$ 0,07
Teor de Sólidos Solúveis (°Brix)					
C	7,30 $\pm$ 0,10	7,67 $\pm$ 0,40	9,00 $\pm$ 0,37	-	-
P	7,30 $\pm$ 0,20	7,92 $\pm$ 0,55	8,05 $\pm$ 0,41	9,05 $\pm$ 0,51	-
POE	7,15 $\pm$ 0,45	7,70 $\pm$ 0,30	7,72 $\pm$ 0,47	8,22 $\pm$ 0,62	9,17 $\pm$ 0,57
Acidez Titulável Total (%)					
C	3,19 $\pm$ 0,76	2,67 $\pm$ 0,68	2,82 $\pm$ 0,29	-	-
P	3,27 $\pm$ 0,34	2,38 $\pm$ 0,22	2,28 $\pm$ 0,22	1,56 $\pm$ 0,14	-
POE	2,67 $\pm$ 0,00	2,38 $\pm$ 0,09	2,30 $\pm$ 0,37	1,63 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,08
Murchamento (de 1 “túrgidos” a 3 “murchos”)					
C	1,00 $\pm$ 0,00	1,62 $\pm$ 0,05	2,37 $\pm$ 0,05	-	-
P	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,25 $\pm$ 0,05	2,50 $\pm$ 0,05	-
POE	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,25 $\pm$ 0,05	2,37 $\pm$ 0,05	2,87 $\pm$ 0,07
Podridão (de 1 “ausência” a 3 “presença”)					
C	1,00 $\pm$ 0,00	2,37 $\pm$ 0,72	2,75 $\pm$ 0,14	-	-
P	1,00 $\pm$ 0,00	1,37 $\pm$ 0,26	1,75 $\pm$ 0,12	2,75 $\pm$ 0,14	-
POE	1,00 $\pm$ 0,00	1,12 $\pm$ 0,07	1,50 $\pm$ 0,05	2,00 $\pm$ 0,05	2,75 $\pm$ 0,07

Legenda: C = Controle, P = Película e POE = Película + óleo essencial. (-) = Frutos deteriorados

Tabela 3.3 Grupo total de dados (média, $\pm$ desvio padrão, n=4) (continuação)

Tratamento	Tempo de armazenamento (Dias)				
	1	3	5	7	9
Ratio					
C	2,23 $\pm$ 0,55	3,15 $\pm$ 0,72	3,38 $\pm$ 0,44	-	-
P	2,16 $\pm$ 0,28	3,47 $\pm$ 0,53	3,67 $\pm$ 0,39	8,70 $\pm$ 1,02	-
POE	2,59 $\pm$ 0,21	3,33 $\pm$ 0,41	3,39 $\pm$ 0,32	6,91 $\pm$ 0,22	6,69 $\pm$ 0,38
Firmeza (N)					
C	84,88 $\pm$ 1,22	31,42 $\pm$ 0,54	7,28 $\pm$ 1,42	-	-
P	81,95 $\pm$ 6,41	66,26 $\pm$ 2,05	18,42 $\pm$ 2,20	13,88 $\pm$ 1,00	-
POE	76,01 $\pm$ 2,72	46,21 $\pm$ 1,01	13,19 $\pm$ 2,60	11,52 $\pm$ 0,30	11,50 $\pm$ 0,24
Perda de massa fresca (%)					
C	0,00 $\pm$ 0,00	0,57 $\pm$ 0,05	1,36 $\pm$ 0,05	-	-
P	0,00 $\pm$ 0,00	0,82 $\pm$ 0,02	1,64 $\pm$ 0,01	2,43 $\pm$ 0,12	-
POE	0,00 $\pm$ 0,00	0,79 $\pm$ 0,00	1,39 $\pm$ 0,01	1,83 $\pm$ 0,04	2,91 $\pm$ 0,13
Atividade Respiratória (mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹)					
C	110,22 $\pm$ 7,67	68,29 $\pm$ 5,89	68,64 $\pm$ 1,80	-	-
P	114,35 $\pm$ 11,3	50,79 $\pm$ 3,72	28,32 $\pm$ 0,40	91,86 $\pm$ 5,70	-
POE	100,76 $\pm$ 3,01	50,59 $\pm$ 13,56	27,74 $\pm$ 5,60	56,39 $\pm$ 1,38	162,68 $\pm$ 12,61

Legenda: C = Controle, P = Película e POE = Película + óleo essencial. (-) = Frutos deteriorados

3.3.2 Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise de Agrupamento (AA)

A ACP está representada pela projeção das variáveis (Figura 3.1A) e das observações (Figura 3.1B). Neste trabalho, duas CP foram extraídas do conjunto total de dados (Tabela 3.3), explicando 78,02% da variância. A primeira componente principal (CP1) explicou 62,52% da variância estatística, e foi correlacionada positivamente com as variáveis de cor (L e Croma), Perda, TSS, podridão e murchamento e, negativamente com firmeza e Hue. A segunda componente principal (CP2) explicou 15,50% da variância estatística, e foi correlacionada positivamente com as variáveis pH e *ratio*.

Na AA, as observações mostradas na projeção das observações (Figura 3.1B) foram separadas em cinco grupos por meio do corte realizado em 0,45, visualizado na linha pontilhada (Figura 3.2). Esse mesmo corte foi utilizado para a separação dos grupos (círculos pontilhados) (Figura 3.1B).

O primeiro grupo é formado pelas observações, C1, P1 e POE1, o segundo pelas observações P3, POE3, C3, P5, POE5 e POE7, e as observações que não formaram grupos foram: P7, POE9 e C5.

Figura 3.1 - Análise de Componentes Principais, utilizando os parâmetros pós-colheita de mamão: projeção das variáveis (A) e das observações (B)

Legenda: CP= Componente Principal. (A) Variáveis: Croma = Cromaticidade, L = Luminosidade, AT = Acidez titulável, Mur = Murchamento, TSS = Teor de sólidos solúveis, AR = Atividade respiratória, Pod= Podridão, Fir = Firmeza, pH = pH, Ratio = *Ratio*, Hue = Ângulo de cor Hue, Perda = Perda de massa fresca. (B) Observações: CP1 e CP2= Componentes Principais 1 e 2. C1=Controle/dia 1, C3=Controle/dia 3, C5=Controle/dia 5, P1=Película/dia 1, P3=Película/dia 3, P5=Película/dia 5, P7=Película/dia 7, POE1 = Película + óleo essencial/dia 1, POE3 = Película + óleo essencial/dia 3, POE5 = Película + óleo essencial/dia 5, POE7 = Película + óleo essencial /dia 7, POE9 = Película + óleo essencial/dia 9.

Figura 3.2 - Dendograma obtido a partir das análises físico-químicas e de aparência de diferentes tratamentos pós-colheita de mamão

Legenda: C1=Controle/dia 1, C3=Controle/dia 3, C5=Controle/dia 5, P1=Película/dia 1, P3=Película/dia 3, P5=Película/dia 5, P7=Película/dia 7, POE1 = Película + óleo essencial/dia 1, POE3 = Película + óleo essencial/dia 3, POE5 = Película + óleo essencial /dia 5, POE7 = Película + óleo essencial /dia 7, POE9 = Película + óleo essencial /dia 9.

Sobre os grupos formados, o primeiro (C1, P1 e POE1) contém as observações do primeiro dia do experimento, ou seja, características típicas do início de processo de amadurecimento, este grupo apresentou, portanto, coloração verde-amarelo (aproximadamente 110°Hue), Croma e L baixos, aparência de frutos firmes e com firmeza de aproximadamente 80N, ausência de podridões, TSS em torno de 7,2 °Brix, 0% de perda de massa e baixo *Ratio*.

O segundo grupo formado pelas observações C3, POE3, P3, P5, POE5 e POE7 apresentaram características intermediárias do processo de amadurecimento, nesse grupo pode ser observado que a coloração dos frutos começa a se tornar próxima ao amarelo-esverdeado e amarelo (90~100°Hue), Croma e L apresentaram valores próximos a 50 e 55 respectivamente, TSS se concentrou (aproximadamente 8°Brix), a perda de massa chegou a 1% e o *ratio* aumentou gradativamente. Neste grupo alguns frutos já começaram a apresentar aparência de murchos e incidência de podridões.

As observações que não formaram grupos, ou seja, as que ficaram sozinhas foram: P7, C5 e POE9, elas não se uniram, pois correspondem a diferentes períodos de cada tratamento, porém suas características são semelhantes em relação às variáveis, essas observações correspondem ao estágio final de amadurecimento dos frutos, neles é possível verificar que ocorreu incidência de podridão em todos os frutos, que estes estão murchos, com firmeza próxima a 10N, a coloração se tornou amarelo alaranjado (aproximadamente 80°Hue), Croma e L apresentaram os maiores valores, deixando os frutos com coloração viva e clara e o TSS atingiu o valor máximo, de aproximadamente 9,1°Brix.

Na análise de componentes principais (Figura 3.1A) o vetor Perda cresce no mesmo sentido que o vetor Mur. Todos os tratamentos apresentaram altos valores de desidratação dos frutos nos últimos períodos de avaliação, a saber, C5 (1,36%), P7 (2,43%) e POE9 (2,91%) (Tabela 3.3). A diferença entre eles foi o período em que ocorreu o maior valor para a variável Perda, sendo de nove dias para o tratamento POE, sete para P e cinco para C, esse resultado demonstra que o quando o fruto é tratado (com película ou película associada ao OE), o processo de desidratação do fruto ocorre com menor velocidade, pois existe uma barreira à evapotranspiração do fruto.

Na coloração dos frutos, em referência ao ângulo de cor Hue (Figura 3.1), no primeiro dia de avaliação o comportamento dos tratamentos foi semelhante (C1=106°, P1=111° e POE1=118°), apresentando coloração entre o verde-amarelado e o amarelo esverdeado, a tonalidade da cor se modificou ao longo do armazenamento, acontecendo em períodos diferentes para cada tratamento (Figura 3.3), no tratamento C, a coloração amarelo-laranja, típica do processo final de amadurecimento do fruto ocorreu aos cinco dias, enquanto que POE apenas aos nove dias.

Figura 3.3 – Coloração dos frutos aos 3 dias de armazenamento (da esquerda para a direita: tratamento controle, somente película e película + óleo essencial)

Também na análise das componentes principais (Figura 3.1), observou-se que a variável podridão e a variável TSS crescem no mesmo sentido, isso pode ser explicado pelo aumento natural no teor de sólidos solúveis do fruto durante o processo de amadurecimento, fazendo com que os micro-organismos deteriorantes das frutas encontrem condições perfeitas para sobreviverem e se desenvolverem (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013). O aparecimento total das podridões nos frutos, ocasionadas principalmente pela doença antracnose, nos tratamentos P e POE aconteceram aos sete e nove dias, respectivamente, enquanto que no tratamento C, aos 5 dias (Figura 3.1), inferindo-se que tratar os frutos com a aplicação da película com OE pode garantir um retardo no aparecimento de doenças deteriorantes, que muitas vezes são a principal razão de perdas de lotes inteiros e prejuízos econômicos para produtores e revendedores.

Na CP2, os vetores do pH e *ratio* crescem em mesmo sentido, estas variáveis também são influenciadas pelo grau de amadurecimento do fruto. No início deste processo, o pH e o *ratio*, são baixos e seus valores aumentam gradativamente conforme a AT do fruto diminui e o TSS aumenta. Com o processo de senescência inicia-se a emissão de compostos voláteis, como o acetaldeído, acetato de etila, etanol, entre outros, o que contribui com a diminuição dos valores de pH e *ratio* (CHITARRA e CHITARRA, 2005). O comportamento destas variáveis foi semelhante para os tratamentos P e POE (Figura 3.1B) no último período de avaliação. No tratamento C (Figura 3.1B), ocorreu a degradação rápida do fruto, o qual apresentou

elevada AT devido ao processo de senescência e consequente prejuízo à palatabilidade (*ratio* de 3,38).

3.4 Discussão

A coloração dos frutos respondeu ao seu processo natural de amadurecimento, passando de inicialmente amarelo-esverdeado para amarelo-alaranjado, própria do estágio final de maturação, enquanto que os valores de luminosidade e croma se elevaram gradativamente durante os períodos, tornando os frutos mais claros e com a coloração mais viva com o passar do tempo. Essas características ocorrem devido à biossíntese dos carotenoides (WILLS; WIDJANARKO, 1995) e degradação da clorofila, alterando os pigmentos de cor da casca para as fases finais de maturação do mamão (AZEVEDO et al., 2008). Porém, nos frutos tratados com a película e película + óleo essencial esse processo foi lento, pois a utilização de películas comestíveis atua como barreira ao oxigênio, formando uma cobertura com preenchimento parcial dos estômatos e lenticelas, reduzindo a transferência de umidade (transpiração) e as trocas gasosas (respiração). Com o amadurecimento, a película reduz a permeação do O₂ para o interior do fruto, reduzindo a produção do etileno, podendo assim, prolongar a vida útil do fruto (ASSIS et al., 2009). Logo, também as alterações de coloração ao longo do tempo são reduzidas, por que não expõe os carotenoides responsáveis pelo amarelecimento típico do fruto (STREIT et al., 2005). Entretanto, não há estudos que comprovem a ação do óleo essencial na preservação da coloração em frutos.

Em relação à coloração, Ali et al. (2016) avaliaram a associação da película de goma arábica e do óleo essencial de gengibre em mamões armazenados a 12°C, e estes não apresentaram diferenças entre a coloração dos frutos tratados com película e película + óleo de gengibre e o controle, constatando que todos sofreram as mesmas transformações de cor ao longo do armazenamento. Barrera et al. (2015) também não observaram diferenças na coloração de mamões armazenados a 25°C e tratados com a associação da película de quitosana com extrato de própolis. Azarakhsh et al. (2014) concluíram que a associação do óleo essencial de erva cidreira e da película de alginato conservou a coloração de abacaxis minimamente processados por 16 dias a 10°C, em comparação ao controle, concordando com os resultados obtidos no presente estudo.

Neste estudo, o processo de desidratação do fruto pela perda de massa foi um parâmetro importante para a avaliação dos tratamentos. Este processo aconteceu devido à evapotranspiração e respiração dos frutos, que se intensificam com o processo de maturação e, também, devido ao tratamento pós-colheita utilizado (DOLL HOJO et al., 2009). A associação de óleo essencial de canela à película de goma arábica em mamões armazenados a 12°C por 28 dias diminuiu significativamente a perda de massa dos frutos durante o armazenamento, assim como conservou a firmeza e a concentração de sólidos solúveis, valores superiores aos encontrados no controle (MAQBOOL et al., 2011). Esse resultado é semelhante às correlações do presente estudo, comprovando que os revestimentos comestíveis também auxiliam na diminuição do nível de oxigênio e na elevação do nível de dióxido de carbono, limitando, assim, as atividades de enzimas hidrolíticas e mantendo a firmeza e perda de massa dos frutos durante o armazenamento (SALUNKHE et al., 1991). Também em relação à perda de massa de abacaxis minimamente processados, segundo Azarakhsh et al. (2014), a utilização da película de alginato, com ou sem óleo essencial, retardou a perda de massa dos frutos, conservando-os satisfatoriamente por um período de 16 dias a 10°C.

A ausência de podridões nos frutos, um importante aspecto da qualidade pós-colheita, indicou que a associação da CMC com o óleo de *L. sidoides*, utilizada neste estudo, contribuiu com o prolongamento da vida útil dos frutos, conservando-os até os nove dias de armazenamento sem apresentar incidência de podridão, tal fato confirma que a utilização de um óleo essencial em associação com uma película age como barreira física às transformações que facilitam o desenvolvimento de micro-organismos, e principalmente, que desempenha efeito antifúngico, inibindo ou até mesmo eliminando os micro-organismos deteriorantes (COMBRINCK et al., 2011; PALHANO et al., 2004; CARNELOSSI et al., 2009; BOSQUEZ-MOLINA et al., 2010). Esse resultado se assemelha com o obtido por Azarakhsh et al. (2014), que observaram o menor desenvolvimento de bolores e leveduras em abacaxi minimamente processado e tratado com a associação da película de alginato e óleo essencial de capim-cidreira, Ali et al. (2016) com a associação de goma arábica com óleo de gengibre tiveram uma inibição quase total de *C. gloeosporioides* em mamões refrigerados, Maqbool et al. (2011) concluíram que a associação dos óleos de canela e capim-cidreira com goma arábica controlaram em 71% a incidência de *Colletorichum musae* em bananas, e de 80% de *C. gloeosporioides* em mamão.

Outra característica que configura o processo de maturação do fruto é a diminuição de sua firmeza (CHITARRA; CHITARRA, 1990). Os mamões menos firmes foram encontrados nos últimos períodos de avaliação de cada tratamento. Azarakhsh et al. (2014), obtiveram conservação na firmeza de abacaxis minimamente processados armazenados a 10°C, após serem tratados com a associação da película de alginato e óleo essencial de erva-cidreira, a película agiu como barreira às atividades de enzimas hidrolíticas do fruto (SALUNKHE et al., 1991). Ainda, segundo Raybaudi-Massilia et al. (2008), compostos ativos do óleo essencial e a utilização de recobrimento comestível possuem efeitos sinérgicos que podem afetar a firmeza do fruto.

O murchamento dos frutos ocorreu concomitantemente à incidência de podridões. Tal fato pode ser explicado devido à presença de micro-organismos deteriorantes como o *C. gloeosporioides* que se mantiveram latentes no período inicial de maturação, encontrando condições de desenvolvimento (açúcares disponíveis, atividade de água, substrato, etc.) somente quando o fruto alcançou sua maturação final, ou seja, quando se retarda a respiração e a senescência do fruto, retardou-se também a incidência de podridões (WORKNEH et al., 2011; SERRANO; CATANEO, 2010; MEAZZA et al., 2003).

Quanto ao *ratio*, as alterações ocorreram devido à mudança nos teores de TSS e AT dos frutos durante o processo de amadurecimento, sendo interessante que o tratamento empregado retarde a produção de ácidos orgânicos (aumento da AT), conservando assim, a palatabilidade do fruto por período prolongado. No estudo elaborado por Ali et al. (2016), os frutos tratados com a película comestível de goma arábica, seja na presença ou não do óleo essencial de gengibre, apresentaram o mesmo comportamento do presente estudo, em que a presença da película demonstrou retardar a respiração e a atividade metabólica dos frutos, fazendo com que o *ratio* não se alterasse tão rapidamente quanto no controle. O mesmo foi verificado nos tratamentos controle de Azarakhsh et al., (2014) e Maqbool et al., (2011).

3.5 Conclusão

A utilização do óleo essencial de *Lippia sidoides* (375 ppm) associado à película de CMC contribuiu efetivamente com o aumento na vida útil dos mamões

armazenados a 22°C, conservando suas características físico-químicas e de aparência por 9 dias, quando comparado ao fruto controle (5 dias) e ao tratamento somente com a película (7 dias).

Referências

ALEXANDER L.; GRIERSON D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 53 n. 277, p. 2039–2055, 2002.

ALI, A.; HEI, G.K.; KEAT, Y.W. Efficacy of ginger oil and extract combined with gum Arabic on anthracnose and quality of papaya fruit during cold storage. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, 2016.

ALI, A., MAHMUD, T.M.M., SIJAM, K., SIDDIQUI, Y. Effect of chitosan coatings on the physico-chemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. **Food Chemistry**, Reading, v.124, p.620–626, 2011.

ALI, A., MAHMUD, T.M.M. The potential use of locally prepared chitosan to control in vitro growth of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from papaya fruits. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.804, p.177–182, 2008.

AQUINO, C.F.; SALES, N.L.P.; SOARES, E.P.S., MARTINS, E.R. Ação e caracterização química de óleos essenciais no manejo da antracnose do maracujá. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v.34, n.4, p.1059-1067, 2012.

ASSIS, O.B.G.; BRITO, D.; FORATO, L.A. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. São Carlos, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 23 p., 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official methods of analysis. 18th. ed. Gaithersburg, 2005.

AZARAKHSHA, N.; OSMANA, A.; GHAZALIA, H.M.; TANB, C.P.; ADZAHANB, N.M. Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.88 p.1–7, 2014.

BARRERA, E.; GIL, J.; RESTREPO, A.; MOSQUERA, K.; DURANGO, D. A coating of chitosan and propolis extract for the postharvest treatment of papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawaiiiana). **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, Medellín, v. 68, n.2, p.7667-7678. 2015.

BAUTISTA-BAÑOS, S, SIVAKUMAR, D, BELLO-PEREZ, A, VILLANUEVA-ARCE, R AND HERNANDEZ-LOPEZ, M. A review of the management alternative for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain, **Crop Protection**, Lincoln, v. 49, p. 8-20, 2013.

BRON, I. U.; JACOMINO, A. P. Ripening and quality of 'Golden' papaya fruit harvested at different maturity stages. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v.18, n.3, p.389-396, 2006.

BOSQUEZ-MOLINA, E.; RONQUILLO-DE JESÚS, E.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VERDE-CALVO, J. R.; MORALES-LÓPEZ, J. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.57, p.132-137, 2010.

CARVALHO, R. I. N.; FIORAVANÇO, J. C.; PAIVA, M. C.; MANICA, I. Características físicas e químicas do mamão "Papaya" comercializado em Porto Alegre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.14, n.1, p.143-147, 1992.

CENCI, S. A.; FONSECA, M. J. de O.; FREITAS-SILVA, O. Procedimentos pós-colheita. In: FOLEGATTI, M. I. da S.; MATSUURA, F. C. A. U. **Mamão: pós-colheita**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.24-38, 2002.

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

DIAS, T. C.; MOTA, W. F.; OTONI, B. S.; MIZOBUTSI, G. P.; SANTOS, M. G. P. Conservação pós-colheita de mamão formosa com filme de PVC e refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.2, p.666-670, 2011.

DOLL HOJO, E. T.; ABREU, C. M. P.; ASMAR, S. A.; HOJO, R. H.; CORREA, A. D.; VILAS BOAS, E. V. B. Avaliação da qualidade de manga 'palmer' tratada com 1-metilciclopropeno e armazenada sob refrigeração e condição ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.1, p.28-38, 2009.

FONTES, R. V.; VIANA, A. P.; PEREIRA, M. G.; OLIVEIRA, J. G.; VIEIRA, H. D. Manejo da cultura do híbrido de mamoeiro (*Carica papaya* L.) do grupo 'formosa' UENF/CALIMAN - 01 para melhoria na qualidade do fruto com menor aplicação de adubação NPK. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.1, p.143-151, 2012.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO (2010). Faostat. Disponível em <www.fao.org>. Acesso em 15/07/2016.

FAOSTAT. Production and crops of papayas. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em 15/06/2016.

FINGER, F. L.; CAMPANHA, M. M.; BARBOSA, J. G.; FONTES, P. C. R. Influence of ethephon, silver thiosulfate and sucrose pulsing on bird-of-paradise vase life. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.11, n.2, p.119-122, 1999.

GAYOSSO-GARCÍA, L.; YAHIA, E.; MARTÍNEZ TÉLLEZ, M.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. Effect of maturity stage of papaya Maradol on physiological and biochemical parameters. **American Journal of Agricultural and Biological**, New York, v.5, n.2, p.194-203, 2010.

LIMA, L. M.; MORAIS, P. L. D.; MEDEIROS, É. V.; MENDONÇA, V.; XAVIER, I. F.; LEITE, G. A. Qualidade pós-colheita do mamão formosa 'Tainung 01' comercializado em diferentes estabelecimentos no município de Mossoró-RN. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.3, p.902-906, 2009.

LUENGO, R. F. A. Embalagens utilizadas no Brasil. In: LUENGO, R. F. A.; CALBO, A. G. (Ed.) Embalagens para comercialização de hortaliças e frutas no Brasil. Embrapa Hortaliças, Brasília, p.11-28, 2009.

MARTINEZ-ROMERO, D.; ALBURQUERQUE, N.; VALVERDE J.M.; GUILLEN, F.; CASTILO, S.; VALERO, D. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by Aloe vera treatment: a new edible coating. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.39, p.92–100, 2006.

MEAZZA, G; DAYAN, F.E; WEDGE, D.E. Activity of quinones on Colletotrichum species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.51, n.13, p.3824 – 3828, 2003.

MAQBOOL M.; ALI A.; ALDERSON P.G.; MOHAMED M.T.M.; SIDDIQUI Y.; ZAHID N. Postharvest application of gum Arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.62, p.71–76, 2011.

PERDONES, A.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHIRATT, A.; VARGAS, M. Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam v.70, p.32-41, 2012.

PEREIRA, M.E.C.; SILVA, A.S.; BISPO, A.R.S.; SANTOS, D.B.; SANTOS, S.B.; SANTOS, V.J. Formosa papaya ripening with edible coating of cassava starch. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.6, p.1116-1119, 2006.

SALUNKHE, D.K.; BOUN, H.R.; REDDY, N.R. Storage processing and nutritional quality of fruits and vegetables. CRC Press, USA, 1991.

SERRANO, L. A.; CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.3, p.657-959, 2010.

SILVA, A.C.; SALES, N.L.P.; ARAÚJO A.V.; JÚNIOR, C.F.C. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras v.33, 2009.

SOUNIS, E. Bioestatística: princípios fundamentais, metodologia estatística, aplicação às ciências biológicas. 3 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1985.

SOUZA, T. V.; COELHO, E. F.; PAZ, V. P. S.; LEDO, C. A. S. Avaliação física e química de frutos de mamoeiro 'Tainung n°1', fertirrigado com diferentes combinações de fontes nitrogenadas. **Agrária**, Recife, v.4, n.2, p.179-184, 2009.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. *SAS/QC software: usage and reference* (version 9.3). Cary, USA, 2010. 1 CDROM.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p.748-755, 2005.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.3, p.542-545, 2009.

WALL, M.; NISHIJIMA, K.A.; KEITH, L.M.; NAGAO, M.A. Influence of packaging on quality retention of longans (*Dimocarpus longan*) under constant and fluctuating postharvest temperatures. **HortScience**, Alexandria, v.46, n.6, p.917-923, 2011.

WORKNEH, T.S.; OSTHOFF, G.; STEYN, M.S. Influence of preharvest and postharvest treatments on stored tomato quality. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v.6, n.12, p. 2725 2736, 2011.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo dos capítulos desta dissertação foi possível avaliar os seguintes pontos:

- A importância do fruto mamão no panorama mundial e nacional de comercialização, bem como dos entraves e doenças que podem prejudicar a economia do mesmo e a necessidade de tecnologias emergentes para a solução de problemas;
- A ação antifúngica dos óleos de *Lippia sidoides*, *Pimenta pseudocaryophyllus* e *Eucalyptus staigeriana* e suas misturas, como uma característica fundamental do bom desempenho antifúngico *in vitro* contra o fungo *C. gloeosporioides*. O óleo com maior ação antifúngica foi caracterizado pela sua composição e testado *in vivo* associado à película de carboximetilcelulose;
- O efeito dessa associação na qualidade pós-colheita de mamões, de modo a monitorar as suas características físico-químicas e de aparência durante o armazenamento a temperatura de 22°C.

Assim, no Capítulo 2 foi selecionado entre três óleos essenciais e quatro misturas, aquele que desempenhou maior ação antifúngica nos testes *in vitro*, ou seja, aquele que apresentou menor concentração inibitória mínima nos dois métodos avaliados, sendo este o óleo de *Lippia sidoides*, que prosseguiu os estudos, apresentando o timol como composto majoritário. No teste *in vivo*, quando o óleo essencial foi associado com a película de carboximetilcelulose, de modo preventivo, ou seja, antes da inoculação do fungo, os resultados mostraram que houve uma redução na severidade da doença, mas não em sua incidência.

Para o comércio, é importante que todo tratamento seja testado para verificar se o efeito do mesmo possui influências no produto final, nesse sentido, o Capítulo 3 avaliou e monitorou as características físico-químicas e de aparência do mamão orgânico tratado com a película de carboximetilcelulose e o óleo essencial de *L. sidoides* durante o armazenamento comumente utilizado no atacado e varejo, ou seja, à temperatura ambiente. Os resultados foram satisfatórios para o tratamento em questão, que além de conservar as características do fruto, prolongou seu tempo de vida útil. Esse estudo permite confirmar o exposto no Capítulo 2, que além de

inibir o desenvolvimento da antracnose, pode ser utilizado no fruto, sem alterações de suas características intrínsecas.

5. SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

O presente trabalho possibilitou comprovar que a associação entre um óleo essencial, com ação antifúngica, e a película de carboximetilcelulose controlou uma doença prejudicial para o comércio do mamão, e que esse tratamento apresenta potencial de aplicação nos frutos, pois não alterou suas características físico-químicas e de aparência. Diante do exposto, é importante, para futuras pesquisas, avaliar qual a resposta da utilização de óleos essenciais com outras películas e outros frutos, bem como da homogeneização dos óleos nas películas, para assim, garantir a total incorporação do óleo na película e a efetiva cobertura do fruto, o que pode melhorar o desempenho do tratamento. É importante também, avaliar a toxicidade do óleo essencial quando utilizado em frutos onde a casca é consumida, como por exemplo, em maçãs, peras, etc.

ANEXOS

ANEXO 1

CENTRAL DE ASSOCIAÇÕES DE PRODUTORES ORGÂNICOS DO SUL DE MINAS - CNPJ: 17.461.193/0001-80
ORGANISMO PARTICIPATIVO DE AVALIAÇÃO DA CONFORMIDADE ORGÂNICA DA ORGANICOS SUL DE MINAS OPAC SUL DE MINAS – Credenciamento MAPA 019-UF MG BR/2013					
CERTIFICADO DE CONFORMIDADE ORGÂNICA Nº COF006/2015 – OPAC SUL DE MINAS					
MARCELO DE PAIVA GONÇALVES CPF: 032.294.316-77					
O OPAC SUL DE MINAS certifica que o fornecedor identificado acima pertence ao Sistema Participativo de Garantia da Organicos Sul de Minas, passou pela avaliação participativa da conformidade orgânica e teve a aprovação do seu sistema de produção confirmada em reunião do OPAC realizada em 31/07/2015. O fornecedor fica autorizado a utilizar o selo do Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade Orgânica – SISORG, pelo período estabelecido abaixo e conforme a regulamentação da Lei 10.831 de 23 de dezembro de 2003.					
Nome da Unidade de Produção: Sítio Boa Vista, Bairro Gonçalves		Núcleo: COOPFAM			
Escopo: Produção primária vegetal Produtos: Café, mamão, maracujá, graviola, laranja, abacate, batata-doce, limão, alface, cenoura, rabanete, abóbora, tomate, couve-flor, repolho, mexerica, pitanga, jabuticaba, banana, gengibre e polpa de maracujá.		Regulamento: Lei Brasileira 10.831/2003 e sua regulamentação			
Município: Poço Fundo, MG		Validade: de 01 de setembro de 2015 a 31 de agosto de 2016

ROSÂNGELA DE SOUZA PAIVA CPF: 062.177.176-70 PRESIDENTA DA ORGANICOS SUL DE MINAS		ALVARO RICARDO GUERRERO CPF: 093.258.876-06 COORDENADOR DO OPAC SUL DE MINAS			
Fazenda do IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes, S/N, Bairro Escritório Velho - Inconfidentes/MG, www.organicosuldeminas.org.br – organicosuldeminas@gmail.com, Tel.: (35) 9905 7952/9953 7087					

ANEXO 2

COMISSÃO DE ÉTICA AMBIENTAL NA PESQUISA – ESALQ/USP

PARECER

Declaro que o Projeto Intitulado: " Óleo essencial associado à película comestível em mamão: controle da antracnose e efeito na vida-útil", de responsabilidade da Profa. Marta Helena Fillet Spoto (LAN), está de acordo com os Princípios éticos ambientais adotados das leis e decretos complementares (Lei 6.894/80, Lei 7.803/89, Lei 9.985/00, Lei 9.974/00, Decreto 99.556/90, Decreto 4.340/02, Instrução Normativa 169/2008, ABNT/NBR 10004:2004, Resolução ANVISA RDC 306/2004, Resolução 358/05) acrescida dos dispositivos e alterações, bem como os demais decretos e instruções normativas relativas aos assuntos ambientais pertinentes.

Piracicaba, 16 de fevereiro de 2016.

Prof. Dr. Claudio Lima de Aguiar
Presidente – CEAP
ESALQ/USP

Este parecer exclui demais aspectos éticos que envolvam a utilização de animais de laboratório ou seres humanos, os quais são de competência das Comissões de Ética em Pesquisa com Animais e de Seres Humanos, respectivamente.