

**DESENVOLVIMENTO DE REVESTIMENTO ATIVO PARA A EXTENSÃO DE
VALIDADE COMERCIAL E ESTUDO DA TAXA RESPIRATÓRIA DE MAMÃO**

NAYARA CANTARINO BARBOSA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

Junho - 2017

DESENVOLVIMENTO DE REVESTIMENTO ATIVO PARA A EXTENSÃO DE VALIDADE COMERCIAL E ESTUDO DA TAXA RESPIRATÓRIA DE MAMÃO

NAYARA CANTARINO BARBOSA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (CCTA/UENF), como parte das exigências do curso de Doutorado em Produção Vegetal Concentração em *Tecnologia de Alimentos e Constituintes Químicos Vegetais*”.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

Junho – 2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCH / UENF

070/2017

B238 Barbosa, Nayara Cantarino.

Desenvolvimento de revestimento ativo para a extensão de validade comercial e estudo da taxa respiratória de mamão / Nayara Cantarino Barbosa – Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

150 f. : il.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2017.

Área de Concentração: Tecnologia de Alimentos e Constituintes Químicos Vegetais.

Orientador: Eder Dutra de Resende.

1. Michaelis-Menten. 2. Cloreto de Cálcio no Mamão. 3. Laranja Doce. 4. Controle do Fungo *Colletotrichum gloeoporioides*. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

634.651918

DESENVOLVIMENTO DE REVESTIMENTO ATIVO PARA A EXTENSÃO DE VALIDADE COMERCIAL E ESTUDO DA TAXA RESPIRATÓRIA DE MAMÃO

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (CCTA/UENF), como parte das exigências do curso de Doutorado em Produção Vegetal Concentração em *Tecnologia de Alimentos e Constituintes Químicos Vegetais*.

Aprovado em: _____/2017.

Comissão Avaliadora:

Nathália Ramos de Melo (D.Sc. Ciência dos Alimentos) - UFF

Meire Lelis Leal Martins (D.Sc. Biologia Vegetal) – UENF

Rogério Figueiredo Daher (D.Sc. Produção Vegetal) – UENF

Eder Dutra Resende (D.Sc. em Engenharia Química) – UENF

Orientador

Dedico ao meu marido, aos meus pais e irmãos e ao meu bebê.

Agradecimentos

A Deus por sempre me abençoar, proteger e guiar;

Aos meus pais pelo apoio e dedicação, pelos ensinamentos, incentivo, confiança e amor incondicional. Vocês são a minha base e meu melhor exemplo de vida. Amo muito vocês;

Aos meus irmãos Natália e Diego pelo carinho, paciência e apoio. Amo vocês;

Ao meu marido Fabrício pelo apoio, amor, carinho, paciência e compreensão pela minha ausência. Sem o seu apoio incondicional nada disso teria sido possível. Você é muito especial pra mim! Te amo!;

Ao meu orientador Eder Dutra de Resende pela orientação, amizade, confiança e ensinamentos;

Às Professoras Meire Lelis Leal Martins e Nathália Ramos de Melo pela participação na banca e orientações;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela concessão da bolsa;

A Caliman pela concessão dos mamões utilizados no experimento, em especial a Jeane que sempre demonstrou disposição para nos ajudar;

Aos Professores Rogério Figueiredo Daher e Ricardo Augusto M. Vieira pela amizade e orientação estatística;

Aos professores do LTA que me passaram seus ensinamentos e me orientaram;

À Professora Karla Silva Ferreira pela amizade, conhecimento e apoio;

Às técnicas do LTA, Valdinéia, Ana Lúcia e Silvíia pela ajuda e colaboração;

Às secretárias do Programa de pós-graduação em Produção Vegetal Fatima e Patrícia;

Aos funcionários da limpeza da UENF, em especial Beatriz, Leandro e Ana que estavam sempre me ajudando e apoiando;

À amiga Manuela e seus pais, pelo carinho, amor, amizade e apoio incondicional mesmo distante. Você é um grande exemplo de força e coragem pra mim;

Aos amigos Amanda, Jeferson, Priscilla e Vanessa pelo carinho, amizade, apoio e disposição para me ajudarem e ouvirem;

Às amigas de laboratório Danielle, Juliana, Thamires pela amizade e auxílio nos experimentos;

Aos amigos de laboratório André e Daniel pela amizade e auxílio nos experimentos.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Sumário

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1. Introdução.....	1
2. Referencial Teórico	6
2.1. A cultura do mamão	6
2.2. Atividade Respiratória de frutos.....	7
2.2.1. Alterações físicas, químicas e bioquímicas.....	9
2.2.2. Fatores que influenciam a atividade respiratória	10
2.3. Modelagem da Taxa Respiratória	12
2.4. Doenças fúngicas em mamões.....	16
2.5. Uso de tecnologias para conservação dos frutos	18
2.6. Filmes de polissacarídeos e revestimentos antifúngicos	20
2.6.1. Amido	20
2.6.2. Cálcio.....	22
2.6.3. Uso de óleos essenciais	24
3. Referências Bibliográficas.....	26
CAPÍTULO 2 - Determinação de modelos matemáticos paa predição da taxa de respiração de mamão	37
1. Introdução.....	37
3. Metodologia.....	40
3.1. Obtenção da matéria-prima.....	40
3.2. Medida das trocas gasosas.....	40
3.3. Análise dos gases.....	41
3.4. Modelagem e análise dos dados.....	42
3.5. Verificação do modelo.....	46
4. Resultados e Discussão	46
4.1. Caracterização da cor da casca dos frutos armazenados sob temperature ambiente em diferentes condições de atmosfera controlada	46
4.2. Caracterização da taxa de respiração dos mamões armazenados sob temperatura ambiente em diferentes condições de atmosfera controlada.....	48
4.3. Estimativa de parâmetros para os diferentes modelos de predição da taxa de respiração.....	50
4.3.1. Modelo de superfície de resposta (regressão não linear)	51
4.3.2. Modelo de Michaelis-Menten.....	52

4.4. Análise comparativa dos modelos de predição da taxa de respiração por equação de superfície de resposta/regressão não linear e equação de Michaelis-Menten	54
5. Conclusão.....	60
6. Referências Bibliográficas	61
CAPÍTULO 3 – DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE DIFUSÃO DE CÁLCIO EM MAMÃO	64
1. Introdução.....	64
2. Objetivos	66
2.1. Objetivo Geral	66
2.2. Objetivos específicos	66
3. Metodologia.....	67
3.1. Determinação da concentração de cálcio e alteração das características físicas dos frutos.....	69
3.1.2. Perda de massa	71
3.1.3. Análise de cor da casca dos frutos.....	71
3.1.4. Análise estatística	71
3.2. Validação dos tratamentos de aplicação de cálcio sobre as características físicas dos frutos.....	71
3.2.1. Análise estatística	72
4. Resultados e Discussão	73
4.1. Determinação da migração de cálcio na polpa dos frutos	73
4.2. Caracterização da firmeza da casca e das partes da polpa externa e polpa interna dos mamões.....	80
4.3. Caracterização da perda de massa de mamões Golden submetidos aos diferentes tratamentos de concentração de cálcio e tempo de imersão.....	83
4.4. Caracterização da cor da casca de mamões Golden submetidos aos diferentes tratamentos de concentração de cálcio e tempo de imersão.....	84
5. Conclusão.....	86
6. Referências Bibliográficas	87
CAPÍTULO 4 - Avaliação 'in vitro' da eficiência do óleo essencial de laranja doce no controle do crescimento do fungo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	90
1. Introdução.....	90
2. Objetivos	92
2.1. Objetivo geral	92
2.2. Objetivos específicos	92
3. Metodologia.....	93

3.1.	Obtenção do fungo para avaliação 'in vitro'	93
3.2.	Avaliação 'in vitro' da eficiência antimicrobiana do óleo essencial de laranja doce	93
3.2.1.	Avaliação da concentração mínima inibitória (CMI)	93
3.3.	Análise estatística	94
5.	Conclusão	99
6.	Referências Bibliográficas	99
CAPÍTULO 5 – Avaliação 'in vivo' de eficiência e fitotoxicidade do óleo essencial de laranja doce utilizado no controle do crescimento de fungos		101
1.	Introdução	101
2.	Objetivos	103
2.1.	Objetivo Geral	103
2.2.	Objetivos específicos	103
3.	Metodologia	104
3.1.	Avaliação 'in vivo' da eficácia do óleo essencial de laranja doce utilizado no controle do crescimento de fungos	104
3.1.1.	Desenvolvimento do recobrimento ativo à base de fécula de mandioca e óleo essencial de laranja doce	104
3.1.2.	Obtenção dos frutos	105
3.1.3.	Avaliação do efeito de fitotoxicidade do óleo essencial de laranja doce sob a casca dos frutos	106
3.1.4.3.	Determinação de cor da casca	108
3.1.4.4.	Análise estatística	109
4.	Resultados e Discussão	109
4.1.	Avaliação do efeito de fitotoxicidade do óleo essencial de laranja doce sob a casca dos frutos	109
4.2.	Avaliação 'in vivo' do efeito do revestimento com óleo essencial de laranja doce conjugado com tratamento de cálcio na preservação da qualidade e controle do crescimento de fungos	112
4.2.1.	Perda de massa	112
4.2.2.	Determinação do crescimento de fungos nos frutos	113
4.2.3.	Análise colorimétrica	117
5.	Conclusão	119
6.	Referências Bibliográficas	119
RESUMO E CONCLUSÃO GERAL		122
APÊNDICES		125

RESUMO

BARBOSA, Nayara Cantarino, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, junho de 2017. Desenvolvimento de revestimento ativo para a extensão de validade comercial e estudo da taxa respiratória de mamão. Orientador: Prof. Eder Dutra de Resende.

O presente estudo avaliou a atuação do cloreto de cálcio em mamões cv. 'Golden' nas concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 2,0; e 3,0 % por meio das análises de migração do cálcio, textura, perda de massa e coloração, o estudo 'in vitro' de diferentes concentrações de óleo essencial de laranja doce no controle de crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, avaliando a Concentração Mínima Inibitória (CMI) e a Concentração Inibitória (CI) de atuação do óleo e o estudo de fitotoxicidade e 'in vivo' da utilização de óleo essencial de laranja doce associado a um revestimento de fécula de mandioca com uma concentração pré-selecionada de cloreto de cálcio no controle do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* e no aumento de validade comercial dos mamões cv. 'Golden'. Em concomitância realizou-se a formulação de modelos matemáticos baseados na equação de Michaelis-Menten e um em uma regressão não linear para a predição das taxas de respiração de mamões em função da concentração de O₂ e CO₂ e da temperatura ambiente. No estudo de aplicação de cálcio verificou-se que a aplicação do cloreto de cálcio manteve a firmeza e a coloração do fruto por mais tempo quando comparado ao grupo controle e que houve migração de cálcio da casca para as polpas, seguindo-se um gradiente de concentração. A concentração de 1,0 % de cloreto de cálcio foi selecionada como a melhor. No estudo 'in vitro' do uso de óleo essencial de laranja doce, a CMI selecionada foi a de 1,0 % de óleo e a CI a de 5,5 % no controle do crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides*. No trabalho de estudo fitotóxico e 'in vivo' da atuação do óleo essencial de laranja doce, concentrações acima de 1,0 % de óleo essencial de laranja doce causaram problemas de injúrias nos frutos, indicando a fitotoxicidade acima desta concentração. Nos resultados 'in vivo' os frutos tratados com cloreto de cálcio+fécula de mandioca 3,0%+ óleo essencial de laranja doce apresentaram menor contaminação quando comparado aos outros tratamentos até o 16º dia de armazenamento, não havendo comprometimento da coloração. Os parâmetros do modelo cinético enzimático foram calculados a partir da taxa de respiração em diferentes concentrações de O₂ e CO₂ e utilizados para modelar a equação de Michaelis-Menten e o modelo de regressão. A equação incompetitiva de Michaelis-Menten tipo heterocedástica por ser mecanicista, foi mais próxima aos dados experimentais

tanto para consumo de oxigênio como para a produção de dióxido de carbono quando era necessário amplificar a escala de gases utilizados e era necessário ter um valor biológico, todavia, quando são utilizados apenas os valores dos dados experimentais, o melhor modelo de ajuste é a regressão. As taxas de respiração do mamão predito pelo modelo proposto foram encontradas em bom acordo com as obtidas experimentalmente.

Palavras-chave: Michaelis-Menten, regressão, cálcio, laranja doce, óleo essencial, mamão.

ABSTRACT

BARBOSA, Nayara Cantarino, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, June, 2017. Development of active coating for the extension of commercial validity and study of the respiratory rate of papaya. Advisor: Prof. Eder Dutra de Resende.

The present study evaluated the performance of calcium chloride in papaya cv. 'Golden' at concentrations of 0.1; 0.5; 1.0; 2.0; and 3.0% by means of calcium migration, texture, mass loss and color analysis, the in vitro study of different concentrations of sweet orange essential oil in the growth control of the fungus *Colettotrichum gloeosporioides*, evaluating the Minimum Concentration Inhibitory (MCI) and the Inhibitory Concentration (IC) of oil performance and the in vivo and phytotoxicity study of the use of sweet orange essential oil associated to a cassava starch coating with a preselected concentration of calcium chloride in the control of the fungus *Colettotrichum Gloeosporioides* and in increasing the commercial shelf life of papaya cv. 'Golden'. In concomitance was made the formulation of mathematical models based on the Michaelis-Menten equation and one in a non-linear regression for the prediction of the respiration rates of papaya as a function of the concentration of O₂ and CO₂ and the ambient temperature. In the calcium application study, it was verified that the application of calcium chloride maintained the firmness and color of the fruit for a longer time when compared to the control group and that there was migration of calcium from the peel to the pulps, followed by a gradient of concentration. The 1.0% concentration of calcium chloride was selected as the best. In the 'in vitro' study of the use of sweet orange essential oil, the selected MCI was 1.0% oil and IC a 5.5% in the control of *Colettotrichum gloeosporioides*. In the phytotoxic and in vivo study, concentrations above 1.0% of sweet orange essential oil caused problems of fruit injury, indicating the phytotoxicity above this concentration. In the 'in vivo' results it can be observed that the fruits treated with calcium chloride + 3.0% cassava starch + sweet orange essential oil presented lower contamination when compared to the other treatments up to the 16th day of storage, without compromising the coloring. The enzyme kinetic model parameters, calculated from the respiration rate at different O₂ and CO₂ concentrations, were used to model the Michaelis-Menten equation and the regression model. The competitive Michaelis-Menten equation type heteroscedastic for being mechanistic, were the closest to the experimental data for both oxygen consumption and for the carbon dioxide production when it was necessary amplify the scale of gases utilized and it was necessary has a biological value, although when it is used only the values of the experimental data, the best fit model is the regression. Respiration rates of papaya predicted by the proposed model were found in good agreement with those obtained experimentally.

Keywords: Michaelis-Menten, regression, calcium, sweet orange, essential oil, papaya.

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL

1. Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com 43 milhões de toneladas produzidas em 2,2 milhões de hectares divididos por todo o país (Brazilian Fruit, 2015). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, a produção de mamão em 2015 foi de 1.463.770 toneladas, apresentando o melhor rendimento médio dentre os principais produtos em lavouras permanentes, no valor de 49.474 kg/ha, entretanto, segundo dados da Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Papaia - Brapex, no ano de 2013 foram exportados 28.561 toneladas de mamão, ou seja, apenas 1,8 % de toda a produção brasileira.

Todavia, no ano de 2014 as exportações brasileiras de mamão cresceram em 17,9 %, levando a uma receita de US\$ 47.058.855, superior em 12,5 % à de 2013, sendo exportadas 33.688 toneladas de frutos, com maior destaque à produção do Estado do Rio Grande do Norte, que aumentou sua exportação em 56,5 %, e ao Espírito Santo, que continua sendo o maior exportador e também registrou um pequeno aumento na sua produção (Brapex, 2015).

De acordo com a Food and Agriculture Organization of United Nations - FAO, o Brasil é o 2º maior produtor de mamão no mundo, perdendo apenas para a Índia (Figura 1), visto que a mesma tem sua produção de mamão quase 3 vezes maior que a brasileira, o que denota a necessidade de investimentos na cadeia produtiva do mamão brasileiro.

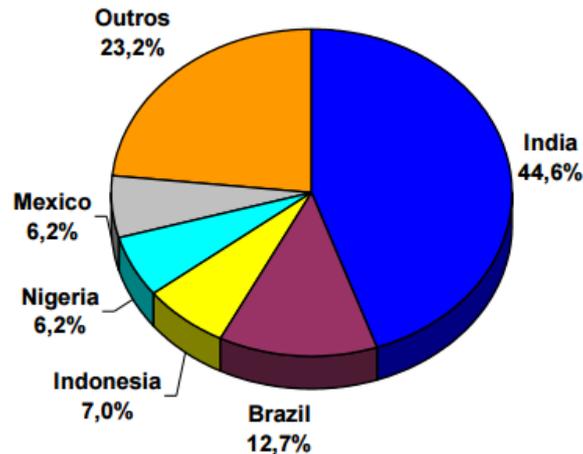


Figura 1 - Produção mundial de mamão no ano de 2013.

Fonte: FAO, 2017.

O mamão é classificado como um fruto climatérico, tendo um pronunciado aumento na sua atividade respiratória com imediato amadurecimento após a colheita, ocasionando em perdas devido ao armazenamento, transporte e manipulação inadequados, entre outras injúrias. Seu desenvolvimento é diretamente influenciado pela temperatura e composição da atmosfera, dentre outros, podendo levar ao aumento ou diminuição de sua vida útil (Ruggiero, Marin e Durigan, 2011).

Devido à sua perecibilidade, tem-se que após a colheita ocorrem aproximadamente 30% de perdas causadas por fungos, insetos, manipulação inadequada, armazenamento incorreto e outros (Caldarelli *et al.*, 2009).

A atividade respiratória dos frutos é influenciada pela sua fisiologia e pelas alterações químicas da maturação após a colheita, sendo que a intensidade e o tipo de atividade respiratória dependem da origem e das funções naturais de cada parte do vegetal. O estudo da taxa respiratória do mamão torna-se, então, uma alternativa para o conhecimento das transformações bioquímicas e físicas do fruto e representa uma ferramenta fundamental para estabelecer procedimentos de controle da maturação e da qualidade do fruto após a colheita.

Embalagens são recipientes que envolvem os frutos e auxiliam na sua preservação de qualidade e aumento de vida útil, entretanto, a embalagem ideal para um determinado fruto deve levar em consideração a proporcionalidade

entre a taxa de respiração e a correta permeabilidade do filme aos gases da respiração, sem causar anaerobiose (fermentação) e injúrias fisiológicas.

O uso de revestimentos comestíveis vem sendo amplamente estudados, visto que são alternativas naturais e menos custosas para a indústria e para a manutenção da saúde do consumidor. Jacometti, Meneghel e Yamashita (2003) utilizaram goma gelana e goma gelana com sorbitol, mas não obtiveram efeitos significativos para a conservação de pêssegos. Yang et al (2014) revestiram blueberry com quitosana e quitosana com extrato de sementes e observaram que quando utilizou-se pressão de 3 kPaO₂+12 kPaCO₂ houve melhor conservação dos frutos.

No caso de morangos, Campos, Kwiatkowski e Clemente (2011) observaram que quando revestiam o fruto com 2% de fécula de mandioca + 1% de quitosana ocorria uma redução de 6% da perda de massa, havia redução no teor de leveduras e de microrganismos e melhora na aparência.

No estudo de mangas, Souza et al (2011) utilizaram revestimentos de quitosana e observaram que a concentração de 1,5% propiciou melhor manutenção da coloração da polpa, teor de sólidos solúveis, acidez titulavel, ácido ascórbico e maior firmeza. Já Ribeiro et al (s.d.) utilizaram revestimento de dextrina e observaram que nas concentrações de 2 e 4 % houve atraso na maturação, menor perda de firmeza e degradação de ácidos orgânicos, menor perda de massa e preservou a aparência. Júnior, Fonseca e Pereira (2007) observaram que utilizando 3 % de fécula de mandioca os frutos apresentaram menor perda de água, melhor aspecto visual e maior tempo de vida útil, todavia, Guedes (2007) observou que sensorialmente nas concentrações de 3 e 4% de fécula de mandioca houve menor aceitação sensorial, mas houve retardo no amadurecimento.

Para goiabas Soares et al (2011) observaram que quando utilizaram o revestimento de 1,5% de quitosana com 1% de fécula de mandioca houve uma melhora na redução da contaminação fúngica e aumento da vida útil dos frutos.

A utilização de cloreto de cálcio também vem sendo observada e evidenciam uma redução na taxa de respiração, na degradação do ácido

ascórbico, aumento na firmeza e melhora na resistência (Wang, Xie e Long, 2014; Silva et al, 2012).

Os revestimentos que vem sendo utilizados para o mamão evidenciam retardo na pigmentação e na perda de firmeza do fruto com o uso de 1 e 3% de fécula de mandioca (Pereira et al,2006) e diminuição da taxa respiratória com o uso de 3% de amido de arroz (Trigo et al, 2012), já Castricini, Coneglian e Deliza (2012) observaram que o uso de películas de amido não afetou os atributos sensoriais de sabor em mamões, entretanto, na concentração de 5% de fécula de mandioca ocorreu peeling, ou seja, descascamento do revestimento, o que afetou a aparência dos frutos.

As doenças ocorridas após a colheita do mamão são responsáveis pela grande maioria das perdas produtivas, e as principais doenças são causadas pela contaminação fúngica, que pode ocorrer em qualquer estágio de maturação, trazendo grande nocividade à economia, visto que os frutos contaminados tornam-se inutilizados para consumo e processamento (Embrapa, 2000).

No trabalho de Martins, Barbosa e Resende (2014) foram desenvolvidos estudos de avaliação da qualidade de mamões Golden armazenados em diferentes condições de redução de O₂ e de aumento da concentração de CO₂, visto que esses fatores contribuem com a preservação da qualidade dos frutos e a minimização do seu processo de amadurecimento, e verificou-se a condição ótima de armazenamento na concentração de 3 %O₂ e 6 %CO₂. Contudo, observou-se que a utilização das atmosferas controladas com altos teores de CO₂ e baixos níveis de O₂ não foram suficientes para inibir a contaminação fúngica.

No tratamento de lesões fungitóxicas em mamão, observa-se na literatura o uso de *Bacillus subtilis* associado a bicarbonato de sódio e gel de aloe vera (Hasan et al, 2013) ou apenas o aloe vera (Marpudi, Abirami, Pushkala e Srivida, 2011), aplicação de matrizes poliméricas como a quitosana (Hewajulige, Sivakumar, Wijesundera, 2007; Ali et al, 2010), a fécula de mandioca (Oliveira, 2013), o uso de quitosana e sais de carbonato (Sivakumar et al, 2005), uso de própolis e goma arábica (Ali, Cheong e Zahid, 2014), carragena (Hamzah et al, 2013), e a utilização de óleos essenciais (Bosquez-Molina et al, 2010, Bill et al,

2014; Júnior, Sales e Martins, 2009; Machado et al, 2013; Carnelossi et al, 2009; Gomes, 2008).

Segundo Gomes (2008), a eficiência de óleos essenciais na inibição do desenvolvimento de fitopatógenos de natureza fúngica vem sendo comprovada por diversos estudos, principalmente devido à restrição de fungicidas, a fim de evitar os efeitos residuais causados no ambiente e à saúde humana, por isso, o uso de óleos essenciais torna-se uma medida barata, de baixo impacto ambiental e natural.

Dentre os óleos essenciais utilizados para tal finalidade, encontramos o tomilho, o eucalipto e os óleos de frutas cítricas, dentre outros, com destaque para o capim-limão, que de acordo com Teodosio (2014), quando adicionado a um revestimento de fécula de batata, potencializou o efeito antifúngico em mamão.

O capim-limão possui em sua formulação dois compostos eficazes na inibição do crescimento de fungos, o citral e o limoneno. O limoneno, segundo Sharma e Triphathi (2008) e Martinez (2012), possui atividade antifúngica, e Combrinck, Reigner e Kamatou (2011) estudando a atividade in vitro de 18 óleos essenciais contra os principais fungos patógenos em frutas, observaram que para mangas e abacates, a quantidade de limoneno a ser utilizada para a inibição de 100% dos micélios era 3 mL/L contra os principais fitopatógenos.

A determinação da taxa de respiração somada ao estudo do efeito da aplicação de uma matriz polimérica adicionada de óleo essencial vem a se constituir numa importante ferramenta para prever o comportamento fisiológico dos frutos dentro de revestimentos/embalagens e possibilitar a avaliação da inibição do fitopatógenos durante o armazenamento do mamão.

2. Referencial Teórico

2.1. A cultura do mamão

O mamoeiro é caracterizado como uma planta herbácea, tradicionalmente tropical, e seu centro de origem é considerado o noroeste da América do Sul, na localização da vertente oriental dos Andes ou na Bacia Amazônica Superior, onde possui maior diversidade genética (Oliveira et al., 1994).

O mamão pertence à família Caricaceae do gênero *Carica*, e atualmente existem 22 espécies do gênero, entretanto, a mais cultivada nas variadas regiões tropicais do planeta é a *Carica papaya* L. No Brasil, a variedade mais exportada é a 'Golden' (Jacomino et. al., 2003).

O *Carica papaya* L. foi descoberto pelos espanhóis no Panamá e recebe inúmeras denominações nas diversas regiões, como papaya (o fruto) e papayo (a planta) em espanhol, papaye e papayer em francês, papaya, paw paw ou papaw em inglês e outros, sendo no Brasil mais conhecido como mamão e mamoeiro (Oliveira et al., 1994).

O mamão, sendo uma das frutas mais comuns nos países da América Tropical, é amplamente conhecido no mundo por ser uma fonte rica em papaína, uma enzima proteolítica de ação similar à pepsina e a tripsina, que pode ser utilizada em indústrias têxteis, farmacêuticas, de alimentos e de cosméticos. Possui um alcaloide denominado de carpaína, que pode ser utilizado como ativador cardíaco, e é uma fonte de cálcio, pró-vitamina A e C, sendo que esta possui um aumento com seu amadurecimento (Oliveira et al., 1994).

No Brasil, até fins da década de 70 predominavam os cultivos "comuns" e o Estado de São Paulo era responsável por cerca de 52% de todo o mamão

produzido anualmente. Entretanto, com a ocorrência do vírus do mosaico a cultura foi dizimada e migrou para outras regiões do país, retomando sua importância econômica com os cultivares 'Formosa' e 'Solo' principalmente no Pará, Bahia e Espírito Santo (Marin, 2004).

Para manter e aumentar as exportações de mamão foi desenvolvido no Brasil o programa "System Approach", um programa especial de produção de mamão, adotado amplamente no Estado do Espírito Santo, que permite exportar a fruta sem que seja realizado tratamento quarentenário, que consiste num banho com água a 48°C por 20 minutos (Alves, 2003).

A delimitação de índices residuais de defensivos presentes na fruta brasileira tende a ser fundamental para a manutenção e controle total destas. O consumidor final deseja apenas um produto em condições de ser consumido, mas, procura um produto com uma ótima aparência, sabor, higiene, disponibilidade, além de outros requisitos que exigem cuidados especiais dos produtores e ações dos agentes comerciais, de modo que lhes garanta um produto confiável para sua saúde e com qualidade (Amaro e Caser, 2003).

Quanto à exportação brasileira de mamão, a sua maior parte se dá na forma de fruta fresca, exigindo cuidados especiais na fase de produção, colheita, pós-colheita e, particularmente no transporte, o qual deve ser realizado sob refrigeração. Estima-se que o mamão pode sofrer de 30 a 50 % de perdas após a colheita, devido à falta de cuidados no armazenamento e transporte, como a utilização de caixas menores, unidades classificadoras e outros cuidados no transporte e manuseio do fruto (Ruggiero et al., 2003).

2.2. Atividade Respiratória de frutos

Os eventos primordiais para o crescimento e amadurecimento de um fruto são a produção de energia pela fotossíntese e sua utilização pelo processo respiratório, que é denominado metabolismo vegetal e está diretamente relacionado à respiração da planta (Fonseca et al., 2002).

Enquanto o fruto ainda não foi colhido ele retira do solo os nutrientes necessários para suas reações oxidativas de respiração e amadurecimento. No entanto, com a realização da colheita o fruto possui uma limitação da fotossíntese e necessita utilizar suas reservas para continuar o ciclo respiratório e seu

desenvolvimento.

Após a colheita, a respiração torna-se o principal processo fisiológico da planta, já que a planta não consegue mais absorver água, minerais e nem fotossintetizar. A respiração vegetal corresponde à transformação de compostos orgânicos em água e dióxido de carbono com a produção de energia química, que será utilizada para a biossíntese de novos compostos indispensáveis ao funcionamento da planta, de forma que ela continue a produzir enzimas e estruturas moleculares essenciais ao seu amadurecimento (Chitarra e Chitarra, 2003).

O ciclo vital dos frutos possui diferentes fases: o crescimento, a maturação, o amadurecimento e a senescência. O crescimento do fruto ocorre por meio de diferentes processos fisiológicos e metabólicos, como a inibição dos mecanismos de oposição ao crescimento, a canalização de nutrientes para o órgão em crescimento, a produção de energia necessária ao processo e o estímulo dos mecanismos biossintéticos (Lima e Mendonça, s.d.; Chitarra e Chitarra, 2003). A maturação ocorre antes do desenvolvimento completo do fruto e é neste estágio que ele se torna apto para o consumo humano e é o estágio em que são, em sua maioria, colhidos. O amadurecimento marca o início dos processos degradativos, no qual se tem uma modificação da pigmentação, da textura, do sabor e do aroma. A senescência marca a diminuição dos processos anabólicos e a predominância dos processos catabólicos responsáveis pelo envelhecimento e morte dos tecidos.

Quanto à sua categoria respiratória, os frutos podem ser divididos em dois grupos: os climatéricos e os não-climatéricos. Os frutos não-climatéricos possuem baixa atividade respiratória e após a colheita esta sofre um declínio, o que impede o fruto a continuar o seu processo de amadurecimento. Os frutos colhidos fora do estágio de maturação não irão completar o seu amadurecimento, mas apenas senescer (Jacomino et.al, 2002).

Os frutos climatéricos possuem uma maior atividade respiratória, e após a colheita, ocorre um aumento nesta taxa, o que leva ao seu amadurecimento imediato. Neste caso, os frutos podem atingir o estágio de maturação comestível na planta ou fora dela.

Os frutos climatéricos devem ser colhidos no seu estágio de amadurecimento fisiológico (maturação), pois fora deste ocorrem perdas após a colheita. O fruto colhido maduro é mais resistente às injúrias e armazenamento, enquanto o fruto maduro, apesar de possuir boa qualidade sensorial, não suporta as condições de transporte e armazenamento (Jacomino et al, 2003).

2.2.1. Alterações físicas, químicas e bioquímicas

O mamão é considerado um fruto climatérico, ou seja, depois de realizada a sua colheita ele continua o seu processo de amadurecimento mesmo separado da planta, com aumento da taxa respiratória e produção de etileno, um hormônio de maturação e envelhecimento (Pinto et al., 2006).

Em temperatura ambiente, o mamão completa o seu ciclo de amadurecimento em alguns dias, caracterizando-o como um fruto de vida curta após a colheita. Durante o seu amadurecimento ocorrem variadas transformações, que levam ao seu amolecimento, degradação, síntese de compostos e outros (Morais et al., 2010).

A degradação da pectina, que leva ao amolecimento da polpa, é ocasionada pelas pectinases, em especial a poligalacturonase e a pectinametilesterase, que aumentam sua atividade com o amadurecimento. À medida que o fruto amadurece, essas enzimas são responsáveis pela diminuição de 20 a 30 vezes da firmeza do fruto (Jacomino et.al., 2003).

O teor de açúcares em mamões é relativamente baixo, não sofrendo grandes variações após a colheita. Seus principais açúcares são sacarose, frutose e glicose. Com o amadurecimento do fruto ocorre um aumento do teor de vitaminas e também a degradação da clorofila e síntese de carotenoides, que levam às mudanças de coloração da casca (Chitarra e Chitarra, 2003).

O mamão papaya pode ser classificado quanto à sua coloração em mamão papaya verde-maduro, apresentando 25% de coloração amarela na casca, mamão papaya parcialmente maduro, apresentando de 25% a 50% de coloração amarela na casca e mamão papaya maduro, apresentando mais de 50% de coloração amarela na casca (Kader, 1999).

2.2.2. Fatores que influenciam a atividade respiratória

A atividade respiratória dos frutos é influenciada pela sua composição e pelas alterações químicas da maturação após a colheita, sendo que a intensidade e o tipo de atividade respiratória dependem das funções naturais de cada parte do fruto. Dentre os fatores que podem influenciar a respiração dos frutos, tem-se os extrínsecos, ou seja, aqueles inerentes ao ambiente em que o fruto se encontra, e os intrínsecos, que são aqueles ligados à composição do fruto.

A superfície do produto é responsável pelas trocas hídricas e gasosas, pela proteção contra o ataque físico, químico e biológico do fruto, e atua na resistência à difusão dos gases (O_2 e CO_2). Quando esta resistência da superfície torna-se elevada, poderá ocorrer a alteração da respiração dos frutos por meio de uma diferença na pressão parcial dos gases internos e externos (Chitarra e Chitarra, 2003).

A transpiração do fruto quando em excesso, ou seja, quando sua umidade está maior do que a do ambiente, pode levar a uma maior saída de água do fruto, levando à perda de textura, enrugamento, opacidade e redução de até 10% do peso original do fruto (Embrapa, s.d.). Segundo Chitarra e Chitarra (2003), a perda de umidade para o ambiente está diretamente relacionada à área da superfície exposta por unidade de volume, ou seja, quanto maior a área exposta, maior será a perda de água por evaporação.

Segundo Saquet e Streif (2001), a produção de etileno, um hormônio responsável pelo amadurecimento do fruto, é outro fator a se considerar, pois com o amadurecimento do fruto, sua produção aumenta, ocasionando num estímulo para a atividade respiratória. Chitarra e Chitarra (2003) sugerem que a resposta do fruto ao etileno correlaciona-se com a presença da via alternativa (oxidase) ou via de transportes resistente ao cianureto.

O efeito da temperatura sobre os frutos pode ser benéfico ou não, pois com o seu aumento ocorre uma aceleração no processo de amadurecimento/deterioração do fruto, e com sua redução ocorre um maior tempo de conservação, porém podem ocorrer injúrias e distúrbios provocados pelo frio. Segundo Chitarra e Chitarra (2003), a manutenção da qualidade do fruto com o aumento de vida útil é possível com a redução da temperatura, contudo,

deve-se conhecer o limite mínimo suportado por ele, a TMS (Temperatura Mínima de Segurança).

Segundo Brackman et.al. (2004), a intensidade respiratória dos frutos é influenciada pela temperatura em que são mantidas, visto que os frutos são organismos vivos. As temperaturas baixas retardam alterações típicas do amadurecimento e o desenvolvimento de microrganismos.

De acordo com Kader (1994), a temperatura ótima para mamões em atmosferas modificadas e controladas é de 12°C, entretanto, pode estar entre 10°C e 15°C (Kader, 2001), tendo-se a precaução de evitar as injúrias pelo frio para que o armazenamento seja bem sucedido. O controle da temperatura, segundo Iqbal et. al. (2009) trata-se da chave para o controle de qualidade.

A composição atmosférica à qual os produtos estão expostos também pode influenciar de forma positiva ou negativa, pois a atmosfera de crescimento ideal para os frutos é rica em oxigênio (O₂) e pobre em dióxido de carbono (CO₂). No entanto, após a colheita esses gases são modificados e em geral aumenta-se o teor de CO₂ (Fonseca et al., 2002). Deve-se conhecer o limite das condições atmosféricas necessárias para cada fruto, para que não ocorram injúrias, como escurecimentos, doenças, modificações no sabor e outros.

Os danos mecânicos ocorridos na colheita, manuseio, transporte e outros, estimulam a atividade respiratória dos frutos e possibilitam a infecção do mesmo por microrganismos (Caldarelli et.al., 2009). De forma geral, as frutas são consideradas perecíveis e necessitam de armazenamento para manutenção de sua qualidade após a colheita e aumento do seu período comercial.

Segundo Chitarra e Chitarra (2003), o comércio de vegetais frescos pode ser prolongado pelo rápido armazenamento do produto em condições atmosféricas que mantenham sua qualidade. As condições de armazenagem variam de fruto para fruto e estão diretamente relacionadas ao sabor, aroma, textura, cor e umidade, portanto, elas devem ser obtidas de forma que não ocorra perda apreciável de seus atributos de qualidade.

O mamão trata-se de um fruto muito susceptível às injúrias mecânicas ocasionadas pela colheita e pela manipulação ocorrida após a colheita, ou seja,

durante sua seleção, classificação, embalagem e transporte (Jacomino et.al., 2003).

Segundo Almeida et al. (2005), além das injúrias advindas de manipulação, o mamão pode sofrer a injúria pelo frio, mais conhecida como “chilling” e é resultante da exposição dos frutos a baixas temperaturas de refrigeração. O “chilling” pode afetar toda a estrutura do mamão, levando a desorganização de organelas como mitocôndrias e cloroplastos.

O controle do ambiente durante o período de armazenagem vem sendo amplamente utilizado, e pode ser obtido por meio do controle de temperatura, da circulação de ar, da umidade relativa, e da composição atmosférica, que pode ser controlada ou modificada. (Kader, 2000; Chitarra e Chitarra, 2003).

A remoção do calor do campo através de pré-resfriamento é uma importante operação no processo de conservação dos frutos, devendo ser realizada imediatamente após a colheita. Brackmann et.al. (2004) trabalhando com maçãs, constatou que o pré-resfriamento diminui rapidamente a temperatura da polpa, o que acarreta na redução da taxa de respiração, a perda de água e o desenvolvimento de podridões.

Segundo Kader (2000), a manutenção do frescor das frutas com a atmosfera controlada ou a atmosfera modificada pode levar a uma extensão de sua vida-de-prateleira, entretanto pode induzir a desordens fisiológicas.

2.3. Modelagem da Taxa Respiratória

Segundo Peppelenbos *et al.* (1996), em estudos com atmosferas em que os frutos e vegetais são expostos a baixas concentrações de O₂ e altas concentrações de CO₂, resultou na redução da taxa respiratória e ocasionou um ritmo mais lento de maturação e mudanças na qualidade.

Song, Vorsa e Yam (2002) relacionaram um controle inadequado da composição gasosa com a ocorrência de fermentação, acelerada deterioração fisiológica e a diminuição no tempo de vida útil.

Os modelos de respiração existentes na atualidade são, em sua maioria, utilizados apenas para prever a influência de fatores externos, tais como diferentes atmosferas, temperatura e outros (Wang e Duan, 2010).

Segundo Fonseca, Oliveira e Brecht (2002), o desenvolvimento de modelos matemáticos possui muitas limitações, necessitando da utilização de técnicas analíticas e equipamentos sofisticados, análise do número de variáveis estudadas e outros. De acordo com Wang *et al.* (2010), a criação de um modelo que descreva a taxa de respiração apresenta dificuldades pela não linearidade das interações envolvidas, ou seja, da temperatura, e das concentrações de CO₂ e O₂.

A maioria dos modelos matemáticos presentes na literatura são baseados na cinética enzimática ou em teorias de adsorção, e mais recentemente, a taxa respiratória vem sendo expressa pela equação de Michaelis-Menten, uma relação quantitativa entre a cinética enzimática e a concentração do substrato, sendo expressa como na Equação 1 (Motta, s.d.).

$$V_0 = \frac{V_{\max} \times [S]}{K_m + [S]} \quad \text{Eq. (1)}$$

Em que:

V_0 = Velocidade inicial (m/s)

V_{\max} = Velocidade máxima de saturação (m/s)

K_m = Constante de ligação enzima-substrato

[S] = Concentração do substrato (M)

Peppelenbos e Van't Leven (1996) descreveram um modelo baseado na cinética de Michaelis-Menten (Equação 2), no qual avaliaram a relação existente entre as concentrações de O₂ e CO₂ e o consumo de O₂. Entretanto, o modelo assume que quando a concentração de O₂ é próxima de 0 não ocorre produção de CO₂, ou seja, não ocorre o processo fermentativo que gera produtos como a alanina e o lactato.

$$V_{O_2} = \frac{V_{mO_2} \times O_2}{(K_{mO_2} + O_2) \times \left(\frac{1 + CO_2}{K_{mnCO_2}} \right)} \quad \text{Eq. (2)}$$

Em que:

V_{O_2} = Taxa respiratória (mL/Kg.h)

V_{mO_2} = Máxima taxa de consumo de oxigênio na respiração (mL/Kg.h)

K_{mO_2} = Concentração de O_2 quando a taxa de consumo é de no máximo 50% (%)

K_{mnCO_2} = Concentração de CO_2 quando a inibição do consumo de O_2 é de 50% (%)

O_2 = Concentração de O_2 (%)

CO_2 = Concentração de CO_2 (%)

Segundo Fonseca, Oliveira e Brecht (2002), o papel do CO_2 na respiração pode sofrer alguns tipos de inibição, sendo que a mesma deve ser adequada para cada caso e seu modelo geral da respiração ficaria de acordo com a Equação 3.

$$R = \frac{\alpha \times y_{O_2}}{\phi + y_{O_2}} \quad \text{Eq. (3)}$$

Em que:

R = Taxa respiratória (mL/Kg.h)

α = Taxa máxima de consumo de O_2 ou a taxa máxima de produção de CO_2 (mL/Kg.h)

Φ = Constante de dissociação do complexo

y_{O_2} = Concentração de O_2 (%)

Segundo Lencki (2004), apesar da respiração ocorrer pela via glicolítica, um modelo feito para a taxa respiratória quando o substrato é a glicose seria inviável, devido à dificuldade em avaliar as diferenças na concentração de glicose sem destruir o material e, portanto, estimou um modelo (4) tendo como substrato a taxa de absorção de O_2 ou a produção de CO_2 .

$$R_{res} = \frac{V_T}{6W_p} \times \frac{d[O_2]_T}{d_t} \quad \text{Eq. (4)}$$

Em que:

R_{res} = Taxa respiratória (mol/Kg.s)

V_T = Volume total do recipiente (L)

W_P = Peso total do produto (Kg)

$[O_2]_T$ = Número total de mol dissolvido de oxigênio (mol/L)

Segundo Fonseca, Oliveira e Brecht (2002), nenhum modelo pode ser definido como o mais adequado, pois eles não abrangem todos os tipos de inibição e não são capazes de apresentar bons resultados para todos os produtos.

O modelo pode ser inibido de forma competitiva (equação 5), quando o inibidor e o CO_2 competem pelo mesmo sítio ativo, não competitiva, quando o inibidor reage com o complexo enzima-substrato (equação 6) ou reage com a enzima e com o complexo (equação 7) e ainda pode ter todos os tipos de inibição combinados (equação 8). Para cada tipo de inibição deve-se avaliar a melhor forma de adaptar a fórmula cinética (Fonseca *et.al.*, 2001).

$$R = \frac{\alpha \times y_{O_2}}{\phi \times \left(1 + \frac{y_{CO_2}}{y_c}\right) + y_{O_2}} \quad \text{Eq. (5)}$$

$$R = \frac{\alpha \times y_{O_2}}{\phi + y_{O_2} \times \left(1 + \frac{y_{CO_2}}{y_u}\right)} \quad \text{Eq. (6)}$$

$$R = \frac{\alpha \times y_{O_2}}{(\phi + y_{O_2}) \times \left(1 + \frac{y_{CO_2}}{y_n}\right)} \quad \text{Eq. (7)}$$

$$R = \frac{\alpha \times y_{O_2}}{\phi \times \left(1 + \frac{y_{CO_2}}{y_c}\right) + y_{O_2} \times \left(1 + \frac{y_{CO_2}}{y_u}\right)} \quad \text{Eq. (8)}$$

Em que:

R = Taxa respiratória (mL/Kg.h)

α = Taxa máxima de consumo de O_2 ou a taxa máxima de produção de CO_2 (mL/Kg.h)

Φ = Constante de dissociação do complexo

y_{O_2} = Concentração de O_2 (%)

y_{CO_2} = Concentração de CO_2 (%)

y_u = Concentração do inibidor não competitivo com a enzima-substrato (%)

y_c = Concentração do inibidor competitivo (%)

y_n = Concentração do inibidor não competitivo (%)

Caleb *et.al.* (2012) estudando arilos de romãs estimaram um modelo em função do tempo e da temperatura na respiração do fruto minimamente processado para prever o ciclo respiratório tanto em função do consumo de O_2 , quanto em função da produção de CO_2 .

Em estudos respiratórios de banana, Heydary *et. al.* (2010) testaram 3 equações baseadas no modelo de Michaelis-Menten, e chegaram à conclusão de que a melhor equação para descrever a respiração da banana seria a não-competitiva. Entretanto, Bhande *et.al.* (2007) ao estimarem modelos respiratórios para banana encontraram um modelo cinético baseado em Arrhenius com dependência de temperatura.

2.4. Doenças fúngicas em mamões

As doenças fúngicas após a colheita são a principal causa de perdas na comercialização dos frutos (Dantas et al, 2003), podendo se manifestar em qualquer momento do desenvolvimento do mesmo (Embrapa,2000; Oliveira, Filho, Filho, s.d.). Na Tabela 1 pode-se observar os principais contaminantes fúngicos do mamão e suas formas de manifestação no fruto.

Tabela 1: Principais doenças fúngicas em mamão

Doença fúngica	Manifestação	Fungo causador
Podridão peduncular	Pequenas pregas na superfície do fruto progredindo para lesões marrons com margem translúcida	<i>Phoma caricae-papayae</i>
Antracnose	Circular, deprimida, com margem marrom clara no centro da lesão	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
Mancha chocolate	Superficial ou deprimida com margens encharcadas com o amadurecimento do fruto	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
Podridão por <i>Fusarium</i>	Manchas pequenas e secas na superfície do fruto	<i>Fusarium spp.</i> (costuma estar associado ao <i>Colletotrichum</i> ou <i>Phoma</i>)
Podridão por <i>Sthemphylium</i>	Lesões pequenas, circulares, inicialmente marrons, mas se tornam púrpuras	<i>Sthemphylium lycopersici</i>
Podridão aquosa	Evolui rapidamente tornando-se coberta por micélio branco e massa de esporângios escura	<i>Rhizopus stolonifer</i>
Podridão por <i>Lasidiopodia</i>	Lesões escuras com tecido encharcado e superfície rugosa	<i>Lasidiopodia theobromae</i>
Podridão por <i>Alternaria</i>	Lesões pretas, circulares a ovais	<i>Alternaria alternata</i>

Fonte: Papa (s.d.)

Silva (2008) classificou os fungos do gênero *Colletotrichum* como importantes fitopatógenos nas regiões tropicais e subtropicais do mundo com condições ideais de manifestação nas temperaturas que compreendem a faixa de 22 a 25 °C, contudo, seu crescimento ideal, esporulação e germinação só ocorrem na temperatura ideal de 30 °C.

A antracnose é a principal doença do mamão causada por fungos tanto no Brasil quanto no Havaí, visto que o fruto colhido na maioria dos casos não apresenta sintomas da doença, que se manifesta nas etapas de embalagem, transporte, amadurecimento e comercialização (Oliveira et al, s.d.).

As medidas de controle da antracnose se iniciam no mamoeiro por meio da pulverização quinzenal de produtos à base de cobre, benzimidazol mais chlorotalonil ou mancozeb (Oliveira et al, s.d.), e seu controle nos frutos vem sendo amplamente estudados, como a utilização de *Bacillus subtilis* associado a bicarbonato de sódio e gel de aloe vera (Hasan et al, 2013) ou apenas o aloe vera (Marpudi, Abirami, Pushkala e Srivida, 2011), aplicação de matrizes poliméricas como a quitosana (Hewajulige, Sivakumar, Wijesundera, 2007; Ali et al, 2010), a fécula de mandioca (Oliveira, 2013), o uso de quitosana e sais de carbonato (Sivakumar, 2005), uso de própolis e goma arábica (Ali, Cheong e Zahid, 2014), carragena (Hamzah et al, 2013), e a utilização de óleos essenciais (Bosquez-Molina et al, 2010, Bill et al, 2014; Júnior, Sales e Martins, 2009; Machado et al, 2013; Carnelossi et al, 2009; Gomes, 2008).

2.5. Uso de tecnologias para conservação dos frutos

De acordo com Luvielvo e Lamas (2013), a conservação de alimentos está em sua maioria concentrada na cadeia de frio e em práticas de armazenamento que provoquem pouca ou nenhuma injúria ao fruto. Todavia, atualmente as práticas ligadas à conservação de frutas e hortaliças estão diretamente relacionadas à utilização de embalagens poliméricas (Rita et.al., 2011).

Nos últimos anos houve um considerável interesse no desenvolvimento de polímeros biodegradáveis, visto que a maioria dos materiais poliméricos são duráveis e inertes, levando a um longo tempo de biodegradação e sua deposição no ambiente (Santos, 2012).

Segundo Reis et.al. (2011), os biofilmes são produzidos por meio de materiais biológicos, e atuam como barreira a elementos externos, podendo ser confeccionado a partir de polissacarídeos, lipídios e proteínas (Quadro 1), não apresentando quaisquer riscos à saúde do consumidor, visto que não são metabolizados pelo nosso organismo (Oliveira, Grden e Ribeiro, 2007).

QUADRO 1: Tipos de recobrimentos utilizados e suas principais ações

Recobrimento	Principal ação
Alginato	Redução das perdas de água.
Caseína/ Monoglicérido acetilado/ Monoglicérido de ácido graxo	Barreira a gases; Manutenção da cor.
Amilose/ Amilopectina	Barreira a gases; Melhora a cor e dá firmeza; Ação antifúngica.
Zeínas	Barreira a gases; Redução de perdas de água; Ação antimicrobiana e manutenção da firmeza.
Pectina	Barreira a gases; Ação antifúngica; Manutenção da firmeza;
Lípídeos	Barreira a gases; Redução a perda de água.
Carboximetilcelulose (CMC)	Barreira a gases; Manutenção da cor.
Albumén do ovo	Manutenção da cor; Redução do escurecimento.
Proteína do soro do leite	Barreira a gases; Redução a perda de água; Manutenção da cor.
Proteínas de soja	Barreira a gases; Redução a perda de água; Manutenção da firmeza.
Cera da carnaúba	Barreira a gases; Redução a perda de água; Diminuição da desidratação superficial.
Cera de abelha	Barreira a gases; Redução a perda de água; Diminuição da desidratação superficial.
Quitosana	Ação antimicrobiana; Manutenção da cor e redução do escurecimento.
Goma xantana	Redução de perdas de água; Diminuição da desidratação superficial.
Carragenato	Redução de perdas de água.

Fonte: Assis, Forato e Britto, 2008.

Ao se aplicar um revestimento em frutas, ocorre o preenchimento parcial dos estômatos e lenticelas, reduzindo a transpiração e a respiração, o que permite um inicial prolongamento de vida útil do fruto (Assis, Britto e Forat, 2009), podendo ser aplicado por imersão rápida do fruto em uma solução filmogênica ou por meio de aspersão (Junior et.al., 2010).

A escolha do biofilme ou da película comestível a ser utilizada depende das características de cada alimento, portanto, para alimentos susceptíveis a processos oxidativos, as mesmas devem se apresentar com baixa permeabilidade ao oxigênio, e no caso de frutas e hortaliças, estas películas devem permitir uma transferência moderada de gases, com a finalidade de diminuir a taxa respiratória sem levar à ocorrência de processos fermentativos (condições anaeróbicas) (Azeredo, 2003).

Os revestimentos comestíveis mais utilizados atualmente são as proteínas (gelatina, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo, zeína e proteínas miofibrilares), os polissacarídeos (amido e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados, alginato e carragena), os lipídios (monoglicéridos acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácido graxo) ou a combinação destes

compostos, permitindo uma vantajosa utilização das distintas características funcionais de cada classe (Luvielmo e Lamas, 2013).

2.6. Filmes de polissacarídeos e revestimentos antifúngicos

2.6.1. Amido

O amido possui uma ampla faixa de propriedades funcionais e baixo custo, o que o torna o hidrocolóide mais utilizado na indústria alimentícia (PENNA,2003). Atua como agente espessante, estabilizador de colóides, agente gelificante e de retenção de água, entre outros, e tem sua funcionalidade atribuída à sua composição estrutural composta de amilose e amilopectina. Segundo Ribeiro (2011) a amilose e a amilopectina estão rearranjadas superpondo-se em um ponto denominado hilo formando ligações de hidrogênio em associação paralela formando as micelas.

No processo de aquecimento em meio aquoso os grânulos de amido sofrem uma mudança estrutural em que as pontes de hidrogênio estabilizadoras da estrutura cristalina são rompidas quando a temperatura característica de cada tipo de amido é atingida, tornando-o, então, mais facilmente acessível à ação das enzimas digestivas (LOBO e SILVA, 2003). Esse processo refere-se à gelatinização do amido, que incorre na formação de uma pasta visco-elástica turbida ou em um gel elástico opaco.

De forma geral, filmes de polissacarídeos são hidrofílicos, e, portanto, espera-se que possua uma mínima propriedade de barreira à umidade, visto que sua afinidade com a água está associada à predominância de grupos altamente polares como a hidroxila (Azeredo, 2003; Luvielmo e Lamas, 2013). Entretanto, se aplicados na forma de gel podem ocasionar um retardo na perda de umidade da fruta, já que haverá uma evaporação da umidade do gel antes da desidratação do fruto (Oliveira, Grden e Ribeiro, 2007).

A película formada nestes revestimentos possui baixa permeabilidade aos gases envolvidos na respiração, afetando principalmente a taxa de escurecimento enzimático, que ocorre devido a ação das polifenoloxidasas (Luvielmo e Lamas, 2013).

Guedes (2007) estudando a utilização de biofilme comestível à base de fécula de mandioca em mangas cv. 'Rosa' observou que o mesmo se

apresentara semipermeável e que com o aumento da concentração de fécula de mandioca nos frutos houve uma contenção do processo respiratório e consequente retardo no amadurecimento.

No estudo de um biofilme de fécula de batata e celulose bacteriana na conservação de frutos minimamente processados, Almeida (2010) observou que o mesmo foi eficiente na manutenção da qualidade, nos aspectos de massa, compostos fenólicos, vitamina C, antioxidantes, cora a* e cora b*, oferecendo, portanto, grande potencial para aplicações de conservação, podendo aumentar a estabilidade química, física e biológica do fruto.

Campos et.al. (2012) no estudo de revestimento de fécula de mandioca associada a grãos kefir para a conservação de morangos orgânicos cv. 'Camarosa', observaram uma menor incidência de podridão, menor perda de massa e uma redução na evolução da coloração dos frutos.

No estudo de conservação da amora-preta refrigerada com biofilme de fécula de mandioca, Bischoff et.al. (2013) observaram que a concentração de 5% possibilitou a manutenção de acidez titulável e pH.

Pinho (2011) estudando a aplicação de biofilme de quitosano em atmosfera modificada em pêra Rocha de 4ª gama pontuou que não houve uma ação significativa do quitosano na extensão de vida útil do fruto, mas que o mesmo apresentou atividade antimicrobiana.

Na conservação de mamão Havaí utilizando películas comestíveis de mandioca e de batata, ambas se mostraram eficientes na conservação do mamão, principalmente quando em refrigeração, visto que retardaram em 7,11% e 6,69%, respectivamente, a perda de peso do fruto, mas que a fécula de mandioca obteve resultados mais satisfatórios no controle da maturação quando observados os valores de acidez titulável total e sólidos solúveis totais (Pimentel et al, 2011).

No estudo de conservação de goiabas 'Paluma', Santos (2012) utilizou diferentes concentrações de quitosana e observou que houve um maior retardo no amadurecimento e a manutenção das características físicas e químicas dos frutos, principalmente como o aumento da concentração de quitosana.

Galo et.al. (2014) estudaram a conservação de mamão 'Sunrise Solo' com a utilização de revestimento de quitosana durante 13 dias em temperatura ambiente e atestaram que a mesma manteve os atributos de qualidade do fruto

(acidez titulável, sólidos solúveis totais, firmeza e ácido ascórbico) durante o tempo de armazenamento, sendo apto para o consumo.

Cortez-Vega et.al. (2014) no estudo na conservação de mamões 'Formosa' minimamente processados com goma xantana por 12 dias de armazenamento observaram que a goma xantana influenciou positivamente na perda de massa e nos parâmetros de cor e luminosidade, entretanto, não foi observado pelos autores efeito antimicrobiano.

Oliveira (2013) testando diferentes concentrações de fécula de mandioca em mamão observou que nas concentrações de 2%,3% e 4% houve 100% de controle da antracnose em mamão e que houve um maior controle sob a maturação dos frutos

2.6.2. Cálcio

O cálcio atua diretamente na manutenção da função e estrutura das membranas celulares e na estabilização da parede celular, já que provém de cálcio para os requerimentos intracelulares (Chittara e Chittara, 2005).

O cálcio intracelular media processos fisiológicos como o fototropismo e geotropismo, a ação de hormônios e a resposta de defesa a injúrias, sendo considerado um regulador essencial tanto nas etapas de desenvolvimento do fruto quanto na regulação metabólica, sendo encontrado em concentrações de cerca de 0,1 mM. Já o cálcio intercelular é necessário em concentrações de 1 a 5 mM para que ocorra um funcionamento normal das membranas e para proteção contra condições adversas, como desequilíbrio nutricional, pH e presença de íons tóxicos (Chittara e Chittara, 2005).

O cálcio intercelular se liga aos componentes pécticos da parede celular formando o pectato de cálcio (Figura 2) ou pontes de cálcio, que resulta num elevado grau de firmeza e mantém as forças de coesão durante o amadurecimento dos frutos (Antoniolli et al, 2003).

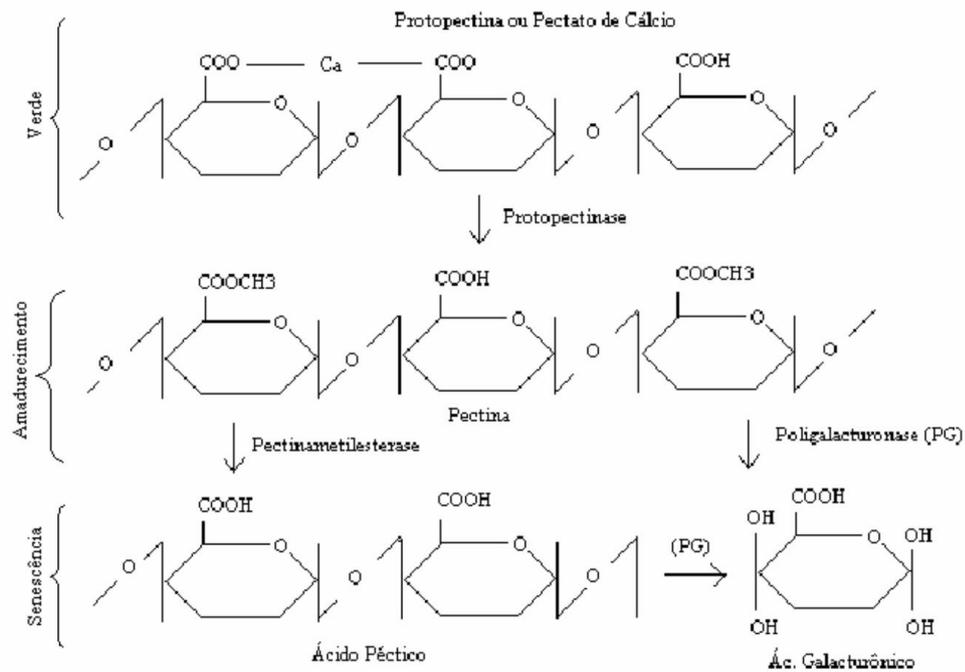


Figura 2 – Formação do Pectato de Cálcio nas diferentes etapas de desenvolvimento dos frutos

Fonte: Kluge (2013) apud Silva (2014).

Segundo Chittara e Chittara (2005), as pontes de cálcio são resistentes às enzimas causadoras do amolecimento nos frutos e às enzimas produzidas por microrganismos patogênicos, todavia, seu maior efeito inibitório está diretamente relacionado a uma concentração ideal de cálcio superior a 25 mM.

Durante o amadurecimento dos frutos ocorre o seu amaciamento pela modificação dos polissacarídeos presentes na parede celular pelo consumo das pectinas, celulose, hemicelulose e outros que ocasionam na perda de firmeza e aumento da atividade de hidrolases, como a poligalacturonase e a pectinametilesterase (Oliveira et al, 2006).

Diversos autores têm relatado a utilização de cálcio na pré-colheita (Vizzoto et al (2009); Neto et al (2008); Souza et al (2009); Madani et al (2014); Kou et al (2015); Madani et al (2016)) e na pós-colheita (Bicalho et al (2000); Suutarinen et al (2002); Costa (2009); Hussain et al (2011); Silva et al (2015)) de diferentes frutos com o objetivo de manter a textura e rigidez dos frutos com consequente aumento da vida comercial.

2.6.3. Uso de óleos essenciais

Os óleos essenciais são compostos em sua maioria por uma mistura de hidrocarbonetos encontrados em terpenos e sesquiterpenos, com compostos carbonílicos (SERAFINI et al, 2011). Todo tecido vivo de planta possui teores de óleo essencial (Tabela 2), podendo este ser encontrado na casca, nas flores, no rizoma e nas sementes. São inflamáveis e solúveis em álcool e éter, mas insolúveis em água, sendo muito utilizados na indústria alimentícia em substituição aos condimentos na forma natural (SEFSTROM, 2011).

Tabela 2: Teores de óleos essenciais em alguns condimentos

Condimento	% (v/p)
Pimenta-preta	2,0-4,5
Pimenta-branca	1,5-2,5
Coentro	0,4-1,0
Noz-moscada	6,5-15,0
Gengibre	1,0-3,0
Orégano	1,0-1,5
Alecrim	0,5-1,0

Fonte: Araújo (2011)

Bill et al (2014) estudaram a associação de óleo essencial de tomilho com diferentes tipos de revestimento, e observaram que tal associação ocasionava num poder fungicida capaz de reduzir a severidade da antracnose.

Maqbool et al (2011) investigaram a ação de 3 diferentes tipos de óleos essenciais (goma arábica, óleo de limão e óleo de canela) isolados e associados no controle da contaminação fúngica pós-colheita em banana e mamão, constatando que uma associação de 10% de goma arábica com 0,4% de óleo de canela reduziu de forma significativa a contaminação pelo *Colletotrichum spp.*, sugerindo a utilização dos mesmos como biofungicidas para frutos tropicais.

No estudo do efeito inibitório do óleo essencial de tomilho e do limão mexicano no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizopus stolonifer*,

Bosquez-Molina et al (2010) observaram que quando comparados aos frutos controle, ocorreu uma redução de 50 % e 40 % respectivamente quando utilizou-se o óleo de tomilho. Observaram, ainda, que a concentração do óleo não se trata de um fator chave para tal procedimento, e que quando os frutos foram imersos numa mistura destes óleos ocorreu uma redução de 100% da doença.

Num estudo acerca da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, Nascimento et al (2007) levantou que vários fatores devem ser levados em consideração, como a técnica utilizada, o meio de cultura, a densidade do inóculo, o óleo essencial e o emulsificador utilizado, adotando uma metodologia adequada e padronizada para verificação da atividade antimicrobiana.

2.6.3.1. Limoneno

Os óleos obtidos de frutas cítricas (óleo de citros) são comercialmente obtidos como subproduto do suco das frutas, e possuem elevado teor de limoneno (~ 90 %), que é o principal componente deste óleo essencial (Figura 3) (SANTOS et al, 2007).

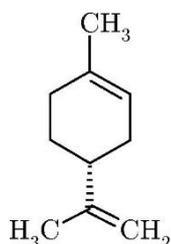


Figura 3 - Estrutura química do limoneno

Fonte: Santos et al, 2007

Os óleos de citros mais comuns são o de laranja e o de limão. O de laranja possui cerca de 90% de limoneno, e o de limão possui de 60% a 75% de limoneno sendo o restante composto por β -pineno e γ -terpineno, apresentando um odor característico de citros pela presença do citral (SANTOS et al, 2007).

Palhano et al (2004) estudando o efeito de óleos essenciais de limão e de citral combinado a pressão hidrostática no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* observaram que com o uso do óleo essencial e uma pressão de 150 MPa não se fez necessária a utilização de fungicidas, visto que o óleo teve o mesmo efeito.

Bosquez-Molina et al (2010) estudando o efeito de óleo essencial de limão mexicano (~ 45 % de limoneno) e óleo essencial de tomilho observaram

que este obteve um melhor efeito fungicida, mas que na concentração de 0,085 % o óleo de limão mexicano apresentou um efeito fungicida, e para o *C. gloeosporioides* nas concentrações de 0,14 % e 0,15 % ocorreu um controle total do fungo em mamões, e quando utilizou-se uma formulação a base de goma de algaroba associada a 0,5% de óleo de limão mexicano, não foi observada a incidência da doença no tempo de armazenamento.

No estudo de manutenção de qualidade de morangos, Perdones et al (2012) observaram que a associação de quitosana e óleo essencial de limão houve um efeito fungicida até o 5º dia de armazenamento dos frutos, entretanto, não houve efeito significativo do óleo essencial associado à quitosana, visto que a mesma também possui efeito fungicida. Entretanto, Vu et al (2011) citou o limoneno como tendo um elevado efeito fungicida em morangos em refrigeração.

Teodosio (2014), no estudo de conservação refrigerada de mamões Golden revestidos com fécula de batata e adicionados de 1% de óleo de capim limão, observou que a fécula utilizada foi capaz de inibir o efeito microbiano e que a adição do óleo de capim-limão potencializou este efeito.

3. Referências Bibliográficas

- Ali, A.; Cheong, K.; Zahid, N. (2014) Composite effect of própolis and gum arabic to control postharvest anthracnose and maintain quality of papaya during storage. *International Journal of Agriculture and Biology*, v.16, n.6, 1117-1122p.
- Ali, A.; Muhammad, M.T.M.; Sijam, K.; Siddiqui, Y. (2010) Potential of chitosan coating in delaying the postharvest anthracnose of Ekstika II papaya. *International Journal of Food Science and Technology*, v.45, 2134-2140p.
- Almeida, D.M. (2010) Biofilme de blenda defécula de batata e celulose bacteriana na conservação de fruta minimamente processada. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais), Curitiba, Paraná, Universidade Federal do Paraná,
- Almeida, R.F.; Resende, E.D.; Vitorazi, L.; Carlos, L. A.; Pinto, L.K.A.; Silva, H.R.F.; Martins, M.L.L. (2005) Injúria pelo frio em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. 'Golden'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, p.17-20.

- Alves, F. L. (2003) A cultura do mamão *Carica papaya* no mundo, no Brasil e no Estado do Espírito Santo. In: Martins, D.S., Costa, A.F.S. (eds.) *A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção*. Vitória-ES, p. 11-34.
- Amaro, A. A., Caser, D. V. (2003). Análise conjuntural do mercado de mamão aspectos econômicos da comercialização. In: Martins, D. S. *Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno*. Incaper, Vitória-ES. 714p.
- AOAC - Association of official Analytical Chemists. (1975) Method 925.23, 945.46. AOAC Official Methods of Analysis. Philadelphia. Pennsylvania. USA.
- Araujo, J.M.A. (2011) Química de Alimentos – teoria e prática. Universidade Federal de Viçosa. 601p.
- Arruda, M.C.; Jacomino, A.P.; Trevisan, M.N.; Jeronimo, E.M.; Moretti, C.L. (2011) Atmosfera modificada em laranja 'Pêra' minimamente processada. *Bragantia*, Campinas, 70 (3): p.664-671.
- Assis, O.B.G.; Britto, D.; Forat, L.A. (2009) O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas in natura e minimamente processados. *Embrapa Instrumentação Agropecuária, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, 23p.
- Assis, O.B.G.; Forato, L.A.; Britto, D. (2008) Revestimentos comestíveis protetores minimamente processados. *Higiene Alimentar*, v.22, n.160,99-106p.
- Azeredo, H.M.C. (2003) Películas comestíveis em frutas conservadas por métodos combinados: potencial comestíveis em frutas conservadas por métodos combinados: potencial da aplicação. *Boletim do CEPPA*, v.21, n.2,
- Barbosa, N.C. (2013) Taxa de respiração do mamão em função das diferentes condições de atmosferas de armazenamento em temperatura ambiente. *Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)*. Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 87p.
- Bhande, S.D.; Ravindra, M.R.; Goswami, T.K. (2007) Respiration rate of banana fruit under aerobic conditions at diferente storage temperatures. *Journal of Food Engineering*, 116-123p.
- Bill, M.; Sivakumar, D.; Korsten, S.; Thompson, A.K. (2014) The efficacy off combined application of edible coatings and thyme oil in inducing resistance componentes in avocado (*Persea americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. *Crop Protection*, v.64, 159-167p.
- Bischoff, T.Z.; Pintro, T.C.; Paloschi, P.L.; Coelho, S.R.M.; Grzegozewski, D.M. (2013) Conservação pós-colheita da amora-preta refrigerada utilizando biofilme e embalagem plástica. *Revista Energia na Agricultura*, Botucatu-SP, v.28, n.2, 109-114p.
- Bosquez-Molina, E.; Ronquillo-de-Jesús, E.; Bautista-Baños, S.; Verde-Calvo, J.R.; Morales-López, J. (2010) Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 132-137p.
- Brackmann, A. (2004) Armazenamento em Atmosfera Controlada. In: Kovaleski, A.; Parussolo, A.; Hoffman, A.; Brackmann, A.; Zancan, C.; Girardi, C.L.; Freire, C.J.S.; Basso, C.; Camelatto, D.; Denardi, F.; Leite, G.B.; Nachtigall, G.R.;

- Bernardi, J.; Petri, J.L.; Mello, L.M.R.; Sanhueza, R.M.V.; Flores-Cantillano, R.F., *Frutas do Brasil – Maçã Pós-colheita*.1.ed. Brasília: Embrapa, p. 67-95.
- Brackmann, A., Bordignon, B., Giehl, R., Sestari, I., & Eisermann, A. (2007). Armazenamento de pêssegos cv."Granada" em atmosfera controlada, visando ao transporte a longas distâncias. *Ciência Rural*, p.676-681.
- Brackmann, A.; Girardi, C.L.; Bender, R.J.; Filho, O.S.R. (2004) Armazenamento Refrigerado. In: Kovaleski, A.; Parussolo, A.; Hoffman, A.; Brackmann, A.; Zancan, C.; Girardi, C.L.; Freire, C.J.S.; Basso, C.; Camelatto, D.; Denardi, F.; Leite, G.B.; Nachtigall, G.R.; Bernardi, J.; Petri, J.L.; Mello, L.M.R.; Sanhueza, R.M.V.; Flores-Cantillano, R.F., *Frutas do Brasil – Maçã Pós-colheita*.1.ed. Brasília: Embrapa, p. 58-66.
- Brackmann, A.; Pavanello, E.P.; Both, V.; Weber, A.; Pinto, J.A.V. (2009) Atmosfera refrigerada e controlada para pêssegos 'Eragil'. *Ciência Rural*, Santa Maria, 39 (7): p.2010-2015.
- Brackmann, A.; Steffens, A.; Sestari, I.; Neuwald, D.A.; Giehl, R.F.H. (2006) Armazenamento em atmosfera modificada e controlada de banana "Prata" com absorção de etileno. *Ciênc. Agrotec. Lavras*, v.30: p.914-919.
- Brapex – Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Papaya. Disponível em > <http://www.brapex.net/2013/index.asp><. Acesso em maio de 2015.
- Brazilian fruit. Mamão Papaya. Disponível em: <http://www.brazilianfruit.org.br>. Acesso em maio de 2015.
- Caldarelli, C.A.; Nakamura, C.Y.; Okano, W.E.; Ercolin, T.M. Logística do Mamão Formosa: Uma análise de modalidade de transporte. *47º Congresso Da Sociedade Brasileira De Economia, Administração E Sociologia Rural*. Porto Alegre, 2009. p. 17.
- Caleb, O.J.; Mahajan, P.V.; Opara, U.L.; Witthuhn, C.R. (2012) Modeling the effect of time and temperature on respiration rate of pomegranate arils (cv.'Acco' and 'Herskawitz'). *Journal of Food Science*, 77 (4): E80-E87.
- Calegari, J.M.; Pezzi, E.; Bender, R.J. (2002) Utilização de atmosfera modificada na conservação de morangos pós-colheita. *Pesq. Agropec.Bras.* Brasília, v.37, p.1049-1055.
- Campos, R.P.; Kwiatkowski, A.; Clemente, E. (2011) Post-harvest conservation of organic strawberries coated with cassava starch and chitosan. *Ver. Ceres*. Viçosa, v.58, n.5, 554-560p.
- Campos, R.P.; Kwiatkowski, A.; Tonhi, C.D.; Clemente, E. (2012) Physical-chemical and Microbiology Characteristics of Organic Strawberries Conserved with Biofilms and Refrigeration. *Journal of Food Research*, v.1, n.3, 247-257p.
- Cardoso, J.M.; Santos, A.E.O.; Lima, M.A.C.; Marques, M.A.D.; Silva, M.G. (2008) Utilização de atmosfera modificada na conservação pós-colheita de bananas 'Pacovan'. *III Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica*, Fortaleza – CE, 7p.
- Carnelossi, P.R.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Cruz, M.E.S.; Itako, A.T.; Mesquini, R.M. (2009) Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum*

- gloeosporioides em mamão. Rev.Bras.Pl.Med, Botucatu-SP, v.11,n.4, 399-406p.
- Castricini, A.; Coneglian, R.C.C.; Deliza, R. (2012) Starch edible coating of papaya: effect on sensory characteristics. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, 32(1), 84-92p.
- Chitarra, M., e Chitarra, A. (2003). *Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças - Fisiologia e Manuseio*. Lavras: UFLA.
- Cia, P; Bron, I.U.; Valentini, S.R.T.; Pio, R.; Chagas, E.A. (2007) Atmosfera modificada e refrigeração para conservação pós-colheita da amora-preta. *Bioscience Journal*. Uberlândia, v.23,p.11-16.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2003) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Vol. 23, No. 2. 6th ed. Approved standard M7- A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
- CNS – Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996.
- Combrinck, S.; Regnier, T.; Kamatou, G.P.P. (2011) In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. *Industrial Crops and Products*, 344-349p.
- Corrêa, T.R.; Steffens, C.A.; Amarante, C.V.T.; Tanaka, H.; Stanger, M.C.; Brackmann, A.; Ernani, P.R. (2012) Composição mineral, qualidade e degenerescência de polpa de maçã 'Fuji' em diferentes porta-enxertos durante armazenamento em atmosfera controlada. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 34 (1): p.33-40.
- Cortez-Veja, W.R.; Pizato, S.; Souza, J.T.A.; Prentice, C. (2014) Using edible coatings from whitemouth croaker (*Microspogonias furnieri*) protein isolate and organo-clay nano composite for improve the conservation properties of fresh-cut 'formosa' papaya. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v.22, 197-202p.
- Dantas, S.A.F.; Oliveira, S.M.A.; Michereff, S.J.; Nascimento, L.C.; Gurgel, L.M.S.; Pessoa, W.R.L.S. (2003) Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na central de abastecimento do Recife. *Revista de Fitopatologia Brasileira*, v. 28 (5), 528-533p.
- Embrapa (2000) Mamão. Produção: aspectos técnicos. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 77p.
- Embrapa (s.d.). *Pós-colheita de hortaliças e frutas - Processo biológico e manuseio*. Acesso em 10 de Fevereiro de 2012, disponível em <http://redeagroecologia.cnptia.embrapa.br/boletins/hortalicas/Pos%20colheita%20de%20hortalicas%20e%20frutas.pdf>
- Espitia, P.J.P. (2009) Desenvolvimento e avaliação de embalagens ativas incorporadas com óleos essenciais para a conservação pós-colheita de mamão. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa,
- Ferri, V.C.; Rinaldi, M.M.; Danieli, R.; Lucchetta, L.; Rombaldi, C.V. (2004) Atmosfera modificada na conservação de caquis (*Diospyros kaki*, L.) cultivar Fuyu. *Revista Brasileira de Agrociência*. Pelotas, 10 (1): p.111-115.

- FAO – Food and Agriculture Organization of The United Nations (2017). Disponível em ><http://www.fao.org/home/en/><. Acesso em maio de 2017.
- Fonseca, M., Cenci, S., Botrel, N., e Leal, N. (2003). Uso de atmosfera controlada na conservação de frutos do mamoeiro "Sunrise Solo". *Revista Brasileira de Armazenamento*, Viçosa, 28 (2): p.17-22.
- Fonseca, M., Cenci, S., Botrel, N., e Leal, N. (2003). Uso de atmosfera controlada para conservação pós-colheita do mamão "Golden". *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal-SP, 25 (3): p.537-539.
- Fonseca, M., Leal, N. R.; Cenci, S. A., Cecon, P.R.; Bressan-Smith, R.E.; Soares, A.G. (2003). Emissão de etileno e de CO₂ em mamão 'Sunrise Solo' e 'Golden'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal-SP, 28 (2): p.322-324.
- Fonseca, M., Leal, N., e Cenci, S. (2004). Padrão de ocorrência de doenças em mamão armazenado sob atmosfera controlada. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal – SP, 26 (3): p.547-549.
- Fonseca, S.C.; Oliveira, F.A.R.; Brecht, J.K. (2002) Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering*, v.52: p.99-119.
- Galarça, S., Treptow, R., Cantillano, R. F., e Schünemann, A. P. (2008). Influência da atmosfera controlada no sabor do mirtilo "bluegem" em armazenamento refrigerado. *XVII Congresso de Iniciação Científica*, (p. 4).
- Galo, J.Q.B.; Souza, M.L.; Kusdra, J.F.; Mattiuz, C.F.M. (2014) Conservação pós-colheita de mamão 'sunrise solo' com uso de quitosana. *Rev. Bras. Frut.*, Jaboticabal-SP, v.36, n.2, 305-312p.
- Gomes, L.I.S. (2008) Métodos de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* e efeito de óleos essenciais no controle da antracnose dos frutos de mamoeiro. Tese (Mestrado em Agronomia), Lavras-MG, Universidade Federal de Lavras, 54p.
- Guedes, P.A. (2007) Utilização de biofilme comestível na conservação pós-colheita de manga, cv.rosa. Tese (Mestrado em Agronomia). Vitória da Conquista – BA. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 69p.
- Hamzah, H.M.; Osman, A.; Tan, C.P.; Ghazali, F.M. (2013) Carragenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika). *Postharvest Biology and Technology*, 142-146p.
- Hasan, M.F.; Mahmud, T.M.M.; Ding, P.; Kadir, J. (2013) Control of postharvest anthracnose disease and quality of papaya using *Bacillus subtilis* strain B34 enhanced with sodium bicarbonate and aloe vera gel. *Acta Horticultural*, v.1(12), 653-660p.
- Hewajulige, I.G.N.; Sivakumar, D.; Wijesundera, R.L.C. (2007) Effect of chitosan coating and overall quality retention of papaya during storage. *1st International Symposium on Papaya*, 22-24p.
- Heydari, A.; Shayesteh, K.; Eghbalifam, N.; Bordbar, H.; Falahatpisheh, S. (2010) Studies on the respiration rate of banana based on enzyme kinetics. *International Journal of Agriculture and biology*, 12:p.145-149.

- IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home>. Acesso em maio de 2015.
- Instituto Adolfo Lutz (2008) Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 1020p.
- Iqbal, T.; Rodrigues, F.A.S.; Mahajan, P.V.; Kerry, J.P. Mathematical modeling of the influence of temperature and gas composition on the respiration rate of shredded carrots. *Journal of Food Engineering*, 2009. Issue 91:325-332.
- Jacometi, G.A.; Meneghel, R.F.A.; Yamashita, F. (2003) Aplicação de revestimentos comestíveis em pêssego (*Prunus persica*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, 23(1), 95-100p.
- Jacomino, A., Bron, I., e Kluge, R. (2003). Avanços em tecnologia pós-colheita de mamão. *Papaya Brasil*, p. 11.
- Jacomino, A.P.; Kluge, R.A.; Brackmann, A.; Castro, P.R.C. (2002) Amadurecimento e senescência de mamão com 1-metilciclopropeno. *Scientia Agricola*, v.59:303-308.
- Júnior, I.T.S.; Sales, N.L.P.; Martins, E.R. (2009) Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. *Revista Biotemas*, v. 22 (3), 77-83p.
- Junior, J.S.; Rezende, P.M.; Carvalho, E.A.; Alves, E.; Pozza, E.A. (2010) Efeito de fungicidas sistêmicos e protetores aplicados em diferentes estádios fenológicos no controle da ferrugem asiática da soja. *Ciência e Agrotecnologia*, v.33, n.3, Disponível em > http://www.openaccessarticles.com/read/845766-1_Efeito_de_fungicidas_sist%C3%AAmico_e_protetores_aplicados_em_diferentes_est%C3%A1dios_fenol%C3%B3gicos_no_controle_da_ferrugem_asi%C3%A1tica_da_soja < . Acesso em maio de 2017.
- Júnior, L.C.C. (2011) Atmosfera controlada na conservação de morango. Tese (Doutorado em Ciências) – Piracicaba – SP, Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 121p.
- Júnior, L.S.; Fonseca, N.; Pereira, M.E.C. 2007. Uso de fécula de mandioca na pós-colheita de manga ‘Surpresa’. *Revist. Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal, v.29, n.1, 67-71p.
- Kader, A. (1994). Modified and Controlled Atmosphere Storage of Tropical Fruits. *Postharvest handling of tropical fruits: proceedings of an international conference onsheld at Chiang Mai, Thailand* (pp. 239-249). Canberra, Austrália: Champ, B.R. et al. (editors).
- Kader, A. (1995). Regulation of fruit physiology by controlled/modified atmospheres. *Postharvest Physiology of Fruits*, 59-70.
- Kader, A. (2003). Physiology of CA Treated Produce. *Proc. 8th Int. CA Conference* (pp. 349-354).
- Kader, A. (Novembro de 2000). Advances in CA/MA Applications. *Perishables Handling Quarterly issue No 104*.
- Kader, A. (Novembro de 2000). Advances in CA/MA Applications. *Perishables Handling Quarterly*.

- Kader, A. A. (1999). Papaya: recommendations for maintaining postharvest quality. Em <http://postharvest.ucdavis.edu>. University of Califórnia.
- Kader, A.A. (2001) A summary of CA requirements and recommendations for fruits other than apples and pears. pp 29-70. *Postharvest Horticulture Series* no. 22A, University of California, Davis.
- Kader, A.A. Modified atmosphere packaging of fresh produce. University of California. Second Quarter, 1986. p. 9-10.
- Lencki, R.W. (2004) Comparison of unsteady-and steady-state methods for produce respiration rate determination 2. Reexamination of the literature. *Postharvest Biology and Technology*. 239-250p.
- Lima, J.D.; Mendonça, J.C. Fisiologia e manuseio de frutos em pós-colheita. s.d. p. 80-85.
- Luvielmo, M.M.; Lamas, S.V. (2013) Revestimentos comestíveis em frutas. *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, v. 8(1), 8-15p.
- Macfie, H.J., Bratchell, N., Greenhoff, K., Vallis, L.V. (1989) Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *J. Sensory Studies*. v.4, p.129-148.
- Machado, R.M.A.; Mussi-Dias, V.; Souza, C.L.M.; Silva, L.B.; Freire, M.G.M. (2013) Avaliação de óleos essenciais sob o crescimento in vitro do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. *Perspectivas online-Ciências Biológicas e da saúde, Campos dos Goytacazes-RJ*, v.8(3), 64-75p.
- Maqbool, M.; Ali, A.; Ramanchandran, S.; Smith, D.R.; Alderson, P. G. (2010) Controlo f postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. *Crop Protection*, 1136-1141p.
- Marin, S. (2004). Mamão papaya - Produção, pós-colheita e mercado. *11ª Semana Internacional da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria* (p. 82). Ceará, Fortaleza: Instituto de desenvolvimento da fruticultura e agroindústria - Frutal.
- Marpudi, S.L.; Abirami, L.S.S.; Pushkala, R.; Srivida, N. (2011) Enhancement of storage life and quality maintenance of papaya fruits using Aloe vera based antimicrobial coating. *Indian Journal of Biotechnology*, v.10, n.1, 83-89p.
- Martinez, J.A. (2012) Natural Fungicides obtained from plants. *Fungicides for Plant and Animal Diseases*, 27p.
- Martins, D. S. (2005). Radiografia do mamão papaya no mundo, Brasil e no Espírito Santo. In: Silva, L. G. *Jornal da Fruta*, ano XIII. Lages-Santa Catarina, LS editora Jornalística LTDA. 1-20p.
- Martins, D.R. (2005) Influência das atmosferas de estocagem na conservação pós-colheita do mamão armazenado sob refrigeração. *Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF*, 102p.
- Martins, D.R.; BARBOSA, N.C.; RESENDE, E.D. (2014) Respiration rate of Golden papaya stored under refrigeration and with different controlled atmospheres. *Scientia Agricola*, v. 71, n. 5, 369-373p.

- Morais, F.A.; Araújo, F.M.M.C.; Machado, A.V.; Ricarte, F.D.N.; Júnior, R.S. (2010) Influência da atmosfera modificada sob a vida útil pós-Colheita do mamão 'formosa'. *Revista Verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável*, Mossoró – Rio Grande do Norte, 01-09.
- Moretti, C.L. (2007) Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças. Brasília: Embrapa Hortaliças. 531 p.
- Motta, V.T. Bioquímica Básica. Disponível em: www.gilvan.pro.br/5carboid.pdf. Acesso em fevereiro de 2012.
- Nascimento, P.F.C.; Nascimento, A.C.; Rodrigues, C.S.; Antonioli, A.R.; Santos, P.O.; Júnior, A.M.B.; Trindade, R.C. (2007) Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17 (1), 108-113p.
- Oliveira, B.F. (2013) Pelicula de amido de mandioca associada ou não, a óleos essenciais no controle pós-colheita da antracnose em mamão. Tese (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia), Lavras-MG, Universidade Federal de Lavras.
- Oliveira, A., Farias, A., Filho, H., Oliveira, J., Dantas, J., Santos, L., Et Al. (1994). *Mamão Para Exportação: Aspectos Técnicos Da Produção*. Brasília: Serviço de Produção de Informação (SPI) da Embrapa.
- Oliveira, A.A.R.; Filho, H.P.S.; Filho, P.E.M. (s.d.) Manejo de doenças do mamoeiro. Acesso em maio de 2015. Disponível em > <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/910300/1/CursoManejoDoencas.pdf><.
- Oliveira, A.A.R.O.; Barbosa, C.J.; Filho, H.P.S.; Filho, P.E.M. (s.d.) Doenças e seu controle. *Frutas do Brasil*. Disponível em > www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_2307.pdf< . Acesso em maio de 2015.
- Oliveira, C.S.; Grden, L.; Ribeiro, M.C.O. (2007). Utilização de filmes comestíveis em alimentos. *Série em Ciência e Tecnologia de Alimentos: Desenvolvimentos em Tecnologia de Alimentos*, v.1, 52-57p.
- Palhano, F.L.; Vilches, T.T.B; Santos, R.B.; Orlando, M.T.D.; Ventura, J.A.; Fernandes, P.M.B. (2004) Inactivation of *Colletotrichum gloeosporioides* spores by high hydrostatic pressure combined with citral or lemongrass essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, 61-66p.
- Papa, M.F.S. Doenças do Mamoeiro. Acesso em maio de 2015. Disponível em > <http://www.agr.feis.unesp.br/defers/docentes/mpapa/mamoeiro><.
- Peppelenbos, H.W.; Tijskens, L.M.M.; Vant't Leven, J.; Wilkinson, E.C. (1996) Modelling oxidative and fermentative carbon dioxide production of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 283-295p.
- Peppelenbos, H.W.; Van't Leven. (1996) Evaluation of four types of inhibition for modeling the influence of carbon dioxide on oxygen consumption fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 27-40.

- Perdones, A.; Sánchez-González, A.; Chiralt, A.; Vargas, M. (2012) Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 32-41p.
- Pereira, M.E.C.; Silva, A.S.; Bispo, A.S.R.; Santos, D.B.; Santos, S.B.; Santos, S.J. (2006) Amadurecimento de mamão formosa com revestimento comestível à base de fécula de mandioca. *Ciência Agrotec. Lavras*, v.30, n.6, 1116-1119 p.
- Pfaffenbach, L.B.; Castro, J.V.; Carvalho, C.R.L.; Rossetto, C.J. (2003). *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal – SP, v.25, p.410-413.
- Pimentel, J.D.R.; Souza, D.S.; Oliveira, T.V; Oliveira, M.C.; Bastos, V.S.; Castro, A.A. (2011) Estudo da conservação de mamão havaí utilizando películas comestíveis a diferentes temperaturas. *Scientia Plena*, v.7,n.10, 1-6p.
- Pinho, M.V.E.R. (2011) Aplicação de biofilmes de quitosano e de atmosfera modificada na conservação de pêra Rocha de 4ª gama. Tese (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.
- Pinto, L.K.A.; Martins, M.L.L.; Resende, E.D.; Almeida, R.F.; Vitorazi, L.; Pereira, S.M.F. (2006) Influência da atmosfera modificada por filmes plásticos sobre a qualidade do mamão armazenado sob refrigeração. *Ciênc. Technolog.Aliment.*, Campinas, 744-748.
- Prusky, D. (2011) Reduction of the incidence of postharvest quality losses, and future prospects. *Food Sec.*, 463-474p.
- Ribeiro, T.P.; Lima, M.A.C.; Trindade, D.C.G.; Santos, A.C.N.; Amariz, A.; Souza, S.O. (s.d.) Qualidade pós colheita de manga 'Tommy Atkins' após aplicação de revestimentos de dextrina. 231-237p.
- Rita, F.; Sales, L.B.; Barboza, R.A.; Oliveira, M.C.; Prestes, R.A.; Almeida, D.M. (2011) Atividade antimicrobiana de biofilme com óleos essenciais para conservação pós-colheita de tomate cv rasteiro. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, Paraná, 466-474p.
- Ruggiero, C.; Durigan, J.F.; Goes, A.; Natale, W.; Benassi, A.C. (2003) Panorama da cultura do mamão no Brasil e no mundo: Situação atual e tendências. *Papaya Brasil*, 22p.
- Ruggiero, C.; Marin, S.L.D.; Durigan, J.F.(2011) Mamão: uma história de sucesso. *Rev. Brasil. Frut.*, Jaboticabal-SP, volume especial, 76-82p.
- SAEG - Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.
- Santos, A.E.O.; Assis, J.S.; Batista, P.F.; Santos, O.O. (2011) Utilização de atmosfera modificada na conservação pós-colheita de mangas 'Tommy Atkins'. *Revista Semiárido de Visu*, Petrolina, 1(1): 10-17.
- Santos, G.P.; Santos, M.V.; Barbosa, T.I.S. (2007) Isolamento e Purificação do Limoneno. Universidade Estadual Paulista, 64p.
- Santos, M.C. (2012) Efeito do subproduto da aroeira e do biofilme a base de quitosana na pós-colheita e controle da antracnose em goiabas "paluma".

- Tese (Mestrado em Agroecossistemas). São Cristóvão – SE. Universidade Federal do Sergipe, 94p.
- Santos, M.C. (2012) Efeitos dos sub-produtos da aroeira e do biofilme a base de quitosana na pós-colheita e controle da antracnose em goiabas 'Paluma'. Tese (Mestrado em Agroecossistemas), São Cristóvão, Sergipe, Universidade Federal de Sergipe,
- Saquet, A.A.; Streif, J. (2002) Respiração e produção de etileno de maçãs armazenadas em diversas concentrações de oxigênio. *Revista Brasileira de Agrociência*, 71-75.
- Sarantópoulos, C.I.G.L. (1997) Embalagens para vegetais minimamente processados - *fresh cut*. *Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens*. Instituto de Tecnologia de Alimentos. v. 9. n 5.
- Schünemann, a., Cantillano, f., Galarça, s., e Lima, c. (2008). Conservação em atmosfera controlada de morangos "camarosa" produzidos em sistema orgânico e convencional. *XX Congresso Brasileiro de Fruticultura* , (p. 5). Vitória.
- Sefstrom, C. (2011) Extração e identificação do óleo essencial obtido de folhas e galhos das espécies *Pinus taeda* e *Eucalyptus dunni* cultivadas no sudoeste do Paraná. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química), Pato Branco – PR, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 42p.
- Serafini, L. A.; Barros, N.M.; Azevedo, J. L. Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria. Caxias do Sul: EDUCS, 2002.
- Sestari, I., Giehl, R., Pinto, J., e Brackmann, A. (2008). Condições de atmosfera controlada para pêssegos "Maciel" colhidos em dois estádios de maturação. *Ciência Rural* , 1240-1245.
- Sharma, N.; Triphati, A. (2008) Effects of citrus sinensis (L.) osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiological Research*, V.163, n.1, 337-344p.
- Silva, A.P.G. (2014) Modificação na parede celular e nas enzimas oxidativas durante a maturação de frutos de goiabeira 'Paluma' submetidas à adubação potássica. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). João Pessoa – PB, Universidade Federal da Paraíba, 102p.
- Silva, F.C. (2008) Efeito in vitro e in vivo dos óleos essenciais de condimentos sobre fungos que ocorrem em pós-colheita de frutos de morango e mamão. Tese (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Lavras-MG, Universidade Federal de Lavras, 85p.
- Silva, R.S.; Silva, S.M.; Dantas, A.L.; Mendonça, R.M.N.; Guimarães, G.H.C. (2012) Qualidade de uva 'Isabel' tratada com cloreto de cálcio em pós-colheita e armazenada sob atmosfera modificada. *Rev. Bras. Fruticultura*. Jaboticabal, v.34, n.1, 50-56p.
- Sivakumar, D.; Bautista-Baños, S. (2014) A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. *Crop Protection*, 64, 27-37 p.
- Sivakumar, D.; Sultanbawa, Y.; Ranasingh, N.; Kumara, P.; Wijesundera, R.L.C. (2005) Effect on the combined application of chitosan and carbonate salts on

- the incidence of anthracnose and on the quality of papaya during storage. *Journal of horticultural Science and biotechnology*, v.80,n. 4, 447-452p.
- Snowden, A.L. (1990) A colour atlas of post-harvest diseases and disorders of fruits and vegetables. Londres, Wolfe Scientific 1, 96-97p.
- Soares, N.F.F.; Silva, D.F.P.; Camilloto, G.P.; Oliveira, C.P.; Pinheiro, N.M.; Medeiros, E.A.A. (2011) Antimicrobial edible coating in post-harvest conservation of guava. *Ver. Brasil. Frutic. Jaboticabal-SP*, volume especial, 281-289p.
- Song, Y.; Vorsa, N.; Yam, K.L. (2002) Modeling respiration-transpiration in a modified atmosphere packaging system containing blueberry. *Journal of Food Engineering*, 103-109p.
- Sousa, M.; Alves, M.R. (2008) Atmosferas modificadas: Evolução na conservação de produtos alimentares. *Segurança e qualidade alimentar*, n.4, 40-43.
- Souza, M.L.; Morgado, C.M.A.; Marques, K.M.; Mattiuz, C.F.M.; Mattiuz, B. (2011) Pós-colheita de mangas 'Tommy Atkins' recobertas com quitosana. *Revist. Brasil. De Frutic. Jaboticabal*, volume especial , 337-343p.
- Stone, H. S.; Sidel, J. L. *Sensory evaluation practices*. San Diego: Academic Press, 1993. 308p.
- Teodosio, A.E.M.M. (2014) Qualidade pós-colheita do mamão 'Golden' (*Carica papaya L.*) utilizando recobrimentos biodegradáveis. *Graduação em Tecnologia de Alimentos*, João Pessoa – PA, Universidade Federal da Paraíba, 50p.
- Trigo, J.M.; Albertini, S.; Spoto, M.H.F.; Sarmiento, S.B.S.; Lai Reyes, A.E.; Sarriés, G.A. (2012) Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. *Brazilian Journal of Food Technology*. Campinas, v.15, n.2, 125-133.
- Vu, K.D.; Hollingsworth, R.G.; Leroux, E.; Salmieri, S.; Lacroix, M. (2011) Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf-life of strawberries. *Food Research International*, 194-203p.
- Wang, Y.; Xie, X.; Long, L.E. (2014) The effect of postharvest calcium application in hydro-cooling water on tissue calcium content, biochemical changes, and quality attributes of sweet cherry fruit. *Food Chemistry*. 160, 22-30p.
- Wang, Z.W.; Duan, H.W.; (2010) Development and comparison of multivariate respiration models for fresh papaya (*Carica papaya L.*) based on regression method and artificial neural network. *Eur Food Res Technol*, 691–699.
- Weber, A.; Brackmann, A.; Anese, R.O.; Both, V.; Pavanello, E.P. (2013) Atmosfera controlada para o armazenamento da maçã 'Maxi Gala'. *Revista Ciência Agrônoma*, Fortaleza, 44 (2): 294-301.
- Yang, G.; Yue, J.; Gong, X.; Qian, B.; Wang, H.; Deng, Y.; Zhao, Y. (2014) Blueberry leaf extracts incorporated chitosan coatings for preserving postharvest quality of fresh blueberries. *Postharvest Biology and Technology*. 46-53p.

CAPÍTULO 2 - Determinação de modelos matemáticos para a predição da taxa de respiração de mamão

1. Introdução

O Brasil é o segundo maior produtor de mamão (*Carica papaya* L.) mundial, com uma produção de 1.463.770 toneladas em 30.445 hectares divididos no país, sendo cultivado em quase todo o Brasil com destaque para os estados da Bahia e do Espírito Santo, que juntos representam mais de 70% da quantidade produzida no país (IBGE, 2017).

O mamão é classificado como um fruto climatérico e tem um acentuado aumento na sua atividade respiratória com amadurecimento imediato após a colheita, resultando em perdas causadas por fungos, insetos, manejo impróprio, transporte e armazenamento inadequado, entre outras lesões. Seu desenvolvimento é diretamente influenciado pela temperatura e composição da atmosfera, o que pode levar a um aumento ou diminuição de sua vida comercial (Chitarra e Chitarra, 2005).

A atividade respiratória é influenciada pela fisiologia química e pelas mudanças de maturação após a colheita do fruto, sendo que a intensidade e o tipo de atividade respiratória dependem da origem e das funções naturais de cada parte do vegetal. O estudo da respiração, portanto, é uma ferramenta muito importante para estabelecer procedimentos de controle de maturação e da qualidade do fruto após a colheita e a especificação de modelos que podem

prever o comportamento fisiológico do fruto, permitindo a escolha ou o desenvolvimento de filmes adequados para cada tipo de fruta e sua condição de armazenamento (Barbosa, 2013).

A maioria dos modelos matemáticos encontrados na literatura baseiam-se na cinética enzimática ou teorias de adsorção e, mais recentemente, a taxa respiratória foi expressa pela equação de Michaelis-Menten, uma relação quantitativa entre a cinética e a concentração do substrato enzimático. De acordo com Rahman et al. (2013), a modelagem da taxa de respiração do fruto é uma maneira conveniente de avaliar a cinética respiratória dos frutos e prever seu coeficiente respiratório.

O principal gás de respiração vegetal (O_2 , CO_2 , etileno e N_2) pode ser controlado através do uso de atmosferas controladas (Reis, 2014), mas o papel do CO_2 na respiração pode sofrer algum tipo de inibição. Os modelos baseados no mecanismo cinético de Michaelis-Menten sugerem que a taxa de respiração pode ser mediada por três mecanismos de vias de inibição: inibição competitiva, que ocorre quando o inibidor (CO_2) e o substrato competem pelo mesmo sítio ativo da enzima e conseqüentemente implica numa redução da taxa de respiração em concentrações elevadas de CO_2 ; inibição não-competitiva, em que o inibidor reage com o complexo enzima-substrato e, por conseguinte, concentrações elevadas de CO_2 não resultam em influência na taxa de respiração; e inibição incompetitiva, em que o inibidor reage com o complexo e a enzima (Fonseca et al., 2002). No entanto, nenhum modelo pode ser definido como o mais adequado, visto que eles não cobrem todos os tipos de inibição e não são capazes de apresentar bons resultados visto que a respiração pode ser mediada por várias vias inibitórias com base na equação cinética de Michaelis-Menten (Fonseca et al., 2002).

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Desenvolver e comparar diferentes modelos de predição da taxa de respiração de mamão cv. 'Golden' sob temperatura ambiente e verificar suas aplicações junto aos dados experimentais.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a taxa de respiração do mamão durante o armazenamento sob temperatura ambiente em diferentes composições de atmosfera;
- Desenvolver e validar um modelo de taxa respiratória baseado numa análise de regressão não linear;
- Desenvolver e avaliar modelos de taxa respiratória do mamão com base nos princípios da cinética enzimática de Michaelis-Menten com a inibição do tipo competitiva; inibição do tipo incompetitiva e inibição do tipo não competitiva;
- Desenvolver um novo modelo de predição da taxa respiratória com base nos princípios da cinética enzimática de Michaelis-Menten, considerando a variação dos parâmetros de inibição durante o tempo de armazenamento;
- Comparar os diferentes modelos matemáticos de predição da taxa de respiração.

3. Metodologia

Os dados experimentais das medidas de taxa de respiração do mamão foram obtidos em trabalho prévio desenvolvido na Dissertação de Mestrado obtida por Barbosa (2013). A metodologia de obtenção de dados e a análise de resultados são descritos neste trabalho para contextualizar a modelagem matemática para predição da taxa de respiração do mamão em diferentes condições de armazenamento em atmosfera controlada.

3.1. Obtenção da matéria-prima

Mamões da cultivar “Golden” foram selecionados na linha de operação de embalagem da Empresa Caliman Agrícola S.A, situada no município de Linhares – Espírito Santo. Os frutos foram colhidos com aproximadamente 10 a 15% de coloração amarela na casca e peso médio de 350 g. No Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA/CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), os frutos foram inspecionados, selecionados, a fim de evitar a utilização de frutos com defeitos de injúria mecânica, identificados e higienizados em banho de solução clorada.

Os frutos foram estocados em microcâmaras com dimensões de 65,7 cm X 39 cm X 38,8 cm, mantidas em câmara de refrigeração na temperatura ambiente de 24 °C. Em cada microcâmara foram estocados aproximadamente 20 quilogramas de frutos. As condições de umidade relativa na câmara de estocagem à temperatura ambiente foram mantidas na faixa de 85-95 %UR. A circulação de ar foi garantida por pequenos ventiladores instalados na parte superior do fundo de cada microcâmara.

3.2. Medida das trocas gasosas

A operação de funcionamento das microcâmaras consistiu numa calibração manual, de acordo com as atmosferas desejadas, permitindo a injeção de O₂, CO₂ e N₂ e a adsorção do CO₂ e de etileno nas microcâmaras, e automática, em que se definiu o tempo de injeção de O₂, N₂ e CO₂ e também a

adsorção de CO₂ e C₂H₄ (etileno), sendo estes valores ajustados ao longo da estocagem conforme a taxa de respiração dos frutos, possibilitando um ajuste fino da concentração dos gases nas microcâmaras.

A adsorção do CO₂ foi obtida pela passagem do gás em um tanque (0,7 x 0,41 x 0,4m) contendo uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 30% PA, enquanto a adsorção do gás C₂H₄ foi realizada por meio da passagem do gás das microcâmaras em colunas de permanganato de potássio.

A adsorção de C₂H₄ foi conduzida durante 2 minutos em cada microcâmara, possibilitando uma adsorção de aproximadamente 12 ppm do gás em cada intervalo de adsorção.

A leitura da concentração de O₂ e CO₂ foi realizada em 220 segundos na microcâmara correspondente e após a leitura ocorreu a correção das concentrações nos níveis pré-fixados.

3.3. Análise dos gases

A determinação da taxa de respiração foi baseada no modelo em estado estacionário em que as câmaras foram mantidas em condições definidas para cada composição de atmosfera controlada. As medidas foram realizadas em intervalos regulares de tempo de dois dias, quando todo o sistema de injeção e adsorção de gases foi desativado para permitir apenas as medidas dos gases produzidos ou consumidos pela respiração dos frutos no interior das microcâmaras.

Para a realização das medidas foi utilizada uma metodologia desenvolvida no Laboratório de Tecnologia de Alimentos por Martins (2012). As medidas foram feitas em triplicatas para cada condição de atmosfera de armazenamento a 24 °C.

As composições de atmosfera de armazenamento utilizadas para determinar as taxas de respiração e também os parâmetros do modelo cinético de respiração estão apresentadas na Tabela 1. Essas composições foram obtidas conforme Martins (2012).

Tabela 1: Composições das atmosferas de estocagem utilizadas para determinação da taxa de respiração de mamões 'Golden'

Concentrações dos gases nas microcâmaras	
O ₂	CO ₂
17,0 %	0,6%
17,0 %	5,0%
17,0 %	10,0%
6,0 %	0,6%
6,0 %	5,0%
6,0 %	10,0%
3,0 %	0,6%
3,0 %	5,0%
3,0 %	10,0%

Para cada microcâmara foram realizadas cinco leituras com intervalos de aproximadamente 1 hora para cada medida. As medidas das concentrações de O₂ e CO₂ ao longo do tempo foram linearizadas para se obter a inclinação da curva que caracteriza a taxa de respiração em cada atmosfera de armazenamento, conforme a Eq. (1) e a taxa de respiração foi representada em termos do volume de O₂ consumido ou de CO₂ liberado ao longo do tempo de armazenamento dos mamões. Para isto determinou-se o espaço vazio contido no interior das microcâmaras, considerando o volume total interno, subtraído do volume das estantes e do volume dos frutos, conforme a Eq. (2).

$$R_{resp} = (\Delta\%/\Delta t) \times (1/m) \quad \text{Eq. (1)}$$

$$R_{vol} = (\Delta\%/\Delta t) \times (V_{ev}/100) \times (1/m) \quad \text{Eq. (2)}$$

Nas equações descritas acima, tem-se que R_{resp} = Taxa de consumo de O₂ ou de produção de CO₂ (mL.kg⁻¹.h⁻¹); $\Delta\%$ = concentração de O₂ ou de CO₂ ao longo do tempo (%); m = massa de frutos no interior de cada microcâmara (kg); R_{vol} = taxa de consumo de O₂ ou produção de CO₂ (mL.kg⁻¹. h⁻¹); V_{ev} = volume de espaço vazio na microcâmara (mL).

3.4. Modelagem e análise dos dados

A interpretação dos perfis cinéticos foi realizada por meio de duas abordagens. A primeira foi para modelar a taxa respiratória por meio de modelos de superfície de resposta. Assim sendo, as variáveis dependentes (Y_t), consumo de oxigênio, denominado TxO_2 , e a produção de gás carbônico, denominado $TxCO_2$, foram modelados considerando que as duas variáveis possuíam distribuição normal $Y_t \sim \text{Normal}(\mu_{Y_t}, \sigma_{Y_t}^2)$. O parâmetro μ_{Y_t} , a média esperada, foi descrito conforme os seguintes modelos:

$$\begin{aligned} \mu_{Y_t} = & \beta_0 + \beta_1[O_2] + \beta_2[CO_2] + \beta_3t + \beta_4[O_2]^2 + \beta_5[CO_2]^2 + \beta_6t^2 + \\ & \beta_7[O_2][CO_2] + \beta_8[O_2]t + \beta_9[CO_2]t + \beta_{10}[O_2][CO_2]t \end{aligned} \quad \text{Eq. (3)}$$

$$\begin{aligned} \mu_{Y_t} = & \beta_0 + \beta_1[O_2] + \beta_2[CO_2] + \beta_3t + \beta_4[O_2]^2 + \beta_5[CO_2]^2 + \beta_6t^2 + \\ & \beta_7[O_2][CO_2] + \beta_8[O_2]t + \beta_9[CO_2]t \end{aligned} \quad \text{Eq. (4)}$$

$$\mu_{Y_t} = V_m [O_2] / (K_m(1 + [CO_2]/K_{mc}) + [O_2]) \quad \text{Eq. (5)}$$

$$\mu_{Y_t} = V_m [O_2] / ([O_2](1 + [CO_2]/K_{mi}) + K_m) \quad \text{Eq. (6)}$$

$$\mu_{Y_t} = V_m [O_2] / ([O_2 + K_m](1 + [CO_2]/K_{mn})) \quad \text{Eq. (7)}$$

Em que $[O_2]$, $[CO_2]$, e t (dias) são a concentração de oxigênio e gás carbônico (%) nas câmaras e o tempo de medidas, respectivamente. Os parâmetros β_0, β_1, \dots são os valores independentes e fixos dos parâmetros da regressão de superfície de resposta descrito nas equações (3) e (4). A equação (3) foi ajustada para TxO_2 , e a equação (4) foi ajustada para $TxCO_2$. Os modelos não lineares descritos nas equações (5), (6) e (7) foram ajustados para ambos, TxO_2 e $TxCO_2$. Desta forma, o parâmetro V_m corresponde à taxa máxima de consumo de oxigênio ou produção de gás carbônico, e são expressos como $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. A constante de dissociação do complexo O_2 -Enzima foram representados por K_m (adimensional), a constante de inibição exercida pelo CO_2 na formação do complexo O_2 -Enzima foi representada por K_{mc} (adimensional), e a constante de inibição incompetitiva e não competitiva exercida pelo CO_2 foi representada por K_{mi} e K_{mn} , respectivamente. Os modelos foram originalmente

propostos por Peppelenbos and van't Leven (1996) para realização da mesma abordagem realizada neste experimento. No entanto, para contabilizar os efeitos de medição de tempo sobre cada parâmetro das Eqs. (5), (6) e (7) foram incluídas as seguintes parametrizações possíveis na média esperada, μ_{Y_t} :

$$V_m = \theta_{0(1)} + \theta_{1(1)}t \quad \text{Eq. (8)}$$

$$V_m = \theta_{0(1)} + \theta_{1(1)}t + \theta_{2(1)}t^2 \quad \text{Eq. (9)}$$

$$K_m = \theta_{0(2)} + \theta_{1(2)}t \quad \text{Eq. (10)}$$

$$K_m = \theta_{0(2)} + \theta_{1(2)}t + \theta_{2(2)}t^2 \quad \text{Eq. (11)}$$

$$K_{mc} = \theta_{0(3)} + \theta_{1(3)}t \quad \text{Eq. (12)}$$

$$K_{mc} = \theta_{0(3)} + \theta_{1(3)}t + \theta_{2(3)}t^2 \quad \text{Eq. (13)}$$

Assim, cada parâmetro das Eq. (5), (6) e (7) foi descrito por um modelo linear ou quadrático em relação ao tempo t , e os parâmetros $\theta_{0(p)}$, $\theta_{1(p)}$, e $\theta_{2(p)}$ para $p = 1$ (V_m), 2 (K_m), and 3 (K_{mc}), são os coeficientes de interceptação, linear e quadrática para cada modelo de regressão associado aos p parâmetros das Eq. (5), (6) e (7).

A variabilidade das variáveis medidas TxO_2 and $TxCO_2$ foram modeladas seguindo as seguintes expressões (Pinheiro and Bates, 2000; Vonesh, 2012):

$$\sigma_{Y_t}^2 = \sigma^2 \quad \text{Eq. (14)}$$

$$\sigma_{Y_t}^2 = \sigma^2 \exp(2\delta t) \quad \text{Eq. (15)}$$

$$\sigma_{Y_t}^2 = \sigma^2 (\mu_{Y_t})^{2\psi} \quad \text{Eq. (16)}$$

Em que a Eq. (14) corresponde à composição homocedástica usual para a variância $\sigma_{Y_t}^2$ de Y_t independentemente do tempo t , σ^2 . Algumas variáveis geralmente apresentam um aumento ou uma redução da variância ao longo do

tempo e o modelo descrito pela Eq. (15) realiza um ajuste exponencial para variâncias heterogêneas independentemente da escala μ_{Y_t} , a uma taxa fracionada δ (h^{-1}). O espaço de parâmetro dessa taxa fracionária pertence a $(-\infty, \infty)$. Para algumas variáveis a escala interfere na variabilidade e o procedimento recomendado é a utilização de uma escala corretional para explicar a heterocedasticidade, como mostrado na Eq. (16). Nesta equação, a potência ψ escalas $\sigma_{Y_t}^2$ para μ_{Y_t} .

Por meio do ajuste das diferentes combinações dos modelos com as Eq. (4) - Eq. (16) para caracterizar μ_{Y_t} e $\sigma_{Y_t}^2$, pelo uso do procedimento de NLMIXED do SAS (v. 9, SAS Systems Inc., Cary, NC, USA) segundo a recomendação de Littell et al. (2006) and Vonesh (2012). Para completar a estrutura para a adaptação do modelo, foi introduzido um termo de erro aleatório para estabelecer a equivalência e para considerar as incertezas no processo:

$$Y_t = \mu_{Y_t} + e_t \quad \text{Eq. (17)}$$

Em que Y_t é a variável medida no tempo t , μ_{Y_t} é a media esperada de Y_t , ao qual foi atribuído um dos vários modelos possíveis descritos pelas Eq. (3) - (7), e as Eq. (5), (6) e (7) combinado com a Eq. (8) - (13), e e_t é o erro aleatório associado a cada Y_t . A variação de Y_t foi modelada de acordo com as equações Eq. (14)–(17), e o procedimento de otimização escolhido foi o de Newton-Raphson para maximizar o logaritmo da função de verossimilhança baseada em $Y_t \sim \text{Normal}(\mu_{Y_t}, \sigma_{Y_t}^2)$.

A escolha da melhor combinação de modelo entre a média e a variância foi baseada em critérios de informação descritos por Burnham e Anderson (2004), em que o critério de Akaike (Akaike, 1974) corrigido para pequenas amostras, denominado AICc (Sugiura, 1978) foi utilizado para calcular as seguintes quantidades:

$$\Delta_r = AICc_r - \min AICc_r \quad \text{Eq. (18)}$$

$$w_r = \exp(-\Delta_r/2) / \sum_r \exp(-\Delta_r/2) \quad \text{Eq. (19)}$$

$$ER_r = \max w_r / w_r \quad \text{Eq. (20)}$$

Em que Δ_r são as diferenças de Akaike computadas para r -ésimo combinações de modelos no conjunto de todas as combinações de modelos possíveis, w_r são a verossimilhança de probabilidade ou pesos de Akaike, e ER_r são as proporções de evidências calculadas para cada um dos r -ésimo modelo no conjunto de possíveis combinações de modelos. Os modelos que uma vez ajustados aos dados observados resultaram em $\Delta_r \in [0, 2]$, e conseqüentemente os maiores valores de w_r e os menores de ER_r são as melhores escolhas para a representação da realidade. Como critérios adicionais para a qualidade do ajuste, verificamos se na convergência, o algoritmo produziu um Hessiano definido positivo e todos os parâmetros estimados com os respectivos erros padrão.

3.5. Verificação do modelo

Os modelos preditos para a taxa de respiração de mamão foram verificados com as taxas de respiração experimentais nas concentrações de 3 % de O₂ combinadas com 10 %, 5 % e 0,6 % de CO₂ na temperatura de 24 °C. As taxas de respiração do mamão nas diferentes combinações de O₂ e CO₂ foram determinadas utilizando-se as equações (3)-(7).

4. Resultados e Discussão

4.1. Caracterização da cor da casca dos frutos armazenados sob temperature ambiente em diferentes condições de atmosfera controlada

A evolução da cor na casca de frutas foi avaliada por medidas dos parâmetros de Hunter b (desenvolvimento de cor amarela) e a (perda de cor verde) (Figura 2). O parâmetro de Hunter b , quando na atmosfera contendo 17% O₂ mostrou valores de frutos maduros no terceiro dia de armazenamento (Figura 1.1.b), e nas atmosferas de 6% e 3% de O₂ os valores obtidos por frutos maduros

apareceu no quinto (Figura 1.2.b) e no sétimo dia (Figura 1.3.b) de armazenamento, respectivamente.

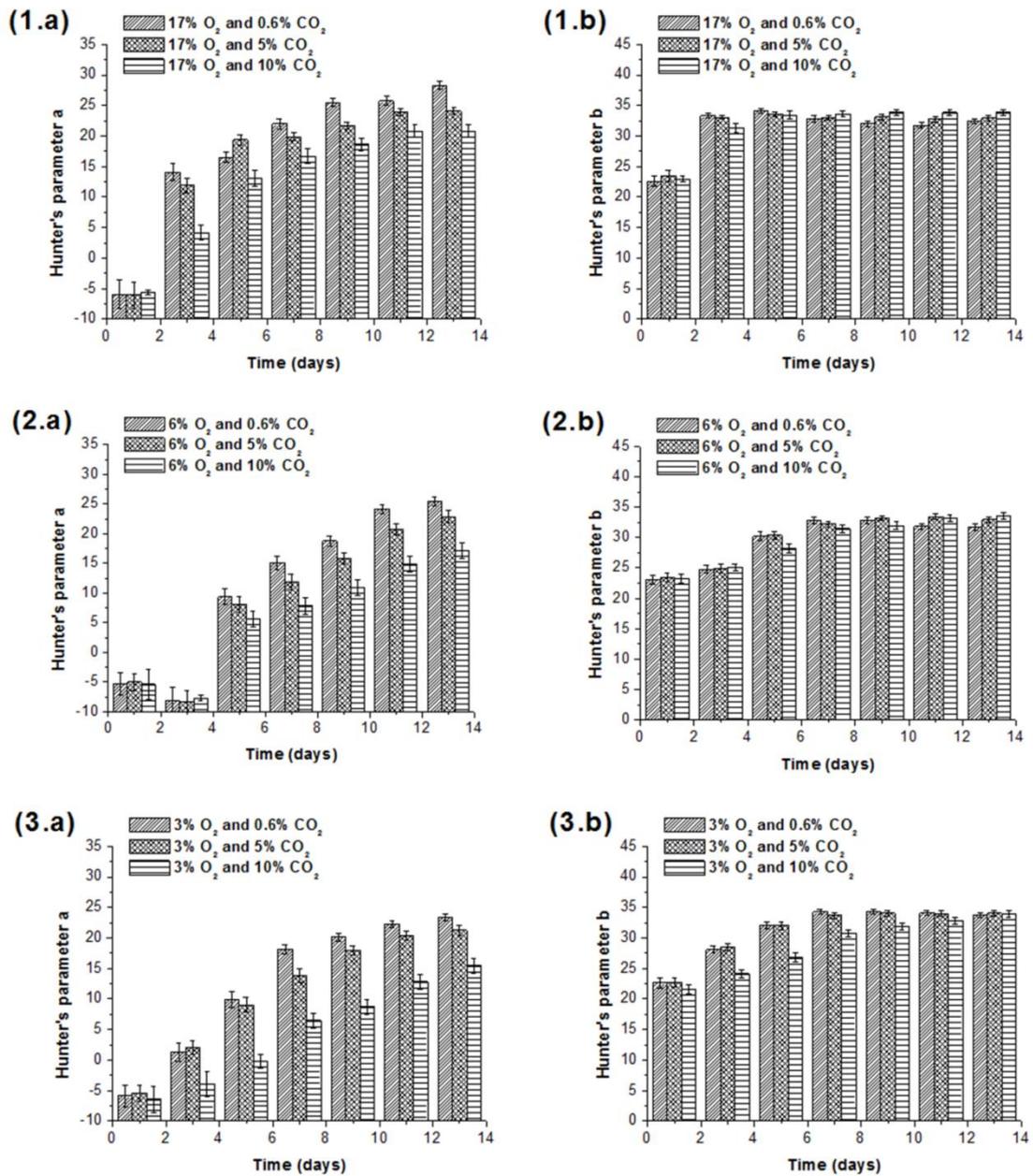


Figura 2 – Medidas de cor da casca pelos parâmetros de Hunter a (a) e (b) de mamões estocados em temperatura ambiente em composições atmosféricas de 17 %, 6 % e 3 % de O₂ combinados com 0,6 %, 5 % e 10 % de CO₂.

Na avaliação do parâmetro de Hunter a, a atmosfera contendo 17% O₂ (Figura 1.1.a) apresentou valores máximos no nono dia de estocagem quando o CO₂ era o de menor concentração (0,6%) e no décimo terceiro dia nas

atmosferas de maior teor de CO₂. Resultados similares foram obtidos nas atmosferas contendo 6% O₂, quando os frutos apresentaram os valores característicos de maturação máxima no décimo primeiro dia (Figura 1.2.a), mostrando que a redução da concentração de O₂ e o aumento da concentração de CO₂ pode reduzir a perda da cor verde e conseqüentemente a maturação dos frutos.

A redução da concentração de O₂ para 3% apresentou uma sensível redução na perda da cor verde, apresentando menores valores de Hunter a com uma tendência de aumento no décimo terceiro dia, demonstrando que uma redução da concentração de O₂ e o incremento de CO₂ são ambos efetivos na redução do processo de maturação dos frutos.

4.2. Caracterização da taxa de respiração dos mamões armazenados sob temperatura ambiente em diferentes condições de atmosfera controlada

Os dados experimentais de mamões Golden armazenados nas atmosferas contendo 17 %, 6 % e 3 % O₂ combinados com 10%, 5% e 0,6% CO₂ são apresentados na Tabela 2.

Na avaliação de Produção de CO₂ e Consumo de O₂ dos frutos armazenados nas atmosferas com 17 %, 6 % e 3 % O₂ houve um comportamento climático caracterizado pelo aumento na taxa respiratória dos mamões durante o período de armazenamento. No caso dos frutos mantidos em atmosferas com baixos níveis de CO₂ (0,6%) pode ser verificado (Tabela 2) que o início do aumento da respiração é aumentado a partir do quinto dia de armazenamento nas atmosferas contendo 17 % O₂, atingindo o maior valor de CO₂ de 41,4 mL.kg⁻¹.h⁻¹ em 13 dias, acarretando num aumento de 58 % na taxa respiratória durante o amadurecimento dos frutos.

Tabela 2 : Consumo de Oxigênio e Produção de Gás Carbônico dos mamões estocados em diferentes composições atmosféricas à Temperatura ambiente (24°C).

Taxa de respiração		Composição das atmosferas de estocagem (%)								
(mL kg ⁻¹ h ⁻¹)	Tempo (dias)	17% O ₂ 0,6% CO ₂	17% O ₂ 5% CO ₂	17% O ₂ 10% CO ₂	6% O ₂ 0,6% CO ₂	6% O ₂ 5% CO ₂	6% O ₂ 10% CO ₂	3% O ₂ 0,6% CO ₂	3% O ₂ 5% CO ₂	3% O ₂ 10% CO ₂
Consumo de O ₂	1	28,3±1,7	13,8±1,0	14,6±0,8	21,4±2,1	18,4±2,7	17,2±1,5	10,9±0,7	12,5±1,9	8,8±1,4
	3	28,2±1,5	23,6±1,4	19,9±2,9	20,3±2,0	20,1±1,6	17,5±0,3	13,6±1,8	13,2±1,4	9,8±1,4
	5	28,4±1,9	24,1±0,5	21,6±2,4	19,0±1,4	19,0±1,2	17,9±1,2	12,0±0,9	14,5±0,9	11,9±1,5
	7	34,6±1,2	27,5±1,2	24,5±0,4	21,3±2,0	20,3±3,3	18,1±1,2	14,6±0,3	14,9±0,4	9,1±0,5
	9	40,2±2,9	34,0±1,6	27,1±0,3	25,0±3,1	22,6±2,6	17,7±1,6	12,0±0,4	14,6±0,4	10,6±0,0
	11	39,5±2,7	36,1±3,0	30,6±1,3	28,3±4,6	24,6±0,6	17,6±0,4	14,2±0,7	12,6±2,3	11,9±0,9
	13	38,9±5,4	40,2±5,8	34,0±0,6	25,8±4,9	26,6±3,8	23,4±3,3	13,2±0,9	13,6±0,8	12,1±1,8
Produção de CO ₂	1	26,2±1,4	18,7±2,2	14,5±0,8	22,8±1,9	18,0±2,9	16,5±1,1	11,9±1,3	12,2±0,8	6,05±0,5
	3	26,4±2,1	20,8±0,2	18,4±1,2	23,9±1,4	21,5±0,2	20,2±0,5	15,5±1,6	15,6±1,9	11,2±2,0
	5	26,0±0,7	22,9±2,5	21,4±1,3	20,5±0,8	18,7±0,9	18,3±3,1	16,5±2,4	13,7±0,2	12,4±1,4
	7	32,8±0,9	24,0±0,9	20,7±3,4	22,8±0,9	22,3±2,9	18,1±1,2	16,3±2,2	14,5±2,5	13,4±0,6
	9	38,8±2,6	30,4±2,6	21,9±0,8	28,5±3,2	25,1±3,5	17,7±1,6	17,0±1,0	15,3±0,6	14,3±0,3
	11	38,9±2,7	31,9±2,9	24,6±1,3	30,9±3,1	24,6±1,5	20,2±2,6	20,2±1,6	17,8±0,3	14,9±1,7
	13	41,4±2,6	38,6±3,1	30,2±2,5	31,7±4,9	30,1±4,7	26,6±4,3	23,5±2,5	20,3±0,0	14,8±0,8

O comportamento dos frutos armazenados nas atmosferas com 6 % O₂ combinadas com 10 %, 5 % e 0,6 % de CO₂ foi semelhante ao observado na concentração de 17 % O₂. Contudo, a diminuição da concentração de O₂ promoveu um moderado decréscimo na taxa de respiração dos frutos. Os mamões armazenados na atmosfera de 6 % CO₂ e 0,6 % O₂ apresentaram uma redução de 13,9 % na produção de CO₂ no início do armazenamento e alcançou 31.75 mL.kg⁻¹.h⁻¹ no final dos 13 dias, uma redução de 23,3 % na taxa de respiração no final do armazenamento. O mesmo comportamento foi observado ao final de 13 dias de armazenamento, enquanto o aumento da concentração de CO₂ ocasionou numa redução de 35,7 % na taxa de produção de CO₂.

Os frutos armazenados nas atmosferas contendo 3 % O₂ exibiram um aumento na taxa de respiração durante o período de armazenamento, alcançando uma magnitude de variação de 47,6 % na produção de CO₂, caracterizando um comportamento característico dos frutos climatéricos e uma pronunciada redução na taxa de respiração com o valor de taxa de produção de CO₂ de 13,1 mL.kg⁻¹.h⁻¹, uma redução de 52,9 % da taxa de respiração no início do armazenamento, e ao final dos 13 dias, a taxa de produção de CO₂ alcançou 23,49 mL.kg⁻¹.h⁻¹, representando uma redução de 45,9 % na taxa de respiração comparado à atmosfera de maior concentração de oxigênio (17 %).

O aumento da concentração de CO₂ para 10 % ocasionou uma diminuição de 45,2 % na taxa de produção de CO₂ no início do armazenamento na atmosfera contendo 17 % O₂. Todavia, houve um aumento na taxa de respiração do início do experimento até o final dos 13 dias de armazenamento, alcançando valores finais 35,9 % menores de taxa de produção de CO₂ (27,3 mL.kg⁻¹.h⁻¹). A taxa de respiração dos frutos nas atmosferas contendo o nível de 3 % O₂ também foi influenciado pelo aumento da concentração de CO₂. No começo do armazenamento o aumento da concentração de CO₂ de 0,6 % para 10 % ocasionou uma redução de 51,6% na produção de CO₂ alcançando 6.05 mL.kg⁻¹.h⁻¹. No final dos 13 dias de armazenamento, a redução foi de 35,6%, obtendo uma taxa de of 13.14 mL.kg⁻¹.h⁻¹.

4.3. Estimativa de parâmetros para os diferentes modelos de predição da taxa de respiração

4.3.1. Modelo de superfície de resposta (regressão não linear)

Por meio de critérios computacionais, o modelo gerado pela análise de superfície de resposta (SR) que apresentou os menores valores de AICc e conseqüentemente os maiores valores de W_r e os menores de ER_r , foram as melhores escolhas para a representação do ajuste dos dados para consumo de oxigênio e produção de dióxido, que foram as variâncias do tipo VarPower e Exponencial, respectivamente, como pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3: Análise dos diferentes modelos obtidos pela superfície de resposta para o consumo de oxigênio (O₂) e produção de dióxido de carbono (CO₂)

Em função de	Modelo	Variância	Teta	AICc	Δ_r	W_r	ER_r
O ₂	SR c/t	Homog	12	1124,4	41,2	1,1E-09	8,84E+08
	SR c/t	Exp	13	1108,3	25,1	3,5E-06	282095,2
	SR c/t	VarPow	13	1083,2	0	1,000	1
CO ₂	SR c/t	Homog	11	1137,8	39,8	1,8E-09	1,1753E+247
	SR c/t	Exp	12	1098	0	0,769	2,6771E+238
	SR c/t	VarPow	12	1100,4	2,4	0,231	8,8884E+238

Os parâmetros do modelo obtidos a partir da linearização e análise de regressão geraram uma equação polinomial de segundo grau que possui os parâmetros estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4: Valores dos coeficientes de análise da superfície de resposta/regressão não linear para o consumo de oxigênio e produção de gás carbônico dos mamões Golden

Coeficientes de regressão	Coeficientes de acordo com		Valor de t		Pb> t		Erro	
	Consumo de O ₂	Produção de CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂	CO ₂
β_0	1,7179	3,1242	0,80	1,54	0,4220	0,1246	2,1347	2,0247
β_1	4,7241	4,7047	9,79	9,76	<,0001	<,0001	0,4825	0,4819
β_2	0,2575	-0,1191	0,61	0,29	0,5406	0,7732	0,4200	0,4126
β_3	-0,6120	0,1003	1,84	0,31	0,0669	0,7598	0,3319	0,3276
β_4	-0,1970	-0,2047	8,33	8,17	<,0001	<,0001	0,0237	0,0251
β_5	-0,0146	0,0012	0,53	0,04	0,5940	0,9687	0,0273	0,0301
β_6	0,0342	0,0555	1,78	2,48	0,0776	0,0140	0,0193	0,0224
β_7	-0,0831	-0,0734	2,43	4,70	0,0163	<,0001	0,0343	0,0156
β_8	0,1136	0,0346	2,92	2,44	0,0040	0,0157	0,0389	0,0142
β_9	0,0347	-0,0222	1,24	1,00	0,2177	0,3166	0,0280	0,0221
β_{10}	-0,0039	N.A.	0,75	N.A.	0,4533	N.A.	0,0052	N.A.

Legend: N.A.: não aplicado

Os coeficientes de regressão calculados pelo método de superfície de resposta levaram em consideração a correlação significativa entre as variáveis do modelo (composições de O₂ e CO₂ e o tempo de armazenamento) entre os dados do estudo. A partir da Tabela 4, é possível observar que ocorre uma correlação direta entre o consumo de oxigênio dos frutos nas concentrações gasosas (O₂ e CO₂) e o tempo de armazenamento. Contudo, na análise de efeito de significância da interação entre as variáveis do modelo relacionado à Produção de CO₂, nota-se que o último termo do modelo é não-significativo, β_{10} , demonstrando que não existe correlação entre a concentração dos gases (O₂ e CO₂) e o tempo de estocagem. Desta forma, o modelo não pode ser usado em condições que extrapolem a região dos dados experimentais.

4.3.2. Modelo de Michaelis-Menten

Os diferentes modelos descritos pelas equações de Michaelis-Menten com parâmetros de modelo Competitivo (MM_C), modelo incompetivo (MM_I) e modelo não-competitivo (MM_{NC}) foram ajustados levando em consideração as três condições de variação dos parâmetros cinéticos ao longo do tempo de armazenamento: Parâmetros Constantes ao longo do tempo (MM_{CC}, MM_{IC}, MM_{NCC}), Michaelis-Menten com parâmetros que mudam ao longo do tempo em uma equação linear (MM_{CL}, MM_{IL}, MM_{NCL}) e Michaelis-Menten com parâmetros que mudam ao longo do tempo conforme uma equação de segundo grau (MM_{CQ}, MM_{IQ}, MM_{NQ}).

Os critérios computacionais de comparação de ajustes dos modelos estão indicados na Tabela 5 para os três modelos de inibição, considerando a condição de parâmetro cinético constante ao longo do tempo. Os modelos que apresentaram os menores valores de $AICc$ e conseqüentemente os maiores valores de w_r e os menores de ER_r , para Consumo de O₂ e Produção de CO₂ foram obtidos pela análise de variância do tipo VarPower, utilizando o parâmetro de inibição do tipo Incompetitivo. Destaca-se também que o melhor ajuste do modelo de Michaelis-Menten com parâmetro de inibição Incompetitivo foi obtido para o modelo cinético predito por uma equação de segundo grau (MM_{IQ}).

Tabela 5: Análise dos diferentes modelos obtidos pela equação de Michaelis-Menten para o consumo de oxigênio (O₂) e produção de dióxido de carbono (CO₂)

Em função de	Modelos	Variância	Teta	AICc	Δ_r	w_r	ER_r
Consumo de O ₂	MM _{CC}	Homog	4	1217,5	127,2	2,35E-28	4,18E+27
	MM _{CC}	Exp	5	1209,8	119,5	1,1E-26	8,89E+25
	MM _{CC}	VarPow	5	1167,7	77,4	1,53E-17	6,41E+16
	MM _{IC}	Homog	4	1209,5	119,2	1,28E-26	7,66E+25
	MM _{IC}	Exp	5	1197,2	106,9	6,01E-24	1,63E+23
	MM _{IC}	VarPow	5	1159,5	69,2	9,24E-16	1,06E+15
	MM _{NCC}	Homog	4	1211,6	121,3	4,49E-27	2,19E+26
	MM _{NCC}	Exp	5	1201,0	110,7	8,99E-25	1,09E+24
	MM _{NCC}	VarPow	5	1164,5	74,2	7,58E-17	1,3E+16
	MM _{IL}	VarPow	8	1098,3	8	0,017985	54,59815
	MM _{IQ}	VarPow	11	1090,3	0	0,98197	1
Produção de CO ₂	MM _{CC}	Homog	4	1258,8	155,4	1,18E-37	5,55E+33
	MM _{CC}	Exp	5	1227,2	123,8	8,6E-31	7,64E+26
	MM _{CC}	VarPow	5	1248,6	145,2	1,94E-35	3,39E+31
	MM _{IC}	Homog	4	1246,1	142,7	6,77E-35	9,7E+30
	MM _{IC}	Exp	5	1205,7	102,3	4,01E-26	1,64E+22
	MM _{IC}	VarPow	5	1237,4	134	5,24E-33	1,25E+29
	MM _{NCC}	Homog	4	1247,6	144,2	3,2E-35	2,05E+31
	MM _{NCC}	Exp	5	1209,6	106,2	5,7E-27	1,15E+23
	MM _{NCC}	VarPow	5	1239,2	135,8	2,13E-33	3,08E+29
	MM _{IL}	VarPow	8	1115,9	12,5	1,27E-06	518,0128
	MM _{IQ}	VarPow	11	1103,4	0	0,000656	1

Os parâmetros do modelo de Michaelis-Menten que apresentaram as melhores condições de ajuste dos dados para Consumo de oxigênio e Produção de dióxido de carbono foram aqueles obtidos do modelo incompetitivo com parâmetros que sofrem variação quadrática ao longo do tempo (MM_{IQ}), avaliados por variância do tipo VarPower em ambos os casos. Os parâmetros gerados por estas equações estão listados na Tabela 6.

Tabela 6: Parâmetros do modelo de Michaelis-Menten Incompetitivo

Coefficientes	Parâmetros de MM _{IQ}	Coefficiente	Estimativa	Erro	Valor de t	Pr > t	
Consumo de O ₂	$Vm = \theta_0 x t^2 + \theta_1 x t + \theta_2$	θ_0	0,5278	0,2366	2,23	0,027	
		θ_1	-5,6747	3,2911	-1,72	0,0864	
		θ_2	59,1018	11,1175	5,32	<,0001	
	$Km = \theta_0 x t^2 + \theta_1 x t + \theta_2$	θ_0	0,0421	0,04725	0,89	0,3742	
		θ_1	-0,4257	0,6807	-0,63	0,5325	
		θ_2	6,9417	2,2383	3,1	0,0022	
	$Kmc = \theta_0 x t^2 + \theta_1 x t + \theta_2$	θ_0	-0,4523	0,3053	-1,48	0,1403	
		θ_1	7,9717	4,1752	1,91	0,0578	
		θ_2	-1,1208	3,8877	-0,29	0,7735	
	Produção de CO ₂	$Vm = \theta_0 x t^2 + \theta_1 x t + \theta_2$	θ_0	0,6757	0,1774	3,81	0,0002
			θ_1	-9,0102	2,7118	-3,32	0,0011
			θ_2	64,7866	10,6735	6,07	<,0001
$Km = \theta_0 x t^2 + \theta_1 x t + \theta_2$		θ_0	0,0587	0,02865	2,05	0,0419	
		θ_1	-1,0568	0,4772	-2,21	0,0281	
		θ_2	7,1357	1,932	3,69	0,0003	
$Kmc = \theta_0 x t^2 + \theta_1 x t + \theta_2$		θ_0	-0,3741	0,1456	-2,57	0,011	
		θ_1	6,1558	2,0079	3,07	0,0025	
		θ_2	-1,3599	1,864	-0,73	0,4666	

Os coeficientes obtidos para o consumo de oxigênio no modelo Michaelis-Menten Incompetitivo não foram, em sua maioria significativos ($P < 0,05$), todavia, na análise dos coeficientes da equação de produção de gás carbônico, apenas o coeficiente θ_2 do termo Kmc não apresentou significancia ao nível de 5 %.

4.4. Análise comparativa dos modelos de predição da taxa de respiração por equação de superfície de resposta/regressão não linear e equação de Michaelis-Menten

Na análise comparativa dos modelos de predição de Consumo de O₂, verifica-se na Tabela 7 que o menor valor de $AICc$ foi obtido para o modelo de regressão não linear (RNL) com variância do tipo VarPow, indicando o melhor ajuste dos dados com relação ao modelo Michaelis-Menten incompetitivo com variação quadrática dos parâmetros ao longo do tempo (MM_{IQ}). No entanto, o modelo MM_{IQ} com variância do tipo VarPow apresentou menor valor de $AICc$ do que o modelo de regressão não linear avaliado pela variância tipo Homoscedástica (Tabela 3).

Tabela 7 - Análise comparativa dos diferentes modelos para cálculo do consumo de oxigênio de mamões Golden

Modelos	Variância	Teta	AICc	Δ_r	W_r	ER_r
MM _{IQ}	VarPow	11	1090,3	7,1	0,027922574	34,81331749
RNL	VarPow	13	1083,2	0	0,972077426	1

Na análise comparativa dos modelos de predição de Produção de CO₂, verifica-se na Tabela 8 que o menor valor de *AICc* foi obtido para o modelo de regressão não linear (RNL) com variância do tipo Exponencial, indicando o melhor ajuste dos dados com relação ao modelo Michaelis-Menten incompetitivo (MM_{IQ}) avaliado por variância do tipo VarPow. No entanto, o modelo MM_{IQ} com variância do tipo VarPow apresentou menor valor de *AICc* do que o modelo de regressão não linear avaliado pela variância tipo Homoscedástica para predição da produção de CO₂ (Tabela 3).

Tabela 8 - Análise de diferentes modelos para o cálculo da produção de dióxido de carbono de mamões Golden

Modelos	Variância	Teta	AICc	Δ_r	W_r	ER_r
MM _{IQ}	VarPow	11	1122,9	5,4	6,3E-02	1,5E+01
RNL	Exp	12	1098	0	9,4E-01	1,0E+00

Os gráficos de superfície de resposta para alguns resultados obtidos pelos modelos usados na predição de Consumo de O₂ e Produção de CO₂ estão mostrados na Figura 2 e Figura 3, respectivamente. Os efeitos das variáveis relacionadas com a concentração dos gases e tempo de estocagem sobre a taxa de respiração foram avaliados após a fixação do CO₂ em 5 % durante a análise do Consumo de O₂, ou pela fixação da concentração de O₂ em 3% durante a análise de produção de CO₂. Essas atmosferas foram escolhidas com base no trabalho de Martins e Resende (2015), que verificaram que o mamão Golden mantém a qualidade e alcança o maior tempo de armazenamento quando mantido em atmosfera de 3 % O₂ e 6% de CO₂.

Análise da superfície de resposta da Figura 2.a mostra um grande declínio no consumo de O₂ quando a concentração de oxigênio cai abaixo de 6 % O₂. De outra forma, o consumo de O₂ aumenta expressivamente durante a estocagem em altas concentrações de O₂, ao passo que, em baixas concentrações de

oxigênio, a taxa de respiração tem pouca alteração ao longo do tempo de estocagem.

Na avaliação da superfície de resposta obtida pelo modelo de regressão não-linear (Figura 2.c), nota-se uma inclinação da curvatura à medida que o nível de O_2 é abaixado, seguindo o mesmo comportamento da curva obtida para a superfície de ajuste dos dados experimentais (Figura 2.a). Ao contrário, a superfície obtida pelo modelo de Michaelis-Menten incompetitivo (MM_{IQ}) não mostra uma inversão da curvatura quando os níveis de oxigênio estão mais elevados (Figura 2.b), ou seja, não existe redução da taxa de respiração, mostrando que este modelo tem fundamento biológico para o comportamento da respiração dos frutos.

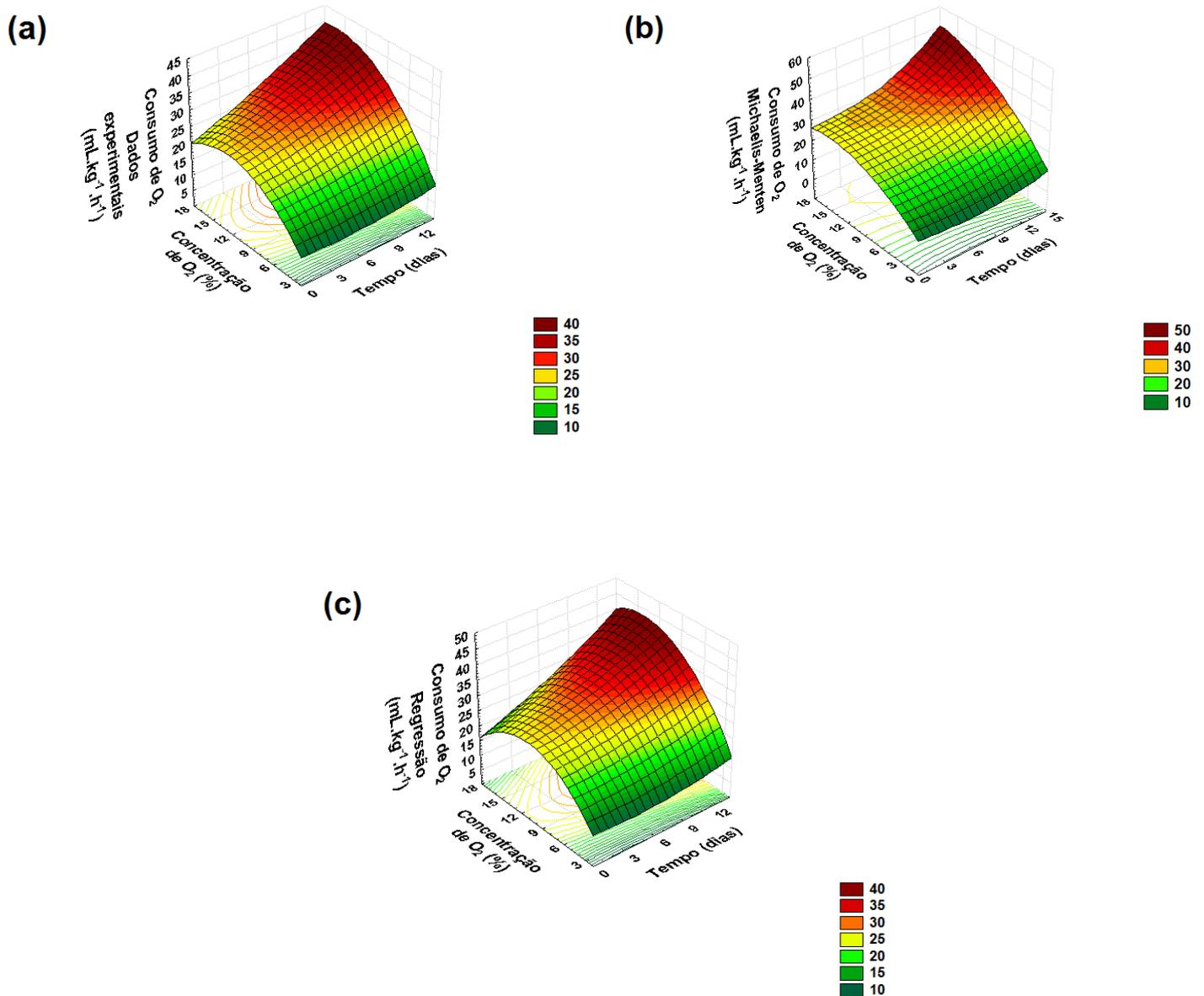


Figura 2 – Dispersão dos dados experimentais no plano tridimensional (a), do modelo de Michaelis-Menten (b) e do modelo de regressão (c) para o Consumo de Oxigênio.

No caso dos dados experimentais mostrados no Figura 3.a, nota-se que a taxa de produção de CO₂ reduz à medida que se aumenta da concentração de CO₂, sendo mais acentuado em atmosfera contendo mais do que 5% de CO₂. Além disso, a produção de CO₂ aumenta ao longo do tempo de armazenamento, independentemente da concentração de CO₂ na atmosfera.

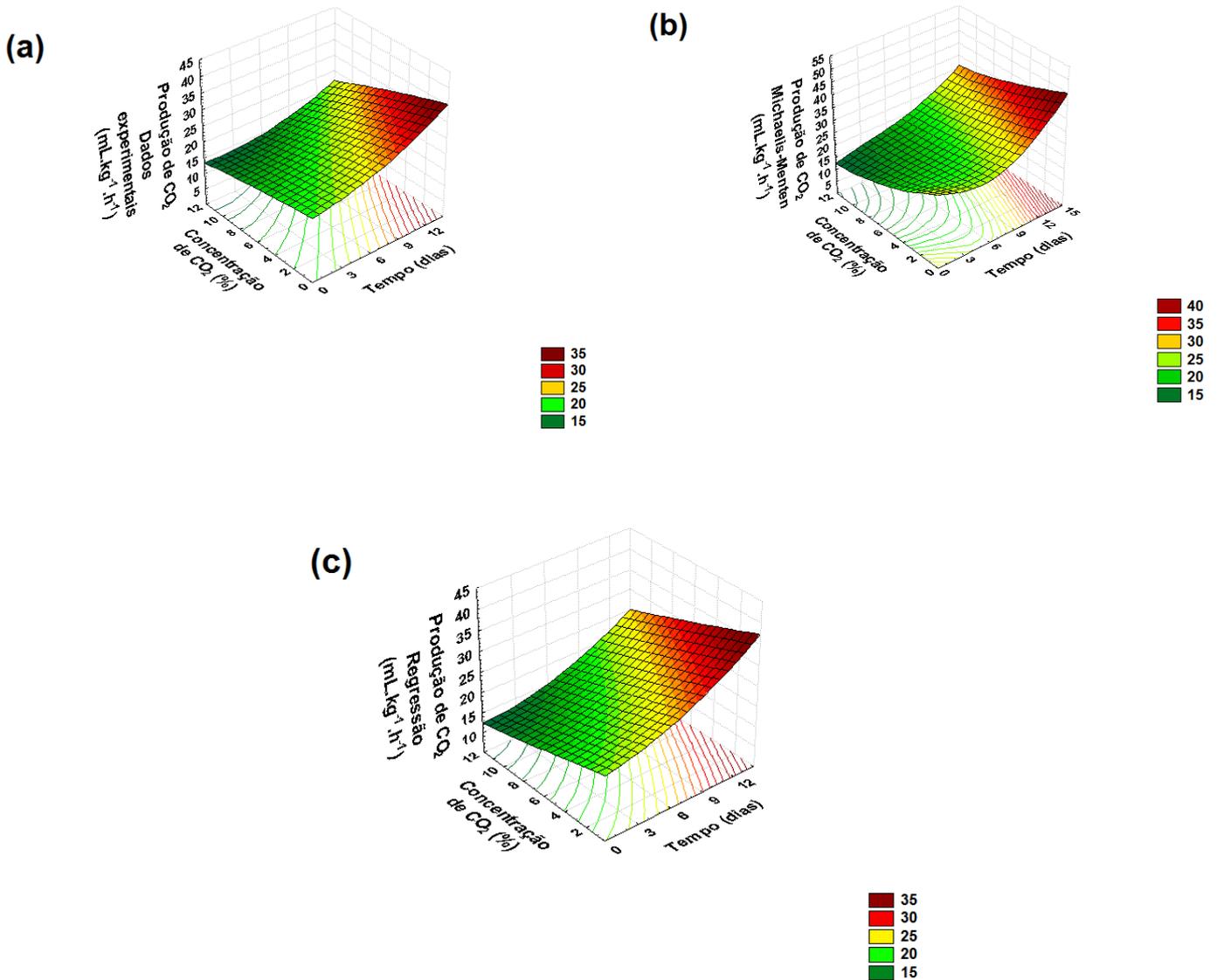


Figura 3 – Dispersão dos dados experimentais no plano tridimensional (a), do modelo de Michaelis-Menten (b) e do modelo de regressão (c) para a Produção de Gás Carbônico.

A superfície de resposta gerada pelo modelo de Michaelis-Menten incompetitivo (MM_{IQ}) indicada na Figura 3.b é mais realística do que aquela gerada pelo modelo de Regressão Não Linear (Figura 3.c), uma vez que ela detecta sensivelmente o declínio da taxa de respiração à medida que ocorre aumento da concentração de CO₂ na atmosfera de estocagem.

O modelo gerado pela equação de regressão não linear proporcionou uma maior correlação com os dados experimentais, conforme indicado nas Tabelas 7 e 8, contudo, este modelo é puramente empírico, significando que os

mecanismos de causa e efeito entre as variáveis são desconhecidos, uma vez que não estão explicitamente relacionados no modelo. A principal desvantagem de um modelo empírico é que os parâmetros não tem significado físico ou biológico, exceto para modelos de primeira ordem, os quais podem somente proporcionar informações sobre o conjunto de dados, mas são de uso fácil para a modelagem. Assim, os valores que não estão dentro da faixa experimental das variáveis não podem ser previstos no modelo (Sodré, 2007; Vazquez-Cruz et al., 2010). Esses modelos foram largamente usados nos estudos iniciais aplicados nas agroindústrias, mas não podem simular o comportamento e a adequação de sistemas sob diferentes condições (Renton et al., 2005).

Diferentemente de modelos empíricos, os modelos mecanicistas descritos pela equação de Michaelis-Menten seguem o princípio básico que regulam os fenômenos biológicos. O modelo é regulado por princípios biológicos e seus componentes são modelados separadamente (Vazquez-Cruz et al., 2010).

O modelo respiratório baseado na cinética enzimática para produtos vegetais frescos foi usado por Lee, Song e Yam (1995). Os autores aplicaram dois modelos baseados numa análise de regressão linear múltipla e concluíram que os parâmetros foram empíricos, embora tivessem sido baseados em modelo de cinética enzimática, e, portanto, não apresentavam significado físico no mecanismo de reação enzimática.

Mahajan e Goswami (2001) usaram uma abordagem de modelo baseado em cinética enzimática aplicando uma combinação de modelo de Michaelis-Menten incompetitivo com equação de Arrhenius para prever a taxa de respiração de maçãs sob variadas temperaturas. Eles concluíram que o modelo poderia prever o comportamento de respiração dos frutos dentro da faixa de temperatura estudada. Outros autores também aplicaram modelos baseados em cinética enzimática, incluindo Bhande et al. (2008) and Mendoza et al. (2016), para avaliação da taxa de respiração de bananas; Ravindra e Goswami (2008) para estudo de mangas maduras; Benitez et al. (2012) para abacaxi fatiado; e Mangaraj et al. (2015) na validação de um modelo para maçãs, lichias e goiabas.

Diferentes modelos matemáticos têm mostrado um bom ajuste com os dados experimentais de taxa de respiração, tais como aqueles aplicados por

Gomes et al. (2010) no estudo peras embaladas, aplicando modelo não-competitivo de Michaelis-Menten, proporcionando uma boa previsão do efeito da concentração de O₂. Rahman et al. (2013) modelaram o efeito da temperatura sobre a taxa de respiração de mamão picado usando uma equação de Peleg (baseada na curva de sorção de água) em associação com um modelo de Michaelis-Menten incompetitivo e a equação de Arrhenius, e reportaram um bom ajuste para as medidas; Waghmare et al. (2014) também obtiveram boa correlação com dados experimentais após a aplicação de um modelo de Distribuição de Weibull (baseado em probabilidade estatística) e uma equação simples de Arrhenius para modelar a taxa de respiração de figos frescos e mamão picado.

Sousa-Gallagher e Mahajan (2013) usaram um modelo integrativo gerado pelo Programa PACKinMAP[®] e encontraram boa correlação com os dados experimentais para a taxa de respiração de morangos. Heydary et al. (2010) testaram três equações baseadas no modelo de Michaelis-Menten e concluíram que o modelo não-competitivo proporcionou a melhor predição da taxa de respiração de bananas. Contudo, de acordo com Wang and Duan (2010), a aplicação de modelos para predição de taxa de respiração é dificultada pelas interações não-lineares entre temperatura e concentrações de CO₂ e O₂. Os autores enfatizam que em muitos estudos reportados na literatura, a avaliação estatística dos parâmetros dos modelos é conduzida por meio do uso de coeficientes de determinação definido pelo coeficiente R², o que, de acordo com Spiess e Neumeyer (2010), é inadequado para análise de modelos não lineares.

5. Conclusão

A taxa de respiração do mamão Golden aumenta durante a estocagem em temperatura ambiente sob diferentes composições de atmosferas de armazenamento, sendo minimizada em atmosfera com baixo conteúdo de O₂.

A modelagem matemática da taxa de respiração baseada na equação de regressão não linear de segunda ordem, que correlaciona diferentes condições de atmosfera durante o tempo de armazenamento de mamões Golden, proporcionou o melhor ajuste relacionado com o menor valor de AIC_c para a variância do tipo VarPow, indicando o melhor ajuste dos dados experimentais em comparação com o modelo incompetitivo de Michaelis-Menten, que por sua vez apresentou o melhor ajuste entre os diferentes modelos cinéticos Michaelis-Menten. Contudo, a utilização deste modelo com parâmetros cinéticos que variam durante o tempo de estocagem aplicando abordagem de equação de segundo grau (MM_{IQ}) mostrou um melhor ajuste que o modelo de regressão não linear avaliado pela variância do tipo homocedástica. Além disso, o modelo MM_{IQ} foi mais sensível que o modelo de regressão não linear em detectar as mudanças reais da taxa de respiração relacionadas com um sistema biológico, em função de diferentes composições de atmosfera de armazenamento.

6. Referências Bibliográficas

- Akaike, H., 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19, 716-723.
- Barbosa, N.C., 2013. Taxa de respiração do mamão em função das diferentes condições de atmosferas de armazenamento em temperatura ambiente. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense, 87p.
- Benítez, S., Chiumenti, M., Sepulcre, F., Achaerandio, I., Pujolá, M., 2012. Modeling the effect of storage temperature on the respiration rate and texture of fresh cut pineapple. *Journal of Food Engineering* 113, 527-533.
- Bhande, S.D., Ravindra, M.R., Goswami, T.K., 2008. Respiration rate of banana fruit under aerobic conditions at different storage temperatures. *Journal of Food Engineering* 87, 116-123.

- Burnham, K.P., Anderson, D.R., 2004. Multimodel Inference: Understanding AIC and BIC in Model Selection. *Sociological Methods & Research* 33, 261-304.
- Chitarra, M., e Chitarra, A., 2005. Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças - Fisiologia e Manuseio. Lavras: UFLA.
- Fonseca, S.C.; Oliveira, F.A.R.; Brecht, J.K., 2002. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering* 52, 99-119.
- Gomes, M.H., Beaudry, R.M., Almeida, D.P.F., Malcata, F.X., 2010. Modelling respiration of packaged fresh-cut 'Rocha' pear as affected by oxygen concentration and temperature. *Journal of Food Engineering* 96, 74-79.
- Heydari, A.; Shayesteh, K.; Eghbalifam, N.; Bordbar, H.; Falahatpisheh, S., 2010. Studies on the respiration rate of banana based on enzyme kinetics. *International Journal of Agriculture and biology* 12, 145-149.
- IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br/home>. (08-06-2016)
- Lee, D.S., Song, Y., Yam, K.L., 1996. Application of an Enzyme Kinetics Based Respiration Model to Permeable System Experiment of Fresh Produce. *Journal of Food Engineering* 27, 297-310.
- Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D., Schabenberger, O., 2006. SAS® for Mixed Models, SAS Institute Inc., Cary, USA.
- Mahajan, P.V., Goswami, T.K., 2010. Enzyme Kinetics Based Modelling of Respiration Rate for Apple. *J. Agric. Engng Res* 79 (4), 399-406.
- Mangaraj, S., Goswami, T.K., Mahajan, P.V., 2015. Development and validation of a comprehensive model for map of fruits based on enzyme kinetics theory and arrhenius relation. *Journal of Food Science Technology* 52(7), 4286-4295. DOI 10.1007/s13197-014-1364-0
- Martins, D.R.; Barbosa, N.C.; Resende, E.D. , 2014. Respiration rate of Golden papaya stored under refrigeration and with different controlled atmospheres. *Scientia Agricola* 71(5), 369-373.
- Martins, D.R., 2012. Otimização das condições de estocagem do mamão em atmosfera controlada para preservação da qualidade e extensão da vida útil dos frutos. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 130p.
- Mendoza, R., Castellanos, D.A., Garc, J.C., Vargas, J.C., Herrera, A.O., 2016. Ethylene production, respiration and gas exchange modeling in modified atmosphere packaging for banana fruits. *International Journal of Food Science and Technology* 51, 777-788.
- Peppelenbos, H.W., van't Leven, J., 1996. Evaluation of four types of inhibition for modelling the influence of carbon dioxide on oxygen consumption of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 7, 27-40.

- Pinheiro, J.C., Bates, D.M., 2000. Mixed-effects models in S and S-PLUS, Springer-Verlag Inc., New York.
- Rahman, E.A.A., Talib, R.A., Aziz, M.G., Yusof, Y.A., 2013. Modelling the Effect of Temperature on Respiration Rate of Fresh Cut Papaya (*Carica papaya* L.) Fruits. *Food Science Biotechnology* 22(6), 1581-1588
- Ravindra, M.R., Goswami, T.K., 2008. Modelling the respiration rate of green mature mango under aerobic conditions. *Biosystems Engineering* 99, 239 – 248.
- Reis, H.F., 2014. Conservação pós-colheita de mamão formosa (*Carica papaya* L.) e controle alternativo in vitro e in vivo de *Colletotrichum gloeosporioides*. (Tese de Doutorado). Universidade Federal da Grande Dourados, 130p.
- Renton M., Hanan J., Burrage K., 2005. Using the canonical modeling approach to simplify the simulation of function in functional-structural plant models. *New Phytol.*66, 845-857.
- Sodré, U., 2007. Modelos matemáticos. Universidade Estadual de Londrina, 27p.
- Sousa-Gallagher, M.S., Mahajan, P.V., 2013. Integrative mathematical modelling for MAP design of fresh-produce: Theoretical analysis and experimental validation. *Food Control* 29, 444-450.
- Spiess, A, Neumeyer, N., 2010. An evaluation of R^2 as an inadequate measure for nonlinear models in pharmacological and biochemical research: a Monte Carlo approach. *BMC Pharmacology* 10(6), 11p.
- Sugiura, N., 1978. Further analysis of the data by Akaike's Information Criterion and the finite corrections. *Communications in Statistics, Theory and Methods* A7, 13-26.
- Vazquez-Cruz, M.A., Torres-Pacheco, I., Miranda-Lopez, R., Cornejo-Perez, O., Osornio-Rios, A.R., Romero-Troncoso, R., Guevara-Gonzalez, R.G., 2010. Potential of mathematical modeling in fruit quality. *African Journal of Biotechnology* 9(3), 260-267.
- Vonesh, E.F., 2012. Generalized linear and nonlinear models for correlated data: theory and applications using SAS®, SAS Institute Inc., Cary.
- Waghmare, R.B., Mahajan, P.V., Annapure, U.S., 2014. Modelling the Influence of Time and Temperature on Respiration Rate of Fresh Fig and Diced Papaya. *International Journal of Food Engineering* 10 (1), 89-96.
- Wang, Z.W.; Duan, H.W.; (2010) Development and comparison of multivariate respiration models for fresh papaya (*Carica papaya* L.) based on regression method and artificial neural network. *Eur Food Res Technol*, 691–699.

CAPÍTULO 3 – DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE DIFUSÃO DE CÁLCIO EM MAMÃO

1. Introdução

O cálcio é usualmente associado à qualidade dos frutos, sendo um dos principais constituintes da parede celular e da lamela média dos vegetais. Sua associação com a qualidade dos frutos está diretamente relacionada ao fato de que sua carência acarreta em desordens fisiológicas e podridões (Yamamoto et al, 2011).

A grande maioria do cálcio encontrado nos frutos localiza-se na parede celular (lamela média) exercendo função de estabilização (Hanson et al, 1993). De acordo com Yamamoto et al (2011), a lamela média é rica em pectato de cálcio, que é formado por meio de ligações iônicas entre as pectinas e o cálcio.

O pectato de cálcio é responsável pela firmeza da casca e pelo retardo no amaciamento de frutos devido à restrição que causa nas enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) (Yamamoto et al, 2011).

Pratella (2003) relaciona que a presença de cátions de cálcio no tecido vegetal inibe de forma considerável a ação de enzimas pectolíticas de parasitas fúngicos, que tem por função a dissolução da lamela média da parede celular.

Segundo Manrique e Lajolo (2004), as pectinas presentes na lamela média possuem ácidos galacturônicos altamente esterificados, que ao formarem géis pécticos apresentam um grupo carboxila carregado negativamente (ânion), que se liga ao cálcio (cátion) formando um complexo firme similar a uma rede (Taiz e Zeiger, 2004).

O mamão é um fruto considerado climatérico e, portanto, após a sua colheita continua os seus processos respiratórios e de amadurecimento. Cerca de 20 % das perdas na pós-colheita do mamão estão relacionadas ao armazenamento inadequado, transporte inadequado, ataque de fungos, manipulação inadequada e outros, todavia, essas perdas ocasionam o amaciamento da casca do fruto, reduzindo sua vida comercial e sua qualidade.

Fontes et al (2008) avaliando a atividade da PME em mamões cv 'Sunrise solo' e 'Tainung' observou que ocorre uma redução de sua produção antes do climatérico e que após ocorre um aumento de sua produção com algumas flutuações e consequente diminuição da PG, e que esta ocorrência estava diretamente relacionada ao amaciamento e consequente perda de firmeza da casca e polpa dos frutos.

No estudo de aplicação de 1-metilciclopropeno (1-MCP) em mamões cv 'Golden', Souza et al (2009) verificaram que a atividade das enzimas PME e PG foi reduzida pela aplicação do 1-MCP e que estas enzimas estão diretamente relacionadas com o amolecimento da polpa, o que foi confirmado por Pinto et al (2011) no estudo da atividade da PME durante amadurecimento de mamões cv. 'Golden' observando que tal ocorrência se dá pela despolimerização das substâncias pécticas na parede celular.

São poucos os trabalhos existentes na literatura sobre a aplicação de cálcio em mamões, e a maioria são realizados com aplicação na pré-colheita, ao passo que aqueles realizados com a aplicação na pós-colheita não explicam o comportamento de difusão do cálcio nos frutos. Madani, Mirshekari e Yahia (2015) estudaram o efeito da adição de cloreto de cálcio em mamoeiros da cv. Ekstotica no tratamento de antracnose e observaram que a adição do cátion foi eficaz no controle do amaciamento de polpa e casca dos frutos, assim como na manutenção de sua qualidade. Todavia, Mahmud et al (2008) realizaram a

aplicação de diferentes concentrações de cálcio em mamões e constataram que a adição de 2,5 % de cálcio ao fruto possui potencial para o controle de contaminações fúngicas e inibe o processo de amadurecimento do fruto, com manutenção da firmeza da polpa.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a aplicação de diferentes concentrações de cálcio em mamões cv. 'Golden' e avaliar a difusão e os seus efeitos de enrijecimento de parede na casca e na polpa do fruto.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a aplicação das concentrações de 0,1 %, 0,5 %, 1,0 %, 2,0 % e 3,0 % de cálcio em mamões cv 'Golden' nos tempos de 30, 60, 90 e 120 minutos de imersão;
- Determinar o gradiente de concentração de cálcio na casca, polpa externa e polpa interna dos frutos para as diferentes concentrações e nos diferentes tempos de imersão;
- Avaliar e analisar o processo de difusão e migração de cálcio ocorrido nos frutos.
- Verificar os efeitos da aplicação de cálcio no enrijecimento da parede.

3. Metodologia

Neste experimento foram utilizados 350 mamões da cultivar “Golden” selecionados na linha de operação de embalagem da Empresa Caliman Agrícola S.A, situada no município de Linhares – Espírito Santo, sendo que os frutos foram colhidos com aproximadamente 5% de coloração amarela na casca e peso médio de 350 g.

Os frutos foram higienizados para remoção de impurezas do campo e em seguida passaram por tratamento hidrotérmico (48°C/20 minutos), etapa conhecida como quarentenário e uma exigência do Programa Papaya do APHIS-USDA para limpeza e sanitização dos frutos de mamoeiro da mosca das frutas. Em seguida, os frutos passaram pelo banho de resfriamento (12°C/ 20 minutos) e por banho fungicida (Tecto) por 15 minutos, realizando secagem com ar seco.

Em salas refrigeradas a 16°C, os frutos foram selecionados mecanicamente por peso e depois por meio de um painel de operadores por estágio de maturação. Ao final, os mamões foram embalados com papel de seda e acondicionados em caixas de papelão ondulado de 3,5 Kg, paletizado, e estocados a 10°C. O transporte dos frutos foi feito em caminhões refrigerados a 10°C até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA/CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, onde os experimentos foram conduzidos após 36 horas da colheita.

No Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA/CCTA), os frutos foram inspecionados para evitar defeitos de injúria mecânica e corretamente identificados. Os frutos foram higienizados com solução clorada a 0,1%(v/v) e em seguida secos naturalmente.

O cálcio utilizado foi obtido da empresa Silab contendo 90 % de pureza e na forma de Cloreto de Cálcio.

O experimento foi conduzido com 4 repetições para cada tratamento, e a

imersão dos frutos foi realizada em banho em tanque de 30 L (SOLAB,SL 130/42) com circulação forçada e mantido à temperatura ambiente de 25 °C nos seguintes tratamentos:

- a) Frutos imersos na concentração de 0,1 % de cálcio;
- b) Frutos imersos na concentração de 0,5 % de cálcio;
- c) Frutos imersos na concentração de 1,0 % de cálcio;
- d) Frutos imersos na concentração de 2,0 % de cálcio;
- e) Frutos imersos na concentração de 3,0 % de cálcio.
- f) Frutos sanitizados e sem a imersão em tanque com cálcio - controle.

Os frutos permaneceram no banho por um total de 120 minutos, e de cada repetição foi retirada 1 unidade experimental dos banhos (3 frutos) em 4 diferentes tempos para a avaliação da cinética de tempo de imersão pela concentração de cálcio no fruto: 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos e 120 minutos.

Posteriormente, os frutos foram colocados em banho de água destilada para a retirada do excesso de cálcio e foram secos naturalmente em bandejas de polipropileno e colocados em câmara com temperatura ambiente controlada (24 °C) e umidade controlada (90-95% UR) por aproximadamente 12 dias (Figura 1), quando foram avaliados quanto à migração de cálcio, firmeza, perda de massa e análise de imagem.



Figura 1 - Imersão total dos frutos em solução de cálcio (à esquerda) e armazenamento dos frutos na câmara de temperatura controlada a 23 °C(à direita).

Para a realização das análises de migração de cálcio, o fruto teve suas extremidades retiradas de forma que se obtivesse 3-4 cm na região equatorial, que foi dividida em casca, polpa mais externa e polpa mais interna (Figura 2).

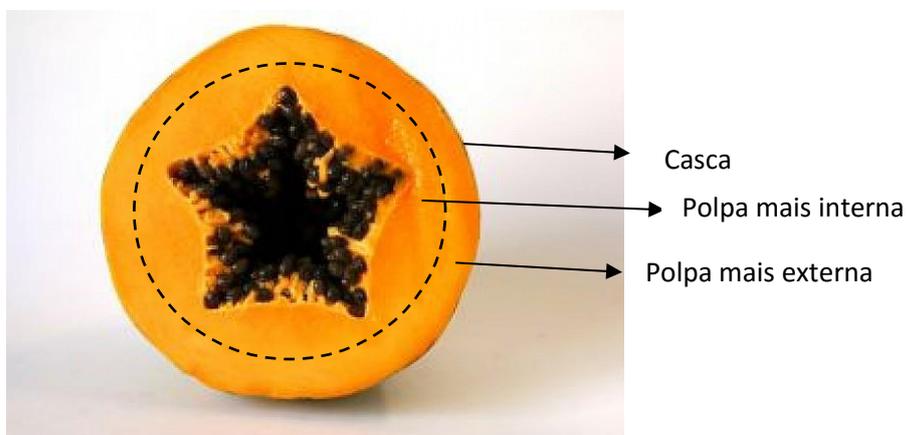


Figura 2 - Divisão das frações de casca, parte externa e interna da polpa do mamão

O experimento foi conduzido por meio de delineamento em blocos casualizados com fatorial (5X4X3) de tratamento x tempo de imersão x local do fruto. A análise de regressão foi utilizada para a determinação da cinética de concentração de cálcio nos tempos em minutos, utilizando o programa SAEG.

3.1. Determinação da concentração de cálcio e alteração das características físicas dos frutos

A análise de concentração de cálcio foi realizada seguindo a metodologia descrita por Instituto Adolfo Lutz (2008), em que após a mineralização da amostra, a mesma foi titulada com EDTA utilizando-se uma mistura de ácido calconcarboxílico e alaranjado de metila como indicadores.

O fruto foi dividido em polpa externa, polpa interna e casca e cada fração foi devidamente homogeneizada. Foram pesadas cerca de 30 gramas da amostra em cadinhos previamente secos e tarados em estufa a 105 °C por 2 horas. Os cadinhos contendo as amostras foram colocados em estufa a 105 °C por 24 horas e após resfriamento em dessecador e pesagem, adicionou-se 2 mL de ácido nítrico 0,1 M a cada cadinho e os mesmos foram transferidos para mufla, permanecendo lá até a obtenção de cinzas claras a 550 °C.

As cinzas foram dissolvidas em 5 mL de ácido clorídrico a 20% e transferidas com auxílio de água deionizada para béqueres de 250 mL, onde sofreram homogeneização em manta aquecedora com agitação magnética para melhor dissolução e em seguida foram transferidas para balão volumétrico de 100 mL, de onde se retirou alíquotas de 25 mL que foram colocadas em erlenmeyers de 250 mL contendo 25 mL de água deionizada. Foi realizada a correção do pH com auxílio de pastilhas de NaOH (pH 10,0-12,0) e adicionou-se às amostras quantidade de corante suficiente para proceder à titulação com EDTA. O cálculo do teor de cálcio nas amostras foi dado pela Equação 1.

$$Ca = \frac{40 \times (V_A - V_B) \times V_b \times M \times 100}{V_a \times m} \quad \text{Eq. (1)}$$

Em que:

Ca = Concentração de cálcio ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$)

V_A = Volume de EDTA gasto na titulação (mL);

V_B = Volume do branco gasto na titulação com EDTA (mL);

V_b = Volume do balão volumétrico utilizado (mL);

V_a = Volume da alíquota utilizada (mL);

M = Molaridade do EDTA (M);

m = Massa da amostra (g).

3.1.1. Firmeza

As medidas de firmeza foram realizadas em quatro pontos equidistantes na posição frontal da polpa mais interna, na polpa mais externa, após o corte na posição equatorial do fruto. Foram feitas medidas de firmeza da casca em quatro pontos equidistantes na direção radial do fruto com auxílio de um penetrômetro manual digital da marca Lutron, modelo FG-6020SP, com sonda de 5 mm de diâmetro. As medidas foram realizadas com 10 repetições para cada concentração e nos intervalos de 30, 60, 90 e 120 minutos de imersão em cálcio. Os resultados foram expressos em N.

3.1.2. Perda de massa

As medidas de perda de massa dos frutos foram realizadas em cada unidade de fruto para todos os tratamentos, realizando-se medidas antes e após o tempo de armazenamento, com 10 repetições. Utilizou-se uma balança semianalítica (marca Gehaka) com precisão de 0,01.

3.1.3. Análise de cor da casca dos frutos

A determinação da cor foi realizada na casca, sendo duas medidas equidistantes no lado exposto (EXP), aquele que sofreu exposição ao sol, e duas no lado não exposto (NEXP). Foi realizada a determinação da cor no início do experimento e após os 12 dias de armazenamento, com 10 repetições. Utilizou-se o colorímetro da marca Hunterlab Miniscan Spectrophotometer xe Plus, previamente calibrado com placas refletivas de cores preta e branca, com padrão de iluminação D65 e observador com ângulo de 10°. Os resultados foram expressos pelo sistema L, a e b de Hunter, em que os valores de L (luminosidade ou brilho) variam do preto (0) ao branco (100), os valores de a correspondem ao vermelho (+a) e verde (-a) e de b, amarelo (+b) ou azul (-b).

3.1.4. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de intervalo de confiança (Cochran, 1955), para as características avaliadas coloração, firmeza e perda de massa, com auxílio do programa computacional SAEG, versão 9.0 (Universidade Federal de Viçosa, 1997) considerando o nível de significância α igual a 5 %, admitindo-se uma amostra representativa de uma população infinita de frutos de mamão da cv 'Golden'.

3.2. Validação dos tratamentos de aplicação de cálcio sobre as características físicas dos frutos

Os estudos anteriores indicaram a necessidade de aumento do número de repetições em cada tratamento devido à grande variabilidade das medidas de firmeza e perda de massa.

Foram obtidos 320 mamões da cultivar "Golden" da mesma forma que os frutos utilizados na avaliação de migração de cálcio, todavia, esses frutos foram selecionados com 10 - 15 % de coloração amarela na casca.

O experimento foi conduzido com 40 repetições para cada tratamento, e a imersão dos frutos foi realizada em banho em tanque de 30 L (SOLAB, SL 130/42) com circulação forçada e mantido à temperatura ambiente de 25 °C nos seguintes tratamentos:

- a) Frutos imersos na concentração de 0,1 % de cálcio;
- b) Frutos imersos na concentração de 0,5 % de cálcio;
- c) Frutos imersos na concentração de 1,0 % de cálcio;
- d) Frutos sanitizados e sem a imersão em tanque com cálcio - controle.

Os frutos permaneceram no banho por um total de 60 minutos, e de cada repetição foi retirada 1 unidade experimental dos banhos em 2 diferentes tempos para a avaliação da cinética de tempo de imersão pela concentração de cálcio no fruto: 30 minutos e 60 minutos.

Posteriormente, os frutos foram colocados em banho de água destilada para a retirada do excesso de cálcio e foram secos naturalmente em bandejas de polipropileno e colocados em câmara com temperatura ambiente (24 °C) e umidade controlada (90 % UR) por 12 dias, quando foram avaliados quanto à cor, firmeza, e perda de massa conforme descrito nos itens 3.1.1, 3.1.2 e 3.1.3.

3.2.1. Análise estatística

Os dados das 40 repetições referentes à coloração e às análises de firmeza e perda de massa foram interpretados por análise simples estatística e as características analisadas foram avaliadas considerando uma população infinita de frutos, segundo o método de amostragem simples ao acaso (ASA), considerando o nível de 5% de probabilidade. As médias foram comparadas utilizando-se o teste “t” de Student por intervalo de confiança. A amostra ideal foi dimensionada para população infinita de frutos considerando além do nível de significância, o desvio de 10% em torno da média amostral, para todas as características analisadas.

4. Resultados e Discussão

4.1. Determinação da migração de cálcio na polpa dos frutos

Os dados referentes às medidas de concentração de cálcio em diferentes posições da polpa do fruto ao longo do tempo de imersão encontram-se na Figura 3. Pelos resultados obtidos na análise de migração de cálcio, pode-se perceber que em todos os tratamentos houve absorção de cálcio pelo fruto nos tempos e concentrações avaliados das diferentes partes do fruto.

Os resultados referentes à migração de cálcio na casca (Figura 3.a), mostram que a maior absorção do cátion ocorre nos primeiros 30 minutos de imersão, e a partir deste tempo a absorção passa a ocorrer de forma mais lenta. A partir da concentração de 1,0 % é possível observar a ocorrência de uma absorção mais pronunciada de cálcio, havendo um aumento de aproximadamente 25 % quando comparado com a concentração de 0,1 % e a de 0,5 %. Ao compararmos a maior concentração de cálcio (3,0 %) e a menor (0,1 %), verifica-se que ocorre uma absorção relativa ao dobro da concentração de cálcio nos primeiros 30 minutos de imersão, sendo que essa diferença se manteve constante durante todos os tempos de banho.

Quanto à migração de cálcio na polpa externa, nota-se na Figura 3.b que, de forma similar aos resultados referentes à casca, ocorre uma maior absorção de cálcio nos primeiros 30 minutos de imersão, sendo que na concentração de 0,5 % de cálcio o aumento continua a ser observado mesmo após 60 minutos de imersão. Comparando as concentrações de 3,0 % e 0,1 % de cálcio, verifica-se uma diferença de absorção que atinge aproximadamente o dobro da concentração inicial de cálcio nos primeiros 30 minutos de imersão, sendo que essa diferença se mantém constante durante todos os outros tempos de imersão.

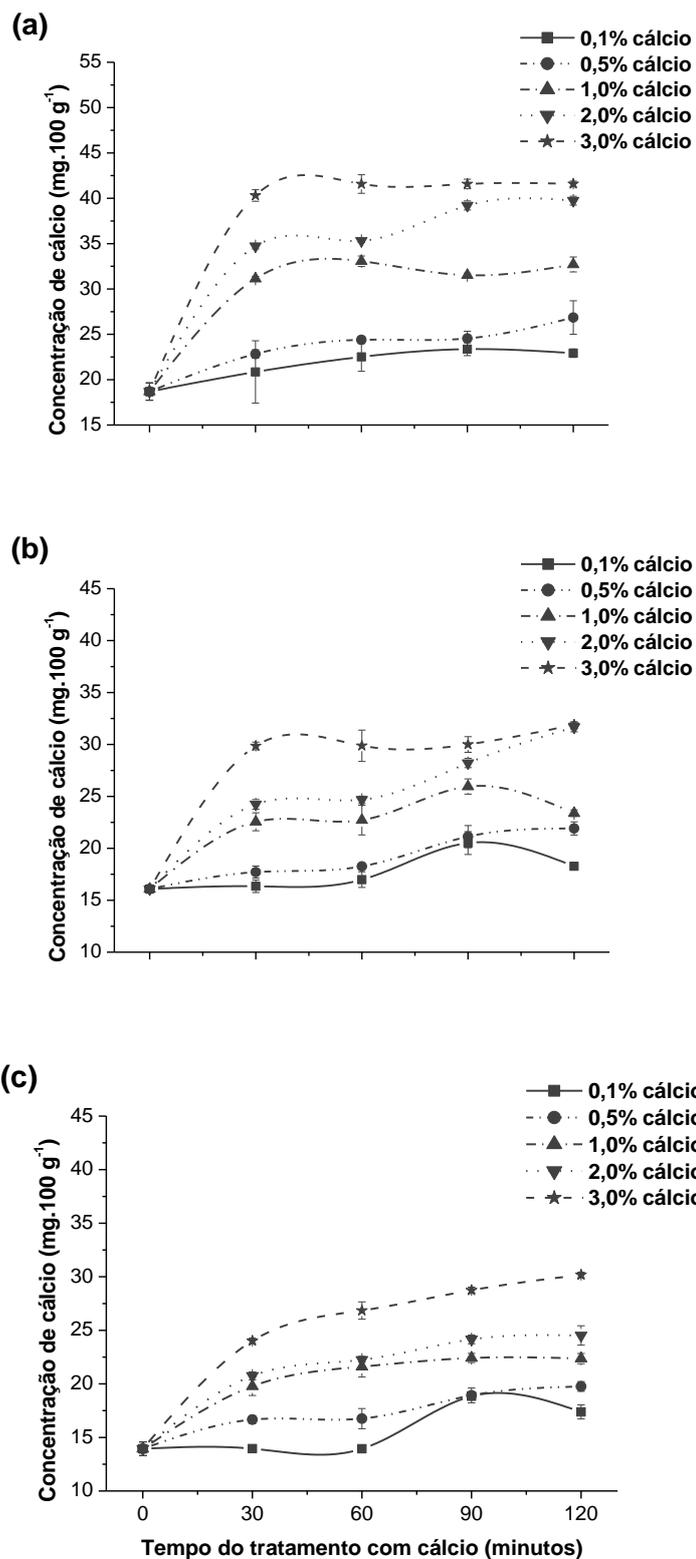


Figura 3 - Resultados das análises de teor de cálcio na casca (a), polpa externa (b) e polpa interna (c) dos mamões submetidos aos diferentes tempos de imersão em concentrações crescentes de cálcio em temperatura ambiente

Ao observarmos a Figura 3.c, nota-se o mesmo comportamento descrito para as porções de casca e polpa externa, com maior absorção de cálcio nos 30 primeiros minutos de imersão. A magnitude das medidas de concentração de cálcio é mais baixa na porção da polpa mais interna, quando comparada com as porções de polpa externa e casca, entretanto a diferença de concentração representa aproximadamente o dobro das medidas, quando de compara a maior (3,0 %) e a menor (0,1 %) concentração de cálcio.

Em todas as partes do fruto ocorre uma migração efetiva de cálcio da solução de 1% durante os primeiros 30 minutos de imersão, sendo que na parte mais interna da polpa ocorre mais estabilização da concentração aos 60 min de imersão (Figura 3.c).

Madani et al (2016) estudando a aplicação pré-colheita de cálcio em mamões Eksotika II observou que houve um aumento de 77 % a 129 % de cálcio na casca e de 30 % na polpa quando comparado aos frutos controle, e ainda constatou que essa mudança era detectada a partir da 1ª semana de aplicação.

Resultado similar foi obtido por Santos (2015) no estudo de aplicação de cálcio em maçãs, em que foi observada a existência de um gradiente longitudinal onde o cálcio migra do pedúnculo para o cálice, e que essa concentração de cálcio é significativamente maior na casca do que a observada na polpa do fruto.

Pelos resultados obtidos na análise de migração nas diferentes partes do fruto, pode-se perceber que decorridos os primeiros 60 minutos de imersão e a partir da concentração de 1,0 % de cálcio, não ocorre aumento pronunciado da sua absorção, mesmo nas concentrações mais altas (3,0 %).

Alves (1999) relaciona essa ocorrência ao fato de que a espessura do mesocarpo muitas vezes pode oferecer uma barreira física à absorção de cálcio, em especial quando não se utiliza tratamentos suplementares. Tal resultado se encontra de acordo com Qiu et al (1995), que trabalhou com aplicação de cálcio no mamoeiro observando a migração de cálcio por cerca de um ano e constatou que a espessura das cutículas dos mamões, assim como a própria cera formada pelo fruto dificultam a migração, agindo como barreiras.

Suutarinen et.al (2002) estudando aplicação de cálcio em morango verificaram que quando não se adicionou um tratamento de vácuo no morango, o mesmo não absorveu tanto cálcio quanto naqueles que sofreram o tratamento suplementar, observando uma diferença três vezes maior de cálcio naqueles tratados com cálcio e vácuo, o que também foi constatado por Hussain et al (2011) com a aplicação de irradiação de cálcio em maçãs e Bicalho et al (2000) com a aplicação de cálcio em mamões.

Natale, Prado e Môro (2005) observaram no estudo eletromicrográfico de goiabas adicionadas de cálcio, que naqueles frutos em que houve aplicação de cálcio ocorre uma melhor definição e estruturação das paredes celulares e das lamelas médias deixando as células mais unidas. Segundo Werner et. al (2009), o cálcio está diretamente relacionado à manutenção da qualidade pós-colheita pela formação de pontes entre os ácidos pécticos e polissacarídeos, funcionando como sítios que estabilizam as paredes e membranas e dificultam ou interferem no acesso de enzimas e outros, o que segundo Yamamoto et al (2011) é devido à diminuição da degradação do ácido poligalacturônico pela ação enzimática da PG.

O íon cálcio tem importância para a estruturação de paredes celulares, todavia funciona como mensageiro secundário na regulação de processos metabólicos em plantas, reduzindo a atividade de enzimas, e além disso estabelece ligações na superfície da membrana, constituindo um fator de preservação de estabilidade e permeabilidade seletiva das mesmas (Santos, 2015).

A amostragem de 10 frutos utilizava neste experimento para as análises de firmeza, perda de massa e análise de aparência dos frutos não apresentou resultados significativos, devido à grande variabilidade das medidas, todavia, os frutos apresentaram maturação ao final de 12 dias de armazenamento como pode-se verificar na Figura 4.



Figura 4 – Ilustração da aparência geral dos frutos maduros ao final de 12 dias de armazenamento

Foram geradas as equações de regressão para cada porção do fruto estudado, em que a concentração de cálcio utilizada e as repetições foram colocadas no mesmo patamar, originando uma interação fatorial não significativa, entre a concentração de cálcio obtida nestas porções em relação ao tempo de imersão, como se pode verificar na Figura 5 , e foi realizada a superfície de resposta para melhor comparação dos dados de concentração de cálcio, tempo de imersão no banho de cálcio e o valor de cálcio medido em cada porção dos frutos (Figura 6).

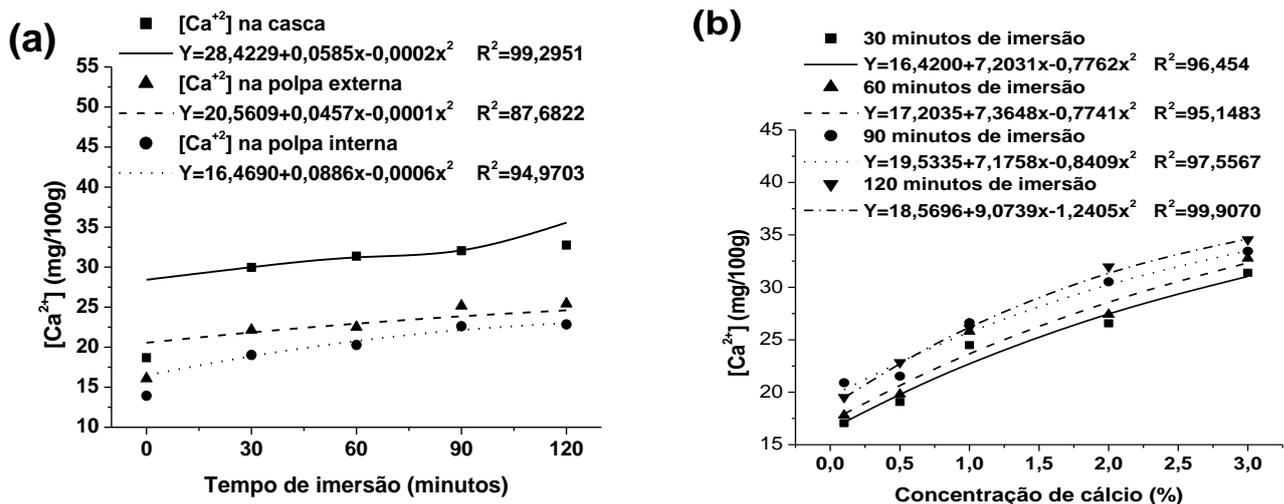


Figura 5 - Interação fatorial entre a concentração de cálcio nas porções do fruto e o tempo de imersão dos frutos (a) e entre a concentração de cálcio medida e a concentração de cálcio utilizada nos banhos de imersão (b).

Pela observação das equações geradas na Figura 5 pode-se perceber que os resultados experimentais obtidos condizem com os dados calculados pelo modelo de regressão polinomial do segundo grau. Por meio da Figura 5.a, pode-se observar que houve um pequeno aumento da concentração de cálcio nas diferentes porções do fruto a partir do tempo inicial de imersão (30 minutos), porém, este aumento se manteve uniforme nos outros tempos de imersão. Já na Figura 5.b, é possível notar que com o aumento da concentração de cálcio aplicada ao fruto, houve em cada tempo de imersão um aumento da concentração final de cálcio no fruto.

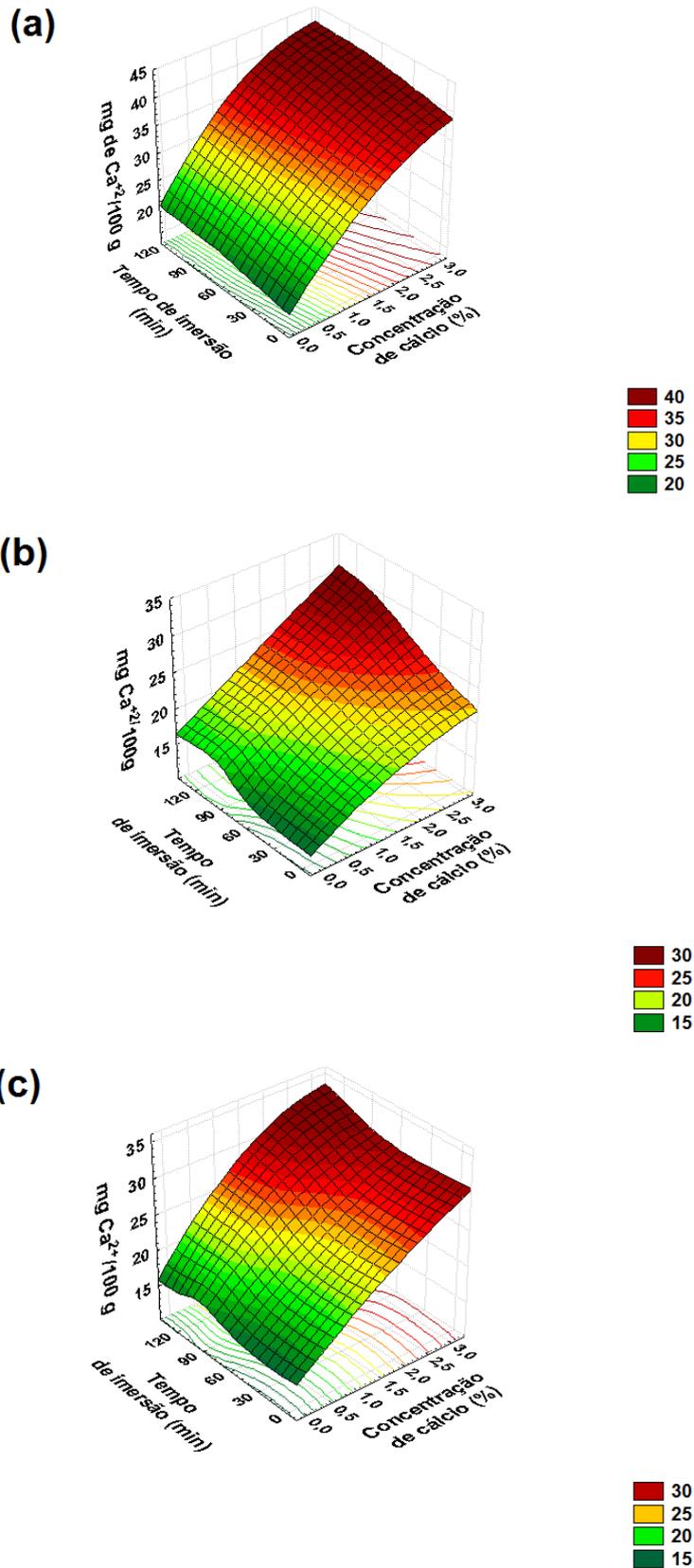


Figura 6 – Superfície de Resposta da análise de migração de cálcio na casca (a); na polpa externa (b) e na polpa interna (c) dos frutos submetidos aos tratamentos com cálcio.

Na Figura 6, por meio da observação das respostas das interações entre concentração de cálcio, tempo de imersão no banho de cálcio e o valor de cálcio final observado no fruto, nota-se a confirmação do que foi observado nas Figuras 3 e 5, em que quanto maior a concentração de cálcio e o tempo de imersão, maior foi a quantidade de cálcio absorvida pelo fruto. Todavia, o uso de grandes tempos de imersão e elevadas concentrações de cálcio podem tornar inviável sua utilização na indústria alimentícia.

4.2. Caracterização da firmeza da casca e das partes da polpa externa e polpa interna dos mamões

Os resultados obtidos na análise de firmeza da casca dos frutos (Figura 7.A) evidenciam a ocorrência de uma diferença significativa de textura entre os frutos controle antes do armazenamento e os frutos tratados com as diferentes concentrações de cálcio. Nota-se também, que a firmeza da casca dos frutos controle apresentou valores mais baixos do que os outros tratamentos, sendo que o aumento da concentração de cálcio e do tempo de imersão provoca aumento da firmeza, destacando-se o tratamento com 1% de cálcio durante 60 minutos que promove um aumento significativo da firmeza com relação aos outros tratamentos.

Na polpa externa e polpa interna dos frutos, Figuras 7.B e 7.C respectivamente, observa-se que o tratamento controle foi o que obteve o pior resultado de manutenção da firmeza, enquanto que o tratamento contendo 1,0 % de cálcio no tempo de 60 minutos foi o que apresentou os maiores resultados de firmeza ($P < 0,05$).

Tais resultados se mostram de acordo com os obtidos por Bicalho et al (2000) e Silva et al (2015), que constataram que a aplicação de cálcio em mamões pós-colheita apesar de não impedir a perda de firmeza, quando comparado aos frutos controle é significativamente melhor na manutenção da firmeza, o que também foi observado por Madani et al (2016) na aplicação de 1,5 % e 2,0 % de cálcio em mamões na pre-colheita. Neto et al (2008) verificaram que o mesmo efeito ocorria quando se submetia goiabas à aplicação de cálcio, o que foi verificado de forma similar no estudo de pêras 'Huangguan' por Kou et al (2015).

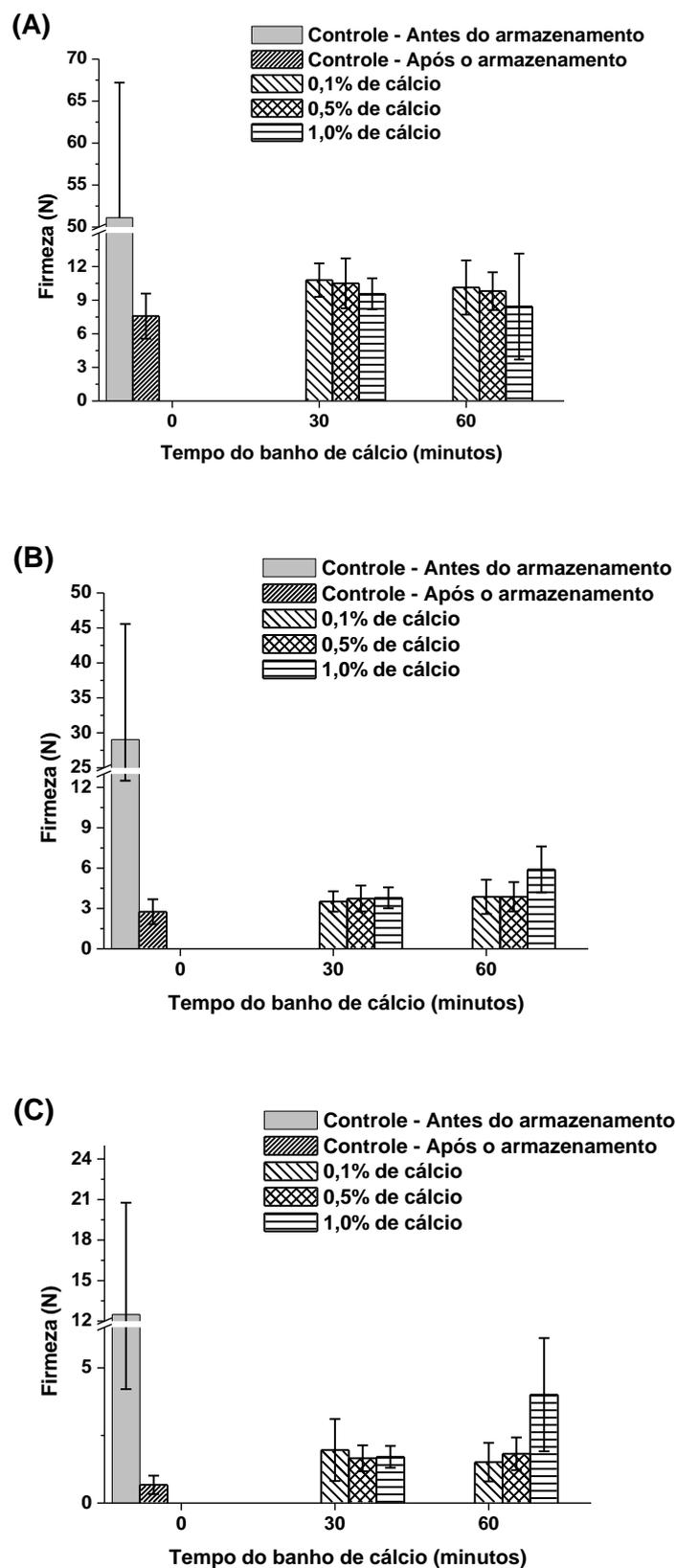


Figura 7 – Resultados das análises de firmeza para casca (A), polpa externa (B) e polpa interna (C) dos mamões nas diferentes aplicações de concentrações de cálcio e tempos de imersão dos frutos, avaliados após 12 dias de armazenamento em temperatura ambiente.

A avaliação do teste de médias para a análise de firmeza dos frutos se encontra descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Teste de médias da análise de firmeza dos frutos nos diferentes tratamentos com cálcio

Tratamento	Local		
	Casca	Polpa externa	Polpa interna
Controle	6,5 Ae	2,75 Ac	0,67 Ac
0,1%/30 min.	10,84 Ad	3,52 Bb	1,96 Cb
0,1%/60 min.	11,18 Acd	3,87 Bb	1,52 Cb
0,5%/30 min.	11,75 Abc	3,73 Bb	1,66 Bb
0,5%/60 min.	12,28 Ab	3,87 Bb	1,82 Cb
1,0%/30 min.	11,89 Ab	3,79 Bb	1,71 Cb
1,0%/60 min.	14,3 Aa	5,9 Ba	4,01 Ca

Valores em uma mesma linha, seguidos por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5 % pelo teste t, enquanto valores em uma mesma coluna, seguidos por letras minúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5 % pelo teste t.

Pela comparação dos resultados apresentados na Figura 7 e na Tabela 1, constata-se que a adição de cálcio aumentou de forma significativa a firmeza nas diferentes porções do fruto quando comparado ao tratamento controle e que o tratamento de 1,0 % de cálcio diferiu estatisticamente dos demais tratamentos em todas as partes do fruto avaliadas, indicando o efeito positivo da absorção de cálcio por todas as partes do fruto.

Quanto à diferença de firmeza nas diferentes partes do fruto dentro do mesmo tratamento, pode-se perceber que no grupo controle não houve diferença significativa. Já entre as partes do fruto que receberam o tratamento de cálcio, houve diferença significativa de firmeza.

Hussain et al (2011) constataram uma pronunciada melhora de textura em maçãs com a adição de cálcio, assim como Suutarinen et al (2002) no estudo de morangos. Todavia, Costa (2009) não obteve diferença significativa entre morangos tratados com cálcio e aqueles sem cálcio.

Udomkun et al (2014) observaram um pronunciado aumento na firmeza em mamões secos quando se aplicou tratamentos com cálcio e relacionou o aumento da firmeza com a ativação ou bloqueio da enzima PME.

Madami et al (2014) verificaram que o aumento da firmeza nos frutos que recebiam aplicação de cálcio eram verificados na pré-colheita e associou o fato

à interação direta do cálcio com a parede celular e confirmou tal associação com a utilização de imagens obtidas por um microscópio de transmissão eletrônica que confirmou que a lamela média apresentava-se mais intacta quando os frutos haviam recebido aplicações de cálcio, resultado similar ao obtido por Souza et al (2009) com mamões Tainung nº1. O mesmo não foi observado por Vizzoto et al (2002) na aplicação pré-colheita em pêssegos.

4.3. Caracterização da perda de massa de mamões Golden submetidos aos diferentes tratamentos de concentração de cálcio e tempo de imersão

Os resultados obtidos na análise de perda de massa se encontram descritos na Figura 8.

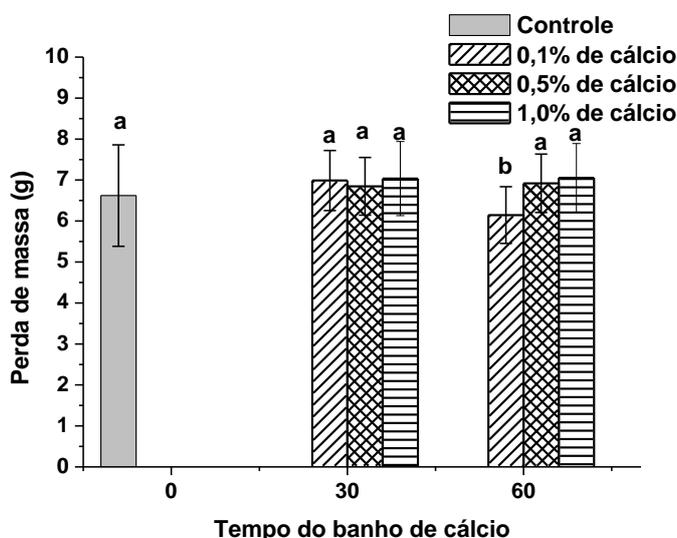


Figura 8 – Perda de massa dos frutos submetidos aos diferentes tratamentos de concentração de cálcio e tempo de imersão dos mamões, avaliados após 12 dias de armazenamento em temperatura ambiente.

Pela análise da Figura 8, pode-se notar que apenas no tratamento de 0,1 % de cálcio no tempo de 60 minutos de imersão, a perda de massa não foi significativa entre os frutos. A diferença existente deve-se ao fato de o mamão ser um fruto com alta variabilidade genética e, portanto, poder apresentar algumas variações discrepantes mesmo em amostragens representativas.

Na avaliação de qualidade de mamões secos que receberam adição de cálcio, Udomkun et al (2014) observaram que o cátion possui grande potencial para a diminuição da perda de massa. Resultado similar foi obtido em estudo de

aplicação de cálcio em maracujá-amarelo (Venâncio et al, 2013). Todavia, Silva et al (2015) observaram resultado distinto na adição de cálcio pós-colheita em mamões UENF/Caliman1, verificando que todos os frutos mostraram perda de massa fresca durante o armazenamento, o que também foi verificado em pêssegos tratados com cálcio na pré-colheita (Vizzoto et al, 2002).

4.4. Caracterização da cor da casca de mamões Golden submetidos aos diferentes tratamentos de concentração de cálcio e tempo de imersão

Na Figura 9 estão apresentados os resultados da análise de cor da casca dos frutos submetidos aos diferentes tratamentos de concentração de cálcio e tempo de imersão dos mamões, avaliados após 12 dias de armazenamento em temperatura ambiente.

Pela observação dos parâmetros de Hunter L (Fig 9.A), a (Fig 9.B) e b (Fig. 9.C), percebe-se que o tratamento de adição de cálcio aos frutos não interferiu no processo de amadurecimento dos mesmos, visto que chegaram ao último dia de armazenamento com a mesma maturação, o que contrasta com os resultados obtidos por Mahmud et al (2008) e Singh et al (2012), que observaram um retardo no amadurecimento de mamões Eksotika II quando aplicado cálcio.

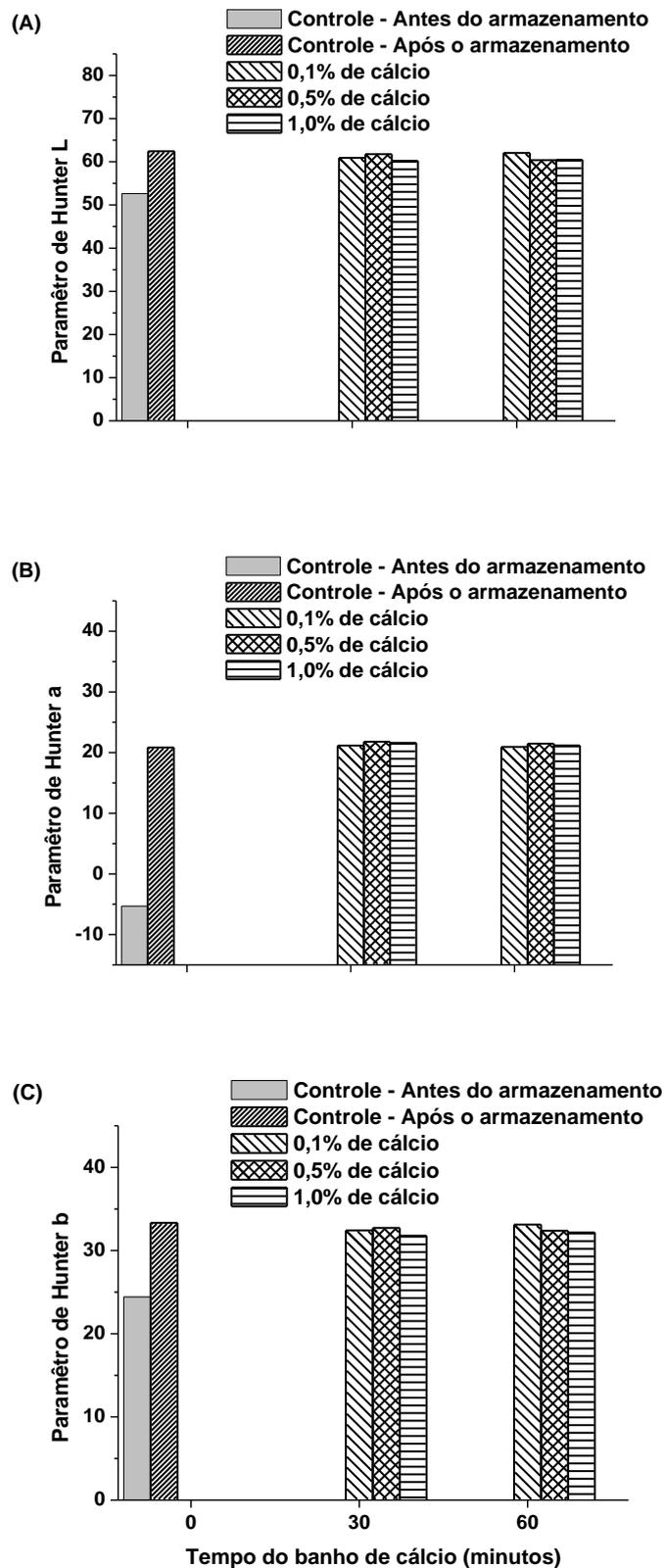


Figura 9 – Caracterização dos parâmetros de Hunter L (A), Hunter a (B) e Hunter b (C) da casca dos frutos submetidos aos diferentes tratamentos de concentração de cálcio e tempo de imersão após 12 dias de armazenamento em temperatura ambiente

5. Conclusão

O tratamento do mamão por imersão em um tempo máximo de 120 min em solução de cálcio variando de 0,1 % até 3 % foi efetivo para aumentar a concentração no tecido da casca e na parte externa e interna da polpa. Este gradiente de concentração de cálcio em função do tempo de imersão do fruto aumenta intensamente nos primeiros 30 minutos de imersão em solução de cálcio igual ou maior que 1 %, atingindo os maiores valores conforme a proporção da concentração da solução de imersão, porém mantendo o patamar de concentração após este tempo de imersão.

Na imersão em concentração de cálcio menor do que 1 % ocorre um aumento mínimo de cálcio na casca e na polpa ao longo de 120 minutos, porém a sua concentração na casca e na polpa do fruto é pouco expressiva.

O tratamento por imersão na concentração de 1% de cálcio promove um aumento acentuado da concentração de cálcio na casca e na parte externa da polpa em 30 minutos, porém na parte interna da polpa este aumento é mais expressivo aos 60 minutos, quando atinge um patamar de concentração máxima de equilíbrio, com variação pouco significativa ao longo do tempo.

Nos ensaios de análise de firmeza confirmou-se que o tratamento por imersão em solução de 1% de cálcio por 60 minutos foi efetivo para manter a maior firmeza da casca, da polpa externa e da polpa interna dos frutos armazenados por 12 dias em temperatura ambiente (23 °C). Entretanto, este tratamento não apresentou diferença significativa nas análises de perda de massa e cor da casca dos frutos em relação ao tratamento controle.

6. Referências Bibliográficas

- Alves, R.E. Qualidade de acerolas submetidas a diferentes condições de congelamento, armazenamento e aplicação pós-colheita de cálcio. 1999.135p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Cochran, W.G. Técnicas de amostragem. 1955. Rio de Janeiro, Fundo de Cultura, 555p.
- Costa, F.P. Fisiologia e conservação de cultivares de morangos inteiros e minimamente processados (2009). Universidade Federal de Viçosa. 126p.
- Fontes R.M.; Santos, M.P.; Falqueto, A.R.; Silva, D.R. Atividade da pectinametilesterase e sua relação com a perda de firmeza da polpa de mamão cv. Sunrise solo e Tainung (2008). *Rev. Brasil. Frutic.*, 30 (1), 54-58p.
- Hanson, E.J.; Beggs, J.L.; Beaudry, R.M. Applying calcium chloride postharvest to improve highbush blueberry firmness (1993). *HortScience*, 28 (10), 1033-1034p.
- Hussain, P.R.; Meena, R.S.; Dar, M.A.; Wani, A.M. Effect of post-harvest calcium chloride dip treatment and gamma irradiation on storage quality and shelf-life extension of Red delicious apple (2012). *Journal of Food Science and Technology*, 49 (4), 415-426p.
- Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.
- Kou X.; Wu, M.; Li, L.; Wang, S.; Xue, Z.; Liu, B.; Fei, Y. Effects of CaCl₂ dipping and pullulan coating on the development of brown spot on 'Huangguan' pears during cold storage (2015). *Postharvest Biology and Technology*, 99, 63-72p.
- Kou, X.; Wu, M.; Li, L.; Wang, S.; Xue, Z.; Liu, B. Fei, Y. Effect of CaCl₂ dipping and pullulan coating on the development of brown spot on 'Huangguan' pears during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 99, 63-72p, 2015.
- Madani, B.; Mirshekari, A.; Sofu, A.; Tengku, Mohamed, M.T.M. Preharvest calcium applications improve postharvest quality of papaya fruits (*Carica papaya* L. cv. Eksotoka II) (2016). *Journal of Plant Nutrition*, 39 (10), 1483-1492p.
- Madani, B.; Mirshekari, A.; Yahia, E. Effect of calcium chloride treatments on calcium content, anthracnose severity and antioxidant activity in papaya fruit during ambient storage. *Journal of Science Food Agricultural*, 96:2963–2968, 2015.
- Madani, B.; Mohamed, M.T.M.; Watkins, C.B.; Kadin, J., Awang, Y.; Shojaei, T.R. Preharvest calcium sprays affect ripening of Eksotika II papaya fruits during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 171, 6-13p. 2014.
- Mahmud, T.M.M.; AL Eryani-Raqeeb, A.; Syed Omar, S.R.; Mohamed Zaki, A.R.; Al Erani, A. Effects of different concentrations and applications of calcium on storage life and physicochemical characteristics of papaya

- (*Carica papaya* L.). American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 3(3): 526-533, 2008.
- Manrique G.D.; Lajolo, F.M. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*) (2004). Postharvest Biology and Technology, 33, 11-26p.
- Martins, D.R. Otimização das condições de estocagem do mamão em atmosfera controlada para preservação da qualidade e redução do processo de amadurecimento. Tese de doutorado. Universidade Estadual do Norte Fluminense, 114p., 2012.
- Natale, W.; Prado, R.M.; Môro, F.V. Alterações anatômicas induzidas pelo cálcio na parede celular de frutos da goiabeira. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.40, n.12, 1239-1242p., 2005.
- Neto, L.G.M.; Amaral, D.S.; Moura, S.M.A.; Peixoto, L.G. Qualidade pós-colheita de goiabas cv. "Paluma" submetidas à aplicação de cloreto de cálcio armazenadas em temperaturas ambiente (2008). Agropecuária Científica do Semi-Árido, 4, 27-31p.
- Pinto, L.K.A.; Martins, M.L.L.; Resende, E.D.; Theibaut, J.T.T. Atividade da pectina metilesterase e da β -galactosidade durante o amadurecimento do mamão cv. Golden (2011). Rev. Brasil. Frutic., 33 (3), 713-722p.
- Pratella, G.C. Note di biopatologia e tecnica di conservazionetrasporto dei frutti: l'effetto del calcio in post-raccolta. Rivista di Frutticoltura, v.6, p.70-71, 2003.
- Qiu, Y.; Nishina, M.S.; Paull, R.E. Papaya fruit growth, calcium uptake, and fruit ripening. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 120 (2), 246-253p., 1995.
- Santos, A. Estudos de métodos de amostragem e da distribuição mineral em maçãs como ferramenta para segregar frutos com predisposição ao "bitter pit". Dissertação de mestrado. Universidade do Estado de Santa Catarina. 66p. 2015.
- Silva, W.B.; Silva, G.M.C.; Silva, L.R.; Waldman, W.R.; Oliveira, J.G. Tratamento com cloreto de cálcio na pós-colheita retarda o desverdecimento e a perda de firmeza do mamão Uenf/Caliman01 (2015). Rev. Brasil. Frutic., 37 (3), 588-599p.
- Singh, S.P.; Singh, Z. Postharvest oxidative behaviour of 1-methylcyclopropene treated Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell) during storage under controlled and modified atmospheres. postharvest biology and technology, Amsterdam, v.74, p.2635, 2012.
- Souza, M.S.; Azevedo, I.G.; Corrêa, S.F.; Silva, M.G.; Pereira, M.G.; Oliveira, J.G. Resposta da aplicação do 1-MCP em frutos de mamoeiro 'Golden' em diferentes estádios de maturação (2009). Rev. Brasil. Frutic., 31 (3), 693-700p.
- Suutarinen, J.; Honkapää, K.; Heinio, L.R.; Autio, K.; Mustranta, A.; Karppinen, S.; Kiutamo, T.; Liukkonen-Lilja, H.; Morkkila, M. Effects of Calcium Chloride-based Prefreezing Treatments on the Quality Factors of Strawberry Jams (2002). Journal of Food Science, 67 (2), 884-894p.
- Taiz, L.; Zeiger, E. Fisiologia Vegetal. 3.ed., Porto Alegre: Artmed, 722p., 2004.
- Udomkun, P.; Mahayothee, B.; Nagle, M.; Muller, J. Effects of calcium chloride and calcium lactate applications with osmotic pretreatment on physiochemical aspects and consumer acceptances of dried papaya

- (2014). *Internacional Journal of Food Science & Technology*, 49, 1122-1131p.
- Universidade Federal de Viçosa. SAEG – Sistemas de análises estatísticas e genéticas: Versão 9.0. Viçosa, MG: UFV, 1997, 150p.
- Venâncio, J.B.; Silveira, M.V.; Fehlauer, T.V.; Pegorare, A.V.; Rodrigues, E.T.; Araújo, W.F. Tratamento hidrotérmico e cloreto de cálcio na pós-colheita de maracujá-amarelo (2013). *Científica*, 41 (2), 122-129p.
- Vizzoto, M.; Antunes, P.L.; Brackman, A.; Dalbosco, V. Aplicação de cálcio em pré-colheita na conservação de pêssego [*Prunus persica* (L.) Batsch], cv. Chiripá (2002). *Rev. Brasil. Agrociência*, 8 (1), 31-35p.
- Werner, E.T.; Junior, L.F.G.O.; Bona, A.P.; Cavati, B.; Gomes, T.D.U.H. Efeito do cloreto de cálcio na pós-colheita de goiaba cortibel (2009). *Bragantia*, 68 (2), 511-518p.
- Yamamoto, E.L.M.; Ferreira, R.M.A.; Fernandes, P.L.O.; Albuquerque L.B.; Alves, E.O. Função do cálcio na degradação da parede celular vegetal de frutos (2011). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 6 (2), 49-55p.

CAPÍTULO 4 - Avaliação 'in vitro' da eficiência do óleo essencial de laranja doce no controle do crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*

1. Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo, perdendo apenas para China e Índia, sendo algumas das colheitas mais significativas as de melão, manga, limão, banana, maçã, mamão, melancia e uva (Sebrae, 2005). Dados da HFBrasil (2017) mostram que no primeiro quadrimestre de 2017, a maioria destes frutos bateram recordes de exportação, sendo principalmente para Holanda, Alemanha e Reino Unido.

Alguns destes frutos, como o mamão, a manga, o melão e a banana são considerados frutos climatéricos, ou seja, possuem rápido amadurecimento após a colheita com consequente aumento da taxa de respiração, o que o torna sensível ao ataque de pragas e injúrias provocadas pelo armazenamento inadequado, transporte e manipulação inadequados e pela ocorrência de doenças, que levam a cerca de 40 % das perdas (Cia, s.d.).

Um destes frutos, o mamão, constitui um ótimo substrato para o desenvolvimento de doenças, dentre elas as que são causadas por fungos, que levam a perdas pela redução do tamanho, redução do peso, da qualidade nutritiva e do seu valor de venda, sendo que dentre os principais contaminantes fúngicos se destaca o *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da antracnose e da mancha chocolate (Oliveira, Filho e Filho, s.d.). Destas doenças, a antracnose é dita uma doença quiescente, ou seja, se estabelece no fruto

imaturo e começa seu processo infeccioso quando as condições se tornam propensas, o que ocorre quando o fruto está a venda para o consumidor (Andrade e Vieira, 2016).

O uso de fungicidas, inseticidas e herbicidas no controle de pragas em lavouras causa impactos ao solo, ao alimento, e conseqüentemente ao ser humano, visto que interrompe o controle biológico natural, aumenta a resistência microbiana, e outros (Maia, Donato e Fraga, 2015).

Tendo em vista a necessidade de reduzir problemas biológicos e da busca por uma produção sustentável de alimentos, alguns estudos vêm sendo realizados com a finalidade de substituir os defensivos tradicionalmente utilizados por substâncias sintéticas ou naturais, como o uso de óleos essenciais, que advêm de plantas, frutas ou resíduos de frutas.

Óleos essenciais são uma complexa mistura de várias substâncias, que em sua maioria possuem odor característico e natureza terpênica (Morais, Gonçalves e Bettioli, 2009). Dentre os óleos de natureza terpênica, o obtido de casca fresca e de resíduos de frutos cítricos, como a laranja e o limão, é rico em um monoterpeneo, o limoneno (80-95%) (Negro et al, 2016).

Segundo Zahi et al (2016) e Rodríguez et al (2016), o limoneno é o principal componente dos óleos essenciais derivados de citros e vem sendo utilizado na indústria como agente flavorizante, além disso, vem sendo amplamente utilizado em pesquisas como agente antimicrobiano e antifúngico.

O uso de óleos de citros vem sendo amplamente avaliados no controle do *Colletotrichum gloeosporioides*, como no uso de capim-limão (Santos et al, 2003; Ramos, 2014; Teodosio, 2014; Andrade e Vieira, 2016), limão (Palhano et al, 2004; Maqbool et al, 2011; Ramos, 2014), limão-mexicano (Bosquez-Molina, 2010), e o próprio limoneno (Quintana-Rodríguez, 2015), todavia não se observam estudos com o óleo de laranja, que possui mais de 90 % de limoneno em sua composição.

Desta forma, evidencia-se a necessidade de maiores estudos acerca da utilização deste óleo, que é rico em limoneno, para o controle de doenças fúngicas, como a antracnose.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a atividade mínima inibitória e a atividade inibitória 'in vitro' de diferentes concentrações de óleo essencial de laranja doce no crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides*.

2.2. Objetivos específicos

- Verificar a concentração mínima inibitória 'in vitro' para o intervalo de concentrações de 0,5 %, 1,5 % e 2,5 % de óleo essencial de laranja doce aplicadas para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides*;
- Determinar a a concentração inibitória 'in vitro' para o intervalo de concentrações de 1,5 %, 2,5 %, 3,5 %, 4,5 % e 5,5 % de óleo essencial de laranja doce aplicadas para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides*;
- Selecionar a melhor concentração para a realização de análises 'in vitro'.

3. Metodologia

3.1. Obtenção do fungo para avaliação 'in vitro'

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* foi isolado do Laboratório de Fitopatologia da UENF, diretamente do fruto de mamoeiro com os sintomas da doença e sinais de patógeno, sendo cultivado em meio BDA (Batata dextrose ágar) acidificado com ácido tartárico, mantido em estufa de crescimento por 15 dias a 25°C.

3.2. Avaliação 'in vitro' da eficiência antimicrobiana do óleo essencial de laranja doce

O óleo essencial de laranja doce foi adquirido da empresa Engenharia das Essências, onde o material passou pelo processo de destilação fracionada sob vácuo para remoção de terpenos residuais. O óleo foi obtido com o teor de 92 % de limoneno.

3.2.1. Avaliação da concentração mínima inibitória (CMI)

O teste de eficiência antimicrobiana foi realizado pela técnica de difusão em ágar objetivando-se a obtenção da concentração mínima inibitória (CMI). Os discos contendo o fungo (5 mm de diâmetro) previamente retirados das placas de BDA com o auxílio de uma alça de Drigalsky, foram colocados em placas de Petri impregnadas com 3 diferentes concentrações de óleo essencial de laranja doce (0,5%; 1,5% e 2,5%). O óleo foi impregnado ao meio por meio de pipeta automática e homogeneizado manualmente com metanol e 20 mL de meio BDA acidificado até completa dissolução da mistura. Em seguida a mistura foi plaqueada e se aguardou a completa secagem.

As placas foram incubadas em estufa tipo BOD a temperatura ótima de desenvolvimento dos microrganismos (fungos a $25 \pm 2^\circ\text{C}$) por 8 dias. A eficiência da atividade antimicrobiana foi determinada pela medição do halo de crescimento que poderia ser formado ao redor dos filtros e também pela observação da densidade microbiana desenvolvida sobre o meio de cultura em cm^2 (CLSI, 2003).

3.2.2. Avaliação da concentração inibitória do óleo essencial de laranja doce

O procedimento de obtenção dos discos contaminados pelos fungos e o preparo de impregnação do óleo nas placas de Petri foram feitos conforme descrito anteriormente (item 3.2.1).

Os discos contendo o fungo (5 mm de diâmetro) foram colocados em placas de Petri impregnadas com 5 diferentes concentrações de óleo essencial de laranja doce a partir da concentração mínima inibitória (1,5%; 2,5%; 3,5%; 4,5% e 5,5%). As placas foram incubadas em estufa tipo BOD a temperatura

ótima de desenvolvimento dos microrganismos (fungos a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) por 8 dias. A eficiência da atividade antimicrobiana foi determinada pela medição da área de crescimento que seria formada ao redor dos discos e também pela observação da densidade microbiana desenvolvida sobre o meio de cultura, conforme descrito no item 3.2.1 (CLSI, 2003).

3.3. Análise estatística

A análise dos dados de concentração mínima inibitória (CMI) foi feita com base na observação da redução mínima de tamanho do halo de crescimento do fungo em cada placa, com referência ao tamanho máximo do halo da placa de controle, com 4 repetições. Na análise dos dados da concentração inibitória (CI) do óleo essencial de laranja doce procedeu-se aos testes de variância e as diferenças entre os tratamentos foram comparadas pelo teste t de Student ($P < 0,5\%$), com 10 repetições, utilizando o programa Assistat.

4. Resultados e Discussão

4.1. Avaliação da concentração mínima inibitória do óleo essencial de laranja doce para controle do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*

A avaliação visual do crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* nas placas contendo meio BDA se encontram na Figura 1.

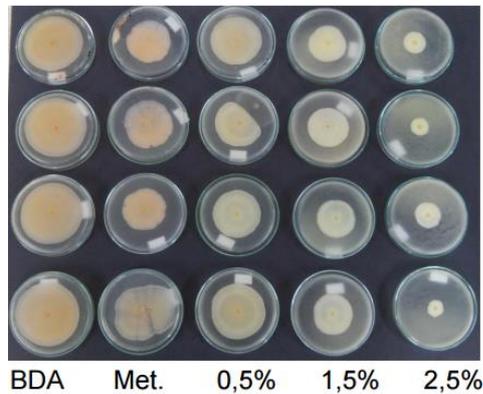


Figura 1 – Avaliação do crescimento mínimo inibitório de *Colletotrichum gloeosporioides* em diferentes concentrações de óleo essencial de laranja doce após 7 dias de incubação

Na Figura 1 nota-se que as placas contendo apenas BDA e naquelas que continham BDA + metanol (solução utilizada para diluir o óleo essencial) apresentaram crescimento pleno dos fungos, sem que houvesse algum efeito inibidor do seu crescimento.

Na placa contendo 0,5 % de óleo essencial observou-se crescimento similar àquele observado nas duas placas de controle (meio BDA puro e meio BDA com metanol), indicando que nesta concentração a redução da taxa de crescimento do fungo não foi inibida.

Após a medição do halo de crescimento do fungo nas referidas placas, observou-se que houve diferença significativa entre as concentrações de óleo utilizadas para a inibição do crescimento do fungo ao nível de 1% do teste t de Student, e que a concentração mínima inibitória do óleo era inferior a 1,5 % e superior a 0,5 %, sendo escolhida como CMI 1,0 % de óleo essencial de laranja doce.

4.2. Avaliação da concentração inibitória do óleo de laranja doce para controle do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*

Os dados apresentados na Figura 2 caracterizam as áreas dos halos de crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* em placas de Petri contendo diferentes concentrações de óleo essencial de laranja doce, avaliadas ao longo de 8 dias de incubação a 25 °C. O tratamento controle é constituído pelo meio de cultura sem a presença do óleo.

Nota-se que todos os tratamentos utilizados mostraram-se eficientes na inibição parcial ou total do crescimento do *Colletotrichum gloeosporioides* quando comparados ao grupo controle.

O crescimento do fungo é inibido progressivamente à medida que se aumenta a concentração de óleo essencial, sendo que este se iniciou no 3º dia para a concentração de 1,5 % de óleo, no 4º dia para a concentração de 2,5 % de óleo, no 5º dia para a concentração de 3,5 % de óleo, no 6º dia para a concentração de 4,5 % de óleo e um crescimento mínimo no 8º dia para a concentração de 5,5 %. Ao final de 8 dias de incubação a 25 °C, a inibição provocada pelo óleo em relação ao grupo controle, que apresentou área total de crescimento de 22,37 cm², atingiu redução de 41,1 % da área no tratamento contendo 1,5 % de óleo (com média de 13,18 cm²) e alcançou a redução de 99,71 % no tratamento contendo 5,5 % de óleo (com média de 0,064 cm²).

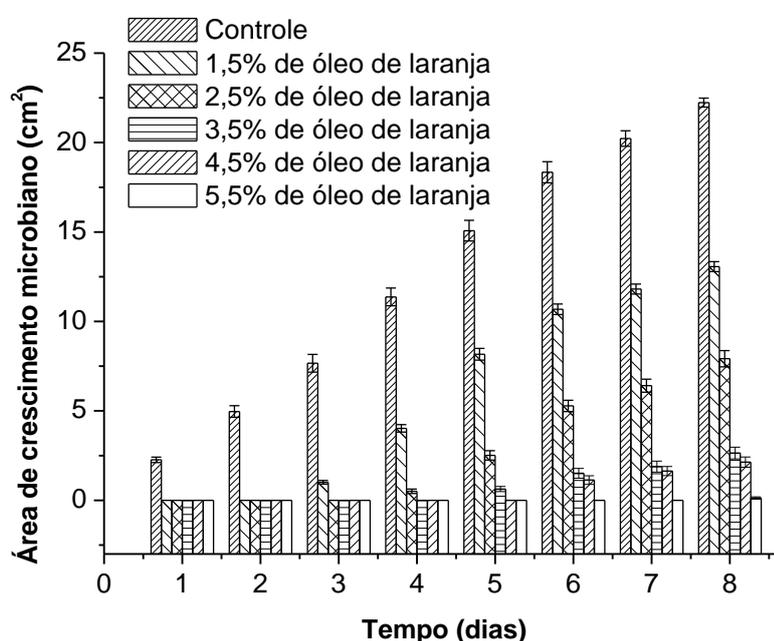


Figura 2 - Curvas de crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* em placas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de laranja doce ao longo de 8 dias de incubação a 25 °C. As barras verticais estão representadas com os respectivos intervalos de confiança a $p \leq 0,05$.

Ao final de 8 dias de incubação, o tratamento controle atingiu o crescimento total da área de superfície da placa. Entretanto, as placas dos diferentes tratamentos com óleo de laranja doce permaneceram incubadas por aproximadamente 20 dias com o objetivo de avaliar a efetividade de inibição do crescimento do fungo nas placas com maiores concentrações de óleo, ao final de um longo tempo de incubação a 25 °C (Figura 3).

Nota-se na Figura 3 que mesmo decorridos os 20 dias de armazenamento, não houve um crescimento expressivo nas placas contendo as três maiores concentrações de óleo (3,5 %; 4,5 %; 5,5 %). Este efeito antifúngico condiz com os resultados obtidos por Perdones et al. (2012), que utilizaram óleo essencial de limão que possui em sua composição o componente limoneno como terpeno majoritário. Resultado similar foi obtido também por Roswalka (2010), que observou a inibição total de *Colletotrichum musae* com a utilização do óleo de laranja doce.

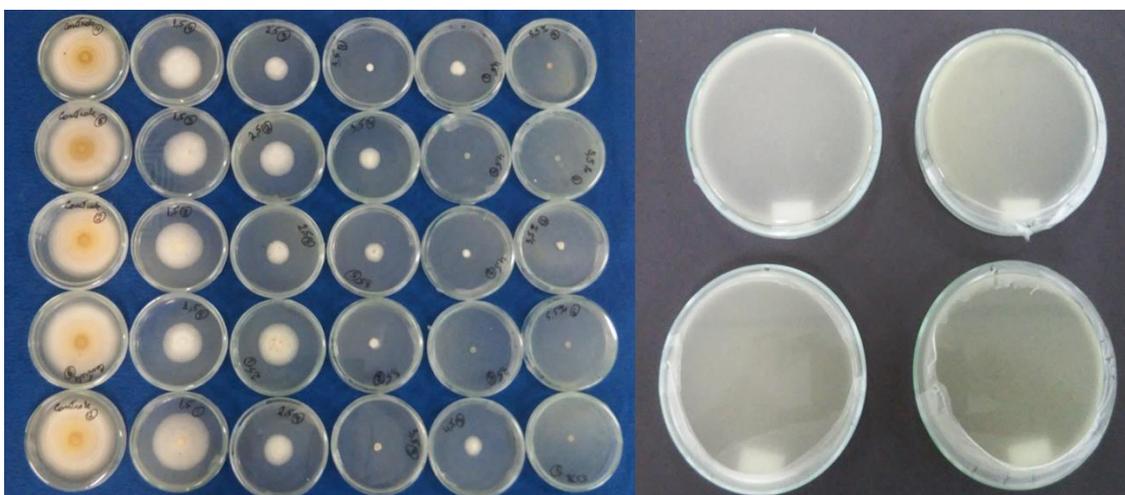


Figura 3 – Avaliação do halo de crescimento em placas de Petri contendo os tratamentos Controle, 1,5 %, 2,5 %, 3,5 %, 4,5 % e 5,5 % de óleo essencial de laranja doce decorridos 20 dias (à esquerda) e Controle do óleo essencial de limoneno (à direita).

Carnelossi et al (2009) estudando o uso de diferentes óleos essenciais no controle de crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* verificou que a partir de pequenas concentrações de óleos já é possível verificar a inibição do crescimento fúngico, principalmente quando se utiliza o óleo de capim-limão, que possui como principal monoterpeneo o citral e que possui o limoneno como terceiro maior componente. Tal resultado condiz com o obtido por Guimarães

(2007), Lorenzetti et al (2011) e também om o obtido por Maqbool et al (2011) com a utilização de 0,05 % de óleo de capim-limão. Contudo, no estudo do efeito fungitóxico em fungos pós-colheita de abacaxi, Sousa (2010) não obteve o mesmo efeito.

Estudando o efeito de 18 diferentes tipos de óleos essenciais e alguns componentes majoritários como agentes antifúngicos de frutas, Combrinck, Regnier e Kamatou (2011) observaram que o limoneno, principalmente o obtido de laranja possui boa atividade antifúngica.

Silva (2008) utilizou extratos de temperos na avaliação 'in vitro' da inibição do crescimento microbiano em mamão e morango e notaram que de um modo geral todos os óleos foram eficientes na inibição de crescimento fúngico, contudo, essa eficiência se mostrou mais eficaz quando o óleo era colocado sob a tampa da placa de Petri e não no meio de cultura, o que não foi observado por Lorenzetti (2012) com morangos.

No estudo do isolamento e atuação do limoneno como inibidor de microrganismos, Bicas e Pastore (2007) observaram que o componente era eficiente na inibição de crescimento fúngico.

A análise de variância constatou que houve interação significativa ($P < 0,01$) entre o tempo e a concentração de óleo, assim como entre os tratamentos ($P < 0,01$). A interação significativa observada entre o tempo e concentração de óleo pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1: Teste de médias do crescimento de fungos nas placas contendo as diferentes concentrações de óleo essencial de laranja doce

Tratamento	Média das áreas	Teste t
Controle	17.0029	a
1,5%	5.3817	b
2,5 %	1.6084	c
3,5 %	0.2449	d
4,5 %	0.1639	d
5,5 %	0.0001	d

Pelos resultados obtidos na Tabela 1 nota-se que houve diferença significativa entre o grupo controle e os tratamentos com a adição de óleo de laranja doce. O tratamento de 1,5 % foi o que obteve um menor efeito antifúngico, assim como o de 2,5 %, que obteve um efeito maior que o de 1,5 %. Todavia, os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade pelo teste t de Student.

5. Conclusão

Os ensaios 'in vitro' mostraram que do óleo essencial de laranja doce é efetivo no controle do crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. A concentração mínima inibitória (CMI) ficou em torno de 1%, ao passo que a concentração inibitória foi conseguida com 3,5 % de óleo.

6. Referências Bibliográficas

- Andrade, W.P.; Vieira, G.H.C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose in vitro e em frutos de mamoeiro (2016). Revista Bras. Pl. Med., 18 (1), supl.I, 367-372p.
- Bicas, J.L.; Pastore, G.M. Isolation and screening of D-limonene-resistant microorganisms (2007). Brazilian Journal of Microbiology, 38, 563-567p.
- Carnelossi, P.R.; Schwan-Estrada, K.R.F; Cruz, M.E.; Itako, A.T.; Mesquini, R.M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão (2009). Revista Brasil. Pl. Med., 11 (4), 399-406p.
- Combrinck, S.; Regnier, T.; Kamatou, G.P.P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against postharvest fungal pathogens of fruit (2010). Crops Production, 6p.
- Guimarães, L.G.L. Estudo da estabilidade e do efeito fungitóxico do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf) (2007). Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) Universidade Federal de Lavras, 88p.

- Lorenzetti, E.R. Controle de doenças do morangueiro com óleos essenciais e *Trichoderma spp.* (2012) Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras, 107p.
- Lorenzetti, E.R.; Monteiro, F.P.; Souza, P.E.; Souza, R.J.; Scalice, H.K.; Diogo Jr, R.; Pires, M.S.O. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro (2011). Revista Pl. Med., 13 (especial), 619-627p.
- Marques, S.S.; Santos, M.P.; Alvez, E.S.S.; Vilches, T.T.B.; Santos, R.B.; Ventura, J.A.; Fernandes, P.M.B. Uso de óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em frutos do mamoeiro (2003). Papaya Brasil, 591-593p.
- Perdones, A.; Escriche, I.; Chiralt, A.; Vargas, M. Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on volatile profile of strawberries during storage (2016). Food Chemistry, 197, 979-986p.
- Quintana-Rodriguez, E.; Morales-Vargas, A.T.; Molina-Torres, J.; Adame-Alvarez, R.M.; Acosta-Gallegos, J.A.; Heil, M. Plant volatiles cause direct, induced and association resistance in common bean to the fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum* (2015). Journal of Ecology, 250-260p.
- Ramos, K. Óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais). Universidade Camilo Castelo Branco. 52p. 2014.
- Rodriguez, A.; Peris, J.E.; Redondo, A.; Shimada, T.; Castell, E.; Carbonell, I.; Rojas, C.; Peña, L. Impacto f D-limonene synthase up- or down-regulation on sweet Orange fruit and juice odor perception (2017). Food Chemistry, 139-150p.
- Roswalka, L.C. Óleos essenciais: Ação sobre *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum musae*, associados ou não à película de fécula de mandioca no controle da antracnose em goiaba (2010). Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, 198p.
- Silva, F.C. Efeito in vitro e in vivo dos óleos essenciais de condimentos sobre fungos que ocorrem em pós-colheita em frutos de morango e mamão (2008). Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Lavras, 102p.
- Sousa, A.E.D. Atividade antifúngica de óleo vegetais no controle de podridão por *Fusarium* em melão e fusariose em abacaxi (2010). Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 78p.
- Zahi, M.R.; Hattab, M.E.; Liang, H.; Yuan, Q. Enhancing the antimicrobial activity of D-limonene nanoemulsion with the inclusion of ϵ -polylysine (2017). Food Chemistry, 18-23p.

CAPÍTULO 5 – Avaliação 'in vivo' de eficiência e fitotoxicidade do óleo essencial de laranja doce utilizado no controle do crescimento de fungos

1. Introdução

O mercado de fruticultura brasileiro está em constante expansão, com aumento das exportações de frutos e do consumo interno (Andrade, 2012). O Brasil é o 2º maior produtor mundial de frutos, entre estes, o mamão tem grande produção, com um total atual de 1.463.770 toneladas (IBGE, 2017), sendo o Espírito Santo e a Bahia os estados com maior produção do fruto.

O mamão, devido ao seu comportamento climatérico, ou seja, após a sua colheita possui aumento em sua taxa respiratória e consequente amadurecimento, é um fruto susceptível a ocorrência de injúrias, como as causadas pelo armazenamento inadequado, manipulação e transporte inadequados, ataque de insetos e doenças, levando a perdas na indústria e no comércio, visto que o consumidor busca por produtos isentos de manchas, ranhuras, doenças e outras características visuais indesejáveis (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Para diminuir problemas ocasionados pelo ataque de doenças, principalmente as ditas quiescentes, como a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, o uso de revestimentos associados ou não a óleos essenciais vem sido amplamente investigados.

O uso de extratos vegetais de semente de pitomba, folhas de tanchagem, boldo e espada-de-são-Jorge foi avaliado por Júnior et al (2011), que observaram que o uso de extratos é eficaz no controle de antracnose em mamões.

Lima (2015) relatou no estudo de um revestimento a base de concentrado protéico de leite e óleo essencial de erva-doce em mamões 'Golden' que a utilização do revestimento na concentração de 10 % com concentrações de 0,4 % de óleo foram eficientes na preservação da qualidade e no retardo do amadurecimento dos frutos, sendo que não foi observado o aparecimento de fungos, o que também foi observado por Oliveira (2013) no uso de fécula de mandioca associada ao óleo essencial de capim-limão, canela, tomilho, palmarosa e cravo-da-índia.

Na aplicação de goma arábica com diferentes óleos essenciais para o controle de antracnose em banana e mamões, Maqbol et al (2011), verificaram que o uso de óleo essencial de canela e de capim-limão associados ou individualmente no revestimento são eficientes no controle do fungo, reduzindo em cerca de 80 % o crescimento do mesmo.

Marpudi et al (2011) avaliaram um revestimento a base de quitosana com o óleo essencial de aloe vera e verificaram bons resultados no uso do gel de aloe vera no controle da maturação e não observaram a incidência de fungos.

O uso de óleos de citros vem sendo amplamente avaliados no controle do *Colletotrichum gloeosporioides*, como no uso de capim-limão (Santos et al, 2003; Ramos, 2014; Teodosio ,2014; Andrade e Vieira, 2016), limão (Palhano et al, 2004; Maqbool et al, 2011; Ramos, 2014), limão-mexicano (Bosquez-Molina, 2010), e o próprio limoneno (Quintana-Rodriguez, 2015), todavia não se observam estudos com o óleo de laranja, que possui mais de 90 % de limoneno em sua composição, que segundo Zahi et al (2016) e Rodríguez et al (2016), tem poder antifúngico.

Desta forma, evidencia-se a necessidade da realização de um trabalho que una um revestimento ao óleo essencial de laranja doce para o controle de doenças fúngicas, como a antracnose.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a eficiência de um revestimento ativo à base de fécula de mandioca na concentração de 3,0 % em mamões Golden tratados por imersão em solução de 1,0 % de cálcio por 60 min e utilizando diferentes concentrações de óleo essencial de laranja doce no controle 'in vivo' do fungo *Colletotrichum*.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a utilização do revestimento à base de fécula de mandioca na concentração de 3,0 % em frutos tratados por imersão em solução de cálcio por 60 min, para controle do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* durante o armazenamento dos mamões em temperatura ambiente;
- Avaliar o efeito de fitotoxicidade de diferentes concentrações do óleo essencial de laranja doce aplicado na composição do revestimento ativo para controle do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* durante o armazenamento dos mamões;
- Avaliar a efeito de preservação de qualidade e redução da contaminação dos frutos tratados por imersão em 1 % de cálcio por 60 min e aplicados com revestimento ativo a base de fécula de mandioca a 3,0 % em associação com o óleo essencial de laranja doce na concentração que não provoca distúrbios de fitotoxicidade.

3. Metodologia

3.1. Avaliação 'in vivo' da eficácia do óleo essencial de laranja doce utilizado no controle do crescimento de fungos

3.1.1. Desenvolvimento do recobrimento ativo à base de fécula de mandioca e óleo essencial de laranja doce

O revestimento a base de fécula de mandioca foi realizado seguindo-se a metodologia descrita por Teodosio (2014), em que se utilizou a concentração de 3% de fécula de mandioca comercial (Yoki) previamente dissolvida em água destilada e aquecida a 70 °C em manta aquecedora, sendo agitada magneticamente até a gelatinização do amido (5 minutos) e mantida em agitação por 20 minutos em Turratec a 10000 RPM para homogeneização e resfriamento. Os frutos foram imersos na solução a 25 °C por 2 minutos, escorridos sob telas e secos por ventilação de ar ambiente até secagem total do revestimento. Este procedimento foi realizado 2 vezes.

O óleo essencial de laranja doce utilizado no revestimento foi obtido da empresa Engenharia das Essências e foi incorporado ao gel a 25 °C com o auxílio de uma pipeta automática, adicionando-se glicerol 1,5 % na proporção de 1:1 para facilitar a homogeneização do óleo no gel. O gel foi mantido em agitação por 20 minutos em Turratec a 10000 RPM, formando uma solução de aspecto amarelado (Figura 1).



Figura 1 – Apêência do gel puro de fécula de mandioca a 3 % (à esquerda) e gel de adição de 1 % de óleo essencial de laranja doce (à direita).

3.1.2. Obtenção dos frutos

Neste experimento foram utilizados 300 mamões da cultivar “Golden” selecionados na linha de operação de embalagem da Empresa Caliman Agrícola S.A, situada no município de Linhares – Espírito Santo, sendo que os frutos foram colhidos com aproximadamente 15% de coloração amarela na casca e peso médio de 350 g.

Os frutos foram higienizados para remoção de impurezas do campo e, na empresa, eles passaram por tratamento hidrotérmico (48°C/20 minutos), etapa conhecida como quarentenário e uma exigência do Programa Papaya do APHIS-USDA para limpeza e sanitização dos frutos de mamoeiro da mosca das frutas. Em seguida, os frutos passaram pelo banho de resfriamento (12°C/ 20 minutos) e por banho fungicida (Tecto) por 15 minutos, realizando secagem com ar seco.

Em salas refrigeradas a 16°C, os frutos foram selecionados mecanicamente por peso e depois por meio de um painel de operadores por estágio de maturação. Ao final, os mamões foram embalados com papel de seda e acondicionados em caixas de papelão ondulado de 3,5 Kg, paletizado, e estocados a 10°C. O transporte dos frutos foi feito em caminhões refrigerados a 10°C até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA/CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, onde os experimentos foram conduzidos após 36 horas da colheita.

No Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA/CCTA), os frutos foram inspecionados para evitar defeitos de injúria mecânica e identificados individualmente quanto aos lados de exposição ao sol na planta (parte mais clara do fruto fica do lado não exposto ao sol). Os frutos foram higienizados com solução clorada a 0,1%(v/v) e em seguida secos naturalmente.

3.1.3. Avaliação do efeito de fitotoxicidade do óleo essencial de laranja doce sob a casca dos frutos

Os ensaios preliminares indicaram a ocorrência de mancha escura na casca dos frutos submetidos ao revestimento ativo em concentrações acima de 1% de óleo essencial de laranja doce. Desta forma foram realizados os ensaios

para confirmar a ocorrência do distúrbio fisiológico na faixa de concentração mínima inibitória do fungo.

O delineamento foi inteiramente casualizado, em que os frutos foram numerados e distribuídos ao acaso. Foram realizados 5 tratamentos com 10 repetições para a avaliação da eficiência 'in vivo' utilizando-se 50 frutos sadios advindos da lavoura, que foram separados nos seguintes tratamentos:

- a) Frutos revestidos com fécula de mandioca 3,0 % e óleo essencial de laranja doce na concentração de 0,5 %;
- b) Frutos revestidos com fécula de mandioca 3,0 % e óleo essencial de laranja doce na concentração de 1,0 %;
- c) Frutos revestidos com fécula de mandioca 3,0 % e óleo essencial de laranja doce na concentração de 1,5 %;
- d) Frutos controle – sem revestimento e sem óleo essencial de laranja doce.
- e) Frutos revestidos com fécula de mandioca e sem óleo essencial de laranja doce.
- f) Os frutos foram tratados conforme o procedimento descrito anteriormente no Item 3.1.1 e armazenados em câmara sob temperatura ambiente (23 °C) e umidade controlada (90% UR) por 7 dias.

O efeito de fitotoxicidade do óleo essencial de laranja doce foi avaliado a cada 2 dias, utilizando um procedimento de análise de imagens, conforme metodologia descrita por Martins (2012). O procedimento consistiu no registro fotográfico das duas faces de exposição dos frutos ao sol, mantendo uma mesma distância de foco, utilizando uma máquina fotográfica da marca Sony e modelo MVC-FD 92.

O aparato para obtenção das fotografias consistiu em uma caixa de papelão com dimensões de 45 x 35 x 72 cm, quatro lâmpadas dicrônicas de 20 Watts presas a um suporte de madeira, mantidas a uma distância de 20 cm do fruto e dispostas uma em cada lado do aparato. Utilizou-se um suporte de isopor

para sustentação da máquina fotográfica com uma distância de foco de 17 cm e cartolina de cor vermelho no fundo da caixa para padronizar as condições do experimento e permitir a definição de contorno das imagens.

As imagens foram processadas pelo Software QUANT v.1.0.1 (VALE et al., 2002), após a redução das cores de 256 para 50 pixels. Na avaliação dos resultados foram selecionados os parâmetros de cor RGB que caracterizaram os padrões de mancha escura típica da injúria de fitotoxicidade. Os resultados foram caracterizados pela porcentagem de cor de mancha escura com relação à área total da superfície da casca do mamão.

3.1.4. Avaliação 'in vivo' do efeito inibitório do óleo essencial de laranja doce sob o crescimento de fungos

Os frutos foram tratados conforme o procedimento descrito anteriormente no Item 3.1.1. A concentração de óleo essencial de laranja doce foi definida em 1% para evitar efeito de fitotoxicidade. Os experimentos foram realizados com 40 repetições de frutos para os seguintes tratamentos:

- a) Frutos imersos em banho contendo 1,0 % de cálcio por 60 minutos;
- b) Frutos imersos em banho contendo 1,0 % de cálcio por 60 minutos e cobertos com 3,0 % de fécula de mandioca;
- c) Frutos cobertos com 3,0 % de fécula de mandioca;
- d) Frutos imersos em banho contendo 1,0 % de cálcio, revestidos com 3,0 % de fécula de mandioca contendo óleo essencial de laranja doce na concentração de 1,0%;
- e) Frutos controle – sem revestimento e sem imersão em banho de cálcio.

Os frutos foram armazenados em câmaras com temperatura ambiente (24 °C) e controle de umidade (85-90% UR) por 14 dias ou até o surgimento de fungos nos frutos do grupo controle.

O cálcio foi obtido da empresa Silab com 90 % de pureza na forma de cloreto de cálcio.

3.1.4.1. Determinação de perda de massa

As medidas de perda de massa dos frutos foram realizadas em cada unidade de fruto para todos os tratamentos, realizando-se medidas antes e após 7 dias de armazenamento, com 40 repetições. Utilizou-se uma balança semianalítica (marca Gehaka) com precisão de 0,01.

3.1.4.2. Determinação do desenvolvimento de fungos

A avaliação de desenvolvimento de fungos na casca dos frutos foi realizada por meio de análises fotográficas, conforme metodologia descrita por Martins (2012) e pela presença ou ausência de fungos. Utilizou-se o mesmo procedimento descrito no Item 3.1.3. Na avaliação dos resultados foram selecionados os parâmetros de cor RGB que caracterizaram os padrões de cor típicos de crescimento de fungos. Os resultados foram caracterizados pela porcentagem de cor relacionada à área de crescimento de fungos com relação à área total da superfície da casca do mamão.

3.1.4.3. Determinação de cor da casca

A determinação da cor foi realizada na casca, sendo duas medidas equidistantes no lado exposto (EXP), aquele que sofreu exposição ao sol, e duas no lado não exposto (NEXP). Foi realizada a determinação da cor no início do experimento e após 7 dias de armazenamento, utilizando o colorímetro da marca Hunterlab Miniscan Spectrophotometer xe Plus, previamente calibrado com placas refletivas de cores preta e branca, com padrão de iluminação D65 e observador com ângulo de 10°. Os resultados foram expressos pelo sistema L, a e b de Hunter, em que os valores de L (luminosidade ou brilho) variam do preto (0) ao branco (100), os valores de a correspondem ao vermelho (+a) e verde (-a) e de b, amarelo (+b) ou azul (-b).

3.1.4.4. Análise estatística

Os dados referentes à coloração e às análises de perda de massa foram interpretados por análise simples estatística e as características analisadas foram avaliadas considerando uma população infinita de frutos, segundo o método de amostragem simples ao acaso (ASA), considerando o nível de 5% de probabilidade. As médias foram comparadas utilizando-se o teste “t” de Student

por intervalo de confiança. A amostra ideal foi dimensionada para população infinita de frutos considerando além do nível de significância, o desvio de 10% em torno da média amostral, para todas as características analisadas.

Os dados referentes à análise de aparência foram interpretados por meio de análise de variância e teste de médias ao nível de 5% de probabilidade utilizando-se o teste t de Student.

4. Resultados e Discussão

4.1. Avaliação do efeito de fitotoxicidade do óleo essencial de laranja doce sob a casca dos frutos

Os frutos, com a concentração de 1,5 % de óleo essencial de laranja doce, apresentaram, a partir do segundo dia de armazenamento, a presença de manchas amarronzadas, evidenciando a ocorrência de um problema de injúria por toxicidade nos mamões. Na Figura 2 estão apresentados os dados de contagem de número de frutos com machas amarronzadas na casca, aos sete dias de armazenamento em temperatura ambiente. Em concomitância foi realizada a análise de imagem dos frutos, observando-se que as manchas foram caracterizadas pelos padrões de cor RGB, sendo R (Vermelho), G (Verde) e B (Azul), em que os valores obtidos para R variaram de 152 a 128, G variaram de 56 a 88, e B variaram de 24 a 56.

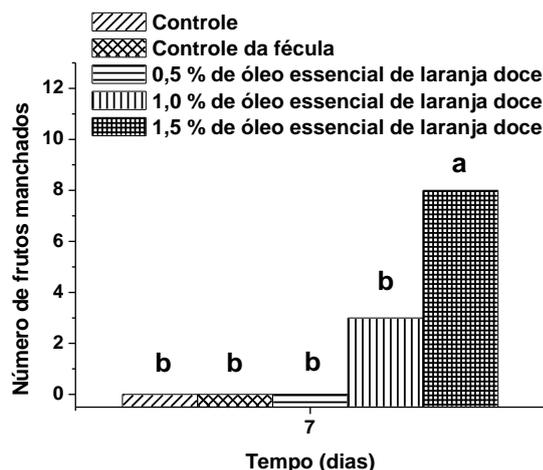


Figura 2 – Número de frutos com ocorrência de manchas amarronzadas causadas pela concentração de óleo essencial de laranja doce, aos 7 dias de armazenamento.

Pelos resultados mostrados na Figura 2 percebe-se que o aumento da concentração do óleo essencial de laranja doce provocou uma maior ocorrência de manchas nos frutos, indicando que o uso desse óleo não pode ultrapassar a concentração de 1,0 %.

O tratamento com 1,5 % de óleo essencial de laranja doce apresentou diferença significativa com os tratamentos controle, controle da fécula e os que utilizaram 0,5 % e 1,0 % de óleo essencial de laranja doce, todavia não houve diferença significativa ao nível de 1 % pelo teste t de Student entre os tratamentos contendo 0,5 % e 1,0 % de óleo essencial de laranja doce com os grupos controle e controle de fécula.

Ruiz-Pérez et al (2016) constataram no estudo da atividade antimicótica e genotóxica de óleos cítricos que no óleo de *Citrus sinenses* (laranja doce) e de *Citrus latifolia* (limão-taiti) doses abaixo de 20 µg não apresentavam efeitos tóxicos.

A ocorrência de fito toxicidade em óleos de citros também foi observada por Yulia, Shipton e Coventry (2006) na avaliação da atividade de alguns óleos de plantas e extratos contra o *Colletotrichum gloeosporioides*, em que evidenciaram a ocorrência de sintomas de fitotoxicidade em pimentas quando utilizaram óleos cítricos, como o de limão.

Solgi e Ghorbanpour (2014) observaram efeitos fitotóxicos em banana e mamões com a utilização de óleo essencial de limão, evidenciando que a mancha ocasiona na perda da capacidade do fruto em reter a esporulação de fungos.

Outro problema evidenciado durante o armazenamento foi uma descamação da película de mandioca formada, o que também foi observado por Castricini, Coneglian e Deliza (2012) no estudo dos efeitos sensoriais do uso de féculas de mandioca em mamões. De acordo com Bragante (2009), a formação do gel de amido se dá de forma muito complexa, sendo que o “ponto de gel” (ponto em que ocorre aumento da viscosidade até haver manifestação da rigidez) pode aumentar mediante a um maior esfriamento da solução em repouso.

Os principais fatores que influenciam na gelificação são a quantidade e espécie de amido, a temperatura, a adição de ácido e o armazenamento (Bragante, 2009). A temperatura, segundo Ribeiro (2011), é um fator diretamente ligado à viscosidade do gel, pois se o resfriamento da solução concentrada ocorrer de forma rápida, o gel estará formado, todavia, se as soluções forem deixadas em repouso, o amido tende a precipitar, entretanto, destaca que com o resfriamento os polímeros nativos se reagrupam, liberam água e danificam o gel formado.

A viscosidade da pasta de amido formada no processo de gelificação pode ainda ser fragmentada pela agitação mecânica, como o amido de mandioca, pois ele tem alto poder de inchamento, mas se tornam frágeis frente à agitação, levando à ocorrência de sinérese (RIBEIRO, 2011).

Em pré-testes realizados anteriormente, os problemas advindos da formação do gel não foram observados, todavia os frutos forma observados por apenas 5 dias de armazenamento e mantidos em temperatura de 13 °C, indicando que o armazenamento à temperatura ambiente, assim como o tempo decorrido de armazenamento influenciaram na capacidade da manutenção da película formada no fruto.

4.2. Avaliação 'in vivo' do efeito do revestimento com óleo essencial de laranja doce conjugado com tratamento de cálcio na preservação da qualidade e controle do crescimento de fungos

4.2.1. Perda de massa

Os resultados obtidos da perda de massa dos frutos aos 7 dias de armazenamento se encontram na Figura 3.

Pelos resultados pode-se observar que houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados. O tratamento contendo óleo essencial de laranja doce com fécula de mandioca e cálcio não diferiu estatisticamente dos tratamentos controle e com cálcio ao nível de 1 % pelo teste t de Student, todavia, diferiram estatisticamente dos frutos contidos nos tratamentos com 3,0 % de fécula de mandioca e de 3,0 % de fécula de mandioca com 1,0 % de cálcio.

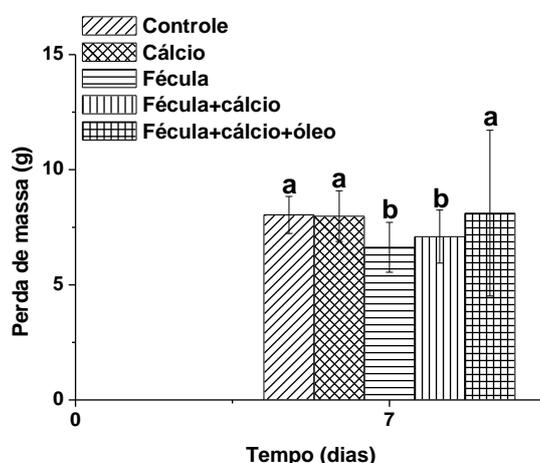


Figura 3 – Perda de massa após sete dias de armazenamento de mamões Golden que passaram por diferentes tratamentos de revestimento com fécula de mandioca a 3 %, cálcio a 1 % e óleo essencial de laranja doce a 1 %.

A maior perda de massa observada nos frutos que passaram pelo tratamento contendo óleo essencial de laranja doce pode ser atribuída à baixa aderência da fécula contendo o óleo de laranja doce, quando comparada à menor perda de massa nos frutos do tratamento de revestimento de fécula pura (Figura 3). Tal fato indica a ocorrência de um problema tecnológico na formação do gel de amido, o que, segundo Ribeiro (2011), pode ser atribuída à agitação

de 20 minutos após o processo de geleificação, o que ocasionou uma maior sinérese e consequente redução de viscosidade.

Resultado similar ao observado foi verificado por Soares et al (2011) e Ramos et al (2013) com a utilização de fécula de mandioca na conservação de goiabas, Silva et al (2011) na conservação de mexerica-do-rio e Júnior et al (2007) na conservação de mangas. Todavia, no estudo de amadurecimento de mamão formosa com revestimento comestível a base de fécula de mandioca, Pereira et al (2006) não verificou diferença significativa entre a perda de massa dos frutos tratados com fécula quando comparados aos frutos controle.

No uso de revestimentos alternativos na conservação de maracujá-amarelo, Silva et al (2009) observou que com a utilização de fécula de mandioca a 2 % a perda de massa dos frutos tratados com fécula foi maior que a do grupo controle.

4.2.2. Determinação do crescimento de fungos nos frutos

A contaminação microbiológica nos frutos se iniciou no sétimo dia de armazenamento, sendo, então, avaliada a cada 3 dias. A evolução do crescimento fúngico durante os 20 dias de armazenamento pode ser observada na Figura 4.

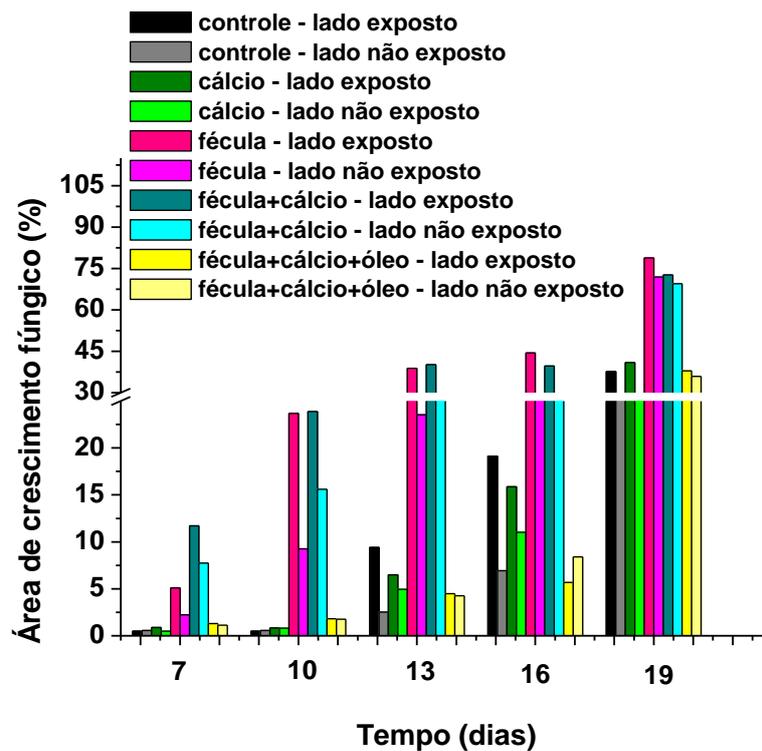


Figura 4 – Caracterização da área de crescimento de fungos na casca de mamões Golden, que passaram por diferentes tratamentos de revestimento com fécula de mandioca a 3%, cálcio a 1% e óleo essencial de laranja doce a 1%, ao longo do tempo de armazenamento a 23 °C. As medidas estão apresentadas nos dois lados do fruto: lado exposto e não-exposto ao sol

Aos 7 dias de armazenamento os frutos dos tratamentos controle, de 3,0 % de fécula de mandioca e de 3,0 % de fécula de mandioca com 1,0 % de cálcio começaram a apresentar crescimento fúngico, sendo que nos tratamentos contendo fécula esse crescimento foi mais pronunciado. Já os frutos contendo apenas 1,0 % de cálcio e aqueles contendo 1,0 % de cálcio + 3,0 % de fécula de mandioca + 1,0 % de óleo de laranja doce, o crescimento passou a ser observado a partir do 13º dia de forma mais pronunciada.

Os tratamentos contendo 3,0 % de fécula de mandioca e 1,0 % de cálcio com 3,0 % de fécula de mandioca foram os que apresentaram maior crescimento microbiano durante os primeiros 13 dias de armazenamento, o que pode ser atribuído à utilização da fécula de mandioca pelo microrganismo como fonte

nutritiva. Todavia, no tratamento contendo cálcio essa evolução foi menor que a observada nos frutos que não sofreram adição de cálcio, indicando que o tratamento com cálcio pode ter poder de atrasar o desenvolvimento dos fungos (Figura 4).

Tal resultado se encontra em conformidade com o observado por Campo, Kwiatkowski e Clemente (2011) no estudo de conservação de morangos com revestimento a base de fécula de mandioca, em que o uso da mesma não reduziu a contaminação dos frutos, apresentando contaminação fúngica maior quando comparado ao grupo controle e inclusive no tratamento contra a antracnose, o que não foi observado por Henrique e Cereda (s.d.) no estudo de morangos e no trabalho de Oliveira (2013) no estudo de mamões.

Na avaliação do desenvolvimento fúngico, outro fator observado foi a ocorrência de diferença estatística de crescimento de fungos nos dois lados dos frutos: lado exposto e lado não exposto, ue foi comprovado pelo teste de médias ao nível de 1 % pelo teste t de Student (Tabela 1). Nota-se que houve efeito significativo dos tratamentos, do tempo e também do lado de exposição. Desta forma, destaca-se que o lado do fruto exposto ao sol apresentou maior desenvolvimento de fungos, conforme observado na Figura 4.

Tabela 1: Quadro de análise de variância dos cinco tratamentos e interação dos tratamentos estudados com o tempo de armazenamento e também do crescimento de fungos no lado exposto e não-exposto ao sol

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	242693,1394	60673,2848	159,3621**
Tempo	4	541465,6312	135366,4078	355,5481**
Lado	1	16458,1909	16458,1909	43,2284**
Int. TratxTempo	16	62179,8723	3886,2420	10,2074**
Int. TratxLado	4	7596,6874	1899,1719	4,9883**
Int.TempoxLado	4	3236,7989	809,1997	2,1254 ns
Int. TratxTempoxLado	16	6525,7698	407,8606	1,0713 ns
Tratamentos	49	880156,0899	17962,3692	47,1792 **
Resíduo	1950	742415,8046	380,7261	
Total	1999	1622571,8946		

**significativo a 1 % pelo teste t de Student

Pela Tabela 1 pode-se observar que existe diferença significativa entre os tratamentos realizados, assim como pelo tempo e do lado fruto (exposto e não

exposto), todavia só houve interação significativa entre os tratamentos e o tempo de armazenamento e entre os tratamentos e o lado dos frutos. O quadro de médias da primeira interação se encontra na Tabela 2.

Tabela 2: Teste de médias das áreas de crescimento de fungos para os diferentes tratamentos de revestimento com fécula de mandioca a 3%, cálcio a 1% e óleo essencial de laranja doce a 1%, ao longo do tempo de armazenamento a 23 °C.

Tratamentos	Dias de armazenamento				
	7	10	13	16	19
Controle	0,5243 bC	0,5268 bC	5,9669 bC	13,0284 bcB	32,9556 bA
Cálcio	0,6814 Bc	0,8234 bC	5,7184 bC	13,4406 bB	34,0916 bA
Fécula	3,6619 bD	16,4604 aC	31,1721 aB	35,1851 aB	75,3849 aA
Cálcio+Fécula	9,7109 aD	19,7326 aC	34,7596 aB	33,7794 aB	71,0984 aA
Cálcio+Fécula+Óleo	1,2083 bB	1,7833 bB	4,3668 bB	7,0363 cB	37,3208 bA

Valores em uma mesma linha, seguidos por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5 % pelo teste t, enquanto valores em uma mesma coluna, seguidos por letras minúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5 % pelo teste t.

Pelo teste de médias pode-se verificar que no 7º dia de armazenamento apenas o tratamento contendo 1,0 % de cálcio + 3,0 % de fécula de mandioca tiveram crescimento fúngico, o que foi observado a partir do 10º dia para o tratamento com 3,0 % de fécula de mandioca, sendo que não houve diferença significativa entre os demais tratamentos até o 19º dia de armazenamento.

O tratamento contendo 1,0 % de cálcio + 3,0 % de fécula de mandioca + 1,5 % de óleo essencial de laranja doce obteve os melhores resultados ao longo do armazenamento quando observadas as diferenças entre os tempos dentro do mesmo tratamento, sendo que apenas no último dia de armazenamento apresentou resultados diferentes dos demais tempos.

A diferença observada quanto aos lados dos frutos destacou que existe maior contaminação no lado exposto do fruto quando comparado ao não exposto entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3 - Médias da interação entre os tratamentos e os lados exposto e não exposto dos frutos

Tratamentos	Lado do fruto	
	Não exposto	Exposto
Controle	7,7634 bB	13,4374 bA
Cálcio	8,9052 bB	12,9970 bA
Fécula	26,5771 aB	38,1687 aA
Cálcio+Fécula	30,0350 aB	37,5974 aA
Cálcio+Fécula+Óleo	10,4598 bA	10,2263 bA

Valores em uma mesma linha, seguidos por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5 % pelo teste t, enquanto valores em uma mesma coluna, seguidos por letras minúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5 % pelo teste t.

Todavia, esta diferença não foi observada no tratamento contendo a adição de óleo de laranja doce, sendo que a maior contaminação em ambos os lados foi identificada nos tratamentos de 3,0 % de fécula de mandioca e 3,0 % de fécula de mandioca + 1,0 % de cálcio. Ao final do experimento todos os tratamentos apresentaram contaminação fúngica.

4.2.3. Análise colorimétrica

Os dados obtidos pela análise colorimétrica se encontram descritos na Figura 5, todavia no 7º dia de armazenamento, cerca de 60 % dos frutos nos tratamentos contendo 3,0 % de fécula de mandioca e de 1,0 % de cálcio + 3,0 % de fécula de mandioca apresentavam contaminação, o que impossibilitou a realização da análise colorimétrica, visto que o número amostral estava comprometido.

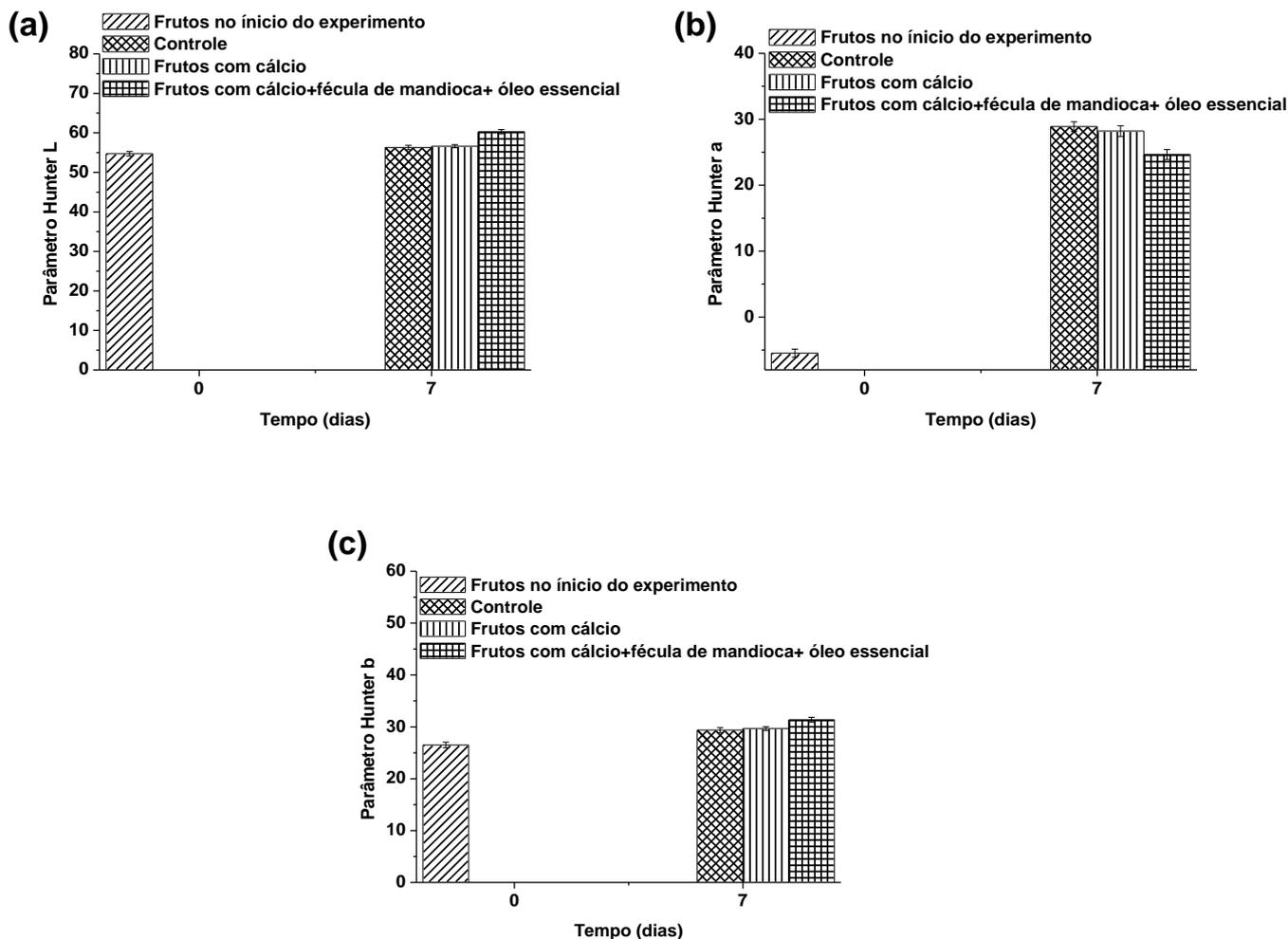


Figura 5 – Parâmetros colorimétricos de Hunter L, a e b nos diferentes tratamentos

Pela observação da Figura 5 pode-se verificar que aos 7 dias de armazenamento os frutos já apresentavam os parâmetros de Hunter L, a e b, entretanto, na análise de Hunter a, pode-se verificar que houve um retardo no aumento da coloração vermelha nos frutos do tratamento de 1,0 % de cálcio + 3,0 % de fécula de mandioca + 1,0 % de óleo essencial de laranja doce.

Apesar de não terem sido avaliados os parâmetros de Hunter L, a e b para os frutos tratados com fécula e os frutos tratados com cálcio e fécula observou-se uma retardo na perda da coloração esverdeada.

Santos et al (2006) observaram comportamento semelhante no uso de fécula de mandioca em mamões do tipo formosa, o que também foi observado por Castricini, Coneglian e Deliza (2012) no estudo dos efeitos sensoriais do uso de fécula de mandioca em mamões, entretanto, Pereira et al (s.d.) no estudo da

aplicação de fécula de mandioca em mangas observou que apesar do retardo na perda de cor, com concentrações acima de 3 % de fécula de mandioca houve a inibição do desenvolvimento normal do fruto e o surgimento de manchas verdes.

5. Conclusão

Os ensaios de fitotoxicidade do óleo essencial de laranja doce aplicado junto com o revestimento de fécula de mandioca indicaram distúrbios fisiológicos em concentrações acima de 1%.

Os mamões Golden tratados com 1% de cálcio e revestidos com filme de fécula de mandioca a 3% apresentam menor perda de massa que os frutos sem revestimento, entretanto apresentam maior desenvolvimento de fungos.

Os mamões tratados com 1% de cálcio e com revestimento ativo contendo 3 % de fécula de mandioca e 1% de óleo essencial de laranja doce são mantidos com baixa contaminação de fungos durante 16 dias de armazenamento, atingindo 7% de contaminação, ao passo que os frutos tratados apenas com revestimento de fécula de mandioca alcançam mais de 35 % de contaminação.

6. Referências Bibliográficas

Andrade, P.F.S. (2012). Fruticultura – Análise da conjuntura agropecuária. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Disponível em > www.agricultura.pr.gov.br<. Acesso em maio de 2017.

- Bautista-Baños, S.; Hernández-López, M.; Bosquez-Molina, E.; Wilson, C.L. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop Protection*, 22, 1087-1092p. 2003.
- Bragante, A.G. Processo de gelificação em alimentos. 2009. Disponível em ><http://abgtecalim.yolasite.com/resources/Processo%20de%20Gelifica%C3%A7%C3%A3o%20em%20Alimentos.pdf><. Acesso em maio de 2017.
- Campos, R.P.; Kwiatkowski, A.; Clemente, E. Post-harvest conservation of organic strawberries coated with cassava starch and chitosan. 2011. *Rev. Ceres*, v.58(5), p.554-560.
- Castricini, A.; Coneglian, R. C. C.; Deliza, R. Starch edible coating of papaya: effect on sensory characteristics. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2012, vol.32, n.1, p.84-92. 2012.
- Cia, P. Doenças de pós-colheita em frutas (caqui, maracujá-doce e nêspera). Disponível em >edisciplinas.usp.br<. Acesso em maio de 2017.
- Henrique, C.M.; Cereda, M.P. Utilização de biofilmes na conservação pós-colheita de morango (*Fragaria Ananassa Duch*) cv IAC Campinas. *Ciênc. Tecnol. de Alimentos*, 1999, v. 19 (2), p.231-233.
- Júnior, C.L.S.; Moraes, T.C.; Martins, J.A.B.; Freire, M.G.M. Controle da antracnose em mamão por extratos vegetais. *Perspectivas online*, v.1 (1), 99-105p., 2011.
- Júnior, L.S.; Fonseca, N.; Pereira, M.E.C. Uso de fécula de mandioca na pós-colheita de manga 'surpresa'. 2007. *Rev. Bras. Frutic.*, v.29 (1), p.67-71.
- Lima, J.S.S. Desenvolvimento de revestimento à base de concentrado protéico de soro de leite e óleo essencial de erva doce e sua eficiência na vida pós-colheita de mamão 'Golden'. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará. 2015. 75p.
- Marpudi, S.L.; Abirami, L.S.S.; Pushkala, R.; Srividya, N. Enhancement of storage life and quality maintenance of papaya fruits using aloe vera based antimicrobial coating. *Indian Journal of Biotechnology*, v.10, 83-89p., 2011.
- Oliveira, A.A.R.; Filho, H.P.S.; Filho, P.E.M. Manejo de doenças do mamoeiro. Embrapa. Disponível em >ainfo.cnptia.embrapa.br<. Acesso em maio de 2017.
- Oliveira, B.F. Película de amido de mandioca, associada ou não, a óleos essenciais no controle pós-colheita da antracnose em mamão. Dissertação (Mestre em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras. 2013.93p.
- Pereira, M.E.C.; Silva, A.S.; Santos, V.J.; Souza, E.G.; Ledo, C.A.S.; Lima, M.A.C.; Amorim, T.B.F. Aplicação de revestimento comestível para conservação pós-colheita da manga 'Tommy Atkins' em temperatura ambiente. Disponível em >http://www.cpatsa.embrapa.br/public_eletronica/downloads/OPB835.pdf<. Acesso em maio de 2017.
- Pereira, M.E.C.; Silva, A.S.S.; Bispo, A.S.R.; Santos, D.B.; Santos, S.B.; Santos, V.J. Amadurecimento de mamão formosa com revestimento comestível à base de fécula de mandioca. *Ciênc. Agrotec.* V.30 (6), 1116-1119p. 2006.
- Ramos, A.R.P.; Barbosa, A.C.A.; Silva, E.F.; Souza, E.M.; Ono, E.O.; Rodrigues, J.D. Conservação de goiaba cv. 'Paluma' com utilização de biofilme comestível. 2013. *Cultivado o saber*, v.6 (3), p.143-154.

- Ramos, I.A.Q. A antracnose, uma doença limitante para a produção de mamão. Disponível em >www.croplifela.org<. Acesso em maio de 2017.
- Ribeiro, A.P.L. Estudo dos amidos de mandioca nativo, modificados e modificados combinados por via química para utilização na indústria alimentícia. 2011. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, 111p.
- Ruiz-Pérez, N.J.; González-Ávila, M.; Sánchez-Navarrete, J.; Toscano-Garibay, J.D.; Moreno-Eutimio, M.A.; Sandoval-Hernández, T.; Arriaga-Alba, M. Antimycotiv activity and genotoxic evaluation of Citrus sinensis and Citrus latifolia essential oils. *Scientific Reports*, 6, 2016. 1-9p.
- Silva, D.F.P.; Siqueira, D.L.; Santos, D.; Machado, D.L.M.; Salomão, L.C.C. Recobrimentos comestíveis na conservação pós-colheita de 'mexerica-do-Rio'. 2011. *Rev. Bras. Frutic.*, Volume especial, E357-362.
- Silva, L.J.B.; Souza, M.L.; Neto, S.E.A.; Morais, A.P. Revestimentos alternativos na conservação pós-colheita de maracujá-amarelo. 2009. *Rev. Bras. Frutic.*, v. 31(4), p.995-1003.
- Silva, O.F.; Soares, A.G. Recomendações para prevenção de perdas pós-colheita do mamão. Documentos Embrapa nº 44. 2001.
- Silva, W.B. Efeito do cloreto de cálcio e do uso de cobertura comestível a base de quitosana na conservação pós-colheita do mamão UENF/Caliman01. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Dissertação (Mestre em Produção Vegetal). 2014. 128p.
- Soares, N.F.F.; Silva, D.F.P.; Camilloto, G.P.; Oliveira, C.P.; Pinheiro, N.M.; Medeiros, E.A.A. 2011. Antimicrobial edible coating in post-harvest conservation of guava. *Rev. Bras. Frutic.*, Volume especial, E.281-289.
- Solgi, J.; Ghorbanpour, M. 2014. Application of essential oils and their biological effects on extending the shelf-life and quality of horticultural crops. *Trakia Journal of Sciences*, 2, 198-200.
- Yulia, E.; Shipton, W.A.; Coventry, R.J. Activity of some plants oils and extracts against colletotrichum gloeosporioides. *Plant Pathology Journal*, v.5 (2), p. 253-257., 2006.

RESUMO E CONCLUSÃO GERAL

O presente estudo realizou duas abordagens de pesquisas voltadas para o desenvolvimento de tecnologias aplicadas à preservação da qualidade dos mamões e aumento de vida útil dos frutos. A primeira abordagem foi voltada para o estudo de modelagem da taxa de respiração do mamão em diferentes condições de atmosfera controlada, procurando a determinação de modelos de taxa de respiração que possam ser aplicados no projeto de embalagens apropriadas para o armazenamento dos frutos. A segunda abordagem de pesquisa foi voltada ao desenvolvimento de um revestimento ativo à base de fécula de mandioca, adicionado de óleo essencial de laranja doce aplicado para o controle do crescimento de fungos. O trabalho contempla o tratamento de cálcio nos frutos para aumentar a firmeza e ajudar na preservação de qualidade.

No estudo de respiração verificou-se que a taxa de respiração do mamão Golden aumenta durante a estocagem em temperatura ambiente sob diferentes composições de atmosferas de armazenamento, sendo minimizada em atmosfera com baixo conteúdo de O_2 .

A modelagem matemática da taxa de respiração baseada na equação de regressão não linear de segunda ordem, que correlaciona diferentes condições de atmosfera durante o tempo de armazenamento de mamões Golden, proporcionou o melhor ajuste relacionado com o menor valor de A/Cc para a variância do tipo VarPow, indicando o melhor ajuste dos dados experimentais em comparação com o modelo incompetitivo de Michaelis-Menten, que por sua

vez apresentou o melhor ajuste entre os diferentes modelos cinéticos Michaelis-Menten. Contudo, a utilização deste modelo com parâmetros cinéticos que variam durante o tempo de estocagem aplicando abordagem de equação de segundo grau (MM_{IQ}) mostrou um melhor ajuste que o modelo de regressão não linear avaliado pela variância do tipo homocedástica. Além disso, o modelo MM_{IQ} foi mais sensível que o modelo de regressão não linear em detectar as mudanças reais da taxa de respiração relacionadas com um sistema biológico, em função de diferentes composições de atmosfera de armazenamento.

Na avaliação de tratamentos para preservação da qualidade e aumento de vida útil dos frutos, verificou-se que o tratamento do mamão por imersão em um tempo máximo de 120 min em solução de cálcio variando de 0,1 % até 3 % foi efetivo para aumentar a concentração no tecido da casca e na parte externa e interna da polpa. Este gradiente de concentração de cálcio em função do tempo de imersão do fruto aumenta intensamente nos primeiros 30 minutos de imersão em solução de cálcio igual ou maior que 1 %, atingindo os maiores valores conforme a proporção da concentração da solução de imersão, porém mantendo o patamar de concentração após este tempo de imersão.

Na imersão em concentração de cálcio menor do que 1 % ocorre um aumento mínimo de cálcio na casca e na polpa ao longo de 120 minutos, porém a sua concentração na casca e na polpa do fruto é pouco expressiva.

O tratamento por imersão na concentração de 1% de cálcio promove um aumento acentuado da concentração de cálcio na casca e na parte externa da polpa em 30 minutos, porém na parte interna da polpa este aumento é mais expressivo aos 60 minutos, quando atinge um patamar de concentração máxima de equilíbrio, com variação pouco significativa ao longo do tempo.

Nos ensaios de análise de firmeza confirmou-se que o tratamento por imersão em solução de 1% de cálcio por 60 minutos foi efetivo para manter a maior firmeza da casca, da polpa externa e da polpa interna dos frutos armazenados por 12 dias em temperatura ambiente (23 °C). Entretanto, este tratamento não apresentou diferença significativa nas análises de perda de massa e cor da casca dos frutos em relação ao tratamento controle.

Para aplicação do óleo essencial de laranja doce, os ensaios 'in vitro' mostraram que do óleo essencial de laranja doce é efetivo no controle do crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. A concentração mínima inibitória (CMI) ficou em torno de 1%, ao passo que a concentração inibitória foi conseguida com 3,5 % de óleo.

Na aplicação do revestimento nos frutos, os ensaios de fitotoxicidade do óleo essencial de laranja doce aplicado junto com o revestimento de fécula de mandioca indicaram distúrbios fisiológicos em concentrações acima de 1%.

Os mamões Golden tratados com 1% de cálcio e revestidos com filme de fécula de mandioca a 3% apresentam menor perda de massa que os frutos sem revestimento, entretanto apresentam maior desenvolvimento de fungos.

Os mamões tratados com 1% de cálcio e com revestimento ativo contendo 3 % de fécula de mandioca e 1% de óleo essencial de laranja doce são mantidos com baixa contaminação de fungos durante 16 dias de armazenamento, atingindo 7% de contaminação, ao passo que os frutos tratados apenas com revestimento de fécula de mandioca alcançam mais de 35 % de contaminação.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Análise estatística descritiva da avaliação de perda de massa dos frutos revestidos com as concentrações de 0,1 %, 0,5 % e 1,0 % de cálcio nos tempos de 30 e 60 minutos de imersão e do grupo Controle.

0,1% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	6,9885	14,0825	9,0300	4,0400	0,3159	8,1724	40
60	6,1450	14,4924	8,2600	4,5900	0,2858	8,6551	40
0,5% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	6,8472	12,4232	8,3200	5,0600	0,2730	6,3600	40
60	6,9202	12,0886	8,8800	5,5200	0,2685	6,0221	40
1,0 % de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	7,0360	15,7572	9,2700	5,1200	0,3558	10,2317	40
60	7,0540	15,6967	10,3800	5,1000	0,3554	10,1534	40
Controle							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
0	6,6205	22,7467	9,8200	3,4800	0,4834	21,3221	40

APÊNDICE B

APÊNDICE B.1 - Análise estatística descritiva da avaliação de textura dos frutos revestidos com as concentrações de 0,1 %, 0,5 % e 1,0 % de cálcio nos tempos de 30 e 60 minutos de imersão e do grupo Controle na casca.

0,1% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	10,8265	6,0345	12,0750	9,3450	0,2097	1,5006	40
60	11,2006	7,7419	13,3350	9,4550	0,2783	2,4699	40
0,5% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	11,7395	13,4262	18,0400	10,1000	0,5059	7,4285	40
60	12,2395	9,0871	14,4500	10,2000	0,3569	3,4028	40
1,0 % de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	11,9061	8,4376	14,9100	10,3300	0,3224	2,9338	40
60	14,4389	16,7251	21,0050	12,0250	0,7751	11,5274	40
Controle							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
0	6,3826	20,42	8,9450	3,1950	0,4183	17,1848	40

APÊNDICE B.2 - Análise estatística descritiva da avaliação de textura dos frutos revestidos com as concentrações de 0,1 %, 0,5 % e 1,0 % de cálcio nos tempos de 30 e 60 minutos de imersão e do grupo Controle na polpa externa.

0,1% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	3,5174	23,5220	6,2750	2,300	0,2655	22,8003	40
60	3,87	34,8161	8,6550	1,8000	0,4324	49,9519	40
0,5% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	3,7348	29,7840	6,4750	2,2150	0,3570	36,5561	40
60	3,8696	41,3792	11,4550	1,79250	0,5139	70,5596	40
1,0 % de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	3,7945	25,7995	6,3750	2,3000	0,3142	27,4294	40
60	5,89750	30,9235	10,0150	2,7500	0,5853	39,4068	40
Controle							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
0	2,7579	34,3885	6,2750	2,3000	0,2655	22,8003	40

APÊNDICE B.3 - Análise estatística descritiva da avaliação de textura dos frutos revestidos com as concentrações de 0,1 %, 0,5 % e 1,0 % de cálcio nos tempos de 30 e 60 minutos de imersão e do grupo Controle na polpa interna.

0,1% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	1,9616	169,4513	22,3050	0,7750	1,0669	1183,2654	40
60	1,5130	74,7013	6,9450	0,6200	0,3627	229,9582	40
0,5% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	1,6556	31,7647	3,0250	0,5800	0,1688	41,5798	40
60	1,8238	43,8032	4,8850	0,4825	0,2564	79,0685	40
1,0 % de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	1,7085	28,2686	3,5200	1,2700	0,1550	32,9307	40
60	4,0070	44,4385	8,3400	1,0700	0,5715	81,3790	40
Controle							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
0	0,6723	53,0218	2,0550	0,1000	0,1144	115,8514	40

APÊNDICE C - Análise estatística descritiva dos parâmetros de Hunter

APÊNDICE C.1 - Análise estatística descritiva do parâmetro de Hunter L dos frutos revestidos com as concentrações de 0,1 %, 0,5 % e 1,0 % de cálcio nos tempos de 30 e 60 minutos de imersão e do grupo Controle na casca.

0,1% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	62,1346	2,4951	65,0331	58,3111	0,4976	0,2565	40
60	60,8424	2,3829	63,0909	57,5758	0,4653	0,2340	40
0,5% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	61,7696	1,9226	64,0969	58,3710	0,3812	0,1523	40
60	60,3895	2,8754	64,1369	55,6341	0,5573	0,3407	40
1,0 % de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	60,1962	3,2137	63,1104	55,7087	0,6209	0,4256	40
60	60,4204	2,7833	63,8523	57,0115	0,5397	0,3192	40
Controle							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
0	62,5256	1,9837	64,9606	59,9458	0,3981	0,1622	40

APÊNDICE C.2 - Análise estatística descritiva do parâmetro de Hunter a dos frutos revestidos com as concentrações de 0,1 %, 0,5 % e 1,0 % de cálcio nos tempos de 30 e 60 minutos de imersão e do grupo Controle na casca.

0,1% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	21,2602	8,1202	26,1755	18,1755	0,5541	2,7172	40
60	20,9383	7,4973	24,0462	18,4414	0,5039	2,3164	40
0,5% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	21,7311	9,2042	25,6971	18,4259	0,6420	3,4915	40
60	21,5020	10,0515	26,4131	16,9921	0,6937	4,1634	40
1,0 % de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	21,6574	10,3314	26,0835	16,5541	0,7181	4,3985	40
60	21,1850	11,4089	25,0670	15,3483	0,7757	5,3638	40
Controle							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coeficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
0	20,8771	6,5290	23,9730	18,6338	0,4375	1,7567	40

APÊNDICE C.3 - Análise estatística descritiva do parâmetro de Hunter b dos frutos revestidos com as concentrações de 0,1 %, 0,5 % e 1,0 % de cálcio nos tempos de 30 e 60 minutos de imersão e do grupo Controle na casca.

0,1% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	33,3676	2,4487	33,5922	30,7446	0,2544	0,2471	40
60	33,1543	2,8791	34,7185	30,7471	0,3063	0,3416	40
0,5% de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	32,7153	2,0328	33,7166	31,2171	0,2134	0,1702	40
60	32,3823	3,3372	34,0426	29,2473	0,3468	0,4589	40
1,0 % de cálcio							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
30	31,7769	3,8632	33,9864	28,6283	0,3940	0,6150	40
60	32,1633	4,0991	34,9581	29,3826	0,4231	0,6924	40
Controle							
Tempos de imersão (minutos)	Média Geral	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Intervalo de confiança (%)	Amostra ideal (10 %)	Nº de amostras
0	33,3675	2,2587	34,8594	31,7088	0,2419	0,2102	40

APÊNDICE D - Análise estatística da avaliação 'in vitro' do uso do óleo essencial de laranja doce para controle do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*

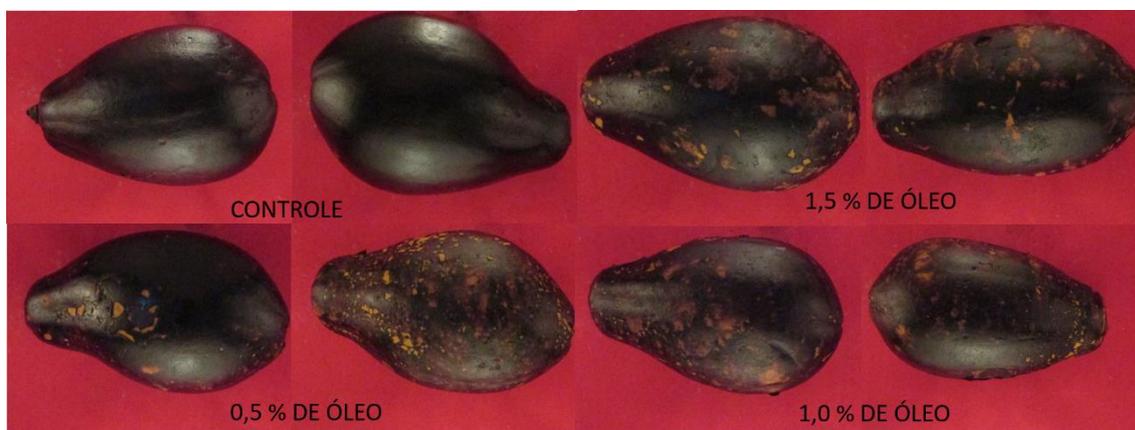
FV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	559.2400	139.8100	23.0410**
Tempos	7	197.3709	28.1958	4.6467**
TratxTemp	28	498.5917	17.8068	2.9346**
FatxControle	1	897.3152	897.3152	147.8793**
Tratamentos	40	2152.5179	53.81295	8.8685**
Resíduos	369	2239.0514	6.0678	
Total	409	4391.5694		

APÊNDICE E – Teste de médias da avaliação ‘in vitro’ do óleo essencial de laranja doce no controle de crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*

Tratamentos	Tempos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1,5 %	1.4114 abB	6.7092 aA	6.6530 aA	6.7535 aA	0.7005 aB	0.7663 aB	0.8078 aB	1.1868 aB
2,5 %	2.3719 aA	0.4311 bABC	1.4089 bABC	2.2218 bAB	0.1163 aBC	0.0255 aC	0.0495 aC	0.1988 aBC
3,5 %	0.3090 abA	0.6701 bA	0.0000 bA	0.0006 cA	0.0000 aA	0.0000 aA	0.0038 aA	0.1048 aA
4,5 %	0.0000 bA	0.0383 bA	0.0663 bA	0.5511 bcA	0.0000 aA	0.0000 aA	0.0000 aA	0.0000 aA
5,5 %	0.0003 bA	0.0000 bA	0.0000 bA	0.0000 cA	0.0000 aA	0.0000 aA	0.0000 aA	0.0000 aA

Valores em uma mesma linha, seguidos por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5 % pelo teste t, enquanto valores em uma mesma coluna, seguidos por letras minúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5 % pelo teste t.

APÊNDICE F – Frutos submetidos ao estudo fito-tóxico do óleo essencial de laranja doce em diferentes concentrações e a ocorrência de problemas na formação do gel.



APÊNDICE G – Frutos durante o tempo de armazenamento do estudo de controle do crescimento fúngico com a utilização do óleo essencial de laranja doce nos diferentes tratamentos avaliados

Tratamento aplicado	Tempo de armazenamento					
	0 dias	7 dias	10 dias	13 dias	16 dias	20 dias
Controle						
1,0 % de cálcio por 60 minutos						
3,0 % de fécula de mandioca						

Tratamento aplicado	Tempo de armazenamento					
	0 dias	7 dias	10 dias	13 dias	16 dias	20 dias
1,0 % de cálcio por 60 minutos + 3,0 % de fécula de mandioca						
1,0 % de cálcio por 60 minutos + 3,0 % de fécula de mandioca adicionada de 1,0 % de óleo essencial de laranja doce						