

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA-UDESC**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV**  
**PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**ANGÉLICA SCHMITZ HEINZEN**

**CERA DE CARNAÚBA E QUITOSANA COM ÓLEOS ESSENCIAIS PARA  
CONTROLE DE MOFO AZUL E O IMPACTO SOBRE A QUALIDADE DE  
MAÇÃS ‘FUJI’**

**LAGES 2021**

**ANGÉLICA SCHMITZ HEINZEN**

**CERA DE CARNAÚBA E QUITOSANA COM ÓLEOS ESSENCIAIS PARA  
CONTROLE DE MOFO AZUL E O IMPACTO SOBRE A QUALIDADE DE  
MAÇÃS ‘FUJI’**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal, na Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Produção Vegetal.

Orientador: Cristiano André Steffens

**LAGES  
2021**



## FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Heinzen, Angélica Schmitz  
CERA DE CARNAÚBA E QUITOSANA COM ÓLEOS  
ESSENCIAIS PARA CONTROLE DE MOFO AZUL E O  
IMPACTO SOBRE A QUALIDADE DE MAÇÃS 'FUJI' /  
Angélica Schmitz Heinzen. -- 2021.  
112 p.

Orientador: Cristiano André Steffens  
Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina,  
Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação  
em Produção Vegetal, Lages, 2021.

1. Malus domestica(Borkh.). 2. Penicillium expansum. 3.  
biofilmes. I. André Steffens, Cristiano . II. Universidade do Estado  
de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa  
de Pós-Graduação em Produção Vegetal. III. Título.

**ANGÉLICA SCHMITZ HEINZEN**

**CERA DE CARNAÚBA E QUITOSANA COM ÓLEOS ESSENCIAIS PARA  
CONTROLE DE MOFO AZUL E O IMPACTO SOBRE A QUALIDADE DE  
MAÇÃS ‘FUJI’**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal.

**BANCA EXAMINADORA**

Orientador: \_\_\_\_\_

Professor Dr. Cristiano André Steffens

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Membro: \_\_\_\_\_

Dra. Amanda Maria Furtado Drehmer Vieira

Fischer S.A Agroindústria – Fraiburgo, SC

Membro: \_\_\_\_\_

Dra. Andréia Hansen Oster

Embrapa – Uva e Vinho

Membro: \_\_\_\_\_

Professor Dr. Marcelo Alves Moreira

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Membro: \_\_\_\_\_

Professor Dr. Ricardo Trezi Casa

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

**Lages, 23 de abril de 2021**

‘Crê em ti mesmo, age e verás os resultados. Quando te esforças, a vida também se esforça para te ajudar. ‘

Francisco Cândido Xavier



## AGRADECIMENTOS

Á Deus.

Á minha família, em especial aos meus pais Luiz e Zélia, e minha irmã Priscila, por todos esses anos de incentivo, apoio e amor incondicional. Para vocês todo meu amor, admiração e respeito.

Ao meu namorado Jorge, pela paciência, incentivo, carinho e amor ao longo desses quatro anos.

Ao Dr. professor Cristiano André Steffens, pela paciência, ensinamentos, e todo aprendizado ao longo da minha carreira acadêmica.

Aos professores Dr. Ricardo Trezi Casa e Dr. Marcelo Alves Moreira pela disponibilidade, ensinamentos, e auxílio nas análises. Ao professor Rogério Lauss pelo fornecimento da quitosana.

A Dra. Amanda Maria Furtado Drehmer Vieira pela contribuição no projeto e a atenção de sempre.

Aos meus colegas de laboratório, em especial aos colegas e agora amigos Adriana, Cristina, Cristhian, Janaiana, Juliana, Karina, Keli, Josias, Tiago, que sempre estiveram disponíveis e com uma palavra amiga.

Aos professores, funcionários e colegas graduandos e pós-graduandos, especialmente a equipe do laboratório de fisiologia e tecnologia pós-colheita, pelos ensinamentos de qualidade, auxílio na realização de experimentos, suporte, dedicação e paciência na realização das atividades.

Ao CAV/UEDESC, pela estrutura de materiais e apoio, laboratórios e pela oportunidade de realização do curso.

As empresas Agropecuária SCHIO, Frutas de Ouro e Perboni Brasil pela concessão dos frutos.

Inicialmente a CAPES e posteriormente a FUMDES pela concessão da bolsa.

Aos meus amigos de longa data sempre presentes, mesmo distantes.

Muito Obrigada!



## RESUMO

A maçã 'Fuji' está entre as frutíferas de clima temperado mais produzida no sul do Brasil. Grande parte desta produção é armazenada e comercializada ao longo do ano. O mofo-azul é responsável por perdas durante o armazenamento e comercialização dos frutos. Os óleos essenciais têm sido usados para inibir o crescimento de micro-organismos, aliado aos óleos essenciais a combinação com ceras ou películas podem ser uma alternativa a aplicação dos OEs. Devido aos problemas recorrentes com podridões pós-colheita em maçãs 'Fuji' com o fungo *P. expansum* e, a crescente busca por produtos alternativos que buscam reduzir as aplicações de fungicidas no controle de podridões, surgiu a proposta de fazer uso de emulsão de quitosana e cera de carnaúba em combinação com óleos essenciais, visando a redução de podridão por mofo-azul na maçã 'Fuji'. O objetivo foi avaliar o efeito antifúngico da cera de carnaúba e quitosana em associação ao uso de óleos essenciais de citronela, cravo-da-índia, copaíba e canela sobre o crescimento do micélio em meio de cultura do *P. expansum* e o controle de mofo azul na pós-colheita de maçãs cultivar Fuji, bem como sobre a qualidade físico-química dos frutos, o perfil de compostos voláteis, o conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT) e a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD). A quitosana utilizada isoladamente e a quitosana associada com os OEs reduziram o crescimento do micélio em meio de cultura e o número de esporos de *P. expansum*. O crescimento de *P. expansum* em frutos de maçãs Fuji, no experimento em armazenamento refrigerado não foi alterado pelo tratamento com quitosana e quitosana mais OE, já no experimento aplicando os tratamentos após o armazenamento tanto a quitosana como a quitosana mais todos os OEs testados reduziram o crescimento do fungo nas duas safras analisadas (safra 2018/19 e safra 2019/20). No experimento pós-armazenamento a redução dos CFT da casca nos tratamentos com quitosana e quitosana mais OEs em ambas as safras, e a atividade enzimática da POD reduzida da casca, nos tratamentos com quitosana + OEs de citronela e cravo-da-índia, mostram que o efeito dos OEs e quitosana na redução do crescimento do fungo *in vivo* tem um efeito fungistático, já que os resultados na redução de CFT e atividade enzimática da POD foram obtidos somente no experimento pós-armazenamento, o qual teve redução do mofo azul. A utilização de biofilme, tanto no experimento em armazenamento refrigerado como pós-armazenamento, não causa alterações nos atributos de qualidade. Os compostos voláteis no experimento em armazenamento refrigerado, compostos como 2-metilbutanoato de etila, acetato de 2-

metilbutila e acetato de hexila tiveram redução nos tratamentos com OEs de cravo-da-índia e copaíba contribuindo para redução do sabor de maçãs “Fuji”. No experimento pós-armazenamento o acetato de etila, butanoato de etila e propionato de etila foram encontrados somente no tratamento controle, sendo estes aromas característicos de maçã, mostra que apesar de não ter sido detectado os compostos de OEs, há alteração da intensidade e composição do aroma dos frutos. A cera de carnaúba e a cera de carnaúba mais os OEs reduzem o crescimento em meio de cultura e o número de esporos de *P. expansum*. Os OEs de citronela, cravo-da-índia e canela, todos os OEs associados a cera de carnaúba reduzem a germinação de esporos. Há um aumento da perda de massa nos tratamentos com cera de carnaúba e redução na firmeza de polpa dos frutos com a utilização dos OEs, em condições ambiente e em armazenamento refrigerado. Os demais atributos de qualidade dos frutos não são alterados de forma consistente. Os tratamentos reduzem a severidade do mofo azul, tendo um menor teor de compostos fenólicos. O tratamento com OE de citronela teve menor AACPD e teve menor teor de compostos fenólicos. As enzimas SOD e POD apresentam comportamentos variados entre tratamentos. Não há presença de compostos voláteis característicos dos OEs ou da cera de carnaúba em frutos tratados. No experimento ambiente, o 1-butanol e o propionato de propila foram detectados somente no controle. O álcool (2E) -2-Hexenal tem maior quantidade detectada no tratamento controle. No experimento em armazenamento refrigerado o ácido 2-metilbutírico e o éster butirato de butila não são encontrados no tratamento controle. No pós-armazenamento, os ésteres butanoato de 2-metilhexila e butil 2-metilbutirato, são detectados em maior quantidade no tratamento controle.

**Palavras-chave:** *Malus domestica*(Borkh.), *Penicillium expansum*, biofilmes.

## ABSTRACT

### CARNAÚBA WAX AND CHITOSANA WITH ESSENTIAL OILS FOR CONTROL OF BLUE MOLD AND THE IMPACT ON THE QUALITY OF 'FUJI' APPLES

The 'Fuji' apple is among the most produced temperate fruit trees in southern Brazil. Much of this production is stored and marketed throughout the year. Blue mold is responsible for losses during the storage and marketing of fruits. Essential oils have been used to inhibit the growth of microorganisms, combined with essential oils the combination with waxes or films can be an alternative to the application of OEs. Due to recurrent problems with postharvest rot in 'Fuji' apples with fungus *P. expansum* and, the growing search for alternative products that seek to reduce fungicide applications in the control of rot, emerged the proposal to make use of chitosan emulsion and carnauba wax in combination with essential oils, aiming at reducing rot by blue mold in the apple 'Fuji'. The objective was to evaluate the antifungal effect of carnauba and chitosan wax in association with the use of essential oils of citronella, clove, copaiba and cinnamon on mycelium growth in culture medium *P. expansum* and the control of blue mold in the postharvest of fuji cultivar apples, as well as on the physical and chemical quality of the fruits, the profile of volatile compounds, the content of total phenolic compounds (CFT) and the activity of enzymes superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD). Chitosan used alone and chitosan associated with OEs reduced mycelium growth in culture medium and the number of spores *P. expansum*. The growth of *P. expansum* in fuji apple fruits, in the experiment in refrigerated storage was not altered by treatment with chitosan and chitosan plus OE, while in the experiment applying the treatments after storage to both chitosan and chitosan plus all tested OEs reduced the growth of the fungus in the two crops analyzed (2018/19 crop and 2019/20 crop). In the post-storage experiment, the reduction of the CFT of the bark in treatments with chitosan and chitosan plus OEs in both crops, and the enzymatic activity of reduced pod of the bark, in treatments with chitosan + citronella OEs and clove, show that the effect of OEs and chitosan in reducing the growth of the *in vivo* fundine has a fungistatic effect, since the results in the reduction of CFT and enzymatic activity of POD were obtained only in the post-storage experiment, which had a reduction of blue mold. The use of biofilm, both in the experiment in refrigerated storage and post-storage, does not cause changes in quality attributes. The volatile compounds in the experiment in refrigerated storage, compounds such as 2-

methylbutanoate ethyl, 2-methylbutyl acetate and hexyl acetate had a reduction in treatments with clove and copaiba OEs contributing to the reduction of the flavor of "Fuji" apples. In the post-storage experiment ethyl acetate, ethyl butanoate and ethyl propionate were found only in the control treatment, and these aromas are characteristic of apple, it shows that although the OEs compounds were not detected, there is a change in the intensity and composition of the fruit aroma. Carnauba wax and carnauba wax plus OEs reduce growth in culture medium and the number of spores *P. expansum*. Citronella, clove and cinnamon OEs, all OEs associated with carnauba wax reduce spore germination. There is an increase in mass loss in carnauba wax treatments and reduction in fruit pulp firmness with the use of OEs, in ambient conditions and in refrigerated storage. The other fruit quality attributes are not consistently altered. Treatments reduce the severity of blue mold, having a lower content of phenolic compounds. The treatment with citronella OE had lower AACPD and had lower phenolic compound content. SOD and POD enzymes exhibit varied behaviors between treatments. There is no presence of volatile compounds characteristic of OEs or carnauba wax in treated fruits. In the environmental experiment, 1-butanol and propyl propionate were detected only in the control. Alcohol (2E) -2-Hexenal has a higher amount detected in the control treatment. In the experiment in refrigerated storage, 2-methylbutyric acid and butyl butyrate are not found in the control treatment. In post-storage, the esters butanoate of 2-methylbutyric acid and butyl 2-methylbutyrate, are detected in greater quantity in the control treatment.

**Keywords:** *Malus domestica* (Borkh.), *Penicillium expansum*, biofilms.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Maçã ‘Fuji’ infectada por *P. expansum*. .....25
- Figura 2 - Maças ‘Fuji’ com aplicação de quitosana 1%. .....29
- Figura 3 - Crescimento do micélio de *P. expansum*, em meio de cultura aos três dias.  
Tratamentos: T1- controle (somente água), T2- quitosana 1%, T3 quitosana 1% +  
óleo essencial de citronela 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T4- quitosana 1% + óleo essencial de cravo-  
da-índia 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T5- quitosana 1% + óleo essencial de copaíba 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ . ...38
- Figura 4 - Crescimento do micélio de *P. expansum*, em meio de cultura aos cinco dias.  
Tratamentos: T1- controle (somente água), T2- quitosana 1%, T3- quitosana 1% +  
óleo essencial de citronela 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T4- quitosana 1% + óleo essencial de cravo-  
da-índia 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T5- quitosana 1% + óleo essencial de copaíba 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ . ...38
- Figura 5 - Descrição da cera utilizada, Cera FEC 35. O porcentual varia de acordo com os  
parâmetros analíticos de qualidade da cera de carnaúba, que são determinados após  
o recebimento das matérias-primas. ....58
- Figura 6 – Crescimento do micélio (%) *P. expansum* (%), *in vitro* aos três dias (temperatura  
23±5°C e 63±2%). Tratamentos: T1- controle (somente água), T2- Cera de carnaúba  
25%, T3- Cera de carnaúba 25%+ óleo essencial de citronela 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T4- Cera  
de carnaúba 25% + óleo essencial de cravo-da-índia 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T5- Cera de  
carnaúba 25% + óleo essencial de Canela, T6 – Cera de carnaúba 25% +, óleo  
essencial de copaíba 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ . ....65
- Figura 7 - Crescimento do micélio (%) *P. expansum*, *in vitro* aos quatro dias (temperatura  
23±5°C e 63±2%). Tratamentos: T1- controle (somente água), T2- Cera de carnaúba  
25%, T3- Cera de carnaúba 25%+ óleo essencial de citronela 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T4- Cera  
de carnaúba 25% + óleo essencial de cravo-da-índia 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T5- Cera de  
carnaúba 25% + óleo essencial de Canela 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T6 – Cera de carnaúba 25% +  
óleo essencial de copaíba 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ . ....65

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Crescimento do micélio (%), número e germinação (%) de esporos de *P. expansum*, aos três e cinco dias, mantidos em câmara de crescimento por 5 dias (23 °C, fotoperíodo de 12 horas) em meio de cultura BDA com ou sem quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500 µL L<sup>-1</sup>) aplicados por pulverização. ....39
- Tabela 2 - Perda de massa (%), taxa de produção de etileno (ηmol kg<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) e taxa respiratória (ηmol kg<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) em maçãs ‘Fuji’ (não inoculadas), colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500 µL L<sup>-1</sup>) e armazenadas por quatro meses sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR), mais aos sete dias em condição ambiente (Temperatura 23±5°C e 63±2%). .....41
- Tabela 3 - Atributos de cor da casca (L,C e h°), nas regiões mais e menos vermelha, em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com ou sem óleos essenciais (dose 500 µL L<sup>-1</sup>) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) durante quatro meses, mais sete dias em condição ambiente (Temperatura 23±5°C e 63±2%). .....42
- Tabela 4- Sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e firmeza de polpa em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500 µL L<sup>-1</sup>) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento, mais sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%). .....43
- Tabela 5- Área abaixo da curva de progresso da doença severidade (AACPDs), conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT; G EAG.100 g<sup>-1</sup>), em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500 µL L<sup>-1</sup>) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento, mais sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%). .....44
- Tabela 6 - Atividade das enzimas peroxidase (POD; DO<sup>-1</sup>mg de proteínas<sup>-1</sup> min) e superóxido dismutase (SOD; U<sup>-1</sup>ml<sup>-1</sup>mg de proteína) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500 µL L<sup>-1</sup>) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) durante 4 meses, na saída do armazenamento, mais 7 dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%). .....45
- Tabela 7 - Perfil de compostos voláteis identificados (área relativa %) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, safra 2018/2019 submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de

quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento, mais sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).....47

Tabela 8 - Atributos de cor (L, C e  $h^{\circ}$ ), nas regiões mais e menos vermelhas, em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ )..... 50

Tabela 9 - Teor de sólidos solúveis (SS;  $^{\circ}\text{Brix}$ ) acidez titulável (AT; % ácido málico) e firmeza de polpa (N) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera refrigerada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ )..... 51

Tabela 10 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AAPDS; cm), Teor de compostos fenólicos totais (CFT;  $\text{mg EAG.100 g}^{-1}$ ) e atividade das enzimas peroxidase (POD;  $\text{DO}^{-1}\text{mg de proteínas}^{-1}\text{ min}$ ) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera refrigerada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ )..... 52

Tabela 11- Perfil de compostos voláteis identificados (área relativa %) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safra 2018/19 e armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ )..... 55

Tabela 12 – Crescimento do micélio (%), número de esporos e germinação de esporos (%) de *P. expansum*, aos três e cinco dias (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ), mantidos em B.O.D. por cinco dias ( $23^{\circ}\text{C}$ , fotoperíodo de 12 horas) em meio de cultura BDA com ou sem cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba com diferentes óleos essenciais (dose 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ) aplicados por pulverização. .... 66

Tabela 13 - Atributos de cor (L, C,  $h^{\circ}$ ) lado mais e menos vermelho em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de

carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 $\mu\text{L L}^{-1}$ ), seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^\circ\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ).....	68
Tabela 14 - Perda de massa (%), taxa de produção de etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), e taxa respiratória ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 $\mu\text{L L}^{-1}$ ) seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^\circ\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ). .....	69
Tabela 15 - Sólidos solúveis (SS; °Brix), acidez titulável (AT; % ácido málico), firmeza de polpa (N) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 $\mu\text{L L}^{-1}$ ), seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^\circ\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ). .....	70
Tabela 16 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT; mg EAG.100 $\text{g}^{-1}$ ), da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 $\mu\text{L L}^{-1}$ ), seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^\circ\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ).....	71
Tabela 17 – Atividade das enzimas peroxidase (POD; $\text{DO}^{-1}\text{mg de proteínas}^{-1} \text{min}$ ) e Superóxido dismutase (SOD; $\text{U}^{-1}\text{ml}^{-1}\text{mg de proteína}$ ) da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 $\mu\text{L L}^{-1}$ ), seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^\circ\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ).....	73
Tabela 18 – Perfil de compostos voláteis identificados (área relativa %) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS na safra 2018/19, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 $\mu\text{L L}^{-1}$ ), seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^\circ\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ).....	74
Tabela 19 – Perda de massa (%), taxa de produção de etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), e taxa respiratória ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 $\mu\text{L L}^{-1}$ ), e armazenadas sob refrigeração (temperatura de $1\pm 0,2^\circ\text{C}$ e $92\pm 2\%$ de UR) durante 4 meses, na saída do armazenamento e aos 7 dias em condição ambiente.....	77
Tabela 20 – Atributos de cor da casca ( $L$ , $C$ °h) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 $\mu\text{L L}^{-1}$ ), e armazenadas sob refrigeração (temperatura de $1\pm 0,2^\circ\text{C}$ e $92\pm 2\%$ de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento e após sete dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^\circ\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ).....	78



Tabela 21 - Sólidos solúveis (SS; °Brix), acidez titulável (AT; % ácido málico), firmeza de polpa (N) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L <sup>-1</sup> ) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento, mais sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%). .....	79
Tabela 22 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT; mg EAG.100 g <sup>-1</sup> ), da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L <sup>-1</sup> ) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento, mais sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%). .....	80
Tabela 23 - Atividade das enzimas peroxidase (POD; DO <sup>-1</sup> mg de proteínas <sup>-1</sup> min) e Superóxido dismutase (SOD; U <sup>-1</sup> ml <sup>-1</sup> mg de proteína) da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L <sup>-1</sup> ) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) durante 4 meses, na saída do armazenamento, mais 7 dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%). .....	81
Tabela 24 – Perfil de compostos voláteis identificados (área relativa %) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC na safra 2018/19, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera carnaúba e cera de carnaúba com óleos essenciais, permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%). .....	83
Tabela 25 – Perda de massa (%) e podridão (%) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L <sup>-1</sup> ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%). .....	86
Tabela 26 – Taxas de produção de etileno (ηmol kg <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) e respiratória (ηmol kg <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L <sup>-1</sup> ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%). .....	87

Tabela 27 – Atributos de cor da casca ( $L$ , $C$ °h) no lado menos vermelho em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e $92\pm 2\%$ de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^{\circ}\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ).....	88
Tabela 28 – Sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável (AT; % ácido málico) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e $92\pm 2\%$ de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^{\circ}\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ).....	89
Tabela 29 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD; $\text{U}^{-1}\text{MI}^{-1}\text{mg}$ de proteína) da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e $92\pm 2\%$ de UR) por aproximadamente sete meses, inoculadas com <i>Penicillium expansum</i> Link. e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^{\circ}\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ).....	90
Tabela 30 – Atividade da enzima peroxidase (POD; $\text{DO}^{-1}\text{mg}$ de proteínas $^{-1}\text{min}$ ) e Superóxido dismutase (SOD; $\text{U}^{-1}\text{MI}^{-1}\text{mg}$ de proteína) da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e $92\pm 2\%$ de UR) por aproximadamente sete meses, inoculadas com <i>Penicillium expansum</i> Link. e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^{\circ}\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ).....	91
Tabela 31 - Conteúdo de compostos fenólicos totais ( $\text{mg EAG } 100\ \text{g}^{-1}\ \text{MF}$ ) da polpa e casca, em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e $92\pm 2\%$ de UR) por aproximadamente sete meses, inoculadas com <i>Penicillium expansum</i> Link. e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura $23\pm 5^{\circ}\text{C}$ e $63\pm 2\%$ ).....	92
Tabela 32 – Perfil de compostos voláteis identificados (área relativa %) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC na safra 2018/2019, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de	

1±0,2°C e 92±2% de UR) por aproximadamente 7 meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L<sup>-1</sup>), permanecendo 7 dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%). .....93

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Atmosfera controlada
AT	Acidez titulável
<i>h</i> <sup>o</sup>	Ângulo <i>hue</i>
AACPD	Área abaixo da curva de progresso da doença
BDA	Agar Batata Dextrose
CTF	Compostos fenólicos totais
C	Croma
CAT	Catalase
EDTA	Etilenodiaminotetracético
°Brix	Grau Brix
°C	Graus celsius
<i>L</i>	Lightness
mM	Milimolar
nmol	Nano mol
N	Newton
OE	Óleo essencial
OEs	Óleos essenciais
ppm	Parte por milhão
POD	Peroxidase
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SOD	Superóxido dismutase
rpm	Rotação por minuto
SS	Sólidos solúveis
UR	Umidade relativa
v/v	Volume por volume

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>24</b>
<b>2 UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CITRONELA, CRAVO-DA-ÍNDIA E COPAÍBA COM BIOFILME DE QUITOSANA PARA REDUÇÃO DE PODRIDÃO POR MOFO AZUL EM MAÇÃS ‘FUJI’. .....</b>	<b>31</b>
2.1 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
2.2.1 Experimento em meio de cultura .....	31
2.2.2 Experimento com maçãs ‘Fuji’ .....	32
2.2.2 Análises de Qualidade e de Compostos Bioativos.....	33
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
2.3.1 Crescimento do micélio, número e germinação de esporos .....	37
2.3.2 Experimento armazenamento refrigerado.....	39
2.3.3 Experimento aplicado pós-armazenamento.....	49
2.4 CONCLUSÃO.....	56
<b>3 REDUÇÃO DE PODRIDÃO POR MOFO AZUL EM MAÇÃS ‘FUJI’ COM A UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CITRONELA, CRAVO-DA-ÍNDIA, CANELA E COPAÍBA COM BIOFILME DE CERA DE CARNAÚBA.....</b>	<b>57</b>
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	57
3.2.1 Experimento em meio de cultura .....	58
3.2.2 Experimentos com maçãs ‘Fuji’ .....	59
3.3.3 Análises de Qualidade e de Compostos Bioativos.....	60
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
3.3.1 Crescimento do micélio, número e germinação de esporos .....	64
3.3.2 Experimento em condições ambiente.....	67
3.3.3 Experimento em armazenamento refrigerado.....	76
3.3.4 Experimento pós-armazenamento .....	85
3.4 CONCLUSÃO.....	95
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>96</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>97</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A maçã (*Malus domestica* Borkh.) está entre as frutíferas de clima temperado mais produzida no sul do Brasil. Grande parte desta produção é armazenada e comercializada ao longo do ano. A safra 2018/2019 foi de 1,02 bilhões de toneladas, segundo o anuário Hortifruti Brasil 2020. Deste total, Santa Catarina é responsável por aproximadamente 50% da produção (DE MARTIN et al., 2019). As maçãs ‘Fuji’, comparativamente a outras cultivares, como por exemplo ‘Gala’, são mais suscetíveis ao desenvolvimento de podridões durante o armazenamento (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2006). As podridões que ocorrem em pós-colheita podem ser iniciadas no campo ou nos períodos de colheita e pós-colheita (VALDEBENITO-SANHUEZA; BETTI, 2005).

O mofo azul pós-colheita causado por *Penicillium expansum* Link. é uma das principais doenças da maçã, que se dissemina rapidamente e trazem perdas econômicas (LI et al., 2017). A deterioração pós-colheita resultante de patógenos fúngicos é um problema que afeta a qualidade e o valor de comercialização das frutas em todo o mundo (Figura 1), além da crescente preocupação com a saúde ambiental e humana, aumenta a necessidade de se buscar meios alternativos para o controle de doenças (LI et al., 2017).

O índice médio de podridões de maçãs ‘Fuji’, após oito meses de armazenagem em atmosfera controlada (AC), pode chegar a 7%, sendo que, dependendo do ano, os índices de perdas, somente por podridões, podem ser superiores a 20% (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2010). O mofo azul com 27,5% de incidência no cultivar Gala e 24,6% na cultivar Fuji. (ARGENTA et al., 2017).

Figura 1- Maçã ‘Fuji’ infectada por *P. expansum*.



Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

A espécie *Penicillium expansum*, pertence ao filo Ascomycota, à classe Eurotiomycetes, e à ordem Eurotiales, mitospórico Trichocomaceae (GLOBAL CATALOGUE OF MICROORGANISMS, 2019). É um fungo que acomete os frutos na fase de pós-colheita, podendo em alguns casos produzir micotoxinas, como a patulina, que é produzido por todos os isolados de *P. expansum* (FRISVAD; SAMSON, 2004; PITT; HOCKING, 2013). As micotoxinas representam ameaça à saúde pública, pois podem causar sintomas crônicos e agudos em humanos e animais, incluindo vômitos, perdas na reprodução, redução de crescimento e imunossupressão. Além disso, são responsáveis por perdas financeiras significativas nas indústrias de alimentos, que armazenam, produzem e processam frutas e seus derivados (ERRAMPALLI, 2014).

O mofo-azul é responsável por perdas na fase de armazenamento e comercialização de frutos de macieira. É um patógeno necrotrófico, agressivo, que infecciona pontos de ferimentos, lesões ou pequenas fissuras na epiderme ou na região do pedúnculo, condições adequadas para a germinação de seus esporos (AGRIOS et al.; 2005). Argenta et al. (2017) avaliaram as podridões em maçã “Fuji” coletadas em mais de cem câmaras de armazenamento comercial (180 a 210 dias), sob AC, sendo a doença de maior ocorrência observada foi a podridão olho-de-boi, com 42,1%, e o mofo azul, com 24,6%.

O manejo das podridões pós-colheita pode ser realizado por meio do uso de fungicidas em pré ou pós-colheita (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2010). Ogoshi et al. (2019) relatam que a aplicação de fungicida em maçã pós-colheita, visando à armazenagem a médio e longo prazo, é uma ferramenta para o manejo das doenças fúngicas. Em países produtores de maçã, é permitida a aplicação dos fungicidas pirimetanil e fludioxonil em pós-colheita. Entretanto, no Brasil ainda não se tem fungicidas registrados para aplicação pós colheita. Diante disso, o setor produtivo tem demandado esforços dos órgãos governamentais reguladores para a rápida análise de produtos que estão em fase de registro no país (OGOSHI et al., 2019).

Apesar da importância de se obter o registro de fungicidas, é fundamental a busca de novas alternativas visando o manejo dessas enfermidades, visto que já tem relato de resistência de alguns fungos pós-colheita de maçã aos fungicidas como os princípios ativos pirimetanil e ao fludioxonil (LI; XIAO, 2008). Além disso, há uma preocupação constante da sociedade em relação à segurança do alimento e a contaminação do meio ambiente com os fungicidas sintéticos, a qual está cada vez mais exigente em relação a uma produção agrícola mais sustentável (OGOSHI et al., 2019).

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 OEs, por apresentarem diferentes mecanismos de ação, tornam difícil o aparecimento de resistência em populações microbianas (YAP et al., 2014).

Os OEs, 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 ou fungicidas (WOLFFENBUTTEL, 2010). Os OEs são constituídos por substâncias de baixo peso moleculares, geralmente lipofílicas, características que permitem uma penetração eficiente na membrana celular. Estudos comprovaram que os OEs penetram nos tecidos cerca de 100 vezes mais rapidamente que a água (PAWAR, 2006).

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no OEs de plantas pode se constituir, ao lado da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000). Trabalhos desenvolvidos com óleo essencial, têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de



composto(s) com característica(s) de elicitador(es) (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000). O fracionamento dos metabólitos secundários dessas plantas, bem como a determinação da atividade biológica dessas moléculas, com respeito à atividade elicitora ou antimicrobiana poderá contribuir para a aquisição de maiores conhecimentos que reforcem sua possível utilização como um método alternativo de controle de doença de plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

Os óleos essenciais de canela (*Cinnamomum zeylacium* Blume.), citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. e Perry), foram os mesmos utilizados por Vieira (2016) que através da análise de composição química dos óleos essenciais, observou-se que estes possuem uma diversa gama de componentes em quantidades. Os óleos essenciais de cravo-da-índia e canela apresentaram 87% de compostos fenólicos (fenilpropanoides) em sua composição, sendo eugenol o principal composto presente nestes óleos (86,6 e 82,7%, respectivamente).

Composição química do OE de Citronela: Limoneno (3,20%), Linalol (0,52%), Isopulegol (0,87%), Citronelal (36,18%), Isso-isopulegol (0,53%), Citronelol (12,82%), Geraniol (18,85%), Geranial (0,44%), Acetato de citronelol (3,6%), Eugenol (0,68%), Acetato de geranila (2,87%),  $\beta$ -elemeno (3%), Germacreno-D (2,13%),  $\alpha$ -muuroleno (0,92%), Germacreno-A (0,6%),  $\gamma$ -cadineno (0,91%),  $\delta$ -cadineno (3,52%), Elemol (4,24%), Germacreno-D-4-ol (0,7%),  $\gamma$ -eudesmol (0,52%), Muurolol (0,93%),  $\beta$ -eudesmol (0,51%), e  $\alpha$ -eudesmol (1,45%). A citronela é também conhecida como capim-citronela, cidró-do-Paraguai, citronela-de-Java e citronela-do-Ceilão. É amplamente encontrado nas regiões de clima tropical, seu óleo essencial é utilizado como antisséptico, fungicida, bactericida, antimicrobiano, acaricida e possui ação repelente de insetos. (MONTEIRO *et al.*, 2012).

O cravo-da-índia quando extraído o óleo essencial teve como composição química do OE de Cravo-da-índia: Eugenol (85,27%), Trans- $\beta$ -cariofileno (11,47%),  $\alpha$ -cariofileno (1,31%),  $\delta$ -cadineno (0,25%), Óxido de cariofileno (0,28%).

Composição química do OE de Canela utilizado foi:  $\alpha$ -Pineno (0,81%), Canfeno (0,25%),  $\beta$ -Pineno (0,21%),  $\alpha$ -Felandreno (0,96%),  $\rho$ - cimene (0,85%), Linalol (1,59%), E-cinamaldeído (0,94%), Safrol (1,09%), Eugenol (82,68%), Trans- $\beta$ -cariofileno (3,42%), Acetato de trans-cinamila (1,17%), Allo-aromadendreno (0,53%), Acetado de eugenol (2,25%), Benzoato de benzila (3,24%).

Já o OE de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.), a composição química de fábrica refere-se ao  $\beta$ -cariofileno (51%), como o composto majoritário do OE utilizado. A composição química dos óleos-resinas das espécies de copaiba observa-se a predominância de

sesquiterpenos, como o  $\alpha$ -humuleno,  $\alpha$  e  $\beta$ -selineno,  $\beta$ -bisaboleno e  $\beta$ -cariofileno (FEIBERT; LANGENHEIM, 1988; PINTO et al., 2000). O  $\beta$ -bisaboleno possui propriedades antiinflamatória e analgésica e o  $\beta$ -cariofileno é descrito na literatura como anti-edêmico, antiinflamatório, bactericida e insetífugo (VEIGA JR; PINTO, 2002).

Bakkali et al. (2008) também citam que óleos essenciais de cravo-da-índia e canela podem ter na sua composição principalmente compostos fenólicos. Estes autores observaram que cinamaldeído é o composto fenólico majoritário no óleo essencial de canela. Entretanto, o óleo essencial de canela utilizado nestes experimentos apresentou mais de 80% de eugenol e menos de 1% de cinamaldeído na sua composição. Alguns trabalhos têm destacado os fatores que podem influenciar na composição de óleos essenciais, sendo estes o método de extração (FISHER; PHILLIPS, 2008; FILIPPIS, 2001), fatores climáticos e fatores agronômicos, como, fertilização, irrigação e fase de desenvolvimento da planta no momento da extração (PAVIANI, 2004; MASOTTI et al., 2003), bem como o órgão da planta utilizado para a extração (raízes, frutos, folhas ou caule) (VARUGHESE et al., 2016).

Porém, dependendo a forma de aplicação dos OEs pode ocasionar aromas indesejáveis aos frutos. 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). Estudos que correlacionem películas comestíveis e óleos essenciais ainda são escassos (ZILLO, 2017). Wang et al. (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* Escherich., *Staphylococcus aureus* Rosenbach., *Aspergillus oryzae* Ahlburg. e *Penicillium digitatum* Pers.

O desenvolvimento de películas comestíveis e biodegradáveis tem ganhado espaço dentre as técnicas disponíveis para a conservação pós-colheita de frutos (Figura 2), principalmente como alternativa para reduzir impactos ambientais causados pelas embalagens plásticas (ZILLO, 2017). Visando a busca de controles alternativos de fungos fitopatogênicos, um dos produtos que vem sendo pesquisado é a quitosana, um polímero policatiônico  $\beta$ -1,4 ligado à D-glucosamina, definido como um diacetilato de quitina, sendo um polissacarídeo natural extraído da casca ou exoesqueleto de crustáceos como camarão, caranguejo, lagosta e de plantas como as algas marinhas (BOTELHO et al., 2010). A quitosana pode retardar o crescimento micelial, diminuindo a germinação de conídios e causar alterações morfológicas no tubo germinativo de algumas espécies de fitopatógenos (LIU et al., 2007). Em pH mais

elevado, as cadeias do biopolímero se aproximam, pela redução na protonação, o que resulta em maior viscosidade e em pH mais baixo, em razão da maior protonação nas cadeias, ocorre melhor dissolução da quitosana (SANTOS et al., 2003).

Figura 2 - Maças 'Fuji' com aplicação de quitosana 1%.



Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

Atualmente, as fontes de obtenção da quitina e quitosana exploradas a nível comercial têm sido oriundas de resíduos de crustáceos (FAI et al., 2008; GAVHANE et al., 2013). Entretanto, existem algumas limitações à utilização desses recursos, tais como: necessidade de ser bem triturado para obtenção de um fino pó; uso de soluções alcalinas fortes para realizar a desacetilação da quitina, que podem poluir o meio ambiente; dificuldade de adaptação das espécies de crustáceos a um determinado ambiente e possibilidade de os resíduos de proteínas causarem reações alérgicas (FRANCO et al., 2000; AMORIM et al., 2001). A produção de quitina e quitosana, a partir da biomassa micelial de fungos da ordem *Mucorales*, pode ser uma alternativa, uma vez que é um processo fácil e economicamente viável, podendo-se efetuar a extração simultânea de quitina e quitosana (SILVA, 2015). Além disso, esses biopolímeros não apresentam contaminação por proteínas e o cultivo do fungo é independente dos fatores de sazonalidade, pode ser realizado em larga escala, com fácil controle do pH e da concentração de nutrientes no meio fermentativo (FRANCO et al., 2000; AMORIM et al., 2006; STAMFORD et al., 2007).

Com relação à indução de respostas de defesa em plantas, a quitosana atua como eliciador ao desencadear mecanismos estruturais de resistência, como a formação de papilas, e

mecanismos bioquímicos, como a produção de fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese (CAVALCANTI et al., 2005). Em maçã, a capacidade da quitosana induzir resistência foi demonstrada por De Capdeville et al. (2002), quando inocularam *P. expansum* nos frutos tratados previamente com o polissacarídeo.

A cera de carnaúba pode ser utilizada para formação de revestimentos convencionais e nanoestruturados. Diferentes formulações, concentrações e aditivos podem ser estudados, otimizando a viscosidade da matriz e favorecendo suas propriedades mecânicas, térmicas e de barreira, além de prover caráter antimicrobiano e antifúngico a esses revestimentos inertes, que não apresentam atividade antimicrobiana (MIRANDA, 2015). Resultados de microscopia eletrônica mostram um efeito antifúngico da cera, que resultou na redução de doenças tanto em ameixas quanto em nectarinas (GONÇALVES et al.; 2010). Nesse contexto, o uso de tecnologias já conhecidas na área de revestimentos deve se aliar com a nanotecnologia, a qual se mostra uma ferramenta promissora para o desenvolvimento de novos materiais para a indústria alimentícia aplicada a manutenção da qualidade de frutas e hortaliças (MIRANDA, 2015). A cera de carnaúba é reconhecida como substância segura ao consumo humano (BRASIL, 2007). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) permite a adição de cera de carnaúba em embalagens destinadas a entrar em contato com alimentos ou matérias primas para alimentos através da resolução nº 123, de 19 de junho de 2001 (BRASIL, 2001).

Devido aos problemas recorrentes com podridões pós-colheita em maçãs ‘Fuji’ com o fungo *P. expansum* e, aliado a isso, a crescente busca por produtos alternativos que buscam reduzir as aplicações de fungicidas no controle de podridões e também a forma com que esses produtos serão aplicados nos frutos, surgiu a proposta de fazer uso de emulsão de quitosana e cera de carnaúba em combinação com óleos essenciais, visando a redução de podridão por *P. expansum* na maçã ‘Fuji’.

O objetivo foi avaliar o efeito antifúngico da cera de carnaúba e quitosana em associação ao uso de óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), cravo-da-índia (*Syzigium aromaticum* (L.) Merr. e Perry), copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) e canela (*Cinnamomum zeylacium* Blume) sobre o crescimento do micélio *in vitro* de *P. exapansum* e o controle de mofo azul na pós-colheita de maçãs cultivar Fuji, bem como sobre a qualidade físico-química dos frutos, o perfil de compostos voláteis, o conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT) e a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD).

## **2 UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CITRONELA, CRAVO-DA-ÍNDIA E COPAÍBA COM BIOFILME DE QUITOSANA PARA REDUÇÃO DE PODRIDÃO POR MOFO AZUL EM MAÇÃS ‘FUJI’.**

### **2.1 MATERIAL E MÉTODOS**

Foram realizados três experimentos, dois *in vivo* e um em meio de cultura. Os experimentos *in vivo* foram realizados com maçãs ‘Fuji’, em pré-armazenamento, com frutos da safra 2018/2019, produzidos em pomar comercial localizado no município de Vacaria, RS (50°42' W; 28°33' S; 955 m de altitude). E em pós-armazenamento, foi realizado com frutos das safras 2018/2019 e 2019/2020, oriundos de pomar comercial de São Joaquim, SC (49°56' W; 28°17' S; 1350 m de altitude). Os três experimentos formaram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, combinando quitosana (1%) e óleos essenciais (OE) de citronela; OE de cravo-da-índia; e OE de copaíba, sendo todos os OEs na dose de 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ . Nos experimentos *in vivo* os tratamentos foram aplicados até o completo recobrimento dos frutos com o auxílio de borrifadores por meio de pulverização. No experimento em meio de cultura os tratamentos também foram aplicados com o auxílio de borrifadores por meio de pulverização utilizando dois jatos, depois de colocar o disco com o micélio, como padrão para o recobrimento da placa de Petri com o biofilme.

O biofilme de quitosana (1%) foi obtido com a diluição de 10 g de quitosana em ácido acético 1% (10 ml de ácido acético em 1000 ml de água). Depois de totalmente diluída, foram adicionados a solução 1% de glicerina e 1% de Tween 20. Após a solução finalizada, os tratamentos que continham óleos essenciais foram adicionados 0,5 ml do óleo essencial e posteriormente sonicados em sonificador (BANDELIN, Sonoplus HD 2200, Alemanha), ponteira MS 72, em 4 séries de 2 minutos até a completa homogeneização da solução.

#### **2.2.1 Experimento em meio de cultura**

O experimento foi realizado em triplicata, sendo que em cada placa de Petri de vidro (diâmetro de 90 x 90 cm) foi isolado um disco de 0,7 cm de diâmetro com o fungo *P. expansum*, proveniente de colônias com sete dias de idade, o isolado de *P. expansum* foi proveniente de maçã ‘Fuji’ e foi fornecido pelo Laboratório de Fitopatologia da EPAGRI de Caçador, SC. As placas de Petri foram acondicionadas em câmara de crescimento no Laboratório de Fitopatologia, do CAV/UDESC, a 23 °C e fotoperíodo de 12 horas. Foram utilizadas 10 placas de Petri para cada tratamento, sendo cada placa de Petri uma repetição. Em cada tratamento

foram avaliados a porcentagem do crescimento do micélio (%) e o número de esporos, aos três e cinco dias após o isolamento, e o número e a viabilidade de esporos (%), aos sete dias após o isolamento.

Para determinar o número de esporos foi colocado 5 ml de uma solução de Tween 20 (0,05%) sobre as colônias de *P. expansum* nas placas de Petri, utilizado um bastão de vidro para liberação dos esporos e, com auxílio da câmara de Neubauer (hemacitômetro) sob o microscópio, foi contado o número de esporos, em uma amostra provinda de cada placa de Petri, utilizando-se cinco repetições por tratamento. Contaram-se os esporos da área quadriculada central da câmara de Neubauer. O número de esporos contados foi multiplicado por 10.000 para obter-se o número de esporos por ml de solução (FERNANDEZ, 1993).

A porcentagem de crescimento do micélio (%) foi avaliada fazendo análise de percentual de recobrimento da colônia de *P. expansum*.

A viabilidade de esporos (%) foi avaliada a partir da solução utilizada para a contagem do número de esporos aos cinco dias após o isolamento. Colocou-se 0,5 ml da solução de esporos em placas de Petri com meio ágar-água. As placas foram seladas e incubadas em câmara de crescimento a 23 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após 48 horas, com auxílio do microscópio, foram contados 100 esporos, e desses os esporos que apresentavam tubo germinativo igual ou superior ao seu tamanho foram considerados viáveis, foram utilizadas três repetições para cada tratamento.

### **2.2.2 Experimentos com maçãs ‘Fuji’**

Para o experimento em atmosfera refrigerada, após a colheita, os frutos foram transportados ao laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita do CAV/UEDESC, e analisados quanto aos atributos índices de iodo-amido (1-5) e de cor vermelha (0-100), firmeza de polpa, sólidos solúveis, acidez titulável, cor da epiderme em termos de ângulo *hue* ( $h^\circ$ ), *lightness* (*L*) e croma (*C*). Então os frutos foram padronizados por tamanho e separados por amostras.

Para o experimento pós-armazenamento, frutos armazenados em condição de AC, durante um período aproximado de sete meses, foram transportados ao laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita do CAV/UEDESC. Três amostras de 10 frutos foram analisadas quanto aos atributos firmeza de polpa, sólidos solúveis, acidez titulável e cor da epiderme, em termos de ângulo *hue* ( $h^\circ$ ), *lightness* (*L*) e croma (*C*). Os frutos restantes foram selecionados, homogêneos e então realizada a constituição das amostras, sendo avaliados os mesmos tratamentos do experimento em atmosfera refrigerada.

Cada tratamento foi constituído de quatro repetições de 15 frutos. No experimento em atmosfera refrigerada, os frutos foram inoculados com *P. expansum* e posteriormente aplicados os tratamentos e armazenados por um período de 30 dias em armazenamento refrigerado ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  / UR de  $90 \pm 5$ ). No experimento pós-armazenamento foram inoculados com *P. expansum*, posteriormente aplicados os tratamentos e analisados em condições ambiente por um período de sete dias. Os frutos destinados à inoculação foram perfurados na região equatorial em dois lados opostos com auxílio de um texturômetro eletrônico TAXT-Plus® (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, Reino Unido) equipado com ponteira de 2 mm de diâmetro e programado para perfurar 4 mm de profundidade e, então, foram inoculados com  $10^6$  esporos por ml de *P. expansum*. A suspensão de esporos foi preparada com água destilada esterilizada e 0,05% de Tween 20. Foi realizada a contagem do número de esporos com auxílio de uma câmara de Neubauer (hemacitômetro).

Em ambos experimentos os frutos inoculados foram avaliados quanto à severidade de podridão, teor de compostos fenólicos totais (casca e polpa), atividade enzimática: peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e perfil de compostos voláteis. Já os frutos não inoculados foram armazenados por um período de cinco meses ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  / UR de  $90 \pm 2\%$ ) e seguidos por sete dias em condições ambiente ( $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$  e  $63 \pm 5\%$ ) e, avaliados os seguintes atributos: incidência de podridão, firmeza de polpa, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), cor da epiderme em termos de ângulo *hue* ( $h^{\circ}$ ), *lightness/luminosidade* (*L*) e croma (*C*) e taxas respiratória e de produção de etileno.

### 2.2.2 Análises de Qualidade e de Compostos Bioativos

Os valores de AT (% ácido málico) foram obtidos através de uma amostra de 10 ml de suco, obtido pelo processamento dos frutos em uma centrífuga. Essa amostra foi diluída em 90 ml de água destilada e titulada com solução de NaOH 0,1N até pH 8,1, utilizando titulador automático (SCHOTT Instruments, TitroLine® Easy, Alemanha). Os teores de SS (°Brix) foram determinados em um refratômetro (Atago®, modelo PR201α, Japão), utilizando uma alíquota do suco obtido pelo processamento dos frutos.

A cor da casca foi avaliada em termos de valores de *Lightness/luminosidade* (*L*), croma (*C*) e ângulo '*hue*' ( $h^{\circ}$ ), com o auxílio de um colorímetro (Konica Minolta, modelo CR 400, Japão). As leituras foram realizadas em dois pontos opostos da região equatorial dos frutos (região mais e menos vermelha). O índice de cor vermelha foi determinado através de uma escala com índices de 1 a 4, em que o índice 1 indicou uma superfície pigmentada de vermelho

equivalente de 0 a 25% da superfície total do fruto, o índice 2 de 26 a 50%, o índice 3 de 51 a 75% e o índice 4 de 76 a 100% da superfície total do fruto.

A firmeza de polpa (N) foi determinada na região equatorial dos frutos, em duas superfícies opostas, após a remoção de uma pequena porção da epiderme, com auxílio de um penetrômetro eletrônico (GÜSS Manufacturing Ltd, África do Sul) equipado com ponteira de 7,9 mm de diâmetro.

O índice de iodo amido foi avaliado utilizando uma escala de 1 a 5. Onde, índice 1 indica o teor máximo de amido, e o índice 5 representa o amido totalmente hidrolisado.

Para a obtenção dos extratos, para a análise dos compostos fenólicos totais (CFT), utilizou-se 5 g da amostra (casca e polpa), que foi homogeneizado com 10 ml de metanol 50%. A solução permaneceu em repouso por 60 min à temperatura ambiente e em seguida foi centrifugada (Hitachi, CR22N, Japão) refrigerada (4 °C) por 20 min a 10.000 rpm. Filtrado o sobrenadante em balão volumétrico de 25 ml. A partir do resíduo da primeira extração foi adicionada 10 ml de acetona 70%, homogeneizado e colocado em repouso por mais 60 min à temperatura ambiente, e então centrifugado novamente por 20 minutos a 10.000 rpm. Transferiu-se o sobrenadante para o balão volumétrico (que contém o primeiro sobrenadante) e foi completado o volume para 25 ml com água destilada. Os extratos foram reservados para análise de CFT e atividade antioxidante total.

A determinação do teor de CFT foi realizada empregando o reagente de Folin-Ciocalteu, conforme descrita por Roesler et al. (2007). Inicialmente foi preparada a solução de ácido gálico, utilizando 10 mg de ácido gálico em 100 ml de metanol P.A. Em seguida foi preparada a solução de carbonato de sódio, para a qual foi usada 10 g do reagente e feita a diluição em água destilada em balão de 100 ml. A solução Folin-Ciocalteu foi diluída na proporção de 1:3 (Folin-Ciocalteu: Água Destilada). Para a obtenção da curva padrão do ácido gálico, foi pipetado em tubos de ensaio diferentes alíquotas de metanol e da solução de ácido gálico na concentração de 0, 10, 30, 50, 70, 90 e 100 ppm. Para análise foram adicionados em cada tubo, na ordem, 2,5 ml de Folin-Ciocalteu, 0,5 ml de amostra e 2,0 ml da solução de carbonato de sódio 10%. Para o branco, foram utilizados os mesmos reagentes citados anteriormente e 0,5 ml de metanol, substituindo a amostra. Os tubos foram agitados em vortex (Gehaka, AV-2, São Paulo), e vedados com parafilme e em seguida incubados por uma hora ao abrigo da luz. As amostras foram centrifugadas (Hitachi, CR22N, Japão) e a leitura realizada em leitora de microplacas no comprimento de onda de 765 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g da amostra (mg EAG 100 g<sup>-1</sup>).



A taxa de produção de etileno ( $\eta\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) foi quantificada por cromatografia gasosa. Frutos de cada repetição foram acondicionados em recipientes de 4,1 L, com fechamento hermético. As taxas de produção de etileno foram obtidas pela diferença da concentração de  $\text{C}_2\text{H}_4$ , no interior do recipiente, imediatamente após o seu fechamento e depois de meia hora. Após este período, utilizando uma seringa plástica de 1,0 ml, foram coletadas duas amostras da atmosfera do espaço livre destes recipientes, as quais foram injetadas em um cromatógrafo a gás, (PerkinElmer, Clarus 580 GC, USA).

A taxa respiratória do fruto foi quantificada com o uso de equipamento automático para controle de gases (Shelle, Alemanha). Frutos de cada repetição foram acondicionados em recipientes de 4,1 L, com fechamento hermético. A taxa respiratória foi obtida pela diferença da concentração de  $\text{CO}_2$ , no interior do recipiente, após o seu fechamento e depois de meia hora.

Todas as etapas necessárias ao processo de determinação da atividade enzimática foram executadas a  $4^\circ\text{C}$ . A extração das enzimas peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) foram realizadas conforme método descrito por Hammerschmidt et al., (1982), com modificações. Desta forma, em 0,5 g da amostra fresca (já macerado em nitrogênio líquido) foi adicionado 5 ml de tampão de fosfato de potássio (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), 0,100 M (pH 7,0) contendo 1 mM de polivinilpirrolidona insolúvel (PVPP) (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) e 1 mM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (Synth, Diadema, Brasil) para cada 100 ml de tampão, homogeneizado em ultra-turrax (Heidolph, SilentCruscher M, Alemanha), por 1 minuto e adicionado 0,1% de triton (v/v) (Vetec, Duque de Caxias, Brasil).

A atividade da enzima SOD foi determinada de acordo com o método descrito por Giannopolitis e Reis (1977), com modificações. As reações foram realizadas em três tubos. No primeiro tubo, determinado como branco, uma alíquota de 50  $\mu\text{L}$  de extrato bruto da amostra de polpa e 25  $\mu\text{L}$  de extrato bruto de casca, foi adicionada à 2,95 ml do meio de reação, composto pelo tampão de fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, metionina 13 mM, NBT 75  $\mu\text{M}$ , EDTA 100 nM e riboflavina 2 Nm, e permaneceram em reação cobertos por papel alumínio durante 10 minutos. O segundo tubo, chamado de controle, recebeu apenas a solução de trabalho, permanecendo pelo mesmo tempo de reação, porém recebendo luz. O terceiro tubo recebeu a solução de trabalho e as amostras, permanecendo por 10 minutos em reação sob luz. As leituras das amostras foram realizadas com auxílio de um leitor de microplacas (PerkinElmer, EnSpire, USA) no comprimento de onda de 560 nm. Os resultados foram  $\text{U}^{-1}\text{ml}^{-1}\text{mg}$  de proteína.

O extrato foi mantido em repouso por 15 min a  $8^\circ\text{C}$  e após centrifugado a 12.000 rpm por 10 min a  $4^\circ\text{C}$  em centrifuga (Hitachi, CR22N, Japão), 0,30 ml do sobrenadante foi usado

para ensaio enzimático. Imediatamente após a adição de 2,7 ml de uma mistura reacional contendo tampão fosfato de potássio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil): guaiacol: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5 ml: 0,0125 ml: 0,0163ml) (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), foi definida a atividade enzimática como o aumento da absorbância por minuto a 470 nm e o resultado foi expresso em DO/mg de proteínas /minuto.

Os compostos voláteis dos frutos foram isolados através da técnica de Solid phase microextraction (SPME). As análises foram realizadas em um sistema GC-MS (PerkinElmer, Alemanha), que consiste em um cromatógrafo gasoso (modelo Clarus 680 GC) acoplado a um espectrômetro de massas (modelo Clarus SQ 85). Em um vial com capacidade de 40 ml, selado com tampa de rosca e septo de silicone revestido com PTFE (Agilent Technologies, Alemanha), adicionou-se 1 g de amostra dos frutos (casca e polpa), 1 g de NaCl e 5 ml de água deionizada. A amostra foi então submetida a incubação de pré-extração (equilíbrio), sob agitação, durante 10 min à 30±1°C e em seguida a fibra SPME (CAR/PDMS) montada num holder foi exposta a fase gasosa da amostra durante 25 minutos. Posteriormente a fibra foi exposta, por 10 min para dessorção a 250 °C, no injetor do cromatógrafo. A coluna utilizada foi a HP5 e o gás de arraste utilizado foi hélio com fluxo de 1 ml min<sup>-1</sup>. A temperatura inicial foi de 30 °C, por 5 minutos, com uma rampa de aquecimento de 2 °C min<sup>-1</sup> até 120 °C, onde permaneceu nesta temperatura por três minutos, totalizando 34 minutos de corrida. A identificação dos compostos foi baseada na biblioteca do cromatógrafo, que indicou a probabilidade de similaridade de cada composto com os dados contidos no software.

Os dados de severidade de mofo azul obtidos foram utilizados para cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (VALE et al., 2004).

A AACPD foi determinada com a fórmula:

$$AACPD = \sum [(S_i + S_{i+1})/2 \cdot (T_{i+1} - T_i)]$$

Onde, AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença, severidade; S<sub>i</sub> = severidade da doença, diâmetro médio da lesão iésima observação; S<sub>i+1</sub> = severidade da doença, diâmetro médio da lesão na avaliação i + 1; T<sub>i</sub> = tempo em dias da iésima observação; T<sub>i+1</sub> = dias da avaliação i + 1. A S<sub>i</sub> foi calculada com a soma dos diâmetros médios das lesões, dividida pelo total de ferimentos ou de frutos. Foram 3 avaliações.

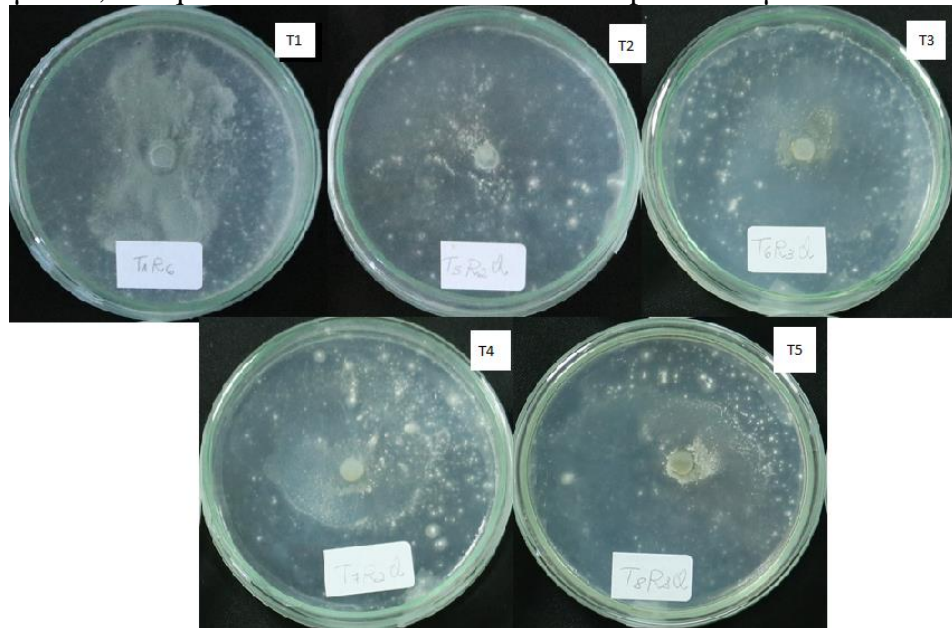
Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. Dados em porcentagem foram transformados para arco sen (x/100)<sup>0,5</sup>, antes de se proceder à análise estatística. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparam pelo teste de Tukey (p<0,05), com o auxílio do programa SAS (SAS Institute, 2002).

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 Crescimento do micélio, número e germinação de esporos

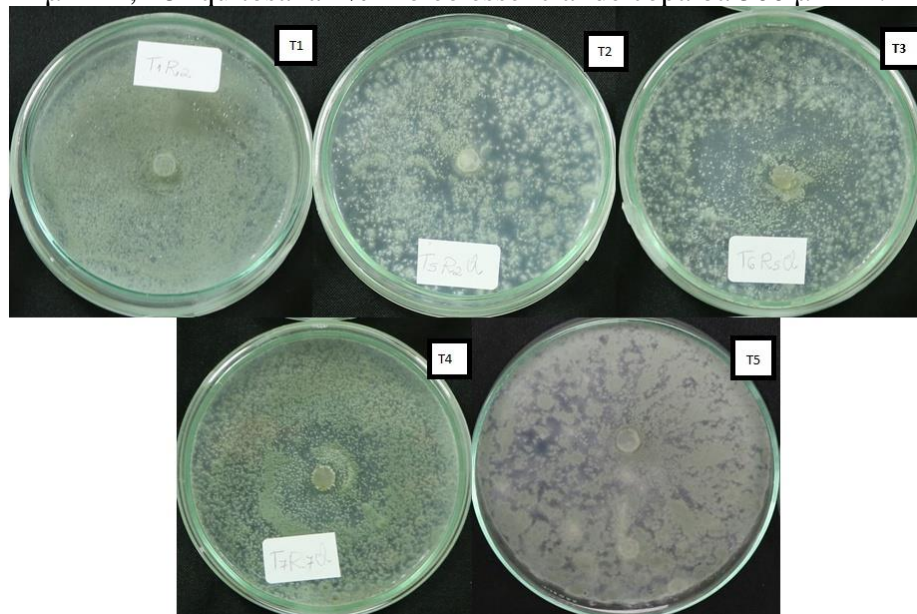
O crescimento do micélio, aos três (Figura 3 e Tabela 1) e cinco dias (Figura 4 e Tabela 1), apresentaram comportamento similar, onde os tratamentos com quitosana + OEs tiveram efeito na redução do crescimento do micélio em relação ao controle, porém aos três dias o tratamento com quitosana não diferiu do controle, e aos cinco dias também reduziu (tabela 1). Transformando os dados em porcentagem de controle, aos três dias o tratamento com quitosana + cravo-da-índia teve 44,25% de controle, já aos cinco dias apresentou 28,07 %. Já os demais tratamentos aos cinco dias a quitosana teve 14,88% de controle, quitosana + citronela 20,25% e a quitosana + copaíba 20,86 %. O número de esporos produzidos pelo patógeno em cada tratamento também seguiram o mesmo comportamento, onde a porcentagem de controle aos três dias foi de 46,1 % para quitosana, 59,9% para quitosana + OE citronela, 79,4 % para quitosana + OE cravo-da-índia e 45,3 % para quitosana + OE de copaíba. E aos cinco dias porcentagem de controle de 53,8 % para quitosana, 53,3 % para quitosana + OE citronela, 67,8 % para quitosana + OE cravo-da-índia e 79,9 % de quitosana + OE copaíba. Por outro lado, não houve diferença para germinação de esporos (Tabela 1). Em outros trabalhos foi possível verificar, em testes *in vitro*, redução no número de colônias de *P. expansum* com o aumento da concentração de quitosana incorporada no meio de cultura BDA, indicando que pode ocorrer uma inibição da germinação e do crescimento do micélio (CONAVER, 2012). Alguns autores observaram que podem ocorrer mudanças morfológicas no tubo germinativo, como excessivas ramificações, inchamento e redução do comprimento (FELIPINI; DI PIERO, 2009; EL GHAOUTH et al., 1992), além de alterações morfológicas a níveis celulares que vão desde alterações estruturais da parede à desintegração total do citoplasma, como resultado do tratamento com quitosana. Para Russiano et al. (2019), o óleo essencial de citronela é eficaz, por inibir 100% do crescimento micelial do fungo *P. expansum* *in vitro*. Os óleos essenciais agem na parede celular dos fungos, podendo ocasionar o vazamento do conteúdo celular (RUSSIANO et al., 2019). Este efeito pode estar associado à oxidação de lipídios da membrana celular induzida por alguns dos constituintes do óleo essencial (AMARAL; BARA, 2005).

Figura 3 - Crescimento do micélio de *P. expansum*, em meio de cultura aos três dias.  
Tratamentos: T1- controle (somente água), T2- quitosana 1%, T3 quitosana 1% + óleo essencial de citronela 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T4- quitosana 1% + óleo essencial de cravo-da-índia 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T5- quitosana 1% + óleo essencial de copaíba 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ .



Fonte: Elaborado pela autora, 2021

Figura 4 - Crescimento do micélio de *P. expansum*, em meio de cultura aos cinco dias.  
Tratamentos: T1- controle (somente água), T2- quitosana 1%, T3- quitosana 1% + óleo essencial de citronela 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T4- quitosana 1% + óleo essencial de cravo-da-índia 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , T5- quitosana 1% + óleo essencial de copaíba 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ .



Fonte: Elaborado pela autora, 2021

Tabela 1 - Crescimento do micélio (%), número e germinação (%) de esporos de *P. expansum*, aos três e cinco dias, mantidos em câmara de crescimento por 5 dias (23 °C, fotoperíodo de 12 horas) em meio de cultura BDA com ou sem quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500 µL L<sup>-1</sup>) aplicados por pulverização.

Tratamentos	Crescimento do micélio (%)		Número de esporos (*10 <sup>6</sup> )		Germinação de esporos no dia 5 após 48h.
	Dia 3	Dia 5	Dia 3	Dia 5	
Controle	71,8 a	88,7 a	77,2 a	193,1 a	6,7 ns
Quitosana	64,8 ab	75,5 b	41,6 b	89,2 b	9
Quitosana + Citronela	52,3 c	70,5 cb	30,9 bc	90,3 b	4,3
Quitosana + Cravo-da-índia	40,0 d	63,8 c	15,9 c	62,1 b	5,3
Quitosana + Copaíba	61,8 b	70,2 cb	42,2 b	56,1 b	9,6
CV (%)	12,3	7,9	19,7	21,8	42,1

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ns: diferença não significativa. Resultados são as médias das triplicatas. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Para Conaver (2012), foi possível detectar redução do comprimento do tubo germinativo de *P. expansum* e de *Botrytis cinerea* De Bary. com o aumento da concentração de quitosana no meio, até mesmo uma completa inibição da germinação de esporos dependendo da concentração utilizada. Os dois fitopatógenos responderam de forma diferente quanto à concentração de quitosana necessária para causar algum efeito antifúngico sobre a fase de germinação de esporos. A germinação de esporos de *P. expansum* foi completamente inibida pela concentração de 50 µg ml<sup>-1</sup>, enquanto para *B. cinérea* apresentou redução na germinação de esporos somente na concentração de 500 µg ml<sup>-1</sup> (CONAVER, 2012). Para Vieira et al. (2018), os OEs de canela, citronela e cravo reduziram a viabilidade de esporos de *P. expansum*. de 58 a 63%, após 24 horas de indução à germinação. No entanto, após 48 horas de indução, a viabilidade não diferiu daquela do controle. Os óleos essenciais reduziram o número de esporos de fungos em ambas as concentrações (100 e 500 µL L<sup>-1</sup>), em comparação com o tratamento de controle, os óleos de canela, cravo-da-índia e citronela inibiram em cerca de 80% o crescimento de *P. expansum* a 100 µL L<sup>-1</sup> (Vieira et al., 2018). Em trabalho realizado com OEs para o controle de *Fusarium sp*, o óleo de copaíba foi eficiente na redução da esporulação (SILVA, 2019).

### 2.3.2 Experimento armazenamento refrigerado

Na colheita, os frutos apresentaram, em relação à cor, *L* 45,2, *C* 31,9 e *h*° 70,5, no lado mais vermelho, e *L* 70,2, *C* 34,5 e *h*° 96,6, no lado menos vermelho, índice de cor vermelha foi

de 3,75, SS de 12,2 °Brix, AT de 0,32 % de ácido málico, índice iodo-amido igual a 4,0 e firmeza de polpa de 71,6 N.

Não houve diferenças em relação à perda de massa, em frutos não inoculados, durante o armazenamento (Tabela 2). O fato de não ter sido observado efeito do biofilme em parâmetros como perda de massa pode estar relacionado ao fato de que biofilmes elaborados a partir de polissacarídeos ou proteínas possuem excelentes propriedades mecânicas e ópticas, porém são sensíveis a umidade e apresentam alto coeficiente de permeabilidade ao vapor d'água (FONTES, 2005). Dessa forma, a sensibilidade a umidade do biofilme pode reduzir sua função de proteção. Além disso, pode estar relacionado ao pH da solução. A quitosana é bastante influenciada pelo pH do meio, pois este altera a protonação dos grupamentos amino e altera sua capacidade de solvatação (MALDONADO et al., 2017). Em pH mais elevados, as cadeias de quitosana se aproximam devido à redução da protonação, o que aumenta a viscosidade (MALDONADO et al., 2017). Por outro lado, em pH mais baixos, em razão do aumento da protonação, ela se torna mais solúvel em meio aquoso (FELIPINI; DI PIERO, 2009).

A taxa de produção de etileno, na saída da câmara, foi menor nos tratamentos com quitosana + OE de citronela e quitosana + OE de copaíba, e a taxa respiratória do fruto também foi menor no tratamento com quitosana + OE de citronela (Tabela 2). A redução da taxa respiratória e de produção de etileno pode manter a qualidade do fruto por um período maior. Em trabalho realizado por Vieira (2016), o uso de óleos essenciais apresentou resultados semelhantes na taxa de produção de etileno com a utilização de óleo essencial de citronela, em maçãs imersas em distintas soluções, reduzindo a taxa de produção de etileno dos frutos ( $0,355 \mu\text{mol kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). Jhalegar et.al. (2015) observaram, em citros, redução na taxa de produção de etileno quando utilizado  $600 \mu\text{L L}^{-1}$  do óleo essencial de cravo-da-índia. Entretanto, Varughese et al. (2016) relatam que a variação de compostos produzidos em óleos essenciais de mesma espécie pode influenciar de forma diferente sobre a produção de etileno. Após sete dias em condições ambiente, simulando um período de comercialização, da mesma maneira que na saída do armazenamento, o tratamento com quitosana + OE de citronela proporcionou menores taxas respiratória e de produção de etileno (Tabela 2). Rabbany e Mizutani (1996) observaram que maçãs tratadas com citronelal,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e  $\rho$ -cimeno tiveram reduzida taxa de produção de etileno, devido uma redução nos níveis de ácido 1-carboxi-1-amino-ciclopropano (ACC) nos frutos. Todavia, os autores também observaram que a redução devido ao tratamento com citronelal, principal componente do óleo essencial de citronela (VIEIRA et al., 2018), foi mais acentuado que nos demais compostos.

Tabela 2 - Perda de massa (%), taxa de produção de etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) e taxa respiratória ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) em maçãs ‘Fuji’ (não inoculadas), colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose  $500 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e armazenadas por quatro meses sob refrigeração (temperatura de  $1\pm 0,2^\circ\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR), mais aos sete dias em condição ambiente (Temperatura  $23\pm 5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Perda de massa (%)	Etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ )		Taxa respiratória ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	
		Dia 0	Dia 7	Dia 0	Dia 7
Controle	2,22 ns	0,17 ab	0,35 ab	141,5 a	148,5 ab
Quitosana	2,22	0,22 a	0,45 a	119,6 ab	162,3 a
Quitosana + Citronela	2,98	0,08 c	0,16 c	105,8 b	115,9 c
Quitosana + Cravo-da-índia	2,91	0,14 bc	0,26 bc	111,4 ab	136,7 abc
Quitosana + Copaíba	2,72	0,10 c	0,21 bc	119,9 ab	129,6 bc
CV (%)	11,8	20	24,5	12,28	10,1

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Na saída do armazenamento, em relação a coloração do fruto, o tratamento com quitosana apresentou redução do C, no lado mais vermelho (Tabela 3). Os valores de C em mangas ‘Tommy Atkins’ foram menores com quitosana, indicando a marcante influência da quitosana em retardar a evolução da coloração (AZERÊDO et al., 2016). Em relação aos atributos de cor, na região mais vermelho, o C foi menor em todos os tratamentos com quitosana (com ou sem OE). Na região menos vermelha (cor de fundo) os tratamentos com quitosana e quitosana + OE de citronela e quitosana + OE de cravo apresentaram menores valores para L, e o C novamente foi menor utilizando quitosana + OE de citronela (Tabela 3).

Tabela 3 - Atributos de cor da casca (L,C e  $h^\circ$ ), nas regiões mais e menos vermelha, em maçãs 'Fuji', colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com ou sem óleos essenciais (dose 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de  $1\pm 0,2^\circ\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) durante quatro meses, mais sete dias em condição ambiente (Temperatura  $23\pm 5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Dia 0					
	<i>Mais vermelho</i>			<i>Menos vermelho</i>		
	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>h<sup>o</sup></i>	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>h<sup>o</sup></i>
Controle	45,6 ns	32,8 a	40,9 ab	70,2 ns	37,7 ns	97,2 ns
Quitosana	45,9	30,1 b	43,0 a	69,9	36,6	97,7
Quitosana + Citronela	43,8	31,7 ab	36,6 b	68,9	35,9	92,6
Quitosana + Cravo-da-índia	45,2	31,5 ab	40,5 ab	69,1	37	94,6
Quitosana + Copaíba	44,5	32,1 a	38,9 ab	69	36,6	93,8
CV (%)	2,81	2,81	2,91	1,72	2,28	3,09
Tratamentos	Dia 7					
	<i>Mais vermelho</i>			<i>Menos vermelho</i>		
	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>h<sup>o</sup></i>	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>h<sup>o</sup></i>
Controle	45,9 ns	33,6 a	43,1 ns	71,2 a	39,9 a	97,0 ns
Quitosana	45,5	28,9 b	43,9	68,3 b	39,3 ab	96,9
Quitosana + Citronela	43,8	30,0 b	41,3	68,2 b	37,6 b	96,5
Quitosana + Cravo-da-índia	44,9	30,7 b	44,1	67,9 b	39,4 ab	99,7
Quitosana + Copaíba	43,6	30,1 b	41,8	68,6 ab	38,3 ab	97,6
CV (%)	3,59	2,78	8,66	1,86	2,31	2,68

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Os teores de SS não apresentaram diferença entre o tratamento controle e os tratamentos com quitosana e quitosana combinada com os óleos essenciais avaliados. A AT foi maior nos frutos dos tratamentos com quitosana + OE de citronela e quitosana + OE de copaíba. A manutenção da AT é importante para garantir o equilíbrio com os teores de açúcares. A manutenção da AT dos frutos pode estar relacionada ao menor consumo dos ácidos no ciclo dos ácidos tricarbóxicos, pela redução na atividade respiratória (ALVES et al., 2009).



Tabela 4- Sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e firmeza de polpa em maçãs 'Fuji', colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento, mais sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	SS ( $^{\circ}\text{Brix}$ )	AT (%)	Firmeza de polpa (N)
Controle	13,3 ab	0,23 bc	66,5 b
Quitosana	12,5 b	0,21 c	67,0 ab
Quitosana + Citronela	12,9 ab	0,26 a	69,9 a
Quitosana + Cravo-da-índia	13,5 ab	0,24 ab	67,1 ab
Quitosana + Copaíba	13,7 a	0,26 a	68,8 ab
CV (%)	3,59	5,52	2,28

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Em relação a firmeza de polpa, o tratamento com quitosana + OE de citronela obteve maior firmeza de polpa (Tabela 4). Quanto mais baixa a concentração de etileno maior a retenção da firmeza da polpa (BRACKMANN et al., 2000). Para Vieira et al. (2018), não houve alterações na firmeza da polpa de maçãs 'Fuji' submetidas a tratamentos com óleos essenciais após cinco meses de armazenamento refrigerado, seguido de sete dias em temperatura ambiente.

A aplicação de quitosana e a combinação de quitosana com os óleos essenciais avaliados não diferiram do controle para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPDS). Todavia, o tratamento com quitosana + OE de cravo-da-índia teve menor AACPDS do que o tratamento quitosana (Tabela 5). Em relação à porcentagem de controle o tratamento com quitosana + OE de citronela foi de 10,8 %, quitosana + OE de cravo-da-índia de 13,7 % e quitosana + OE de copaíba de 4,1%. Mesmo não diferindo do controle os tratamentos com OE de citronela e cravo-da-índia tiveram menores AACPD, onde a porcentagem de controle foi de 10,8 % com OE de citronela e 13,7 % com OE de cravo-da-índia. A ação antimicrobiana do óleo de cravo-da-índia foi atribuída ao eugenol e cariofileno, principais constituintes desta espécie (COMBRINCK et al., 2011). A atividade antifúngica de óleos essenciais pode estar relacionada com sua hidrofobicidade, as quais os permitem interagir com os lipídios da parede, membrana celular e da mitocôndria, alterando a permeabilidade e causando distúrbios nessas estruturas (FRANCO; BETTIOL, 2002). Os óleos essenciais e a quitosana foram eficientes em reduzirem a incidência da podridão seca em cachos da cv. Itália (BENATO et al., 2018). No entanto, em relação à severidade apenas os óleos de citronela e menta, na concentração de 1,5%, mantiveram a capacidade de reduzir a doença em 30 e 29,2%, respectivamente (BENATO et

al., 2018). Badawy e Rabea (2009) mostraram que quitosana com peso molecular médio promoveu um excelente controle do bolor cinza (*B. cinerea*) em tomates e aumentou o conteúdo de proteínas total e composto fenólicos totais. Por outro lado, a quitosana com baixo peso molecular foi eficaz na redução da podridão dos cítricos causada por *P. digitatum* (CHIEN et al., 2007).

Tabela 5- Área abaixo da curva de progresso da doença severidade (AACPDS), conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT; 44G EAG.100 g<sup>-1</sup>), em maçãs 'Fuji', colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500 µL L<sup>-1</sup>) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento, mais sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%).

Tratamentos	AACPDS	CFT (mg EAG 100 g <sup>-1</sup> MF)	
		Polpa	Casca
Controle	8,76 ab	30,9 ns	366,6 a
Quitosana	8,87 a	28,6	265,9 b
Quitosana + Citronela	7,81 ab	29,8	356,8 a
Quitosana + Cravo-da-índia	7,56 b	29,2	304,1 b
Quitosana + Copaíba	8,40 ab	30,6	280,4 b
CV (%)	5,96	4,05	5,75

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Em relação aos CFT na polpa, não houve diferença entre os tratamentos avaliados, porém na casca houve redução no teor de CFT nos tratamentos com quitosana, quitosana + OE de cravo-da-índia e quitosana + OE de copaíba (Tabela 5). Os resultados foram o contrário dos obtidos por XING et al. (2011) que além de sua atividade antifúngica, a quitosana também teve potencial para induzir conteúdos fenólicos em frutas, resultados indicaram que os compostos fenólicos solúveis totais em frutas tratadas com quitosana aumentaram significativamente com o aumento da concentração de quitosana.

A atividade enzimática da enzima POD na polpa foi maior no tratamento com quitosana + OE de citronela. Porém, a atividade da POD na casca e da SOD, na casca e polpa, não diferiram entre tratamentos (Tabela 6). O aumento na atividade de peroxidases, associado aos ferimentos, é indicativo da oxidação de compostos fenólicos e da biossíntese de lignina, que atua como barreira à infecção microbiana (FELIPINI; DI PIERO, 2009). A reação ocorre em células vizinhas às infectadas ou feridas, as quais direcionam um sistema de defesa à área do ferimento (CAMPOS et al., 2004). Felipini e Di Piero (2009) constataram redução das lesões

por *Colletotrichum acutatum* Simmonds., em maçãs ‘Fuji’ submetidas à imersão pós-colheita em soluções com diferentes concentrações de quitosana. Segundo os autores, a quitosana não aumentou a atividade da enzima peroxidase em maçãs, mas reduziu a severidade da doença nos frutos, a germinação dos conídios e o crescimento micelial do fungo. A ausência de efeito de tratamentos sobre a atividade da SOD, na casca e polpa, e da POD, na casca, pode ser decorrente do momento em que foi realizada a análise sete dias após os frutos serem inoculados. Resultado similar foi obtido por Alamino et al. (2013), onde não foram detectadas diferenças significativas entre os frutos de maçã tratadas e não tratadas com eliciadores quanto à atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase, superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, provavelmente, pelo fato de a atuação das enzimas já estar reduzida no momento da avaliação (72 horas após a inoculação do fungo e 84 horas após a aplicação dos eliciadores e de ferimentos nos frutos).

Tabela 6 - Atividade das enzimas peroxidase (POD;  $\text{DO}^{-1}\text{mg de proteínas}^{-1}\text{ min}$ ) e superóxido dismutase (SOD;  $\text{U}^{-1}\text{ml}^{-1}\text{mg de proteína}$ ) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose  $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de  $1\pm 0,2^\circ\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) durante 4 meses, na saída do armazenamento, mais 7 dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	POD ( $\text{DO}^{-1}\text{mg de proteínas}^{-1}\text{ min}$ )		SOD ( $\text{U}^{-1}\text{ml}^{-1}\text{mg de proteína}$ )	
	Polpa	Casca	Polpa	Casca
Controle	21,9 b	337,1 ns	54,6 ns	438,8 ns
Quitosana	15,9 b	301,9	57	246,3
Quitosana + Citronela	31,7 a	263	55,3	422,1
Quitosana + Cravo-da-índia	14,9 b	343,9	62,1	375,1
Quitosana + Copaíba	14,5 b	304,9	52,7	353,1
CV (%)	15,5	12,5	15,26	12,7

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Não foi identificado a presença de compostos voláteis dos óleos essenciais nos frutos, independentemente do tratamento (Tabela 7). Vieira (2016) observou que o tratamento pós-colheita de maçãs ‘Fuji’ com óleos essenciais, tanto por imersão quanto por volatilização, alterou o perfil de compostos voláteis após o armazenamento. Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que a aplicação dos óleos essenciais avaliados associado com quitosana não causou substancial alteração do aroma de maçãs ‘Fuji’. Em trabalho realizado por Janzanntti et al. (2000) a classe química predominante de compostos voláteis da maçã ‘Fuji’ foi

a dos ésteres, compreendendo, butanoato de metila, acetato de isobutila, 2-metil butanoato de metila, butanoato de etila, propionato de propila, acetato de butila, 2-metil butanoato de etila, acetato de 2-metil butila, butanoato de propila, valerato de etila, propionato de butila, acetato de amila, hexanoato de metila, 2-metil butanoato de propila, butanoato de butila, hexanoato de etila, acetato de hexila, acetato de ciclo hexila, 2-metil butanoato de butila, hexanoato de propila, propionato de hexila, 2-metil butanoato de amila, hexanoato de butila, butanoato de hexila, 2-metil butanoato de hexila, hexanoato de isoamila, hexanoato de hexila e octanoato de isoamila. O terpeno  $\alpha$ -farneseno e o aldeído hexanal também foram identificados entre os compostos voláteis (JANZANNTTI et al., 2000).

Os compostos 2-etil hexanol e o propionato de etila, álcool e éster, respectivamente, não foram detectados nos frutos controle, mas foram detectados nos demais tratamentos. O ácido acético foi identificado somente nos tratamentos com quitosana + OE de cravo-da-índia e quitosana + OE de copaíba, sendo que nesses tratamentos não foi identificado o propanoato de butila. No tratamento com quitosana + OE de cravo-da-índia não foram detectados os compostos acetato de propila e hexanoato de propila (Tabela 7). O álcool 2-Hexenal, reduziu com a utilização dos OE. O 2-hexenal tem propriedades fungicidas, onde a atividade fungicida do 2-hexenal pode ser atribuída as elevadas propriedades eletrofílicas do grupo carbonila adjacente à ligação dupla que tornam este composto particularmente reativo com nucleófilos, como a proteína sulfidril e os grupos amino do patógeno (NERI et al., 2006). Porém, os óleos essenciais utilizados reduzem o 2-hexenal. O 1-Hexanol aumentou com os OE. Sabe-se que o 1-hexanol favorece a produção de acetato de hexila (HARB et al., 1994) e a concentração desse álcool diminui durante o período de vida de prateleira em maçãs 'Fuji' (ECHEVERRIA et al., 2003). Os ésteres acetato de hexila, etanoato de butila, 2-Metilbutil acetato reduziram com os OE de cravo-da-índia e copaíba. Para Echeverria et al. (2004), o 2-metilbutanoato de etila, acetato de 2-metilbutila e acetato de hexila foram os compostos que contribuem para o sabor "Fuji", na colheita e após o armazenamento. A utilização dos OE pode ter alterado esses compostos nos frutos, reduzindo os aromas da maçã.

Tabela 7 - Perfil de compostos voláteis identificados (área relativa %) em maçãs 'Fuji', colhidas em Vacaria, RS, safra 2018/2019 submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de  $1\pm 0,2^\circ\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento, mais sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Composto	Área (%)					Classe
	Controle	Quitosana 1%				
		Quitosana	Citronela	Cravo-da-índia	Copaíba	
ácido 2-metilbutírico	$0,46 \pm 0,16$	$0,48 \pm 0,10$	$0,28 \pm 0,06$	$0,34 \pm 0,15$	$0,26 \pm 0,30$	ácido
ácido acético	nd	nd	nd	$0,33 \pm 0,66$	$0,67 \pm 0,81$	ácido
1-butanol	$3,79 \pm 1,12$	$6,26 \pm 3,01$	$3,60 \pm 0,38$	$3,56 \pm 1,48$	$3,91 \pm 0,21$	álcool
2-etilhexanol	nd	$1,65 \pm 0,20$	$2,30 \pm 0,79$	$2,91 \pm 0,16$	$3,38 \pm 0,80$	álcool
2-metil-1-butanol	$6,31 \pm 2,72$	$5,60 \pm 0,80$	$5,95 \pm 1,03$	$7,43 \pm 7,78$	$5,87 \pm 0,92$	álcool
2-hexenol	$2,36 \pm 4,05$	$0,78 \pm 0,19$	$0,96 \pm 0,40$	$0,69 \pm 0,22$	$0,76 \pm 0,68$	álcool
1-hexanol	$5,03 \pm 2,23$	$12,59 \pm 3,67$	$12,38 \pm 3,17$	$11,85 \pm 6,84$	$14,15 \pm 3,16$	álcool
2-hexenal	$14,76 \pm 3,37$	$13,90 \pm 6,67$	$6,87 \pm 4,56$	$6,71 \pm 3,80$	$7,57 \pm 3,63$	aldeído
hexanal	$29,16 \pm 14,78$	$20,28 \pm 1,74$	$25,97 \pm 4,94$	$23,18 \pm 11,16$	$28,21 \pm 4,07$	aldeído
acetato de etila	$1,26 \pm 0,38$	$1,32 \pm 0,18$	$4,08 \pm 2,95$	$2,74 \pm 1,95$	$2,65 \pm 1,01$	éster
acetato de butila	$9,38 \pm 1,71$	$7,90 \pm 0,31$	$8,89 \pm 1,41$	$3,54 \pm 1,53$	$5,15 \pm 1,09$	éster
acetato de propila	$1,57 \pm 0,43$	$1,39 \pm 0,06$	$1,72 \pm 0,28$	nd	$0,34 \pm 0,69$	éster
acetato de hexila	$4,05 \pm 0,96$	$3,13 \pm 0,38$	$4,19 \pm 1,06$	$1,25 \pm 0,60$	$2,19 \pm 0,55$	éster
butil 2-metilbutirato	$0,69 \pm 0,50$	$1,53 \pm 0,35$	$0,74 \pm 0,13$	$0,93 \pm 0,46$	$1,25 \pm 0,30$	éster
butirato de etila	$0,98 \pm 0,40$	$1,49 \pm 0,14$	$1,24 \pm 0,14$	$5,32 \pm 5,18$	$4,27 \pm 4,60$	éster
butirato de butila	$0,55 \pm 0,15$	$0,64 \pm 0,15$	$0,35 \pm 0,05$	$10,62 \pm 19,94$	$0,41 \pm 0,33$	éster
butirato de propila	$0,54 \pm 0,16$	$0,55 \pm 0,10$	$0,36 \pm 0,05$	$0,45 \pm 0,23$	$0,14 \pm 0,27$	éster
butirato de 2-metilhexila	$1,43 \pm 1,04$	$5,39 \pm 2,87$	$1,52 \pm 0,74$	$2,63 \pm 0,85$	$3,79 \pm 1,11$	éster
hexilbutirato	$1,21 \pm 0,81$	$1,18 \pm 0,77$	$0,90 \pm 0,30$	$1,58 \pm 0,37$	$1,68 \pm 0,27$	éster
hexanoato de etila	$0,26 \pm 0,16$	$0,26 \pm 0,03$	$0,29 \pm 0,04$	nd	$0,12 \pm 0,24$	Éster

Composto	Área (%)					Classe
	Controle	Quitosana 1%				
		Quitosana	Citronela	Cravo-da-índia	Copaíba	
2-metilbutil acetato	12,80 ± 2,34	9,87 ± 0,63	13,41 ± 2,92	3,96 ± 3,01	7,49 ± 1,77	éster
2-metilbutirato de etila	0,96 ± 0,34	1,02 ± 0,11	1,32 ± 0,71	6,30 ± 3,21	2,48 ± 2,87	éster
propionato de etila	nd	0,28 ± 0,19	0,60 ± 0,34	0,25 ± 0,50	0,25 ± 0,49	éster
propanoato de butila	0,59 ± 0,12	0,81 ± 0,24	0,22 ± 0,25	nd	nd	éster
alfa – farneceno	1,88 ± 0,14	1,34 ± 0,86	1,67 ± 0,56	1,81 ± 0,74	3,01 ± 1,65	Sesquiterpeno

Fonte: PubChem Compound Summary. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>. Acesso: janeiro, 2021. nd: não identificado. Elaboração da autora, 2021

### 2.3.3 Experimento aplicado pós-armazenamento

Na safra 2018/19 os frutos, no momento da instalação do experimento, apresentaram os atributos de cor  $L$  de 37,9,  $C$  de 34,2 e  $h^\circ$  de 29,8, na região do fruto mais vermelha, e  $L$  de 68,8,  $C$  de 38,4 e  $h^\circ$  de 86,9, na região menos vermelha do fruto, SS de 14,0 °Brix; AT de 0,242% ácido málico e firmeza de polpa de 68,1 N. Na safra 2019/20, no momento da instalação do experimento, os frutos apresentaram os atributos de cor  $L$  de 44,4,  $C$  32,7 e  $h^\circ$  40,4, na região mais vermelha do fruto,  $L$  de 67,8,  $C$  de 35,7 e  $h^\circ$  de 78,7, na região menos vermelha do fruto, índice de cor vermelha foi de 2,83, SS de 15,2 °Brix, AT de 0,23 % de ácido málico e firmeza de polpa de 74,2 N.

Após sete dias de exposição dos frutos em condições ambiente, não houve diferença entre tratamento para a taxa de produção de etileno e taxa respiratória do fruto, em ambas as safras (dados não apresentados).

Em relação à cor, na safra 2018/19, na região mais vermelha do fruto, o valor de  $L$  foi maior utilizando quitosana + OE de cravo-da-índia (Tabela 8). Segundo Assis et al. (2009), independente da espessura e da composição do filme protetor, a aplicação de filmes causa mudanças na coloração da superfície. Esta observação se deve provavelmente ao aumento de reflexão da luz incidente o que pode ser comparado ao brilho das frutas, proporcionado pelas soluções de quitosana (CASTAÑEDA et al., 2014). Jorge et al. (2011), trabalhando com maçãs cv. Royal Gala, observaram aumento no valor do atributo de cor  $L$  com a aplicação de quitosana, sendo o mesmo resultado obtido por Castañeda (2013). Porém, não foi verificado essa mudança nas duas safras já que na safra 2019/20 não houve diferença entre tratamentos para os atributos de cor (Tabela 8).

Na região menos vermelha do fruto, o valor de  $L$  foi maior nos tratamentos quitosana + OE de citronela e cravo-da-índia, o valor de  $C$  foi maior no tratamento com quitosana + OE de cravo-da-índia e o valor de  $h^\circ$  foi mais elevado em frutos de todos os tratamentos com utilização de OE. Na safra 2019/2020 não houve diferença entre tratamentos para os atributos de cor (Tabela 8). Avaliação da variável  $h^\circ$  na região menos vermelha representa o amarelecimento da epiderme do fruto, a transição do verde para o amarelo. De maneira geral os tratamentos com quitosana + OE de cravo da índia teve maior valor de  $h^\circ$ , ou seja, os frutos destes tratamentos estavam com a cor de fundo menos amarelada em comparação aos frutos do tratamento controle.

Tabela 8 - Atributos de cor ( $L$ ,  $C$  e  $h^\circ$ ), nas regiões mais e menos vermelhas, em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^\circ\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose  $500 \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Safr 2018/19					
	Mais vermelho			Menos vermelho		
	$L$	$C$	$h^\circ$	$L$	$C$	$h^\circ$
Controle	38,6 b	33,7 ns	30,4 ab	58,4 c	36,4 b	65,3 c
Quitosana	38,8 b	34,1	29,3 b	61,1 bc	36,3 b	70,5 bc
Quitosana + Citronela	40,0 b	34,3	29,4 b	63,9 ab	36,5 b	77,9 ab
Quitosana + Cravo-da-índia	43,1 a	34,5	34,9 a	66,9 a	40,1 a	84,4 a
Quitosana + Copaíba	39,3 b	33,6	29,1 b	61,7 bc	36,5 b	75,3 ab
CV (%)	3,42	2,89	7,29	2,47	2,41	5,78
Tratamentos	Safr 2019/20					
	Mais vermelho			Menos vermelho		
	$L$	$C$	$h^\circ$	$L$	$C$	$h^\circ$
Controle	44,1 ns	32,9 ns	40,8 ns	61,8 ns	35,1 ns	77,9 ns
Quitosana	43,7	31,6	39,3	64,9	36,1	85,3
Quitosana + Citronela	43,2	32,1	38,3	62,9	37,5	81,2
Quitosana + Cravo-da-índia	42,8	33,1	37,2	63,2	37	78,8
Quitosana + Copaíba	43,5	32,5	40,4	63,8	37	82,9
CV (%)	3,69	2,56	8,05	2,38	3,7	5,12

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

O tratamento quitosana + OE de citronela, na safra 2018/19, e o tratamento quitosana, na safra 2019/20, apresentaram menor valor de SS. A AT não apresentou diferença entre tratamento, em ambas as safras. A firmeza de polpa, na primeira safra, não apresentou diferença entre tratamentos, mas, na segunda safra, o tratamento quitosana apresentou menor firmeza de polpa (Tabela 9). Os resultados apresentados demonstraram poucas diferenças em relação à qualidade dos frutos. Talvez a concentração de quitosana tenha sido baixa para que o biofilme conseguisse atuar, melhorando os atributos de qualidade do fruto. Sun-Hua et al. (2007) demonstraram que o uso de cobertura com 1,5% de quitosana, com 0,10% de conservante e pH 5,45, foi a combinação ideal para a conservação de mangas, na temperatura de  $26-30^\circ\text{C}$ , mantendo a firmeza de polpa por mais de 18 dias, inibindo a microbiota e proporcionando menor perda de massa fresca. O pH das soluções utilizadas no presente trabalho ficaram entre 3-4, o que pode estar relacionado com a baixa relação com os atributos de qualidade. Para Vieira et al. (2018), independentemente das concentrações empregadas ( $100$  e  $500 \mu\text{L L}^{-1}$ ), os óleos essenciais de capim citronela, cravo-da-índia, alecrim e canela não apresentaram



efeito substancial na qualidade pós-armazenamento de maçãs 'Fuji' (firmeza de polpa, SS, AT e cor de fundo da epiderme). Esses resultados corroboram com os resultados obtidos, onde os OE utilizados não afetaram a qualidade das maçãs 'Fuji'.

Tabela 9 - Teor de sólidos solúveis (SS; °Brix) acidez titulável (AT; % ácido málico) e firmeza de polpa (N) em maçãs 'Fuji' colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera refrigerada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose  $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Safrá 2019		
	SS (°Brix)	AT (%)	Firmeza de polpa (N)
Controle	13,8 a	0,23 ns	61,9 ns
Quitosana	13,5 a	0,16	63,5
Quitosana + Citronela	12,1 b	0,13	61,5
Quitosana + Cravo-da-índia	13,8 a	0,17	63,8
Quitosana + Copaíba	13,1 a	0,15	65,3
CV (%)	3,55	30,7	3,64
Tratamentos	Safrá 2020		
	SS (°Brix)	AT (%)	Firmeza (N)
Controle	14,9 c	0,24 ns	75,8 a
Quitosana	15,5 b	0,24	72,2 b
Quitosana + Citronela	16,5 a	0,24	75 ab
Quitosana + Cravo-da-índia	16,7 a	0,24	76,2 a
Quitosana + Copaíba	16,4 a	0,24	74,9 ab
CV (%)	1,59	4,07	2,19

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Em ambas as safras, a AACPD em todos os tratamentos apresentou menores valores quando utilizado o biofilme de quitosana (Tabela 10). Na safra 2019 a quitosana teve porcentagem de controle de 7,76%, e a quitosana com os OE para citronela 8,57%, cravo-da-índia 8,57% e copaíba 7,62%. E para safra 2020 a quitosana teve controle de 6,21%, a quitosana + os OEs para citronela 14,29%, cravo-da-índia 8,70% e copaíba 9,32%. A imersão das maçãs em suspensões de quitosana na concentração de 0,25 ou 0,5% reduziu a severidade e a incidência do mofo azul em frutos tratados antes da inoculação (CANAVAR; DI PIERO, 2011). A quitosana pode ajudar na redução da incidência de doenças pós-colheita, pois exerce dupla função, interferindo diretamente no crescimento do micélio e ativando várias respostas de defesa no tecido vegetal (AGRAWAL et al.,

2002; GUERRA-SANCHÉZ et al., 2009). A atividade antifúngica de óleos essenciais está relacionada com sua hidrofobicidade, a qual os permite interagir com os lipídios da parede, membranas plasmáticas e mitocondrial, alterando a permeabilidade e causando distúrbios nessas estruturas (COSTA et al., 2011). Scherer (2009) destaca a forte ação antimicrobiana do óleo essencial de citronela, sendo esse majoritariamente composto pelo citronelal e o geraniol. A ação antimicrobiana do óleo de cravo é atribuída ao eugenol e cariofileno, principais constituintes desta espécie (AMARAL; BARA, 2005). Segundo Zimmermam-Franco et al. (2013), estudando atividade antifúngica do óleo essencial de copaíba, verificou-se que as principais substâncias encontradas foram os  $\beta$ -cariofileno e os compostos ácidos caurenóico e  $\gamma$ -muroлено, notificados por possuírem propriedades antibacterianas e antifúngicas.

Tabela 10 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AAPDS; cm), Teor de compostos fenólicos totais (CFT; mg EAG.100 g<sup>-1</sup>) e atividade das enzimas peroxidase (POD; DO<sup>-1</sup>mg de proteínas<sup>-1</sup> min) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera refrigerada (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose 500  $\mu$ L L<sup>-1</sup>), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%).

Tratamentos	Safrá 2019				
	AAPDS	CFT (mg EAG.100 g <sup>-1</sup> )		POD (DO <sup>-1</sup> mg de proteínas <sup>-1</sup> min)	
		Polpa	Casca	Polpa	Casca
Controle	10,5 a	32,7 ab	620,8 a	39,5 ns	340,9 a
Quitosana	9,7 b	33,6 a	387,0 b	38,9	296,9 ab
Quitosana + Citronela	9,6 b	32,68 ab	377,1 b	37,4	272,4 b
Quitosana + Cravo-da-índia	9,6 b	26,5 b	463,3 b	33,9	205,8 c
Quitosana + Copaíba	9,7 b	31,9 ab	452,7 b	35,1	312,6 ab
CV (%)	1,93	8,53	13,8	23,3	7,27
Tratamentos	Safrá 2020				
	AAPDS	CFT (mg EAG.100 g <sup>-1</sup> )		POD (DO <sup>-1</sup> mg de proteínas <sup>-1</sup> min)	
		Polpa	Casca	Polpa	Casca
Controle	16,1 a	60,8 ab	1224,3 a	26,3 a	228,4 b
Quitosana	15,1 b	52,1 c	878,7 b	17,5 b	343,4 a
Quitosana + Citronela	13,8 c	59,7 bc	1007,3 b	13,7 b	99,3 c
Quitosana + Cravo-da-índia	14,7 bc	67,9 a	978,5 b	14,3 b	121,1 c
Quitosana + Copaíba	14,6 bc	65,4 ab	950,7 b	15,0 b	162,1 bc
CV (%)	2,58	5,15	6,62	19,1	21,8

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

O teor de CFT na polpa, somente na safra 2019/20, foi menor no tratamento com quitosana. Já na casca, em ambas as safras, os tratamentos quitosana e quitosana + OE, independente do OE, apresentaram menor teor de CFT, em relação ao controle (Tabela 10). Diferente dos resultados encontrados em outros trabalhos, onde os tratamentos com quitosana aumentaram a atividade enzimática e o teor de compostos fenólicos, como o trabalho feito por Liu et al. (2007) onde o tratamento de tomates com quitosana em cobertura, armazenados a 25 °C e 2 °C, induziu aumento significativo na atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, e no conteúdo de compostos fenólicos, além de promover ação fungistática e elicitora contra patógenos. Bautista-Baños et al. (2006) diz que além da atividade antimicrobiana direta, estudos sugerem que ela induz fortemente uma série de reações de defesa correlacionada com atividades enzimáticas, sendo indicada para aumentar a produção de glucano-hidrolases, compostos fenólicos e síntese de fitoalexinas específicas.

A atividade da POD, na polpa, na safra 2018/19, não diferiu entre tratamentos. Na safra 2019/20, todos tratamentos tiveram menor atividade na polpa quando utilizado quitosana. Na casca, na safra 2019 houve redução da atividade enzimática da POD nos tratamentos com quitosana +OE de citronela e cravo-da-índia, e na safra 2020 houve redução da atividade da POD nos tratamentos com quitosana + OE de citronela e cravo-da-índia (Tabela 10). Felipini e Di Piero (2009) constataram redução das lesões por *C. acutatum*, em maçã 'Fuji', submetidos à imersão em soluções com diferentes concentrações de quitosana, em pós-colheita. Segundo os autores, a quitosana não aumentou a atividade da enzima peroxidase em maçãs, mas reduziu a severidade da doença nos frutos, a germinação dos conídios e o crescimento micelial do fungo, o que concorda com os resultados obtidos, com exceção da safra 2019/2020 que na casca o tratamento só com quitosana teve maior atividade enzimática da POD em relação aos demais tratamentos. Assim, infere-se que as células de maçãs infectadas com *C. acutatum* não responderam por meio dos seus mecanismos de defesa, à inoculação do patógeno (FELIPINI; DI PIERO, 2009). O que pode ter interferido na redução de CFT e atividade enzimática foi o pH das soluções de quitosana dos tratamentos que ficaram entre (3,5 – 3,9). Segundo Hojo et al. (2011) a acidificação do meio de quitosana parece ter efeito significativo na preservação da antocianina e na inibição das enzimas oxidativas. Embora o mecanismo de resistência seja complexo e envolve várias vias, não houve indução das rotas dos CFT e da enzima POD, que estão envolvidos no mecanismo de resistência, pela quitosana e quitosana + OE. Pelos resultados obtidos, o efeito observado pelos tratamentos sobre a redução da AACPD possa ser principalmente decorrente da ação direta destes tratamentos sobre o patógeno, conforme observado no ensaio *in vitro*. Todavia, segundo Brito e Assis (2012) a quitosana, para um revestimento eficaz, em relação ao pH, tem uma dependência da solubilidade, uma vez que este polímero é solúvel apenas em soluções aquosas moderadamente ácidas. No entanto, em pH baixo, a biocompatibilidade entre o

revestimento e a superfície do alimento é significativamente reduzida e degradante (BRITTO; ASSIS, 2012).

Diversos trabalhos demonstram o efeito de compostos voláteis sobre o controle de microrganismos em diferentes culturas, entretanto, pouco se sabe sobre a modificação do perfil decompostos voláteis após o tratamento com óleos essenciais (VIEIRA, 2016). Em relação ao perfil de aroma neste experimento (Tabela 11) o acetato de etila, butanoato de etila e propionato de etila foram verificados somente no controle, os tratamentos com quitosana ou quitosana + OEs pode ter alterado a intensidade dos aromas. O ácido 2-metilbutírico foi identificado somente no controle e no tratamento com quitosana + OE de cravo-da-índia, o 2-etil hexanol só não foi encontrado no tratamento com quitosana + OE de citronela, o 2-hexenol somente no tratamento com quitosana, burirato de etila não foi encontrado nos tratamentos com quitosana + OE de citronela e cravo-da-índia, hexilhexoato presente somente nos tratamento quitosana e quitosana + OE de citronela, 2-metilbutil 2-metilbutirato só não foi identificado no tratamento quitosana + OE cravo-da-índia, e 2-metilbutil hexanoato não foi identificado no quitosana + OE de copaíba. Mesmo tendo alternância na intensidade dos picos entre tratamentos os compostos identificados não são de quitosana e OE o que leva a crer que a forma de aplicação foi eficiente em não ter efeito residual de aromas de OE nos frutos. Entre os aromas presentes na maçã, se destacam os ésteres: o acetato de etila, o acetato de isoamil, o hexanoato de etila e o acetaldeído (FRAILE et al., 2000). No experimento avaliado o acetato de etila foi detectado somente no tratamento controle, o que mostra que mesmo não detectando aroma dos OEs a utilização de quitosana e quitosana + OEs altera o perfil aromático do fruto. O que é natural, pois a síntese dos compostos voláteis pode ser alterada por diferentes fatores na pré-colheita e na colheita (SALAZAR; OROZCO, 2011).

Tabela 11- Perfil de compostos voláteis identificados (área relativa %) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safra 2018/19 e armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de quitosana (concentração 1%) e com diferentes óleos essenciais (dose  $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Composto	Área (%)					Classe
	Quitosana 1%					
	Controle	Quitosana	Citronela	Cravo-da-índia	Copaíba	
ácido 2-metilbutírico	$0,62 \pm 0,19$	nd	nd	$0,50 \pm 0,27$	nd	ácido
1-butanol	$0,75 \pm 1,49$	$3,73 \pm 2,34$	$3,97 \pm 2,00$	$5,26 \pm 2,64$	$3,99 \pm 0,52$	álcool
2-etilhexanol	$12,44 \pm 2,15$	$2,49 \pm 1,69$	nd	$5,95 \pm 0,97$	$4,69 \pm 0,57$	álcool
2-metil-1-butanol	$8,51 \pm 2,42$	$12,15 \pm 4,26$	$13,97 \pm 4,37$	$14,03 \pm 3,29$	$16,07 \pm 2,11$	álcool
2-hexenol	nd	$0,19 \pm 0,38$	nd	nd	nd	álcool
1-hexano	$10,63 \pm 1,19$	$11,40 \pm 2,35$	$9,66 \pm 0,72$	$16,57 \pm 5,61$	$12,18 \pm 2,08$	álcool
hexanal	$29,17 \pm 6,54$	$30,50 \pm 6,82$	$30,26 \pm 4,13$	$26,19 \pm 1,07$	$26,41 \pm 5,19$	aldeído
(2e) -2-hexenal	$4,31 \pm 2,97$	$4,24 \pm 2,89$	$4,49 \pm 0,72$	$4,15 \pm 0,45$	$4,82 \pm 9,37$	aldeído
acetona	$12,49 \pm 5,51$	$11,23 \pm 5,64$	$14,22 \pm 5,73$	$9,73 \pm 5,04$	$1,67 \pm 1,93$	cetona
acetato de etila	$3,09 \pm 5,11$	nd	nd	nd	nd	éster
butil 2-metilbutirato	$0,56 \pm 0,11$	$1,31 \pm 0,63$	$0,84 \pm 0,47$	$1,20 \pm 0,81$	$1,76 \pm 0,28$	éster
butirato de butila	$0,17 \pm 0,20$	nd	nd	nd	nd	éster
butirato de etila	$2,81 \pm 3,71$	$1,57 \pm 1,86$	nd	nd	$1,68 \pm 2,23$	éster
butirato de propila	$1,29 \pm 0,17$	$0,27 \pm 0,25$	$0,23 \pm 0,28$	$3,96 \pm 7,93$	$1,02 \pm 0,24$	éster
butirato de 2-metilhexila	$3,21 \pm 1,56$	$5,68 \pm 3,24$	$2,59 \pm 1,11$	$4,81 \pm 3,77$	$5,69 \pm 1,50$	éster
hexilhexoato	nd	$0,64 \pm 0,41$	$0,24 \pm 0,24$	nd	nd	éster
hexanoato de etila	$0,27 \pm 0,41$	$1,21 \pm 0,84$	$0,37 \pm 0,40$	$1,22 \pm 0,76$	$1,08 \pm 0,29$	éster
2-metilbutil acetato	$0,38 \pm 0,26$	$1,03 \pm 0,30$	$0,77 \pm 0,28$	$0,59 \pm 0,27$	$1,27 \pm 0,20$	éster
2-metilbutil 2-metilbutirato	$0,62 \pm 0,72$	$1,42 \pm 1,19$	$1,58 \pm 0,60$	nd	$4,78 \pm 0,17$	éster
2-metilbutirato de etila	$2,33 \pm 2,12$	$3,35 \pm 2,94$	$1,89 \pm 0,78$	$1,08 \pm 0,86$	$3,26 \pm 1,42$	éster
2-metilbutilhexanoato	$0,17 \pm 0,20$	$0,21 \pm 0,25$	$0,19 \pm 0,19$	$0,09 \pm 0,11$	nd	éster
propionato de etila	$0,25 \pm 0,61$	nd	nd	nd	nd	éster
$\alpha$ -farneseno	$5,21 \pm 1,74$	$6,67 \pm 2,99$	$8,50 \pm 4,63$	$4,88 \pm 4,51$	$9,66 \pm 3,02$	Sesquiterpeno

Fonte: PubChem Compound Summary. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>. Acesso: janeiro, 2021. Produção do próprio autor, 2021.

## 2.4 CONCLUSÃO

A quitosana utilizada isoladamente e a quitosana associada com os OEs reduziram o crescimento do micélio em meio de cultura e o número de esporos de *P. expansum*.

O crescimento de *P. expansum* em frutos de maçãs Fuji, no experimento em armazenamento refrigerado não foi alterado pelo tratamento com quitosana e quitosana mais OE, já no experimento aplicando os tratamentos após o armazenamento tanto a quitosana como a quitosana mais todos os OEs testados reduziram o crescimento do fungo nas duas safras analisadas (safra 2018/19 e safra 2019/20).

No experimento pós-armazenamento a redução dos CFT da casca nos tratamentos com quitosana e quitosana mais OEs em ambas as safras, e a atividade enzimática da POD reduzida da casca, nos tratamentos com quitosana + OEs de citronela e cravo-da-índia, mostram que o efeito dos OEs e quitosana na redução do crescimento do fungo *in vivo* tem um efeito fungistático, já que os resultados na redução de CFT e atividade enzimática da POD foram obtidos somente no experimento pós-armazenamento, o qual teve redução do mofo azul.

A utilização de biofilme, tanto no experimento em armazenamento refrigerado como pós-armazenamento, não causa alterações nos atributos de qualidade.

Os compostos voláteis no experimento em armazenamento refrigerado, compostos como 2-metilbutanoato de etila, acetato de 2-metilbutila e acetato de hexila tiveram redução nos tratamentos com OEs de cravo-da-índia e copaíba contribuindo para redução do sabor de maçãs “Fuji”. No experimento pós-armazenamento o acetato de etila, butanoato de etila e propionato de etila foram encontrados somente no tratamento controle, sendo estes aromas característicos de maçã, mostra que apesar de não ter sido detectado os compostos de OEs, há alteração da intensidade e composição do aroma dos frutos.

### **3 REDUÇÃO DE PODRIDÃO POR MOFO AZUL EM MAÇÃS ‘FUJI’ COM A UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CITRONELA, CRAVO-DA-ÍNDIA, CANELA E COPAÍBA COM BIOFILME DE CERA DE CARNAÚBA.**

#### **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

Foram realizados quatro experimentos, três *in vivo* e um em meio de cultura. Os experimentos *in vivo* foram realizados com maçãs cultivar Fuji, em condições ambiente, e em pré-armazenamento, com frutos da safra 2018/2019, produzidos em pomar comercial localizado no município de Vacaria, RS (50°42' W; 28°33' S; 955 m de altitude). O terceiro experimento, em pós-armazenamento, foi realizado com frutos das safras 2018/2019 e 2019/2020, oriundos de pomar comercial de São Joaquim, SC (49°56' W; 28°17' S; 1350 m de altitude). Os quatro experimentos formaram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, combinando cera de carnaúba (25%) e OE de citronela (*Cymbopogon winterianus*); OE de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*); OE de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) e canela (*Cinnamomum zeylacium*) sendo todos os OEs na dose de 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ .

Nos experimentos *in vivo* os tratamentos foram aplicados até o completo recobrimento dos frutos com o auxílio de borrifadores por meio de pulverização. No experimento *in vitro* os tratamentos também foram aplicados com o auxílio de borrifadores por meio de pulverização utilizando dois jatos (depois de colocar o disco com o micélio) como padrão para o recobrimento da placa de Petri com o biofilme.

Os frutos destinados à inoculação foram perfurados na região central em dois lados opostos com auxílio de um texturômetro eletrônico TAXT-Plus® (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, Reino Unido), equipado com ponteira de 2 mm de diâmetro e programado para perfurar 4 mm de profundidade e, então, foram inoculados com 10  $\mu\text{L}$  de uma suspensão de  $10^6$  esporos por ml do fungo *P. expansum*. A suspensão de esporos foi preparada com água destilada esterilizada e 0,05% de Tween 20. Foi realizada a contagem do número de esporos com auxílio de uma câmara de Neubauer (hemacitômetro). Após inocular os frutos permaneceram em condições ambiente por um período de 24 h. para completa secagem dos frutos, e após esse período foram aplicados os tratamentos.

As soluções foram obtidas utilizando 1000 ml de água destilada, 10 ml de TWEN 20, 0,5 ml do óleo essencial e sonificados em sonicador (BANDELIN, Sonoplus HD 2200,

Alemanha) equipado com ponteira MS 72, em quatro séries de dois minutos até a completa homogeneização da solução.

O biofilme de cera de carnaúba na concentração de 25 % da Cera FEC 35, foi obtido com a diluição de 250 ml da cera em 750 ml de água destilada e 10 ml de TWEN 20. Após a solução finalizada, os tratamentos que continham óleos essenciais foram adicionados 0,5 ml do óleo essencial e posteriormente sonicados em sonicador (BANDELIN, Sonoplus HD 2200, Alemanha) em quatro séries de dois minutos até a completa homogeneização da solução.

Figura 5 - Descrição da cera utilizada, Cera FEC 35. O percentual varia de acordo com os parâmetros analíticos de qualidade da cera de carnaúba, que são determinados após o recebimento das matérias-primas.

PRODUTO	INCI NAME	CAS	CONCENTRAÇÃO
Cera de Carnaúba	Copernicia Cerifera Cera	8015-86-9	28 a 33%
Álcool Cetoestearílico Etoxilado	Ceteareth-20	68439-49-6	4 a 5%
Água	Aqua	7732-18-5	63 a 67%

Fonte: Fenix Ceras e produtos derivados LTDA, 2019.

### 3.2.1 Experimento em meio de cultura

O experimento foi realizado em triplicata, sendo que em cada placa de Petri de vidro (90 x 90 cm) foi isolado um disco de 0,7 cm de diâmetro com o fungo *P. expansum*, proveniente de colônias com sete dias de idade, o isolado de *P. expansum* em frutos de maçã 'Fuji' foi fornecido pelo Laboratório de Fitopatologia da EPAGRI de Caçador, SC. As placas de Petri foram acondicionadas em câmara de crescimento no Laboratório de Fitopatologia, do CAV/UEDESC, a 23 °C e fotoperíodo de 12 horas. Foram utilizadas 10 placas de Petri para cada tratamento, sendo cada placa de Petri uma repetição. Em cada tratamento foram avaliados a porcentagem do crescimento do micélio (%) e o número de esporos, aos três e cinco dias após o isolamento, e o número e a viabilidade de esporos (%), aos sete dias após o isolamento.

Para determinar o número de esporos foi colocado 5 ml de uma solução de Tween 20 (0,05%) sobre as colônias de *P. expansum* nas placas de Petri, utilizado um bastão de vidro para liberação dos esporos e, com auxílio da câmara de Neubauer (hemacitômetro) sob o microscópio, foi contado o número de esporos, em uma amostra provinda de cada



placa de Petri, utilizando-se cinco repetições por tratamento. Contaram-se os esporos da área quadriculada central da câmara de Neubauer. O número de esporos contados foi multiplicado por 10.000 para obter-se o número de esporos por ml de solução (FERNANDEZ, 1993).

A porcentagem de crescimento do micélio (%) foi avaliada fazendo análise de percentual de recobrimento da colônia de *P. expansum*.

A viabilidade de esporos (%) foi avaliada a partir da solução utilizada para a contagem do número de esporos aos cinco dias após o isolamento. Colocou-se 0,5 ml da solução de esporos em placas de Petri com meio ágar-água. As placas foram seladas e incubadas em câmara de crescimento a 23 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após 48 horas, com auxílio do microscópio, foram contados 100 esporos, e desses os esporos que apresentavam tubo germinativo igual ou superior ao seu tamanho foram considerados viáveis, foram utilizadas três repetições para cada tratamento.

### 3.2.2 Experimentos com maçãs ‘Fuji’

No experimento em condições ambiente, cada tratamento foi constituído de quatro repetições de 15 frutos, que foram inoculados com *P. expansum* e posteriormente expostos sob condições ambiente (temperatura  $23\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ) por 10 dias e avaliados quanto a severidade de podridão, teor de compostos fenólicos totais (casca e polpa), atividade das enzimas peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) e compostos voláteis. Os frutos não inoculados também constituído de quatro repetições de 15 frutos ficaram sob condição ambiente (temperatura  $23\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ) e avaliados os atributos de incidência de podridão, firmeza de polpa, sólidos solúveis, acidez titulável, cor da epiderme em termos de ângulo *hue* ( $h^{\circ}$ ), *lightness* (*L*) e croma (*C*), taxas respiratória e de produção de etileno.

Para o experimento em atmosfera refrigerada, após a colheita, os frutos foram transportados ao laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita do CAV/UDESC, e analisados quanto aos atributos índices de iodo-amido (1-5) e de cor vermelha (0-100), firmeza de polpa, sólidos solúveis, acidez titulável, cor da epiderme em termos de ângulo *hue* ( $h^{\circ}$ ), *lightness* (*L*) e croma (*C*). Então os frutos foram padronizados por tamanho e separados por amostras.

Para o experimento pós-armazenamento, frutos armazenados em condição de AC, durante um período aproximado de sete meses, foram transportados ao laboratório de

Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita do CAV/UEDESC. Três amostras de 10 frutos foram analisadas quanto aos atributos firmeza de polpa, sólidos solúveis, acidez titulável e cor da epiderme, em termos de ângulo *hue* ( $h^\circ$ ), *lightness* ( $L$ ) e croma ( $C$ ). Os frutos restantes foram selecionados, homogeneizados e então realizada a constituição das amostras, sendo avaliados os mesmos tratamentos do experimento em atmosfera refrigerada.

Cada tratamento foi constituído de quatro repetições de 15 frutos. No experimento em atmosfera refrigerada, os frutos foram inoculados com *P. expansum* e posteriormente aplicados os tratamentos e armazenados por um período de 30 dias em armazenamento refrigerado ( $0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  / UR de  $90 \pm 5$ ). No experimento pós-armazenamento foram inoculados com *P. expansum*, posteriormente aplicados os tratamentos e analisados em condições ambiente por um período de sete dias. Os frutos destinados à inoculação foram perfurados na região equatorial em dois lados opostos com auxílio de um texturômetro eletrônico TAXT-Plus® (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, Reino Unido) equipado com ponteira de 2 mm de diâmetro e programado para perfurar 4 mm de profundidade e, então, foram inoculados com 10  $\mu\text{L}$  de uma suspensão de  $10^6$  esporos por ml de *P. expansum*. A suspensão de esporos foi preparada com água destilada esterilizada e 0,05% de Tween 20. Foi realizada a contagem do número de esporos com auxílio de uma câmara de Neubauer (hemacitômetro).

Em ambos experimentos os frutos inoculados foram avaliados quanto à severidade de podridão, teor de compostos fenólicos totais (casca e polpa), atividade enzimática: peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e perfil de compostos voláteis. Já os frutos não inoculados foram armazenados por um período de cinco meses ( $0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  / UR de  $90 \pm 2\%$ ) e seguidos por sete dias em condições ambiente ( $23 \pm 3^\circ\text{C}$  e  $63 \pm 5\%$ ) e, avaliados os seguintes atributos: incidência de podridão, firmeza de polpa, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), cor da epiderme em termos de ângulo *hue* ( $h^\circ$ ), *lightness/luminosidade* ( $L$ ) e croma ( $C$ ) e taxas respiratória e de produção de etileno.

### 3.3.3 Análises de Qualidade e de Compostos Bioativos

Os valores de AT (% ácido málico) foram obtidos através de uma amostra de 10 ml de suco, obtido pelo processamento dos frutos em uma centrífuga. Essa amostra foi diluída em 90 ml de água destilada e titulada com solução de NaOH 0,1N até pH 8,1, utilizando titulador automático (SCHOTT Instruments, TitroLine® Easy, Alemanha). Os teores de SS (°Brix) foram determinados em um refratômetro (Atago®, modelo PR201 $\alpha$ , Japão), utilizando uma alíquota do suco obtido pelo processamento dos frutos.

A cor da casca foi avaliada em termos de valores de *Lightness*/luminosidade (*L*), croma (*C*) e ângulo '*hue*' (*h*<sup>o</sup>), com o auxílio de um colorímetro (Konica Minolta, modelo CR 400, Japão). As leituras foram realizadas em dois pontos opostos da região equatorial dos frutos (região mais e menos vermelha). O índice de cor vermelha foi determinado através de uma escala com índices de 1 a 4, em que o índice 1 indicou uma superfície pigmentada de vermelho equivalente de 0 a 25% da superfície total do fruto, o índice 2 de 26 a 50%, o índice 3 de 51 a 75% e o índice 4 de 76 a 100% da superfície total do fruto.

A firmeza de polpa (*N*) foi determinada na região equatorial dos frutos, em duas superfícies opostas, após a remoção de uma pequena porção da epiderme, com auxílio de um penetrômetro eletrônico (GÜSS Manufacturing Ltd, África do Sul) equipado com ponteira de 7,9 mm de diâmetro.

O índice de iodo amido foi avaliado utilizando uma escala de 1 a 5. Onde, índice 1 indica o teor máximo de amido, e o índice 5 representa o amido totalmente hidrolisado.

Para a obtenção dos extratos, para a análise dos compostos fenólicos totais (CFT), utilizou-se 5 g da amostra (casca e polpa), que foi homogeneizado com 10 ml de metanol 50%. A solução permaneceu em repouso por 60 min à temperatura ambiente e em seguida foi centrifugada (Hitachi, CR22N, Japão) refrigerada (4 °C) por 20 min a 10.000 rpm. Filtrado o sobrenadante em balão volumétrico de 25 ml. A partir do resíduo da primeira extração foi adicionada 10 ml de acetona 70%, homogeneizado e colocado em repouso por mais 60 min à temperatura ambiente, e então centrifugado novamente por 20 minutos a 10.000 rpm. Transferiu-se o sobrenadante para o balão volumétrico (que contém o primeiro sobrenadante) e foi completado o volume para 25 ml com água destilada. Os extratos foram reservados para análise de CFT e atividade antioxidante total.

A determinação do teor de CFT foi realizada empregando o reagente de Folin-Ciocalteu, conforme descrita por Roesler et al. (2007). Inicialmente foi preparada a solução de ácido gálico, utilizando 10 mg de ácido gálico em 100 ml de metanol P.A. Em seguida foi preparada a solução de carbonato de sódio, para a qual foi usada 10 g do reagente e feita a diluição em água destilada em balão de 100 ml. A solução Folin-Ciocalteu foi diluída na proporção de 1:3 (Folin-Ciocalteu: Água Destilada). Para a obtenção da curva padrão do ácido gálico, foi pipetado em tubos de ensaio diferentes alíquotas de metanol e da solução de ácido gálico na concentração de 0, 10, 30, 50, 70, 90 e 100 ppm. Para análise foram adicionados em cada tubo, na ordem, 2,5 ml de Folin-Ciocalteu, 0,5 ml de amostra e 2,0 ml da solução de carbonato de sódio 10%. Para o

branco, foram utilizados os mesmos reagentes citados anteriormente e 0,5 ml de metanol, substituindo a amostra. Os tubos foram agitados em vortex (Gehaka, AV-2, São Paulo), e vedados com parafilme e em seguida incubados por uma hora ao abrigo da luz. As amostras foram centrifugadas (Hitachi, CR22N, Japão) e a leitura realizada em leitora de microplacas no comprimento de onda de 765 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g da amostra (mg EAG 100 g<sup>-1</sup>).

A taxa de produção de etileno ( $\eta\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) foi quantificada por cromatografia gasosa. Frutos de cada repetição foram acondicionados em recipientes de 4,1 L, com fechamento hermético. As taxas de produção de etileno foram obtidas pela diferença da concentração de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, no interior do recipiente, imediatamente após o seu fechamento e depois de meia hora. Após este período, utilizando uma seringa plástica de 1,0 ml, foram coletadas duas amostras da atmosfera do espaço livre destes recipientes, as quais foram injetadas em foi um cromatógrafo a gás, (PerkinElmer, Clarus 580 GC, USA).

A taxa respiratória do fruto foi quantificada com o uso de equipamento automático para controle de gases (Shelle, Alemanha). Frutos de cada repetição foram acondicionados em recipientes de 4,1 L, com fechamento hermético. A taxa respiratória foi obtida pela diferença da concentração de CO<sub>2</sub>, no interior do recipiente, após o seu fechamento e depois de meia hora.

Todas as etapas necessárias ao processo de determinação da atividade enzimática foram executadas a 4°C. A extração das enzimas peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) foram realizadas conforme método descrito por Hammerschmidt et al., (1982), com modificações. Desta forma, em 0,5 g da amostra fresca (já macerado em nitrogênio líquido) foi adicionado 5 ml de tampão de fosfato de potássio (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), 0,100 M (pH 7,0) contendo 1 mM de polivinilpirrolidona insolúvel (PVPP) (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) e 1 mM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (Synth, Diadema, Brasil) para cada 100 ml de tampão, homogeneizado em ultraturrax (Heidolph, SilentCruscher M, Alemanha), por 1 minuto e adicionado 0,1% de triton (v/v) (Vetec, Duque de Caxias, Brasil).

A atividade da enzima SOD foi determinada de acordo com o método descrito por Giannopolitis e Reis (1977), com modificações. As reações foram realizadas em três tubos. No primeiro tubo, determinado como branco, uma alíquota de 50  $\mu\text{L}$  de extrato bruto da amostra de polpa e 25  $\mu\text{L}$  de extrato bruto de casca, foi adicionada à 2,95 ml do meio de reação, composto pelo tampão de fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, metionina

13 mM, NBT 75  $\mu$ M, EDTA 100 nM e riboflavina 2 Nm, e permaneceram em reação cobertos por papel alumínio durante 10 minutos. O segundo tubo, chamado de controle, recebeu apenas a solução de trabalho, permanecendo pelo mesmo tempo de reação, porém recebendo luz. O terceiro tubo recebeu a solução de trabalho e as amostras, permanecendo por 10 minutos em reação sob luz. As leituras das amostras foram realizadas com auxílio de um leitor de microplacas (PerkinElmer, EnSpire, USA) no comprimento de onda de 560 nm. Os resultados foram  $U^{-1}ml^{-1}mg$  de proteína.

O extrato foi mantido em repouso por 15 min a 8°C e após centrifugado a 12.000 rpm por 10 min a 4°C em centrífuga (Hitachi, CR22N, Japão), 0,30 ml do sobrenadante foi usado para ensaio enzimático. Imediatamente após a adição de 2,7 ml de uma mistura reacional contendo tampão fosfato de potássio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil): guaiacol:  $H_2O_2$  (5 ml: 0,0125 ml: 0,0163ml) (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), foi definida a atividade enzimática como o aumento da absorbância por minuto a 470 nm e o resultado foi expresso em DO/mg de proteínas /minuto.

Os compostos voláteis dos frutos foram isolados através da técnica de Solid phase microextraction (SPME). As análises foram realizadas em um sistema GC-MS (PerkinElmer, Alemanha), que consiste em um cromatógrafo gasoso (modelo Clarus 680 GC) acoplado a um espectrômetro de massas (modelo Clarus SQ 85). Em um vial com capacidade de 40 ml, selado com tampa de rosca e septo de silicone revestido com PTFE (Agilent Technologies, Alemanha), adicionou-se 1 g de amostra dos frutos (casca e polpa), 1 g de NaCl e 5 ml de água deionizada. A amostra foi então submetida a incubação de pré-extração (equilíbrio), sob agitação, durante 10 min à  $30\pm 1^\circ C$  e em seguida a fibra SPME (CAR/PDMS) montada num holder foi exposta a fase gasosa da amostra durante 25 minutos. Posteriormente a fibra foi exposta, por 10 min para dessorção a  $250^\circ C$ , no injetor do cromatógrafo. A coluna utilizada foi a HP5 e o gás de arraste utilizado foi hélio com fluxo de  $1\text{ ml min}^{-1}$ . A temperatura inicial foi de  $30^\circ C$ , por 5 minutos, com uma rampa de aquecimento de  $2^\circ C\text{ min}^{-1}$  até  $120^\circ C$ , onde permaneceu nesta temperatura por três minutos, totalizando 34 minutos de corrida. A identificação dos compostos foi baseada na biblioteca do cromatógrafo, que indicou a probabilidade de similaridade de cada composto com os dados contidos no software.

Os dados de severidade de mofo azul obtidos foram utilizados para cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (VALE et al., 2004).

A AACPD foi determinada com a fórmula:

$$AACPD = \sum [(S_i + S_{i+1})/2 \cdot (T_{i+1} - T_i)]$$

Onde, AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença, severidade;  $S_i$  = severidade da doença, diâmetro médio da lesão iésima observação;  $S_{i+1}$  = severidade da doença, diâmetro médio da lesão na avaliação  $i + 1$ ;  $T_i$  = tempo em dias da iésima observação;  $T_{i+1}$  = dias da avaliação  $i + 1$ . A  $S_i$  foi calculada com a soma dos diâmetros médios das lesões, dividida pelo total de ferimentos ou de frutos. Foram 3 avaliações.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. Dados em porcentagem foram transformados para arco sen  $(x/100)^{0.5}$ , antes de se proceder à análise estatística. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos compararam pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), com o auxílio do programa SAS (SAS Institute, 2002).

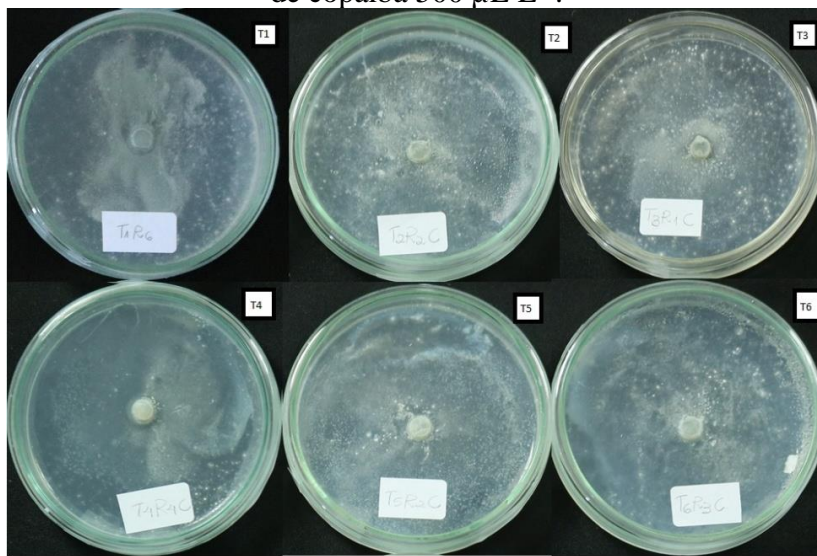
### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Crescimento do micélio, número e germinação de esporos

O crescimento do micélio de *P. expansum* em meio de cultura aos três (Figura 6) e cinco (Figura 7) dias apresentou comportamento semelhante, sendo os tratamentos que tiveram menor crescimento foram cera de carnaúba e cera de carnaúba + óleos essenciais de citronela, cravo-da-índia, e canela. Na contagem de esporos aos três dias, os tratamentos com cera de carnaúba e cera de carnaúba + citronela teve menor número de esporos. Já aos cinco dias, todos os tratamentos diferiram do controle, sendo os que tiveram maior redução no número de esporos foram cera de carnaúba e cera de carnaúba + óleos essenciais de citronela e cravo-da-índia. Não houve diferença entre tratamentos para o número de esporos germinados (Tabela 12). Plaza et al. (2004), utilizou 20 óleos essenciais de diferentes espécies vegetais para determinar a atividade antifúngica sobre o crescimento de colônias de *P. digitatum* e *Penicillium italicum* Wehmer. *in vitro* tanto por contato direto quanto na fase de vapor. Os óleos de bétula, canela, cravo-da-índia, orégano e tomilho inibiram completamente o crescimento micelial *in vitro* de *P. digitatum* e *P. italicum* em  $1000 \mu\text{L L}^{-1}$  (PLAZA et al.; 2004). No entanto, após a transferência desses tampões fúngicos para placas OSA (Agar de soro de laranja) não corrigidas, o crescimento de ambos os fungos foi retomado. Portanto, a atividade foi fungistática e não fungicida (PLAZA et al.; 2004). O efeito supressor desses óleos essenciais no crescimento da colônia foi gradualmente reduzido com a concentração (PLAZA et al.; 2004). Os resultados obtidos *in vitro* demonstram que os óleos essenciais de tomilho, orégano, cravo-da-índia e canela apresentaram a maior atividade inibitória contra *Penicillium* spp.

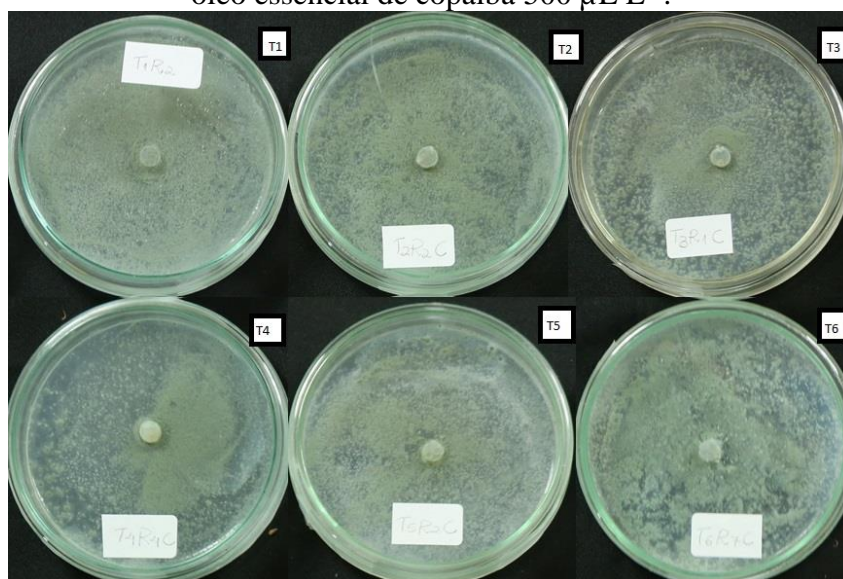
A inibição do crescimento micelial de *P. digitatum* e *P. italicum* foi obtida tanto por contato direto quanto por constituintes voláteis (PLAZA et al.; 2004).

Figura 6 – Crescimento do micélio (%) *P. expansum* (%), *in vitro* aos três dias (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ). Tratamentos: T1- controle (somente água), T2- Cera de carnaúba 25%, T3- Cera de carnaúba 25% + óleo essencial de citronela  $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ , T4- Cera de carnaúba 25% + óleo essencial de cravo-da-índia  $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ , T5- Cera de carnaúba 25% + óleo essencial de Canela, T6 – Cera de carnaúba 25% +, óleo essencial de copaíba  $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ .



Fonte: Elaborado pela autora, 2021

Figura 7 - Crescimento do micélio (%) *P. expansum*, *in vitro* aos quatro dias (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ). Tratamentos: T1- controle (somente água), T2- Cera de carnaúba 25%, T3- Cera de carnaúba 25% + óleo essencial de citronela  $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ , T4- Cera de carnaúba 25% + óleo essencial de cravo-da-índia  $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ , T5- Cera de carnaúba 25% + óleo essencial de Canela  $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ , T6 – Cera de carnaúba 25% + óleo essencial de copaíba  $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ .



Fonte: Elaborado pela autora, 2021

Tabela 12 – Crescimento do micélio (%), número de esporos e germinação de esporos (%) de *P. expansum*, aos três e cinco dias (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ), mantidos em B.O.D. por cinco dias ( $23^{\circ}\text{C}$ , fotoperíodo de 12 horas) em meio de cultura BDA com ou sem cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba com diferentes óleos essenciais (dose  $500\ \mu\text{LL}^{-1}$ ) aplicados por pulverização.

Tratamentos	Crescimento do micélio (%)		Número de esporos ( $\times 10^6$ )		Germinação de esporos no dia 5 após 48h (%)
	Dia 3	Dia 5	Dia 3	Dia 5	
Controle	71,8 a	88,7 a	77,2 a	193,1 a	6,7 ab
Cera de carnaúba	60,5 b	71,9 cd	48,9 ab	79,1 bc	10,0 a
Cera de carnaúba + Citronela	36,3 d	68,1 d	10,9 b	57,7 c	4,0 b
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	51,3 c	72,4 cd	56 a	71,4 bc	3,0 b
Cera de carnaúba + Canela	61,5 b	79,5 bc	86,7 a	112,3 b	4,3 b
Cera de carnaúba + Copaíba	73,5 a	85,2 ab	68,6 a	99,7 b	6,7 ab
CV (%)	10,02	7,14	24,6	18,2	31,8

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

A porcentagem de controle do crescimento do micélio aos três dias foi de 15,74% para cera de carnaúba, já a cera de carnaúba + os OEs, foi de 49,44% para citronela, 28,55% para cravo-da-índia, 14,35% para canela e copaíba não houve controle. Aos cinco dias, a cera de carnaúba teve controle de 18,94%, e a combinação de cera de carnaúba + os OEs foi de 23,22% para citronela, 18,38% para cravo-da-índia, 10,37% para canela e 3,95% para copaíba. O número de esporos aos três dias em relação a porcentagem de controle foi de 36,66% para cera de carnaúba, e a cera com os OEs foi de 85,88% para citronela, 27,46% para cravo-da-índia, 11,14% para copaíba e canela não houve controle. Já aos cinco dias, 59,04% para cera de carnaúba e com adição dos OEs 70,12% para citronela, 63,02% para cravo-da-índia, 41,84% para canela e 48,37% para copaíba. E por fim a germinação de esporos não teve controle somente com cera de carnaúba, mas com a utilização dos OEs teve controle de 40,03% para citronela, 55,02% para cravo-da-índia, 35,53% para canela e não houve controle na germinação de esporos para o OE de copaíba. Daferera et al. (2000) sugeriram que a eficácia dos óleos essenciais na redução de podridões se deve principalmente aos compostos fenólicos timol e carvacrol. Da mesma forma, foi relatado que timol, carvacrol e eugenol foram os inibidores mais potentes da germinação e do crescimento de *B. cinerea* e *Monilinia fructicola* G. Winter. (TSAO; ZHOU, 2000). Estudos demonstraram que os fenóis



apresentam atividade antifúngica mais forte do que outros componentes importantes do óleo, como álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres (CHARAI et al., 1996). A atividade do óleo de canela pode ser atribuída a componentes não fenólicos com conhecida atividade fungitóxica, como o cananaldeído (PLAZA et al.; 2004). Apesar das propriedades antifúngicas (fungistáticas e / ou fungicidas) exibidas pelos óleos essenciais mencionados *in vitro*, seus efeitos supressores não foram demonstrados *in vivo* quando testados a 10, 100 ou 1000  $\mu\text{l l}^{-1}$  em laranjas inoculadas com *P. digitatum* ou *P. italicum*. A falta de eficácia *in vivo* provavelmente se deve à natureza volátil dos constituintes, que apresentaram maior atividade antifúngica (PLAZA et al.; 2004).

Os possíveis mecanismos pelos quais a aplicação de cera reduz as doenças pós-colheita em ameixas e nectarinas incluem: a formação de uma barreira física ao redor da fruta que impede a entrada de patógenos; modificação da atmosfera ao redor da fruta e a ação direta da cera sobre os patógenos (atividade antifúngica) (GONÇALVES et al., 2010). Essa hipótese é reforçada pelo trabalho de Cruz et al. (2002), que mostraram que a cera de carnaúba contém proteínas de defesa como quitinase e glucanases, que parecem inibir o crescimento inicial de *Colletotrichum lindemuthianum* Sacc e Magnus., *Colletotrichum musae* Berk. e Curtis. e *Fusarium oxysporum* Schlecht. e causam alterações morfológicas durante o crescimento desses patógenos. Esses mecanismos em conjunto podem explicar a redução significativa observada nas incidências de podridão parda e podridão de *Rhizopus* sp. em ambas as espécies de frutos, pois os resultados foram alcançados pela aplicação protetora do produto (GONÇALVES et al., 2010). Resultados que corroboram com os resultados obtidos, onde os tratamentos com cera de carnaúba reduziram o crescimento do micélio e o número de esporos.

### 3.3.2 Experimento em condições ambiente

Na colheita, os frutos apresentaram, em relação à cor,  $L$  70,2,  $C$  34,5 e  $h^\circ$  96,6, na região menos vermelha, SS de 12,2 °Brix, AT de 0,32 % de ácido málico, índice iodo-amido de 4,0 e firmeza de polpa de 71,6 N.

Após 10 dias em condições ambiente, em relação aos atributos de cor, só houve diferença entre tratamentos na região mais vermelha do fruto, diferindo do controle somente o croma, onde os tratamentos com óleos essenciais foram menores (Tabela 13). Em goiabas, de maneira geral, as ceras com maior concentração de soluto proporcionaram leve retenção da cor verde da casca (JACOMINO et al.; 2003). Os autores observaram

que em relação às frutas não tratadas ou tratadas com Citrossol M, que possui apenas 10 % de cera de carnaúba, a cera Meghwax, que possui 30% de cera de carnaúba, foi a única que diferiu significativamente do controle após seis dias de armazenamento, retardando em dois dias, aproximadamente, a evolução da cor da casca. As mudanças na coloração da casca durante o amadurecimento são devidas tanto a processos degradativos quanto a processos sintéticos que ocorrem ao mesmo tempo (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Dependendo da concentração de cera, o filme depositado no produto pode alterar a permeabilidade dos gases (vapor d'água, O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>) (AMARANTE et al., 2001) e retardar o metabolismo do fruto, além de melhorar a estética do produto intensificando o aspecto brilhante (CHEN; NUSSINOVITCH, 2000). Contudo, no presente trabalho, estes efeitos não foram observados, de acordo com os dados de atributos de cor *L*, *C* e *h*<sup>o</sup>.

Tabela 13 - Atributos de cor (*L*, *C*, *h*<sup>o</sup>) lado mais e menos vermelho em maçãs 'Fuji', colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L<sup>-1</sup>), seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%).

Tratamentos	<i>Mais vermelho</i>		
	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>h</i> <sup>o</sup>
Controle	43,2 abc	32,7 a	39,4 ab
Cera de carnaúba	42,4 bc	31,8 ab	37,4 b
Cera de carnaúba + Citronela	41,1 c	30,9 bc	35,1 b
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	44,3 ab	30,1 c	43,9 a
Cera de carnaúba + Canela	44,5 ab	30,6 bc	43,7 a
Cera de carnaúba + Copaíba	45,0 a	30,9 bc	44,0 a
CV (%)	2,42	2,24	5,96
Tratamentos	<i>Menos vermelho</i>		
	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>h</i> <sup>o</sup>
Controle	68,8 ns	39,2 ns	93,0 ns
Cera de carnaúba	68,3	38,7	93,2
Cera de carnaúba + Citronela	67,7	37,5	92
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	67,6	38,6	93,6
Cera de carnaúba + Canela	67,6	39,6	93,7
Cera de carnaúba + Copaíba	67,8	37,8	92,6
CV (%)	1,92	2,9	2,98

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

A perda de massa foi maior nos frutos do tratamento somente com cera de carnaúba, e em relação às podridões, taxa de produção de etileno e taxa respiratória do fruto não houve diferença entre tratamentos (Tabela 14). Em maracujá, apesar de a cera carnaúba também condicionar modificação da atmosfera, verificou-se que a utilização adicional da cera nos frutos envolvidos com o filme plástico não reduziu

significativamente a perda de matéria fresca em relação à utilização exclusiva do filme plástico, onde a diluição utilizada da cera na proporção de 1:4 (m/v), pode ter sido elevada e condicionado a permeabilidade além do limite que poderia conferir efeito aditivo na redução da perda de massa fresca (MOTA et al., 2006).

Tabela 14 - Perda de massa (%), taxa de produção de etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), e taxa respiratória ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) em maçãs 'Fuji', colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500 \mu\text{L L}^{-1}$ ) seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Perda de massa (%)	Etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	Respiração ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ )
Controle	2,88 b	0,108 ns	175,7 ns
Cera de carnaúba	3,58 a	0,043	159,5
Cera de carnaúba + Citronela	3,24 ab	0,095	175,1
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	3,38ab	0,097	173,9
Cera de carnaúba + Canela	3,28 ab	0,118	195,3
Cera de carnaúba + Copaíba	3,31 ab	0,05	185,8
CV (%)	7,01	41,5	15,2

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Não houve diferença em relação a taxa de produção de etileno e respiração (Tabela 14). Brown e Wills (1983), utilizando cera de carnaúba em goiabas, além de encontrarem redução na perda de massa, também determinaram um aumento no brilho da casca e nenhuma alteração na coloração da casca, na taxa de respiração e na produção de etileno.

O teor de SS e AT não apresentaram diferenças entre tratamentos (Tabela 15). Jacomino et al. (2003) avaliou os efeitos das ceras de carnaúba sobre pós-colheita de goiabas Pedro Sato em condições ambientais. O experimento foi realizado com cinco ceras comerciais: Citrosol AK (18%), Citrosol M (10%), cera de fruta (18–21%), Meghwax ECF-100 (30%) e Cera Cleantex (18,5–20,5%), avaliada 2, 4 e 6 dias após a aplicação do tratamento. Os autores observaram que a cera teve pouco efeito sobre teores de SS, AT e ácido ascórbico.

Tabela 15 - Sólidos solúveis (SS; °Brix), acidez titulável (AT; % ácido málico), firmeza de polpa (N) em maçãs 'Fuji', colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L<sup>-1</sup>), seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%).

Tratamentos	SS (°Brix)	AT (%)	Firmeza (N)
Controle	13,6 ns	0,42 ns	75,7 b
Cera de carnaúba	13,3	0,45	79,4 a
Cera de carnaúba + Citronela	13	0,48	72,7 bc
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	13	0,48	71,4 c
Cera de carnaúba + Canela	12,8	0,48	73,4 bc
Cera de carnaúba + Copaíba	13,1	0,49	74,9 b
CV (%)	4,51	10,9	1,98

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Em relação à firmeza de polpa, a cera de carnaúba sem aplicação dos óleos proporcionou frutos com maior firmeza, porém os tratamentos com os óleos essenciais tiveram uma redução da firmeza, a destacar o OE de cravo-da-índia (Tabela 15). As ceras são classificadas como o revestimento lipídico mais eficiente para as frutas, podendo reduzir a perda de água, a taxa respiratória e a atividade metabólica, pode também proporcionar brilho. A inclusão de outros componentes, tais como óleos, são barreiras eficientes à água. Entretanto, concentrações altas destes componentes podem ser prejudiciais ao criar condições de anaerobiose nas frutas, induzindo alterações indesejáveis de sabor e odor, por serem susceptíveis a oxidação (DEBEAUFORT et al., 1998). Embora não haja na literatura justificativa sobre a ação dos OEs nas paredes celulares dos tecidos vegetais, danos significativos causados por OEs e seus compostos ativos no tecido da maçã minimamente processada durante o tempo de armazenamento podem induzir a liberação de alguns constituintes cruciais para a manutenção da célula e integridade da parede, causando uma redução importante na firmeza dessas amostras (WANG et al., 2021).

A AACPD foi menor, em relação ao controle nos tratamentos cera de carnaúba e cera de carnaúba combinada com os OEs de citronela, canela e copaíba (Tabela 16). A porcentagem de controle foi de 8,69 % para cera de carnaúba, de os tratamentos com cera + OEs, foi de 13,93% para citronela, 7,38 % para cravo-da-índia, 9,06% para canela e 10,66 % para copaíba. A incidência de podridão nas tangerinas, durante a comercialização

simulada, foi reduzida pela aplicação de cera em frutos anteriormente armazenados a 5 °C, com a cera aplicada forma uma película protetora (DA VEIGA et al., 2019). A redução nos sintomas de podridões pode estar relacionada com a redução da taxa dos processos bioquímicos do amadurecimento e senescência que a cera propiciou pela modificação da atmosfera interna dos frutos. Com esse atraso, o fruto pode manter sua capacidade de produzir compostos biocidas, além dos tecidos estarem mais resistentes aos patógenos. Esses efeitos acarretam na redução de podridões e atraso de infecções ativas de patógenos quiescentes (DA VEIGA et al., 2019).

Tabela 16 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT; mg EAG.100 g<sup>-1</sup>), da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L<sup>-1</sup>), seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%).

Tratamentos	AACPD	CFT (mg EAG.100 g <sup>-1</sup> )	
		Polpa	Casca
Controle	12,2 a	19,68 b	330,6 a
Cera de carnaúba	11,14 b	20,85 b	181,3 bc
Cera de carnaúba + Citronela	10,5 b	22,23 ab	183,6 bc
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	11,3 ab	21,27 ab	165,3 c
Cera de carnaúba + Canela	11,1 b	24,75 a	192,9 bc
Cera de carnaúba + Copaíba	10,9 b	23,15 ab	232,2 b
CV (%)	4,23	7,51	13,3

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

O conteúdo de CFT na polpa foi maior nos frutos submetidos à aplicação de cera de carnaúba com óleo essencial de canela, em relação ao controle. Contudo, na casca o conteúdo de CFT, em relação ao controle, reduziu nos frutos com aplicação de apenas cera de carnaúba e em combinação com os óleos essenciais, especialmente no tratamento com cera de carnaúba + óleo essencial de cravo-da-índia que apresentou o menor valor (Tabela 16). Segundo Vidhysekaran (1988) diversas substâncias fenólicas estão associadas à resistência a doenças como, por exemplo, ácido clorogênico, ácido protocatecólico e catecol, floridizina e arbutina (glicosídeos fenólicos). Em uvas ‘Chardonnay’, infectadas dos Bois Noir (*Candidatus Phytoplasma solani* Quaglino.) a quantidade de compostos fenólicos quando reduzida pode ser explicada, pela degradação o mais rápida de fenólicos compostos nos tecidos da baga devido ao menor conteúdo de

metabólitos protetores (BLANCHFIELD et al., 2006), ou / e em um fluxo interrupção de metabólitos primários, especialmente de carboidratos (HREN et al., 2009; FERRI et al., 2011).

A atividade das enzimas peroxidase e superóxido dismutase na polpa não apresentou diferença entre os tratamentos. Na casca, os tratamentos com cera de carnaúba e cera de carnaúba + óleo essencial de citronela tiveram aumento da atividade da peroxidase, em relação ao controle (Tabela 17). As peroxidases participam da biossíntese do hormônio vegetal etileno (ISIGHE et al., 1993), da oxidação de compostos fenólicos, os quais acumulam-se em resposta à infecção (FRY, 1986). Mudanças na atividade das peroxidases têm sido frequentemente correlacionadas a resposta de resistência ou suscetibilidade em diferentes patossistemas (STANGARLIN et al., 2011). O aumento da atividade de peroxidase contribui para a resistência a doenças nas plantas infectadas. Portanto, a indução de peroxidase por extratos vegetais e patógenos em bolor cinza-maçã (*B. cinerea*) pode ser considerada um dos marcadores de resistência a doenças durante a fitopatogênese fúngica.

A enzima superóxido dismutase também teve maior atividade no tratamento com cera de carnaúba + óleo essencial de citronela. A redução da atividade enzimática por alguns OEs pode estar relacionada a composição do óleo. Os componentes cinamaldeído e eugenol são os principais componentes ativos do óleo de canela e ambos os componentes atuam como eliminadores de radicais livres e as atividades de CAT e SOD diminuíram em pêssegos durante o armazenamento após 8 dias (MONTERO-PRADO et al., 2011). Montero-Prado et al. (2011) explicaram ainda que a diminuição das enzimas antioxidantes com o tempo durante o armazenamento poderia favorecer a produção de maiores concentrações de intermediários reativos de oxigênio e isso poderia promover a peroxidação lipídica e o dano oxidativo. Também nesta investigação, os vapores do óleo de canela apresentaram menor efeito na indução das atividades das enzimas de defesa (CINDI et al., 2016) Pesquisadores demonstraram que a produção e o acúmulo de ROS ( $H_2O_2$  e radicais superóxidos) são responsáveis pela resistência a doenças em plantas (INZÉ; MONTAGU, 1995).

Tabela 17 – Atividade das enzimas peroxidase (POD;  $\text{DO}^{-1}\text{mg de proteínas}^{-1}\text{ min}$ ) e Superóxido dismutase (SOD;  $\text{U}^{-1}\text{ml}^{-1}\text{mg de proteína}$ ) da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	POD ( $\text{DO}^{-1}\text{mg de proteínas}^{-1}\text{ min}$ )		SOD ( $\text{U}^{-1}\text{ml}^{-1}\text{mg de proteína}$ )	
	Polpa	Casca	Polpa	Casca
Controle	5,84 ns	262,2 bc	97,15 ns	306,8 bc
Cera de carnaúba	5,22	313,7 a	98,78	381,3 b
Cera de carnaúba + Citronela	8,92	340,2 a	95,67	489,1 a
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	7,29	257,8 c	77,81	316,9 bc
Cera de carnaúba + Canela	7,67	307,0 ab	90,77	338,9 bc
Cera de carnaúba + Copaíba	7,61	225,7 c	104,5	286,4 c
CV (%)	31,5	6,33	12,5	9,63

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Sabor e aroma determinam a aceitação do consumidor quando excedem as expectativas e a compra se repete (SALAZAR; OROZCO, 2011). Sendo assim os voláteis se tornam importantes, sendo os responsáveis diretos pelo *flavor* e aroma característico da fruta (BRAGA, 2013). Em relação aos compostos voláteis (Tabela 18), o 1-butanol e o propionato de propila foram detectados somente no controle. O álcool (2E) -2-Hexenal teve maior quantidade detectada no tratamento controle. Os álcoois 2-Metil-1-butanol e 1-hexano tiveram maiores picos com utilização de OEs. Os ésteres acetato de 2-metilbutila e ácido butírico, éster propílico, tiveram maior quantidade no tratamento com cera de carnaúba + OE de copaíba. O (2E) -2-Hexenal é um aroma componente de muitas frutas e vegetais que contribuem para ‘Notas verdes’ (FLATH et al., 1967; HATANAKA, 1993). Sua produção aumenta nos tecidos da fruta, a partir da ativação da via enzimática da lipoxigenase hidropéroxido liase, em resposta a ferimentos ou lesões (HATANAKA, 1993; HAMILTON-KEMP et al., 2003). O controle pode ter tido o maior pico em resposta a infecção do *P. expansum*.

Tabela 18 – Perfil de compostos voláteis identificados (área relativa %) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS na safra 2018/19, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), seguidas de 10 dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Composto	Área (%)						Classe
	Controle	Cera 25 %					
		Cera	Citronela	Cravo-da-índia	Canela	Copaíba	
ácido 2-metilbutírico	nd	nd	0,21 $\pm$ 0,26	0,41 $\pm$ 0,13	0,23 $\pm$ 0,16	0,23 $\pm$ 0,05	ácido
ácido acético	3,28 $\pm$ 1,49	0,56 $\pm$ 1,11	nd	0,28 $\pm$ 0,57	0,52 $\pm$ 0,41	nd	ácido
1-butanol	0,67 $\pm$ 0,78	nd	nd	nd	nd	nd	álcool
2-etilhexanol	2,28 $\pm$ 1,52	3,03 $\pm$ 0,49	2,18 $\pm$ 0,68	2,46 $\pm$ 0,31	2,25 $\pm$ 0,21	3,36 $\pm$ 0,55	álcool
2-metil-1-butanol	1,34 $\pm$ 1,91	2,77 $\pm$ 2,91	3,67 $\pm$ 0,64	5,46 $\pm$ 1,06	4,30 $\pm$ 1,08	5,52 $\pm$ 1,57	álcool
2-hexenol	0,55 $\pm$ 0,39	1,70 $\pm$ 0,49	0,96 $\pm$ 0,19	1,37 $\pm$ 0,29	1,02 $\pm$ 0,17	2,48 $\pm$ 1,15	álcool
1-hexano	6,68 $\pm$ 0,97	12,16 $\pm$ 5,18	9,11 $\pm$ 1,99	11,88 $\pm$ 1,81	9,97 $\pm$ 2,56	15,54 $\pm$ 5,43	álcool
decanal	nd	nd	nd	nd	0,27 $\pm$ 0,28	0,28 $\pm$ 0,24	aldeído
(2e) -2-hexenal	17,20 $\pm$ 3,36	13,71 $\pm$ 3,12	12,35 $\pm$ 3,34	16,37 $\pm$ 5,19	13,20 $\pm$ 1,52	11,11 $\pm$ 3,59	aldeído
hexanal	25,41 $\pm$ 2,31	21,23 $\pm$ 14,16	30,27 $\pm$ 4,40	23,4 $\pm$ 1,08	29,16 $\pm$ 2,86	24,13 $\pm$ 6,81	aldeído
nonanal	0,13 $\pm$ 0,16	0,24 $\pm$ 0,17	nd	0,16 $\pm$ 0,11	0,28 $\pm$ 0,21	0,30 $\pm$ 0,12	aldeído
acetato de etila	1,43 $\pm$ 0,98	2,22 $\pm$ 1,50	2,22 $\pm$ 0,15	2,74 $\pm$ 0,31	2,52 $\pm$ 0,83	2,47 $\pm$ 0,40	éster
acetato de propila	3,02 $\pm$ 2,06	3,91 $\pm$ 3,28	1,59 $\pm$ 0,17	1,52 $\pm$ 0,13	0,75 $\pm$ 0,93	1,24 $\pm$ 0,22	éster
acetato de isobutila	nd	nd	nd	nd	nd	0,23 $\pm$ 0,16	éster
acetato de hexila	2,88 $\pm$ 0,35	3,54 $\pm$ 0,86	3,66 $\pm$ 0,36	3,38 $\pm$ 0,39	2,52 $\pm$ 0,65	2,80 $\pm$ 0,45	éster
(2z) -2-acetato de hexenil	nd	2,83 $\pm$ 2,02	nd	0,67 $\pm$ 0,41	nd	1,54 $\pm$ 1,37	éster
1-acetoxipentano	nd	nd	nd	0,29 $\pm$ 0,19	0,65 $\pm$ 1,31	0,22 $\pm$ 0,15	éster
acetato de 2-metilbutila	0,29 $\pm$ 0,21	nd	nd	nd	nd	12,91 $\pm$ 0,86	éster
ácido acético, éster pentílico	nd	0,35 $\pm$ 0,24	nd	nd	nd	nd	éster



Composto	Área (%)						Classe
	Controle	Cera 25 %					
		Cera	Citronela	Cravo-da-índia	Canela	Copaíba	
ácido butírico, éster propílico	0,36 ± 0,03	0,34 ± 0,29	0,52 ± 0,30	nd	nd	5,22 ± 3,29	éster
butil 2-metilbutirato	2,40 ± 0,37	0,44 ± 0,39	0,60 ± 0,18	0,53 ± 0,15	0,48 ± 0,09	0,31 ± 0,04	éster
butirato de etila	3,53 ± 4,05	nd	2,57 ± 0,66	1,73 ± 0,44	4,11 ± 4,49	1,40 ± 1,10	éster
butirato de 2-metilhexila	1,15 ± 0,49	1,18 ± 0,59	1,42 ± 0,99	1,21 ± 0,27	nd	0,57 ± 0,16	éster
butirato de 2-metilpropila	nd	0,25 ± 0,23	nd	nd	nd	nd	éster
butirato de butila	0,24 ± 0,16	0,32 ± 0,25	0,45 ± 0,08	0,41 ± 0,11	0,35 ± 0,05	0,22 ± 0,15	éster
butirato de propila	nd	nd	nd	0,51 ± 0,18	0,19 ± 0,22	0,22 ± 0,16	éster
etanoato de butila	6,48 ± 0,37	8,41 ± 2,40	7,63 ± 0,29	7,81 ± 0,89	6,57 ± 0,38	±	éster
hexanoato de etila	0,11 ± 0,13	0,29 ± 0,21	0,60 ± 0,12	0,59 ± 0,14	0,25 ± 0,08	0,19 ± 0,05	éster
hexanoato de propila	nd	nd	nd	0,10 ± 0,13	nd	nd	éster
hexilbutirato	0,29 ± 0,20	0,41 ± 0,24	0,49 ± 0,37	0,41 ± 0,03	1,66 ± 0,18	0,24 ± 0,02	éster
hexilcaproato	0,06 ± 0,07	0,1 ± 0,07	0,11 ± 0,13	nd	nd	nd	éster
2-metilbutil acetato	12,57 ± 0,35	14,89 ± 2,75	13,2 ± 0,81	13,35 ± 0,69	11,64 ± 1,13	nd	éster
2-metilbutirato de etila	6,78 ± 4,59	3,57 ± 4,93	4,89 ± 2,56	3,92 ± 3,39	4,91 ± 3,81	6,59 ± 4,16	éster
propanoato de butila	nd	0,32 ± 0,39	nd	0,55 ± 0,09	0,30 ± 0,22	0,30 ± 0,20	éster
propionato de etila	nd	nd	nd	0,95 ± 0,69	0,69 ± 0,80	0,24 ± 0,28	éster
propionato de propila	0,11 ± 0,23	nd	nd	nd	nd	nd	éster
alfa - farneceno	0,67 ± 0,41	0,56 ± 0,21	1,10 ± 0,13	0,79 ± 0,38	0,55 ± 0,32	0,13 ± 0,15	Sesquiterpeno

Fonte: PubChem Compound Summary. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>. Acesso: janeiro, 2021. Fonte: Elaboração da autora, 2021.

### 3.3.3 Experimento em armazenamento refrigerado

Na colheita, os frutos apresentaram, em relação à cor,  $L$  70,2,  $C$  34,5 e  $h^\circ$  96,6, no lado menos vermelho, SS de 12,2 °Brix, AT de 0,32 % de ácido málico, índice iodo-amido de 4,0 e firmeza de polpa de 71,6 N.

Na saída do armazenamento, a quantidade de perda de massa, podridão e taxa respiratória não apresentaram diferenças entre tratamentos. A taxa de produção de etileno foi menor em todos os tratamentos com aplicação de cera de carnaúba, com ou sem utilização de óleos essenciais (Tabela 19). Aplicando um revestimento na epiderme do fruto, realiza-se o preenchimento parcial dos estômatos e das lenticelas, reduzindo a transferência de umidade e as trocas gasosas (MIRANDA, 2015). O início do amadurecimento está ligado ao aumento na produção de etileno e, considerando que  $O_2$  é necessário para a sua produção, uma redução da permeação de  $O_2$  para o dentro do fruto causará redução na produção de etileno (QI et al., 1999), podendo prolongar a conservação do fruto (CALBO et al., 2007). A adição de lipídios possibilita a melhora das propriedades de permeabilidade ao vapor d'água, as características de barreiras controladas e melhora a resistência dos biofilmes produzidos a partir de proteínas, demonstrando uma solução viável para filmes proteicos (WANG et al., 2014). Ao revestir produtos agrícolas, a cera é capaz de modificar a concentração de gases em torno do produto, reduzindo a concentração de  $O_2$ , aumentando a de  $CO_2$  e conseqüentemente, provocando uma redução da respiração, transpiração, biossíntese de etileno e crescimento de microorganismos, preservando desse modo, a qualidade e aumentando a longevidade desses produtos (MATTOS et al., 2017). Ameixas revestidas com cera de carnaúba 18% e OE de capim limão em diferentes concentrações exibiram menor taxa de produção de etileno (KIM et al., 2013). A taxa de produção de etileno de ameixas revestidas não foi alterada significativamente pela concentração do óleo essencial na emulsão de revestimento (KIM et al., 2013). Um aumento na taxa respiratória está relacionado à atividade metabólica das frutas, senescência dos tecidos e degradação celular (SANCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011). A concentração do óleo essencial teve pouco efeito nas taxas de respiração das amostras revestidas em ambas as temperaturas de armazenamento (KIM et al., 2013). Aos sete dias em condições ambiente, simulando o tempo de prateleira, para etileno os tratamentos com cera de carnaúba + óleos de citronela e copaíba tiveram redução na taxa de produção de etileno (Tabela 19). Os revestimentos comestíveis causaram altas concentrações de  $CO_2$  e baixas concentrações de gás  $O_2$  nas

frutas revestidas, resultando em redução da taxa de produção de etileno (JIANG et al., 2012).

Tabela 19 – Perda de massa (%), taxa de produção de etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), e taxa respiratória ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500 \mu\text{L L}^{-1}$ ), e armazenadas sob refrigeração (temperatura de  $1\pm 0,2^\circ\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) durante 4 meses, na saída do armazenamento e aos 7 dias em condição ambiente.

Tratamentos	Perda de massa (%)	Etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ )		Taxa respiratória ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	
		Dia 0	Dia 7	Dia 0	Dia 7
Controle	3,30 ns	0,198 a	0,220 a	135,2 ns	150,8 ns
Cera de carnaúba	2,46	0,100 bc	0,129 ab	127,7	119,9
Cera de carnaúba + Citronela	2,91	0,107 bc	0,113 b	126,7	118,9
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	3,04	0,171 ab	0,191 ab	145,4	122,2
Cera de carnaúba + Canela	1,72	0,107 bc	0,150 ab	136,2	136,3
Cera de carnaúba + Copaíba	2,55	0,072 c	0,111 b	136,1	131,3
CV (%)	32,62	28,07	26,2	10,01	16,2

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Em relação aos atributos de cor da casca, na saída da câmara, não apresentou diferença entre tratamentos (Tabela 20). Para Jo et al. (2014), houve uma diferença mínima na mudança de cor entre as maçãs revestidas com cera de carnaúba e cera de carnaúba + óleo essencial de capim limão. A cera de carnaúba previne a mudança de cor em frutas como manga e goiaba (HOA; DUCAMP, 2008; MCGUIRE, 1997).

Tabela 20 – Atributos de cor da casca ( $L$ ,  $C$  e  $h^\circ$ ) em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), e armazenadas sob refrigeração (temperatura de  $1\pm 0,2^\circ\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento e após sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Dia 0					
	Mais vermelho			Menos vermelho		
	$L$	$C$	$h^\circ$	$L$	$C$	$h^\circ$
Controle	45,6 ab	32,7 ab	41,6 ab	68,3 ns	36,8 ab	91,8 ns
Cera de carnaúba	42,2 b	33,0 ab	35,4 b	66,9	34,7 b	89,3
Cera de carnaúba + Citronela	43,6 ab	33,3 ab	37,7 b	67,6	35,6 ab	89,2
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	44,1 ab	32,4 ab	39,8 ab	67,9	36,3 ab	90,1
Cera de carnaúba + Canela	47,6 a	31,2 b	47,7 a	68,9	37,4 a	96,5
Cera de carnaúba + Copaíba	44,6 ab	33,8 a	38,2 b	68,1	37,4 ab	98,2
CV (%)	4,15	2,95	10,1	2,18	3,99	2,44
Tratamentos	Dia 7					
	Mais vermelho			Menos vermelho		
	$L$	$C$	$h^\circ$	$L$	$C$	$h^\circ$
Controle	46,6 a	34,3 a	48,3 a	69,0 ns	40,3 ab	95,1 ab
Cera de carnaúba	40,8 b	31,9 b	35,9 b	65,9	38,8 b	92,8 b
Cera de carnaúba + Citronela	44,4 ab	32,6 b	37,6 b	67,5	39,6 ab	92,0 b
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	42,9 ab	31,8 b	40,0 b	68,5	40,5 ab	95,7 ab
Cera de carnaúba + Canela	46,9 a	31,9 b	47,9 a	69,1	41,2 a	98,7 a
Cera de carnaúba + Copaíba	45,1 ab	33,2 ab	41,7 ab	67,5	40,0 ab	91,6 b
CV (%)	5,09	2,02	7,79	2,28	2,36	2,02

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Os atributos de cor da casca, após sete dias em condições ambiente, no lado mais vermelho, o valor de  $L$  foi menor no tratamento com cera de carnaúba. O valor de  $C$ , em relação ao controle, foi menor nos tratamentos cera de carnaúba isoladamente e em combinação com os óleos essenciais de citronela, cravo-da-índia e canela. Para o  $h^\circ$ , os tratamentos com cera de carnaúba, cera de carnaúba + óleo essencial de citronela e o com óleo essencial de cravo-da-índia foram menores, mais amarelados (Tabela 20). A região menos vermelha, não apresentou diferença. Resultados verificados por Chiumarelli e Ferreira (2004), não observaram diferenças em relação à coloração de tomates “Débora” revestidos com cera de carnaúba comercial e frutos não revestidos. Esperava-se que os tomates tratados com as emulsões apresentariam diferenças em relação aos frutos controle, como maior luminosidade, revestimentos lipídicos são barreiras controladoras

da permeação de gases, podendo influenciar na coloração dos frutos (MIRANDA, 2015). Segundo Assis et al. (2008), revestimentos a base de lipídeos, como a cera de carnaúba, são hidrofóbicos e tendem a agir mais efetivamente como barreiras controladoras de umidade e de permeação de gases (ASSIS et al., 2008).

O teor de SS não apresentou diferença entre os tratamentos. A AT teve diferença entre os tratamentos com OEs, sendo que o tratamento com citronela apresentou maior AT. A firmeza de polpa foi maior nos frutos do tratamento controle, não diferindo dos frutos do tratamento cera de carnaúba. Os tratamentos com cera de carnaúba e óleos essenciais reduziram a firmeza da polpa, especialmente nos óleos essenciais canela e cravo-da-índia que proporcionaram os menores valores (Tabela 21). Kim et al. (2013) observaram que revestimentos com nanoemulsão de cera de carnaúba incorporada com óleo de capim-limão não alteraram significativamente o sabor, a firmeza de polpa e o brilho de ameixas, mas reduziram a perda de peso e a produção de etileno e também retardaram as mudanças na perda de cor e na concentração de compostos fenólicos durante o armazenamento. Quando armazenadas a 4°C, a firmeza de polpa das ameixas revestidas foi maior do que a das ameixas não revestidas.

Tabela 21 - Sólidos solúveis (SS; °Brix), acidez titulável (AT; % ácido málico), firmeza de polpa (N) em maçãs 'Fuji', colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L<sup>-1</sup>) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento, mais sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%).

Tratamentos	SS (°Brix)	AT (%)	Firmeza (N)
Controle	13,0 ns	0,248 ab	70,5 a
Cera de carnaúba	13,1	0,246 ab	68,3 ab
Cera de carnaúba + Citronela	13,5	0,273 a	67,5 b
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	12,4	0,222 b	63,7 c
Cera de carnaúba + Canela	12,4	0,222 b	63,3 c
Cera de carnaúba + Copaíba	12,7	0,239 b	66,9 b
CV (%)	4,95	5,36	1,58

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

A AACPD foi menor em todos os tratamentos com cera de carnaúba e cera de carnaúba com óleo essencial (Tabela 22), a porcentagem de controle foi de 10,60 % para cera de carnaúba, e com cera de carnaúba e adição dos OEs, citronela com 10,60 % de

controle, cravo-da-índia 13,85 %, canela 14,38 % e copaíba com 14,60 %. A incidência de podridões em tangerinas, durante a comercialização simulada, foi reduzida pelo que a aplicação de cera (DA VEIGA et al., 2019). A cera aplicada forma uma película protetora, revestindo os possíveis ferimentos da casca, que podem ser locais de infecção pelos patógenos, como o *Penicillium spp.* (DA VEIGA et al., 2019). Especificamente para este patógeno, a infecção ocorre somente através de ferimentos ou aberturas naturais, onde é possível obter os nutrientes que estimulam a germinação dos esporos, uma vez depositados na superfície do fruto (FISCHER et al., 2007).

Tabela 22 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT; mg EAG.100 g<sup>-1</sup>), da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’, colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L<sup>-1</sup>) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) durante quatro meses, na saída do armazenamento, mais sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%).

	AACPDS	CFT (mg EAG.100 g <sup>-1</sup> )	
		Polpa	Casca
Controle	9,53 a	22,80 ns	391,3 a
Cera de carnaúba	8,52 b	23,02	351,3 ab
Cera de carnaúba + Citronela	8,40 b	23,05	351,5 ab
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	8,21 b	19,45	207,8 c
Cera de carnaúba + Canela	8,16 b	22,43	256,3 bc
Cera de carnaúba + Copaíba	8,11 b	21,82	268,4 bc
CV (%)	4,81	16,7	15,8

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

O conteúdo de compostos fenólicos totais na polpa não diferiu entre tratamentos. Na casca, os tratamentos com cera de carnaúba + óleos essenciais de cravo-da-índia, canela e copaíba proporcionaram frutos com menor quantidade (Tabela 22). A diminuição dos compostos fenólicos pode estar relacionada às atividades de certas enzimas, como a polifenol oxidase e a peroxidase (MENG et al.;2008). Essa redução nos compostos fenólicos pode ser devido à oxidação, que é acelerado por enzimas como polifenol oxidase e peroxidase (MENG et al., 2008). Os revestimentos contendo OE podem formar uma barreira de oxigênio eficaz na superfície dos frutos, e assim ser útil para minimizar a oxidação de compostos fenólicos, porém essa barreira as propriedades do revestimento podem ser aumentadas com uma concentração mais elevada de OE (KIM et al., 2014).

Em relação à atividade da enzima peroxidase, na polpa, foi maior quando foi utilizado cera de carnaúba + óleo essencial de citronela, ao passo que na casca não houve diferença entre tratamentos. A atividade da enzima superóxido dismutase, na polpa, foi maior nos tratamentos cera de carnaúba + óleos essenciais de cravo-da-índia e canela, sendo que na casca os tratamentos não diferiram entre si (Tabela 23). A senescência de frutas foi positivamente correlacionada com enzimas antioxidantes como CAT, SOD e POD (LEMOINE et al., 2010; SHAO et al., 2013). Para Fan et al. (2014), o tratamento com cera + citral induziu um aumento nas atividades CAT, SOD e POD. Com relação à atividade de POD, os autores observaram diminuição no conteúdo da atividade POD em amostras tratadas com cera nos primeiros três dias, mas um aumento da atividade da enzima de 4,3 vezes em frutas tratadas com cera + citral, do que em amostras tratadas com cera. Dentre as alternativas relatadas na literatura, a indução de resistência do hospedeiro ao patógeno por microrganismos com atividade 'killer' tem sido apontada como uma opção promissora para o controle de doenças de plantas, uma vez que são ativos contra um amplo espectro de patógenos e são mais seguros que outras alternativas (COMITINI et al., 2009; WALLING, 2001).

Tabela 23 - Atividade das enzimas peroxidase (POD;  $\text{DO}^{-1}\text{mg}$  de proteínas $^{-1}$  min) e Superóxido dismutase (SOD;  $\text{U}^{-1}\text{ml}^{-1}\text{mg}$  de proteína) da polpa e da casca, em maçãs 'Fuji', colhidas em Vacaria, RS, submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e armazenadas sob refrigeração (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) durante 4 meses, na saída do armazenamento, mais 7 dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	POD ( $\text{DO}^{-1}$ mg de proteínas $^{-1}$ min)		SOD ( $\text{U}^{-1}$ ml $^{-1}$ mg de proteína)	
	Polpa	Casca	Polpa	Casca
Controle	4,16 b	333,2 ns	70,5 c	472,2 ab
Cera de carnaúba	5,86 ab	426,9	76,5 bc	467,1 ab
Cera de carnaúba + Citronela	6,64 a	384,7	88,9 abc	393,1 b
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	6,7 ab	346,8	103,7 a	411,3 b
Cera de carnaúba + Canela	6,49 ab	333,4	97,9 ab	493,1 ab
Cera de carnaúba + Copaíba	6,26 ab	297,5	93,5 abc	576,5 a
CV (%)	16,1	18,8	12,6	12,5

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).  
ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

O ácido 2-metilbutírico e o éster butirato de butila foram encontrados nos tratamentos, menos no controle, enquanto o 2-Metil-1-butanol foi encontrado somente no tratamento controle (Tabela 24). O aroma de maçã após o armazenamento depende de vários fatores, incluindo o estágio de maturidade na colheita (HANSEN et al., 1992), concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> na atmosfera de armazenamento e período de armazenamento (STREIF; BANGERTH, 1988). O perfil final do aroma de uma fruta é o resultado de um fino equilíbrio entre todos os compostos emitidos e, conseqüentemente, qualquer alteração neste equilíbrio resultará em alterações no sabor da fruta (LARA et al., 2006). O 2-metilbutanoato de etila, Acetato de 2-metilbutila e acetato de hexila foram os compostos que contribuem principalmente para o sabor "Fuji", ambos na colheita e após o armazenamento (ECHEVERRÍA, et al., 2004).



Tabela 24 – Perfil de compostos voláteis identificados (área relativa %) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC na safra 2018/19, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera carnaúba e cera de carnaúba com óleos essenciais, permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Composto	Área (%)						Classe
	Controle	Cera 25 %					
		Cera	Citronela	Cravo-da-índia	Canela	Copaíba	
ácido 2-metilbutírico	nd	$0,49 \pm 0,10$	$0,46 \pm 0,10$	$3,56 \pm 6,19$	$2,68 \pm 4,95$	$0,31 \pm 0,06$	ácido
ácido acético	$0,58 \pm 0,41$	$0,48 \pm 0,08$	$0,33 \pm 0,42$	$0,12 \pm 0,23$	$0,18 \pm 0,35$	nd	ácido
1-butanol	$2,76 \pm 0,56$	$2,21 \pm 0,90$	$1,95 \pm 1,49$	$2,51 \pm 0,83$	$1,90 \pm 1,21$	$3,42 \pm 0,87$	álcool
2-etilhexanol	$3,83 \pm 0,44$	$4,23 \pm 0,30$	$5,35 \pm 1,08$	$3,61 \pm 0,80$	$2,35 \pm 1,42$	$2,63 \pm 0,24$	álcool
2-metil-1-butanol	$1,19 \pm 2,38$	nd	nd	nd	nd	nd	álcool
2-hexenol	$0,22 \pm 0,03$	$0,55 \pm 0,29$	$0,25 \pm 0,25$	$4,18 \pm 4,04$	$1,70 \pm 2,25$	$0,37 \pm 0,11$	álcool
1-hexano	$6,11 \pm 0,79$	$9,68 \pm 3,08$	$7,07 \pm 4,10$	$9,70 \pm 3,76$	$8,60 \pm 2,40$	$8,30 \pm 1,41$	álcool
(z) -oct-2-en-1-ol	$0,58 \pm 0,05$	$0,58 \pm 0,08$	$0,50 \pm 0,34$	nd	nd	nd	álcool
(2e) -2-hexenal	$10,37 \pm 0,64$	$10,99 \pm 0,61$	$12,41 \pm 3,02$	$10,43 \pm 1,24$	$8,85 \pm 4,56$	$10,70 \pm 1,51$	aldeído
hexanal	$30,69 \pm 2,34$	$21,38 \pm 11,05$	$22,19 \pm 15,5$	$22,20 \pm 13,03$	$23,92 \pm 15,42$	$31,72 \pm 0,28$	aldeído
acetato de etila	$4,67 \pm 1,72$	$7,13 \pm 1,85$	$3,05 \pm 1,99$	$5,89 \pm 1,05$	$5,21 \pm 2,09$	$9,40 \pm 2,65$	éster
acetato de propila	$1,70 \pm 0,03$	$2,28 \pm 0,31$	$1,74 \pm 0,78$	$0,51 \pm 0,41$	$1,30 \pm 0,56$	$1,59 \pm 1,13$	éster
acetato de hexila	$0,53 \pm 0,26$	$0,65 \pm 0,27$	$0,66 \pm 0,16$	$1,58 \pm 2,17$	$1,58 \pm 2,77$	$0,48 \pm 0,18$	éster
1-acetoxipentano	nd	$0,23 \pm 0,26$	$0,17 \pm 0,33$	nd	$0,05 \pm 0,10$	nd	éster
ácido butírico, éster propílico	$1,74 \pm 0,38$	$0,61 \pm 0,05$	$0,74 \pm 0,11$	$0,67 \pm 0,32$	$2,47 \pm 4,70$	$0,41 \pm 0,11$	éster
butil 2-metilbutirato	$1,93 \pm 0,26$	$2,09 \pm 0,51$	$1,43 \pm 0,99$	$1,54 \pm 0,60$	$1,53 \pm 0,36$	$1,98 \pm 0,29$	éster
butirato de etila	$1,97 \pm 0,44$	$2,19 \pm 0,64$	$2,08 \pm 0,39$	$4,07 \pm 4,65$	$6,09 \pm 5,57$	$1,99 \pm 0,61$	éster
butirato de 2-metilhexila	$1,91 \pm 0,25$	$1,14 \pm 0,33$	$1,45 \pm 0,35$	$0,96 \pm 0,56$	$0,98 \pm 0,19$	$0,98 \pm 0,42$	éster

Composto	Área (%)						Classe
	Controle	Cera 25 %					
		Cera	Citronela	Cravo-da-índia	Canela	Copaíba	
butirato de butila	nd	0,46 ± 0,04	0,55 ± 0,11	0,54 ± 0,25	0,35 ± 0,14	0,31 ± 0,09	éster
etanoato de butila	9,25 ± 0,64	10,63 ± 0,44	12,17 ± 1,90	8,40 ± 4,10	5,68 ± 3,12	8,69 ± 0,12	éster
hexilbutirato	1,08 ± 0,11	0,69 ± 0,10	1,04 ± 0,24	0,78 ± 0,14	0,59 ± 0,14	0,45 ± 0,19	éster
2-metilbutil acetato	12,91 ± 0,86	14,93 ± 0,82	14,87 ± 2,49	9,65 ± 6,70	11,81 ± 1,36	11,21 ± 1,26	éster
2-metilbutirato de etila	1,79 ± 0,52	2,06 ± 0,90	1,94 ± 0,39	4,63 ± 5,69	9,72 ± 14,47	3,63 ± 1,97	éster
propionato de etila	0,19 ± 0,38	0,63 ± 0,57	0,63 ± 0,46	nd	nd	nd	éster
alfa - farneceno	3,92 ± 3,11	1,44 ± 1,22	3,64 ± 0,77	1,42 ± 1,33	1,53 ± 0,55	1,64 ± 0,70	Sesquiterpeno

Fonte: PubChem Compound Summary. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>. Acesso: janeiro, 2021. Fonte: Elaboração da autora, 2021.

### 3.3.4 Experimento pós-armazenamento

Na safra 2018/2019 os frutos, no momento da instalação do experimento, apresentaram os atributos de cor  $L$  de 68,8,  $C$  de 38,4 e  $h^\circ$  de 86,9, na região menos vermelha do fruto, SS de 14,0°Brix; AT de 0,242% ácido málico e firmeza de polpa de 68,1 N. Na safra 2019/2020, no momento da instalação do experimento, os frutos apresentaram os atributos de cor  $L$  de 67,8,  $C$  de 35,7 e  $h^\circ$  de 78,7, na região menos vermelha do fruto, SS de 15,2°Brix, AT de 0,230% de ácido málico e firmeza de polpa de 74,2 N.

Nesse experimento, não houve diferença entre tratamentos para perda de massa na safra 2018/19. Na safra 2019/20, todos tratamentos com cera de carnaúba e cera de carnaúba + óleo essencial apresentaram maior perda de massa em relação ao controle (Tabela 25). A composição química das ceras epicuticulares varia muito entre as diferentes espécies de plantas, órgãos da mesma planta, estágio de desenvolvimento e fatores ambientais (BORISJUK et al., 2014; MACKOVA et al., 2013). Oliveira et al. (2003) avaliaram os efeitos de diferentes teores e composições químicas das ceras epicuticulares foliares de espécies da Caatinga e Cerrado e mostraram que as ceras das espécies da Caatinga foram geralmente mais eficazes contra a perda de água do que as do Cerrado. O recobrimento proporciona a modificação da atmosfera evitando a perda de umidade (PEREIRA et al., 2014). Cantillano et al., (2011) avaliaram a aplicação de cera à base de carnaúba em tangerinas ‘Ponkan’ e identificaram, por microscopia eletrônica, homogeneidade na cobertura do flavedo do fruto, proporcionando uma barreira física contra a perda de água e evitando a penetração de patógenos pelas aberturas naturais, devido ao selamento da casca promovido pela cera. Os biofilmes à base de lipídios normalmente são confeccionados a partir de ceras (BLUM et al., 2008). Os lipídeos apresentam uma ótima barreira à umidade devido à hidrofobicidade característica (JANJARASSKUL; KROCHTA, 2010). No entanto, eles apresentam algumas desvantagens, como formação de fissuras, falta de homogeneidade, alterações sensoriais, baixa adesão ao produto e, em alguns casos, a alta barreira a gases que eles estabelecem, leva a condições anaeróbicas (CUTER, 2006).

Tabela 25 – Perda de massa (%) e podridão (%) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Safra 2019	Safra 2020
	Perda de massa (%)	Perda de massa (%)
Controle	2,59 ns	1,51 b
Cera de carnaúba	2,90	1,85 a
Cera de carnaúba + Citronela	2,42	1,84 a
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	2,66	1,98 a
Cera de carnaúba + Canela	2,63	1,91 a
Cera de carnaúba + Copaíba	2,87	1,92 a
CV (%)	17,90	3,40

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

A firmeza da polpa também não teve diferença entre tratamentos, em ambas as safras. A taxa de produção de etileno, na safra 2018/19, apresentou menor valor nos tratamentos com cera de carnaúba e cera de carnaúba + OE, porém na safra 2019/20 não apresentou diferença entre tratamentos. A taxa respiratória, em ambas as safras, não diferiu entre tratamentos (Tabela 26). A diferença na produção de etileno nas safras pode estar relacionada, na segunda safra, devido os frutos serem armazenados em Atmosfera Controlada Dinâmica (ACD), em que se injeta constantemente ou intermitentemente o  $\text{N}_2$ , em forma de gás, nas câmaras de AC, eliminando o  $\text{CO}_2$  através do princípio da diluição, o que poderia também diluir e remover o etileno liberado pelos frutos, apresentando um efeito semelhante a um equipamento removedor de etileno (BRACKMANN et al., 2005). Diferente da atmosfera controlada, ACD permite o controle da pressão parcial de  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$  de forma dinâmica, adaptando aos limites de oxigênio e  $\text{CO}_2$  tolerado pelos frutos, reduzindo assim as reações oxidativas e processo de senescência, diminuindo o desenvolvimento de distúrbios fisiológicos e perda de qualidade (BOTH et al., 2015). O armazenamento em ACD tem como principal vantagem em relação a tradicional AC a manutenção da firmeza de polpa, da acidez e da cor de fundo da epiderme (NEUWALD et al., 2012).

Tabela 26 – Taxas de produção de etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) e respiratória ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^\circ\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500 \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Safr 2018/2019		
	Etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	Respiração ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	Firmeza (N)
Controle	0,173 a	434,9 ns	64,3 ns
Cera de carnaúba	0,094 b	476,7	63,0
Cera de carnaúba + Citronela	0,104 b	484,4	60,3
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	0,096 b	424,8	61,4
Cera de carnaúba + Canela	0,101 b	436,9	60,7
Cera de carnaúba + Copaíba	0,088 b	440,2	62,7
CV (%)	16,7	12,6	4,81
Tratamentos	Safr 2019/2020		
	Etileno ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	Respiração ( $\eta\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	Firmeza (N)
Controle	0,009 ns	103, 1 ns	76,4 ns
Cera de carnaúba	0,023	129,8	74,5
Cera de carnaúba + Citronela	0,01	124,2	75,4
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	0,017	134,8	75,8
Cera de carnaúba + Canela	0,009	124,3	77,1
Cera de carnaúba + Copaíba	0,005	130,2	75,4
CV (%)	86,5	16,9	5,19

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Em relação aos atributos de cor, em ambas as safras, não houve diferença entre tratamentos na região mais vermelha do fruto (dados não apresentados). Na região menos vermelha, na primeira safra, o valor de  $h^\circ$  foi maior nos tratamentos com cera de carnaúba associada aos óleos essenciais de cravo-da-índia, canela e copaíba. Na segunda safra, houve diferença somente para atributos de cor  $C$ , com maior valor nos frutos do tratamento cera de carnaúba + óleo essencial de cravo-da-índia (Tabela 27). A cera de carnaúba pode ser aplicada em produtos com casca comestível, devido ao fato de não ser tóxica, conferir brilho e reduzir a perda de umidade, além de ser facilmente removida com água, se necessário (COSTA, 2018).

Tabela 27 – Atributos de cor da casca ( $L$ ,  $C$  °h) no lado menos vermelho em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Safra 2019		
	Região menos vermelha		
	$L$	$C$	$h^{\circ}$
Controle	67,6 ns	41,3 ns	85,1 b
Cera de carnaúba 25%	70,5	42,9	90,6 ab
Cera de carnaúba 25% + Citronela $500\ \mu\text{L L}^{-1}$	70,1	43,3	89,5 ab
Cera de carnaúba 25% + Cravo-da-índia $500\ \mu\text{L L}^{-1}$	71,1	42,8	92,2 a
Cera de carnaúba 25% + Canela $500\ \mu\text{L L}^{-1}$	70,4	42,3	92,5 a
Cera de carnaúba 25% + Copaíba $500\ \mu\text{L L}^{-1}$	70,6	43,1	92,5 a
CV	2,33	2,93	2,94
Tratamentos	Safra 2020		
	Região menos vermelha		
	$L$	$C$	$h^{\circ}$
Controle	62,4 ns	34,8 b	76,9 ns
Cera de carnaúba 25%	63,7	36,7 ab	81,6
Cera de carnaúba 25% + Citronela $500\ \mu\text{L L}^{-1}$	62,4	36,1 ab	80,2
Cera de carnaúba 25% + Cravo-da-índia $500\ \mu\text{L L}^{-1}$	65,3	38,1 a	85,6
Cera de carnaúba 25% + Canela $500\ \mu\text{L L}^{-1}$	61,8	35,2 ab	79,6
Cera de carnaúba 25% + Copaíba $500\ \mu\text{L L}^{-1}$	62,6	38,9 ab	80,1
CV	2,93	3,73	5,78

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Para o teor de SS e AT, não foi observada diferença entre os frutos que receberam aplicação de cera de carnaúba, com ou sem aplicações de OEs, em comparação aos frutos do tratamento controle, em ambas as safras (Tabela 28). Para Vieira et al. (2018), independentemente das concentrações empregadas, dos óleos essenciais avaliados, não tiveram efeito substancial na qualidade pós-armazenamento de maçãs 'Fuji' (polpa firmeza, teor de SS, AT e cor de fundo da epiderme).

Tabela 28 – Sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável (AT; % ácido málico) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Safrá 2018/19		Safrá 2019/20	
	SS (°Brix)	AT (%)	SS (°Brix)	AT (%)
Controle	14,1 ns	0,161 ab	14,6 ab	0,255 ns
Cera de carnaúba	13,8	0,165 ab	13,8 b	0,229
Cera de carnaúba + Citronela	13,2	0,149 b	14,9 a	0,238
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	13,6	0,173 ab	14,5 ab	0,261
Cera de carnaúba + Canela	13,6	0,185 a	14,5 ab	0,252
Cera de carnaúba + Copaíba	13,6	0,173 ab	14,4 ab	0,239
CV	3,22	7,42	3,07	7,37

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

A AACPD, na safra 2019, foi menor no tratamento com cera de carnaúba + óleo essencial de copaíba. Porém, na safra 2020 todos os tratamentos apresentaram valores inferiores em relação ao controle, principalmente cera de carnaúba + óleo essencial de citronela e cera de carnaúba + óleo essencial de cravo da índia (Tabela 29). A porcentagem de controle na safra 2019 foi de 0,95 % para cera de carnaúba e cera + OE de citronela, 3,81 % para cera de carnaúba + OEs de cravo-da-índia e canela e 5,24 % com cera + OE de copaíba. Já na safra 2020 a porcentagem de controle da cera de carnaúba foi de 5,99 %, e os tratamentos com cera de carnaúba + OEs, 11,98 % para citronela, 11,38 % para cravo-da-índia, 8,89% para canela e 6,59 % para copaíba. Citronelal, principal composto do óleo essencial de citronela, foi capaz de inibir a germinação de esporos e o crescimento micelial in vitro, assim como citral combinado com cera de carnaúba reduziu a incidência de *P. digitatum* (WU et al., 2016). Zore et al. (2011) demonstrou que o citronelal pode inibir o crescimento de *Candida albicans* Berkhout. afetando a integridade da membrana. O crescimento das lesões dos fungos testados, como *P. adametzii* e *P. citrinum*, foram completamente inibidos por citronelal na dose de  $112\ \text{mg L}^{-1}$  (NAKAHARA et al., 2013). Aguiar et al. (2014) e Arancibia et al. (2014) observaram que citronelal é um dos principais componentes de alguns óleos essenciais de plantas e mostrou boa atividade antifúngica contra *Pyricularia*

(*Magnaporthe*) grisea, *Aspergillus* spp. e *C. musae* que causar podridões em maçã, tomate e banana.

Tabela 29 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD; U<sup>-1</sup>MI<sup>-1</sup>mg de proteína) da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) por aproximadamente sete meses, inoculadas com *Penicillium expansum* Link. e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L<sup>-1</sup>), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%).

Tratamentos	AACPD		Safr 2018/19	
	Safr 2018/19	Safr 2019/20	SOD (U <sup>-1</sup> ml <sup>-1</sup> mg de proteína)	
			Polpa	Casca
Controle	10,5 a	16,7 a	78,5 c	665,3 a
Cera de carnaúba	10,4 a	15,7 b	92,7 b	630,7 a
Cera de carnaúba + Citronela	10,4 a	14,7 c	104,5 ab	610,0 a
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	10,1 ab	14,8 c	103,4 ab	601,4 a
Cera de carnaúba + Canela	10,1 ab	15,2 bc	97,2 ab	628,0 a
Cera de carnaúba + Copaíba	9,95 b	15,6 b	109,4 a	501,4 b
CV (%)	1,91	1,65	5,63	5,88

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

A atividade da enzima superóxido dismutase, na safra 2019, na polpa foi menor no controle em relação aos demais tratamentos. Na casca, o tratamento com cera de carnaúba + óleo essencial de copaíba proporcionou menor atividade da enzima (Tabela 29). A enzima superóxido dismutase (SOD) é a primeira enzima na linha de defesa antioxidante da célula, sendo responsável pela dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio, uma espécie menos reativa. A modificação da atmosfera pelo filme podem induzir uma alteração no metabolismo antioxidante como que evitando um desequilíbrio oxidativo, porém um aumento na atividade da SOD pode contribuir para o acúmulo de peróxido, uma vez que este é o produto de sua reação (GERMANO, 2016). A maior atividade da SOD na polpa com aplicação dos tratamentos mostra que os frutos tiveram resposta do metabolismo de defesa, ativando atividade da SOD.

A atividade da enzima peroxidase, na safra 2019, na polpa não apresentou diferença, na casca os tratamentos não diferiram do controle, porém o tratamento com cera de carnaúba teve maior atividade do que cera de carnaúba + OEs de canela e copaíba. Na safra 2020, na polpa os tratamentos tiveram menor atividade em relação ao controle,



e na casca os tratamentos com cera de carnaúba + OEs de citronela, cravo e copaíba tiveram menor atividade (Tabela 30). As peroxidases apresentam uma gama variada quanto às funções na defesa celular, atuando nos processos de lignificação, suberização e metabolismo da parede celular, sendo classificadas como proteínas relacionadas à patogênese pertencentes à família PR-9 (VAN LOON; VAN STRIEN, 1999). Estas enzimas são também responsáveis pela deterioração de diversos materiais vegetais durante o armazenamento, estando envolvidas em outros processos biológicos, tais como nos processos de oxidação, ligações de polissacarídeos, cicatrizações de ferimentos, estresse fisiológico, oxidação de fenóis, entre outras (FREITAS et al., 2008). No processo de indução de resistência, as peroxidases são amplamente estudadas devido ao seu papel central nos processos de defesa onde, na maioria dos casos, um aumento na sua atividade pode ser diretamente relacionado à redução da severidade da doença (ROCHA NETO, 2014). Resultado oposto foi obtido no presente trabalho onde os tratamentos com menor atividade da enzima peroxidase apresentaram menor AACPD.

Tabela 30 – Atividade da enzima peroxidase (POD;  $\text{DO}^{-1}\text{mg de proteínas}^{-1}\text{ min}$ ) e Superóxido dismutase (SOD;  $\text{U}^{-1}\text{MI}^{-1}\text{mg de proteína}$ ) da polpa e da casca, em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente sete meses, inoculadas com *Penicillium expansum* Link. e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Tratamentos	Safr 2018/19		Safr 2019/20	
	POD ( $\text{DO}^{-1}\text{ mg de proteínas}^{-1}\text{ min}$ )			
	Polpa	Casca	Polpa	Casca
Controle	18,3 ns	437,8 ab	30,9 a	271,6 a
Cera de carnaúba	18,6	453,5 a	22,9 b	221,7 ab
Cera de carnaúba + Citronela	17,8	417,3 ab	14,3 c	143,1 bc
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	19,5	391,9 ab	9,5 c	159,0 bc
Cera de carnaúba + Canela	17,9	364,7 b	11,5 c	191,6 abc
Cera de carnaúba + Copaíba	16,8	362,5 b	10,3 c	113,6 c
CV (%)	13,1	8,63	16,8	23,1

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

O conteúdo de CFT na polpa, na safra 2019, foi mais elevado no tratamento com cera de carnaúba + óleo essencial de citronela. Na casca os tratamentos não diferiram do controle, e na safra 2020 não houve diferença (Tabela 31). Estudos mostram que a

eficiência de óleos essenciais na diminuição da esporulação do patógeno pode ser justificada pelo acúmulo de compostos fenólicos no fruto dificultando o processo de infecção do patógeno (ANDRADE; VIEIRA, 2016). Porém no presente trabalho não foi verificado o acúmulo de compostos fenólicos associado a redução da lesão por *P. expansum*. Trabalhos apontam que o conteúdo de compostos fenólicos pode ser influenciado pelo estágio de maturação, cultivar, práticas culturais (nutrição, irrigação, poda e aplicação de reguladores de crescimento), origem geográfica, condições ambientais e condições de armazenagem (KIM et al. 2003; HOANG et al., 2011; STANGER et al., 2018).

Tabela 31 - Conteúdo de compostos fenólicos totais (mg EAG 100 g<sup>-1</sup> MF) da polpa e casca, em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC, safras 2018/19 e 2019/20, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de 1±0,2°C e 92±2% de UR) por aproximadamente sete meses, inoculadas com *Penicillium expansum* Link. e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais (500 µL L<sup>-1</sup>), permanecendo sete dias em condições ambiente (temperatura 23±5°C e 63±2%).

Tratamentos	Safrá 2018/19		Safrá 2019/20	
	CFT (mg EAG 100 g <sup>-1</sup> MF)			
	Polpa	Casca	Polpa	Casca
Controle	23,04 b	437,3 ab	64,9 ns	794,1 ns
Cera de carnaúba	22,80 b	457,4 ab	62,2	720,6
Cera de carnaúba + Citronela	31,16 a	511,8 a	70,74	719,9
Cera de carnaúba + Cravo-da-índia	24,60 b	512,9 a	62,88	835,3
Cera de carnaúba + Canela	22,73 b	369,2 b	64,59	776
Cera de carnaúba + Copaíba	27,91 ab	468,8 ab	63,83	840,4
CV (%)	9,77	11,8	5,37	14,1

Médias não seguidas por letras iguais na coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ns: diferença não significativa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Os ésteres butanoato de 2-metilhexila e butil 2-metilbutirato, foram detectados em maior quantidade no tratamento controle (Tabela 32). Muitos ácidos alifáticos e aminoácidos das frutas verdes são convertidos em ésteres, álcoois e éteres, responsáveis odor característico da fruta (SIMÕES et al., 2009; MATTHEIS et al., 1991).

Tabela 32 – Perfil de compostos voláteis identificados (área relativa %) em maçãs ‘Fuji’ colhidas em São Joaquim, SC na safra 2018/2019, armazenadas sob atmosfera controlada (temperatura de  $1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e  $92\pm 2\%$  de UR) por aproximadamente 7 meses e submetidas a tratamentos pós-colheita com emulsões de cera de carnaúba (25%) e cera de carnaúba (25%) com óleos essenciais ( $500\ \mu\text{L L}^{-1}$ ), permanecendo 7 dias em condições ambiente (temperatura  $23\pm 5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$ ).

Composto	Área (%)						Classe
	Cera de carnaúba 25%						
	Controle	Cera	Citronela	Cravo-da-índia	Canela	Copaíba	
ácido acético	$0,77 \pm 1,54$	$0,91 \pm 1,55$	$0,24 \pm 0,28$	$0,28 \pm 0,36$	$0,84 \pm 0,26$	$0,34 \pm 0,40$	ácido
1-butanol	$1,32 \pm 1,52$	nd	$2,45 \pm 1,90$	$3,24 \pm 1,06$	$3,54 \pm 1,47$	$3,11 \pm 1,39$	álcool
2-etilhexanol	$3,54 \pm 0,60$	$2,89 \pm 1,69$	$2,93 \pm 0,56$	$2,55 \pm 0,20$	$2,53 \pm 0,34$	$2,61 \pm 0,72$	álcool
2-metil-1-butanol	$10,25 \pm 1,47$	$17,45 \pm 15,66$	$11,04 \pm 4,19$	$11,56 \pm 1,69$	$12,77 \pm 3,70$	$10,83 \pm 4,20$	álcool
2-hexenol	$0,46 \pm 0,54$	$0,57 \pm 0,55$	$0,75 \pm 0,17$	$0,67 \pm 0,45$	$0,59 \pm 0,40$	$0,68 \pm 0,08$	álcool
1-hexano	$9,74 \pm 1,35$	$8,10 \pm 5,77$	$11,41 \pm 2,08$	$11,34 \pm 1,70$	$12,10 \pm 2,73$	$10,71 \pm 1,65$	álcool
(2e) -2-hexenal	$7,32 \pm 0,90$	$6,75 \pm 1,12$	$6,30 \pm 0,74$	$6,30 \pm 0,34$	$6,34 \pm 0,38$	$6,06 \pm 0,94$	aldeído
hexanal	$37,18 \pm 1,83$	$31,98 \pm 21,25$	$41,04 \pm 2,29$	$38,77 \pm 4,32$	$36,26 \pm 2,78$	$32,89 \pm 4,68$	aldeído
acetona	$2,73 \pm 0,44$	$1,37 \pm 1,20$	$2,75 \pm 2,34$	$3,67 \pm 1,52$	$4,16 \pm 2,62$	$2,29 \pm 0,86$	cetona
acetato de etila	nd	nd	$0,79 \pm 0,94$	$0,88 \pm 1,01$	nd	$0,95 \pm 1,19$	éster
acetado de hexila	$3,54 \pm 0,33$	$0,84 \pm 0,33$	$0,52 \pm 0,60$	$0,37 \pm 0,45$	nd	$0,43 \pm 0,29$	éster
butil 2-metilbutirato	$1,13 \pm 0,20$	$0,59 \pm 0,27$	$0,52 \pm 0,43$	$0,46 \pm 0,56$	nd	nd	éster
butirato de butila	nd	nd	nd	$0,20 \pm 0,36$	$0,34 \pm 0,29$	$0,28 \pm 0,33$	éster
butirato de etila	nd	nd	nd	nd	nd	$7,27 \pm 12,75$	éster
butirato de propila	$0,54 \pm 0,27$	$1,02 \pm 1,76$	$0,12 \pm 0,23$	$0,31 \pm 0,40$	$0,26 \pm 0,31$	$0,32 \pm 0,38$	éster
butirato de 2-metilhexila	$5,19 \pm 1,34$	$2,92 \pm 1,80$	$3,60 \pm 1,50$	$2,90 \pm 1,17$	$3,17 \pm 1,67$	$3,00 \pm 1,75$	éster
hexilbutirato	$0,97 \pm 0,10$	$0,82 \pm 0,19$	nd	nd	nd	bd	éster
hexanoato de etila	$1,06 \pm 0,18$	$1,28 \pm 0,52$	$1,46 \pm 0,16$	$1,01 \pm 0,46$	$1,23 \pm 0,47$	$1,38 \pm 0,63$	éster
hexanoato de propila	$0,26 \pm 0,03$	nd	nd	$0,07 \pm 0,14$	nd	$0,06 \pm 0,12$	éster

Composto	Área (%)						Classe
	Controle	Cera 25%					
		Cera 25%	Citronela	Cravo-da-índia	Canela	Copaíba	
2-metilbutil acetato	1,70 ± 0,61	4,96 ± 5,10	2,64 ± 1,59	2,20 ± 0,45	2,52 ± 1,03	2,35 ± 0,69	éster
2-metilbutil 2-metilbutirato	2,03 ± 0,32	1,65 ± 1,48	nd	0,77 ± 0,75	0,89 ± 0,72	1,05 ± 0,43	éster
2-metilbutirato de etila	1,51 ± 0,30	1,08 ± 0,47	1,05 ± 0,98	1,08 ± 0,47	1,46 ± 0,65	1,53 ± 0,94	éster
4-metilpentanoato de etila	nd	5,41 ± 10,60	nd	nd	nd	nd	éster
alfa - farneceno	11,27 ± 1,81	10,79 ± 7,26	10,24 ± 1,24	11,22 ± 3,00	10,94 ± 3,70	11,21 ± 4,90	Sesquiterpeno

Fonte: PubChem Compound Summary. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>. Acesso: janeiro, 2021. Fonte: Elaboração da autora, 2021.

### 3.4 CONCLUSÃO

A cera de carnaúba e a cera de carnaúba + os OEs reduzem o crescimento em meio de cultura e o número de esporos de *P. expansum*. Os OEs de citronela, cravo-da-índia e canela, todos os OEs associados a cera de carnaúba reduzem a germinação de esporos.

Há um aumento da perda de massa nos tratamentos com cera de carnaúba e redução na firmeza de polpa dos frutos com a utilização dos OEs, em condições ambiente e em armazenamento refrigerado. Os demais atributos de qualidade dos frutos não são alterados.

Os tratamentos reduzem a severidade do mofo azul, tendo um menor teor de compostos fenólicos. O tratamento com OE de citronela teve menor AACPD e teve menor teor de compostos fenólicos. As enzimas SOD e POD apresentam comportamentos variados entre tratamentos.

Não há presença de compostos voláteis característicos dos OEs ou da cera de carnaúba em frutos tratados. No experimento ambiente, o 1-butanol e o propionato de propila foram detectados somente no controle. O álcool (2E) -2-Hexenal tem maior quantidade detectada no tratamento controle. No experimento em armazenamento refrigerado o ácido 2-metilbutírico e o éster butirato de butila não são encontrados no tratamento controle. No pós-armazenamento, os ésteres butanoato de 2-metilhexila e butil 2-metilbutirato, são detectados em maior quantidade no tratamento controle.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais e os biofilmes utilizados nestes estudos não interferem na qualidade dos frutos nas condições testadas (ambiente, armazenamento e pós-armazenamento), apesar dos tratamentos com OEs tenderem quando utilizados juntos com a cera de carnaúba a reduzir a firmeza da polpa.

Nos frutos inoculados, os tratamentos com cera de carnaúba e cera de carnaúba + OEs reduzem o crescimento do *P. expansum* em maçã.

O teor de CFT tem interferência nos tratamentos, mas também está diretamente ligada aos processos que ocorrem naturalmente no fruto depois de colhido e com alterações metabólicas das condições de armazenamento, além de seu mecanismo de defesa, já que o fungo é inoculado no fruto antes de serem aplicados os tratamentos. Esperava-se que a redução da lesão causada pelo fungo nos tratamentos com biofilme e OEs estaria associada ao incremento do teor de CFT e ativação da atividade enzimática da POD e SOD, que poderiam estar relacionadas ao mecanismo de defesa do fruto. A atividade das enzimas, podem ter tido um pico de atividade e reduzido, porém a avaliação foi realizada somente do último dia de avaliação de 7 a 9 dias após a inoculação, também pode ter ocorrido a ativação de outras enzimas relacionadas ao sistema de defesa do fruto ao ataque do patógeno, como quitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase, felilalanina amônia-liase entre outras. Outro fator que pode ter ocorrido, é que o efeito dos biofilmes e dos OEs tem um efeito fungistático dessa forma os tratamentos poderiam ter atuado diretamente sobre o fungo.

O perfil de compostos voláteis não apresentou aromas dos OEs nem dos biofilmes utilizados, o que demonstra significativos avanços na pesquisa, já que um dos principais problemas na utilização dos OEs é justamente o aroma deixado nos frutos. Dessa forma esse tipo de aplicação deve continuar sendo aprimorado em pesquisas futuras.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, R. W. de S. et al. Fumigant antifungal activity of *Corymbia citriodora* and *Cymbopogon nardus* essential oils and citronellal against three fungal species. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.
- AGRAWAL, G. K. et al. Chitosan activates defense/stress response (s) in the leaves of *Oryza sativa* seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 12, p. 1061-1069, 2002.
- ALAMINO, D. A. et al. Indução de resistência à podridão-amarga em maçãs pelo uso de eliciadores em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 3, p. 249-254, 2013.
- ALI, A.; HEI, G.; KEAT, Y.. 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**, v. 53, n. 3, p. 1435-1444, 2016.
- ALVES, M. L. N. Avaliação do potencial de leveduras dos géneros *Pseudozyma* e *Rhodosporidium* no controlo biológico pós-colheita de bolores. 2007. 121 p. Dissertação (Mestrado em Controlo da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos)-Universidade de Lisboa, Lisboa, 2007.
- ALVES, E. de O. et al. Manejo do etileno durante o armazenamento de ameixas' *Laetitia*' em atmosfera controlada. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 2445-2451, 2009.
- AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiás, v.2, n.2, p.5-8, 2005.
- AMARANTE, C. BANKS, N. H.; GANESH, S. Effects of coating concentration, ripening stage, water status and fruit temperature on pear susceptibility to friction discolouration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 21, n. 3, p. 283-290, 2001.
- AMORIM, R.V.S.; SOUZA, W.; FUKUSHIMA, K.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. *Braz. J. Microbiol.*, n.32, v.20, 2001.
- AMORIM, R.V.S.; PEDROSA, R.P.; FUKUSHIMA, K.; MARTÍNEZ, C.R.; LEDINGHAM, W.M.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.; *Food Technol. Biotechnol.*, n.44, v. 4, p.519, 2006.
- ANDRADE, W. P.; VIEIRA, G. H. C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose in vitro e em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, p.367-372, 2016.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI&FRUTI 2020: **Brazilian Horti & Fruti Yearbook**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2019.

ARANCIBIA, M. Y. et al. Release of volatile compounds and biodegradability of active soy protein lignin blend films with added citronella essential oil. **Food Control**, v. 44, p. 7-15, 2014.

ARGENTA, L. C.; et al. Postharvest losses of apples by fungal decay and physiological disorders in southern Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POSTHARVEST PATHOLOGY, 4, 2017, Skukuza, África do Sul. Abstracts. Leuven: *Chronica Horticulturae*, p. 24, 2017.

ASSIS et al. Aplicação de ceras em frutas e hortaliças. **In: Colheita e Beneficiamento de Frutas e Hortaliças. Ferreira, M. D. (Org.)** – São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, p.144, 2008.

ASSIS, O. B. G; BRITTO, D. de; FORATO, L. A. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas in natura e minimamente processadas. **Embrapa Instrumentação-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2009.

AZARAKHSHA, N. et al. 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.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, Catalonia, v. 46, n.2, p.446-475, 2008.

BADAWY, M. EI; RABEA, E. I. Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, n. 1, p. 110-117, 2009.

BAUTISTA-BAÑOS, S. et al. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop protection**, v. 25, n. 2, p. 108-118, 2006.

BENATO, E. A. et al. Óleos essenciais e tratamento térmico no controle pós-colheita de bolor verde em laranja. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 1, p. 65-71, 2018.



BLANCHFIELD, A. L. et al. Phylloxera-infested grapevines have reduced chlorophyll and increased photoprotective pigment content—can leaf pigment composition aid pest detection. **Functional Plant Biology**, v. 33, n. 5, p. 507-514, 2006.

BLUM, J. et al. 2008. Uso de cera na conservação pós-colheita do caqui cv. Giombo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 30(3):830-833, 2008.

BOTELHO, R. V., et al. Quitosana no controle de *Penicillium* sp. na pós-colheita de maçãs. **Revista Brasileira de Agroecologia**, 5.2: 200-206, 2010.

BOTH, V. et al. **Atmosfera controlada dinâmica monitorada pelo quociente respiratório: efeito do manejo do etileno, temperatura e níveis de co2 sobre compostos voláteis e conservação de maçãs**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria. 2015.

BORISJUK, N.; HRMOVA, M.; LOPATO, S. Transcriptional regulation of cuticle biosynthesis. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 2, p. 526-540, 2014.

BRAGA, C. M. et al. PERFIL AROMÁTICO DE SUCOS E FERMENTADOS DE MAÇÃ EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO. 2013.

BRASIL. ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.º 123, de 19 de junho de 2001 – Aprova o Regulamento Técnico sobre Embalagens e Equipamentos Elastoméricos em Contato com Alimentos**.

BRASIL. ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.º 2, de 15 de janeiro de 2007 – Regulamento Técnico Sobre Aditivos Alimentares**.

BRACKMANN, Auri; STEFFENS, Cristiano. Armazenamento de maçã ‘Royal Gala’ sob diferentes concentrações de etileno. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 6, n. 1, 2000.

BRACKMANN, A. et al. Qualidade de maçãs Gala armazenadas em atmosfera controlada dinâmica e estática com renovação do ar. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 465-467, 2005.

BRITTO, D.de; ASSIS, O. B. G. Chemical, biochemical, and microbiological aspects of chitosan quaternary salt as active coating on sliced apples. **Food Science and Technology**, v. 32, n. 3, p. 599-605, 2012.

BROWN, B.I.; WILLS, R.B.H. Post-harvest changes in guava fruit of different maturing. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.19, p.237- 243, 1983.

CALBO, A. G.; MORETTI, C. L.; HENZ, G. P. Respiração de frutas e hortaliças. **Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.

- CAMPOS, Â. D. et al. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 7, p. 637-643, 2004.
- CANTILLANO, R. F. et al. Efeito da atmosfera modificada na qualidade pós-colheita de tangerinas "ponkan" durante o armazenamento refrigerado. **Embrapa Clima Temperado-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2011.
- CANAVER, B. S.; DI PIERO, R. M. Quitosana e adjuvantes para o controle preventivo do mofo azul da macieira. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 6, p. 419-423, 2011.
- CASTAÑEDA, L. M. F. Avaliação da quitosana e da fécula de mandioca, aplicada em pós-colheita no recobrimento de maçãs. 2013.
- CASTAÑEDA, L. M. F. et al. Avaliação pós-colheita de maçãs cv. Fuji revestidas com solução filmogênica de quitosana. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 20, n. 1/2, p. 104-112, 2014.
- CINDI, M. D. et al. Different defense responses and brown rot control in two *Prunus persica* cultivars to essential oil vapours after storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 119, p. 9-17, 2016.
- CHARAI, M.; MOSADDAK, M.; FAID, M. Chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plants: *Origanum majorana* L. and *O. compactum* Benth. **Journal of Essential Oil Research**, v. 8, n. 6, p. 657-664, 1996.
- CHEN, S.; NUSSINOVITCH, A. Galactomannans in disturbances of structured wax-hydrocolloid-based coatings of citrus fruit (easy-peelers). **Food hydrocolloids**, v. 14, n. 6, p. 561-568, 2000.
- CHIEN, P.; SHEU, F.; LIN, H. Coating citrus (Murcott tangor) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. **Food chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1160-1164, 2007.
- CHIUMARELLI, M.; FERREIRA, M. D. Qualidade pós-colheita de tomate de mesa utilizando ceras comestíveis a temperatura ambiente. In: **XXXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, São Pedro-SP**. 2004.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. D. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2 ed. Lavras: UFLA: 785 p, 2005.

- COMITINI, F.; MANNAZZU, I.; CIANI, M.. Tetrapisispora phaffii killer toxin is a highly specific  $\beta$ -glucanase that disrupts the integrity of the yeast cell wall. **Microbial Cell Factories**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2009.
- COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 2, p. 344-349, 2011.
- COSTA, A. R. T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & LM Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.
- COSTA, I. K. F et al. Tratamento in vitro do *colletotrichum brevisporum* com plasma frio atmosférico associado à cera de carnaúba visando aplicação em pós-colheita de frutas. 2018.
- CRUZ, M. A. L. et al. Identification and partial characterization of a chitinase and a  $\beta$ -1, 3-glucanase from *Copernicia cerifera* wax. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 11-16, 2002.
- CUTER, C. Oportunit es for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further procesed muscle foods. **Meat Science** v. 74, p. 131-142, 2006.
- DAFERERA, D. J.; ZIOGAS, B. N.; POLISSIOU, M. G. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2576-2581, 2000.
- DA VEIGA, J. C. et al. Refrigeração e cera na conservação pós-colheita da tangerina IAC 2019 Maria. **Citrus Research & Technology**, v. 40, p. 1-9, 2019.
- DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J.-A.; VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. **Critical Reviews in food science**, v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.
- DE CAPDEVILLE, G. et al. Alternative disease control agents induce resistance to blue mold in harvested 'Red Delicious' apple fruit. **Phytopathology**, v. 92, n. 8, p. 900-908, 2002.
- DE MARTIN, M. S.; PETRI, J. L.; BRIGHENTI, A. F. A maçã 'Fuji' da região de São Joaquim tem potencial para uma indicação geográfica. **Agropecuária Catarinense**, v. 32, n. 3, p. 13-14, 2019.

- ECHEVERRÍA CORTADA, G. et al. Relationships between volatile production, fruit quality and sensory evaluation of Fuji apples stored in different atmospheres by means of multivariate analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2003, vol. 84, núm. 1, p. 5-20, 2003.
- ECHEVERRIA, G. et al. Aroma volatile compounds of 'Fuji' apples in relation to harvest date and cold storage technology: A comparison of two seasons. **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, n. 1, p. 29-44, 2004.
- EL GHAOUTH, E.A. et al. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology**, v. 82, p. 398-402, 1992.
- ERRAMPALLI, D. **Decadência pós-colheita** || *Penicillium expansum* (Molde azul)., p. 189–231., 2014.
- FAI, A.E.C.; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L.M. Rev. Iberoam. Polím., n.9, v.5, p.435, 2008.
- FAN, F. et al. Use of citral incorporated in postharvest wax of citrus fruit as a botanical fungicide against *Penicillium digitatum*. **Postharvest biology and technology**, v. 90, p. 52-55, 2014.
- FELIPINI, R. B.; DI PIERO, R. M. Redução da severidade da podridão-amarga de maçã em pós-colheita pela imersão de frutos em quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 44, p.1591-1597, 2009.
- FEIBERT, E. B.; LANGENHEIM, J. H. Leaf resin variation in *Copaifera langsdorfii*: relation to irradiance and herbivory. **Phytochemistry**, v. 27, n. 8, p. 2527-2532, 1988.
- FERNANDEZ, M.R. Manual para laboratório de fitopatologia. Passo Fundo: **Embrapa-CNPT**, 128p, 1993.
- FERRI, M.; RIGHETTI, L.; TASSONI, A. Increasing sucrose concentrations promote phenylpropanoid biosynthesis in grapevine cell cultures. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, n. 3, p. 189-195, 2011.
- FLATH, R. A. et al. Identification and organoleptic evaluation of compounds in Delicious apple essence. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 29-35, 1967.
- FILIPPIS, F. de M. **Extração com CO2 supercrítico de óleos essenciais de Hon-sho e Ho-sho-experimentos e modelagem. 2001. 114f.** 2001. Tese de Doutorado. Dissertação

(Mestrado em Engenharia Química)–Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS.

FISCHER, I. H. et al. Caracterização dos danos pós-colheita em citros procedentes de "packinghouse". **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 304-310, 2007.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: Is citrus the answer. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 19, n. 3, p. 156–164, 2008.

FONTES, L. C. B. **Uso de solução conservadora e de películas comestíveis em maçãs da cultivar Royal Gala minimamente processadas: efeito na fisiologia e na conservação**. 2005. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FRAILE, P.; ANCÍN GARRIDO, J. Influence of a *Saccharomyces cerevisiae* selected strain in the volatile composition of rose wines. Evolution during fermentation. **J. Agric. Food Chem**, v. 48, p.1789-1798, 2000.

FRANCO, L.O. Biorremocão de Metais Pesados por Quitina e Quitosana Obtidos de *Cunninghamella elegans* (IFM 46109). Dissertação de Mestrado, Recife, Brasil, Universidade Federal de Pernambuco, 2000.

FRANCO, D.A.S. e BETTIOL, W. Efeito de produtos alternativos para o controle do bolor verde (*Penicillium digitatum*) em pós-colheita de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.569-572, 2002.

FREITAS, A. A. de et al. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 172-177, 2008.

FRY, S. C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. **Annual review of plant physiology**, v. 37, n. 1, p. 165-186, 1986.

FRISVAD, J. C., SAMSON, R. A. Polyphasic taxonomy of *Penicillium subgenus Penicillium*: A guide to identification of food and air-borne tervertiillate *Penicillia* and their mycotoxins. **Studies in Mycology**, v. 49, p. 1-174, 2004.

GAVHANE, Y.N.; GURAV, A.S.; YADAV, A.V. Chitosan and its applications: A review of the literature. *Int. J. Biomed. Pharm. Sci.*, n.4, p.312–331, 2013.

GUERRA-SÁNCHEZ, M.G. et al. Antifungal activity and release of compounds on *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. by effect of chitosan with different molecular weights. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v.93, p.18-22, 2009.

GERMANO, T. A. Efeitos do revestimento comestível à base de galactomanana e cera de carnaúba na qualidade e metabolismo antioxidante de goiabas. 2016.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GLOBAL CATALOGUE OF MICROORGANISMS (China). *Penicillium expansum*. 2019. Disponível em: <[http://gcm.wfcc.info/speciesPage.jsp.strain\\_name=Penicillium%20expansum](http://gcm.wfcc.info/speciesPage.jsp.strain_name=Penicillium%20expansum)>. Acesso em: 14 maio 2019.

GONÇALVES, F. P. et al. Postharvest control of brown rot and Rhizopus rot in plums and nectarines using carnauba wax. **Postharvest Biology and Technology**, v. 58, n. 3, p. 211-217, 2010.

HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E. M.; KUĆ, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v. 20, n. 1, p. 73-82, 1982.

HARB, J.; STREIF, J.; BANGERTH, F. Synthesis of aroma compounds by controlled atmosphere (CA) stored apples supplied with aroma precursors: alcohols, acids and esters. In: **International Symposium on Postharvest Treatment of Horticultural Crops 368**. p. 142-149. 1993.

HOJO, E. T. et al. Uso de embalagens plásticas e cobertura de quitosana na conservação pós-colheita de lichias. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. SPE1, p. 377-383, 2011.

HREN, M. et al. 'Bois noir' phytoplasma induces significant reprogramming of the leaf transcriptome in the field grown grapevine. **BMC genomics**, v. 10, n. 1, p. 1-17, 2009.

HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E. M.; KUĆ, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v. 20, n. 1, p. 73-82, 1982.

HAMILTON-KEMP, T. R. et al. Emission patterns of wound volatile compounds following injury of ripe strawberry fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 4, p. 283-288, 2003.

HATANAKA, A.. The biogenesis of green odour by green leaves. **Phytochemistry**, v. 34, n. 5, p. 1201-1218, 1993.

HANSEN, K. et al. The influence of oxygen concentration in storage atmospheres on the post-storage volatile ester production of Jonagold Apples. **Lebensmittel Wissenschaft Technologie**, v. 25, n. 5, p. 457-461, 1992.

HOA, Thai Thi; DUCAMP, Marie-Noëlle. Effects of different coatings on biochemical changes of 'cat Hoa loc' mangoes in storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 150-152, 2008.

HOANG, N.T.T.; GOLDING, J.B.; WILKES, M.A. The effect of postharvest 1-MCP treatment and storage atmosphere on 'Cripps Pink' apple phenolics and antioxidant activity. **Food Chemistry**, Barking, v.127, n.3, p.1249–1256, 2011.

INZÉ, D.; VAN MONTAGU, M. Oxidative stress in plants. **Current opinion in Biotechnology**, v. 6, n. 2, p. 153-158, 1995.

JACOMINO, A. P. et al. Conservação de goiabas tratadas com emulsões de cera de carnaúba. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 401-405, 2003.

JANJARASSKUL, T.; KROCHTA, J. M. Edible packaging materials. **Annual review of food science and technology**, v. 1, p. 415-448, 2010.

JANZANNTTI, N. S.; FRANCO, M. R. B.; LANÇAS, F. M. Identificação de compostos voláteis de maçãs (*Malus Domestica*) cultivar Fuji, por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Food Science and Technology**, v. 20, n. 2, p. 164-171, 2000.

JIANG, T.; FENG, L.; LI, J. Changes in microbial and postharvest quality of shiitake mushroom (*Lentinusedodes*) treated with chitosan–glucose complex coating under cold storage. **Food Chemistry**, v. 131, n. 3, p. 780-786, 2012.

JHALEGAR, MD J.; SHARMA, R. R.; SINGH, D. In vitro and in vivo activity of essential oils against major postharvest pathogens of Kinnow (*Citrus nobilis* × *C. deliciosa*) mandarin. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 4, p. 2229-2237, 2015.

JO, W. et al. Quality and microbial safety of 'Fuji' apples coated with carnauba-shellac wax containing lemongrass oil. **LWT-Food Science and Technology**, v. 55, n. 2, p. 490-497, 2014.

JORGE, P. C. S. et al. Maçã "Royal Gala" revestida com quitosana estocada à temperatura ambiente. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 253-264, 2011.

KIM, D. O. et al. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity of fresh plums. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n.1, p.6509-6515, 2003.

- KIM, I. et al. Plum coatings of lemongrass oil-incorporating carnauba wax-based nanoemulsion. **Journal of food science**, v. 78, n. 10, p. E1551-E1559, 2013.
- KIM, I. et al. Grape berry coatings of lemongrass oil-incorporating nanoemulsion. **LWT-Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 1-10, 2014.
- LANGENHEIM, J.H.; FEIBERT, E.B. Leaf resin variation in *Copaifera langsdorfii*: relation to irradiance and herbivory. **Phytochemistry**, v.27, n.8, p.2527-32, 1988.
- LARA, I. et al. Multivariate analysis of modifications in biosynthesis of volatile compounds after CA storage of 'Fuji' apples. **Postharvest biology and technology**, v. 39, n. 1, p. 19-28, 2006.
- LEMOINE, M. L.; CHAVES, Alicia R.; MARTÍNEZ, Gustavo A. Influence of combined hot air and UV-C treatment on the antioxidant system of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 9, p. 1313-1319, 2010.
- LI et, H.X; XIAO, C.L. Characterization of fludioxonil resistant and pyrimethanil resistant phenotypes of *Penicillium expansum* Link. from apple. **Phytopathology**, v. 98, p. 427-435, 2008.
- LI, J. et al. 1-methylcyclopropene (1-MCP) suppressed postharvest blue mold of apple fruit by inhibiting the growth of *Penicillium expansum*. **Postharvest Biology and Technology**, v. 125, p. 59-64, 2017.
- LIU, J. et al. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 44, n. 3, p. 300-306, 2007.
- MACKOVA, J. et al. Plant response to drought stress simulated by ABA application: changes in chemical composition of cuticular waxes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 86, p. 70-75, 2013.
- MALDONADO, R. R. et al. Aplicação de biofilme comestível em maçãs minimamente processadas armazenadas sob refrigeração. **FOCO: caderno de estudos e pesquisas**, n. 10, p. 60-80, 2017.
- 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.

MASOTTI, V. et al. Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 24, p. 7115-7121, 2003.

MATTHEIS, J. P.; BUCHANAN, D. A.; FELLMAN, J. K. Change in apple fruit volatiles after storage in atmospheres inducing anaerobic metabolism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 9, p. 1602-1605, 1991.

MATTOS, D. Guerra et al. Water relations in post-harvested torch ginger affected by harvest point and carnauba wax. **Postharvest Biology and Technology**, v. 127, p. 35-43, 2017.

MCGUIRE, R. G. Market quality of guavas after hot-water quarantine treatment and application of carnauba wax coating. **HortScience**, v. 32, n. 2, p. 271-274, 1997.

MENG, X. et al. Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 501-508, 2008.

MIRANDA, M. Revestimento nanoestruturado de cera de carnaúba na manutenção da qualidade pós-colheita de tomates. 2015.

MONTEIRO, O. dos S. et al. Composição química e atividade antioxidante do óleo essencial extraído das folhas da espécie *Cymbopogon witerianus* Jowitt (Citronela). **A. Ciências Exatas e da Terra**. Química de Produtos Naturais. 64ª Reunião Anual da SBPC. 2012.

MONTERO-PRADO, P.; RODRIGUEZ-LAFUENTE, A.; NERIN, C.. Active label-based packaging to extend the shelf-life of “Calanda” peach fruit: Changes in fruit quality and enzymatic activity. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, n. 3, p. 211-219, 2011.

MOTA, W. F. et al. Uso de cera de carnaúba e saco plástico poliolefinico na conservação pós-colheita do maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 190-193, 2006.

NAKAHARA, K. et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (citronella grass). **Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ**, v. 37, n. 4, p. 249-252, 2013.

NERI, F.; MARI, M.; BRIGATI, S. Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. **Plant Pathology**, v. 55, n. 1, p. 100-105, 2006.

NEUWALD, D. A. et al. Conservação da qualidade de maçãs devido aos avanços nas técnicas de armazenamento. *Jornal da Fruta*. 2012.

OGOSHI, C. et al. Podridões pós-colheita em maçã: perdas econômicas e alternativas de manejo/Postharvest applerot: economic losses and alternative management. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 9, p. 17093-17101, 2019.

OLIVEIRA, A. FM; MEIRELLES, S. T.; SALATINO, A. Epicuticular waxes from caatinga and cerrado species and their efficiency against water loss. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, n. 4, p. 431-439, 2003.

PAVIANI, T.C. **Extração com CO<sub>2</sub> a altas pressões e fracionamento do óleo essencial decapim-limão utilizando peneiras moleculares**. 2004. Dissertação (Mestrado) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim-RS, 2004.

PAWAR, V. C.; THAKER, V. S. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. **Mycoses**, v. 49, n. 4, p. 316-323, 2006.

PINTO, A.C. et al. Separation of acid diterpenes of *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke by flash chromatography using potassium hydroxide impregnated silica gel. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.11, n.4, p.355-60, 2000.

PEREIRA, G. da S.; MACHADO, F. L. de C.; COSTA, J. M. C. da. Aplicação de recobrimento prolonga a qualidade pós-colheita de laranja'Valência Delta'durante armazenamento ambiente. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 3, p. 520-527, 2014.

PLAZA, P. et al. Evaluation of the potential of commercial post-harvest application of essential oils to control citrus decay. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 79, n. 6, p. 935-940, 2004.

PITT, J. I., HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. Netherlands: SPRINGER, p. 542, 2013.

QI, L.; WU, T.; WATADA, A. E. Quality changes of fresh-cuthoneydew melons during controlled atmosphere storage. **Journal of Food Quality**, v. 22, n. 5, p. 513-521, 1999.

RABBANY, A.B.M.G.; MIZUTANI, F. Effect of essential oils on ethylene production and ACCcontent in apple fruit and peach seed tissues. **Journal of Japanese Society for Horticultural Science**, Kyoto, v. 65, n. 1, p. 7-13, 1996.

- ROCHA NETO, A. C. da et al. Mecanismos de ação do ácido salicílico no controle do bolor azul (*Penicillium expansum*) em frutos de maçã. 2014.
- ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.
- RUSSIANO, M. C. S. et al. Óleos essenciais de citronela, melaleuca e guaçatonga no controle de *Penicillium expansum* Link./Citronella, melaleuca and guaçatonga essential oils in the control of *Penicillium expansum* Link.. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 21277-21283, 2019.
- SALAZAR, N. A. S.; OROZCO, G. I. O. El aroma de la manzana. **Interciencia**, v. 36, n. 4, p. 365-271, 2011.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. et al. Effect of hydroxypropyl methyl cellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. **Postharvest biology and technology**, v. 60, n. 1, p. 57-63, 2011.
- SANTOS, J. E. dos et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.
- SHAO, X. et al. Effects and possible mechanisms of tea tree oil vapor treatment on the main disease in postharvest strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 77, p. 94-101, 2013.
- SCHERER, R. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da Índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11, n.4, p.442-449, 2009.
- STREIF, J.; BANGERTH, F. Production of volatile aroma substances by 'Golden Delicious' apple fruits after storage for various times in different CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> concentrations. **Journal of Horticultural Science**, v. 63, n. 2, p. 193-199, 1988.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. da S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, n. 1/2, 2000.
- SILVA, A. M. da. Processo de produção e otimização de biomassa e quitosana por *Rhizopus arrhizus* e aplicação biotecnológica. 2015.
- SILVA, S. M. et al. Óleos essenciais no controle de *Fusarium* sp. na cultura do coentro. 2019.

- SIMÕES, D. R. S.; WASZCZYNSKYJ, Nina; WOSIACKI, Gilvan. Aromas em maçãs, suco e sidra: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 27, p. 153-172, 2009.
- STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L.M.; STAMFORD, N.P.; Neto, B.B.; CAMPOS-TAKAKI, GM. *Electron. J. Biotechnol.*, n.10, v.1, 2007.
- STANGER, M.C. et al. Phenolic compounds content and antioxidant activity of ‘Galaxy’ apples stored in dynamic controlled atmosphere and ultralow oxygen conditions. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.144, p.70–76, 2018.
- STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18, 2011.
- SUN-HUA, C.; WEI-MIN, W.; XING-ZHOU, X. Study on effect of chitosan film coating on mango storage. **Food Science and Technology**, London, v.16, n.3, 2007.
- TSAO, R.; ZHOU, T.. Antifungal activity of monoterpenoids against postharvest pathogens *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructicola*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 1, p. 113-121, 2000.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; BETTI, J.A. Doenças da Macieira (Maluspp.). **In: Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. v. 2, 4 ed, São Paulo, p. 421-433, 2005.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. et al. Características e controle da podridão-‘olho-de-boi’ nas maçãs do Sul do Brasil. Bento Gonçalves:**EmbrapaUva e Vinho**, 2006.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; SPOLTI, P.; DEL PONTE, E. M. Controle do inóculo inicial para redução dos danos pela podridão:‘olho-de-boi’em macieiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1044-1054, 2010.
- VALE, F. X. R.; JESUS JUNIOR, W. C.; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Editora Perfill, p.89-124, 2004.
- VAN LOON, L. C.; VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 55, n. 2, p. 85-97, 1999.
- VARUGHESE, T et al. Chemical composition of the essential oils from stem, root, fruit and leaf of *Piper longum* Linn. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19, n. 1, p. 52-58, 2016.

- VEIGA JÚNIOR, V.F.; PINTO, A.C. O gênero Copaifera L. **Química Nova**, v.25. n.2. p273-86, 2002.
- VIDHYSEKARAN, P. Physiology of disease resistance in plants. Vol. I. Florida, **CRC Press**, 149 p, 1988.
- VIEIRA, A. M. F. D. ÓLEOS ESSENCIAIS E SUBSTÂNCIAS ALTERNATIVAS NO MANEJO DE PODRIDÕES PÓS-COLHEITA DE MAÇÃS 'FUJI'. 2016. 87 p. Tese (Doutorado)- Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, Lages, 2016.
- VIEIRA, A. M. F. D. et al. Essential oils for the postharvest control of blue mold and quality of 'Fuji' apples. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 5, p. 547-556, 2018.
- XING, Y. et al. Effects of chitosan-oil coating on blue mold disease and quality attributes of jujube fruits. **Food & Function**, v. 2, n. 8, p. 466-474, 2011.
- WALLING, L. L. Induced resistance: from the basic to the applied. **Trends in plant science**, v. 6, n. 10, p. 445-447, 2001.
- 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.
- WANG, Z. et al. The effects of ultrasonic/microwave assisted treatment on the water vapor barrier properties of soybean protein isolate-based oleic acid/stearic acid blend edible films. **Food Hydrocolloid**, v. 35, p. 51-58, 2014.
- WANG, W. et al. Effects of incorporation with clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oil (CEO) on overall performance of chitosan as active coating. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 166, p. 578-586, 2021.
- WOLFFENBUTTEL, A.N. Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia. **Abordagem técnica e científica**. São Paulo: Roca, Cap 1, p.1-25, 2010.
- WU, Y.; OUYANG, Q.; TAO, N.. Plasma membrane damage contributes to antifungal activity of citronellal against *Penicillium digitatum*. **Journal of food science and technology**, v. 53, n. 10, p. 3853-3858, 2016.
- YAP, P. S. X. et al. 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**, v. 116, n. 5, p. 1119-1128, 2014.

ZILLO, R. R. *Óleo essencial associado à película de carboximetilcelulose no controle da antracnose e seu efeito na vida útil de mamão (Caricapapaya L.)*. 2017. PhD Thesis.

Universidade de São Paulo.

ZIMMERMAM-FRANCO, D. C. et al. Antifungal activity of *Copaifera langsdorffii* Desf oleoresin against dermatophytes. **Molecules**, v. 18, n. 10, p. 12561-12570, 2013.

ZORE, G. B. et al. Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle. **Phytomedicine**, v. 18, n. 13, p. 1181-1190, 2011.