

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE DOUTORADO**

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO  
(*Syzygium aromaticum*) E DE REVESTIMENTOS COM  
FÉCULA SOBRE A ANTRACNOSE EM MAMÃO NA PÓS-  
COLHEITA**

**DANIELE DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**

**JUNHO - 2019**

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO (*Syzygium aromaticum*) E DE REVESTIMENTOS COM FÉCULA SOBRE A ANTRACNOSE EM MAMÃO NA PÓS-COLHEITA**

**DANIELE DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA**

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2019

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Franceli da Silva

**Coorientador:** Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança

**Coorientadora:** Dr.<sup>a</sup> Ronielli Cardoso Reis

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**

**JUNHO - 2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

B333b

Batista, Daniele de Vasconcellos Santos.

Bioatividade do óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) e de revestimentos com fécula sobre a antracnose em mamão na pós-colheita / Daniele de Vasconcellos Santos Batista. – Cruz das Almas, BA, 2019.

98f.; il.

Orientadora: Franceli da Silva.

Coorientadora: Ronielli Cardoso Reis.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas.

1.Mamão – Pós-colheita – Antracnose. 2.Mamão – Doenças e pragas. 3.Essências e óleos essenciais – Avaliação. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Bragança, Carlos Augusto Dórea. III.Título.


CDD: 634.651

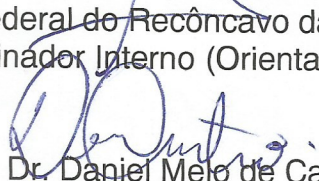
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE DOUTORADO

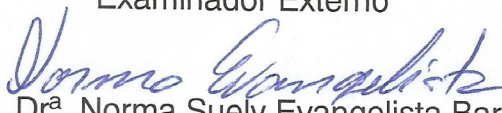
BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO (*Syzygium aromaticum*) E DE REVESTIMENTOS COM FÉCULA SOBRE A ANTRACNOSE EM MAMÃO NA PÓS-COLHEITA


COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE DANIELE DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA


Realizada em 11 de junho de 2019

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Franceli da Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Interno (Orientadora)

  
Prof. Dr. Daniel Melo de Castro  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Externo

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Norma Suely Evangelista Barreto  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Externo

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cintia Armond  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Externo

  
Dr<sup>a</sup>. Fabiana Fumi Cerqueira Sasaki  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
Examinador Externo

Ao Pai celestial, responsável por essa e todas as minhas conquistas. A Nossa Senhora pela intercessão diária.

A minha filha Melissa. Que essa tese seja um exemplo de incentivo e perseverança na busca dos seus sonhos.

Ao meu esposo Danívio, pelo carinho e apoio nas diversas etapas do doutorado.

Aos meus pais, Djalma e Denize e minha irmã Daiane pelas orações.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A caminhada, seja ela qual for, nos permite contemplar diferentes paisagens, algumas agradáveis outras nem tanto assim. Entretanto, se olharmos com atenção será possível perceber a importância de todos os cenários em nossa transformação interior. Isso é gratificante!

Dessa forma quero registrar os meus sinceros agradecimentos a todos que fizeram parte dessa caminhada. Foram muitos os momentos de luta e estes, com certeza, foram suavizados com a presença daqueles que doaram carinho por meio de gestos e palavras. Porém, inicialmente agradeço a Deus por me permitir avançar mais um degrau da minha formação profissional e vivenciar essa jornada com cada um de vocês. ELE nunca nos desampara, mesmo quando a fé se abala.

Obrigada aos familiares que vibraram por meu sucesso. Cada oração a mim destinada se converteu em força para seguir firme. E eu segui. Danívio e Melissa, sinônimo de amor, carinho, força, boas energias... O que seria de mim sem vocês? Aos meus pais Djalma e Denize e irmã Daiane pela torcida e orações. Obrigada!

A minha orientadora Dr<sup>a</sup>. Franceli da Silva por me permitir integrar a equipe e desenvolver uma linha de pesquisa diferente da rotina do GEPLAM, contudo alinhada a minha formação profissional.

Aos meus coorientadores Dr.<sup>a</sup> Ronielli Reis por dedicar, gentilmente, tempo e atenção as minhas dúvidas que não foram poucas. Ao Dr. Carlos Bragança por todo conhecimento e ajuda.

A Dr<sup>a</sup>. Fabiana Fumi Cerqueira Sasaki, aos analistas Jaciene Lopes, Leandro Rocha e Lene por contribuírem com o desenvolvimento da pesquisa em diferentes momentos.

Aos integrantes do Grupo de Pesquisa em Plantas Aromáticas, Medicinais e Condimentares - GEPLAM que acompanharam de perto boa parte da minha pesquisa. Que bom ter sido acolhida logo no início e desfrutar da companhia da maioria até os dias de hoje. São muitos os colegas que compartilharam comigo o crescimento pessoal, em especial Simone, Jain, Sara, Zuleide, Rosimar, Jamile Vanessa e Marcelino. Obrigada por me tratarem sem cerimônias. Lembrarei dos nossos momentos e sorrisos.

Digo o mesmo aos colegas do Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos - LCTA da Embrapa de quem recebi apoio durante 1 ano e 2 meses.

Jamile, Stephanie, Juliana, Luise, Palmira, Isabele, Arcson e Lucas, os dias em sua maioria foram de muito trabalho repletos de sorrisos e isso me ajudou bastante a seguir firme no propósito.

Impossível não citar o nome de Thaís Feijó, uma alma boa, cheia de alegria, que me ajudou bastante na área fitopatológica. Que bom que tive o prazer de conhecê-la e nos tornarmos amigas. Obrigada por tudo!

Agradeço aos amigos e colegas não envolvidos diretamente com a pesquisa, mas que são seres de luz e me rodearam nesses 4 anos. Cada palavra, sorriso, abraço, apoio e energia positiva transmitida foram fundamentais na minha trajetória.

Finalizo essa lista quebrando o protocolo ao citar um trecho do livro *Brida* de Paulo Coelho que me fez refletir bastante.

*“Estava na praia com o pai, e ele pediu para ver se a temperatura da água estava boa. Ela estava com cinco anos e ficou contente de poder ajudar; foi até a beira da água e molhou os seus pés.*

*- Coloquei os pés, está fria, disse para ele.*

*O pai pegou-a no colo, caminhou com ela até a beira do mar e, sem qualquer aviso, atirou-a dentro da água. Ela levou um susto, mas depois ficou contente com a brincadeira.*

*- Como está a água? Perguntou o pai.*

*- Está gostosa, respondeu.*

*- Então, daqui para frente, quando você quiser saber alguma coisa, mergulhe nela.”*

A vocês que me incentivaram a mergulhar nesse mar de conhecimentos, meu muito obrigada!

# SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>1</b>
<b>ARTIGO 1</b>	
Fungitoxidade in vitro do óleo essencial de cravo-da-índia sobre o <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .....	19
<b>ARTIGO 2</b>	
Controle pós-colheita da antracnose em mamão pelo uso de revestimentos a base de fécula de mandioca e óleo essencial de cravo-da-índia .....	46
<b>ARTIGO 3</b>	
Revestimentos comestíveis em mamão pós-colheita: impacto nas características físico-químicas e sensoriais .....	66
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>88</b>



## BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO (*Syzygium aromaticum*) E DE REVESTIMENTOS COM FÉCULA SOBRE A ANTRACNOSE EM MAMÃO NA PÓS-COLHEITA

Autora: Daniele de Vasconcellos Santos Batista

Orientadora: Franceli da Silva

**RESUMO:** A espécie *Syzygium aromaticum* (L.) conhecida popularmente como cravo é rica em óleo essencial que apresenta propriedades biológicas, a exemplo da atividade antifúngica. Objetivou-se analisar o efeito do óleo essencial de cravo no controle do *Colletotrichum gloeosporioides* e de revestimentos a base de fécula de mandioca e óleo essencial de cravo no controle da antracnose, bem como nas características físico-químicas e sensoriais em mamão na pós-colheita. O óleo essencial de cravo (OEC) foi obtido por hidrodestilação e analisado por cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Inicialmente, analisou-se in vitro a percentagem de inibição do crescimento micelial (PICM), o índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) e a produção de esporos do fungo cultivado em oito concentrações do OEC (0; 150; 300; 450; 600; 750; 900 e 1000  $\mu\text{L}^{-1}$ ). A avaliação da concentração mínima inibitória (CMI) e da germinação de esporos deu-se a partir de cinco concentrações (7400; 3700; 1850; 925 e 425,5  $\mu\text{L}^{-1}$ ). Posteriormente, investigou-se o efeito dos revestimentos OEC e suspensão fécula de mandioca (SFM), associada ou não ao OEC em mamões das variedades Aliança e Golden THB. O impacto dos revestimentos no controle da antracnose, nas características físico-químicas e sensoriais foram avaliados nos frutos armazenados em temperatura ambiente. Os resultados apontam o eugenol como composto majoritário do OEC, com representação de 83,09%. O óleo exerceu atividade antifúngica in vitro, reduzindo a produção de micélio e o seu IVCM. A paralização da esporulação ocorreu em concentração superior a 750  $\mu\text{L}^{-1}$  e a partir da CIM (1850  $\mu\text{L}^{-1}$ ) houve redução crescente no percentual dos esporos germinados. Ao avaliar a ação antifúngica dos revestimentos comestíveis observou-se que a presença da SFM isolada se destacou no controle da antracnose nos frutos das duas variedades, entretanto, a associação do SFM+OEC também apresentou inibição no desenvolvimento e velocidade de crescimento da lesão, com médias superiores aos controles nas duas variedades estudadas. Não houve impacto dos revestimentos nas características físico-químicas, contudo, interferiram na aceitação sensorial dos mamões. Para os provadores, os revestimentos SFM e OEC, aplicados isoladamente (variedade Golden THB) e o revestimento composto SFM+OEC (variedade Aliança) proporcionaram características sensoriais e intenções de compra semelhantes ao controle. Conclui-se que o OEC apresentou atividade antifúngica in vitro contra o *C. gloeosporioides*, porém para o controle da antracnose, sugere-se a utilização dos revestimentos a base de SFM por retardar o desenvolvimento da doença, proporcionar boa aceitação sensorial e manter inalteradas as características físico-químicas dos mamões na pós-colheita.

**Palavras-chave:** *Carica papaya*, atividade antifúngica, revestimento polissacarídeo, película comestível, planta medicinal.

## **BIOACTIVITY OF ESSENTIAL CLOVE OIL (*Syzygium aromaticum*) AND COATING WITH STARCH ON POSTHARVEST ANTHRACNOSIS IN PAPAYA**

Author: Daniele de Vasconcellos Santos Batista

Advisor: Franceli da Silva

**ABSTRACT:** A species of *Syzygium aromaticum* (L.) popularly known as clove is rich in essential oil that has a biological characteristic, such as antifungal activity. The objective of this study was to analyze the effect of clove essential oil on the production control of *Colletotrichum gloeosporioides* and cassava starch and clove essential oil coatings on the control of anthracnose, as well as on the physicochemical and sensory characteristics of post-harvest papaya. Clove essential oil (OEC) was obtained by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography and mass spectrometry. Initially, the percentage of mycelial growth inhibition (PICM), the mycelial growth rate index (IVCM) and the spore production of the fungus cultivated at eight OEC concentrations (0; 150; 300; 450; 600, 750, 900, and 1000  $\mu\text{L}^{-1}$ ). The minimum inhibitory concentration (MIC) and spore germination were evaluated from five concentrations (7400; 3700; 1850; 925 and 425.5  $\mu\text{L}^{-1}$ ). Subsequently, we investigated the effect of OEC coatings and cassava starch suspension (SFM), associated or not with OEC on papayas of the Alliance and Golden THB varieties. The impact of coatings on anthracnose control, physicochemical and sensory characteristics were evaluated in fruits stored at room temperature. The results indicate eugenol as the major compound of the OEC, with 83.09%. The oil exerted antifungal activity in vitro, reducing mycelium production and its IVCM. Sporulation paralysis occurred at a concentration higher than 750  $\mu\text{L}^{-1}$  and from MIC (1850  $\mu\text{L}^{-1}$ ) there was a growing reduction in the percentage of germinated spores. In evaluating the antifungal action of edible coatings, it was observed that the presence of isolated SFM stood out in the control of anthracnose in fruits of both varieties, however, the association of SFM + OEC also showed inhibition in the development and growth rate of the lesion, higher than the controls in the two varieties studied. There was no impact of the coatings on the physicochemical characteristics, however, interfered with the sensory acceptance of papayas. For the tasters, SFM and OEC coatings applied alone (Golden THB variety) and SFM + OEC composite coating (Alliance variety) provided sensory characteristics and purchase intentions similar to control. It was concluded that the OEC showed antifungal activity in vitro against *C. gloeosporioides*, but for the control of anthracnose, it is suggested the use of SFM based coatings to retard the development of the disease, provide good sensory acceptance and keep unchanged, physicochemical characteristics of post-harvest papayas.

**Keywords:** *Carica papaya*, antifungal activity, cassava starch, polysaccharide coating, medicinal plant.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### Plantas medicinais

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) planta medicinal é todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos (Veiga Junior, Pinto e Maciel, 2005). A utilização da flora com fins medicinais nasceu com a humanidade, sendo considerada uma das práticas mais antigas de prevenção, tratamento e cura de doenças (Firmo et al., 2011), em virtude dos compostos biologicamente ativos.

A literatura indica o uso de fitoterápicos, medicamentos preparados com plantas medicinais, por milhares de anos desde as civilizações mais antigas como a chinesa e a indiana (Firmo et al., 2011; Carvalho, 2012; Gakuya et al., 2013). Estima-se que, nos dias atuais, pelo menos 80% da população dos países em desenvolvimento façam uso de plantas. As prováveis razões para esse crescimento é a disponibilidade dos vegetais, o baixo custo e a ausência ou minimização de efeitos colaterais quando comparados com a terapia convencional medicinal (Firmo et al., 2011; Souza et al., 2013; Eddoukus et al., 2017). Em média, 71% dos novos medicamentos aprovados desde 1981 derivam de produtos naturais e os estudos etnobotânicos são os guias mais confiáveis para os seres humanos utilizarem os recursos abundantes de ervas que a natureza tem para oferecer (Guzel et al., 2015).

No Brasil, grande parcela das plantas medicinais são cultivadas em pequena escala por agricultores familiares. Há produtores que optam em manter as plantas no campo por não reconhecerem o potencial de venda ou comercializam as mudas, folhas ou raízes separadamente em feiras livres. Lopes et al. (2013) argumentam que o mercado brasileiro parece ainda ser muito receptivo às receitas tradicionais com plantas medicinais, sendo pouco exigente quanto a sua validação científica. Entretanto, os diversos ramos industriais exploram os bioativos das plantas medicinais e os produtores necessitam se preparar para atender a esse mercado.

De acordo com Varela e Azevedo (2014) o mercado mundial de fitoterápicos movimenta cerca de US\$ 22 bilhões por ano e vem abrangendo cada vez mais os países desenvolvidos. O Brasil possui a maior parcela da biodiversidade do mundo das quais muitas constituem a matéria prima para a fabricação desses

medicamentos. Cerca de 20% das 250 mil espécies medicinais catalogadas pela UNESCO (Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura) estão em território nacional (Maia et al., 2015).

É importante ressaltar que os mercados de plantas medicinais abrangem não apenas as farmácias de manipulação ou indústria, mas também o setor informal que comercializa as ervas em mercados populares. Por vezes, há carência de higiene e isso compromete a conservação do material que fica exposto a contaminação por insetos, aracnídeos e roedores (Bochner et al., 2012) comprometendo a preservação dos princípios ativos.

### **Metabólitos secundários**

Os bioativos são componentes orgânicos produzidos pelo metabolismo secundário dos vegetais como forma de adaptação aos estresses bióticos e abióticos. Quando necessário, tais mecanismos são ativados provocando alterações no metabolismo celular que produzem compostos químicos chamados princípios ativos (Pinto et al., 2011).

Diferente dos metabólitos primários, cuja função é promover o crescimento, desenvolvimento e reprodução, os metabólitos secundários garantem a adaptação do vegetal ao ambiente e como consequência, a perpetuação e a sobrevivência das espécies, seja por meio da proteção das plantas contra herbívoros e patógenos; como atrativos para animais polinizadores; ou mesmo como agentes de competição entre plantas e de simbiose entre plantas e microrganismos (Vizzoto, 2010; Braz Filho, 2010).

As indústrias alimentares, farmacêuticas, cosméticas e pesticidas utilizam os princípios ativos na formulação de produtos (Khanukja et al., 1999), entretanto para a utilização em escala comercial dos diferentes componentes químicos é preciso garantir a obtenção da produção homogênea dos metabólitos secundários, e isso requer conhecimento e cuidados no manejo das espécies vegetais.

As diferenças na composição química podem ser atribuídas às variações fisiológicas; condições ambientais (fotoperíodo, incidência solar, temperatura, umidade, precipitação), variações geográficas, fatores genéticos, irrigação, manejo do solo, a época de colheita (Gobbo-Neto e Lopes, 2007; Castro Neto et al., 2010;

Kiralan et al., 2012; Paulus et al. 2013; Teles et al., 2013 e Rajesh 2014; Dhouioui et al.; 2016; Matias et al., 2016), ormas de extração dentre outros.

Khanuja et al. (1999) divide quimicamente os metabólitos secundários em alcalóides, flavanoides, fenóis, polissacáridos gomosos, terpenos e quinonas. Outros autores classificam em componentes nitrogenados, compostos fenólicos e terpenos (Vizzoto, 2010; Santos et al., 2013a).

Os componentes nitrogenados são compostos com anel fenólico ligado ao nitrogênio produzidos pelo vegetal como mecanismo de defesa, por isso são encontrados em diferentes partes das plantas em momentos distintos do desenvolvimento. São famosos pela presença de substâncias que apresentam acentuado efeito no sistema nervoso. Os compostos fenólicos são caracterizados pela presença do anel aromático em que pelo menos um hidrogênio é substituído por hidroxila. São responsáveis pelo sabor, odor e cor dos vegetais (atrativos para a polinização e dispersão das sementes), proteção contra as injúrias, contra o ataque de animais e contra a ação dos raios ultravioletas. Já os terpenos são a classe estruturalmente mais variada e dependendo do número de carbono em sua composição podem ser voláteis e atraírem insetos polinizadores, bem como repelir patógenos, captar a luz nos fotossistemas e favorecer a fotossíntese. Atuam como antioxidantes e dissipadores dos radicais livres gerados pela fotossíntese, além de conferirem às plantas as cores amareladas, alaranjadas e avermelhadas (Vizzoto, 2010; Stangarlin et al., 2011; Santos et al., 2013a). Um dos metabólitos secundários são os óleos essenciais, que em virtude do seu potencial bioativo tem sido estudado em diferentes regiões do mundo.

### **Óleos essenciais**

Os óleos essenciais são exemplos de terpenos formados principalmente por monoterpenos e sesquiterpenos. Esse princípio ativo é um composto químico complexo, de baixo peso molecular, volátil, pouco solúvel em água e de aspecto oleoso em temperatura ambiente. É produzido pelo metabolismo secundário das plantas como meio de adaptação do vegetal ao meio. Os diferentes órgãos das plantas podem sintetizar esse princípio ativo, a exemplo das folhas, caules, flores, raízes e frutas (Maia et al., 2015).

Estruturalmente, o óleo também é armazenado em diferentes partes da planta. É possível encontrar óleo em locais superficiais como os tricomas

glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos e até em vacúolos para proteção e evitar a interação com partes vitais (Marques et al., 2008; Maia et al., 2015; Donsi & Ferrari, 2016).

Os óleos não são formados por apenas um único composto, são constituídos por dezenas e por vezes centenas de compostos em concentrações variadas, principalmente os terpenóides, álcoois, ácidos, ésteres, epóxidos, aldeídos, cetonas, aminas e sulfuretos (Valeriano et al., 2012; Calo et al., 2015; Karimi et al., 2016). Todavia, o teor de óleo produzido e a composição química não é fixa, sendo a variação em função do estresse provocado por fatores bióticos e abióticos, os mesmos que afetam a planta alterando o metabolismo secundário descrito no item anterior (Kiralan et al., 2012; Teles et al., 2013; Rajesh, 2014; Calo et al., 2015; Dhouioui et al.; 2016; Lung et al., 2016; Matias et al., 2016).

Inúmeras pesquisas exemplificam bem a contribuição desses fatores na composição química do óleo essencial. Estudando a planta de manjeriço cultivadas no Brasil, Amaral-Baroli et al. (2016) identificaram o eugenol de metilo (27.38%), o linalol (23.31 %) e  $\alpha$ -muurolol (30.62%) como compostos majoritários presentes no óleo essencial de *Ocimum basilicum*. Já os autores Abou El-Soud et al. (2015) caracterizaram o óleo essencial extraído de folhas do manjeriço cultivadas no Egito e observaram o linalol (48,4%), 1,8-cineol (12,2%) e eugenol (6,6%) como compostos majoritários da mesma espécie.

Em estudos feitos com o óleo essencial do cravo no ano de 2015, Oliveira et al. (2016) observaram quantidade do eugenol variando de 57,12% a 62,88 %. Gonzáles-Riveira et al. (2016) analisaram a composição química do óleo essencial de cravo obtido por hidrodestilação no ano de 2014 e observaram concentrações de 87,1%; 6,4%; 5,1% e 0,6% de eugenol, acetato eugenol, (E)-Caryophyllene e  $\alpha$ -humulene, respectivamente. Em outro estudo com hidrodestilação para extração de óleo essencial de cravo, o eugenol aparece novamente como o componente principal 52,53%, seguido de cariofileno 37,25%, humuleno 4,11% e acetato de eugenila 4,05% (Ascensão e Mouchrek Filho, 2013).

Essas variações possivelmente estão relacionadas as diferenças na época de cultivo, bem como nas condições geográficas, visto que as espécies foram cultivadas em distintas regiões do mundo. Consequentemente, haverá diferença nos fatores ambientais, na genética da planta, na época de colheita e nas condições de cultivo, corroborando com o que foi dito anteriormente.

Os compostos químicos presentes nos óleos essenciais apresentam atividades bioativas que são aproveitadas pelo homem na elaboração de fármacos, de cosméticos, utilizados como biopesticidas para o controle de pragas de animais e plantas, como agentes antioxidantes, antibacterianos e antifúngicos (Gulçin et al., 2012; Gakuya et al., 2013; Cai et al., 2014; Maia et al., 2015; Andrade e Vieira, 2016; Fancello et al., 2016; Muthumperumal et al., 2016; Sharma et al., 2017). Comercialmente os óleos essenciais são interessantes principalmente por serem de origem natural, o que geralmente representa menor risco ao meio ambiente e à saúde humana (Oliveira et al., 2016), por isso a busca de novos agentes antimicrobianos elaborados a partir de produtos naturais tem atraído muita atenção de pesquisadores.

### **Cravo- da- Índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry.)**

A espécie *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, sinônimo *Eugenia caryophyllata*, é uma planta da família Myrtaceae, nativa da Indonésia, com os botões florais aromáticos conhecidos popularmente como cravo (Cortés-Rojas et al., 2014) ou cravo-da-Índia. A árvore pode viver por até cem anos e atingir de 10 a 15 metros de altura, apresentar copa alongada, folhas oblongas e flores longopenduculadas, pequenas, aromáticas de coloração rósea ou avermelhada. Os frutos são do tipo drupa elipsoide (Harri, 2008; Oliveira et al., 2009; Cortés-Rojas et al., 2014; González-Rivera et al., 2016; Mbaveng e Kuete, 2017).

No Brasil, praticamente a região do Baixo Sul da Bahia se destaca como produtora de cravo na forma comercial. A principal atividade é a produção dos botões florais que depois de secos são usados como especiarias em alimentos ou destinados à extração do óleo essencial juntamente com as folhas e os frutos (Harri, 2008; Oliveira et al., 2009).

Na fase de maturação que antecede a floração, os botões florais do cravo são coletados manualmente ou por meio da aplicação do fitohormônio que libera o etileno no vegetal ocorrendo a maturação precoce (Cortés-Rojas et al., 2014). Os botões são secos ao ar e destinado a comercialização, seja como especiaria ou para a extração do óleo essencial.

O óleo do cravo é bastante usado na área medicinal em tratamentos analgésico e antiinflamatório; possui ação antioxidante em alimentos e com

significativa atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos (Gülçin et al., 2012; Aguilar-González et al., 2015; Chen et al., 2017; Mulla et al., 2017). A atividade antifúngica do óleo essencial já foi relatada por diversos autores e, dependendo da concentração testada, bem como da natureza do microrganismo e outros fatores, o produto pode apresentar ação fungitóxica ou fungicida.

De maneira geral, os óleos essenciais penetram na parede celular do fungo e interrompem a síntese de ATP, causando danos à parede celular. Essa ação é atribuída às substâncias presentes em sua composição que interagem com o lipídeo da membrana celular, causando mudanças na permeabilidade e estrutura da membrana fúngica. Outra hipótese é o extravasamento do citoplasma e o murchamento das hifas devido a penetração da quitina na parede das hifas (Costa et al., 2011; Santos et al., 2013b; Maia et al., 2015). Ocorre também a interferência no sistema de transporte de elétrons em virtude da desintegração da membrana mitocondrial (Tariq et al., 2019), resultando em desordens e morte celular.

Muitos autores atribuem a atividade antifúngica do óleo essencial de cravo ao eugenol, principal constituinte químico do óleo. Esse composto se difunde entre as membranas celulares dos fungos modificando a estrutura das membranas e perturbando o crescimento celular (Harri, 2008; Costa et al., 2011; Mangany et al. 2015).

Em estudo realizado por Mangany et al. (2015) foi avaliada a ação de dez diferentes óleos essenciais contra o microrganismo *Fusarium oxysporum*. Foi possível perceber que o óleo de cravo inibiu 83% do crescimento fúngico na concentração  $250 \mu\text{LL}^{-1}$  e 100% a partir da concentração de  $500 \mu\text{LL}^{-1}$ . Os autores Fialho et al. (2015) também relataram ações fungitóxica e fungicidas do óleo de cravo contra o fungo *Phakopsora euvitidis*, agente causal da ferrugem da videira. Na pesquisa, o aumento da concentração do óleo essencial de cravo inibiu proporcionalmente a germinação dos esporos, variando de 77% de inibição na menor concentração (0,1%) a 100% de inibição na maior concentração testada in vitro (4%). Os resultados apresentados expressam, em determinadas dosagens, apenas a inibição ou retardo do desenvolvimento fúngico (ação fungitóxica), já nas dosagens maiores ocorreu a paralização total, indicando a morte do microrganismo (atividade fungicida).

A ação sinérgica do eugenol com os demais componentes químicos do óleo essencial de cravo resultam na atividade antifúngica relatada em pesquisas



científicas. Essa ação tóxica nos fungos pode auxiliar no controle de doenças de plantas, reduzindo assim os danos econômicos em muitas culturas.

### **Antracnose em frutos de mamão (*Carica papaya* L.)**

A principal estratégia efetiva para o controle de doenças fúngicas pós-colheita é o uso de fungicidas sintéticos, porém o aumento da preocupação pública com os efeitos negativos dos agrotóxicos na agricultura estimula novas pesquisas na busca por produtos eficientes e menos agressivos. O uso de óleos essenciais no controle dos fungos fitopatogênicos, associado por exemplo a outros compostos naturais, pode ser uma prática viável, desde que sejam respeitadas as dosagens corretas e aplicadas de maneira eficiente.

Existem microrganismos responsáveis por causar danos econômicos às espécies agrícolas, são os chamados fungos fitopatogênicos. Dentre eles os gêneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phytophthora*, *Botrytis*, *Alternaria*, *Colletotrichum*, são frequentemente relatados na literatura como agentes responsáveis por danos econômicos em diferentes regiões do planeta (Ma et al., 2015; Choi et al., 2016; Medina-Córdova et al., 2016; Sarkhosh et al., 2017). Ali et al. (2016) apontam o gênero *Colletotrichum* como o oitavo grupo mais importante de fungos fitopatogênicos no mundo, compreendendo importantes espécies que causam doenças em diversas frutas tropicais e subtropicais.

O *Colletotrichum* sp. é um complexo fúngico (Firmino et al., 2014; Karimi et al., 2016) responsável pela antracnose em hortaliças e frutas. Há registros desse infectando pimenta, pimentão, abacate, morango, manga, banana, citros e mamão (Sousa et al., 2012; Bautista-Rosales et al., 2014; Ali et al., 2016; Boonruang et al., 2017; Lu et al., 2017; Sarkhosh et al., 2017), sendo no mamão (*Carica papaya* L.) o responsável por grandes perdas econômicas.

A espécie *C. papaya* é uma planta herbácea, tipicamente tropical com provável centro de origem o Noroeste da América do Sul. Vegeta muito bem em quase todo território brasileiro, sendo a Bahia o primeiro estado produtor. De maneira geral produz satisfatoriamente em regiões de grande insolação, com pluviosidade média anual bem distribuída e em altitudes de até 200 metros acima do nível do mar (Oliveira e Coelho, 2009).

A antracnose é uma das principais doenças dos frutos do mamoeiro no Brasil. Os fungos do gênero *Colletotrichum* podem atacar os mamões em qualquer estágio de desenvolvimento, porém a maior intensidade da doença ocorre nos frutos maduros (Oliveira et al., 2000; Siddiqui e Ali, 2014). A infecção inicial geralmente ocorre na fase de pré-colheita, quando o fungo se hospeda no vegetal. Os esporos ou micélios entram em contato com frutos jovens através de injúrias físicas na casca, se ligam à superfície do fruto, germinam e produzem estruturas de penetração. Normalmente, o microrganismo permanece latente até que os fatores ambientais e os frutos ofereçam condições e nutrientes apropriados para o seu crescimento (Boonruang et al., 2017; Lu et al., 2017).

A doença se espalha com o ar e o desenvolvimento é favorecido por temperaturas quentes e períodos prolongados de umidade. O ataque pode deixar as plantas propensas a outras infecções ou a colonização por outros patógenos oportunistas (Lu et al., 2017) a partir das feridas existentes na epiderme, elevando consideravelmente as taxas de perdas pós-colheita dos vegetais afetados.

Os sintomas da doença podem aparecer muito tempo após os estágios iniciais da infecção quando os frutos já estão maduros e prontos para a comercialização (Bautista-Rosales et al., 2014; Siddiqui e Ali, 2014). Os frutos jovens cessam o desenvolvimento, mumificam e caem do pé. Nos demais frutos surgem manchas pretas que evoluem, surgindo posteriormente ao redor um halo de tecido aquoso com coloração diferente da parte central. O fungo concentra-se na parte central da lesão, sendo identificado por sua frutificação que confere à lesão aspecto gelatinoso de coloração rósea (Oliveira et al., 2000; Cia e Benato, 2005).

Normalmente, o controle é feito com o uso de fungicidas a base de cobre, benzimidazol mais chlorotalonil ou mancozeb ou imergindo os frutos em água quente em combinação com fungicidas (Cia e Benato, 2005; Oliveira et al., 2000; Ong e Ali, 2015). Entretanto, o tratamento de água quente pode afetar o processo de amadurecimento dos frutos. Além disso, a demanda dos consumidores por produtos agrícolas livres de resíduos químicos tóxicos e as preocupações ambientais e de saúde pública sobre a aplicação de altos níveis de produtos químicos sintéticos utilizados pelos agricultores têm aumentado os interesses no desenvolvimento de métodos mais seguros para o manejo pós-colheita da deterioração de frutas e vegetais (Ong e Ali, 2015; Sarkhosh et al., 2017).

Pesquisas são realizadas com o objetivo de testar a ação dos produtos naturais, como os óleos essenciais, na conservação de alimentos in natura ou processados. De acordo com Silvestri et al. (2010), várias plantas utilizadas para aromatizar alimentos são apontadas por apresentarem atividade antimicrobiana, a exemplo do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), menta (*Mentha piperita* L.), alho (*Allium sativum* L.), coentro (*Coriandrum sativum* L.) e melissa (*Melissa officinalis* L.).

O cravo se destaca como vegetal com potencial bioativo eficaz no controle de diversos microrganismos fitopatogênicos. Entretanto, é importante testar diversas formas de aplicações e dosagens para avaliar a eficiência dos métodos em cada caso específico.

### **Revestimento comestível e análise sensorial de alimentos**

O desenvolvimento de novas pesquisas a partir de materiais biodegradáveis, em substituição as embalagens sintéticas como componentes de revestimentos comestíveis, vem sendo desenvolvidas. Yousuf, Qadri e Srivastava (2018) consideram essa tecnologia promissora para a preservação da qualidade e o prolongamento do prazo de validade de vegetais frescos.

Conceitua-se revestimento comestível a camada fina e uniforme de compostos comestíveis aplicados diretamente sobre a superfície do alimento, seja por pulverização ou imersão (Hassan et al., 2018; Salgado et al., 2015). As películas comestíveis apresentam grande potencial como ferramentas por aumentar a vida útil dos alimentos (Yousuf, Qadri e Srivastava, 2018), minimizando a suscetibilidade à deterioração e aumentando a segurança e qualidade dos produtos.

Um bom revestimento deve ser capaz de evitar as perdas de água e outros gases; ser solúvel em água ou gorduras; atóxico e apresente cor e aparência atraentes (Dehghani, Hosseini e Regenstein 2018; Arquélau et al., 2019; Zhao, 2019). Registros indicam que essas películas são capazes de reduzir a perda de massa, as taxas respiratórias de reações oxidativas e conseqüentemente os distúrbios fisiológicos (Thakur et al., 2019; Yan et al., 2019). Além disso, contribuem na proteção do alimento contra danos mecânicos e microbiológicos, inibem o processo de senescência e melhoram a aparência (Arnon-Rips e Poverenov, 2018).

A eficácia do revestimento depende da sua composição, da microestrutura e das características do alimento ao qual se ligará (Ananey-Obiri et al. 2018). Há diferentes matérias primas utilizadas para a composição dos revestimentos comestíveis, a exemplo dos lipídeos, proteínas e carboidratos (Yan et al., 2019). Os polissacarídeos são tipos de matrizes bastante investigadas, tanto devido à natureza hidrofílica, quanto pela capacidade de prolongar a conservação dos alimentos em virtude da sua propriedade de barreira aos gases (Yousuf, Qadri e Srivastava, 2018).

De acordo com Hassan et al. (2018), os revestimentos polissacarídeos são incolores, livres de oleosidade, apresentam baixo teor calórico e podem revestir vegetais e produtos cárneos. Esses atributos são importantes, pois retardam a deterioração dos alimentos e pouco interferem nas características sensoriais.

Amido, celulose, pectina, alginatos e quitosana são exemplos de polissacarídeos usados como polímeros naturais em revestimentos (Hassan et al., 2018). A fécula de mandioca também vem sendo estudada como revestimento comestível em vegetais, tanto por sua biodegradabilidade, quanto por sua fácil obtenção. Damasceno et al. (2007) ressaltam que as películas formadas por fécula se assemelham às de celulose na transparência e resistência, podendo ser utilizada na conservação de vegetais. Oliveira, Coneglian e Carmo (2015), complementam informando que essas películas apresentam brilho intenso, tornando os vegetais comercialmente atrativos.

A fécula de mandioca ainda proporciona atividade antimicrobiana, possivelmente em virtude da sua composição química. As soluções comestíveis a base de polissacarídeo ao revestirem os frutos formam ligações fortes e fracas com a superfície da fruta (Assis e Britto, 2014), reduzindo conseqüentemente as trocas gasosas do vegetal com o ambiente (Luvielmo e Lamas, 2012). De acordo com Trigo et al. (2012) as moléculas poliméricas dos revestimentos polissacarídeos se entrelaçarem no entorno do microrganismo e criam uma barreira física que impede a penetração dos nutrientes essenciais ao seu desenvolvimento.

Por ser um produto natural o revestimento formado por fécula de mandioca não exige período de carência, nem causa danos ao meio ambiente ou ser humano (Serpa et al., 2014), entretanto a sua eficiência na conservação de frutos pode ser potencializada se houver a associação com outro agente antimicrobiano natural, a exemplo do óleo essencial de cravo-da-índia. O grande desafio, no entanto, é que

este promova a conservação do vegetal sem modificar as suas características organolépticas.

Uma ferramenta importante no desenvolvimento de novos produtos é a análise sensorial de alimentos. As técnicas captam respostas humanas que se traduzem em informações, facilitando à compreensão da percepção e aceitação sensorial do consumidor às características do alimento por meio dos cinco sentidos (Yu, Baixo e Zhou, 2018).

Para algumas empresas alimentícias a análise sensorial contribui na área do desenvolvimento, do controle de qualidade e do marketing (Crofton et al., 2019), por isso, deve-se ter cuidado ao eleger o método a ser empregado, visando alinhar a coleta e interpretação dos dados ao objetivo da pesquisa. Dentre os diferentes testes sensoriais existentes, os hedônicos determinam a aceitação ou preferência de um produto pelos consumidores. Por meio dele é possível detectar o quanto o produto é bem recebido, pois a aceitação do consumidor é o principal dado associado. Há também outros testes aplicados, a exemplo da análise de sabor e do perfil sensorial que avalia a mastigabilidade, a doçura e outros atributos (Yu Baixo e Zhou, 2018).

Com o avanço dessa ciência as respostas obtidas vão além do “gostar e não gostar”. É possível investigar a percepção do provador sobre os efeitos do armazenamento no alimento, o impacto da substituição de ingredientes e até mesmo abordar as respostas emocionais (Drake, 2007). Entretanto, não apenas as características do produto são importantes na avaliação sensorial. Os efeitos contextuais em que o consumo está ocorrendo, bem como a relação afetiva do consumidor com o alimento afetam a aceitação. Por isso é importante levar em consideração a familiaridade, as preocupações do consumidor com a segurança alimentar, o ambiente e a interação social (Torrice et al., 2019).

É importante compreender se os mamões revestidos com fécula de mandioca, associada ou não ao óleo essencial de cravo, terão aprovação sensorial, pois não adianta desenvolver um método natural capaz de impedir o desenvolvimento da antracnose se este modificar as características do fruto. O consumidor deseja adquirir o vegetal saudável e ao mesmo tempo atrativo.

Diante do exposto, o objetivo na presente pesquisa foi avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial do cravo frente ao *Colletotrichum gloeosporioides*, bem como o efeito de revestimentos comestíveis a base de fécula de mandioca no

controle da antracnose e nas características físico-químicas e sensoriais de mamão na pós-colheita.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU EL-SOUD, N. H. A. et al. Chemical Composition and Antifungal Activity of *Ocimum basilicum* L. Essential Oil. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v.3, n. 3, p.374–379, 2015.

AGUILAR-GONZÁLEZ, A.E. et al. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against grey mold (*Botrytis cinerea*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies in strawberries**, v. 32, p. 181-185, 2015.

ALI, A. et al. Post-harvest development of anthracnose in pepper (*Capsicum* spp): Etiology and management strategies. **Crop Protection**, v. 90, p.132-141, 2016.

ANANEY-OBIRI, D. et al. Application of protein-based edible coatings for fat uptake reduction in deep-fat fried foods with an emphasis on muscle food proteins. **Trends in Food Science & Technology**, v.80, p. 167-174, 2018.

ANDRADE, W. P.; VIEIRA, G. H. C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose in vitro e em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.367-372, 2016.

AMARAL-BARTOLI, A. et al. Variability in essential oil composition produced by micropropagated (in vitro), acclimated (ex vitro) and in-field plants of *Ocimum basilicum* (Lamiaceae). **Industrial Crops and Products**, v. 86, p.180-185, 2016.

ARNON-RIPS, H. & POVERENOV, E. Improving food products' quality and storability by using Layer by Layer edible coatings. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 81-92, 2018.

ARQUELAU, P. B. de F. et al. Characterization of edible coatings based on ripe "Prata" banana peel flour. **Food Hydrocolloids**, v.89, p. 570-578, 2019.

ASCENÇÃO, V. L.; MOUCHREK FILHO, V. E. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia). **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 20, n. especial, p. 137-144, 2013.

ASSIS, O. B. G. e BRITTO, D. de. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.

BAUTISTA-ROSALES, P. U. et al. Biocontrol action mechanisms of *Cryptococcus laurentii* on *Colletotrichum gloeosporioides* of mango. **Crop Protection**, v. 65, p. 194-201, 2014.

- BOCHNER, R. et al. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 537-547, 2012.
- BOONRUANG, K. et al. Antifungal effect of poly(lactic acid) films containing thymol and R-(-)-carvone against anthracnose pathogens isolated from avocado and citrus. **Food Control**, v. 78, p. 85-93, 2017.
- BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, vol.33, n.1, 2010.
- CAI, H. et al. Isolation, Identification and Activities of Natural Antioxidants from *Callicarpa kwangtungensis* Chun. **Plos one**, v.9, n. 3, p. 1-14, 2014.
- CALO, J. R. et al. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. **Food Control**, v. 54, p. 111 -119, 2015.
- CASTRO NETO, N. de et al. Produção orgânica: uma potencialidade estratégica para a agricultura familiar. **Revista Percursos- NEMO**, v. 2, n. 2, p. 73-95, 2010.
- CARVALHO, F. R. de. A ecologia no cultivo de plantas medicinais. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 4, n. 1, p. 85-90, abr. 2012.
- CHEN, X. et al. Effects of clove essential oil and eugenol on quality and browning control of fresh-cut lettuce. **Food Chemistry**, v. 214, p. 432–439, 2017.
- CHOI, N. H. et al. Antifungal activity of sterols and dipsacus saponins isolated from *Dipsacus asper* roots against phytopathogenic fungi. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Available online 18, 2016.
- CIA, P.; BENATO, E. A. **Doenças do mamão**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.26, n.228, p.25-29, 2005.
- CORTÉS-ROJAS, D. F. et al. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 2, p. 90-96, 2014.
- COSTA, A.R.T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* Merr. & L. M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v.13, n. 2, Botucatu, 2011.
- CROFTON, E. C. et al. Potential applications for virtual and augmented reality technologies in sensory Science. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 56, ag 2019.
- DEHGHANI, S.; HOSSEINI, S. V. & REGENSTEIN, J. M. Edible films and coatings in seafood preservation: A review. **Food Chemistry**, v. 240, p. 505-513, 2018.
- DHOUIOUI, M. et al. Seasonal changes in essential oil composition of *Aristolochia longa* L. ssp. *paucinervis* Batt. (Aristolochiaceae) roots and its antimicrobial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 301–306, 2016.

DONSI, F. & FERRARI, G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. **Journal of Biotechnology**, v. 233, p. 106-120, 2016.

DRAKE, M. A. Invited Review: Sensory Analysis of Dairy Foods. **Journal of Dairy Science**, v.90, n. 11, p. 4925-4937, 2007.

EDDOUKUS, M. et al. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in Daraa-Tafilalet region (Province of Errachidia), Morocco. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 198, p. 516-530, 2017.

FANCELLO, F. et al. Chemical characterization, antioxidant capacity and antimicrobial activity against food related microorganisms of *Citrus limon* var. pompia leaf essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 69, p. 579-585, 2016.

FIALHO, R. de O. et al. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Phakopsora euvitis*, agente causal da ferrugem da videira. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.82, p. 1-7, 2015.

FIRMINI, A. C. et al. Identificação de espécies de *Colletotrichum* associados à antracnose em plantas de atemóia e colonização do fungo nos frutos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 4, p. 323-328, 2014.

FIRMO, W. da C. A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, v. 18, n. especial, p. 90-95, 2011.

GAKUYA, D. W. et al. Ethnobotanical survey of biopesticides and other medicinal plants traditionally used in Meru central district of Kenya. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, n. 2, p. 547-553, 2013.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GONZÁLES-RIVEIRA, J. et al. Coaxial microwave assisted hydrodistillation of essential oils from five different herbs (lavender, rosemary, sage, fennel seeds and clove buds): Chemical composition and thermal analysis. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 33, p. 308-318, 2016.

GULÇIN, I.; et al. Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source. **Arabian Journal of Chemistry**, 5, 489–499, 2012.

GUZEL, Y. et al. Ethnobotany of medicinal plants used in Antakya: A multicultural district in Hatay Province of Turkey. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 174, p. 118-152, 2015.

HARRI, L. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 572 p.



HASSAN, B. et al. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 1095-1107, 2018.

KARIMI, K. et al. *Funneliformis mosseae* root colonization affects *Anethum graveolens* essential oil composition and its efficacy against *Colletotrichum nymphaeae*. **Industrial Crops and Products**, v. 90, p. 126-134, 2016.

KHANUJA, S. P. S. et al. Rapid Isolation of DNA from Dry and Fresh Samples of Plants Producing Large Amounts of Secondary Metabolites and Essential Oils. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 17, p. 1–7, 1999.

KIRALAN, M. et al. Essential oil composition and antiradical activity of the oil of Iraq plants. **Natural product research**, v. 26, p.132–139, 2012.

LOPES, T. V. et al. Dragon's blood (*Croton lechleri* Mull., Arg.): an update on the chemical composition and medical applications of this natural plant extract. A review. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 07, n. 2, p.167-191, jul-dez, 2013.

LU, J. et al. Field detection of anthracnose crown rot in strawberry using spectroscopy technology. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 135, p. 289–299, 2017.

LUNG, I. et al. Induction of stress volatiles and changes in essential oil content and composition upon microwave exposure in the aromatic plant *Ocimum basilicum*. **Science of The Total Environment**, v. 569-570, n. 1, p. 489-495, 2016.

LUVIELMO, M. de M. e LAMAS, S. V. Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 1, p. 8-15, 2012.

MA, M. et al. Synthesis and antifungal activity of ethers, alcohols, and iodohydrin derivatives of sclareol against phytopathogenic fungi in vitro. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, Issue 14, p. 2773–2777, 2015.

MANGANY, M. C. et al. Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* isolates and their biofilms. **South African Journal of Botany**, v. 99, p. 115-121, 2015.

MAIA, T. F. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.1, p.105-116, 2015.

MATIAS, E. F. F. et al. Seasonal variation, chemical composition and biological activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC (Boraginaceae) and the sabinene. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 48-53, 2016.

MARQUES, C. A. et al. Considerações anatômicas e análise de óleo essencial do hipanto e do fruto de *Hennecartia omphalandra* J. Poisson (Monimiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 415-429, 2008.

- MBAVENG, A. T.; KUETE, V. *Syzygium aromaticum*. In: KUETE, V.(org.). **Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential Against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases**, p. 611–625, 2017.
- MEDINA-CÓRDOVA, N. et al. Biocontrol activity of the marine yeast *Debaryomyces hansenii* against phytopathogenic fungi and its ability to inhibit mycotoxins production in maize grain (*Zea mays* L.). **Biological Control**, v. 97, p. 70-79, 2016.
- MULLA, M. et al. Antimicrobial efficacy of clove essential oil infused into chemically modified LLDPE film for chicken meat packaging. **Food Control**, v. 73, parte B, p. 663-671, 2017.
- MUTHUMPERUMAL, C. et al. Chemical profiling of leaf essential oil, Antioxidant potential and Antibacterial activity of *Syzygium lanceolatum* (Lam.) Wt. & Arn. (Myrtaceae). **Free Radicals and Antioxidants**, v. 6, n. 1, p. 13-22, 2016.
- OLIVEIRA, A. A. R. et al. Doenças e seu controle. In: TRINDADE, A. V. (Org.). **Mamão**. Produção: aspectos técnicos. Brasília: Embrapa, 2000. p. 43-52.
- OLIVEIRA, R. A. de et al. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 771-775, 2009.
- OLIVEIRA, A. M. G.; COELHO, E. F. Calagem e adubação para mamoeiro. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S. **Recomendações de calagem e adubação para abacaxi, acerola, banana, laranja, tangerina, lima ácida, mamão, mandioca, manga e maracujá**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. p. 108-125.
- OLIVEIRA, M. S. de et al. Chemical composition and phytotoxic activity of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil obtained with supercritical CO<sub>2</sub>. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.118, p. 185-193, 2016.
- ONG, M. K.; ALI, A. Antifungal action of ozone against *Colletotrichum gloeosporioides* and control of papaya anthracnose. **Postharvest Biology and Technology**, v.100, p. 113–119, 2015.
- PAULUS, D. et al. Teor e composição química do óleo essencial e crescimento vegetativo de *Aloysia triphylla* em diferentes espaçamentos e épocas de colheita. **Revista Ceres**, v.60, n.3, 2013.
- PINTO, M. dos S. T. et al. O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 2, p. 241-248, 2011.
- RAJESH, K. J. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) from Western Ghats of North West Karnataka. India. **Ancient science of life**, v. 33, p. 151-156, 2014.
- SALGADO, P. R. et al. Edible films and coatings containing bioactives. **Current Opinion in Food Science**, v.5, October, p. 86-92, 2015.

- SANTOS, P. L. et al. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.9, n.17; p. 2562-2576, 2013a.
- SANTOS, G.R. dos et al. Effect of essential oils of medicinal plants on leaf blotch in Tanzania grass. **Revista Ciência Agrônômica**, v.44, n.3, Fortaleza, jul./set., 2013b.
- SARKHOSH, A. et al. Postharvest management of anthracnose in avocado (*Persea americana* Mill.) fruit with plant-extracted oils. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 12, p. 16-22, 2017.
- SHARMA, A. et al. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 123, n. 3, p. 308-313, 2017.
- SIDDIQUI, Y.; ALI, A. *Colletotrichum gloeosporioides* (Anthracnose). **Postharvest Decay: control strategies**, p. 337-371, 2014.
- SILVESTRI, J. D. F. et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.5, p. 589-594, 2010.
- SOUSA, R. M. S. de et al. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 1, p. 42-47, 2012.
- SOUZA, C. M. P. et al. Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande – Paraíba. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 188-193, 2013.
- STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p 18-46, 2011.
- TARIQ, S. et al. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 134, September 2019, 103580.
- TELES, S.; Pereira et al. Effect of geographical origin on the essential oil content and composition of fresh and dried *Mentha x villosa* Hudson leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p.1-7, 2013.
- THAKUR, R. et al. A starch edible surface coating delays banana fruit ripening. **LWT**, v. 100, p. 341-347, 2019.
- TORRICO, D. D. et al. Cross-cultural effects of food product familiarity on sensory acceptability and non-invasive physiological responses of consumers. **Food Research International**, v.115, January, p. 439-450, 2019.

TRIGO, J. M. et al. Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 125-133, 2012.

VALERIANO, C.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, Botucatu, 2012.

VARELA, D. S. S.; AZEVEDO, D. M. de. Saberes e práticas fitoterápicas de médicos na estratégia saúde da família. **Trabalho, educação e saúde**, Rio de Janeiro, v.12, n.2, 2014.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Quím. Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VIZZOTO, M. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância** / Marcia Vizzoto, Ana Cristina Krolow e Gisele Eva Bruch Weber – Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 16 p. – (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 316).

YAN, J. et al. The effect of the layer-by-layer (LBL) edible coating on strawberry quality and metabolites during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 147, p. 29-38, 2019.

YOUSUF, B.; QADRI, O. S. & SRIVASTAVA, A. K. Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. **LWT**, v.89, p. 198, 209, 2018.

YU, P.; BAIXO, M. Y.; ZHOU, W. Design of experiments and regression modelling in food flavour and sensory analysis: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 202-215, 2018.

ZHAO, Y. Edible Coatings for Extending Shelf-Life of Fresh Produce During Postharvest Storage. **Encyclopedia of Food Security and Sustainability**, v. 2, p. 506-510, 2019.

## ARTIGO 1

### FUNGITOXIDADE IN VITRO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA SOBRE O *Colletotrichum gloeosporioides*<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Artigo a ser submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Industrial Crops and Products.

## FUNGITOXIDADE IN VITRO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA SOBRE O *Colletotrichum gloeosporioides*

Daniele de Vasconcellos Santos Batista<sup>1\*</sup>, Carlos Augusto Dórea Bragança<sup>1</sup>, Thaís Emanuelle Feijó Lima<sup>2</sup>, Franceli da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BR

<sup>2</sup> Universidade Estadual da Bahia, Departamento de Educação, Campus VII, Senhor do Bonfim

\*danielleagr@yahoo.com.br

**Resumo:** A espécie *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) é uma planta medicinal rica em óleo essencial que apresenta diferentes atividades biológicas, dentre elas, antifúngica. O objetivo no trabalho foi avaliar a fungitoxidade do óleo essencial de *S. aromaticum* sobre o crescimento in vitro do *Colletotrichum gloeosporioides* causador da antracnose em mamão. Os botões florais do cravo, obtidos no município de Valença-BA, foram submetidos a extração do óleo essencial (OEC) por hidrodestilação e analisado por cromatografia gasosa acoplada a Espectrometria de Massas. Foram testadas oito concentrações do óleo (0; 150; 300; 450; 600; 750; 900 e 1000  $\mu\text{L}^{-1}$ ) para as variáveis percentagem de inibição do crescimento micelial (PICM), índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) e a produção de esporos. Para a avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) e germinação de esporos testou-se a concentração inicial de 7400  $\mu\text{L}^{-1}$  e por meio da técnica de microdiluição seriada as seguintes concentrações: 3700; 1850; 925 e 462,5  $\mu\text{L}^{-1}$ . O efeito do óleo nas estruturas fúngicas foi detectado por meio de imagens microscópicas realizadas após o crescimento do fungo em placas de Petri. A cromatografia gasosa indicou presença majoritária do eugenol (83,09%) no óleo do cravo. Houve aumento da PICM e redução do IVCM e produção de esporos à medida em que se aumentou a concentração testada, com paralização total da esporulação em concentração superior a 750  $\mu\text{L}^{-1}$ . Avaliando o efeito do óleo sobre as estruturas reprodutivas observa-se que a concentração 1850  $\mu\text{L}^{-1}$  foi considerada a CIM e que a acima dessa, houve redução crescente no percentual de esporos germinados. O contato do fungo com o OEC resultou em alterações nas estruturas reprodutivas do microrganismo quando comparado ao tratamento controle. Conclui-se que o óleo essencial de cravo apresenta potencial fungitóxico sobre o desenvolvimento in vitro do fitopatógeno causador da antracnose em mamão.

**Palavras-chave:** *Carica papaya*, antracnose, atividade antifúngica, *Syzygium aromaticum*, potencial bioativo.

### **In vitro fungitoxicity of essential oil of clove on *Colletotrichum gloeosporioides***

**Abstract:** The species *Syzygium aromaticum* (clove) is a medicinal plant rich in essential oil that has different biological activities, among them, antifungal. The aim of the present study was to evaluate the fungitoxicity of the essential oil of *S. aromaticum* on the in vitro growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, which causes anthracnose in papaya. The floral buds, obtained in the city of Valença-BA, were submitted to essential oil extraction (OEC) by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography coupled to Mass Spectrometry. Eight oil concentrations (0; 150; 300; 450; 600; 750; 900 and 1000  $\mu\text{L}^{-1}$ ) were tested for the percent mycelial growth inhibition (PICM), mycelial growth rate index (IVCM) and spore production. In order to evaluate the minimum inhibitory concentration (MIC) and spore germination, the initial concentration of 7400  $\mu\text{L}^{-1}$  was tested and the following concentrations by the serial microdilution technique: 3700; 1850; 925 and 462.5  $\mu\text{L}^{-1}$ . The effect of the oil on the fungal structures was detected by microscopic images performed after the growth of the fungus in petri dishes. Gas chromatography indicated a major presence of eugenol (83.09%) in clove oil. There was an increase in PICM and reduction in IVCM and spore production as the tested concentration increased, with total sporulation paralysis at a concentration greater than 750  $\mu\text{L}^{-1}$ . Evaluating the effect of oil on reproductive structures, it was observed that the concentration 1850  $\mu\text{L}^{-1}$  was considered the MIC and that above this, there was a growing reduction in the percentage of germinated spores. The contact of the fungus with the OEC resulted in alterations in the reproductive structures of the microorganism when compared to the control treatment. It can be concluded that clove essential oil has fungitoxic potential on the in vitro development of phytopathogen causing anthracnose in papaya.

**Keywords:** *Carica papaya*, anthracnose, antifungal activity, *Syzygium aromaticum*, bioactive potential.

## 1. INTRODUÇÃO

Os vegetais produzem uma variedade de compostos orgânicos, dentre eles os óleos essenciais, substâncias voláteis, de baixo peso molecular, líquidos em temperatura ambiente, formados principalmente por terpenos, terpenóides, constituintes aromáticos e alifáticos, resultantes do metabolismo secundário das plantas aromáticas (Maia et al. 2015; Boukaew et al., 2017; Ribeiro-Santos et al., 2017). A composição química dos óleos essenciais pode variar em função das condições de cultivo, e por vezes, proporcionar ações bioativas com potencial para o controle de fungos fitopatogênicos.

A deterioração das frutas é quase sempre provocada por fungos, pois a acidez presente na maioria delas impede a invasão por bactérias. Dantas et al. (2003) e Cabral et al. (2013) ressaltam que a proliferação desses microrganismos nos vegetais inicia-se muitas vezes no campo, permanecendo latentes até o aparecimento de condições ambientais favoráveis. Além das perdas econômicas, a multiplicação dos fungos constitui um risco para a saúde dos consumidores devido ao potencial de produção de micotoxinas. De acordo com Long et al. (2016), as perdas variam de 5 -10% quando tratados com fungicidas e até 50% ou mais quando não há aplicação desses produtos sintéticos em pós-colheita.

O *Colletotrichum* spp., atualmente conhecido como complexo fúngico (Karimi et al., 2016), é o fitopatógeno responsável por danos econômicos em diversos vegetais. A espécie *C. gloeosporioides* provoca antracnose em hortaliças solanáceas e também em frutas, como o mamão (Sousa et al., 2012; Sellamuthu et al., 2013). No Brasil, a antracnose é uma das principais doenças a causar perdas pós-colheita no mamão cujos sintomas nos frutos são lesões arredondadas, necróticas, deprimidas e com tamanhos que podem atingir diâmetros variados, de onde emergem massas de conídios de coloração salmão (Oliveira et al., 2000; Andrade e Vieira, 2016; Ribeiro et al., 2016).

A principal forma de controle do *C. gloeosporioides* é com o uso de fungicidas sintéticos que podem controlar a incidência das doenças nos vegetais, porém também contribuem para o desenvolvimento de patógenos resistentes, proporcionam efeitos negativos à saúde animal e o meio ambiente, uma vez que causa a morte de microrganismos benéficos, se incorpora na cadeia alimentar e



conseqüentemente se acumula no organismo humano como resíduos químicos indesejáveis (Bautista-Rosales et al., 2014; Kewsuwan et al., 2014).

De acordo com Santos et al. (2013) e Maia et al. (2015) a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é atribuída a ação de compostos fenólicos, monoterpenos e terpenóides que em contato com os fungos interagem com os lipídios da parede, membrana celular e mitocôndrias, alterando a permeabilidade e causando perturbações nestas estruturas. Dentre as diversas espécies aromáticas existentes, o cravo (*Syzygium aromaticum*), planta da família Myrtaceae (Cortés-Rojas et al., 2014), produz uma quantidade considerável do óleo a partir dos botões florais. Essa substância natural possui uma variedade de compostos bioativos e é rica em eugenol, composto com forte atividade inseticida, antioxidante e antifúngica (Aguilar-González et al., 2015; Mulla et al., 2017).

Pensando na minimização desses efeitos novas pesquisas são realizadas com o objetivo de estudar a ação de produtos naturais, a exemplo de óleos essenciais, no controle de fungos fitopatogênicos. Estudos indicam a atividade antifúngica do óleo de cravo contra diversos fungos, a exemplo do *Fusarium*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinérea*, *Candida*, *Aspergillus flavus* (Costa et al., 2011; Cavalcanti et al., 2012; Velázquez-Nuñez et al., 2013; Aguilar-González et al., 2015), seja por contato direto ou vapor. Outra característica é que os óleos essenciais podem ser utilizados na conservação dos alimentos, seja em embalagens ou contato direto. A FDA (Food and Drug Administration) classifica alguns compostos isolados como substância Geralmente Reconhecido como Segura (GRAS), uma vez que podem ser ingeridos pelo organismo humano, desde que os seus efeitos máximos sejam atingidos com o mínimo de alterações nas propriedades organolépticas do alimento (Viuda-Martos et al., 2008; Mulla et al., 2017; Ribeiro-Santos et al., 2017).

De maneira geral, os óleos essenciais apresentam baixa toxicidade aos mamíferos e são menos propensos a eliminar microrganismos benéficos (Lorenzetti et al., 2011; Al-Samarrai et al., 2012). O óleo essencial de cravo é biodegradável, por isso a eliminação do ambiente é mais rápida do que em relação a maioria dos produtos sintéticos.

Diante do exposto, o objetivo na pesquisa foi avaliar o efeito fungitóxico do óleo essencial do cravo no controle in vitro de *C. gloeosporioides* causador da antracnose em mamão.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção do óleo essencial

Os botões florais do cravo foram provenientes do município de Valença-BA, coletados no mês de setembro de 2015, e transportados ao laboratório de Fitoquímica na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB. A exsiccata utilizada para a identificação da espécie encontra-se depositada no Herbário da UFRB, sob o número de registro Hurb 14874.

A extração do óleo essencial foi realizada pelo método da hidrodestilação em aparelho Clevenger, conforme metodologia descrita em Santos et al. (2004). Inicialmente, 300 g dos botões florais foram adicionadas em balão de vidro de 2 litros contendo água destilada em volume suficiente para cobrir todo o material vegetal. O processo de extração foi conduzido durante 150 minutos a partir da condensação da primeira gota. O tempo de extração foi definido em pré-teste. O óleo essencial juntamente com o hidrolato foi armazenado em frasco âmbar por 24 h para a separação das fases por diferença de densidade. Posteriormente, o óleo essencial foi separado do hidrolato com auxílio da pipeta de Pasteur, acondicionado em frasco de vidro de 2 mL, envolto em folha alumínio, etiquetado e armazenado sob refrigeração até o momento da análise.

### 2.2. Determinação da composição química do óleo essencial

A análise da composição química do óleo essencial foi realizada no Instituto Politécnico de Bragança em Portugal, por Cromatografia de Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM) conforme metodologia descrita em trabalho de Teles et al. (2012). A identificação dos constituintes em espectrometria de massas e do índice de Kovats foram conferidos ao índice Aritmético (Adams, 2007). Os resultados foram expressos em percentagem.

### 2.3. Obtenção e identificação do fungo fitopatogênico

A amostra do isolado utilizada no experimento foi adquirida da Coleção de Cultura de Fungos Fitopatogênicos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa

Mandioca e Fruticultura no município de Cruz das Almas - BA e encontra-se preservado em meio Castellani em água estéril.

A amostra do fitopatógeno foi transportada ao Laboratório de Microbiologia Agrícola do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. A confirmação da espécie foi ocorreu por meio do crescimento do fungo em batata-dextrose-ágar (BDA), suplementado com 50 µL mL<sup>-1</sup> do antibiótico Clorofenicol, e incubado por 8 a 12 dias a 27 °C utilizando literatura específica para a espécie e baseando-se nas características macro e microscópicas (Sutton, 1980).

#### 2.4. Avaliação da Percentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PICM)

O óleo essencial foi previamente diluído em Tween 20® a 10% e adicionados ao meio de cultura BDA obtendo-se as seguintes concentrações: 0; 150; 300; 450; 600; 750; 900 e 1000 µL<sup>-1</sup>. O óleo foi misturado ao meio de cultura BDA quando esse se encontrava na temperatura próxima ao ponto de solidificação, sendo imediatamente vertidos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Um disco fúngico do patógeno medindo 6 milímetros de diâmetro, com 7 dias de cultivo, foi transferido ao centro de cada placa de Petri e incubado em B.O.D. a 27±1 °C sob fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada a cada dois dias, mensurando-se o diâmetro da colônia em dois sentidos diametralmente opostos com auxílio de régua graduada, finalizando a avaliação no momento em que a colônia do tratamento controle ocupou toda a superfície da placa. As médias de crescimento foram utilizadas para calcular a Percentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PICM) por meio da fórmula descrita por Nascimento, (2013):

$$\text{PICM} = \frac{(\text{crescimento da testemunha} - \text{crescimento do tratamento})}{\text{crescimento da testemunha}} \times 100$$

#### 2.5. Índice de Velocidade do Crescimento Micelial (IVCM)

As médias obtidas na avaliação do crescimento micelial também foram utilizadas para calcular o IVCM, expressos em cm.dia<sup>-1</sup>, conforme a fórmula citada por Oliveira Júnior et al. (2013):

$$\text{IVCM} = \frac{\Sigma(\text{diâmetro médio atual da colônia} - \text{diâmetro médio anterior da colônia})}{\text{número de dias após a inoculação}}$$

## 2.6. Produção de esporos

A avaliação de número de esporos de *C. gloeosporioides* foi realizada conjuntamente no último dia de avaliação de crescimento micelial. Quatro discos de 6 mm foram retirados do centro de cada placa de Petri e transferidos a microtubos contendo 40  $\mu\text{L}$  de lactoglicerol e 1 mL de água destilada autoclavada para interromper a esporulação. O número de esporos foi determinado por meio da contagem dos esporos em câmara de Neubauer, com auxílio do microscópio óptico, adaptado da metodologia descrita por Carvalho et al. (2008). O número de esporos produzidos foi expresso em números de esporos. $\text{mL}^{-1}$ .

## 2.7. Concentração inibitória mínima (CIM)

A CIM foi realizada utilizando-se a técnica de microdiluição descrita pelo M38-A da Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008) com modificações. Inicialmente, adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  de meio de cultura Batata Dextrose (BD) nos orifícios das placas de microdiluição contendo 96 poços. Em seguida foram distribuídos em quintuplicata, na primeira fileira 100  $\mu\text{L}$  da emulsão (óleo essencial + BD), a uma concentração inicial de 7400  $\mu\text{LL}^{-1}$ , definida em pré-teste. Seguiu-se a técnica de microdiluição seriada que resultou nas seguintes concentrações: 3700; 1850; 925 e 462,5  $\mu\text{LL}^{-1}$ . Como controle negativo foi utilizada uma solução de BD (Batata-dextrose) sem adição do óleo essencial. O controle positivo foi realizado utilizando o antifúngico Ciclopirox olamina, pela técnica de microdiluição na concentração inicial de 400  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . Posteriormente, em cada poço, foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  de suspensão de esporos de *C. gloeosporioides* na concentração de  $10^{-6}$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ . A leitura visual do crescimento fúngico foi realizada após 48 h de incubação em câmara BOD a  $27 \pm 1$  °C.

## 2.8. Germinação de esporos

O mesmo protocolo descrito para a Concentração Inibitória Mínima foi utilizado para o ensaio da germinação de esporos, sendo as microplacas incubadas a  $27 \pm 1$  °C durante 16 horas. A avaliação foi realizada por contagem aleatória dos

esporos germinados e não germinados, registrando-se o total de 100 esporos. No instante em que o tratamento controle apresentou 50 % de esporos germinados o processo foi paralisado utilizando-se uma gota de lactoglicerol em todos os tratamentos para paralisar a germinação. Considerou-se esporo germinado aquele cujo tubo germinativo apresentava o comprimento duas vezes maior ao tamanho do esporo. A avaliação foi feita em microscópio óptico e a porcentagem de inibição dos esporos germinados calculada a partir da seguinte equação:

$$\% \text{ inibição} = \frac{(\text{germinação do controle} - \text{germinação do tratamento})}{\text{germinação do controle}} \times 100$$

### 2.9. Avaliação microscópica das estruturas fúngicas

No intuito de obter uma visão mais completa do efeito do óleo essencial como agente antifúngico, foram realizadas observações das características morfológicas das colônias utilizando o microscópio LEICA ICC50 HD com auxílio do programa LAS Version 4.5.0. Lamínulas presentes nas placas de Petri utilizadas para a avaliação do crescimento micelial foram utilizadas para a avaliação das estruturas fúngicas e realização da fotomicroscopia, totalizando quatro lamínulas por tratamento.

### 2.10. Análise estatística

As médias obtidas foram submetidas à análise de variância pelo teste F e posteriormente aplicado o teste de regressão a ( $p < 0,05$ ) pelo programa R (THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING, 2013, versão 3.0.1). O experimento foi executado em triplicata, no esquema delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições por tratamento.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Determinação da composição química dos óleos essenciais

A CG/EM identificou 14 componentes químicos presentes no OEC, sendo o eugenol, o acetato de eugenol e o cariofileno os componentes majoritários. Os demais compostos presentes em quantidade inferior a 1% foram considerados minoritários (**Tabela 1**).

Uma característica marcante do OEC é o aroma intenso. Esse atributo é resultante da acentuada volatilidade da maioria dos componentes químicos que apresentam menor massa molecular, a exemplo de alguns monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides (Felipe e Bicas, 2017; Jakiemiu, 2008) identificados pela cromatografia gasosa. Os resultados assemelham-se aos encontrados por outros pesquisadores. Ascensão e Mouchrek Filho (2013) estudando a caracterização química do óleo essencial de cravo observaram os compostos eugenol (52,53%) e o cariofileno (37,25%) presentes em maior quantidade. Revisão feita por Cortés-Rojas et al. (2014), indica que aproximadamente 89% do óleo essencial do cravo é eugenol e 5 a 15% é composto de acetato de eugenol e  $\beta$ -cariofileno. A composição química do óleo essencial de cravo avaliado por Costa et al. (2011) também indicou os mesmos compostos como majoritários.

**Tabela 1.** Composição química do óleo essencial de *S. aromaticum*

	<b>Composição</b>	<b>Índice de Kovats</b>	<b>(%) <math>\pm</math> DP*</b>
1	limoneno	1032	0,14 $\pm$ 0,08
2	trans-b-ocimeno	1051	0,03 $\pm$ 0,01
3	2-nonanone	1091	0,07 $\pm$ 0,01
4	linalol	1099	0,04 $\pm$ 0,02
5	acetato de benzila	1165	0,05 $\pm$ 0,01
6	salicilato de metila	1192	0,20 $\pm$ 0,02
7	beta-citral	1241	0,09 $\pm$ 0,01
8	chavicol	1254	0,17 $\pm$ 0,02
9	alpha-citral	1270	0,15 $\pm$ 0,01
10	eugenol	1362	83,09 $\pm$ 0,45
11	cariofileno	1421	1,82 $\pm$ 0,06
12	a- cariofileno	1455	0,25 $\pm$ 0,01
13	Acetato de eugenol	1526	13,50 $\pm$ 0,49
14	óxido cariofileno	1583	0,20 $\pm$ 0,01
	<b>Total</b>		<b>99,8%</b>

\*DP= desvio padrão

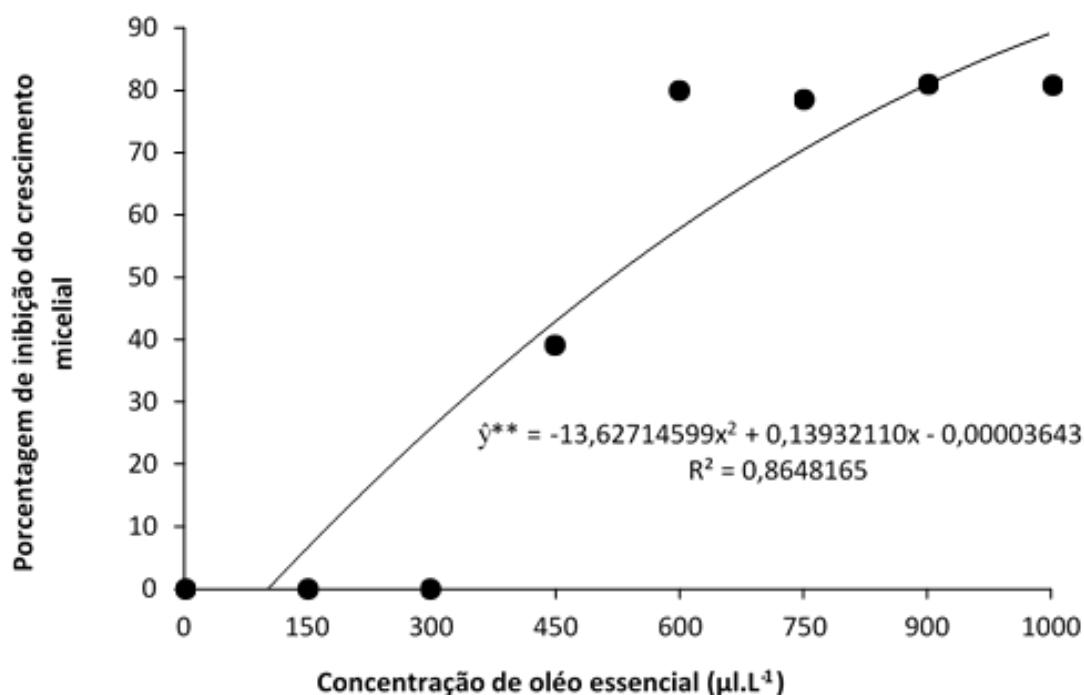
Embora as pesquisas exponham resultados que apontem variações quantitativas na composição química dos óleos essenciais, por vezes o componente majoritário permanece igual, sendo essa uma característica das espécies. As alterações podem ser atribuídas às variações fisiológicas, às condições ambientais, às variações geográficas, aos fatores genéticos dentre

outros que interferem na formação dos metabólitos secundários da planta (Kiralan et al., 2012; Teles et al., 2013 e Rajesh, 2014).

A lipossolubilidade, outra característica do óleo essencial, permite a sua fácil absorção através das membranas lipídicas (Sharma et al., 2017), como as que compõem as células fúngicas, todavia, os efeitos biológicos do óleo depende de vários fatores, a exemplo do tempo de exposição, do modo de ação, da composição química e da concentração testada. Por isso, é importante determinar o perfil químico dos óleos essenciais uma vez que a variação na composição pode alterar significativamente as respostas em pesquisas com microrganismos. Além disso, faz-se necessário a realização de ensaios para determinar a concentração que expresse o potencial antifúngico contra o agente causal da antracnose em mamão.

### 3.2. Percentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PICM)

O óleo essencial proporcionou aumento na PICM do *C. gloeosporioides* à medida em que houve aumento na concentração testada, com inibição superior a 50% a partir da concentração 600  $\mu\text{L}^{-1}$ , em comparação ao desenvolvimento da testemunha (**Figura 1**).

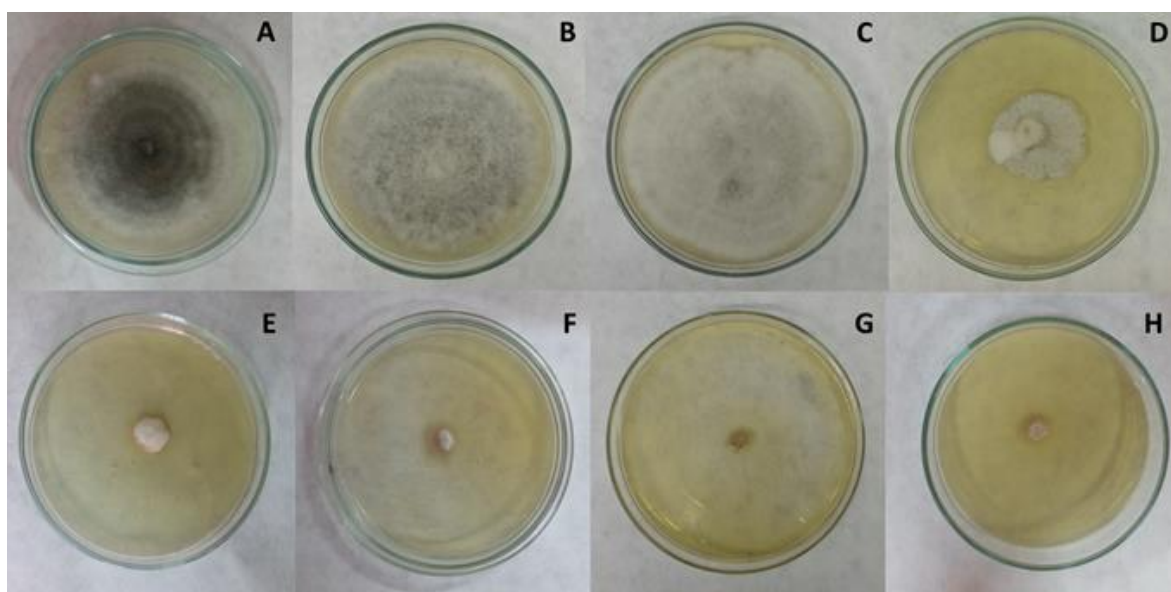


**Figura 1.** Efeito das diferentes concentrações do óleo essencial de cravo-da-índia na porcentagem de inibição do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*.

Essa inibição pode ser justificada pela ação do eugenol, composto com ação antisséptica já conhecida (Costa et al., 2011), e do acetato de eugenol. A natureza lipofílica do eugenol permite a difusão destas moléculas entre as membranas celulares dos fungos (Mangany et al., 2015). Isto tem um efeito profundo tanto na permeabilidade como na fluidez das membranas celulares, resultando no comprometimento do ergosterol, além de perturbar o crescimento celular.

O ergosterol é um componente lipídico da membrana celular dos fungos. É responsável diretamente pela estrutura, permeabilidade de substâncias e modulação da fluidez da membrana celular, bem como pela proteção da célula, uma vez que a sua ausência pode alterar a permeabilidade da membrana plasmática, retardar o crescimento e possivelmente inibir a síntese da quitina (Loguercio-Leite et al., 2006), componente estrutural da membrana plasmática fúngica.

A **Figura 2** evidencia que o óleo essencial de cravo foi eficiente na redução do crescimento micelial do *C. gloeosporioides* ao longo dos 12 dias de incubação.



**Figura 2.** Crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* aos doze dias de incubação em diferentes concentrações do óleo essencial de cravo. A: 0 µL<sup>-1</sup>; B: 150 µL<sup>-1</sup>; C: 300 µL<sup>-1</sup>; D: 450 µL<sup>-1</sup>; E: 600 µL<sup>-1</sup>; F: 750 µL<sup>-1</sup>; G: 900 µL<sup>-1</sup>; H: 1000 µL<sup>-1</sup>.

Os resultados estão de acordo com pesquisas anteriores em que o óleo de cravo dificulta o desenvolvimento micelial de alguns fungos. Mangany et al. (2015) ao avaliarem o potencial antimicrobiano de óleos essenciais, dentre eles o óleo de cravo sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* isolado S-1187, perceberam que com o aumento da concentração do óleo ocorreu também o

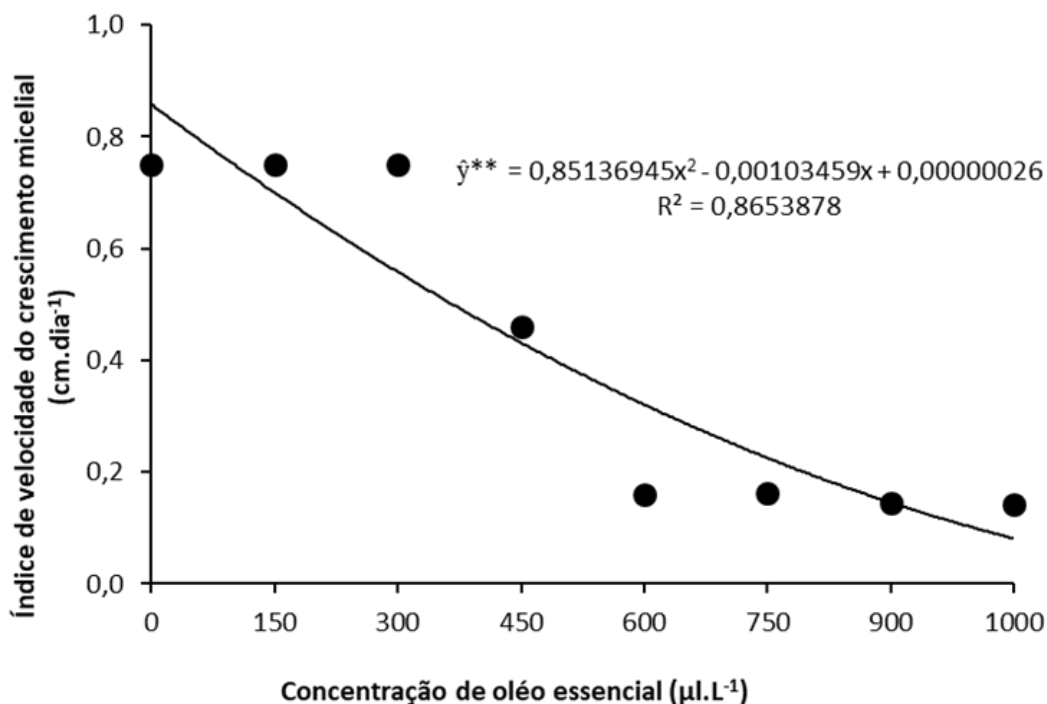


aumento da inibição do crescimento fúngico em relação a testemunha, de 83% na concentração  $250 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$  para 100 % a partir da concentração de  $500 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ . Sharma et al. (2017) também observaram relação entre o aumento da dose do óleo essencial de cravo e a inibição do crescimento micelial do *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici.

Outros trabalhos comprovam a eficiência do óleo de cravo na inibição de fungos que a depender da dosagem pode conferir ação fungicida. Ascensão e Mouchrek Filho (2013) constataram que óleo essencial do cravo na concentração de  $1\mu\text{LmL}^{-1}$  em meio BDA foi eficiente no controle do crescimento micelial de quatro espécies de *Fusarium*. Rana et al. (2011) constataram, in vitro, que o óleo essencial de *S. aromaticum* proporcionou a inibição total do crescimento micelial dos fungos *Fusarium moniliforme* NCIM 1100, *F. oxysporum* MTCC 284, *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Trichophyton rubrum* e *Microsporium gypseum*.

### 3.3. Índice de Velocidade do Crescimento Micelial (IVCM)

Quando se compara a velocidade de crescimento do controle com as demais concentrações observa-se que o aumento na dosagem do óleo essencial proporcionou o decréscimo no IVCM do fungo. A velocidade mínima de crescimento foi inferior a  $0,2 \text{ cm}\cdot\text{dia}^{-1}$  na concentração  $1000 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$  (**Figura 3**).



**Figura 3.** Efeito das diferentes concentrações do óleo essencial de cravo-da-índia no índice de velocidade do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*.

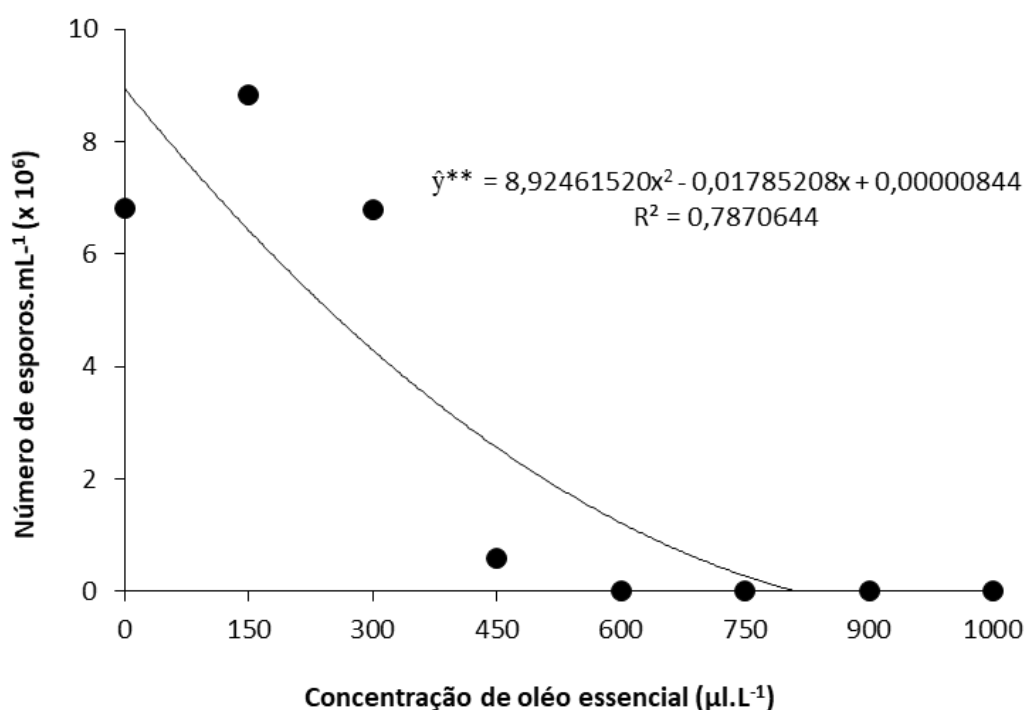
Quanto menor a quantidade de óleo usada no controle do fungo, mais economicamente viável se torna o método. Oliveira Júnior et al. (2013), alertam que o aumento na concentração do óleo eleva os custos de produção e inviabiliza a sua utilização em escala comercial.

Inúmeras pesquisas com óleos essenciais no controle de microrganismos vêm sendo desenvolvidas com resultados satisfatórios, no entanto, há poucas que avaliam o IVCM. Estudando o efeito de óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *Fusarium solani*, Ferreira et al. (2012) perceberam a redução a partir da concentração de 15 µLmL<sup>-1</sup> para diferentes tipos de óleos em função do aumento da concentração. Sousa et al. (2012) avaliaram a ação antifúngica de dez óleos essenciais frente ao *C. gloeosporioides* causador da antracnose em pimenta e perceberam que, independente do óleo testado, no último dia de análise o IVCM teve comportamento semelhante ao crescimento micelial. Oliveira Júnior et al. (2013), investigando a ação do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* RADDI) sobre o *C. gloeosporioides*, observaram que a maior concentração (0,50%) foi capaz de inibir 79,07% do crescimento micelial em relação a testemunha.

### 3.4. Produção de esporos

O patógeno quando cultivado na concentração de 150  $\mu\text{L}^{-1}$  apresentou produção de esporos ligeiramente menor à testemunha. Nas concentrações seguintes a esporulação foi diminuindo consideravelmente, cessando a produção das células reprodutivas nas concentrações 900 e 1000  $\mu\text{L}^{-1}$  (**Figura 4**).

Deduz-se que esse comportamento está associado a ação metabólica do *C. gloeosporioides* ao meio adverso. O aumento da dosagem testada disponibilizou no meio BDA uma maior quantidade dos componentes tóxicos do OEC, interferindo consequentemente, na capacidade do microrganismo em produzir as células reprodutivas.



**Figura 4.** Efeito das diferentes concentrações do óleo essencial de cravo na produção de esporos do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. \*\* Teste de regressão a ( $p < 0,01$ ).

A inibição da produção dos esporos está associada a sensibilidade do fungo aos componentes químicos do óleo essencial. De acordo com Cruz et al. (2015) algumas substâncias encontradas nos óleos essenciais possuem grupos funcionais, a exemplo das hidroxilas, carbonilas e duplas ligações que apresentam ação antifúngica. Cortés-Rojas et al. (2014) atribuem ao eugenol, composto majoritário no óleo de cravo, a capacidade de destruição dos esporos, a ruptura da membrana e deformação de macromoléculas fúngicas. Yuan et al. (2016) ressaltam

ainda que no complexo hospedeiro/composto antimicrobiano/sistema patogênico, muitos processos bioquímicos podem ocorrer com diferentes efeitos sobre a atividade biológica dos compostos antimicrobianos. Um desses efeitos seria o desenvolvimento na redução de resistência do microrganismo contra a mistura de compostos químicos com ação antimicrobiana.

O efeito fungitóxico também foi relatado por Lorenzetti et al. (2011) ao avaliarem a bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. Dentre os substratos testados, o óleo de cravo inibiu completamente a esporulação do fungo. Cruz et al. (2015) testaram contra o *Fusarium solani* a eficiência do óleo essencial de citronela, que contém eugenol em sua composição assim como o OEC. Os autores observaram que a aplicação do óleo apresentou efeito significativo, sendo a menor alíquota testada a que promoveu redução superior a 95% do desenvolvimento dos três isolados fúngicos.

Os dados permitem inferir o potencial antifúngico do óleo de cravo contra o *C. gloeosporioides*. Essa atividade possivelmente está relacionada a ação dos componentes químicos, uma vez que os óleos essenciais emitem compostos voláteis que têm efeito na superfície de crescimento micelial, na percepção e transdução de sinais envolvidos na mudança de fase vegetativa para a reprodutiva, influenciando conseqüentemente no processo de esporulação dos fungos (Oliveira Júnior et al., 2013; Mangany et al., 2015).

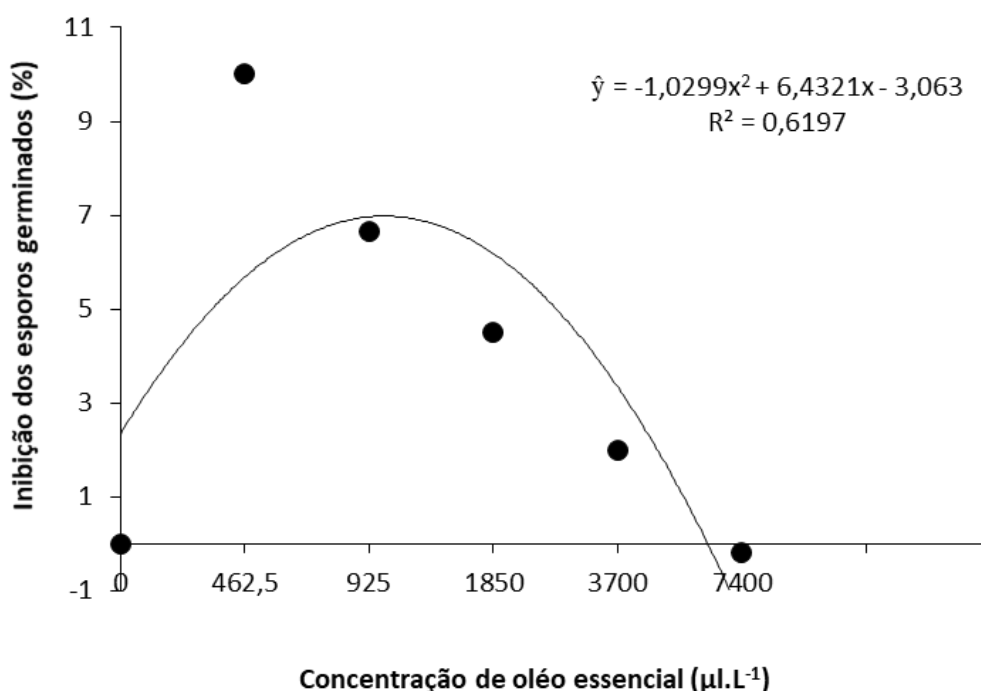
### 3.5. Concentração inibitória mínima (CIM) e germinação de esporos

A CIM do óleo essencial de cravo capaz de inibir o crescimento fúngico mediante inspeção visual foi de 1850  $\mu\text{L}^{-1}$ . Entretanto, essa concentração e as superiores permitiram o crescimento visível do subcultivo quando transferido para o meio BDA após 72 h de incubação, indicando que o OEC apresentou apenas ação fungitóxica contra o *C. gloeosporioides*.

Em virtude da baixa solubilidade em água e da viscosidade do óleo essencial do cravo é comum a utilização de solventes que facilitem a dispersão do óleo no meio de cultura, por isso nos testes in vitro utilizou-se o agente emulsificador Tween 20® a 10 %. Entretanto, ao avaliar a germinação dos esporos percebeu-se que o agente dispersante interferiu na ação do OEC em relação ao metabolismo do *C. gloeosporioides*, resultando no estímulo à germinação de esporos. Esse efeito foi refletido nos tratamentos contendo óleo essencial, em que a inibição do percentual

de esporos germinados diminuiu proporcionalmente com o aumento da concentração do OEC, superando inclusive o percentual germinativo do controle (**Figura 5**).

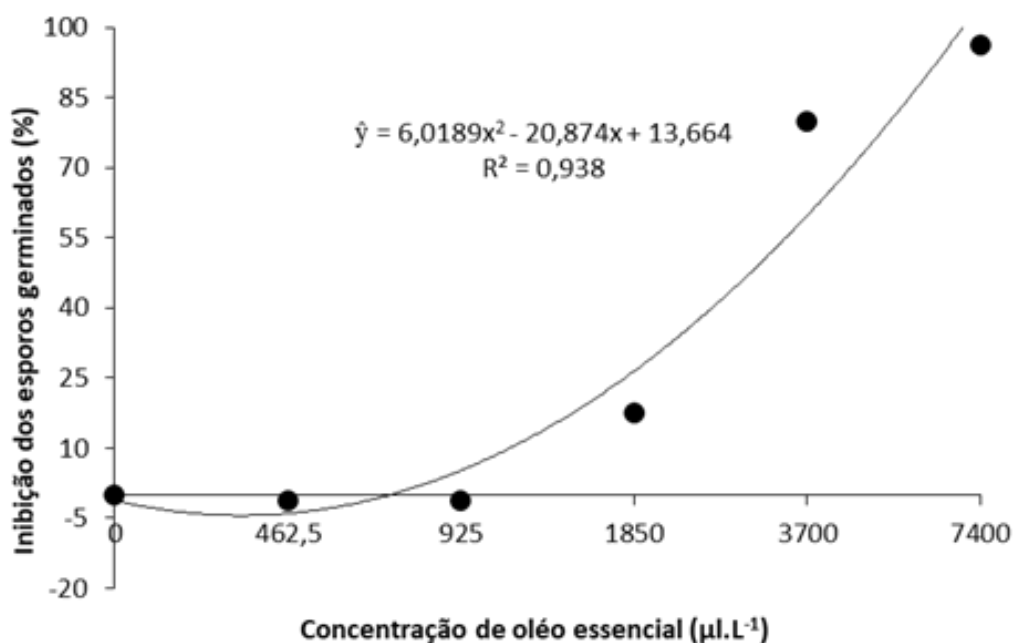
Pesquisas apontam que algumas substâncias vegetais são capazes de estimular a germinação das células reprodutivas (Trés et al., 2010; Cunico et al., 2012; Borges et al., 2013), contudo, não foram encontrados relatos associando o Tween ao estímulo germinativo. Também não foram obtidos registros indicando que o OEC promova a germinação de esporos do *C. gloeosporioides* ou de outro fitopatógeno, especialmente por ser uma mistura complexa de componentes com ação antimicrobiana reconhecida. A literatura indica apenas que a falta de inibição do desenvolvimento fúngico por substâncias bioativas pode ser um mecanismo de defesa que possibilita o estabelecimento e posterior desenvolvimento do microrganismo (Trés et al., 2010; Silva, 2014), ou mesmo a capacidade do fitopatógeno em utilizar os bioativos como nutrientes ou biotransformá-los (Cunico et al., 2012).



**Figura 5.** Percentual de esporos germinados do *Colletotrichum gloeosporioides* submetido a diferentes concentrações do óleo essencial de cravo diluído no agente emulsificador Tween 20® a 10%.

Supõe-se que houve interação entre o Tween 20® a 10% com os componentes químicos do óleo essencial de cravo, resultando na ativação da germinação dos esporos e conseqüentemente, anulando o efeito antifúngico esperado. Esse comportamento pode contribuir para o avanço de pesquisas com fungos benéficos ou que apresentam problemas de germinação. Entretanto, novos ensaios são necessários no intuito de identificar se a associação desses componentes pode potencializar a germinação de esporos dormentes, contribuindo assim com a geração de informações relativas ao estímulo da germinação de conídios.

Um novo experimento foi montado, dessa vez sem a utilização do agente dispersante, para comprovar se o estímulo germinativo era efeito da interação do óleo com o Tween ou apenas do óleo essencial. Os resultados estão expressos na **Figura 6**.



**Figura 6.** Percentual de germinação de esporos do *Colletotrichum gloeosporioides* submetido a diferentes concentrações do óleo essencial de cravo na ausência do agente emulsificador Tween 20® a 10%.

Houve uma relação dose-efeito inversamente proporcional na menor concentração do óleo essencial de cravo (462,5 µL<sup>-1</sup>) com germinação dos esporos maior do que a obtida no controle negativo. A partir da concentração 925 µL<sup>-1</sup>, foi possível perceber o aumento progressivo da ação antifúngica do óleo de cravo,

com aumento na inibição da germinação de esporos, chegando a inibir 100% na concentração 7400  $\mu\text{L}^{-1}$ .

O estímulo à germinação na concentração inicial pode ser atribuído a capacidade de adaptação bioquímica do fungo aos componentes do óleo essencial do cravo. Leite e Stangarlin (2008) indicam que alguns esporos possuem mucilagens superficiais como estratégia de sobrevivência em situações adversas. Os autores complementam informando que as proteínas das mucilagens ricas em prolina se ligam aos compostos fenólicos anulando a ação dos fenilpropanóides, tornando-os menos tóxicos.

O aumento nas concentrações do óleo essencial elevou o nível de toxicidade tornando o ambiente mais adverso. Com isso o fungo perdeu a capacidade de adaptação bioquímica e conseqüentemente, houve redução crescente na capacidade de germinação dos esporos. A literatura indica ainda os óleos essenciais interagem com a estrutura fúngica, desnaturando as enzimas responsáveis pela germinação de esporos, produção de energia e síntese de compostos estruturais ou interferindo no aminoácido envolvido na germinação, conferindo aos óleos essenciais ação esporicidas em certas concentrações (Velázquez-Nuñez et al. 2013; Casas et al., 2016).

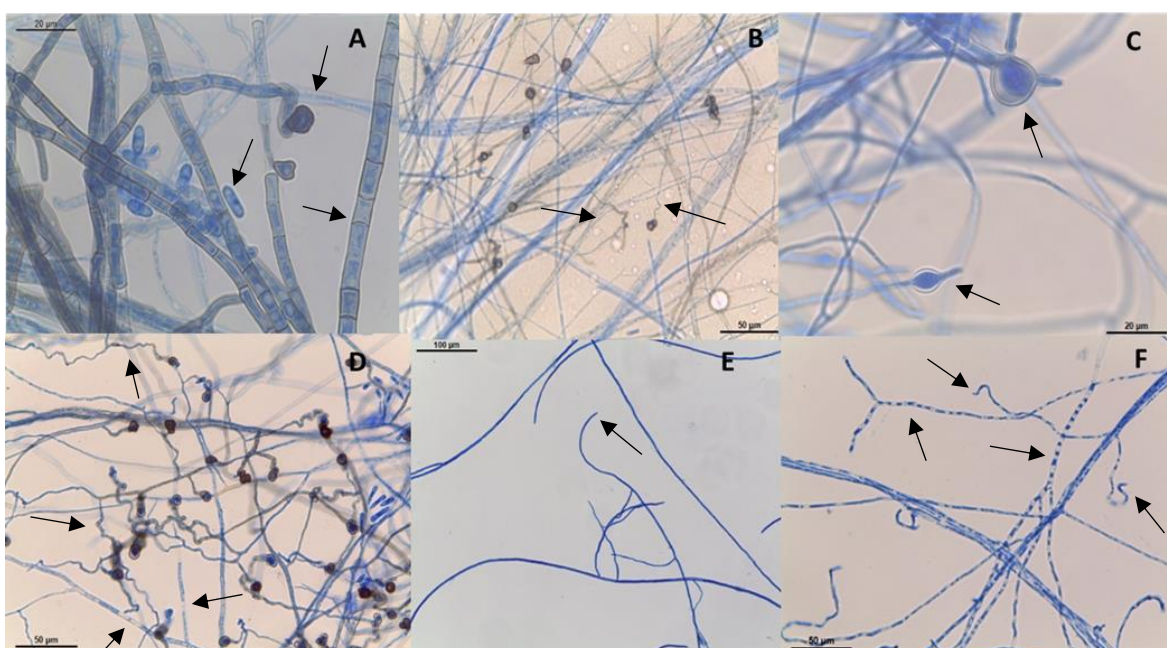
Nem sempre a dosagem testada contra determinado microrganismo tem efeito fungicida, uma vez que a ação tem relação direta com a espécie vegetal testada e a interação com o microrganismo. Todavia, de acordo com Sharma et al. (2017) por serem lipofílicos os óleos essenciais conseguem penetrar na bicamada lipídica e provocar danos à membrana fúngica. Por isso a importância em observar microscopicamente as estruturas do propágulo, uma vez que o óleo essencial pode provocar alterações que impeçam o desenvolvimento e reprodução do fungo.

### 3.6. Avaliação microscópica

Por meio das observações ao microscópio foi possível detectar o efeito tóxico do OEC a partir das alterações morfológicas na estrutura do *C. gloesporioides*, conforme **Figura 7**. O tratamento controle apresentou hifas, apressórios e esporos característicos da espécie (**Figura 7A**). Entretanto, na presença do óleo essencial as hifas apresentaram deformações do tipo enrugamento (**Figura 7B, 7D**), enrolamento nas terminações (**Figura 7E, 7F**) e

perda do conteúdo citoplasmático (**Figura 7D, 7F**). Os esporos apresentaram-se deformados (**Figura 7D**) ou ausentes (**Figura 7E, 7F**).

Resultados semelhantes de modificações superficiais foram descritos por Costa et al. (2011) utilizando óleo essencial de *S. aromaticum* contra *R. solani*, *F. oxysporum*, *F. solani* e *M. phaseolina*. Também Sharma e Tripathi (2008) usando óleo essencial de *C. sinensis* em *A. niger* perceberam alterações. Brito et al. (2015) perceberam que o óleo essencial de *Lippia sidoides* provocou alterações morfológicas inibindo ou reduzindo a emissão de hifas e pseudohifas em *Candida* spp.



**Figura 7.** Estruturas fúngicas do *Colletotrichum gloeosporioides* cultivado em diferentes concentrações do óleo essencial de cravo. **A.** 0  $\mu\text{L}^{-1}$ . **B.** 150  $\mu\text{L}^{-1}$ . **C.** 300  $\mu\text{L}^{-1}$ . **D.** 450  $\mu\text{L}^{-1}$ . **E.** 600  $\mu\text{L}^{-1}$ . **F.** 750  $\mu\text{L}^{-1}$ .

Foi possível observar também a formação de clamidósporos (**Figura 7C**). Essas células são estruturas de resistência produzidas por muitas espécies de fungos favorecendo a sobrevivência do microrganismo em condições desfavoráveis (Son, Jungkwan e Lee, 2012), a exemplo da seca prolongada ou variação de temperatura. A presença do óleo essencial de cravo no meio de cultura foi um potencializador do estresse, estimulando o microrganismo a produzir as estruturas de resistência com objetivo de manter-se vivo no ambiente adverso.

Essas observações indicam a atividade antifúngica do óleo essencial de *S. aromaticum*. O eugenol, principal constituinte, se difunde entre as membranas



celulares modificando a estrutura das membranas e perturbando o crescimento fúngico (Harri, 2008; Costa et al., 2011; Mangany et al. 2015). Todavia, deve-se considerar a ação do fitocomplexo do óleo essencial de cravo que contribui na potencialização da atividade fungitóxica.

É possível inferir que a atividade antifúngica do OEC está relacionada a sua capacidade lipofílica. A composição química do óleo interage com o lipídeo da membrana e da mitocôndria, provocando a perda de ATP intracelular e íons de potássio, alterações nas hifas, perda dos constituintes celulares, a lise dos esporos e deformação dos micélios, resultando na desordem e morte celular (Costa et al., 2011; Rana et al., 2011; Cortés-Rojas et al., 2014; Rajesh, 2014; Sharma et al., 2017). A literatura comprova que as substâncias presentes nos óleos essenciais interagem com o lipídeo da membrana fúngica causando mudanças na permeabilidade e na estrutura. O ataque à parede celular resulta em retração do citoplasma nas hifas, possivelmente devido à interferência nas reações enzimáticas de síntese de paredes, afetando a morfogênese e o crescimento dos fungos (Sharma e Tripathi, 2008). Ocorrem também o extravasamento do material celular e o murchamento das hifas (Costa et al., 2011; Santos et al., 2013; Maia et al., 2015).

As alterações morfológicas observadas são importantes, pois são mais uma evidência do efeito do óleo essencial de cravo sobre o desenvolvimento e a viabilidade do *C. gloeosporioides*. Dessa forma, pressupõe-se que o óleo essencial de *S. aromaticum* ao alterar a estrutura natural do microrganismo seja capaz de reduzir também a sua patogenicidade, sendo um potencial agente antifúngico natural.

Sugerem-se novos estudos para avaliar a concentração do óleo essencial capaz de impedir o desenvolvimento do microrganismo in vivo e consequentemente, controlar a antracnose em mamão pós-colheita.

#### **4. CONCLUSÃO**

Conclui-se que o óleo essencial de cravo possui efeito fungitóxico sobre o *C. gloeosporioides* causando alterações nas estruturas das colônias e inibição do seu desenvolvimento.

## 5. AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P., 2007. Identification of essential oil componentes by gas chromatography/mass spectrometry, fourth ed. Allured Business, Carol Stream. 2007.
- AGUILAR-GONZÁLEZ, A.E. et al. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against grey mold (*Botrytis cinerea*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies in strawberries**, v. 32, p. 181-185, 2015.
- AL-SAMARRAI, G. et al. Evaluating eco-friendly botanicals (natural plant extracts) as alternatives to synthetic fungicides. **Annals of agricultural and environmental medicine** v.19, p. 673-676, 2012.
- ANDRADE, W.P.; VIEIRA, G.H.C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose in vitro e em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.367-372, 2016.
- ASCENÇÃO, V.L.; MOUCHREK FILHO, V.E. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo). **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 20, n. especial, julho 2013.
- BAUTISTA-ROSALES, P.U. et al. Biocontrol action mechanisms of *Cryptococcus laurentii* on *Colletotrichum gloeosporioides* of mango. **Crop Protection**, v.65, p.194–201, 2014.
- BORGES, D. I. et al. Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas na germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 15, n. 3, p. 325-331, 2013.
- BOUKAEW, S. et al. Evaluation of antifungal activity of essential oils against aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and their allelopathic activity from fumigation to protect maize seeds during storage. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 558-566, 2017.
- BRITO, D. I.V. et al. Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida* spp.

**Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.4, supl. II, p.836-844, 2015.

CABRAL, L. da C. et al Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, p. 1-14, 2013.

CARVALHO, J.B. et al. Fungitoxicidade de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon martinii* a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de pimentão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.1, p.88-93, 2008.

CASAS, J. et al. Microbial inactivation of paprika using oregano essential oil combined with high-pressure CO<sub>2</sub>. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.116, p. 57-61, 2016.

CAVALCANTI, Y.W. et al. Atividade Antifúngica de Extratos Vegetais Brasileiros sobre Cepas de Candida. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v.16, n 1, p. 43-48, 2012.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), 2008. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica dos Fungos Filamentosos: Norma Aprovada. Clinical Laboratory Standards Institute, Pennsylvania. CLSI documento M38-A, v. 22, n.16.

CORTÉS-ROJAS, D.F. et al. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 2, p. 90-96, 2014.

COSTA, A.R.T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* Merr. & L. M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v.13, n. 2, Botucatu, 2011.

CRUZ, T.P. da et al. Atividade fungicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowit (citronela) contra *Fusarium solani*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 1, p. 1-8, 2015.

CUNICO, M. M. et al. Avaliação do extrato etanólico de *Ottonia martiana* Miq. para o controle de duas doenças florestais. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v.14, n.3, p.464-469, 2012.

DANTAS, S. A. F. Doenças Fúngicas Pós-Colheita em Mamões e Laranjas Comercializados na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.528-533, 2003.

FELIPE, L. O. & BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Revista Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

FERREIRA, J.B. et al. Efeito da temperatura e óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *Fusarium solani* isolado de mudas de *Euterpe oleracea* Mart (açai). **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.8, n.14; p. 453 – 465, 2012.

- HARRI, L. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2 ed. **Nova Odessa**, SP: Instituto Plantarum, 2008. 572 p.
- JAKIEMIU, E. A. R. Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). 2008. 89 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- KARIMI, K. et al. *Funneliformis mosseae* root colonization affects *Anethum graveolens* essential oil composition and its efficacy against *Colletotrichum nymphaeae*. **Industrial Crops and Products**, v.90, p. 126–134, 2016.
- KEWSUWAN, P. et al. Irradiated Oligochitosan Against *Colletotrichum Gloeosporioides* In Chili. **Energy Procedia**, 56, p.274 – 279, 2014.
- KIRALAN, M. et al. Essential oil composition and antiradical activity of the oil of Iraq plants. **Natural product research**, 26, p.132–139, 2012.
- LEITE, B. & STANGARLIN, J. R. Fisiologia e bioquímica de doenças fúngicas. In: **Interação planta-patógeno: Fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.115-152.
- LOGUERCIO-LEITE, C. et al. A particularidade de ser um fungo – I. Constituintes celulares. **Revista Biotemas**, v.19, n. 2, p. 17-27, 2006.
- LONG, N. N. V. et al. Active packaging with antifungal activities. **International Journal of Food Microbiology**, v. 220, p. 73-90, 2016.
- LORENZETTI, E. R. et al. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai.**, Botucatu, v.13, especial, p.619-627, 2011.
- MAIA, T. F. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.1, p.105-116, 2015.
- MANGANY, M. C. et al. Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* isolates and their biofilms. **South African Journal of Botany**, v. 99, p. 115-121, 2015.
- MULLA, M. et al. Antimicrobial efficacy of clove essential oil infused into chemically modified LLDPE film for chicken meat packaging. **Food Control**, v. 73, parte B, p. 663-671, 2017.
- NASCIMENTO, J. M. et al. Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai.**, v.15, n.4, supl.1, p. 751-756, 2013.
- OLIVEIRA JÚNIOR, L.F.G. et al. Efeito fungitóxico do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* RADDI) sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai.**, Botucatu, v.15, n.1, p.150-157, 2013.

- OLIVEIRA, A. A. R. et al. Doenças e seu controle. In: **Mamão**. Produção: aspectos técnicos. TRINDADE, A. V. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 77p.
- RAJESH, K.J. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) from Western Ghats of North West Karnataka, India. **Ancient science of life**, 33: 151-156, 2014.
- RANA, I.S. et al. Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. **Brazilian Journal of Microbiology**, 42, p.1269-1277, 2011.
- RIBEIRO, I.J.G. et al. Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 42, n. 2, p. 160-164, 2016.
- RIBEIRO-SANTOS, R. et al. Biological activities and major components determination in essential oils intended for a biodegradable food packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 201-210, 2017.
- SANTOS, A.S. et al. Embrapa Amozônia Ocidental. **Informe técnico**: Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório. Belém, 2004. P.6. Disponível em:< <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/402448/1/com.tec.99.pdf>>. Acesso em: 16 mar 2016.
- SANTOS, G.R. dos et al. Effect of essential oils of medicinal plants on leaf blotch in Tanzania grass. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.3, Fortaleza, jul./set., 2013.
- SELLAMUTHU, P.S. et al. Essential oil vapours suppress the development of anthracnose and enhance defence related and antioxidant enzyme activities in avocado fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 81, p. 66-72, 2013.
- SHARMA, A. et al. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 123, n. 3, p. 308-313, 2017.
- SHARMA, N. & TRIPATHI, A. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. **Microbiological Research**, v. 163, p. 337-344, 2008.
- SILVA, R. M. Extrato de folhas de Juá (*Ziziphus joazeiro* mart): atividade antioxidante, antibacteriana, antifúngica e controle da podridão vermelha do sisal. 75 f. 2014. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2014.
- SON, H.; LEE, J.; LEE, Y-W. Mannitol induces the conversion of conidia to chlamyospore-like structures that confer enhanced tolerance to heat, drought, and UV in *Gibberella zeae*. **Microbiological Research**, v. 167, p. 608-615, 2012.

SOUSA, R.M.S. de et al. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 38, n. 1, p. 42-47, 2012.

SUTTON, B.C. 1980. **The Coelomycetes**. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 696p.

TELES, S. et al. Effect of geographical origin on the essential oil content and composition of fresh and dried *Mentha x villosa* Hudson leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p.1-7, 2013.

TELES, S. et al. Geographical origin and drying methodology may affect the essential oil of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p.247–252, 2012.

THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING. The R Foudantion for Statistical Computing, 2013. R version 2.15.3 (2013-03-01).

TRÉS, S. P. et al. Penicilina e cavalinha no controle alternativo da ferrugem asiática da soja. **Cultivando o Saber**, v.3, n.4, p.16-23, 2010.

VELÁZQUEZ-NUÑEZ, M. J. et al. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. **Food Control**, v.31, n. 1, p. 1-4, 2013.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. **Food Control**, v. 19, n. 2, p. 1130–1138, 2008.

YUAN, G. et al. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. **Food Research International**, v. 89, p. 117-128, 2016.

## **ARTIGO 2**

### **CONTROLE PÓS-COLHEITA DA ANTRACNOSE EM MAMÃO PELO USO DE REVESTIMENTOS A BASE DE FÉCULA DE MANDIOCA E ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA<sup>2</sup>**

---

<sup>2</sup> Artigo a ser submetido ao Comitê Editorial do periódico científico International journal of food microbiology.

## Controle pós-colheita da antracnose em mamão pelo uso de revestimentos a base de fécula de mandioca e óleo essencial de cravo-da-índia

Daniele de Vasconcellos Santos Batista<sup>1\*</sup>, Ronielli Cardoso Reis<sup>2</sup>, Jamile Mota Almeida<sup>3</sup>, Beatriz Rezende<sup>3</sup>, Franceli da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Brasil

<sup>2</sup> Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Brasil

<sup>3</sup> Faculdade Maria Milza, Cruz das Almas, Brasil

\*danielleagr@yahoo.com.br

**Resumo:** O fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides* é o agente causal da antracnose, uma das principais doenças que acometem o mamão. O controle do fungo normalmente é feito com a utilização de fungicidas sintéticos que, em excesso, podem prejudicar os consumidores e o ambiente, por isso a busca por produtos naturais que minimizem esses efeitos adversos tem estimulado pesquisas com os óleos essenciais. Diante do exposto, o objetivo no trabalho foi avaliar a ação de revestimentos comestíveis de origem biológica no controle in vivo da antracnose em duas variedades de mamão na pós-colheita. O experimento foi conduzido em três etapas e em todas os frutos das variedades Aliança e Golden THB foram adquiridos no estágio 1 de maturação, selecionados e submetidos a limpeza e sanitizados a 100 ppm por dez minutos. Na primeira etapa testou-se sete métodos de inoculação artificial do *C. gloeosporioides* em superfície do mamão intacta ou com injúria física. O método que permitiu a melhor avaliação da severidade doença em condições laboratoriais foi selecionado para a segunda etapa em que seis diferentes concentrações do óleo essencial de cravo - OEC (0  $\mu\text{L}^{-1}$ ; 750  $\mu\text{L}^{-1}$ ; 1250  $\mu\text{L}^{-1}$ ; 1750  $\mu\text{L}^{-1}$ ; 2250  $\mu\text{L}^{-1}$ ; 2750  $\mu\text{L}^{-1}$ ) foram pulverizados nos frutos para avaliar o controle da lesão dos mamões armazenados em temperatura ambiente até atingirem o estágio 5 de maturação. Na terceira etapa, a concentração do OEC mais eficiente no controle da lesão foi testada associada ou não à suspensão de fécula de mandioca - SFM como revestimento comestível: Controle; SFM a 2,25%; OEC; SFM a 2,25% + OEC. Os resultados apontaram que o melhor método de inoculação artificial foi a deposição do disco fúngico sobre injúria única feita em quatro regiões equidistantes do mamão. As três maiores concentrações do OEC inibiram mais de 44% do diâmetro da lesão da antracnose, selecionando-se a concentração 1750  $\mu\text{L}^{-1}$  para compor o revestimento comestível por utilizar a menor quantidade do OEC e apresentar o mesmo efeito inibitório das concentrações 2250  $\mu\text{L}^{-1}$ ; 2750  $\mu\text{L}^{-1}$ . A película SFM foi eficiente no controle da doença nas duas variedades estudadas, entretanto, a associação do OEC à SFM também apresentou comportamento satisfatório no retardo do desenvolvimento e velocidade de crescimento da lesão, com desempenhos superiores aos dos frutos não revestidos. Conclui-se que a aplicação do revestimento SFM, de maneira isolada ou associada ao OEC, controla a antracnose em mamão pós-colheita.

**Palavras-chave:** *Carica papaya*, *Manihot esculenta*, fruticultura orgânica, biofilme.



## Postharvest control of anthracnose in papaya using cassava starch and clove essential oil coatings

**Abstract:** The phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides* is the causal agent of anthracnose, one of the main diseases affecting papaya. The control of the fungus is usually done by using synthetic fungicides that, in excess, can harm consumers and the environment, so the search for natural products that minimize these adverse effects has stimulated research with essential oils. Given the above, the objective of this work was to evaluate the action of edible coatings of biological origin in the in vivo control of anthracnose in two varieties of papaya postharvest. The experiment was conducted in three steps and all fruits of the varieties Aliance and Golden THB were acquired in stage 1 of maturation, selected and subjected to cleaning and sanitized at 100 ppm for ten minutes. In the first stage, seven methods of artificial inoculation of *C. gloeosporioides* on intact or physically injured papaya surface were tested. The method that allowed the best assessment of disease severity under laboratory conditions was selected for the second stage in which six different concentrations of clove essential oil - OEC ( $0 \mu\text{L}^{-1}$ ;  $750 \mu\text{L}^{-1}$ ;  $1250 \mu\text{L}^{-1}$ ;  $1750 \mu\text{L}^{-1}$ ;  $2250 \mu\text{L}^{-1}$ ;  $2750 \mu\text{L}^{-1}$ ) were sprayed on the fruits to evaluate the lesion control of papaya stored at room temperature until they reached stage 5 of maturation. In the third stage, the most efficient OEC concentration in the lesion control was tested associated or not with the cassava starch suspension - SFM as edible coating: Control; SFM 2.25%; OEC; SFM 2.25% + OEC. The results showed that the best method of artificial inoculation was the fungal disc deposition on a single injury done in four equidistant regions of the papaya. The three highest OEC concentrations inhibited more than 44% of the anthracnose lesion diameter by selecting the  $1750 \mu\text{L}^{-1}$  concentration to compose the edible coating as it used the smallest amount of OEC and had the same inhibitory effect as the  $2250 \mu\text{L}^{-1}$ ;  $2750 \mu\text{L}^{-1}$ . The SFM film was efficient to control the disease in both varieties studied, however, the association of OEC with SFM also presented satisfactory behavior in the developmental delay and growth speed of the lesion, with superior performances than the uncoated fruits. It can be concluded that the application of SFM coating, alone or associated with OEC, controls anthracnose in postharvest papaya.

**Keywords:** *Carica papaya*, *Manihot esculenta*, organic fruit growing, biofilm.

## 1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya*), é uma cultura economicamente importante no Brasil sendo a Bahia uma das maiores regiões produtoras (Anuário brasileiro da fruticultura, 2018). As frutas são susceptíveis à contaminação por fungos fitopatogênicos, favorecida por fatores ambientais e danos mecânicos (Coelho, Hoffmann e Hirooka, 2003), que resultam em perdas pós-colheita.

A antracnose, uma das principais doença da cultura, é provocada pelo complexo fúngico *Colletotrichum* spp. que pode infectar os frutos no estágio fisiologicamente imaturos e permanecer quiescente até o mamão atingir o climatério, quando então germinam e produzem estruturas de penetração (Boonruang et al., 2017; Lu et al., 2017; Tatagiba et al., 2002), resultando em manchas pretas de aspecto gelatinoso (Oliveira et al., 2000; Cia e Benato, 2005). Isso inviabiliza os frutos para a comercialização e, conseqüentemente, reduz o seu valor comercial.

Considerando a importância socioeconômica da fruticultura para o país, a utilização de métodos de controles capazes de inibir ou retardar o desenvolvimento de microrganismos tem um papel importante no prolongamento da vida útil pós-colheita dos frutos. Atualmente, esse controle é dependente de fungicidas sintéticos e devido ao potencial de toxicidade ao ser humano e os possíveis efeitos biológicos indesejáveis (Hernandez-Montiel et al., 2018; Vilaplana, Pazmiño e Valência-Chamorro, 2018; Wang, Gao e Heng, 2018), a busca por agentes antifúngicos naturais tem impulsionado estudos que investigam uma tecnologia de controle sem deixar resíduos nos alimentos.

Pesquisas com óleos essenciais indicam que esses compostos são considerados opções naturais, seguros e biodegradáveis, além de possuírem um amplo espectro de atividades fungicidas contra patógenos pós-colheita (Hasheminejad, Khodaiyan e Safari, 2019) ao atuarem na estrutura celular promovendo o desequilíbrio e morte dos fungos (Gonçalves et al., 2015; Oliveira et al., 2016). Dentre eles o óleo essencial do cravo (*Syzygium aromaticum*) se destaca por possuir compostos com ação antifúngica comprovada, a exemplo do eugenol (Ascensão e Mouchrek Filho, 2013; Sarto e Zanusso Junior, 2014).

O potencial antifúngico do óleo de cravo já foi descrito em diversos trabalhos científicos (Aguilar-González et al., 2015; Fialho et al., 2015; Mangany et al., 2015;

Velázquez-Nunes et al., 2013). Dependendo do microrganismo, da dosagem e da forma de aplicação, o óleo pode ter atividade fungitóxica ou fungicida. Contudo, como os constituintes do óleo essencial do cravo são altamente voláteis e pouco solúveis em água, o seu potencial antimicrobiano por vezes pode ser consideravelmente limitado (Hasheminejad, Khodaiyan e Safari, 2019).

Incorporar o óleo de cravo ao revestimento comestível pode potencializar a ação deste contra o desenvolvimento da antracnose em mamão. Denomina-se revestimento comestível a camada fina e uniforme de compostos comestíveis aplicados diretamente sobre a superfície do alimento, seja por pulverização ou imersão (Hassan et al., 2018; Salgado et al., 2015). A película comestível evita as perdas de gases e de água, reduz as taxas respiratórias de reações oxidativas e, conseqüentemente, inibe o processo de senescência e distúrbios fisiológicos, além de proteger o alimento contra danos mecânicos e microbiológicos (Arnon-Rips e Poverenov, 2018; Thakur et al., 2019; Yan et al., 2019). Todos esses fatores resultam na melhoria da aparência e no aumento do tempo de conservação do vegetal.

Uma matéria prima utilizada como revestimento é a fécula extraída da mandioca (*Manihot esculenta*). Por ser um polissacarídeo biodegradável, de baixo custo e amplamente disponível no Brasil vem sendo estudado como revestimento de produtos hortícolas por necessitar de baixa temperatura para atingir o ponto de gelatinização e manter estável o gel formado (Fakhoury et al. 2012; Luvielmo e Lamas, 2012; Orzari, Santos e Janegitz, 2018). Importante ressaltar que esses materiais provocam poucos efeitos adversos ao ambiente e protegem os vegetais da degradação durante o armazenamento, por isso vem sendo amplamente utilizados.

Diante do exposto o objetivo na pesquisa foi investigar o potencial antifúngico do óleo essencial de cravo e de revestimentos a base de fécula de mandiocas no controle da antracnose em mamão pós-colheita.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Matéria-prima**

Os mamões da variedade Golden THB e Aliança (ambos do grupo Solo) foram provenientes dos municípios de Mucuri-BA e Eunápolis-BA,

respectivamente, transportados ao Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Embrapa Mandioca e Fruticultura ainda no estágio 1 de maturação (até 15% da superfície amarela), conforme escala visual publicada pela GEAGESP (2009). Os frutos foram selecionados de acordo com a similaridade de maturação, ausência de defeitos superficiais ou sintomas de doenças. Todos os mamões foram submetidos a limpeza em água corrente, sanitização em solução de hipoclorito de sódio a 100 ppm durante 10 minutos, enxaguados com água corrente e deixados para secar sobre bancadas à temperatura ambiente em diferentes épocas do ano.

## 2.2. Determinação do método de inoculação fúngica nos frutos de mamoeiro

O microrganismo *C. gloeosporioides* foi obtido da Coleção de Cultura de Fungos Fitopatogênicos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura no município de Cruz das Almas-BA. A confirmação da espécie foi realizada baseando-se nas características macro e microscópicas (Sutton, 1980), por meio do crescimento do fungo em batata-dextrose-ágar (BDA), suplementado com 50  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$  do antibiótico clorofenicol, e incubado por 8 a 12 dias a 27 °C.

Após a limpeza e sanitização, os frutos da variedade Golden THB foram divididos em sete tratamentos correspondentes aos diferentes métodos de inoculação do *C. gloeosporioides*: T1 - aspersão da solução de esporos  $10^6$  conídios. $\text{mL}^{-1}$  na superfície intacta; T2 - deposição de 15  $\mu\text{L}$  da solução de  $10^6$  conídios. $\text{mL}^{-1}$  sobre quatro regiões equidistantes da epiderme intacta; T3 - deposição de 15  $\mu\text{L}$  da solução de  $10^6$  conídios. $\text{mL}^{-1}$  sobre um conjunto de cinco ferimentos feitos em quatro regiões equidistantes; T4 - deposição de um disco fúngico em quatro regiões equidistantes da epiderme intacta; T5 - deposição do disco fúngico sobre única injúria feita em quatro regiões equidistantes; T6 - deposição de um disco fúngico sobre um conjunto de cinco ferimentos feitos na epiderme do mamão; T7 - controle (sem fungo e sem injúria).

Os discos fúngicos mediam 7 mm de diâmetro e consistiam de meio BDA contendo propágulos do *Colletotrichum* sp. Os ferimentos foram realizados com auxílio de agulha metálica hipodérmica previamente esterilizada. A profundidade dos ferimentos foi padronizada em 7 mm para a deposição da solução de esporos e o látex dos ferimentos foi removido com auxílio de algodão. Os mamões permaneceram acondicionados em câmara úmida por 24 horas e posteriormente foi avaliada a incidência da doença.

### 2.3. Extração do óleo essencial de cravo

Os botões florais do cravo (*Syzygium aromaticum*) foram provenientes do município de Valença-BA e transportados ao laboratório de Fitoquímica na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB. A exsicata utilizada para a identificação da espécie encontra-se depositada no Herbário da UFRB, sob o número de registro Hurb 14874. A extração do óleo essencial foi realizada pelo método da hidrodestilação em aparelho Clevenger, conforme metodologia descrita em Santos et al. (2004).

### 2.4. Determinação da melhor concentração do óleo essencial de cravo no controle da antracnose

Uma vez definido o melhor método de inoculação, os mamões no estágio 1 de maturação foram inoculados com o *C. gloeosporioides* e incubados em câmara úmida por 24 horas. Após esse período os frutos foram pulverizados com diferentes concentrações do óleo essencial do cravo – OEC (diluído no agente dispersante Tween 20 a 10%) nas seguintes concentrações: controle; 750  $\mu\text{LL}^{-1}$ ; 1250  $\mu\text{LL}^{-1}$ ; 1750  $\mu\text{LL}^{-1}$ ; 2250  $\mu\text{LL}^{-1}$ ; 2750  $\mu\text{LL}^{-1}$ . Os frutos permaneceram em temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $70 \pm 5\%$  UR) até atingirem o estágio 5 de maturação (75% ou mais da casca amarela). Diariamente, avaliou-se o diâmetro da lesão com auxílio de uma régua graduada em dois sentidos diametralmente opostos visando avaliar o desenvolvimento da doença. A concentração mais efetiva do óleo foi selecionada para compor o revestimento comestível.

### 2.5. Aplicação do óleo adicionado ao revestimento de fécula de mandioca em mamões

A eficiência dos revestimentos foi testada em frutos de duas variedades, Aliança e Golden THB. O estágio de maturação dos frutos, os processos de limpeza e sanitização foram realizados conforme descrito na seção 2.1.

A suspensão de fécula de mandioca (SFM) a 2,25% foi preparada dissolvendo 2,25 g da fécula em 100 mL água destilada, aquecido em banho maria com agitação a  $80^\circ\text{C}$  até a mistura ficar límpida. A concentração do OEC eleita na etapa anterior foi adicionada à SFM para o preparo do revestimento misto. Os revestimentos foram aplicados após atingirem a temperatura ambiente. Os frutos

foram categorizados aleatoriamente em cinco grupos compostos por 10 mamões cada. Os tratamentos foram: C- Controle (frutos sem revestimento); CN - Controle negativo (revestido com tween 20 a 10%); SFM (frutos revestidos com fécula a 2,25%); OEC (frutos revestidos com óleo essencial de cravo na concentração eleita); SFM + OEC (frutos revestidos com fécula de mandioca a 2,25% associada ao óleo essencial de cravo na concentração eleita).

Os frutos dos tratamentos SFM e SFM + OEC foram imersos nas soluções de revestimento por aproximadamente 15 segundos e o excesso escorrido. Os CN e OEC foram pulverizados nos mamões com auxílio de um aspersor manual até a cobertura total da superfície. Todas as amostras foram secas em temperatura ambiente, dispostas em bandejas plásticas e armazenadas sob temperatura ambiente com umidade relativa de 75% ± 2% para a avaliação do desenvolvimento da lesão até o estágio 5 de maturação dos frutos (média de 5 dias).

#### 2.6. Avaliação da Percentagem de Inibição do Crescimento da Lesão (PICL) e do Índice de Velocidade do Crescimento da Lesão (IVCL)

O controle da lesão foi avaliado diariamente conforme avaliação citada no tópico 2.4. As médias foram utilizadas para calcular a PICL conforme a seguinte equação:

$$\text{PICL (\%)} = \frac{(\text{diâmetro da lesão da testemunha} - \text{diâmetro da lesão do tratamento})}{\text{diâmetro da lesão da testemunha}} \times 100$$

O IVCL, expressos em cm.dia<sup>-1</sup>, também foi calculado a partir da avaliação diária do controle da doença por meio da equação a seguir:

$$\text{IVCL} = \frac{\Sigma(\text{diâmetro atual da lesão} - \text{diâmetro anterior da lesão})}{\text{número de dias de avaliação}}$$

#### 2.7. Análise estatística

O experimento para determinar a concentração ideal do OEC foi realizado no delineamento inteiramente casualizado com 05 repetições por tratamento, sendo cada fruto uma repetição. Todo o ensaio foi repetido 2 vezes. As médias das lesões das duas etapas foram submetidas a análise de variância aplicando-se, e

posteriormente, o teste de regressão pelo programa R (THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING, 2013, versão 3.0.1)

O experimento que definiu o melhor revestimento comestível foi executado em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento, sendo cada fruto uma repetição. Todo o processo foi repetido 3 vezes. As médias das lesões foram submetidas a análise de variância, aplicando-se o teste de Scott-Knott também pelo programa R.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

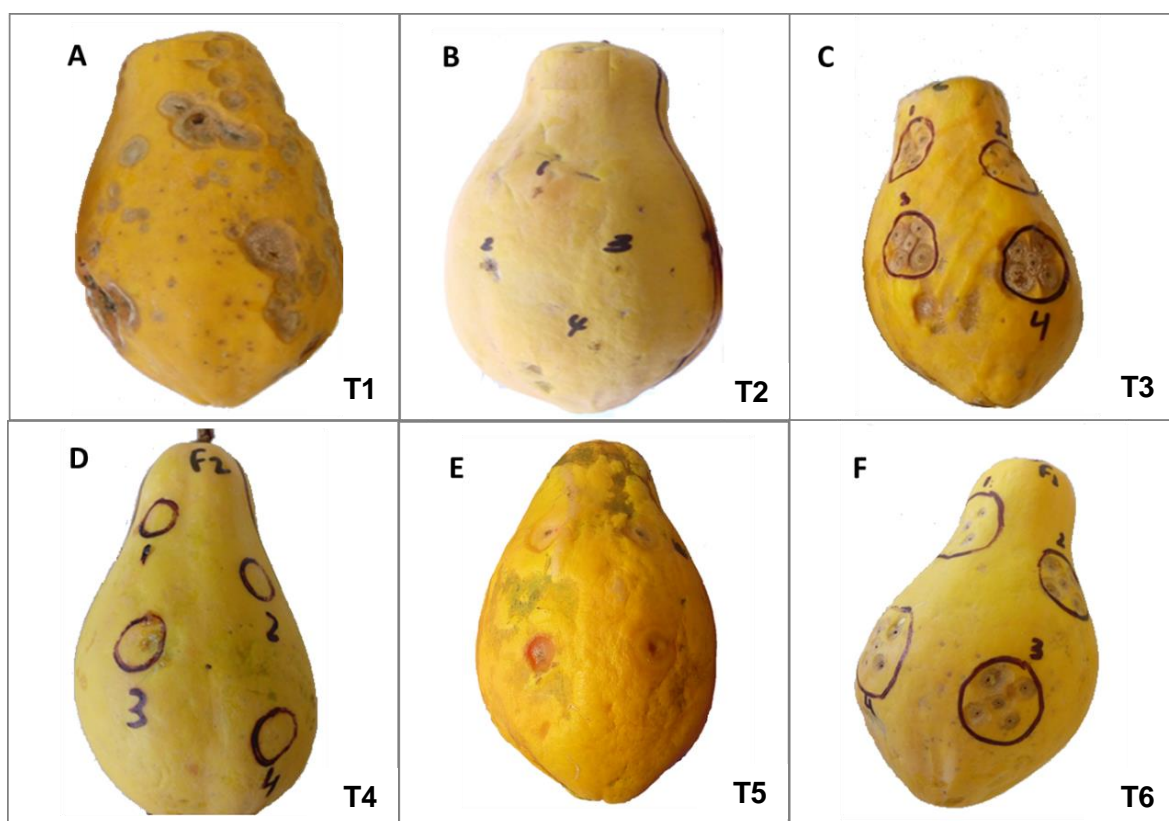
#### 3.1. Seleção do método de inoculação

Todos os métodos testados permitiram o desenvolvimento da antracnose, ora apresentando manifestações brandas, ora agressivas. Possivelmente o advento dos sintomas está associado à capacidade de produção da cutinase pelo *C. gloeosporioides*. De acordo com Lima Filho, Oliveira e Menezes (2003) e Nery-Silva et al. (2007) essa enzima rompe a cutícula do vegetal e favorece a penetração do fungo no fruto.

Testar métodos de infecção que permitam avaliar o controle da doença em condições laboratoriais é o primeiro passo para o desenvolvimento de novas tecnologias. A superfície vegetal é normalmente coberta por uma substância hidrofóbica denominada cutícula que dificulta a adesão e penetração dos esporos. Ao conseguir se fixar no vegetal ocorrem sucessivos processos de reconhecimento que resultarão na patogenicidade ou não (Leite e Stangarlin, 2008).

Os mamões submetidos aos métodos de inoculação T1, T3, T5 e T6 proporcionaram lesões mais desenvolvidas conforme a **Figura 8**. No T1, esse comportamento pode estar associado à maior superfície de contato do *C. gloeosporioides* com o fruto provocada pela aspensão da solução de esporos em todo o mamão. A injúria física onde os propágulos foram depositados (T3, T5 e T6) também aceleraram o desenvolvimento da doença por promoverem uma condição favorável à penetração e desenvolvimento do fitopatógeno. Leite e Stangarlin (2008) alertam que os ferimentos provocados na superfície vegetal liberam nutrientes que estimulam a germinação dos esporos e podem evoluir para uma futura interação patógeno-hospedeiro.

Nos tratamentos em que houve a deposição da solução de esporos (T2) e do disco fúngico (T4) na superfície intacta do mamão não se verificou o desenvolvimento da doença na mesma intensidade dos demais tratamentos, sugerindo que a ausência da injúria física na epiderme retardou o processo de infecção. Somente após atingirem o estágio 5 de maturação os frutos apresentaram exsudados gomosos e pequenas lesões de coloração marrom, demonstrando os sintomas iniciais da antracnose. De acordo com Gomes (2008) a medida em que os mamões amadurecem, a quantidade da proteína enzimática proteolítica denominada papaína é reduzida e essa pode estar associada a inibição da germinação dos esporos e colonização fúngica no fruto. Esse fato pode explicar o porquê de os sintomas da antracnose só aparecerem após o estágio máximo de amadurecimento nos tratamentos sem injúria física.



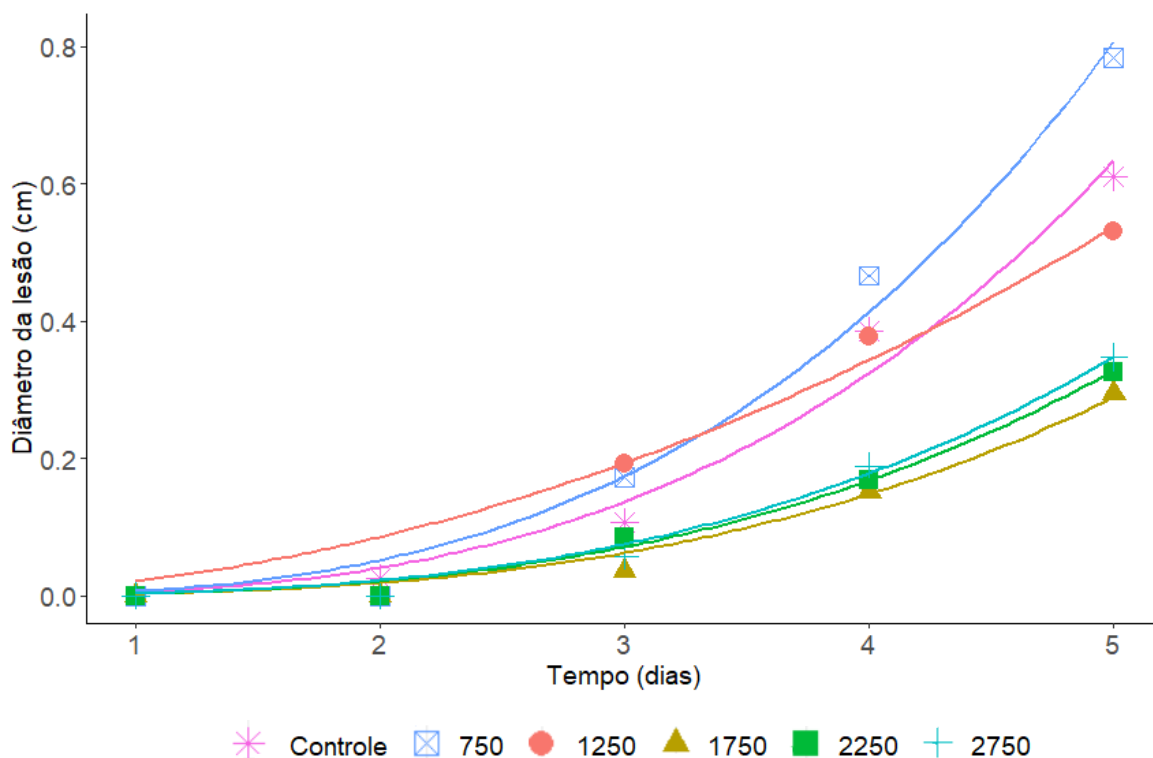
**Figura 8.** Sintomas de antracnose em mamões inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides* após 5 dias de inoculação. **A** – T1: aspersão da solução de esporos  $10^6$  conídios.mL<sup>-1</sup>; **B** – T2: deposição de 15  $\mu$ L da solução de  $10^6$  conídios.mL<sup>-1</sup> sobre quatro regiões equidistantes da epiderme intacta; **C** – T3: deposição de 15  $\mu$ L da solução de  $10^6$  conídios.mL<sup>-1</sup> sobre um conjunto de cinco ferimentos feitos em quatro regiões equidistantes; **D** – T4: deposição de um disco fúngico em quatro regiões equidistantes da epiderme intacta; **E** – T5: deposição do disco fúngico sobre única injúria feita em quatro regiões equidistantes; **F** -T6: deposição de um disco fúngico sobre um conjunto de cinco ferimentos feitos na epiderme do mamão.



Embora os frutos submetidos aos T1, T3 e T6 tenham apresentado elevada incidência da antracnose, nestes métodos foi mais difícil realizar a avaliação do desenvolvimento das lesões comprometendo a investigação da severidade da doença nos frutos. A deposição do disco contendo os propágulos sobre o ferimento artificial em quatro áreas distintas da epiderme do mamão (T5) acelerou a fase inicial de infecção e permitiu o desenvolvimento dos sintomas de maneira isolada e a avaliação precisa ao longo do processo de maturação sem o risco de fusão entre as lesões. Sendo assim, o método T5 de inoculação do fungo foi selecionado para os demais experimentos.

### 3.2. Determinação da concentração ideal do óleo essencial de cravo no controle da antracnose

Houve a incidência da antracnose nos mamões de todos os tratamentos, indicativo de que o inóculo estava ativo e as condições de estudo adequadas, uma vez que a realização do experimento foi em temperatura ambiente (média de 23 °C a 27 °C), uma das condições favoráveis para o desenvolvimento da antracnose. Os comportamentos dos tratamentos estão apresentados na **Figura 9**. As equações e os coeficientes de correlação estão descritos na **Tabela** .



**Figura 9.** Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de cravo no controle da antracnose em mamão pós-colheita.

**Tabela 2.** Equações e coeficientes de correlação da aplicação de diferentes concentrações do óleo essencial de cravo no controle da antracnose em mamão pós-colheita

Tratamento	Equação	R <sup>2</sup>
Controle	$\hat{y} = 0,0050691x^3$	0,9874
750 $\mu\text{L}^{-1}$	$\hat{y} = 0,0064571x^3$	0,9912
1250 $\mu\text{L}^{-1}$	$\hat{y} = 0,021473x^2$	0,9755
1750 $\mu\text{L}^{-1}$	$\hat{y} = 0,0023129x^2$	0,9877
2250 $\mu\text{L}^{-1}$	$\hat{y} = 0,002624x^3$	0,994
2750 $\mu\text{L}^{-1}$	$\hat{y} = 0,0027832x^3$	0,993

As três maiores concentrações do OEC (1750; 2250 e 2750  $\mu\text{L}^{-1}$ ) apresentaram melhor desempenho no controle da doença, resultando em lesões com os menores diâmetros nos últimos dia de avaliação. Esses tratamentos chegaram a inibir mais de 44% do diâmetro da lesão em comparação ao controle. Possivelmente, a maior quantidade do OEC proporcionada pelo aumento da concentração desencadeou ação fungitóxica no *C. gloeosporioides* em nível suficiente para retardar o seu desenvolvimento.

De maneira geral, o modo de ação dos óleos essenciais com atividade antifúngica se dá por meio de danos à membrana, inibição da mitose, da síntese

de proteína e do ergosterol, do crescimento micelial e da germinação dos esporos. Podem ocorrer também a granulação do citoplasma e a quebra da cadeia do transporte de elétrons dentre outros (Cruz et al., 2012; Fajinmi et al., 2018). Como consequência, o fitopatógeno não se desenvolve, as chances de frutos doentes contaminarem os sadios diminuem e a doença se mantém controlada.

Os mamões submetidos às concentrações  $750 \mu\text{L.L}^{-1}$  e  $1250 \mu\text{L.L}^{-1}$  apresentaram baixa eficiência, pois o desenvolvimento das lesões foi semelhante ao controle. Provavelmente, a baixa concentração do OEC, quando em contato com o microrganismo não foi capaz de provocar um efeito inibitório. Por ser uma dosagem baixa os compostos ativos disponíveis foram insuficientes para penetrar na membrana e provocar alterações celulares capazes de comprometer o desenvolvimento do *C. gloeosporioides*. Comportamento semelhante foi observado por Demartelaere et al. (2018) em que a dose mais baixa do extrato de *Caesalpinia férrea*, dentre as testadas, ofereceu menor proteção antifúngica em virtude do baixo acúmulo dos compostos tóxicos não conseguir alterar o metabolismo do microrganismo.

Diante dos desempenhos obtidos definiu-se a concentração de  $1750 \mu\text{L.L}^{-1}$  do OEC para ser adicionada ao revestimento de fécula por apresentar efeito satisfatório e utilizar menor quantidade de óleo em comparação aos demais tratamentos.

### 3.3. Aplicação do OEC em adição ao revestimento de fécula de mandioca

Todos os frutos revestidos apresentaram incidência da doença durante o armazenamento. Entretanto, no que se refere ao progresso da doença, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os revestimentos empregados.

Nas duas cultivares de mamão, os revestimentos contendo a fécula de mandioca foram destaques no controle da lesão com percentuais de inibição máxima de 69,06% para a cultivar Aliança e 60,05% para a Golden THB. Verificou-se ainda que, na variedade Aliança, os tratamentos OEC e SFM + OEC apresentaram desempenho semelhantes, sendo superiores aos tratamentos controles na inibição do desenvolvimento da lesão (**Tabela 3**).

**Tabela 3.** Efeito dos revestimentos sobre o percentual de inibição do crescimento da lesão (PICL) e o índice de velocidade de crescimento da lesão em mamão pós-colheita

Tratamento	PICL (%)		IVCL (cm.dia <sup>-1</sup> )	
	Aliança	Golden THB	Aliança	Golden THB
C (frutos sem revestimento)	0,00c	0,00b	0,71a	0,52a
CN (tween 10%)	0,00c	0,00b	0,67a	0,51a
SFM	69,06a	51,26a	0,50c	0,42b
OEC	45,56b	16,53b	0,60b	0,47a
SFM + OEC	38,23b	60,05a	0,65b	0,40b
<b>CV (%)</b>	<b>39,42</b>	<b>62,96</b>	<b>22,72</b>	<b>30,24</b>

Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente pelo teste de médias Scott-Knott a 5% de significância C: controle, CN: controle negativo, SFM: suspensão de fécula de mandioca, OEC: óleo essência de cravo, SFM+OEC: suspensão de fécula de mandioca associada ao óleo essência de cravo.

O IVCL também foi influenciado pela presença da fécula de mandioca, com inibição máxima na velocidade de crescimento para os frutos cobertos apenas com a SFM na variedade Aliança. Na variedade Golden THB, os tratamentos SFM e SFM + OEC promoveram um retardo mais acentuado na velocidade de crescimento da lesão, com velocidade máxima de crescimento de 0,42 cm.dia<sup>-1</sup>.

Supõe-se que a genética tenha interferido no modo de atuação dos revestimentos, embora não tenham sido encontrados registros que apontem diferenças na estrutura da epiderme de ambas variedades. Foi possível perceber que o OEC na variedade Golden THB não diferiu dos controles ( $p < 0,05$ ), tanto na avaliação da PICL, quanto do IVCL, todavia, na variedade Aliança, o OEC apresentou comportamento semelhante ao tratamento SFM + OEC, ambos superiores aos controles na inibição do crescimento e da velocidade de crescimento das lesões.

O ótimo desempenho dos revestimentos contendo fécula de mandioca (SFM e OEC+SFM) pode estar associado tanto ao seu modo de aplicação, quanto a natureza do polissacarídeo. Os frutos desses tratamentos foram imersos na suspensão de fécula, favorecendo o aumento da superfície de contato do revestimento no fruto, e conseqüentemente o recobrimento total da epiderme.

Associada a isso, a constituição química da fécula de mandioca também pode ter influenciado no controle da antracnose. Assis e Britto (2014) apontam que após a imersão dos frutos nas soluções de revestimento, as espécies poliméricas ali presentes formam ligações fortes e fracas com a superfície da fruta. Isso reduz as trocas gasosas do vegetal com o ambiente (Luvielmo e Lamas, 2012). Outra característica dos revestimentos polissacarídeos é sua a propriedade fungicida e

fungistática que dificulta desenvolvimento do *C. gloeosporioides* e, conseqüentemente, da doença. Trigo et al. (2012) acreditam que estas apresentam atividade antimicrobiana, pois ao se entrelaçarem no entorno do microrganismo as moléculas poliméricas criam uma barreira física que impede a penetração de nutrientes essenciais ao seu desenvolvimento.

Cruz et al. (2012) alertam que o revestimento aplicado de maneira adequada nos frutos diminui a incidência de microrganismos patogênicos. Maqbool et al. (2011) perceberam que a goma arábica associada aos óleos essenciais de capim limão e canela limitou a penetração do tubo germinativo dos fungos causadores da antracnose em mamão e banana, atuando como barreira física.

O OEC é quimicamente formado, em sua maioria, pelos fenilpropanóides eugenol e o acetato de eugenol (Jakiemiu, 2008; Oliveira et al., 2009; Marya et al., 2012; Cortés-Rojas et al., 2014) e por monoterpenos e sesquiterpenos, compostos de baixo peso molecular que costumam ser substâncias voláteis (Felipe & Bicas, 2017) em temperatura ambiente. Isso implica dizer que a maior parte dos compostos do OEC com propriedades antifúngicas podem se perder no ambiente no momento da aplicação no fruto. Por isso, a incorporação do OEC à SFM pode contribuir na redução das perdas dos voláteis otimizando assim a sua ação como revestimento.

De acordo com Grande-Tovar et al. (2018) a incorporação do óleo essencial à matriz polimérica reduz a taxa de difusão e aumenta a concentração dos compostos ativos em contato com a superfície do alimento. Zillo et al. (2018) alertam que por apresentarem aromas intensos e alto custo de aplicação, associar o óleo essencial a um revestimento pode promover a redução da quantidade utilizada e contribuir, conseqüentemente, com a redução do aroma e dos custos. Diversas pesquisas foram realizadas estudando a ação dos metabólitos secundários associados ou não a revestimentos comestíveis no controle de doenças pós-colheita (Maqbool et al., 2011; Bill et al., 2014; Serpa et al., 2014; Zillo et al., 2018). Os autores perceberam que, na maioria das vezes, a ação combinada elevou o potencial antimicrobiano de um dos componentes contribuindo com a redução da incidência e da severidade da doença. No presente estudo, foi possível observar que, na variedade Golden TBH, a ação do OEC foi potencializada após a incorporação em SFM.

No Brasil a utilização de fungicidas sintéticos ainda é uma das técnicas de controle da antracnose mais utilizada, contribuindo com o alto nível de resíduos nos alimentos e com aumento da resistência do microrganismo. Identificar produtos naturais com potenciais bioativos capazes de retardar ou impedir o desenvolvimento da doença é um passo importante na geração de novos produtos em substituição aos fungicidas sintéticos. A fécula de mandioca e o OEC são produtos naturais que podem ser manipulados pelo homem sem risco à saúde, nem prejuízo ao meio ambiente, além de ser uma opção de aproveitamento desses recursos disponíveis no país. Pesquisas dessa natureza são importantes por contribuir com a geração de informações que, associadas ao manejo pós-colheita adequado, podem culminar no desenvolvimento de novas tecnologias de controle da antracnose e conseqüentemente, reduzir as perdas pós-colheita de mamão, uma das frutas mais importantes na economia nacional.

#### **4. CONCLUSÕES**

O método mais adequado para inocular o *C. gloeosporioides* em mamão é a deposição do disco fúngico sobre um ferimento feito em quatro áreas distintas da epiderme do mamão.

Para a variedade Golden THB os revestimentos SFM e SFM + OEC retardam o desenvolvimento da antracnose, contudo o OEC isoladamente não apresenta ação satisfatória no controle da doença.

Para a variedade Aliança, indica-se o revestimento comestível SFM para a aplicação em mamão pós-colheita.

#### **5. AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento da pesquisa e a Embrapa Mandioca e Fruticultura pela disponibilidade do espaço físico e dos frutos para a execução do experimento.

#### **6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AGUILAR-GONZÁLEZ, A.E. et al. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against grey mold (*Botrytis cinerea*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies in strawberries**, v. 32, p. 181-185, 2015.

ANDRADE, W. P. & VIEIRA, G. H. C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose in vitro e em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.367-372, 2016.

ANUÁRIO brasileiro da fruticultura. Benno Bernardo Kist... [et al.]. – Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018. 88p.

ARNON-RIPS, H.; POVERENOV, E. Improving food products' quality and storability by using Layer by Layer edible coatings. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 81-92, 2018.

ASCENÇÃO, V. L.; MOUCHREK FILHO, V. E. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia). **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 20, n. especial, p. 137-144, 2013.

ASSIS, O. B. G. e BRITTO, D. de. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.

BILL, M. et al. The efficacy of combined application of edible coatings and thyme oilin inducing resistance components in avocado (*Persea americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. **Crop Protection**, 64, p.159-167, 2014.

BOONRUANG, K. et al. Antifungal effect of poly (lactic acid) films containing thymol and R-(-)-carvone against anthracnose pathogens isolated from avocado and citrus. **Food Control**, v. 78, p. 85-93, 2017.

CEAGESP. Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. **Normas de classificação impressas pelo Programa Brasileiro de Modernização da Horticultura –Mamão**. Centro de Qualidade em Horticultura – CQH/CEAGESP. 2009.

CHENG, S. et al. Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5145-5149, 2008.

CIA, P.; BENATO, E. A. **Doenças do mamão**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.26, n.228, p.25-29, 2005.

COELHO, A. R.; HOFFMANN, F. L. H. & HIROOKA, E. Y. Biocontrole de doenças pós-colheita de frutas por leveduras: perspectivas de aplicação e segurança alimentar. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 337-358, jul./dez. 2003.

CORTÉS-ROJAS, D.F. et al. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 2, p. 90-96, 2014.

CRUZ, M. de M. et al. Efeito de óleos essenciais e revestimentos comestíveis sobre podridões pós-colheita em manga, cv. Kent. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 1-6, mar.-jun., 2012.

DEMARTELAERE, A. C. F. et al. Alternativas no controle da mancha marrom de alternaria em tangerineira 'Dancy'. **Summa Phytopathologica**. v.44, n.2, p. 164-169, 2018.

FAJINMI, O. O. et al. Antifungal activity of the volatiles of *Agathosma betulina* and *Coleonema album* commercial essential oil and their effect on the morphology of fungal strains *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes*. **South African Journal of Botany**, 6p., 2018.

FAKHOURY, F. M. et al. Edible films made from blends of manioc starch and gelatin e Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 49, p. 149-154, 2012.

FELIPE, L. O. & BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Revista Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

FIALHO, R. de O. et al. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Phakopsora euvitis*, agente causal da ferrugem da videira. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.82, p. 1-7, 2015.

GOLÇALVES, A.H. et al. Atividade fungitóxica in vitro dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham., *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. e de seus constituintes majoritários no controle de *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1007-1015, 2015.

GOMES, L. I. S. Métodos de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* e efeitos de óleos essenciais no controle da antracnose em frutos de mamoeiro. 2008. 54 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

GRANDE-TOVAR, C. D. et al. Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. **Trends in Food Science & Technology**, v. 78, p. 61-71, 2018.

HASHEMINEJAD, N.; KHODAIYAN, F. & SAFARI, M. Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 275, p. 113-122, 2019.

HASSAN, B. et al. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 1095-1107, 2018.

HERNANDEZ-MONTIEL, L. G. et al. Mechanisms employed by *Debaryomyces hansenii* in biological control of anthracnose disease on papaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 139, may, p. 31-37, 2018.



JAKIEMIU, E. A. R. Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). 2008. 89 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

LEITE, B. & STANGARLIN, J. R. Fisiologia e bioquímica de doenças fúngicas. In: **Interação planta-patógeno: Fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.115-152.

LIMA FILHO, R. M.; OLIVEIRA, S. M. A. & MENEZES, M. Caracterização Enzimática e Patogenicidade Cruzada de *Colletotrichum* spp. Associados a Doenças de Pós-Colheita. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 6, p.620-625, 2003.

LU, J. et al. Field detection of anthracnose crown rot in strawberry using spectroscopy technology. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 135, p. 289–299, 2017.

LUVIELMO, M. de M. e LAMAS, S. V. Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 1, p. 8-15, 2012.

MANGANY, M. C. et al. Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* isolates and their biofilms. **South African Journal of Botany**, v. 99, p. 115-121, 2015.

MAQBOOL, M. et al. Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, Issue 1, p. 71-76, 2011.

MARYA, C. M. et al. In vitro inhibitory effect of clove essential oil and its two active principles on tooth decalcification by apple juice. **International Journal of Dentistry**, v. 2012, 2012.

NERY-SILVA, F. A. et al. Metodologia de inoculação de fungos causadores da podridão peduncular em mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 5, p. 1374-1379, 2007.

OLIVEIRA, A. A. R. et al. Doenças e seu controle. In: TRINDADE, A. V. (Org.). **Mamão. Produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa, 2000. p. 43-52.

OLIVEIRA, R. A. de et al. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacognosia/Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.19, n.3, p.771-775, 2009

OLIVEIRA, L.B.S. et al. Atividade antifúngica e possível mecanismo de ação do óleo essencial de folhas de *Ocimum gratissimum* (Linn.) sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.2, p.511-523, 2016.

ORZARI, L. O.; SANTOS, F. A. & JANEGITZ, B. C. Manioc starch thin film as support of reduced graphene oxide: A novel architecture for electrochemical sensors. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 823, 15, p. 350-358, 2018.

- SALGADO, P. R. et al. Edible films and coatings containing bioactives. **Current Opinion in Food Science**, v.5, October, p. 86-92, 2015.
- SANTOS, A.S. et al. **Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório**. EMBRAPA, 2004. (Comunicado Técnico 99).
- SARTO, M. P. M. & ZANUSSO JUNIOR, G. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Revista UNINGÁ Review**, v.20, n.1, p.98-102, 2014.
- SERPA, M. F. P. et al. Conservação de manga com uso de fécula de mandioca preparada com extrato de cravo e canela. **Revista Ceres**, v.61, n.6, 2014.
- SUTTON, B.C. **The Coelomycetes**. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 696p. 1980.
- TATAGIBA, J. S. et al. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p.186-192, 2002.
- THAKUR, R. et al. A starch edible surface coating delays banana fruit ripening. **LWT**, v. 100, p. 341-347, 2019.
- THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING. The R Foundation for Statistical Computing, 2013. R version 2.15.3 (2013-03-01).
- TRIGO, J. M. et al. Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 125-133, 2012.
- VELÁZQUEZ-NUÑEZ, M. J. et al. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. **Food Control**, v.31, n. 1, p. 1-4, 2013.
- VILAPLANA, R.; PAZMIÑO, L. & VALÊNCIA-CHAMORRO, S. Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*, on postharvest organic banana by thyme oil. **Postharvest Biology and Technology**, v. 138, apr, p. 56-63, 2018.
- WANG, E.; GAO, Z.; HENG, Y. Improve access to the EU market by identifying French consumer preference for fresh fruit from China. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 6, p. 1463–1474, 2018.
- YAN, J. et al. The effect of the layer-by-layer (LBL) edible coating on strawberry quality and metabolites during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 147, p. 29-38, 2019.
- ZILLO, R. R. et al. Carboxymethylcellulose coating associated with essential oil can increase papaya shelf life. **Scientia Horticulturae**, v. 239, p. 70-77, 2018.

## **ARTIGO 3**

### **REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS EM MAMÃO PÓS-COLHEITA: IMPACTO NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS<sup>3</sup>**

---

<sup>3</sup> Artigo ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico European Food Research and Technology.

## Revestimentos comestíveis em mamão pós-colheita: impacto nas características físico-químicas e sensoriais

Daniele de Vasconcellos Santos Batista<sup>1\*</sup>, Ronielli Cardoso Reis<sup>2</sup>, Jamile Mota Almeida<sup>3</sup>, Beatriz Rezende<sup>3</sup>, Franceli da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Brasil

<sup>2</sup> Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Brasil

<sup>3</sup> Faculdade Maria Milza, Cruz das Almas, Brasil

\*danielleagr@yahoo.com.br

**Resumo:** A utilização de revestimento comestível em mamões pode aumentar o tempo de conservação e a eficácia pode ser elevada ao associar um agente antimicrobiano como o óleo essencial de cravo - OEC, desde que não interfira nas características naturais do fruto. O objetivo do trabalho foi caracterizar os atributos sensoriais e físico-químicos de mamão revestidos com solução de fécula de mandioca, associada ou não ao óleo de cravo. Os mamões das variedades Golden THB e Aliança foram colhidos no estágio 1 de maturação e submetidos aos tratamentos: controle; SFM (suspensão de fécula de mandioca); OEC (óleo de cravo 1750 µL<sup>-1</sup>); SFM+OEC (suspensão de fécula de mandioca + óleo de cravo 1750 µL<sup>-1</sup>). No estágio 5 realizou-se as análises físico-químicas e sensoriais dos frutos. Os provadores preferem consumir mamão de tamanho médio a pequeno e com pelo menos 50% da casca amarela. Os revestimentos comestíveis não influenciaram as características físico-químicas dos frutos nas duas variedades estudadas. Os mamões revestidos com tratamentos contendo fécula de mandioca relataram boa aceitação sensorial, não diferindo estatisticamente do controle na maioria dos atributos estudados. Destaque para a textura na boca em que estes revestimentos foram superiores ao controle na variedade Golden THB. Avaliando a intenção de compra dos mamões da variedade Aliança todos os tratamentos obtiveram índices de aprovação, com os maiores percentuais nos termos “certamente compraria” e após a degustação, o revestimento composto (SFM+OEC) apresentou 80% da intenção de compra dos provadores. Na variedade Golden THB a aplicação isolada das películas proporcionou aos frutos uma maior intenção de compra. Conclui-se que os revestimentos não afetaram as características físico-químicas dos frutos, todavia interferiram na aceitação sensorial. Para a variedade Aliança recomenda-se o revestimento SFM + OEC e para os frutos da variedade Golden THB os revestimentos FM e OEC são os mais recomendados por se assemelharem ao controle.

**Palavras-chave:** *Carica papaya*, fécula de mandioca, *Syzygium aromaticum*, intenção de compra, aceitabilidade.

## Edible coatings in post-harvest papaya: impact on physical-chemical and sensory characteristics

**Abstract:** The use of edible coating on papayas can increase shelf life and effectiveness can be increased by combining an antimicrobial agent such as clove essential oil - OEC, as long as it does not interfere with the natural characteristics of the fruit. The objective of this work was to characterize the sensory and physicochemical attributes of papaya coated with cassava starch solution, associated or not with clove oil. Golden THB and Aliança papayas were harvested at maturity stage 1 and submitted to treatments: control; SFM (cassava starch suspension); OEC (1750  $\mu\text{L}^{-1}$  clove oil); SFM + OEC (Cassava starch suspension + 1750  $\mu\text{L}^{-1}$  clove oil). In stage 5, the physicochemical and sensory analyzes of the fruits were performed. Tasters prefer to consume medium to small papaya with at least 50% yellow peel. Edible coatings did not influence the physicochemical characteristics of the fruits in the two varieties studied. Papayas coated with cassava starch treatments reported good sensory acceptance and did not differ statistically from control in most of the attributes studied. Highlighting the texture in the mouth where these coatings were superior to control in the Golden THB variety. Evaluating the purchase intention of the Alliance variety papayas all treatments obtained approval ratings, with the highest percentages under the terms "certainly would buy" and after tasting, the composite coating (SFM + OEC) presented 80% of the tasters purchase intention. In the Golden THB variety the isolated application of the films provided the fruits with a greater purchase intention. It was concluded that the coatings did not affect the physicochemical characteristics of the fruits, but interfered with the sensory acceptance. For Alliance variety SFM + OEC coating is recommended and for fruits of Golden THB variety FM and OEC coatings are most recommended because they resemble control.

**Keywords:** *Carica papaya*, manioc starch, *Syzygium aromaticum*, purchase intention; acceptability.

## 1. INTRODUÇÃO

O mamão (*Carica papaya*) é um fruto climatérico que amadurece em curto espaço de tempo em virtude dos processos bioquímicos naturais (Pereira et al., 2006; Ruggiero et al., 2011, Dantas, Junghans e Lima, 2013). Além da alta perecibilidade, o manuseio inadequado, as condições de armazenamento deficientes (Flores-López et al., 2016) e a incidência de doença, como a antracnose, comprometem a qualidade final do fruto resultando em perdas significativas devido a rejeição dos consumidores. Cuidados pós-colheita que estendam o seu tempo de conservação devem ser adotados e para isso várias tecnologias são empregadas, tais como embalagens de atmosfera modificada, conservantes, irradiação, aplicação de filmes e revestimentos ou películas comestíveis (KUMARI et al., 2017).

Denomina-se revestimento comestível a camada fina e uniforme que é aplicada diretamente sobre a superfície do alimento. Este é formado principalmente por polissacarídeos, proteínas e lipídios (GUERREIRO et al., 2017; SANCHÍS et al., 2016), compostos comestíveis que são aplicados ou formados diretamente nos alimentos por meio da pulverização ou imersão, respeitando as boas práticas de fabricação (Hassan et al., 2018; Salgado et al., 2015).

As películas tem por finalidade prolongar a vida útil pós-colheita dos vegetais em virtude da proteção das variáveis atmosféricas, da limitação do movimento dos componentes voláteis (Kumari et al., 2017) e umidade (Alali et al., 2018; Marquez et al., 2017), da minimização das reações químicas adversas e redução da deterioração e contaminação microbiana (Hashemi et al., 2017; Thakur et al., 2018; Marquez et al., 2017; Tavassoli-Kafrani, Shekarchizadeh & Masoudpour-Behabadi, 2016). Além disso, estão entre as características benéficas destes revestimentos a comestibilidade, a biodegradabilidade (Tavassoli-Kafrani, Shekarchizadeh e Masoudpour-Behabadi, 2016), a redução da poluição ambiental e a possibilidade de comercialização de alimentos sem conservantes (Kumari et al., 2017).

A fécula de mandioca é um material biodegradável, de origem renovável, que vem sendo estudada como revestimento de produtos hortícolas, isoladamente ou associado a outros compostos. Apresenta baixo custo e por ser isenta de resíduos químicos sintéticos pode ser utilizada como revestimentos de produtos da agricultura orgânica. Segundo Oliveira, Coneglian e Carmo (2015), as películas

feitas a partir da fécula de mandioca são resistentes e transparentes. Serpa et al. (2014) complementam que por ser natural não exige período de carência nem causam danos ao meio ambiente ou ser humano.

O cravo (*Syzygium aromaticum*) é um condimento utilizado há muito tempo como aditivo alimentar e reconhecido como seguro pela Food and Drug Administration dos EUA (Kheawfu et al., 2018). O óleo essencial extraído dos botões florais tem sido relatado como promissor no controle de microrganismos causadores de doenças pós-colheita (Sharma et al., 2017; Santamarina, et al., 2016; Fialho et al. 2015; Mangany et al., 2015), possivelmente em virtude da presença do eugenol e demais compostos presentes no óleo. De acordo com Sivakumar e Bautista-Baños (2014), os óleos essenciais contendo alta porcentagem de compostos fenólicos apresentam propriedades antimicrobianas mais altas, com ação direta sobre o metabolismo celular afetando o crescimento micelial e à germinação de esporos.

Associar um agente antimicrobiano, como o óleo essencial de cravo - OEC, à solução de fécula de mandioca - SFM pode elevar a eficácia do revestimento na conservação pós-colheita. O grande desafio, no entanto, é que este promova a conservação do fruto sem modificar as suas características naturais. Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi avaliar a aceitação sensorial e as características físico-químicas de frutos de mamoeiro revestidos com a fécula de mandioca associada ou não ao óleo essencial de cravo.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Matéria-prima**

Os mamões das variedades Golden THB e Aliança foram adquiridos respectivamente, dos municípios de Mucuri e Eunápolis no estado da Bahia, transportados ao Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Os frutos foram colhidos no estágio 1 de maturação (até 15% da superfície amarela), e selecionados de acordo com a similaridade de maturação, ausência de defeitos superficiais ou crescimento fúngico. Todos os frutos foram submetidos a lavagem em água corrente, sanitização em solução de hipoclorito de sódio a 100 ppm durante 10 minutos, enxaguados com água corrente e deixados para secar à temperatura ambiente.

## 2.2. Extração do óleo essencial de cravo da Índia

Os botões florais do cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) foram provenientes do município de Valença-BA e transportados ao laboratório de Fitoquímica na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB. A exsicata utilizada para a identificação da espécie encontra-se depositada no Herbário da UFRB, sob o número de registro Hurb 14874. A extração do óleo essencial foi realizada pelo método da hidrodestilação em aparelho Clevenger, conforme metodologia descrita em Santos et al. (2004).

## 2.3. Preparo dos revestimentos e aplicação dos tratamentos

A formulação de revestimento comestível à base de fécula de mandioca (FM) foi determinada por pré-teste. Dissolveu-se 2,25 g da fécula em 100 mL água destilada, com agitação a 80°C para completa homogeneização da suspensão com aquecimento em banho maria sob agitação. Os frutos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos compostos por 20 mamões e submetidos aos seguintes tratamentos: Controle (frutos não revestidos); SFM (frutos revestidos com FM a 2,25%); OEC (frutos revestidos com OEC na concentração de 1750  $\mu\text{L}^{-1}$ ); SFM + OEC (frutos revestidos com FM a 2,25% + OEC na concentração de 1750  $\mu\text{L}^{-1}$ ). Os frutos dos tratamentos SFM e SFM + OEC foram mergulhados nas soluções de revestimento e o excesso escorrido naturalmente. O tratamento com óleo puro foi aplicado por pulverização com auxílio de um aspersor manual até o recobrimento total da superfície. Os frutos foram secos ao ar, dispostos em bandejas plásticas e armazenados à temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) com  $75\% \pm 2\%$  de umidade relativa, até atingirem o estágio 5 de maturação (> 75% da casca amarela), quando procedeu-se as análises físico-químicas e sensoriais.

## 2.4. Avaliação da qualidade dos frutos

Diariamente, após a aplicação dos revestimentos, os frutos foram pesados para determinar a perda de massa durante o armazenamento no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Ao atingirem o estágio 5 de maturação, a polpa de 10 frutos de cada tratamento foi triturada e homogeneizada formando uma amostra composta. Avaliaram-se os seguintes atributos físico-químicos, conforme metodologia descrita por Oliveira (2010): cor da polpa em colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta, ano 2009) utilizando a escala CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  e  $h^*$ ); o



pH utilizando-se potenciômetro digital (pHmetro digital Phtek, modelo PHS-3B, ano 2010); acidez titulável (expressa em % ácido cítrico); sólidos solúveis em refratômetro digital (refratômetro Biobrix, ano 2009); carotenoides totais ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ); vitamina C ( $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de ácido ascórbico); açúcares redutores e totais (% de glicose).

## 2.5. Análise sensorial

O projeto de pesquisa foi aprovado previamente pelo Comitê de Ética em Pesquisa e está registrado sob o número 980.536 por envolver pesquisa com seres humanos. Participaram da avaliação provadores não treinados, consumidores de mamão, entre funcionários e colaboradores da Embrapa Mandioca Fruticultura e Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

O perfil dos consumidores que participaram dos testes foi obtido por meio de um questionário composto por perguntas que abordavam o sexo; faixa etária; grau de instrução; renda familiar mensal; nível preferência da fruta; frequência e forma de consumo; variedade, tamanho e maturação preferida para o consumo e compra e quais fatores são considerados importantes para a compra e consumo do mamão fresco.

Na sequência os provadores avaliaram os frutos expostos sobre uma bancada, simulando condições de mercado, e atribuíram uma nota para a aparência dos frutos (escala hedônica de 9 pontos) e intenção de compra (escala de 5 pontos). Em seguida, já nas cabines sensoriais, receberam 2 fatias de mamão (20g) em copos brancos descartáveis, codificados com números aleatórios de 3 dígitos, acompanhadas de água para limpeza do paladar. Analisou-se a aceitação global (aparência do fruto, aparência e aceitação da polpa) por meio da escala hedônica verbal de 9 pontos variando de “gostei muitíssimo” a “desgostei muitíssimo”; a intenção de compra com auxílio da escala de 5 pontos variando de “certamente compraria” a “certamente não compraria” e o diagnóstico dos atributos da polpa (cor, aroma, sabor e textura) utilizando escala estruturada de 9 pontos ancoradas em seus extremos com termos referentes à intensidade, conforme metodologia aplicada por Araújo et al. (2016).

## 2.6. Análise estatística

Os resultados da perda de massa foram submetidos à análise de variância pelo teste F e posteriormente, aplicado o teste de regressão a ( $p < 0,05$ ) pelo programa R (THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING, 2013, versão 3.0.1). O experimento foi executado em triplicata, no esquema delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento, sendo cada fruto uma repetição.

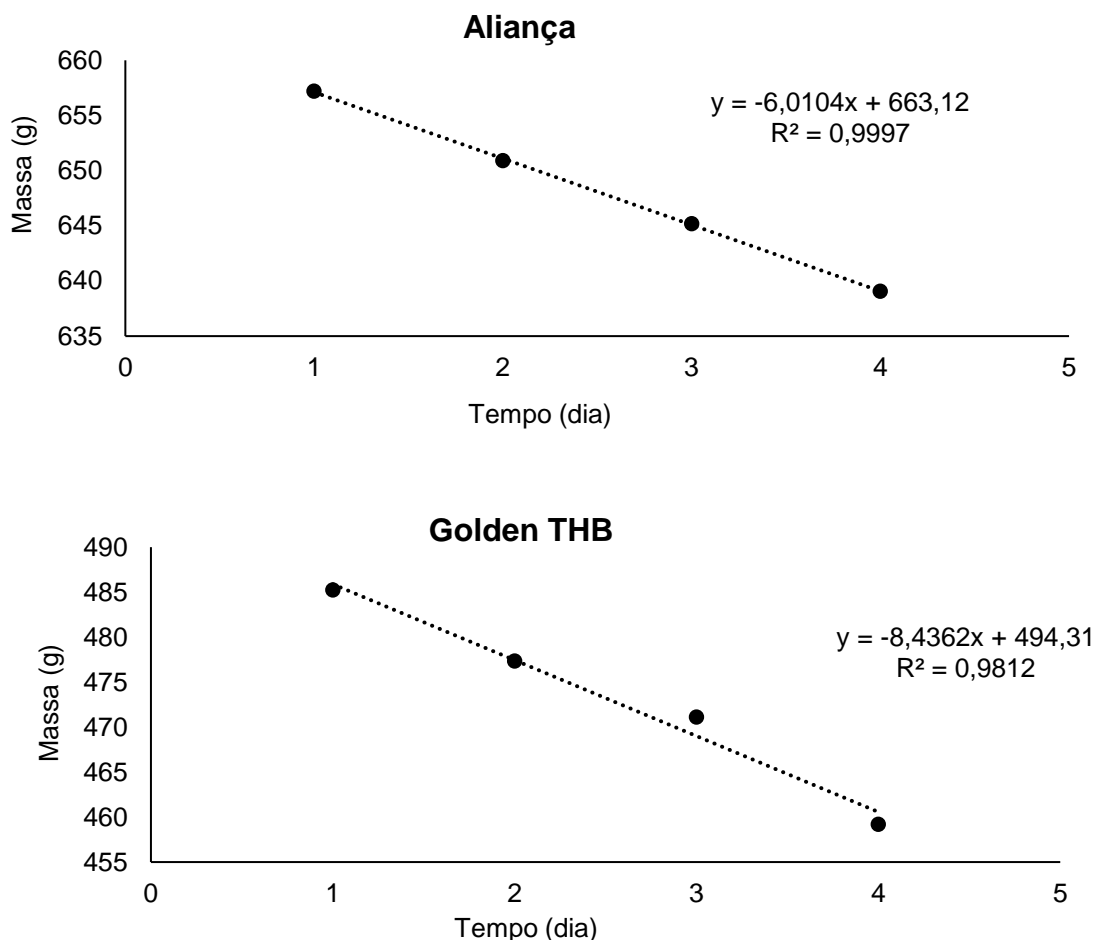
O experimento que definiu os parâmetros físico-químicos dos frutos revestidos foi executado em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento, sendo cada fruto uma repetição. Todo o processo foi repetido 3 vezes. As médias foram submetidas a análise de variância, aplicando-se o teste de Scott-Knott também pelo programa R.

As médias dos parâmetros analisados na aceitação sensorial dos mamões revestidos foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e comparação entre as médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico R. Os resultados de frequência dos escores hedônicos foram expressos em porcentagem. Para a análise dos dados de consumidor, aplicou-se o teste de Friedman e utilizou-se a tabela de Newell e MacFarlane para observação da diferença mínima significativa ( $p < 0,05$ ) para as questões relativas a ordem de importância dos fatores que são considerados ao “consumir” e “comprar” o mamão (1 para o que foi considerado “mais importante” e 5 para o que foi considerado “menos importante”).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Perda de massa

Os frutos perderam massa ao longo do processo de maturação, entretanto, não foi possível perceber diferença significativa entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ), apenas o tempo foi significativo em ambas variedades (**Figura 10**).



**Figura 10.** Perda de massa dos mamões submetidos a diferentes revestimentos comestíveis

Os dados permitem inferir que os revestimentos não impediram a perda de massa dos mamões durante o armazenamento em temperatura ambiente. O óleo essencial de cravo, a suspensão de fécula de mandioca e a associação de ambos não foram capazes de reduzir as taxas respiratórias e consequentemente, as tocas gasosas do fruto com o ambiente.

Os mamões da variedade Golden THB perderam massa mais rapidamente do que os frutos da variedade Aliança. Embora não tenham sido encontrados relatos científicos que apontem diferenças no epicarpo dessas variedades, acredita-se que este comportamento esteja relacionado à espessura da casca, permitindo a perda mais acentuada da água relacionada com o processo de maturação do fruto. De acordo com Santos (2008), a relação dos fatores abióticos (umidade e temperatura) com a estrutura do vegetal proporcionam o déficit de pressão de vapor d'água entre o vegetal e o ambiente, afetando a transpiração, resultando consequentemente, na perda de água. Zillo et al. (2018) complementam

informando que a respiração dos frutos é intensificada com o processo de maturação e a prática pós-colheita aplicada, resultando na desidratação dos frutos.

### 3.2. Parâmetros físico-químicos

Os resultados indicam que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) nos parâmetros físico-químicos avaliados entre os tratamentos de ambas variedades (**Tabela 2**). Isso implica dizer que, independente do tratamento aplicado, as características físico-químicas dos frutos das duas variedades permaneceram inalteradas.

É imprescindível compreender a interação da película com as características físico-químicas dos frutos revestidos pois esta informação permite avaliar se a tecnologia empregada atende ao máximo os requisitos comerciais. THAKUR et al., 2018 ao aplicarem revestimento à base de amido de arroz em ameixa não perceberam diferença significativa nos teores de sólidos solúveis e acidez titulável entre os frutos tratados e controle durante o armazenamento. Choi, Singh e Lee (2016) também avaliando o teor de sólidos solúveis em ameixa revestida com hidroxipropilmetilcelulose associada ou não ao óleo essencial de orégano e bergamota perceberam que o teor total de sólidos solúveis aumentou ao longo do período de armazenamento, entretanto no último dia os valores de todos os tratamentos foram muito próximos.

Outras pesquisas, relataram mudanças nos parâmetros físico-químicos dos frutos revestidos em comparação ao tratamento controle. Oliveira et al. (2015b) ao avaliarem as características físico-químicas de mamão tratado com diferentes revestimentos observaram alterações nos teores de ácido ascórbico e sólidos solúveis, todavia, a acidez e a relação sólidos solúveis/acidez titulável manteve-se inalterada. Zillo et al. (2018) estudarem mamões revestidos com carboximetilcelulose associada ou não ao óleo essencial de *Lippia sidoides* perceberam que a presença dos revestimentos modificou os parâmetros pós-colheita em comparação aos mamões sem cobertura após 5 dias de armazenamento. Morangos revestidos com carboximetilcelulose associado ao óleo essencial de alho (Dong e Wang, 2017), romãs revestidos com goma de linhaça em combinação com óleo essencial de capim-limão (Yousuf e Srivastava, 2017), framboesas revestidas com pectina e alginato enriquecidos com óleos essenciais

(Guerreiro et al., 2015), ameixas revestidas com o polissacarídeo alginato Valero et al. (2013).

A ausência do impacto dos revestimentos nos atributos físico-químicos do mamão é positiva, uma vez que qualquer tratamento empregado garantirá a manutenção das características naturais do fruto. Entretanto, a seleção do método mais adequado deve considerar também a opinião do público consumidor, pois não adianta disponibilizar frutos com qualidade nutricional e baixa aprovação sensorial.

**Tabela 2.** Parâmetros físico-químicos dos frutos de mamão submetidos a diferentes revestimentos comestíveis

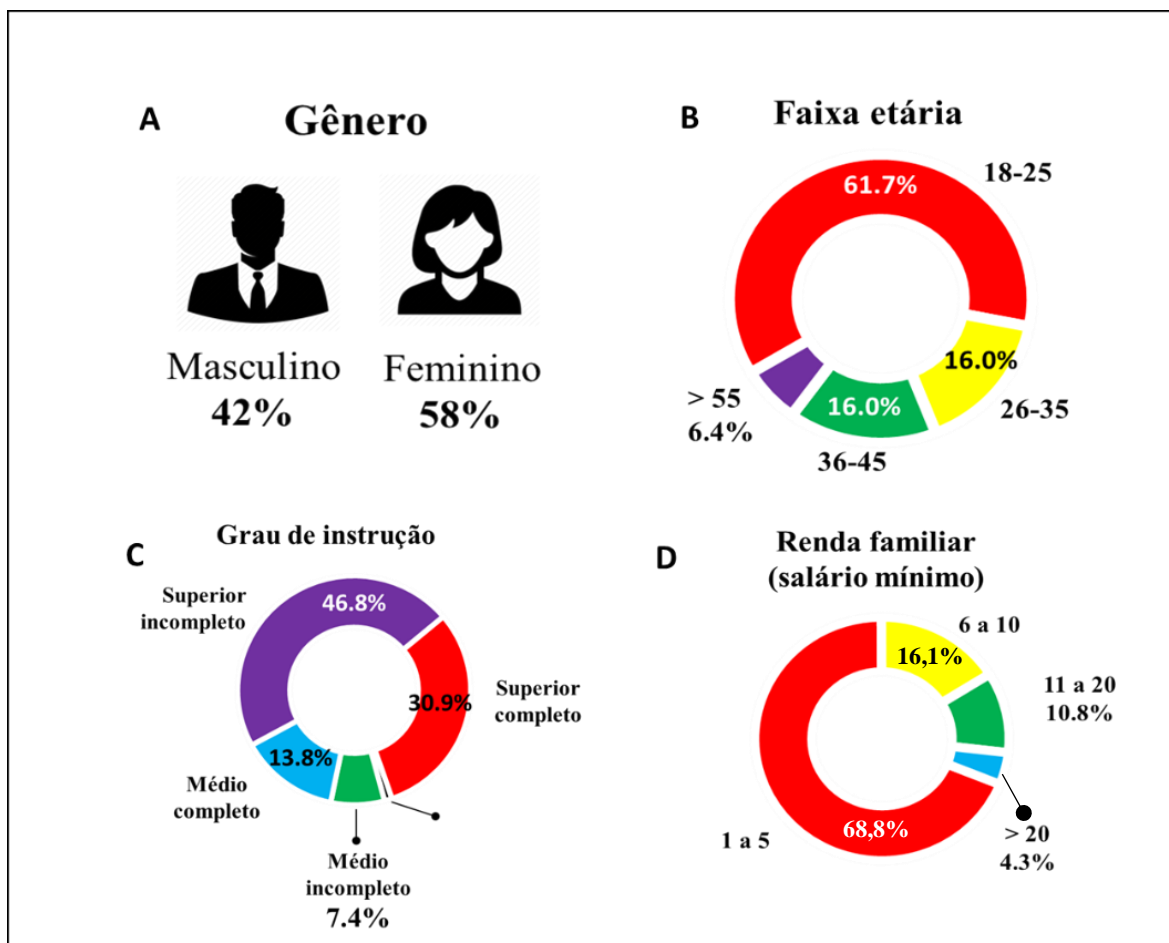
Variedade	Tratamento	pH	Acidez (% ácido citrílico)	SS (°Brix)	Ácido ascórbico (mg.100g <sup>-1</sup> )	Carotenoides (µg.g <sup>-1</sup> )	Açúcar reductor (% glicose)	Açúcar total (% sacarose)	L*	a*	b*	c*	h*
Aliança	T0	5,23a	0,09a	11,52a	58,74a	30,77a	9,28a	8,36a	56,91a	22,50a	42,75a	49,34a	60,44a
	T1	5,46a	0,09a	11,61a	61,93a	28,71a	10,61a	9,82a	54,35a	22,53a	39,32a	46,80a	57,70a
	T2	5,54a	0,10a	11,07a	58,08a	30,26a	9,45a	8,46a	56,99a	21,43a	40,10a	45,91a	61,36a
	T3	5,65a	0,10a	11,32a	60,49a	31,73a	10,14a	8,74a	54,55a	21,59a	39,57a	46,33a	58,96a
<b>CV (%)</b>		<b>4,31</b>	<b>27,62</b>	<b>13,01</b>	<b>13,10</b>	<b>29,47</b>	<b>9,82</b>	<b>19,25</b>	<b>7,54</b>	<b>14,09</b>	<b>4,89</b>	<b>5,38</b>	<b>7,97</b>
THB	T0	5,39a	0,08a	10,23a	64,52a	27,51a	8,03a	7,65a	60,81a	23,30a	42,69a	47,77a	63,33a
	T1	5,63a	0,07a	10,66a	61,62a	25,88a	8,46a	7,85a	60,11a	24,60a	42,30a	47,71a	62,59a
	T2	5,59a	0,08a	10,71a	66,00a	30,67a	8,58a	8,10a	58,30a	22,63a	42,37a	47,74a	62,58a
	T3	5,60 <sup>a</sup>	0,07a	10,80a	65,21a	25,87a	9,13a	8,52a	58,42a	25,22a	40,63a	46,76a	60,51a
<b>CV (%)</b>		<b>2,99</b>	<b>20,75</b>	<b>11,17</b>	<b>9,89</b>	<b>11,90</b>	<b>8,32</b>	<b>19,58</b>	<b>4,17</b>	<b>13,46</b>	<b>4,61</b>	<b>3,57</b>	<b>3,71</b>

Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente pelo teste de médias Scott-Knott a 5% de significância. T0: controle, T1: fécula, T2: óleo essencial de cravo, T3: fécula associada ao óleo essencial de cravo.

### 3.3. Avaliação sensorial

#### 3.3.1. Perfil do consumidor

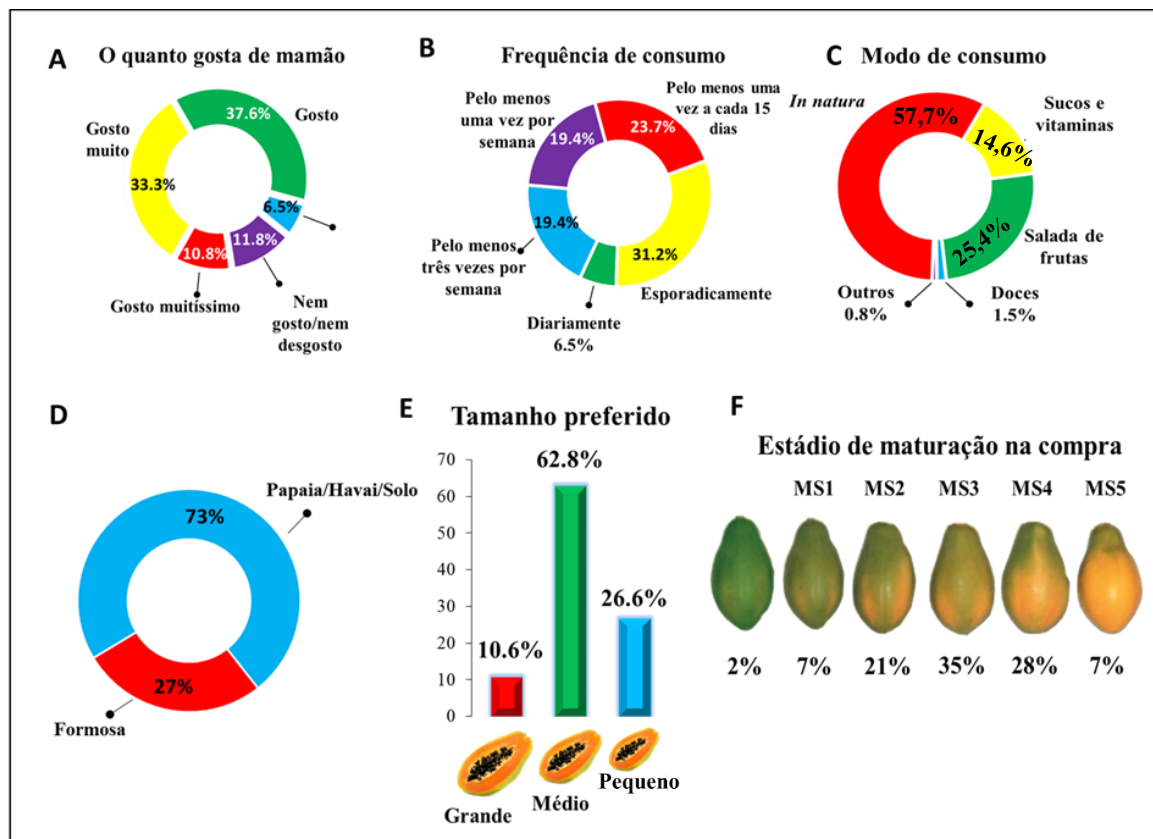
Observa-se na **Figura 11**, as características demográficas e socioeconômicas dos consumidores. Houve um equilíbrio na quantidade de julgadores do sexo feminino (58%) e masculino (42%) participantes do teste. A faixa etária predominante foi entre 18 e 25 anos (61,70%) e mais de 77% apresentam nível superior completo ou incompleto. A maior parte da renda familiar estava na faixa de 1 a 5 salários mínimos (68,8%) e apenas 4,3% recebem mais de 20 salários mínimos por família, refletindo o perfil dos estudantes e pesquisadores da Embrapa e UFRB que participaram da pesquisa.



**Figura 11.** Características sociodemográficas dos consumidores de mamão in natura.

As preferências e hábitos de consumo estão apresentados na **Figura 12**. Os dados expressam que 71% dos julgadores indicaram “gostar” (37,6%) ou “gostar muito” de mamão (33,3%), embora apenas um pequeno percentual tenha declarado

consumir o fruto diariamente (6,5%). De maneira geral o público prefere consumir o mamão in natura (57,7%) ou em saladas de frutas (25,4%). Apenas 0,8% relatou consumir o mamão de maneira diferente das opções pré-estabelecidas.



**Figura 12.** Preferências e hábitos de consumo de mamão in natura.

A alta frequência de consumo do fruto in natura pode ser explicada pelo aspecto cultural e pela preservação das características organolépticas da fruta fresca. A pesquisa realizada por Cazane, Machado e Pigatto (2010) com consumidores de frutas, aponta que há preferência pelo consumo de frutas na forma in natura corroborando com as respostas da presente pesquisa.

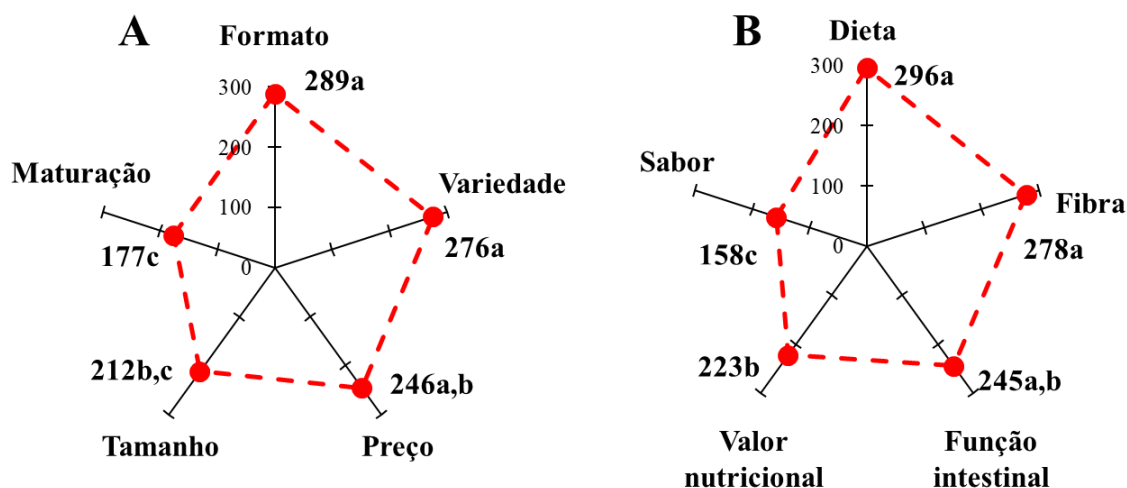
Quando questionados sobre a variedade preferida, 73 % dos consumidores elegeram as variedades “Papaia/Havai/Solo”. Os frutos desse grupo são pequenos em relação ao Formosa e apresentaram excelente aceitabilidade desde que foram introduzidas no cenário nacional (Ruggiero et al., 2011), possivelmente em virtude das características agrônômicas como formato piriforme, polpa de textura firme (Chagas, 2014) e coloração avermelhada (Reis et al., 2015). Os julgadores responderam ainda que preferem mamões de tamanho médio (62,8%) ou pequeno



(26,6%) confirmando as características da variedade preferida. Souza et al. (2013) analisando o perfil socioeconômico do consumidor de mamão, identificaram que os consumidores optam por esses tamanhos para evitar o desperdício e alterações sensoriais na polpa durante a refrigeração do excedente.

Em relação ao estágio de maturação, 37,6% dos provadores optam em adquirir os mamões no estágio 3 (até 50% da casca amarela) e 30,1% no estágio 4 (entre 50 a 75 % da superfície amarela). Nessa etapa há o aumento no dulçor da polpa devido aos processos bioquímicos. Durante a maturação ocorrem mudanças evidentes na coloração, produção de compostos voláteis aromáticos, textura, sabor dos mamões com o aumento no conteúdo de açúcares (Santana, Matsuura & Cardoso, 2004; Galo et al., 2014).

Escriba-Perez et al. (2017) alertam que os consumidores representam o elo final na cadeia de valor dos alimentos e justamente por isso, compreender as suas expectativas tem uma influência decisiva sobre o comportamento de compra. Na **Figura 13** estão expressos os fatores considerados importantes para a aquisição e consumo de mamão in natura. Quanto menor for a soma das ordens, maior será o grau de relevância do atributo para os consumidores.



**Figura 13.** Fatores importantes na aquisição e consumo de mamão in natura.

O tamanho e o estágio de maturação foram os atributos considerados mais importantes no ato da compra, enquanto formato, variedade e preço foram os de menor importância. Em relação ao consumo, o sabor se destacou como o principal

fator motivador para a compra do mamão, seguido do valor nutricional e funcionamento intestinal. De acordo com Ruggiero et al. (2011) o mamão é considerado um alimento saudável para pessoas de todas as idades por apresentar polpa saborosa, baixa acidez, bom equilíbrio entre açúcares e ácidos orgânicos e características digestivas.

### 3.3.2. Aceitação sensorial

Atributos sensoriais como cor, sabor, textura e aparência são parâmetros de qualidade que potencializam o valor de mercado de mamão fresco. A **Tabela 3** apresenta os valores médios do teste de aceitação dos frutos de mamoeiro submetidos aos diferentes tratamentos das duas variedades.

**Tabela 3.** Aceitação dos atributos sensoriais dos frutos de mamão submetidos a diferentes revestimentos comestíveis

Variedade	Tratamento	Aparência fruto	Aceitação da polpa	Cor da polpa	Aroma da polpa	Sabor da polpa	Textura da polpa na boca
Aliança	CONTROLE	7,84a	7,21a	5,10ab	4,12ab	5,23ab	5,08a
	SFM	6,43b	6,91a	4,91b	4,21a	5,14b	4,21b
	OEC	6,92b	6,35b	4,41b	3,35b	4,35b	4,55ab
	SFM + OEC	6,77b	7,36a	5,77a	4,64a	6,14a	4,35ab
<b>CV (%)</b>		<b>18,09</b>	<b>19,68</b>	<b>32,31</b>	<b>41,83</b>	<b>38,73</b>	<b>36,50</b>
THB	CONTROLE	7,87a	6,87a	4,81a	3,90a	4,84a	3,59b
	SFM	6,96b	6,52a	3,81b	3,75a	5,03a	4,90a
	OEC	6,09c	6,53a	3,87b	3,81a	4,75a	4,15ab
	SFM + OEC	6,48c	5,40b	3,50b	4,09a	4,43a	4,90a
<b>CV (%)</b>		<b>14,35%</b>	<b>23,75</b>	<b>35,67</b>	<b>44,80</b>	<b>36,80</b>	<b>34,35</b>

Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente pelo teste de médias Scott Knott a 5% de significância. SFM: suspensão de fécula de mandioca; OEC: óleo essencial de cravo; SFM + OEC: suspensão de fécula de mandioca com óleo essencial de cravo.

Trevissan et al. (2006) relatam que a aparência é o fator de qualidade mais importante, sendo avaliada por diferentes atributos, tais como, tamanho, forma, cor, brilho, integridade, consistência e defeitos. Para a variedade Aliança, os frutos sem revestimento (Controle) foram mais aceitos e não houve diferença significativa entre os demais os tratamentos, na análise visual da aparência dos frutos. Para os frutos da variedade Golden THB, a aceitação da aparência dos frutos controle também foi superior, seguidos do tratamento com SFM + OEC. A menor média de aceitação foi atribuída ao revestimento do OEC.

Esses resultados podem estar associados ao brilho dos frutos revestidos com as películas. Mamões com revestimentos apresentaram aspecto mais brilhante em comparação ao controle, não agradando os consumidores. Uma hipótese é de que a película possa ter sido associada a presença de compostos sintéticos. Como os consumidores têm buscado cada vez mais ingerir alimentos saudáveis, com pouca ou nenhuma adição de conservantes (Braga e Conti-Silva, 2014), essa alusão pode ter contribuído na ligeira queda das notas, sendo portanto necessária a aplicação de práticas educacionais que desmistifiquem esse tipo de associação.

Ao serem degustados, os frutos dos tratamentos Controle, SFM e SFM+OEC (Aliança) não diferiram quanto a aceitação, e foram classificados entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Aceitação diferente foi observada para os frutos da variedade Golden THB, em que os tratamentos Controle, SFM e OEC foram os mais aceitos. Os frutos revestidos com SFM+OEC, da variedade Golden THB, receberam média equivalente a “nem gostei, nem desgostei”. Possivelmente, a interação dos revestimentos com a variedade resultou em alterações desagradáveis nas características internas dos mamões. Saberi et al. (2018) estudando frutas cítricas observaram que revestimentos aplicados na superfície dos frutos podem provocar o acúmulo de metabólitos anaeróbicos como metanol e acetaldeído, associados ao mau sabor.

Quanto a escala de intensidades, as médias obtidas para a cor da polpa das duas variedades oscilaram de 3,50 a 5,77 indicando intensidade de cor clara. Os julgadores não perceberam interferência dos revestimentos na coloração da polpa dos frutos da variedade Aliança, entretanto nos mamões da Golden THB todos os revestimentos comestíveis apresentaram intensidade de cor ligeiramente mais clara que o controle. Araújo et al. (2016) ao estudarem a aceitabilidade sensorial de genótipos de mamoeiro do grupo ‘Solo’ também encontraram valores médios para a cor da polpa variando entre 3,86 e 6,40, compreendendo a faixa da presente pesquisa.

A presença dos revestimentos não afetou o aroma e o sabor dos mamões das duas variedades. Esse resultado é positivo uma vez que o consumidor ao saborear o alimento deseja sentir as características originais da fruta e as películas não interferiram nos compostos voláteis característicos do mamão. De acordo com Freire Júnior e Soares (2014) o sabor residual, o aroma e os gostos básicos do

alimento são fatores de qualidade que estão ligados ao sabor. Guerreiro et al. (2016) não observaram efeito negativo da adição de componentes do óleo essencial nas propriedades sensoriais de framboesas quando estes foram incorporados nos revestimentos comestíveis em baixas concentrações.

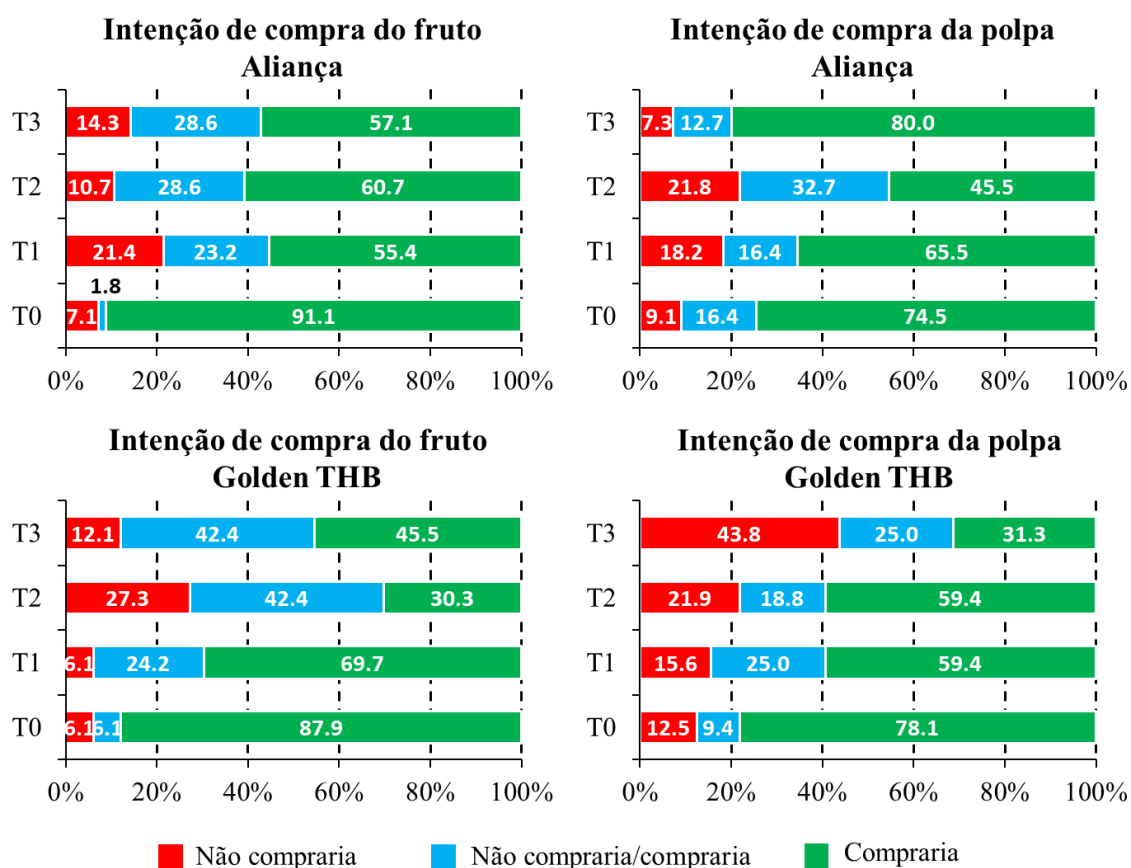
Os revestimentos elevaram ligeiramente a textura da polpa dos mamões na variedade Golden THB, entretanto na variedade Aliança apenas o tratamento com SFM diferiu estatisticamente do Controle, com média mais baixa. De maneira geral, os provadores atribuíram notas que se aproximam mais da textura “muito mole” do que da “muito dura”, o que significa dizer que os frutos sem revestimento não apresentaram polpa com maior firmeza. Reis et al. (2015) sugerem que o consumo in natura de frutos com polpa mais firmes, em relação aos padrões comerciais, pode ser indesejável para o consumidor. Shahbaz (2018) também notou melhoria na textura de morangos frescos revestidos com carboximetilcelulose e quitosana contendo óleo essencial de *Mentha spicata* em comparação ao controle.

A atitude de compra dos frutos antes e após a degustação está ilustrada na **Figura 14**. Para a variedade Aliança todos os tratamentos obtiveram excelentes índices de aprovação antes da degustação, com os maiores percentuais concentrados nos termos “certamente compraria”. O tratamento controle se destacou com 91,07% de nível de satisfação quanto a aparência externa. A presença do revestimento provocou uma redução na intenção de compra em pelo menos 67%, sendo o tratamento FM o menos aceito, com apenas 55% da indicação de compra.

Após a degustação o cenário da atitude hipotética de compra foi modificado. Os provadores elevaram o percentual de intenção de compra dos frutos revestidos com a SFM+OEC para 80%, sendo superior ao controle que obteve 75% da intenção de compra. Também foi possível observar o aumento em 10% na intenção de compra dos frutos tratados apenas com FM, que na análise visual foi o menos aceito. De modo inverso, o tratamento contendo apenas OEC reduziu o percentual de intenção de compra (45,5 %), tornando-se o menos atrativo de todos.

Na análise visual dos mamões da variedade Golden THB nenhum tratamento atingiu o nível de satisfação do consumidor em relação ao controle. Os frutos contendo OEC obtiveram menores índices de aceitação com maiores taxas percentuais concentradas na região de indiferença “não compraria/compraria” antes do consumo. Após a degustação os tratamentos com FM e OEC

apresentaram intenção de compra de 59%. Apenas os frutos revestidos com a combinação SFM+OEC não conseguiram agradar os consumidores que se mantiveram indecisos em sua intenção de compra, atingindo um percentual de 31% de aceitação.



**Figura 14.** Intenção de compra antes e após degustação do fruto. T0: controle; T1: solução de fécula de mandioca (FM); T2: Óleo essencial de cravo (OEC); T3: solução de fécula de mandioca + óleo essencial de cravo (SFM + OEC).

Sugerem-se novas pesquisas com o OEC para avaliar tanto a concentração ideal, quanto outros métodos mais eficazes de aplicação, como associação a outras matrizes alimentares ou em sachês que prologuem a conservação dos frutos mantendo as características físico-químicas e aceitação sensorial em nível satisfatório.

#### 4. CONCLUSÃO

Os provadores preferem comprar os mamões do grupo solo, de tamanho médio e no estágio três de maturação. O sabor foi o principal fator motivador da aquisição. A forma de consumo é in natura e a frequência esporádica.

A presença dos revestimentos não afetou as características físico-químicas da polpa dos frutos, todavia interferiram na aceitação sensorial mamões nas duas variedades. Dessa maneira, recomenda-se o revestimento SFM + OEC para os frutos da variedade Aliança por ter aceitação semelhante ao controle. Para os frutos da variedade Golden THB os revestimentos FM e OEC são os mais recomendados por se assemelharem ao controle.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento da pesquisa e a Embrapa Mandioca e Fruticultura pela disponibilidade do espaço físico e dos frutos para a execução do experimento.

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALALI, A. A.; AWAD, A.; AL-QURASHI; MOHAMED, S. A. Postharvest gum Arabic and salicylic acid dipping affect quality and biochemical changes of 'Grand Nain' bananas during shelf life. **Scientia Horticulturae**, v. 237, p. 51-58, 2018.

BRAGA, H. F. & CONTI-SILVA, A. C. Determinação da doçura ideal em néctar de mamão adicionado de açúcar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.4, p.723-727, abr, 2014.

CAZANE, A. L.; MACHADO, J. G. de C. F. e PIGATTO. G. Análise do consumidor de frutas no município de Tupã, Estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, SP, v.40, n.8, ago. 2010.

CHAGAS, K. Maturação e germinação de embriões somáticos do mamoeiro 'Golden THB'. 2014. 54 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, 2014.

CHOI, W. S.; SINGH, S. & LEE, Y, S. Characterization of edible film containing essential oils in hydroxypropyl methylcellulose and its effect on quality attributes of 'Formosa' plum (*Prunus salicina* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 70, July, p. 213-222, 2016.

CORTÉS-ROJAS, D.F. et al. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 2, p. 90-96, 2014.

DANTAS, J. L. L.; JUNGHANS, D. T.; e LIMA, J. F. de. **Mamão: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. 2 ed. Brasília: EdEmbrapa, 2013. 170 p.

DONG, F. & WANG, X. Effects of carboxymethyl cellulose incorporated with garlic essential oil composite coatings for improving quality of strawberries. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, Part A, nov, Pages 821-826, 2017.

ESCRIBA-PÉREZ, C. et al. Consumer profile analysis for different types of meat in Spain. **Meat Science**, v. 129, p. 120-126, 2017.

FIALHO, R. de O. et al. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Phakopsora euvitis*, agente causal da ferrugem da videira. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.82, p. 1-7, 2015.

FLORES-LÓPEZ, M. L. et al. Perspectives on Utilization of Edible Coatings and Nano-laminate Coatings for Extension of Postharvest Storage of Fruits and Vegetables. **Food Engineering Reviews**, v. 8, n. 3, p. 292–305, 2016.

FREIRE JÚNIOR, M. & SOARES, A. G. S. Orientações Quanto ao Manuseio Pré e Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças Visando à Redução de suas Perdas. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2014. 5p. (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Comunicado Técnico, 205)

GALO, J. de Q. B. et al. Conservação pós-colheita de mamão 'sunrise solo' com uso de quitosana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 2, p.305-312, Junho 2014.

GUERREIRO, A. C. et al. Raspberry fresh fruit quality as affected by pectin- and alginate-based edible coatings enriched with essential oils. **Scientia Horticulturae**, v. 194, p. 138-146, 2015.

GUERREIRO, A. C. et al. The effect of edible coatings on the nutritional quality of 'Bravo de Esmolfe' fresh-cut apple through shelf-life. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, Jan, p. 210-219, 2017.

GUERREIRO, A. C. et al. The influence of edible coatings enriched with citral and eugenol on the raspberry storage ability, nutritional and sensory quality. **Food Packaging and Shelf Life**, v.9, Set, p. 20-28, 2016.

HASHEMI, S. M. B. et al. Basil-seed gum containing *Origanum vulgare* subsp. viride essential oil as edible coating for fresh cut apricots. **Postharvest Biology and Technology**, v.125, mar, p. 26-34, 2017.

- HASSAN, B. et al. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p.1095–1107, 2018.
- KHEAWFU, K. et al. Development and characterization of clove oil nanoemulsions and self-microemulsifying drug delivery systems. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 46, Aug, p. 330-338, 2018.
- KUMARI, M. et al. Development and structural characterization of edible films for improving fruit quality. **Food Packaging and Shelf Life**, 12, p.42–50, 2017.
- MANGANY, M. C. et al. Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* isolates and their biofilms. **South African Journal of Botany**, v. 99, p. 115-121, 2015.
- MARQUEZ, G. R. et al. Fresh-cut fruit and vegetable coatings by transglutaminase-crosslinked whey protein/pectin edible films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 124-130, 2017.
- MARYA, C. M. et al. In vitro inhibitory effect of clove essential oil and its two active principles on tooth decalcification by apple juice. **International Journal of Dentistry**, v. 2012.
- OLIVEIRA, C. M.; CONEGLIAN, R. C.C.C. & CARMO, M. G. F. Conservação pós-colheita de tomate cereja revestidos com película de fécula de mandioca. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 4, out. - dez. 2015.
- OLIVEIRA, L. A. de. Manual de Laboratório: análises físico-químicas de frutas e mandioca. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2010. 248 p.
- OLIVEIRA, R. A. de et al. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacognosia/Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.19, n.3, p.771-775, 2009.
- OUADI, Y. El. et al. Essential oil composition and antifungal activity of *Melissa officinalis* originating from north-Est Morocco, against postharvest phytopathogenic fungi in apples. **Microbial Pathogenesis**, v. 107, p. 321-326, 2017.
- PEREIRA, M. E. C. et al. Amadurecimento de mamão formosa com revestimento comestível à base de fécula de mandioca. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1116-1119, nov./dez., 2006.
- REIS, R. C. et al. Caracterização físico-química de frutos de novos híbridos e linhagens de mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.50, n.3, p.210-217, mar. 2015.
- RUGGIERO, C. et al. Mamão, uma história de sucesso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 076-082, Outubro 2011.
- SABERI, B. et al. Application of biocomposite edible coatings based on pea starch and guar gum on quality, storability and shelf life of 'Valencia' oranges. **Postharvest Biology and Technology**, v. 137, mar, p. 9-20, 2018.



- SALGADO, P. R. et al. Edible films and coatings containing bioactives. **Current Opinion in Food Science**, v.5, October, p. 86-92, 2015.
- SANCHÍS, E. et al. Browning inhibition and microbial control in fresh-cut persimmon (*Diospyros kaki* Thunb. cv. Rojo Brillante) by apple pectin-based edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 112, Feb, p.186-193, 2016.
- SANTAMARINA, M. P. et al. Commercial *Laurus nobilis* L. and *Syzygium aromaticum* L. Merr. & Perry essential oils against post-harvest phytopathogenic fungi on rice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 325-332, 2016.
- SANTANA, L. R. R.; MATSUURA, F. C. A. U.; CARDOSO, R. L. Genótipos melhorados de mamão (*Carica papaya* L.): avaliação sensorial e físico-química dos frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 24(2): 217-222, abr.-jun. 2004.
- SANTOS, A.S. et al. **Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório**. EMBRAPA, 2004. (Comunicado Técnico 99).
- SANTOS, E. C. dos. Vida útil pós-colheita de mamão formosa 'Tainung 01' tratado com 1-metilciclopropeno. 95 f. 2008. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2008.
- SERPA, M. F. P. et al. Conservação de manga com uso de fécula de mandioca preparada com extrato de cravo e canela. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n.6, p. 975-982, nov/dez, 2014.
- SHAHBAZ, Y. Application of carboxymethyl cellulose and chitosan coatings containing *Mentha spicata* essential oil in fresh strawberries. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, Jun, p. 264-272, 2018.
- SHARMA, A. et al. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 123, n. 3, p. 308-313, 2017.
- SIVAKUMAR, D. & BAUTISTA-BAÑOS, S. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. **Crop Protection**, v. 64, p. 27-37, 2014.
- SOUZA, J. T. A. et al. Análise sócio-econômica do consumo de mamão no sertão paraibano. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.6, n.2, p. 235-246, maio/ago. 2013.
- SUTTON, B.C. 1980. **The Coelomycetes**. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 696p.
- TAVASSOLI-KAFRANI, E. SHEKARCHIZADEH, H. & MASOUDPOUR-BEHABADI. M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 360-374, 2016.

THAKUR, R. et al. Development and application of rice starch based edible coating to improve the postharvest storage potential and quality of plum fruit (*Prunus salicina*). **Scientia Horticulturae**, v. 237, p. 59-66, 2018.

THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING. The R Foudantion for Statistical Computing, 2013. R version 2.15.3 (2013-03-01).

TREVISSAN, R. et al. Atributos de qualidade considerados pelo consumidor de pelotas/rs, na compra de pêssego in natura. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 3, p. 371-374, jul-set, 2006.

VALERO, D. et al. Effects of alginate edible coating on preserving fruit quality in four plum cultivars during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 77, p. 1–6, 2013.

VAVIN, A. B. et al. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Clove Essential Oil and Eugenyl Acetate Produced by Enzymatic Esterification. **Applied biochemistry and biotechnology**, v.174, n. 4, p. 1286–1298.

VELOSO, R. A. et al. Teor e composição do óleo essencial de quatro acessos e duas cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.16, n.2, p. 364-371, 2014.

YOUSUF, B. & SRIVASTAVA, A. K. Flaxseed gum in combination with lemongrass essential oil as an effective edible coating for ready-to-eat pomegranate arils. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, Part A, Nov, p. 1030-1038.

ZILLO, R. R. et al. Carboxymethylcellulose coating associated with essential oil can increase papaya shelf life. **Scientia Horticulturae**, v. 239, p. 70-77, 2018.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo essencial de cravo apresentou um excelente potencial antifúngico contra o agente etiológico da antracnose em mamão pós-colheita, com ação mais efetiva no experimento *in vitro* em comparação ao teste nos frutos. Todavia, embora a suspensão de fécula de mandioca tenha se destacado no controle *in vivo*, o óleo essencial de cravo também se comportou como promissor no controle da doença quando associado ao polissacarídeo na forma de revestimento comestível mantendo inalteradas as características físico-químicas dos mamões da variedade Golden THB.

Esse resultado é satisfatório tendo em vista o potencial de ambos para utilização como película comestível capaz inibir o desenvolvimento de uma das principais doenças da cultura do mamoeiro. É importante ressaltar também outros pontos positivos, como a origem natural dos dois componentes que agrega valor ao produto; a facilidade de obtenção e o baixo custo da fécula de mandioca e a manutenção das características intrínsecas dos frutos revestidos em comparação aos mamões sem revestimento. Todos esses fatores enaltecem a possibilidade de utilização dessa película comestível em mamões destinados ao mercado consumidor, especialmente por ser o revestimento comestível um atrativo aos consumidores preocupados com a preservação ambiental.

Além da pulverização, diferentes métodos de aplicação do óleo essencial podem ser testados nos frutos, a exemplo da fumigação e imersão, sempre cuidando da concentração ideal para não agredir a epiderme do vegetal. Outros aspectos a serem observados são o comportamento dos revestimentos em mamões de diferentes variedades e quando armazenados sob refrigeração para avaliar se há otimização da eficiência destes no controle da antracnose em mamões pós-colheita.

Nesse trabalho verificou-se também que o agente dispersante Tween 20® na concentração de 10 % interferiu no metabolismo do *C. gloesporioides*, estimulando a germinação de esporos. Essa observação comportamental pode contribuir para o desenvolvimento de pesquisas com fungos que apresentam dificuldades de multiplicação ou germinação em condições laboratoriais. Todavia, novos ensaios são necessários no intuito de identificar se a associação dos componentes do Tween 20® aos do óleo essencial pode potencializar a

germinação de esporos dormentes, contribuindo assim com a geração de informações relativas ao estímulo da germinação de conídios.

A utilização de plantas medicinais no combate de fungos fitopatogênicos tem grande importância no cenário atual, além de contribuir com a redução dos impactos negativos no ambiente. O óleo essencial de cravo associado a fécula de mandioca se mostrou promissor no controle da antracnose em mamão, podendo futuramente se tornar uma nova técnica no controle da doença, sobretudo por substituir embalagens sintéticas que demoram muitos anos para se decompor, ser de fácil elaboração e aplicação, além de minimizar o uso dos fungicidas sintéticos que desequilibram o ambiente e causam danos à saúde humana.