

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JULIANA MORAES SOUZA ARAUJO

**Efeito de coberturas comestíveis a base de quitosana incorporadas
com óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e extrato de romã na
vida útil de tomates tipo italiano (*Solanum lycopersicon* L.)**

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JULIANA MORAES SOUZA ARAUJO

**Efeito de coberturas comestíveis a base de quitosana incorporadas
com óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e extrato de romã na
vida útil de tomates tipo italiano (*Solanum lycopersicon* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito parcial
à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciana Cristina Lins de Aquino
Santana

SÃO CRISTÓVÃO/SE

2017

JULIANA MORAES SOUZA ARAUJO

**Efeito de coberturas comestíveis a base de quitosana incorporadas
com óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e extrato de romã na
vida útil de tomates tipo italiano (*Solanum lycopersicon* L.)**

Dissertação de mestrado aprovada no
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Luciana Cristina Lins de Aquino Santana
Orientadora/Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos/UFS

Prof. Dr. Marcelo Augusto Gutierrez Carnelossi
Departamento de Tecnologia de Alimentos/Universidade Federal de Sergipe/UFS

Prof^a. Dr^a. Gladslene Góes Santos Frazão
Curso de Medicina Veterinária/Faculdade Pio Décimo

SÃO CRISTOVÃO-SE
2017

ARAÚJO, J. M. S. Efeito de coberturas comestíveis a base de quitosana incorporada com óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e extrato de romã na vida útil de tomates tipo italiano (*Solanum lycopersicon* L.) [Dissertação]. São Cristóvão: Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe; 2017.

RESUMO

As coberturas comestíveis são boas alternativas para auxiliar a conservação de alimentos, pois atuam como barreira a gases e vapor de água, diminuindo a degradação e aumentando a vida útil dos mesmos. O presente trabalho teve como objetivo elaborar diferentes formulações de coberturas comestíveis de quitosana e fécula de mandioca incorporadas com o óleo essencial de *Lippia sidoides* (alecrim-pimenta) e extrato da casca de romã e avaliar o efeito das mesmas na vida útil de tomates tipo italiano. Inicialmente, os extratos foram obtidos utilizando como solventes água destilada e metanol, em concentrações que variaram de 40 a 80% e juntamente com o óleo essencial foram avaliados quanto a atividade antimicrobiana pela técnica de difusão em discos, concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) foram também determinadas frente as bactérias *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. As bactérias gram-positivas foram as mais sensíveis aos extratos da casca de romã, destacando-se o extrato em metanol 60% o qual inibiu, com o maior halo de inibição (17,0 mm), a *E. faecalis*. Para o óleo essencial, todas as bactérias testadas foram extremamente sensíveis com halos de inibição entre 30,0 e 55,0 mm, sendo mais sensível a *P. aeruginosa*. A CIM do óleo essencial foi de 25 µL/mL para a *E. coli* e para as demais bactérias testadas foi de 50 µL/mL. O menor valor de CBM foi de 50 µL/mL para *E. faecalis* e *B. cereus*, sendo para as demais bactérias de 100 a > 400 µL/mL. Também foram preparadas 16 formulações de coberturas comestíveis contendo 1% de fécula de mandioca e variadas concentrações de quitosana (entre 1 e 3%), óleo essencial (entre 0,25 e 1%) e extrato da casca de romã (entre 0,5 e 2%). Os tomates foram revestidos com cada formulação e armazenados por 12 dias a 25°C. Nos dias 1, 4, 8 e 12 retirou-se amostras de 10 tomates onde foram realizadas as seguintes análises: perda de peso, pH, acidez, teor de sólidos solúveis, firmeza, cor (L, a*, b*, c e H), contagem total de bactérias aeróbias mesófilas e contagem de bolores e leveduras e coliformes termotolerantes a qual foi realizada somente nos dias 1 e 12 de armazenamento. Todas as amostras estavam dentro dos padrões de qualidade microbiológico pois apresentaram contagens máximas de bactérias totais, bolores e leveduras da ordem de 10³ UFC/g e coliformes termotolerantes <3 NMP/g. Os tomates revestidos com a formulação 11 (2% quitosana, 0,5% óleo e 1% extrato) demonstrou melhores resultados em relação as análises físico-químicas, como a redução da perda de peso, manutenção da firmeza, retardo no amadurecimento e escurecimento do fruto, e mantiveram boa aparência durante os 12 dias de armazenamento.

Palavras-chaves: óleo essencial, coberturas comestíveis, tomates, resíduo de fruta, controle de qualidade

ARAUJO, J. M. S. Effect of chitosan edible coatings incorporated with *Lippia sidoides* Cham. essential oil and pomegranate extract on the shelf life of italian tomatoes (*Solanum lycopersicon* L.). [Dissertation]. São Cristóvão: Program Post graduate Food Science and Technology, Federal University of Sergipe; 2017.

ABSTRACT

Edible coatings are a good alternative to help food preservation, because they act as barrier to gases and water vapor, reducing the degradation and increasing the shelf life of the same. The aim of this study was to elaborate different formulations of chitosan and cassava starch edible coating incorporated with *Lippia sidoides* (rosemary pepper) essential oil and pomegranate peel extract of the and to evaluate the effect of the same on the shelf life of italian tomatoes. The extracts, obtained with distilled water and 40 to 80% methanol concentrations, and the essential oil were evaluated for antimicrobial activity by disk diffusion test, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) were also determined against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Gram-positive bacteria were more sensitive to pomegranate peel extracts, particularly the 60% methanol extract inhibited *E. faecalis* with the highest inhibition zone diameter (17.0 mm). On the other hand, all the bacteria were extremely sensitive to essential oil with inhibition diameters from 30.0 to 55.0 mm, being the *P. aeruginosa* more sensitive. The MIC values of essential oil were 25 µL/mL to *E. coli* and 50 µL/mL to the other bacteria. The lowest value of CBM was 50 µL/mL to *E. faecalis* and *B. cereus*, and 100 to > 400 µL/mL to other bacteria. Then, 16 formulations containing 1% cassava starch and chitosan (from 1% to 3%), essential oil (from 0.25% to 1%) and pomegranate peel extract (from 0.5 to 2%) of edible coatings were prepared. Tomatoes were coated with each formulation and stored for 12 days at 25°C. Samples of 10 tomatoes were analysed on days 1, 4, 8 and 12 for: weight loss, pH, acidity, total soluble solids, firmness, color (L, a*, b*, c, H), total aerobic mesophilic bacteria, mould and yeast counts and thermotolerant coliforms on days 1 and 12 of storage. All samples showed microbiological quality since that the maximum total bacteria, mould and yeast counts were around 10³ CFU/g and thermotolerant coliforms <3,0 NMP/g. Tomatoes coated with formulation 11 (2% chitosan, 0.5% oil and 1% extract) showed better results in relation to physical-chemical analysis, such as reduction of weight loss, constant firmness, decreased ripening and darkening of the fruit, and good appearance during the 12 days of storage.

Key words: essential oil, edible coatings, tomatoes, fruit residue, quality control

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais funções de filmes e coberturas comestíveis.....	11
Figura 2 - Representação da estrutura molecular primária da quitina e da quitosana.....	13
Figura 3 - Ação dos óleos essenciais em células bacterianas.....	16
Figura 4 - Tomates não revestidos (tempo 0).....	26
Figura 5 - Romã (<i>Punica granatum</i> L.).....	27
Figura 6 - Secagem das cascas de romã.....	27
Figura 7 - Amostras em duplicata dos tomates não revestidos (controle) e dos tomates revestidos com a formulação 11 no 12º dia de armazenamento à temperatura de 25°C.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Porcentagem dos componentes utilizados nas coberturas comestíveis.....	30
Tabela 2 - Diâmetros dos halos de inibição para as bactérias gram-positivas para o extrato da casca de romã.....	34
Tabela 3 - Diâmetros dos halos de inibição para as bactérias gram-negativas para o extrato da casca de romã.....	35
Tabela 4 - Diâmetros dos halos de inibição (mm), Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial <i>Lippia Sidoides</i> (Cham.) frente às bactérias testadas.....	36
Tabela 5 - Porcentagem de Perda de peso em tomates revestidos e não revestidos.....	37
Tabela 6 - Estudos que verificaram a porcentagem de perda de peso em tomates revestidos e não revestidos.....	38
Tabela 7 - pH em tomates revestidos e não revestidos.....	40
Tabela 8 - Estudos que verificaram o pH em tomates revestidos e não revestidos.....	41
Tabela 9 - Acidez titulável em tomates revestidos e não revestidos.....	42
Tabela 10 - Teor de sólidos solúveis em tomates revestidos e não revestidos.....	43
Tabela 11 - Estudos que verificaram o teor de sólidos solúveis em tomates revestidos e não revestidos.....	44
Tabela 12 - Firmeza em tomates revestidos e não revestidos.....	46
Tabela 13 - Estudos que verificaram a firmeza em tomates revestidos e não revestidos.....	47
Tabela 14 - Luminosidade da casca de tomates revestidos e não revestidos (controle).....	48
Tabela 15 - Intensidade de vermelho da casca de tomates revestidos e não revestidos (controle).....	49
Tabela 16 - Intensidade de amarelo da casca de tomates revestidos e não revestidos (controle).....	50
Tabela 17 - Cromaticidade da casca de tomates revestidos e não revestidos (controle).....	51
Tabela 18 - Tonalidade da casca de tomates revestidos e não revestidos (controle).....	52
Tabela 19 - Contagem de bactérias totais aeróbias mesófilas (UFC/g).....	54
Tabela 20 - Contagem de bolores e leveduras (UFC/g).....	55
Tabela 21 - Número mais provável de coliformes termotolerantes (NMP/g).....	57

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1	Coberturas comestíveis a base de quitosana.....	12
2.2	Agentes antimicrobianos em coberturas comestíveis.....	15
2.2.1	Óleo essencial de alecrim pimenta (<i>Lippia sidoides</i> Cham.).....	16
2.2.2	Romã (<i>Punica granatum</i> L.)	18
2.3	Aplicações de coberturas ou filmes comestíveis incorporados com compostos bioativos em frutas e hortaliças.....	19
2.4	Tomate (<i>Solanum lycopersicon</i> L.)	22
3	OBJETIVOS.....	26
3.1	Objetivo Geral	26
3.2	Objetivos Específicos.....	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1	Materiais	27
4.2	Micro-organismos.....	27
4.3	Obtenção do extrato das cascas de romãs	27
4.4	Obtenção do óleo essencial <i>Lippia sidoides</i> Cham. (alecrim-pimenta).....	27
4.5	Determinação da atividade antimicrobiana do extrato de romã e do óleo essencial <i>Lippia sidoides</i> (Cham.) através da técnica de difusão em disco.....	27
4.6	Determinação da concentração inibitória mínima.....	29
4.7	Determinação da concentração bactericida mínima.....	29
4.8	Elaboração das coberturas comestíveis a base de quitosana	29
4.9	Aplicação das coberturas comestíveis em tomates.....	30
4.10	Análises físico-químicas	30
4.10.1	Análise colorimétrica.....	31
4.10.2	Firmeza.....	31

4.10.3 Teor de sólidos solúveis.....	31
4.10.4 Perda de peso.....	31
4.10.5 Determinação do pH.....	31
4.10.6 Determinação da acidez.....	31
4.11 Análises microbiológicas dos tomates	32
4.11.1 Contagem de bactérias totais aeróbias mesófilas.....	32
4.11.2 Contagem de bolores e leveduras.....	32
4.11.3 Número mais provável de coliformes termotolerantes.....	32
4.12 Análise estatística.....	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5.1 Avaliação <i>in vitro</i> do extrato da casca de romã (<i>Punica Granatum</i>).....	34
5.2 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> do óleo essencial de alecrim pimenta (<i>Lippia sidoides</i> Cham.)	35
5.3 Avaliação da vida útil de tomates revestidos com coberturas comestíveis incorporadas com extrato da casca de romã e óleo essencial <i>Lippia sidoides</i> Cham. (alecrim-pimenta).....	36
5.3.1 Perda de peso.....	36
5.3.2 pH.....	39
5.3.3 Acidez.....	41
5.3.4 Teor de sólidos solúveis.....	42
5.3.5 Firmeza.....	45
5.3.6 Coloração da casca.....	47
5.3.7 Análises microbiológicas.....	53
6 CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

1 INTRODUÇÃO

Os revestimentos ou coberturas comestíveis são uma das mais recentes alternativas para auxiliar na conservação de alimentos. Atuam principalmente como barreira a gases e vapor de água, modificando a atmosfera interna dos frutos, diminuindo a degradação e aumentando a vida de prateleira dos mesmos, além de atuarem também como carreadores de compostos antimicrobianos, antioxidantes, entre outros (MAIA *et al.*, 2000).

A conservação pós-colheita usualmente empregada está, em quase sua totalidade, centrada na cadeia de frio e em boas práticas de armazenamento. Entretanto, a tecnologia de aplicação de revestimentos comestíveis tem se destacado por elevar o tempo de conservação permitindo uma maior flexibilidade de manuseio e comercialização (ASSIS *et al.*, 2008; VARGAS *et al.*, 2008). Estes revestimentos são formados por polissacarídeos como a celulose, quitina, a goma xantana, goma guar, pectina, carboximetilcelulose, amido, o alginato e a quitosana. A quitosana é um dos mais utilizados para tal, pois é um polímero natural, atóxico, biocompatível, biodegradável e possui atividade antimicrobiana (DUTTA *et al.*, 2009; KONG *et al.*, 2010; ASSIS e BRITTO, 2014).

A capacidade antimicrobiana do revestimento de quitosana pode ser aumentada a partir da incorporação de compostos bioativos. Dentre estes compostos podem ser citados o eugenol, carvacrol, mentol, citral, geraniol e/ou timol (CROTEAU *et al.*, 2000; ALBUQUERQUE *et al.*, 2006) que estão presentes nos óleos essenciais (OEs), obtidos a partir de fontes naturais através da hidrodestilação ou extração por solventes (HUSSAIN *et al.*, 2010).

O óleo essencial oriundo da *Lippia sidoides*, planta popularmente conhecida como “alecrim-pimenta” possui em sua composição alguns compostos como o carvacrol, timol, 1,8 cineol e p-cimeno os quais conferem atividade antimicrobiana a este óleo essencial (COSTA *et al.*, 2002, FEITOSA *et al.* 2005, BOTELHO *et al.*, 2007; GOMIDE *et al.*, 2013; GUIMARÃES *et al.*, 2014).

Outra forma de obtenção desses compostos bioativos são através das diversas partes das plantas, como folhas, frutos, cascas e sementes. A casca e extrato das cascas de romã possuem propriedades antimicrobianas, antiaterogênicas e antimutagênicas. Além disso, podem atuar como excelentes aditivos naturais para a preservação de alimentos e melhoria da qualidade devido a presença de polifenóis em sua composição (AKHTAR *et al.*, 2015).

Os polifenóis presentes no extrato da casca de romã atuam como forte inibidor natural de algumas bactérias como *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *K. pneumoniae* (DAHAM *et al.*, 2010) e de fungos como, *Aspergillus niger*, *M. indicus*, *P.*

citrinum, *Rhizopus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinérea*, dentre outros (DAHAM *et al.*, 2010; TEHRANIFAR *et al.*, 2011; NICOSIA *et al.*, 2016).

A eficiência de revestimentos incorporados com óleos essenciais e extratos em alimentos foi comprovada por Zapata *et al.* (2010), os quais utilizaram coberturas a base de alginato incorporados com uma mistura de óleos essenciais (timol, mentol, eugenol, carvacrol) em tomates e verificaram um atraso no amadurecimento dos frutos; Ramos-García *et al.* (2012) também demonstraram eficácia em tomates com o uso de quitosana combinado com óleos essenciais de limão e de tomilho, cera de abelha e ácido oleico no controle de crescimento de *Rhizopus stolonifer* e *Escherichia coli*; Alvarez *et al.* (2013) por sua vez testaram coberturas de quitosana associadas a óleos essenciais (árvore do chá, cravo, alecrim, orégano, calêndula, aloe vera e limão) e compostos bioativos (pólen, romã, própolis e resveratrol) em brócolis minimamente processados a fim de controlar a microbiota natural; e Guerreiro *et al.* (2015a), utilizaram coberturas comestíveis a base de alginato e pectina enriquecidas com óleos essenciais (citral e eugenol) em framboesas para o prolongamento da vida útil.

Os tomates são um dos frutos mais suscetíveis ao apodrecimento e a perda da qualidade durante a pós-colheita (ZHU *et al.*, 2016), possuindo uma vida útil curta devido a diversos problemas como a desidratação, o amolecimento e o próprio apodrecimento (KLUGE; MINAMI, 1997). Estes problemas ocorrem devido à alterações fisiológicas e bioquímicas que acarretam alterações de cor, textura, sabor e aroma (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

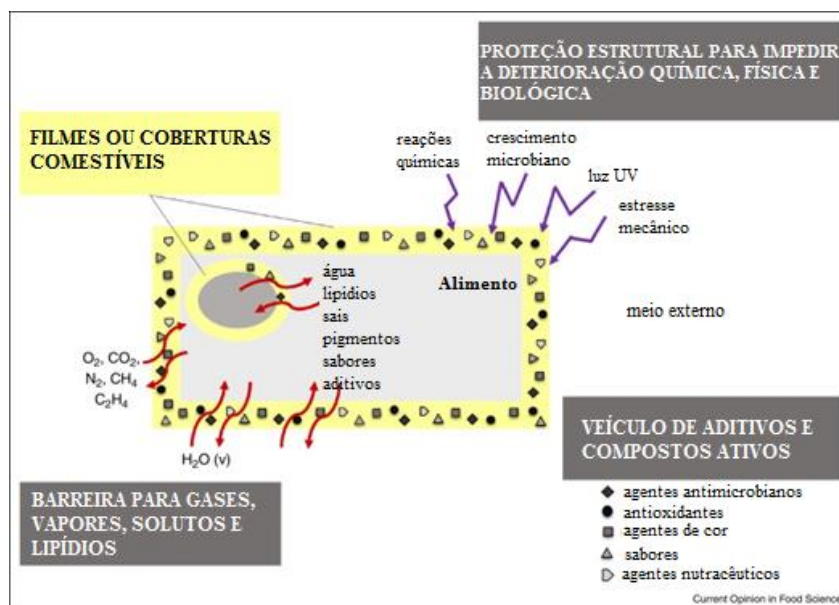
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Coberturas comestíveis a base de quitosana

As coberturas comestíveis são definidas como uma fina camada de material comestível, depositada em um alimento como revestimento, que tem como finalidade evitar contaminações microbiológicas e químicas, inibir ou reduzir a migração de umidade, de oxigênio, de dióxido de carbono e de aromas, pois promovem barreiras semipermeáveis, como demonstrados na Figura 1. (ASSIS e LEONI, 2003; TAVASSOLI-KAFRANI *et al.*, 2016). Durante sua fabricação, esses materiais devem ser dissolvidos em solvente como água, álcool, solução de água e álcool, ou uma mistura de outros solventes. Neste processo podem ser adicionados agentes plastificantes, antimicrobianos, minerais, vitaminas, cores ou sabores (DHALL, 2013).

Sua aplicação pode ser feita por meio de imersão rápida em uma solução filmogênica, em seguida, o alimento é deixado em repouso até que a água evapore e a película se forme ou por meio de aspersão (JUNIOR *et al.*, 2010). Os filmes comestíveis, com a mesma finalidade, são feitos a partir da técnica de fundição, onde o material comestível é espalhado sobre um material de base adequada e, em seguida deixado secar. Durante a secagem da solução, o solvente é evaporado e as cadeias de polímero se alinham para formar películas (TAVASSOLI-KAFRANI *et al.*, 2016).

Figura 1 - Principais funções de filmes e coberturas comestíveis.



Fonte: Adaptado de Salgado *et al.*, 2015.

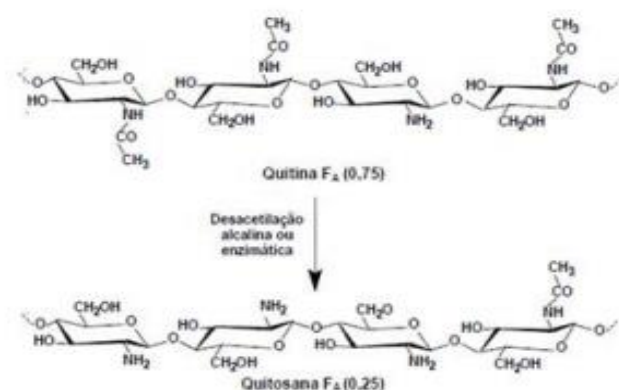
As coberturas comestíveis podem ser caracterizadas como hidrofílicas ou hidrofóbicas. As hidrofílicas são materiais com estruturas que predominam os grupos amino ou hidroxila e carboxila (NH_3 , OH , COO^-) caracterizados por ligações covalentes polares. Alguns exemplos destes materiais são os polissacarídeos, como a celulose, a quitina, a goma xantana, a goma guar, a pectina, o amido e os polissacarídeos polieletrólitos, como a carboximetilcelulose, a quitosana e o alginato. Estes materiais normalmente apresentam boa solubilidade em meio aquoso, favorecendo uma melhor dispersão do soluto. As hidrofóbicas possuem predominância de grupos alquilas (CH_3 , $\text{CH}_2\text{-CH}_3$, etc) e aromáticos. Nesta categoria encontram-se as proteínas hidrofóbicas, óleos e ácidos graxos (ASSIS e BRITTO, 2014).

Estes revestimentos podem ser utilizados em frutas inteiras (SOGVAR *et al.*, 2016; LIMCHOOWONG *et al.*, 2016; AQUINO *et al.*, 2015; GUERREIRO *et al.*, 2015a) ou minimamente processadas (BENÍTEZ *et al.*, 2015; SANCHÍS *et al.*, 2016; CORTEZ-VEGA *et al.*, 2014), tendo como mais indicadas as coberturas hidrofílicas para superfícies fatiadas e frutas com aspectos brilhantes que apresentem alta molhabilidade pois, por possuírem afinidade com a água, as coberturas hidrofílicas preservam o aspecto hidratado, mantendo por mais tempo a superfície brilhante (ASSIS e BRITTO, 2014). Os revestimentos comestíveis não devem interferir na aparência natural da fruta, devem possuir boa aderência a fim de evitar sua remoção facilmente no manuseio e não podem promover alterações no gosto ou odor original (ASSIS *et al.*, 2009; GONTARD e GUILBERT, 1994).

O polímero antimicrobiano ideal deve possuir algumas características, como: ser sintetizado facilmente, possuir baixo custo, ser estável, não se decompor, ser atóxico e possuir atividade biocida ampla contra micro-organismos patogênicos (KENAWY *et al.*, 2007).

Dentre os materiais utilizados para a confecção dos revestimentos comestíveis, destaca-se a quitosana que é produzida industrialmente a partir da desacetilação alcalina de quitina (Figura 2), presente no exoesqueleto de crustáceos, moluscos e insetos, como também pode ser obtida a partir da desacetilação enzimática da quitina (OLIVEIRA JUNIOR, 2006). Os principais fatores que afetam a eficiência da desacetilação e as características da quitosana são: temperatura e tempo de reação; concentração da solução de álcali e adição de diluente (álcoois de cadeia curta e cetonas são empregados); razão quitina/álcali; tamanho das partículas de quitina; atmosfera da reação e presença de agentes que evitem a despolimerização (AZEVEDO *et al.*, 2007).

Figura 2 - Representação da estrutura molecular primária da quitina e da quitosana



Fonte: Battisti; Campana-Filho, 2008

A quitosana, por ser um polímero natural, é considerado atóxico, biodegradável e biocompatível, tendo suas propriedades exploradas em aplicações industriais e tecnológicas desde o início do século passado. Entre essas propriedades, convém citar a atividade antimicrobiana, decorrente em grande parte da presença de grupos amino livres nas unidades de glucosamina (DUTTA *et al.*, 2009; KONG *et al.*, 2010). De acordo com Kong *et al.* (2010), o efeito bactericida da quitosana depende de vários fatores, dentre eles: fatores microbianos relacionados às espécies dos micro-organismos; fatores intrínsecos da quitosana, incluindo o peso molecular e concentração; estado físico, solução ou filme; e condições ambientais, tais como pH e temperatura.

Os mecanismos exatos das atividades antibacterianas de quitosana e seus derivados ainda são desconhecidos (KONG *et al.*, 2010). Acredita-se que a carga positiva das moléculas de quitosana interaja com as membranas celulares dos micro-organismos, carregadas negativamente, causando uma alteração na permeabilidade celular e consequentemente uma fuga de constituintes celulares (IKEDA; TAZUKE, 1984 apud KONG *et al.*, 2010). Outra hipótese apresentada propõe um funcionamento da quitosana como agente quelante de metais inibindo desse modo a produção de toxinas e o crescimento microbiano. Uma terceira hipótese aponta a capacidade da quitosana de baixo peso molecular entrar no núcleo das células microbianas, interagindo com o DNA e interferindo com a síntese de RNA mensageiro. Esta hipótese afeta a síntese de proteínas e pode inibir a atividade de várias enzimas (RABEA *et al.*, 2003; MASSÓN *et al.*, 2008; DUTTA *et al.*, 2009).

A quitosana possui maior efeito inibitório em valores de pH mais baixos, enfraquecendo sua atividade inibidora com o aumento do pH. Durante o armazenamento, algumas características específicas como a viscosidade e o peso molecular podem ser alteradas

e, portanto devem ser monitoradas, pois podem influenciar em outras propriedades funcionais da solução (KONG *et al.*, 2008). É caracterizada por possuir grupos amínicos livres, pela solubilidade em soluções ácidas ($\text{pH} < 6,5$), insolubilidade em pH superior a 6,5, insolubilidade em H_2SO_4 , baixa solubilidade em H_3PO_4 , insolubilidade em solventes orgânicos e grupos amínicos protonados, capacidade de formar soluções viscosas com formação de géis e de se solubilizar em misturas de água e álcool (HAFDANI; SADEGHINIA, 2011).

Ingredientes ativos também podem ser incorporados nos revestimentos comestíveis à base de quitosana e consumidos com o alimento, aumentando a segurança e a qualidade nutricional (DHALL, 2013). O emprego de coberturas comestíveis com a finalidade de prolongar a conservação de alimentos perecíveis tais como kiwi (BENÍTEZ *et al.*, 2015), morango (VU *et al.*, 2011; GUERREIRO *et al.*, 2015b; AZEVEDO *et al.*, 2014; VALENZUELA *et al.*, 2015), mamão (CORTEZ-VEGA *et al.*, 2014), aspargos (QIU *et al.*, 2013), filés de truta (VOLPE *et al.*, 2015), peixes (ESTACA *et al.*, 2010) têm sido amplamente relatado.

2.2 Agentes antimicrobianos em coberturas comestíveis

Uma das funções dos revestimentos comestíveis é a sua capacidade de incorporar ingredientes ativos como antioxidantes, antimicrobianos ou ingredientes em sua matriz a fim de melhorar a sua funcionalidade (DHALL, 2013). A incorporação de agentes antimicrobianos em coberturas comestíveis age como um fator de estresse para diminuir o crescimento de agentes patogênicos e para proteger os alimentos contra a deterioração. O uso de agentes antimicrobianos químicos é limitado em produtos alimentares devido às preocupações com a saúde dos consumidores. Por isso há uma procura por conservantes naturais e saudáveis, considerados GRAS (Geralmente reconhecido como seguro). Dentre estes conservantes naturais estão os metabólitos secundários derivados de plantas (TAVASSOLI-KAFRANI *et al.*, 2016).

A busca de compostos bioativos a partir de fontes naturais tem sido impulsionada pela limitação imposta sobre a aplicação de aditivos alimentares produzidos a partir de substâncias químicas sintéticas, bem como seu banimento em alguns produtos alimentares. Muitos destes compostos extraídos de sementes, frutos, folhas, flores, rizomas, raízes, cascas de frutas, e ramos de árvores têm demonstrado atividade antimicrobiana, antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiinflamatória e funções antioxidantes (SILVA *et al.*, 2016).

Os compostos bioativos são, em sua maioria, metabólitos secundários que geralmente estão relacionados com os sistemas de defesa das plantas contra a radiação ultravioleta ou as

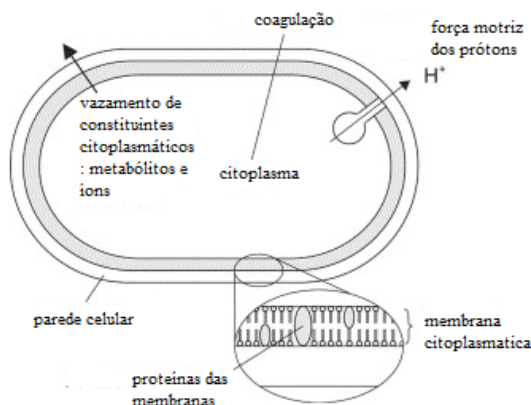
agressões de insetos ou patógenos (MANACH *et al.*, 2004). Estes metabólitos secundários possuem vários benefícios, incluindo propriedades antimicrobianas como micro-organismos patogênicos e deteriorantes (HAYEK *et al.*, 2013). Os principais grupos de compostos responsáveis pela atividade antimicrobiana de plantas incluem os compostos fenólicos, ácidos fenólicos, quinonas, saponinas, flavonóides, taninos, cumarinas, terpenóides e alcalóides. Variações na estrutura e composição química destes compostos resultam em diferenças na sua ação antimicrobiana (GYAWALI; IBRAHIM, 2014). Estes compostos antimicrobianos são comumente encontrados em óleos essenciais, ervas e especiarias, como alecrim, sálvia, manjeriço, orégano, tomilho, manjerona, cardamomo e cravo e também em sementes e folhas de frutas ou de vegetais, como sementes de uva, cominho, erva-doce, salsa, dentre outros. As ervas, especiarias e seus extratos são comumente utilizados pelas indústrias de alimentos e geralmente possuem óleos essenciais, que são bem conhecidos por suas atividades antimicrobianas (HAYEK *et al.*, 2013).

Os óleos essenciais (OEs) são normalmente obtidos a partir de fontes naturais, como frutas, ervas, raízes, cascas, caules e plantas medicinais através da hidro destilação ou extração por solvente (HUSSAIN *et al.*, 2010). Suas composições são determinadas por fatores genéticos, porém fatores ambientais podem causar variações significativas em seus componentes. A época de colheita, o horário e o modo de secagem do material vegetal também podem ter influência sobre a composição e o teor do óleo (MORAIS, 2009; GENDE *et al.*, 2010). Geralmente os OEs que possuem atividade antimicrobiana mais forte, contra agentes patogênicos, possuem elevada quantidade de compostos fenólicos. Dentre estes compostos presentes nos OEs, temos o eugenol, carvacrol, mentol, citral, geraniol e/ou timol (CROTEAU *et al.*, 2000; BURT *et al.*, 2004; ALBUQUERQUE *et al.*, 2006).

Os compostos fenólicos são os responsáveis pela ação antimicrobiana dos óleos essenciais que possuem seu mecanismo de ação associado ao caráter lipofílico dos compostos, os quais se acumulam nas membranas, havendo perda de energia pelas células microbianas (FENG; ZHENG, 2007; CALO *et al.*, 2015). A interação dos compostos antimicrobianos com a membrana da célula bacteriana e mitocôndrias perturbam as estruturas e as tornam mais permeáveis podendo ocorrer o vazamento de íons e nutrientes, afetar o potencial da membrana e a permeabilidade global da célula, resultando na inibição de suas propriedades funcionais (LAMBERT *et al.*, 2001; BURT *et al.*, 2004; CALO *et al.*, 2015). Com isso, a célula utiliza energia para reparação ou sobrevivência em vez da proliferação celular (BOUHDID *et al.*, 2010). Na Figura 3 observa-se uma célula bacteriana e as ações dos OEs na mesma. Burt e seus colaboradores (2004) mencionam que estas ações estão relacionadas com a modificação da

membrana citoplasmática, degradação da parede celular, danos às proteínas da membrana, vazamento de conteúdo das células, coagulação do citoplasma e a remoção da força motriz de prótons.

Figura 3 - Ação dos óleos essenciais em células bacterianas.



Fonte: Adaptado de BURT *et al.*, 2004.

Os efeitos da adição do óleo essencial em coberturas comestíveis foram estudados por Azevedo *et al.* (2014), os quais utilizaram fécula de mandioca, quitosana e concentrações de genótipos de *Lippia gracillis* Schauer sobre a atividade antimicrobiana *in vitro*, através da técnica de difusão em disco, de coberturas comestíveis contra bactérias de origem alimentar, e verificaram que as coberturas contendo óleo essencial foram mais eficientes contra *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. marcescens* e *S. enteritidis*.

Alvarez *et al.* (2013) utilizaram óleos essenciais de árvore do chá (*Melaleuca alternifolia*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), cravo (*Syzygium aromaticum*), limão (*Citrus limonum*), orégano (*Origanum vulgare*), calêndula (*Calendula officinalis*), aloe vera (*Aloe ferox*) e compostos bioativos como pólen de abelha, extrato de própolis, romã e resveratrol foram testados para a microflora natural de brócolis, *E. coli* e *L. monocytogenes* pela técnica de difusão em ágar. Os testes realizados com OE de árvore do chá, pólen e própolis demonstraram efeitos inibitórios significativos sobre a *E. coli* e *L. monocytogenes*, enquanto que a romã e o resveratrol apresentaram atividade reduzida em relação aos micro-organismos.

2.2.1 Óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.)

O óleo oriundo da *Lippia sidoides*, planta popularmente conhecida como “alecrim-pimenta” e encontrada no nordeste do Brasil, apresenta vários quimiotipos em relação à composição química do seu óleo essencial, sendo relatados compostos majoritários tais como

timol (isômero do carvacrol), carvacrol, 1,8 cineol e p-cimeno os quais conferem atividade antibacteriana e antifúngica deste óleo essencial (COSTA *et al.*, 2002; FEITOSA *et al.* 2005; BOTELHO *et al.*, 2007; GOMIDE *et al.*, 2013; GUIMARÃES *et al.*, 2014). =====

O óleo tem demonstrado potencial como antimicrobiano frente a *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus bulgaricus*, *Serratia marcescens*, *Salmonella enteritidis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Malassezia canis* (FEITOSA *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2006; BOTELHO *et al.*, 2007; FONTENELLE *et al.*, 2007; CASTRO *et al.*, 2011).

2.2.2 Romã (*Punica granatum* L.)

A romã é uma fruta nativa do Irã que possui como nome científico, *Punica granatum*, que é derivado do nome *Pomum* (maçã) *granatus* (granulado) (VIUDA-MARTOS *et al.*, 2010). Durante a última década, a romã (*Punica granatum* L.) tem demonstrado possuir atividades preventivas e atenuantes contra doenças como o câncer, diabetes tipo 2, aterosclerose e doenças cardiovasculares. Suas propriedades nutracêuticas não ficam limitadas à parte comestível da fruta, as partes não comestíveis como cascas, sementes, flores e folhas, embora considerados resíduos, contêm quantidades ainda maiores destas propriedades (AKHTAR *et al.*, 2015).

A valorização dos resíduos reduz a carga de despejo de material e proporciona oportunidades para o desenvolvimento de novos produtos naturais. As fontes residuais representam um conjunto importante de substâncias com um potencial elevado para a área farmacêutica, alimentar e cosmética (AMYRGIALAKI *et al.*, 2014).

A composição da romã varia de acordo com a parte do fruto, cultivar, região de crescimento, clima, maturidade e as condições de armazenamento. Estes frutos podem ser divididos em: casca, sementes e arilos, onde cerca de 50% do peso total do fruto corresponde a casca, que é uma fonte importante de compostos bioativos, tais como fenólicos, flavonóides, elagitaninos e compostos proantocianidinas (VIUDA-MARTOS *et al.*, 2010).

A casca e extrato das cascas de romã possuem propriedades significativas de eliminação de radicais livres, propriedades antimicrobianas, antiaterogênicas, antimutagênicas e também são relatados pelos efeitos de melhorias contra muitas doenças. Podem atuar como excelentes aditivos naturais para a preservação de alimentos e melhoria da qualidade (AKHTAR *et al.*, 2015).

O extrato da sua casca é rico em polifenóis, os quais têm apresentado um forte efeito antisséptico, inibidor natural de bactérias como, *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *K. pneumoniae* (DAHAM *et al.*, 2010) e de fungos como,

Aspergillus niger, *M. indicus*, *P. citrinum*, *Rhizopus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinérea*, dentre outros (DAHAM *et al.*, 2010; TEHRANIFAR *et al.*, 2011; NICOSIA *et al.*, 2016)

Os mecanismos antimicrobianos dos compostos fenólicos envolvem a reação de fenóis com as proteínas da membrana celular microbiana e/ou grupos sulfidrilas de proteínas que provocam a morte bacteriana devido à precipitação das proteínas presentes na membrana e a inibição de enzimas como a glicosiltransferases (ISMAIL *et al.*, 2012).

2.3 Aplicações de coberturas ou filmes comestíveis incorporados com compostos bioativos em frutas e hortaliças

Ao longo dos anos, alguns pesquisadores têm avaliado o efeito antimicrobiano de coberturas ou filmes comestíveis incorporados com compostos bioativos ou óleos essenciais. Azarakhsh *et al.* (2014) avaliaram os efeitos de diferentes concentrações de OE de erva-cidreira (0,1%, 0,3% e 0,5%) incorporados em coberturas a base de alginato em abacaxis minimamente processados. Os frutos foram armazenados durante 16 dias a 10°C com UR de 65% e analisados quanto à taxa de respiração, propriedades físico-químicas, qualidade sensorial e microbiológica. Os resultados obtidos através deste estudo mostram que a cobertura comestível com 0,3% de OE reduziu significativamente a taxa de respiração, a perda de peso e a contagem total de microrganismos, mantendo a firmeza, cor e as características sensoriais dos abacaxis.

Santos *et al.* (2012), aplicaram coberturas de quitosana contendo óleo essencial de orégano em uvas e obtiveram inibição de *Rhizopus stolonifer* URM 3728 e *Aspergillus niger* URM 5842 durante o armazenamento à 25°C por 12 dias e 12°C por 24 dias.

Serpa *et al.* (2014) avaliaram a conservação pós-colheita de mangas “Palmer” e a incidência natural de fungos fitopatogênicos nos frutos, após a realização do revestimento a base de fécula de mandioca adicionado de 3% extratos aquoso de cravo e de canela. Os frutos foram armazenados a 25°C e 65% UR por 10 dias e, posteriormente, avaliados a cada 2 dias quanto a perda de massa fresca, firmeza, cor interna e externa, pH, sólidos solúveis, ácido ascórbico, acidez titulável e identificação de patógenos presentes nas lesões. Os revestimentos preparados com extratos de cravo ou canela não influenciaram na maioria das características de pós-colheita avaliadas, porém, os mesmos reduziram a porcentagem de fitopatogênicos durante o armazenamento, sendo o extrato de cravo mais eficiente que o extrato de canela.

Perdones e seus colaboradores (2016) adicionaram OE de limão em coberturas de quitosana e realizaram o estudo destes, em morangos, a fim de prevenir a degradação por fungos. Já Guerreiro *et al.* (2015b) obtiveram redução da deterioração microbiana de morangos frescos

revestidos com coberturas comestíveis com base em alginato de sódio e pectina enriquecidos com óleos essenciais (cital e eugenol como constituintes) por até 7 dias.

Azevedo *et al.* (2014), também realizaram o estudo da vida de prateleira de morangos revestidos com coberturas de quitosana, fécula de mandioca e óleo essencial de *L. Gracillis* Shauer à 4°C durante 7 dias. A contagem total de bactérias psicrófilas foi mantida a < 10 UFC/g durante todo o tempo de armazenamento nos morangos revestidos e para os morangos não revestidos houve o aumento da carga microbiana. A contagem de bolores e leveduras foi máxima de 10^1 UFC/g e 10^3 UFC/g, para os morangos com e sem revestimento, respectivamente.

Vu *et al.* (2011), verificaram o efeito de coberturas de quitosana contendo os compostos bioativos limoneno (LM) e óleos essenciais de tomilho vermelho (TV), oregano (OR), hortelã-pimenta (HP) e erva-cidreira (EV) durante o armazenamento a 4°C durante 14 dias. Os morangos tratados com LM, HP e TV foram eficientes para preservar a qualidade dos frutos por até 12 dias apresentando decomposição microbiana inferior a obtida pelas amostras controle (sem coberturas).

Valenzuela *et al.* (2015), verificaram o efeito de filmes comestíveis a base de quitosana e proteína de quinoa na qualidade de morangos refrigerados. Os autores elaboraram filmes comestíveis de quitosana, quinoa + quitosana e quinoa + quitosana + óleo de girassol e avaliaram seus efeitos, comparando com as amostras controle (sem revestimentos) durante o armazenamento dos morangos nos dias 0, 5, 10 e 15 dias à 4-5°C com 80% de UR. No último dia de armazenamento os morangos não revestidos apresentaram 100% de danos fúngicos e os revestidos apresentaram 18,3%, 36,7% e 50% de danos para quitosana, quitosana + quinoa e quitosana + quinoa + óleo de girassol, respectivamente.

Cruz *et al.* (2012), tiveram como alvo verificar o efeito de óleos de *Lippia sidoides* Cham. e *Piper aduncum* L., associados ou não as coberturas de carnauba e dextrina, em mangas cv. Kent, a fim de evitar a podridão peduncular na pós-colheita causadas por *Lasiodiplodia theobromae* ou *Botryosphaeria dothidea*. Os dois óleos estudados contribuíram para a redução da podridão em mangas.

Aquino *et al.* (2015) investigaram o efeito de coberturas comestíveis, de amido de mandioca e quitosana, contendo uma mistura de genótipos do OE *Lippiagracilis* Schauer em goiabas. As goiabas revestidas demonstraram excelente qualidade microbiológica em termos de contagem de fungos e leveduras, durante o armazenamento, a temperatura ambiente (25°C) durante 10 dias quando comparadas as que não foram revestidas.

Ali *et al.* (2015), avaliaram a eficácia do óleo essencial de erva-cidreira em coberturas a base quitosana contra a antracnose em pimentões. O óleo essencial em concentrações de 0,5% e 1,0% foi incorporado na solução de quitosana a 0,5% e 1,0% e avaliada *in vitro* e *in vivo*. Os pimentões foram contaminados, revestidos, armazenados à temperatura ambiente por 21 dias e analisados semanalmente em relação à incidência da antracnose. No último dia de análise foi observada a característica da doença em 70% dos pimentões sem coberturas, 40% dos revestidos apenas com OE (0,5%), 33,3% dos revestidos com OE (0,5%) e quitosana (1,0%), 46,7% revestido com OE (1,0%) e 26,7% revestidos com OE (1,0%) e quitosana (1,0%). No entanto a menor incidência da doença foi observada no tratamento que utilizou apenas 1% de quitosana.

Além dos óleos essenciais, são utilizados outros compostos bioativos em coberturas comestíveis com o objetivo de adicionar propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antibacterianas e antifúngicas. Sabaghi *et al.* (2015) verificaram os efeitos da incorporação do extrato de chá verde em coberturas de quitosana sobre a oxidação lipídica e o crescimento fúngico em nozes. Os resultados indicaram a redução da oxidação e do crescimento de fungos.

Alvarez *et al.* (2013), desenvolveram e avaliaram o efeito antimicrobiano de coberturas comestíveis de quitosana enriquecida com compostos bioativos (CB) e óleos essenciais (OE) em brócolis frescos minimamente processados, durante armazenamento refrigerado, e os efeitos destas coberturas sobre a sobrevivência e crescimento de *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* inoculadas nos brócolis. A partir do estudo realizado, foi detectado que o revestimento enriquecido com CB é uma boa alternativa para controlar os micro-organismos presentes nos brócolis minimamente processado. Já o revestimento com OE/CB inibiu significativamente o crescimento de bactérias mesófilas e psicrótroficas além de controlar a sobrevivência de *E. coli* e *L. monocytogenes*.

León-Zapata *et al.* (2015) avaliaram coberturas comestíveis a base de cera de candelilla e extrato fermentado de tarbush (*Flourensia cernua*) em maçãs (condições de comercialização) a fim de verificar seus efeitos sobre a vida de prateleira e qualidade do fruto. Foram monitorados por 8 semanas os seguintes aspectos: perda de peso, mudança de aparência, atividade de água e firmeza. As coberturas apresentaram efeitos positivos, pois reduziram a perda de peso, manteve a atividade de água e melhorou a firmeza durante todo o estudo. Além disso, a avaliação sensorial revelou que não houve alteração de aparência e sabor das maçãs.

Estudos realizados por Sogvar *et al.* (2016), tiveram como objetivo desenvolver uma cobertura a partir do gel de aloe vera e ácido ascórbico (0%, 1%, 3% e 5%) para manter a qualidade pós colheita e reduzir a carga microbiana de morangos. Foram avaliados a perda de

peso do fruto, a firmeza, a acidez titulável, teor de sólidos totais (SST), pH, concentração de ácido ascórbico, antocianinas, fenólicos totais, atividade antioxidante total e atividade microbiana nos dias 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 de armazenamento a 1°C com 95% de UR. Os resultados demonstraram que a combinação de aloe vera com ácido ascórbico pode prolongar a vida de prateleira de morangos, mantendo a qualidade do fruto. A formulação de aloe vera com 5% de ácido ascórbico foi a mais eficaz em retardar as mudanças no amadurecimento e reduzir a carga microbiana.

Vieira *et al.* (2016) revestiram mirtilos com coberturas comestíveis à base de quitosana contendo aloe vera (AV). Os frutos não revestidos apresentaram contaminação após 2 dias de armazenamento ($2.0 \pm 0.32 \log \text{UFC g}^{-1}$), enquanto o revestidos após 9 dias ($1.3 \pm 0.35 \log \text{UFC g}^{-1}$). Em relação à perda de peso, após 15 dias, os mirtilos não revestidos tiveram uma perda de 6,2%, enquanto os revestidos obtiveram 3,7% de perda.

Pastor *et al.* (2011), utilizaram coberturas comestíveis a base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) contendo extrato de própolis em uvas de mesa, a fim de melhorar a qualidade e a vida de prateleira durante o armazenamento (1-2°C por 22 dias). Os revestimentos de HPMC previniram a perda de peso e o escurecimento das uvas, melhorando simultaneamente a sua aparência e a segurança microbiológica. O extrato de própolis aumentou a luminosidade da cor das uvas, melhorando o seu aspecto visual, porém não foi observado efeito significativo sobre a conservação das mesmas durante o armazenamento.

Frazão *et al.* (2017), elaboraram coberturas comestíveis a base de fécula de mandioca e quitosana com adição de óleo essencial *Myrcia ovata* Cambessedes (MYRO-174 ou -175) e avaliaram seu potencial antimicrobiano contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*. Os autores verificaram que as coberturas contendo óleo essencial foram as mais eficazes contra as bactérias e utilizaram a cobertura contendo 0,5% de fécula de mandioca, 0,5% de quitosana e 1,25% de óleo essencial para revestir mangabas e acompanhar a sua qualidade microbiológica durante 12 dias por 10°C. O revestimento foi capaz de controlar o crescimento de bactérias alimentares e microrganismos naturais durante o armazenamento.

2.4 Tomate (*Solanum lycopersicon* L.)

O tomate (*Solanum lycopersicon* L.) é um dos principais componentes vegetais na dieta humana e um dos mais consumidos no mundo, tanto na forma in natura (em saladas), como na forma industrializada (em molhos, sucos, ketchup ou mesmo seco) (TONON *et al.*, 2006; ZHU

et al., 2016), porém deterioram-se rapidamente durante o armazenamento e transporte, o que constitui um problema grave para os comerciantes após a colheita (Das *et al.*, 2013; ZHU *et al.*, 2016). Alguns problemas existentes na pós-colheita são a desidratação, amolecimento excessivo e podridões que se sucedem nesta fase (KLUGE; MINAMI, 1997).

O tomate é um fruto climatérico, os quais após serem colhidos apresentam aumento na taxa respiratória devido a elevada produção de etileno que é necessário para o desencadeamento dos processos de amadurecimento, incluindo a acumulação de pigmento, degradação da parede celular, acúmulo de açúcares entre outros. Esse processo é geneticamente regulado, onde envolve a ativação de vias metabólicas primárias e secundárias as quais contribuem para a qualidade sensorial e nutricional do fruto (BOUZAYEN *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2013).

O processo de amadurecimento do fruto é acompanhado por uma série de alterações fisiológicas e bioquímicas, incluindo as mudanças de cor, sabor (açúcar e acidez), textura e aroma, os quais são cruciais para a qualidade sensorial e para a definição do momento da colheita. O estágio verde maduro (início de mudança de cor) é considerado o primeiro indicador visual para o índice de maturação (CHITARRA e CHITARRA, 2005; BOUZAYEN *et al.*, 2010).

A cor é o atributo de qualidade mais atrativo que, por sua vez, está relacionada à aparência, teor de açúcares, acidez, pH, textura, sabor e suculência (FERREIRA *et al.*, 2010). A mudança da coloração nos tomates durante o amadurecimento é devido à clorofila e aos carotenoides. Neste processo há intensa degradação da clorofila, pela enzima clorofilase com produção de carotenoides (confere a cor amarela aos frutos) e a síntese gradual do licopeno, responsável pela cor vermelha dos frutos maduros (FERREIRA *et al.*, 2004).

O amolecimento, ou perda de firmeza de polpa, resulta da solubilização das substâncias pécticas que compõem a parede celular. À medida que o fruto vai atingindo a sua maturidade, estas substâncias vão sendo solubilizadas, transformando a pectina insolúvel (protopectina) em pectina solúvel, resultando no amaciamento da polpa (CHEFTEL; CHEFTEL, 1976 apud KLUGE *et al.*, 1997; BRAVERMAN, 1980 apud KLUGE *et al.*, 1997).

Com o intuito de melhorar a conservação pós-colheita dos tomates, vários pesquisadores tem aplicado biofilmes comestíveis. Rita *et al.* (2011), avaliaram a aplicação de biofilme de fécula de batata e glicerol incorporados com óleos essenciais de sálvia e manjerona na conservação pós-colheita de tomates. Os tomates foram armazenados por 288 h em temperatura entre 18 e 23°C e aqueles revestidos com biofilmes incorporados com óleos essenciais apresentaram contagem microbiana dentro do limite aceitável de 10^6 UFC/g até 168

horas, o que não ocorreu com o tratamento sem a presença de OE's e com os tomates controle (sem biofilme e sem OE's) que ultrapassaram o limite aceitável neste período de tempo.

Ali *et al.* (2010), utilizaram coberturas de goma arábica a 5%, 10%, 15% e 20% para melhorar a qualidade pós-colheita de tomates. Após o tratamento, os frutos foram secos ao ar e armazenados em caixas a 20°C e 80-90% UR durante 20 dias. Os resultados indicaram que a cobertura a 10% retardou a perda de massa, firmeza, acidez titulável, sólidos solúveis e cor, com boa aceitação sensorial quando comparado com o fruto controle (não revestido). Zapata *et al.* (2010), utilizaram coberturas a base de alginato a 1% e estes incorporados com uma mistura de óleos essenciais (timol, mentol, eugenol, carvacrol) em tomates (*Solanum Lycopersicon* 'Boludo') durante 10 dias a 20°C. Foi possível verificar que o alginato foi eficaz em reduzir e retardar a produção de etileno e manter a taxa de respiração inalterada, levando a atrasos significativos de alterações de cor. Porém a adição dos óleos essenciais foi mais eficaz na redução do processo de maturação.

Já Cavassa *et al.* (2004), utilizaram diferentes tipos de cera a base de carnaúba (cera de carnaúba FruitWax H2 (18%) e emulsão de carnaúba e celulose 9 e 8% respectivamente) para a conservação pós-colheita de tomates, cv. Katia, no estágio salada e os tomates sem revestimentos foram utilizados de referência. O estudo foi realizado durante 7 dias a 25°C acompanhando a perda de massa fresca, a coloração e a qualidade. Após os 7 dias foram realizadas as seguintes análises: pH, concentração de sólidos solúveis e acidez total. Os pesquisadores verificaram que os frutos não revestidos apresentaram maior porcentagem de perda de massa fresca e os frutos lavados com água potável e revestidos com cera de carnaúba foram o que menos apresentaram esta perda. Foi observado também que os frutos não tratados demonstraram alterações mais rápidas entre os estágios de maturação quando comparado com os frutos tratados. Os tomates com cera de carnaúba foram os que sofreram menores alterações.

Ramos-García *et al.* (2012), avaliaram a eficácia de coberturas a base quitosana combinados com dois diferentes óleos essenciais (OE de limão e OE de tomilho), cera de abelha e ácido oleico para o controle de crescimento de *Rhizopus stolonifer* e *Escherichia coli* em tomates frescos. Os testes foram realizados *in vitro* e em escala semicomercial, em três estágios de maturação. Os frutos foram danificados artificialmente, mergulhados nas coberturas e, após a secagem, foi adicionado uniformemente, sobre a superfície do fruto 20 µL da suspensão de esporos do *R. Stolonifer* a 10⁵ esporos/mL e 35 µL de uma solução bacteriana de *E. coli* 10⁵ UFC/µL. Os tomates inoculados foram embalados e armazenados a 12 e 25°C por 4 dias para *R. Stolonifer* e 2 dias para *E. Coli*. Os autores verificaram que para as experiências *in vitro*, os melhores revestimentos foi o de 1% de quitosana + 0,1% de cera de abelha + 0,1% de óleo

essencial de limão, pois não houve crescimento de nenhum dos patógenos. O crescimento de *R. Stolonifer* também foi inibido por 1% de quitosana + 1% de ácido oleico + 0,1% de óleo essencial de limão, enquanto que para a *E. coli* tiveram efeitos inibitórios os revestimentos com 1% de quitosana + 0,1% de cera de abelha + 1% de óleo essencial de tomilho e o segundo formado por 1% de quitosana + 0,1% de cera de abelha.

Fagundes *et al.* (2014) utilizaram revestimentos a base de hidroxipropilmetilcelulose e cera de abelha contendo carbonato de amônio, fosfato de amônio, carbonato de potássio ou propionato de sódio em tomates cereja inoculados com *Botrytis cinérea*. Os autores verificaram que o revestimento com adição de carbonato de amônia foi o mais eficaz para controlar a perda de peso e manter a firmeza dos frutos durante 10 e 15 dias de armazenamento a 5°C, seguido por 5 dias a 20°C.

Fagundes *et al.* (2015), utilizaram revestimentos comestíveis à base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), cera de abelhas e conservantes alimentícios (metilparabeno de sódio, sódio etil parabeno e benzoato de sódio) em tomates cerejas inoculados com *Alternaria alternata* e armazenados por 21 dias a 5°C, seguido por 4 dias a 20°C. Todos os revestimentos testados reduziram a incidência e a gravidade do fungo em tomates cereja, sendo o revestimento com benzoato de sódio o mais eficaz. Além disso, foi o melhor também para a aparência, manutenção da firmeza e coloração da casca.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de coberturas comestíveis a base de quitosana e fécula de mandioca incorporadas com óleo essencial *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta) e extrato da casca de romã na vida útil de tomates tipo italiano.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial de alecrim-pimenta e de extratos de cascas de romã frente a bactérias patogênicas de alimentos;
- Elaborar formulações de coberturas comestíveis a base de quitosana e fécula de mandioca, incorporadas com óleo essencial de alecrim-pimenta e de extrato de cascas de romã;
- Realizar o recobrimento de tomates com as coberturas comestíveis e avaliar as características físico-químicas e microbiológicas durante o armazenamento à temperatura ambiente por 12 dias.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Para a realização deste trabalho foram utilizados óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) e extrato da casca de romã. A quitosana comercial utilizada nas coberturas foi da marca Polymar (Fortaleza - CE), a fécula de mandioca foi adquirida em supermercado e os tomates tipo italiano, adquiridos em mercado na cidade de Aracaju-SE, foram selecionados, sem danos físicos ou deterioração microbiana e com estágio de maturação padronizado pela coloração da casca ($L^* = 39,70 \pm 1,76$; $a^* = 19,74 \pm 2,91$; $b^* = 42,49 \pm 1,71$; $c^* = 46,82 \pm 0,68$; $\text{hue} = 65,09 \pm 3,82$) e pelas normas de classificação (coloração entre amarelo e laranja, fazendo parte do subgrupo II) estabelecidas pela CEAGESP (2003).

Figura 4 - Tomates não revestidos (tempo 0)



Fonte: próprio autor

4.2 Micro-organismos

Os micro-organismos utilizados foram: *Staphylococcus aureus* (INCQS 00014), *Escherichia coli* (INCQS 00032), *Bacillus cereus* (INCQS 00003), *Bacillus subtilis* (INCQS 00002), *Serratia marcescens* (INCQS 00131), *Enterococcus faecalis* (INCQS 00531) e *Pseudomonas aeruginosa* (INCQS 00025). Todos os micro-organismos foram adquiridos da Fundação Oswaldo Cruz, Manguinhos, RJ.

4.3 Obtenção do extrato das cascas de romãs

As romãs (Figura 5) foram colhidas no mês de janeiro de 2016 na cidade de Aracaju-SE. As frutas foram higienizadas em solução clorada a 200 ppm por 15 min, posteriormente suas cascas foram separadas da polpa, fragmentadas e secas em estufa a 50°C por 24 ± 2 h, como mostra a Figura 6. Após a secagem, as cascas foram trituradas e armazenadas em vidros estéreis.

Figura 5 - Romã (*Punica granatum* L)



Fonte: próprio autor

Figura 6 - Secagem das cascas de romã



Fonte: próprio autor

Os extratos de cascas de romã foram obtidos com água destilada e metanol, variando as concentrações de 40% a 80%, numa proporção de resíduo e solvente de 1:10 (peso/volume). As extrações foram realizadas através de agitação em shaker orbital (SOLAB/SL222) a 250 rpm durante 60 min a 30°C.

4.4 Obtenção do óleo essencial *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta)

O óleo essencial *Lippia sidoides* Cham. foi doado pelo Laboratório de Fitotecnia do Departamento de Engenharia Agrônômica na Universidade Federal de Sergipe. Para a extração do óleo essencial, empregou-se a metodologia de hidrodestilação, utilizando o aparelho Clevenger.

4.5 Determinação da atividade antimicrobiana do extrato de romã e do óleo essencial *Lippia sidoides* (Cham.) através da técnica de difusão em discos

A atividade antimicrobiana dos extratos e do óleo essencial foram avaliadas pela técnica de difusão em discos de acordo com a metodologia descrita pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012) frente às bactérias *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* e

Staphylococcus aureus. Inicialmente foram preparadas suspensões microbiana em caldo Muller-Hinton na concentração de $1-4 \times 10^8$ UFC/g. Os micro-organismos foram espalhados com swab em placas contendo ágar Muller-Hinton, em seguida, foram adicionados 10 µL dos extratos nos discos, presentes no ágar, e as placas invertidas e incubadas a 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, foram realizadas as medições, em milímetros, dos diâmetros das zonas de inibição (incluindo o diâmetro do disco de 6 mm).

A sensibilidade foi classificada de acordo com Ponce *et al.* (2003) como não sensível para diâmetros inferiores a 8 mm; sensíveis para diâmetros entre 9 e 14 mm; muito sensível para diâmetros entre 15 e 19 mm e extremamente sensível para diâmetros maiores que 20 mm.

4.6 Determinação da concentração inibitória mínima

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada para o óleo essencial através da técnica de diluição em microplacas (96 orifícios) de acordo com a metodologia descrita pela norma M7-A6 do Manual Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2003) para as bactérias.

4.7 Determinação da concentração bactericida mínima

Dos poços onde não houveram crescimento microbiano visível foram retirados 100µL de amostras e semeados em placas de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton espalhadas com alças de Drigalsky. As placas foram incubadas a temperatura de 35°C $\pm$ 1 por 24 horas. A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada em placas com ausência de crescimento de colônias.

4.8 Elaboração das coberturas comestíveis a base de quitosana

Foram elaboradas formulações de coberturas a base de quitosana de acordo com o procedimento descrito por Vásconez *et al* (2009), utilizando 1% de fécula de mandioca e variando-se as concentrações de quitosana (0 – 3,0 %), óleo essencial *Lippia sidoides* Cham. (0 - 1,0%) e extrato da casca de romã (0 – 2,0%) de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1 - Porcentagem dos componentes utilizados nas coberturas comestíveis

Formulação	% Fécula de mandioca	% quitosana	% óleo essencial <i>Lippia sidoides</i> Cham.	% extrato da casca de romã
Controle	0	0	0	0
1	1,0	0,5	0	0
2	1,0	0,5	0,25	0,5
3	1,0	0,5	0,5	1,0
4	1,0	0,5	1,0	2,0
5	1,0	1,0	0	0
6	1,0	1,0	0,25	0,5
7	1,0	1,0	0,5	1,0
8	1,0	1,0	1,0	2,0
9	1,0	2,0	0	0
10	1,0	2,0	0,25	0,5
11	1,0	2,0	0,5	1,0
12	1,0	2,0	1,0	2,0
13	1,0	3,0	0	0
14	1,0	3,0	0,25	0,5
15	1,0	3,0	0,5	1,0
16	1,0	3,0	1,0	2,0

4.9 Aplicação das coberturas comestíveis em tomates

Os tomates selecionados foram mergulhados separadamente em cada formulação de coberturas comestíveis, secos à temperatura ambiente e em seguida armazenados à 25°C durante 12 dias em BOD. Foram retirados 10 tomates com 1, 4, 8 e 12 dias de armazenamento para a realização das análises físico-químicas e microbiológicas. Foram utilizados como controle tomates não revestidos. Para todos os experimentos de aplicação das coberturas comestíveis foram utilizados o total de 680 tomates.

4.10 Análises físico-químicas

Os tomates revestidos e não revestidos foram analisados quanto a cor, firmeza, sólidos solúveis, perda de massa, pH e acidez de acordo com as análises descritas a seguir.

4.10.1 Análise colorimétrica

Os tomates foram avaliados quanto aos parâmetros de cor: luminosidade (L^*), onde $L^* = 0$ corresponde a preto e $L^* = 100$ a branco; coordenada a^* = transição da cor verde ($-a^*$) para o vermelho ($+a^*$); coordenada b^* = transição da cor azul ($-b^*$) para a cor amarela ($+b^*$); cromaticidade (c^*) e tonalidade (hue). A análise foi determinada por meio de colorímetro digital (Konica minolta). Os parâmetros de cor da casca dos tomates foram determinados em três frutos, em três pontos diferentes, com três repetições, para cada tratamento.

4.10.2 Firmeza

A firmeza dos tomates (com casca), revestidos e não revestidos, foi determinada utilizando-se texturômetro (Brookfield) com ponteiros de 0,2 cm e seus resultados expressos em Newton.

4.10.3 Teor de Sólidos solúveis (SS)

Foi realizado por meio da leitura direta em refratômetro digital (Kasvi), tendo os resultados expressos em °BRIX.

4.10.4 Perda de peso

A perda de peso dos tomates durante o armazenamento foi obtida pela diferença entre o peso inicial e a pesagem subsequente. Foi utilizada balança analítica para a realização das pesagens. A perda de peso foi calculada a partir da Equação 1, onde: m_0 é o peso inicial (g), m é o peso a cada intervalo de tempo (g).

$$\text{Perda de peso} = 100 [(m_0 - m) / m_0] \quad (\text{Eq. 1}).$$

4.10.5 Determinação do pH

O pH foi determinado pesando-se 10g da amostra em um béquer e adicionando-se 100 mL de água destilada. A amostra foi homogeneizada e analisada em pHmetro digital (IAL, 2008).

4.10.6 Determinação da acidez

A acidez foi determinada pesando-se de 1 a 5 g da amostra em Erlenmeyer adicionando-se 50 mL de água destilada. Em seguida foram adicionadas 2 a 4 gotas de fenolftaleína e a titulação foi realizada com hidróxido de sódio 0,1M, até o aparecimento de coloração rósea (IAL, 2008). A acidez foi calculada de acordo com a Equação 2.

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{V \times f \times 100}{P \times c} \text{ (Eq. 2), onde:}$$

V = n° de mL da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação

F = fator da solução de hidróxido de sódio

P = n° de gramas da amostra utilizada na titulação

c = correção para a solução de hidróxido de sódio: 10 para a solução de NaOH 0,1M.

4.11 Análises microbiológicas dos tomates

Os tomates inteiros foram analisados quanto à contagem de bactérias totais aeróbias mesófilas, contagem de bolores e leveduras e número mais provável de coliformes termotolerantes, as quais serão descritas a seguir.

4.11.1 Contagem de bactérias totais aeróbias mesófilas

Para a determinação de bactérias mesófilas foi utilizado o meio de cultura ágar padrão para contagem através da técnica de semeadura em profundidade (APHA, 2001). Os tomates foram pesados e colocados em bequeres estéreis junto com a solução salina 0,85% em volume a ser definido para a obtenção da diluição 10^{-1} . A partir desta diluição, foram obtidas diluições seriadas em tubos de ensaio contendo solução salina a 0,85%. Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram colocadas em placas de Petri previamente esterilizadas, e adicionado cerca de 15 a 20 mL de ágar fundido e resfriado a 44 - 46°C. Posteriormente as amostras foram homogeneizadas com movimentos circulares, esperou-se a solidificação do ágar, e as placas foram incubadas em estufas a 35-37°C por 48 horas. Os resultados das contagens das colônias foram expressos em UFC/g.

4.11.2 Contagem de bolores e leveduras

Para a contagem de bolores e leveduras foi utilizado o meio Batata Dextrose Agar (BDA). As amostras diluídas (0,1 mL) foram espalhadas com alça de drigalski na superfície do meio de cultivo solidificado em placas de Petri. Posteriormente as placas foram invertidas e incubadas por 3 a 5 dias a 30°C. Os resultados das contagens das colônias foram expressos em UFC/g (APHA, 2001).

4.11.3 Número mais provável de coliformes termotolerantes

A determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes foi realizada a partir de diluições seriadas. Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram adicionadas em tubos de ensaio, com tubos de Durhan, contendo 9 mL de caldo lauril sulfato triptose, para teste

presuntivo. Após a incubação por 48 horas a 35°C foi verificado a ocorrência ou não de tubos positivos (com turvação e produção de gás). Dos tubos positivos foi retirado uma alçada de amostra e transferido para tubos contendo 9 ml de caldo EC médium para a confirmação de coliformes termotolerantes. Estes foram incubados em banho-maria à 44,5-45,5°C por 48 horas (BRASIL, 2006). Os tubos considerados positivos são àqueles que possuíam turvação e produção de gás. O número mais provável de coliformes (NMP/g) foi determinado a partir de tabela estatística para três tubos (SILVA *et al.*, 2010).

4.12 Análise estatística

Os dados das análises físico-químicas e microbiológicas tiveram suas médias comparadas entre si pelo teste de Duncan a 5% de significância através do Programa ASSISTAT 7.7.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação *in vitro* do extrato da casca de romã (*Punica granatum*)

Os extratos de cascas de romã obtidos com água destilada e metanol em concentrações de 40-80% foram avaliados quanto ao potencial antimicrobiano por meio da técnica de difusão em discos. Os diâmetros dos halos de inibição das bactérias, obtidos para o extrato da casca de romã, estão demonstrados nas Tabelas 2 e 3. As bactérias gram-positivas, com exceção do *B. subtilis* foram as mais sensíveis aos extratos da casca de romã com halos de inibição entre 10,5 e 17,0mm, não diferindo estatisticamente entre si. A *Enterococcus faecalis* se destacou por apresentar halos de inibição entre 14,0 e 17,0 mm de diâmetro, variando de sensível a muito sensível ao extrato com 60% de metanol. O *B.cereus* e *S. aureus* foram sensíveis a todos os extratos testados, apresentando halos que variaram entre 10,5 - 12,5 mm e 11,0 - 13,0 mm, respectivamente.

Entre as Gram-negativas, a *S. marcescens* e *P. aeruginosa*, não foram sensíveis aos extratos apresentando diferenças significativas entre si ao nível de 5%. Para a *E. coli* foi sensível apenas ao extrato elaborado com 50% de metanol (halo de inibição > 9,0 mm), porém não obteve diferença a 5% de significância quanto as outras extrações. Similar ao encontrado neste trabalho, Yehia *et al.* (2011) verificaram que *Serratia marcescens* não foi sensível ao extrato aquoso de romã adicionado de vitamina C. A baixa ou inexistente sensibilidade das bactérias gram-negativas, observada no presente trabalho, ocorre devido a presença da membrana externa que envolve a parede celular, limitando a difusão de compostos antimicrobianos (BURT *et al.*, 2004).

Tendo em vista que não houve diferença estatística de inibição das bactérias que apresentaram sensibilidade aos extratos, optou-se por selecionar o extrato em metanol 60%, com o qual obteve-se o maior diâmetro de inibição de 17 mm frente a *E. faecalis*.

Tabela 2 - Diâmetros dos halos de inibição para as bactérias gram-positivas para o extrato da casca de romã.

Solventes	Concentração	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>
Água		11,5±0,70 ^a	6,0±0,00 ^a	11,0±0,00 ^a	14,0±1,40 ^a
Metanol	40%	10,5±0,70 ^a	7,0±1,41 ^a	11,5±0,70 ^a	14,0±0,00 ^a
	50%	12,5±1,41 ^a	8,0±1,41 ^a	13,0±1,41 ^a	16,0±0,00 ^a
	60%	12,5±0,70 ^a	7,0±1,41 ^a	11,0±1,41 ^a	17,0±0,00 ^a
	70%	11,5±0,70 ^a	7,0±0,00 ^a	11,5±0,70 ^a	14,0±2,82 ^a
	80%	11,0±1,41 ^a	6,5±0,70 ^a	11,0±0,00 ^a	15,0±0,00 ^a

*Letras em comum, em uma mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de significância.

**Diâmetro do disco: 6,0 mm

Tabela 3 - Diâmetros dos halos de inibição para as bactérias gram-negativas para o extrato da casca de romã.

Solventes	Concentração	<i>S. marcescens</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Água		8,0±0,00 ^a	8,0±0,00 ^a	6,0±0,00 ^c
Metanol	40%	6,0±0,00 ^c	7,5±2,12 ^a	6,5±0,70 ^{bc}
	50%	7,5±0,70 ^{ab}	9,5±0,70 ^a	8,0±0,00 ^a
	60%	6,5±0,70 ^{bc}	8,0±1,41 ^a	7,0±0,00 ^{ab}
	70%	7,5±0,70 ^{ab}	8,0±1,41 ^a	7,5±0,70 ^{ab}
	80%	6,0±0,00 ^c	8,0±0,00 ^a	7,5±0,70 ^{ab}

*Letras em comum, em uma mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de significância.

** Diâmetro do disco: 6,0 mm

5.2 Atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de alecrim primenta (*Lippia sidoides* Cham.)

Os resultados demonstraram que todas as bactérias testadas foram extremamente sensíveis ao óleo *Lippia sidoides* (alecrim-pimenta) com halos de inibição entre 30,0 e 55,0 mm, como apresentado na Tabela 4. A *P. aeruginosa* foi a mais sensível ao óleo, seguido das bactérias *S. marcescens*, *E. faecalis* e *B. subtilis* as quais não diferiram entre si ao nível de 5% de significância e das bactérias *E. coli*, *B. cereus* e *S. aureus* as quais também não diferiram entre si quanto a sensibilidade ao óleo alecrim-pimenta.

Diferente do que foi encontrado neste trabalho, Lemos *et al.* (1990) verificaram que *B. subtilis* (halos de inibição > 13 mm), *E. coli* e *S. aureus* (halos entre 7,0 e 12,0 mm) variaram de não sensível a sensível ao óleo de *Lippia sidoides*, proveniente de Fortaleza-CE e a *P. aeruginosa* não foi sensível. Feitosa *et al.* (2005) verificaram também a ausência de sensibilidade para *P. aeruginosa* e a presença de sensibilidade para *S. marcescens* (halos de 13,3 mm). No entanto, assim como observado no presente trabalho, o *B. subtilis* (halos de 21,6 mm), *E. faecalis* (halos de 27,3 mm), *S. aureus* (halos de 35,0 mm) e *E. coli* (halos de 28,3 mm) foram extremamente sensíveis ao óleo testado. Oliveira *et al.* (2006) utilizaram óleo de *Lippia sidoides*, oriundo da Paraíba, em cepas de *S. aureus* isoladas de diferentes materiais clínicos e obtiveram halos de inibição entre 15,0 e 21,0 mm, variando de muito sensível a extremamente sensível.

Os resultados da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) estão apresentadas na Tabela 4. A menor concentração inibitória mínima foi de 25 µL/mL para a *E. coli* e para as demais bactérias testadas foi de 50 µL/mL. Já o menor valor de CBM foi de 50 µL/mL para *E. faecalis* e *B. cereus*, sendo para as demais bactérias valores de 100 a > 400 µL/mL. Castro *et al.* (2011) obtiveram CIM de 13µL/mL para

S. aureus e *E. coli* utilizando o método de diluição em tubos e Oliveira *et al.* (2006) obtiveram CIM de 0,4µL/mL para *S. aureus* através de um método colorimétrico. Provavelmente estas diferenças em relação ao presente estudo devem-se às diferentes técnicas utilizadas para a análise. Resultados superiores aos obtidos nesta pesquisa foram encontrados por Morais *et al.* (2016), os quais utilizaram a mesma técnica executada neste trabalho e obtiveram valores de CIM do óleo *Lippia sidoides*, oriundo de Minas Gerais, de 500 µL/mL para *S. aureus*; 1000 µL/mL para *B. cereus*, *B. subtilis*, e *S. marcescens*; e 2000 µL/mL para *P. aeruginosa*.

As diferenças de atividade antimicrobiana em relação ao óleo *Lippia sidoides* podem ter ocorrido devido aos pesquisadores terem utilizado o óleo diluído, como também diferenças na composição química, visto que os mesmos são obtidos de plantas oriundas de diferentes localizações.

Tabela 4 - Diâmetros dos halos de inibição (mm), Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial *Lippia Sidoides* (Cham.) frente às bactérias testadas.

Bactérias	Diâmetros dos halos de inibição (mm)	CIM (µL/mL)	CBM (µL/mL)
<i>Serratia marcescens</i>	40,5±0,70 ^b	50	>400
<i>Escherichia coli</i>	34,5±2,12 ^c	25	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	55,0±0,00 ^a	50	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	30,0±2,82 ^d	50	200
<i>Enterococcus faecalis</i>	40,5±0,70 ^b	50	50
<i>Bacillus cereus</i>	30,5±0,70 ^d	50	50
<i>Bacillus subtilis</i>	42,0±0,00 ^b	50	>400

*Letras em comum não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de significância.

** Diâmetro do disco: 6,0 mm

5.3 Avaliação da vida útil de tomates revestidos com coberturas comestíveis incorporadas com extrato da casca de romã e óleo essencial *Lippia sidoides* Cham. (Alecrim-pimenta)

5.3.1 Perda de peso

Todas as amostras de tomates apresentaram perda de peso ao longo do período de armazenamento (12 dias a 25°C), porém maior porcentagem de perda foi constatada nos tomates sem cobertura com 17,32%, com diferença a 5% de significância das demais formulações (Tabela 5). Tomates revestidos com as formulações 8 (1% de quitosana, 1% de óleo essencial e 2% de extrato) e 11 (2% de quitosana, 0,5% de óleo essencial e 1% de extrato) obtiveram menor perda de peso com 9,28% e 9,36%, respectivamente. Porém não foram

observadas diferenças significativas a 5% das formulações 7, 10 e 12, as quais obtiveram perdas entre 10,41 e 10,49%.

Tabela 5 - Porcentagem de Perda de peso em tomates revestidos e não revestidos

	Armazenamento (dias)			
	1	4	8	12
<i>Perda de peso (%)</i>				
Controle	2,06±0,31 ^{aD}	6,85±1,66 ^{aC}	12,86±0,57 ^{aB}	17,32±0,97 ^{aA}
1	1,15±0,01 ^{cdD}	3,44±0,09 ^{cC}	6,64±0,87 ^{deB}	12,56±1,05 ^{bcA}
2	1,51±0,06 ^{bcC}	5,81±2,67 ^{abB}	10,72±0,32 ^{ba}	12,84±0,86 ^{bcA}
3	1,22±0,16 ^{bcC}	3,68±0,41 ^{cC}	7,89±0,47 ^{cdB}	11,51±1,85 ^{bcA}
4	1,01±0,08 ^{cdD}	4,05±0,09 ^{bcC}	7,03±0,52 ^{cdB}	13,45±2,00 ^{ba}
5	0,82±0,18 ^{efD}	3,73±0,12 ^{cC}	7,46±0,96 ^{cdB}	10,54±0,28 ^{bcA}
6	0,94±0,13 ^{deD}	4,15±0,15 ^{bcC}	7,17±0,52 ^{cdB}	11,38±1,69 ^{bcA}
7	0,72±0,05 ^{fgC}	3,57±0,94 ^{bcB}	6,49±1,76 ^{efAB}	10,41±2,81 ^{cdA}
8	0,53±0,01 ^{gD}	3,12±0,16 ^{cC}	5,85±0,06 ^{fb}	9,28±0,70 ^{da}
9	1,09±0,10 ^{cdD}	5,01±0,49 ^{abC}	7,66±0,56 ^{cdB}	11,30±0,61 ^{bcA}
10	0,88±0,11 ^{efD}	3,44±0,30 ^{cC}	7,07±0,21 ^{cdB}	10,49±0,19 ^{cdA}
11	1,07±0,11 ^{cdD}	3,50±0,03 ^{cC}	6,50±0,06 ^{efB}	9,36±0,11 ^{da}
12	0,91±0,02 ^{deD}	3,60±0,56 ^{cC}	6,45±0,97 ^{efB}	10,48±1,14 ^{cdA}
13	1,04±0,01 ^{cdD}	3,85±0,18 ^{bcC}	8,31±0,37 ^{cdB}	12,83±0,52 ^{bcA}
14	1,31±0,13 ^{bcD}	4,41±0,42 ^{bcC}	8,64±0,46 ^{cb}	11,30±0,34 ^{bcA}
15	1,48±0,28 ^{bd}	4,90±0,06 ^{bcC}	8,50±1,58 ^{cdB}	11,76±1,03 ^{bcA}
16	1,49±0,07 ^{bd}	4,73±0,70 ^{bcC}	7,47±0,55 ^{cdB}	11,38±0,23 ^{bcA}

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Duncan.

A maior perda de peso na amostra controle já era esperada, visto que as coberturas comestíveis também tem a função de reduzir esta perda e a taxa de respiração da fruta (DHALL, 2013; ASSIS;BRITTO, 2014; KERCH, 2015). Resultados semelhantes foram verificados por diversos autores como descrito na Tabela 6. No entanto, a perda de peso dos tomates revestidos apresentadas pelos mesmos foram inferiores às encontradas neste trabalho. Essa diferença na perda de peso pode estar relacionada com o ambiente em que o fruto se encontra após a colheita, como por exemplo a temperatura e a umidade do ar. A perda de peso é maior em temperaturas

mais altas e para temperaturas iguais, a perda de peso é maior em umidade do ar mais baixa (FERREIRA, 2014).

Tabela 6. Estudos que verificaram a porcentagem de perda de peso em tomates revestidos e não revestidos

Fruto	Cobertura	Condição de armazenamento	Resultados	Autores
Tomates	Solução a base de cera de celulose (9%) e carnaúba (8%); Emulsão de cera de carnaúba Fruit Wax H2 (18%).	7 dias a 25°C	Maior porcentagem de perda de peso no grupo controle (3,5%); Menor porcentagem de perda nos frutos revestidos com Emulsão de cera de carnaúba Fruit Wax H2 (2,5%).	Cavassa <i>et al.</i> , 2004
	Cera de carnaúba Fruit Wax H2 (18%); Emulsão de resinas Fruit Wax M-AC (18%); Cera de carnaúba Megh Wax ECF-124 (18%).	15 dias a 12,5°C e 25°C	Maior porcentagem de perda de peso nas amostras do grupo controle (3,41% para 12,5°C e 5,10% para 25°C); Menor porcentagem de perda de peso foi verificada nas amostras revestidas com cera de carnaúba Megh Wax ECF-124 (1,63% para 12,5°C e 2,18% para 25°C).	Chiumarelli e Ferreira (2006)
	Goma arábica a 5, 10, 15 e 20%	20 dias a 20°C	Maior porcentagem de perda de peso em 12 dias foi verificada no grupo controle (7%); Menor porcentagem de perda de peso (aproximadamente 5%) nas amostras revestidas com 10 e 15% de goma arábica.	Ali <i>et al.</i> , 2010
	A base de carnaúba e a base de óleo vegetal	28 dias a 10°C acrescentado de mais 2 dias a 20°C	Maior porcentagem de perda de peso nas amostras controle em 12 dias de armazenamento (3%).	Dávila-Aviña <i>et al.</i> 2011
	Amido e glicerol; Amido, glicerol e extrato de chá verde; Amido, glicerol, extrato de chá verde e óleo de coco.	20 dias a temperatura ambiente	Maior porcentagem de perda de peso nas amostras controle em 12 dias de armazenamento (entre 9 e 10%)	Das <i>et al.</i> , 2013

Goma laca isolada;		Amostras controle apodreceram em 6 dias e apresentaram maior porcentagem de perda de peso	Chauhan <i>et al.</i> , 2015
Aloe vera isolada;	12 dias a 28°C	(aproximadamente 3%);	
Goma laca e aloe vera.		Amostras revestidas apresentaram entre 1 e 2% de porcentagem de perda de peso.	

No entanto, Fagundes *et al.* (2014) utilizaram revestimentos a base de hidroxipropilmetilcelulose e cera de abelha contendo carbonato de amônio, fosfato de amônio, carbonato de potássio ou propionato de sódio em tomates cereja e verificaram após o armazenamento de 10 e 15 dias a 5°C, seguido por 5 dias a 20°C que a perda de peso dos tomates revestidos e não revestidos variaram entre 1,54 a 2,98% e 1,95 a 3,25%, respectivamente. O revestimento contendo carbonato de amônio reduziu significativamente a perda de peso (1,54% para os tomates armazenados por 10 dias e 1,95% para os armazenados por 15 dias), porém os que continham propionato de sódio e carbonato de potássio induziram maior perda de peso quando comparados com a amostra sem revestimento (aproximadamente 2,4%).

5.3.2 pH

Os tomates revestidos com as formulações demonstraram alterações mínimas no pH (4,68 a 5,77), comportamento observado também para as amostras do grupo controle, as quais apresentaram uma variação de 4,75 a 4,78, e não obtiveram diferença a 5% de significância durante o armazenamento. Os tomates revestidos com as formulações 1, 10 e 14 também não apresentaram diferença significativa entre o primeiro e o último dia de armazenamento (Tabela 7).

As demais formulações apresentaram um aumento no pH entre o primeiro e o último dia de armazenamento, diferindo entre si a 5% de significância. Esse aumento pode ser decorrente do consumo dos ácidos no processo respiratório, onde há a redução da acidez e consequentemente o aumento dos valores de pH (Chitarra & Chitarra, 2005).

Tabela 7 - pH em tomates revestidos e não revestidos

	Armazenamento (dias)			
	1	4	8	12
	<i>pH</i>			
Controle	4,75±0,14 ^{fgA}	4,78±0,02 ^{gA}	4,82±0,05 ^{gA}	4,78±0,06 ^{gA}
1	5,04±0,05 ^{aAB}	4,98±0,01 ^{cdAB}	4,93±0,03 ^{efB}	5,07±0,09 ^{deA}
2	4,84±0,01 ^{cdB}	4,86±0,01 ^{fb}	4,97±0,02 ^{efA}	4,92±0,05 ^{fA}
3	4,79±0,08 ^{efB}	5,08±0,05 ^{bA}	4,98±0,05 ^{deA}	5,00±0,03 ^{efA}
4	4,87±0,02 ^{bcC}	4,95±0,03 ^{cdB}	4,98±0,03 ^{deB}	5,09±0,03 ^{dA}
5	4,86±0,01 ^{cdC}	4,99±0,01 ^{cA}	5,01±0,01 ^{cdA}	4,92±0,01 ^{fb}
6	4,68±0,01 ^{hB}	4,78±0,06 ^{gAB}	4,91±0,08 ^{fA}	4,89±0,10 ^{fA}
7	4,82±0,06 ^{ceD}	5,11±0,03 ^{bB}	4,91±0,04 ^{fc}	5,26±0,03 ^{bcA}
8	4,93±0,01 ^{bcC}	4,93±0,04 ^{deC}	5,07±0,04 ^{bcB}	5,19±0,02 ^{cA}
9	4,92±0,06 ^{bcC}	5,00±0,02 ^{cB}	4,97±0,02 ^{efBC}	5,24±0,02 ^{bcA}
10	4,72±0,02 ^{ghC}	4,92±0,02 ^{efB}	5,00±0,02 ^{deA}	4,69±0,06 ^{hC}
11	4,88±0,02 ^{bcC}	5,07±0,01 ^{bB}	5,22±0,04 ^{aA}	5,23±0,02 ^{bcA}
12	4,91±0,02 ^{bcC}	4,93±0,02 ^{deC}	5,12±0,04 ^{bB}	5,24±0,03 ^{bcA}
13	5,05±0,02 ^{aB}	5,00±0,04 ^{cBC}	4,98±0,02 ^{deC}	5,23±0,05 ^{bcA}
14	4,85±0,01 ^{cdB}	5,11±0,06 ^{bA}	5,05±0,03 ^{cdA}	4,91±0,01 ^{fb}
15	4,95±0,02 ^{bC}	5,19±0,01 ^{aB}	4,93±0,01 ^{efC}	5,28±0,04 ^{bA}
16	4,85±0,04 ^{cdD}	5,19±0,04 ^{aB}	5,07±0,08 ^{bcC}	5,77±0,01 ^{aA}

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Duncan.

Os autores citados na Tabela 8 verificaram resultados similares aos apresentados nesse trabalho.

Tabela 8. Estudos que verificaram o pH em tomates revestidos e não revestidos

Fruto	Cobertura	Condição de armazenamento	Resultados	Autores
Tomates	A base de carnaúba e a base de óleo vegetal	28 dias a 10°C acrescentado de mais 2 dias a 20°C	Não verificaram diferença significativa a 5% em tomates revestidos durante o armazenamento.	Dávila-Aviña <i>et al.</i> 2011
	Amido e glicerol; Amido, glicerol e extrato de chá verde; Amido, glicerol, extrato de chá verde e óleo de coco.	20 dias a temperatura ambiente	Aumento do pH das amostras do grupo controle (de 3,96 a 4,3) e dos tomates revestidos (de 3,96 a 4,2) em 12 dias.	Das <i>et al.</i> , 2013
	Fécula de batata	16 dias a temperatura ambiente	Os valores de pH dos tomates revestidos não apresentaram diferença significativa a 5% quando comparados ao grupo controle.	Melo <i>et al.</i> , 2016

5.3.3 Acidez titulável

A acidez dos tomates não revestidos e revestidos com as formulações 6, 7, 10, 11 e 16 apresentaram redução da acidez entre o primeiro e último dia de armazenamento, diferindo entre si a 5% de significância. As demais formulações mantiveram-se constante estatisticamente até o último dia de armazenamento (Tabela 9). A redução da acidez correlaciona-se com a ligeira elevação do pH e também foi verificada em tomates revestidos com coberturas comestíveis por Das *et al.* (2012), Costa *et al.* (2012) e Melo *et al.* (2016), os quais justificaram este declínio ao período de maturação, onde ocorre a produção aumentada de etileno devido a respiração. Chitarra;Chitarra (2005) também mencionam que com a maturação o teor de ácidos orgânicos, com poucas exceções, diminui, devido ao processo respiratório ou por sua conversão em açúcares.

Tabela 9 - Acidez titulável em tomates revestidos e não revestidos

	Armazenamento (dias)			
	1	4	8	12
Acidez titulável (%)				
Control	3,98±0,13 ^{bA}	3,68±0,21 ^{bcB}	3,02±0,12 ^{bcC}	2,83±0,11 ^{abC}
1	2,06±0,12 ^{hB}	2,87±0,21 ^{fgA}	2,49±0,20 ^{efA}	1,73±0,02 ^{fB}
2	2,89±0,02 ^{efA}	2,87±0,21 ^{fgA}	2,49±0,20 ^{efB}	2,56±0,21 ^{bcAB}
3	3,09±0,01 ^{deAB}	3,34±0,09 ^{deA}	3,00±0,09 ^{bcAB}	2,89±0,32 ^{abB}
4	3,09±0,01 ^{deA}	3,19±0,15 ^{deA}	3,15±0,13 ^{abcA}	3,28±0,18 ^{aA}
5	2,64±0,10 ^{fgB}	3,15±0,29 ^{deA}	2,88±0,03 ^{cdAB}	2,82±0,12 ^{abAB}
6	3,39±0,11 ^{cdA}	3,46±0,19 ^{cdA}	2,32±0,00 ^{fgB}	1,79±0,28 ^{fC}
7	3,33±0,22 ^{cdB}	3,19±0,14 ^{deB}	3,77±0,13 ^{aA}	2,23±0,29 ^{deC}
8	2,89±0,19 ^{efB}	4,43±0,03 ^{aA}	2,93±0,27 ^{bcB}	3,20±0,29 ^{aB}
9	2,96±0,28 ^{efAB}	2,48±0,01 ^{hB}	3,15±0,39 ^{bcA}	3,08±0,18 ^{abA}
10	3,60±0,28 ^{cA}	3,78±0,12 ^{bcA}	1,98±0,39 ^{gB}	2,43±0,29 ^{cdB}
11	4,44±0,30 ^{aA}	2,67±0,18 ^{ghB}	2,81±0,41 ^{cdB}	1,99±0,01 ^{efC}
12	3,40±0,31 ^{cdB}	4,37±0,37 ^{aA}	2,89±0,20 ^{cdB}	3,06±0,17 ^{abB}
13	2,69±0,19 ^{fgC}	3,84±0,17 ^{bA}	3,40±0,39 ^{abAB}	3,01±0,28 ^{abBC}
14	2,68±0,39 ^{fgA}	1,48±0,11 ^{iB}	3,02±0,22 ^{bcA}	3,01±0,12 ^{abA}
15	2,45±0,11 ^{gB}	1,09±0,12 ^{iC}	2,75±0,11 ^{cdAB}	3,04±0,33 ^{abA}
16	3,25±0,18 ^{cdA}	1,81±0,12 ^{iC}	2,56±0,11 ^{deB}	2,77±0,40 ^{abB}

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Duncan.

5.3.4 Teor de sólidos solúveis

Os tomates não revestidos e os revestidos com as formulações 2, 6, 9, 10, 11 e 13 apresentaram aumento no teor de sólidos solúveis no decorrer do armazenamento, com diferença estatística ao nível de 5% de significância entre o primeiro e o último dia. Os tomates com revestimentos das formulações 1, 4, 7, 8, 12, 14 e 15 também apresentaram aumento do teor de sólidos solúveis, porém não diferiram a 5% de significância entre o primeiro e o último dia de armazenamento. No entanto os tomates revestidos com as formulações 3, 5 e 16 tiveram o teor de sólidos solúveis reduzido quando comparado ao primeiro dia de análise (Tabela 10).

Tabela 10 - Teor de sólidos solúveis em tomates revestidos e não revestidos

	Armazenamento (dias)			
	1	4	8	12
<i>Teor de sólidos solúveis (°Brix)</i>				
Controle	4,03±0,15 ^{bcB}	3,93±0,12 ^{cdeB}	4,00±0,00 ^{abcB}	4,53±0,12 ^{aA}
1	3,80±0,00 ^{fA}	3,53±0,12 ^{fB}	3,80±0,00 ^{bcdeA}	3,93±0,12 ^{fgA}
2	3,86±0,06 ^{efB}	4,03±0,06 ^{cdA}	4,00±0,00 ^{abcA}	4,06±0,12 ^{deA}
3	3,90±0,00 ^{deB}	4,00±0,00 ^{cdA}	4,00±0,00 ^{abcA}	3,83±0,06 ^{ghC}
4	3,83±0,06 ^{efB}	4,53±0,31 ^{aA}	4,20±0,20 ^{aAB}	4,13±0,12 ^{cdB}
5	4,13±0,12 ^{abB}	4,46±0,12 ^{abA}	3,53±0,12 ^{efD}	3,80±0,00 ^{hC}
6	3,66±0,12 ^{gC}	4,20±0,00 ^{bcA}	3,86±0,12 ^{bcdB}	3,93±0,06 ^{fgB}
7	3,86±0,06 ^{efA}	3,13±0,12 ^{gB}	3,26±0,12 ^{fB}	4,00±0,00 ^{efA}
8	3,86±0,06 ^{efB}	4,40±0,00 ^{abA}	4,26±0,23 ^{aA}	4,00±0,00 ^{efB}
9	3,13±0,12 ^{hC}	3,40±0,00 ^{fgB}	3,60±0,20 ^{deB}	4,13±0,12 ^{cdA}
10	3,80±0,00 ^{fB}	4,20±0,00 ^{bcA}	3,80±0,00 ^{bcdeB}	4,26±0,12 ^{bcA}
11	3,93±0,06 ^{cdD}	4,20±0,00 ^{bcB}	4,06±0,12 ^{abBC}	4,40±0,00 ^{abA}
12	4,20±0,00 ^{aA}	4,20±0,00 ^{bcA}	4,20±0,00 ^{aA}	4,20±0,00 ^{cdA}
13	3,20±0,00 ^{hC}	3,20±0,00 ^{gC}	3,60±0,00 ^{deB}	3,83±0,06 ^{ghA}
14	4,00±0,00 ^{cdAB}	3,90±0,00 ^{cdeB}	4,00±0,00 ^{abcAB}	4,06±0,00 ^{deA}
15	3,60±0,00 ^{gA}	3,66±0,12 ^{efA}	3,80±0,00 ^{bcdeA}	3,80±0,17 ^{hA}
16	3,80±0,00 ^{hA}	3,86±0,06 ^{deA}	3,73±0,12 ^{cdeA}	3,53±0,12 ^{iB}

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Duncan.

A amostra controle mostrou um aumento mais acentuado do teor de sólidos solúveis, durante o armazenamento, assim como nas pesquisas realizadas em tomates por Ali et al. (2010), Das et al. (2013) e Melo et al. (2016). No entanto alguns autores mencionam também esse aumento em amostras revestidas com coberturas comestíveis (Tabela 11).

Em geral, com o amadurecimento das frutas ocorre o aumento dos teores de açúcares por meio de processos biossintéticos ou pela degradação de polissacarídeos, quando há conversão de amido em açúcares solúveis. Outro fator que contribui para esse aumento ao longo do amadurecimento é a perda de massa fresca, o que faz com que os sólidos fiquem mais concentrados no suco. Porém o teor de sólidos solúveis na polpa do fruto pode diminuir após

um período prolongado de armazenamento, caso o consumo de açúcares como substrato no processo respiratório seja superior aos processos de degradação de polissacarídeos (SIQUEIRA, 2012).

Tabela 11. Estudos que verificaram o teor de sólidos solúveis em tomates revestidos e não revestidos

Fruto	Cobertura	Condição de armazenamento	Resultados	Autores
Tomates	Goma arábica a 5, 10, 15 e 20%.	20 dias a 20°C	Aumento da concentração de sólidos solúveis de 4 para 10,5% no grupo controle;	Ali <i>et al.</i> , 2010
			Aumento da concentração de sólidos solúveis de 4 para 9,5% (revestimentos com 5% de goma) e as demais concentrações aumentaram de 4 para aproximadamente 6,5%.	
	Amido e glicerol; Amido, glicerol e extrato de chá verde; Amido, glicerol, extrato de chá verde e óleo de coco.	20 dias a temperatura ambiente	A amostra controle aumentou o teor de sólidos solúveis de 4,4 para 4,9 em 12 dias;	Das <i>et al.</i> , 2013
			Tomates revestidos apenas com amido e glicerol aumentaram de 4,4 para 4,7 em 12 dias;	
			Tomates revestidos com amido, glicerol e óleo de coco aumentaram de 4,4 para 4,5 em 12 dias;	
			Tomates revestidos com amido, glicerol, extrato de chá verde e óleo de coco permaneceram com o teor de sólido solúveis em 4,4 em 12 dias de armazenamento.	
	Fécula de batata (2, 4 e 6 g/L)	16 dias a temperatura ambiente	Aumento do teor de sólidos solúveis de 3,30 para 3,60 nas amostras do grupo controle, porém não foi detectada diferença significativa a 5% quando comparado aos tomates revestidos. Redução do teor de sólidos solúveis nos tomates revestidos de 3,57 para 2,60 (2g/L), de 3,60 para 3,10 (4g/L) e de 2,93 para 2,60 (6g/L).	Melo <i>et al.</i> , 2016

5.3.5 Firmeza

Após 1 dia de armazenamento a força máxima (N) das amostras variou de 5,28 a 7,03N, onde o grupo controle diferiu a 5% de significância das formulações 3, 4, 7, 12 e 13 (Tabela 12). Ao final do armazenamento (12 dias) a força máxima (N) variou de 1,41 a 7,00N, na qual amostras revestidas com as formulações 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15 e 16 mantiveram sua firmeza pois não foi constatada diferença significativa a 5% durante todo o seu armazenamento. Já o grupo controle e o restante das amostras revestidas (formulações 1, 6, 13 e 14) apresentaram redução da firmeza, principalmente com os tomates revestidos com a formulação 14, os quais tiveram uma redução drástica entre o primeiro e o último dia de armazenamento, registrando uma perda de 77,81% da firmeza, enquanto a amostra controle obteve uma perda de 23,14%. Das amostras que mantiveram sua firmeza, destaca-se a formulação 11 a qual apresentou uma perda muito baixa 0,66%. Também foi observado que em comparação aos tomates não revestidos (controle), os tomates revestidos com a formulação 11 apresentaram melhor aparência visual no 12º dia de armazenamento (Figura 7). A manutenção da firmeza é um atributo de qualidade importante para a aceitação pelo consumidor. Durante o processo de maturação, este atributo pode exercer um efeito cooperativo sobre os outros atributos sensoriais existentes, como o aroma, cor e sabor, podendo influenciar também na vida de prateleira, resistência ao cisalhamento e ao ataque por insetos, bactérias e fungos (PAIVA *et al.*, 2009; CUQUEL *et al.*, 2012).

Figura 7 - Amostras em duplicata dos tomates não revestidos (controle) e dos tomates revestidos com a formulação 11 no 12º dia de armazenamento à temperatura de 25°C.



Fonte: próprio autor

Tabela 12 - Firmeza em tomates revestidos e não revestidos

	Armazenamento (dias)			
	1	4	8	12
	<i>Firmeza (N)</i>			
Controle	6,35±0,58 ^{abA}	6,51±0,63 ^{ab}	5,61±0,92 ^{cdAB}	4,88±1,13 ^{deB}
1	6,44±0,72 ^{abA}	5,95±0,90 ^{abAB}	5,40±0,67 ^{efB}	5,01±0,86 ^{deB}
2	6,39±0,72 ^{abA}	6,34±0,68 ^{abA}	6,36±0,59 ^{abA}	6,22±0,90 ^{abA}
3	5,87±0,83 ^{cdA}	4,92±0,39 ^{deB}	5,60±0,59 ^{cdAB}	5,71±0,61 ^{bcAB}
4	5,36±0,84 ^{fgAB}	5,82±0,64 ^{abA}	5,65±0,75 ^{cdAB}	4,30±1,06 ^{efB}
5	6,14±0,74 ^{bcA}	5,68±0,58 ^{bcA}	5,88±0,49 ^{cdA}	5,79±0,78 ^{bcA}
6	7,03±0,43 ^{aA}	6,52±0,59 ^{aAB}	6,83±0,47 ^{abA}	5,99±0,93 ^{bcB}
7	5,60±0,82 ^{deA}	5,12±0,59 ^{cdA}	5,46±0,79 ^{efA}	5,42±1,13 ^{cdA}
8	6,14±0,45 ^{bcA}	5,67±1,00 ^{bcA}	6,01±1,45 ^{bcA}	5,70±1,02 ^{bcA}
9	6,03±0,88 ^{bcA}	5,82±0,59 ^{abA}	5,26±0,57 ^{efA}	5,55±0,86 ^{bcA}
10	6,81±1,09 ^{abA}	6,48±1,01 ^{abAB}	5,51±1,09 ^{deB}	6,27±0,40 ^{abAB}
11	6,02±0,85 ^{bcA}	5,38±1,16 ^{cdA}	6,05±0,76 ^{bcA}	5,98±1,18 ^{bcA}
12	5,28±0,51 ^{gA}	5,67±0,77 ^{bcA}	6,00±0,58 ^{bcA}	5,42±0,73 ^{cdA}
13	5,53±0,58 ^{efA}	4,75±0,64 ^{eAB}	4,84±1,21 ^f	4,27±0,65 ^{fB}
14	6,31±1,06 ^{abA}	5,44±1,05 ^{cdA}	6,47±0,79 ^{abA}	1,41±0,17 ^{gB}
15	6,63±0,91 ^{abA}	6,43±0,88 ^{abA}	6,11±0,71 ^{bcA}	7,00±1,19 ^{aA}
16	6,65±1,31 ^{abA}	5,75±0,35 ^{abB}	7,08±0,49 ^{aA}	6,37±0,62 ^{abAB}

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Duncan.

A redução da firmeza foi relatada em várias pesquisas com diversos frutos, como em tomates (Tabela 13), em morangos revestidos com aloe vera e ácido ascórbico (SOGVAR *et al.*, 2016), em mangas revestidas com fécula de mandioca e extrato de cravo e canela (SERPA *et al.*, 2014), em pera Williams com revestimento de alginato e carragena, e em goiabas revestidas com quitosana, fécula de mandioca e óleo essencial *Lippis Gracilis* Schauer (AQUINO *et al.*, 2015).

As alterações que ocorreram na firmeza dos tomates podem ser consequências das modificações dos polissacarídeos da parede celular, principalmente na pectina e na hemicelulose, pois a pectina sofre solubilização, despolimerização e desmetoxilação durante o amadurecimento e a hemicelulose, assim como a celulose, passam por um processo bioquímico envolvendo a hidrólise química e enzimática (PAIVA *et al.*, 2009; SERPA *et al.*, 2014).

Tabela 13. Estudos que verificaram a firmeza em tomates revestidos e não revestidos

Fruto	Cobertura	Condição de armazenamento	Resultados	Autores
Tomates	Goma arábica a 5, 10, 15 e 20%	20 dias a 20°C	Maior redução da firmeza na amostra controle.	Ali <i>et al.</i> , 2010
	A base de carnaúba e a base de óleo vegetal	28 dias a 10°C acrescentado de mais 2 dias a 20°C	Maior redução da firmeza na amostra controle	Dávila-Aviña <i>et al.</i> , 2011
	A base de hidroxipropilmetilcelulose e cera de abelha contendo carbonato de amônio, fosfato de amônio, carbonato de potássio ou propionato de sódio	15 dias a 5 °C acrescentado de 5 dias a 20°C	Não houve diferença significativa entre a redução da firmeza dos tomates revestidos quando comparada a amostra controle, com exceção da amostra contendo carbonato de potássio.	Fagundes <i>et al.</i> , 2014
	Goma laca isolada; Aloe vera isolada; Goma laca e aloe vera.	12 dias a 28°C	Maior redução da firmeza na amostra controle	Chauhan <i>et al.</i> , 2015
	Fécula de batata (2, 4 e 6 g/L)	16 dias a temperatura ambiente	Maior redução da firmeza na amostra controle	Melo <i>et al.</i> , 2016

5.3.6 Coloração da casca

Para todas as formulações com 1 dia de armazenamento a luminosidade, a coordenada vermelho/verde, coordenada amarelo/azul, cromaticidade e tonalidade foram similares, não havendo diferença significativa a 5% de significância entre as amostras controle e amostras revestidas, caracterizando a homogeneidade das amostras (Tabela 14 a 18).

O parâmetro L* (Tabela 15) que varia de 0 para preto a 100 para branco, apresentaram redução com pequenas oscilações ao longo do armazenamento em todas as amostras, decorrente do escurecimento do fruto devido ao processo de maturação. Porém as amostras revestidas com as formulações 3, 12, 13, 14, 15 e 16 não apresentaram diferença significativa a 5% ao longo do armazenamento.

Tabela 14 - Luminosidade da casca de tomates revestidos e não revestidos (controle)

	Armazenamento (dias)			
	1	4	8	12
	Luminosidade (L)			
Controle	46,67±3,19 ^{abA}	42,93±3,13 ^{cdAB}	41,03±2,35 ^{dB}	40,13±0,98 ^{dB}
1	47,68±0,96 ^{abA}	43,19±0,67 ^{cdB}	42,63±1,24 ^{cdB}	41,50±0,99 ^{cdB}
2	48,74±3,59 ^{abA}	45,04±3,20 ^{bcAB}	44,24±3,08 ^{cdAB}	41,44±3,01 ^{cdB}
3	44,50±2,05 ^{bA}	43,53±0,49 ^{cdAB}	42,16±0,20 ^{cdB}	42,77±0,52 ^{abcAB}
4	46,08±0,23 ^{abA}	43,88±0,67 ^{bcB}	41,52±0,44 ^{cdC}	41,37±1,51 ^{cdC}
5	47,90±3,23 ^{abA}	43,71±1,32 ^{abAB}	40,91±0,37 ^{dB}	41,27±0,57 ^{cdB}
6	49,05±1,89 ^{abA}	43,77±3,81 ^{bcAB}	44,52±0,66 ^{bcB}	41,28±0,92 ^{cdB}
7	46,64±3,42 ^{abA}	42,63±0,94 ^{cdB}	42,94±0,54 ^{cdB}	42,75±1,36 ^{cdB}
8	46,64±2,32 ^{abA}	43,69±0,69 ^{bcAB}	41,11±0,95 ^{cdB}	41,20±0,85 ^{cdB}
9	48,94±4,27 ^{abA}	44,70±2,39 ^{bcAB}	45,23±3,32 ^{abAB}	42,11±0,92 ^{cdB}
10	50,52±1,95 ^{abA}	49,42±1,83 ^{abA}	43,57±2,43 ^{cdB}	44,13±3,07 ^{bcB}
11	47,09±3,11 ^{abA}	43,93±1,23 ^{bcAB}	44,19±1,14 ^{cdAB}	42,76±2,21 ^{cdB}
12	47,73±3,54 ^{abA}	42,42±1,58 ^{dB}	43,90±1,51 ^{cdAB}	42,83±2,93 ^{cdAB}
13	49,13±2,87 ^{abA}	46,46±3,99 ^{bcA}	45,37±2,18 ^{abA}	44,00±1,34 ^{bcA}
14	50,15±1,73 ^{abA}	48,38±3,06 ^{abA}	48,66±4,10 ^{abA}	48,01±4,45 ^{abA}
15	49,93±2,17 ^{abA}	52,12±7,05 ^{aA}	49,21±4,55 ^{aA}	49,06±2,86 ^{aA}
16	50,75±4,84 ^{aA}	46,64±4,67 ^{bcA}	45,72±3,74 ^{abcA}	45,64±4,20 ^{abA}

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Duncan

Os valores de intensidade de vermelho (+ a*) (Tabela 15) aumentaram com o decorrer do armazenamento para todas as amostras, com exceção das formulações 14 e 15, indicando menor velocidade de amadurecimento. As amostras do grupo controle e revestidas com as formulações 1, 2, 5, 7 e 16 não diferiram a 5% de significância no último dia de armazenamento. Entretanto, não houve diferença a 5% de significância para as amostras revestidas com as formulações 3, 9, 12, 14 e 15 no decorrer do armazenamento.

Tabela 15 - Intensidade de vermelho da casca de tomates revestidos e não revestidos (controle)
Armazenamento (dias)

	1	4	8	12
Intensidade de vermelho (a+)				
Controle	24,79±2,55 ^{aB}	31,76±1,09 ^{aA}	28,22±1,44 ^{bcAB}	30,72±1,98 ^{aA}
1	19,58±1,42 ^{aC}	26,21±1,52 ^{bB}	31,88±1,43 ^{aA}	30,02±1,02 ^{abA}
2	24,61±1,98 ^{aB}	26,19±2,54 ^{bAB}	26,18±2,23 ^{deAB}	29,43±1,39 ^{abA}
3	23,58±1,97 ^{aA}	25,52±1,47 ^{bA}	27,11±1,61 ^{bcA}	26,62±2,28 ^{deA}
4	22,67±2,50 ^{aB}	24,96±2,41 ^{bcAB}	27,77±2,07 ^{bcA}	27,71±1,35 ^{bcA}
5	23,71±0,68 ^{aB}	27,24±1,93 ^{bB}	29,62±1,79 ^{abA}	29,37±1,83 ^{abA}
6	22,53±4,18 ^{aB}	27,21±1,84 ^{bAB}	27,49±0,91 ^{bcA}	27,63±1,79 ^{bcA}
7	24,36±2,81 ^{aB}	26,60±1,58 ^{bAB}	27,12±1,39 ^{bcAB}	29,27±0,68 ^{abA}
8	24,29±1,95 ^{aB}	27,02±1,41 ^{bA}	29,79±0,81 ^{abA}	27,42±1,28 ^{bcA}
9	24,22±1,25 ^{aA}	26,18±2,22 ^{bA}	27,06±1,08 ^{bcA}	27,00±0,63 ^{cdA}
10	20,14±2,61 ^{aB}	19,55±2,36 ^{dB}	24,98±2,21 ^{deA}	25,23±0,90 ^{eA}
11	22,26±3,68 ^{aB}	26,10±2,61 ^{bAB}	25,87±0,98 ^{deAB}	27,43±1,84 ^{bcA}
12	21,86±4,27 ^{aA}	26,87±1,79 ^{bA}	26,43±2,08 ^{cdA}	26,85±0,69 ^{cdA}
13	20,88±2,64 ^{aB}	20,98±3,04 ^{dB}	25,46±0,40 ^{deA}	26,58±1,77 ^{deA}
14	25,34±1,92 ^{aAB}	21,66±2,56 ^{cdB}	28,01±2,67 ^{bcA}	22,68±0,82 ^{fB}
15	24,99±1,64 ^{aA}	17,98±1,80 ^{dB}	24,56±1,81 ^{eA}	24,98±1,14 ^{efA}
16	21,28±3,01 ^{aB}	20,16±2,11 ^{dB}	26,28±1,98 ^{deA}	30,50±1,67 ^{aA}

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Duncan.

O parâmetro b* (Tabela 16) não diferiu a 5% de significância entre todos os tratamentos até o quarto dia armazenamento, com exceção da formulação 8. Os tomates do grupo controle e os revestidos com as formulações 2, 3, 5, 7, 9, 10, 12, 13, 14, 15 e 16 mantiveram-se constantes a 5% de significância durante todo o armazenamento. As demais formulações apresentaram um decréscimo, com diferença estatística a 5%, nos valores do parâmetro supracitado.

Tabela 16 - Intensidade de amarelo da casca de tomates revestidos e não revestidos (controle)
Armazenamento (dias)

	1	4	8	12
Intensidade de amarelo (b+)				
Controle	34,07±4,64 ^{abA}	32,25±3,61 ^{abA}	29,07±2,45 ^{bcA}	28,01±1,39 ^{bcA}
1	34,39±1,14 ^{abA}	31,23±1,23 ^{abAB}	30,00±2,89 ^{bcB}	27,92±1,78 ^{bcB}
2	33,30±1,96 ^{abA}	30,86±3,08 ^{abA}	30,05±3,34 ^{bcA}	27,72±3,91 ^{cdA}
3	28,59±3,03 ^{bA}	29,67±0,57 ^{bcA}	27,77±1,27 ^{bcA}	27,54±1,04 ^{cdA}
4	30,62±0,52 ^{abA}	28,20±1,10 ^{cA}	24,64±0,59 ^{dB}	23,75±2,24 ^{dB}
5	33,87±4,41 ^{abA}	31,18±2,02 ^{abAB}	28,21±0,85 ^{bcB}	29,28±0,73 ^{bcAB}
6	35,51±3,99 ^{aA}	29,87±4,43 ^{bcAB}	31,64±2,03 ^{bcAB}	26,71±2,17 ^{cdB}
7	31,39±2,76 ^{abA}	28,76±1,82 ^{bcA}	28,05±1,19 ^{bcA}	28,77±1,36 ^{bcA}
8	33,89±2,90 ^{abA}	29,74±1,44 ^{bcB}	26,66±1,45 ^{cdBC}	25,58±2,02 ^{cdC}
9	36,29±4,78 ^{aA}	32,57±3,61 ^{abA}	32,72±3,85 ^{abA}	28,98±1,91 ^{bcA}
10	36,29±1,61 ^{aAB}	36,71±3,78 ^{aA}	30,55±2,45 ^{bcB}	30,69±3,74 ^{bcB}
11	35,14±3,45 ^{aA}	31,63±2,12 ^{abAB}	31,81±1,39 ^{bcAB}	28,81±1,77 ^{bcB}
12	33,54±4,08 ^{abA}	27,94±1,67 ^{cA}	29,90±0,86 ^{bcA}	29,18±4,81 ^{bcA}
13	35,97±4,12 ^{aA}	33,15±6,14 ^{abA}	31,15±3,12 ^{abA}	29,92±2,29 ^{bcA}
14	35,93±3,62 ^{aA}	35,10±2,35 ^{abA}	37,10±4,14 ^{aA}	33,66±5,73 ^{abA}
15	36,41±3,11 ^{aA}	36,69±3,83 ^{aA}	37,26±5,91 ^{aA}	36,77±4,17 ^{aA}
16	34,07±2,89 ^{abA}	33,39±5,75 ^{abA}	32,30±4,66 ^{abA}	30,44±3,39 ^{bcA}

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Duncan.

A cromaticidade (c) (Tabela 17) é descrita como a intensidade ou saturação de cor e manteve-se constante durante todo o armazenamento em todos os tratamentos, com exceção das amostras revestidas com a formulação 8 a qual obteve uma redução da cromaticidade.

Tabela 17 - Cromaticidade da casca de tomates revestidos e não revestidos (controle)

	Armazenamento (dias)			
	1	4	8	12
	Cromaticidade (c)			
Controle	42,17±2,52 ^{abA}	44,73±1,95 ^{abA}	40,78±1,65 ^{bcA}	41,67±2,20 ^{abA}
1	39,51±1,45 ^{abB}	40,54±1,37 ^{bcAB}	43,80±2,99 ^{abA}	41,06±1,97 ^{abAB}
2	39,78±2,13 ^{abB}	47,72±2,96 ^{aA}	40,04±2,81 ^{cdB}	40,54±3,46 ^{abB}
3	37,47±1,74 ^{bA}	39,20±0,68 ^{cA}	38,88±2,00 ^{deA}	38,36±2,19 ^{bcA}
4	38,13±1,67 ^{bA}	37,80±2,02 ^{cA}	37,09±1,89 ^{eA}	36,55±2,14 ^{dA}
5	41,37±3,27 ^{abA}	41,52±2,23 ^{bcA}	40,98±1,71 ^{bcA}	41,46±1,80 ^{abA}
6	42,35±2,46 ^{abA}	40,63±2,90 ^{bcA}	42,07±1,60 ^{bcA}	38,47±2,74 ^{bcA}
7	40,00±0,77 ^{abA}	38,93±1,36 ^{cA}	39,08±1,80 ^{deA}	41,10±1,29 ^{abA}
8	42,07±1,99 ^{abA}	40,31±1,51 ^{bcAB}	40,02±1,56 ^{cdAB}	37,50±2,10 ^{cdB}
9	44,14±5,16 ^{aA}	41,92±3,31 ^{bcA}	42,69±2,7 ^{bcA}	39,66±1,82 ^{bcA}
10	41,69±0,98 ^{abA}	41,73±3,61 ^{bcA}	39,54±1,05 ^{cdA}	39,75±2,24 ^{abA}
11	41,76±2,58 ^{abA}	41,23±1,14 ^{bcA}	40,94±0,89 ^{bcA}	39,76±1,05 ^{abA}
12	40,52±1,60 ^{abA}	38,27±2,39 ^{cA}	40,70±1,55 ^{bcA}	38,39±2,89 ^{bcA}
13	41,70±2,52 ^{abA}	39,12±4,24 ^{cA}	39,72±2,13 ^{cdA}	39,93±2,54 ^{abA}
14	43,82±4,18 ^{aA}	40,83±2,36 ^{bcA}	46,80±1,83 ^{aA}	40,26±3,51 ^{abA}
15	44,26±2,70 ^{aA}	39,92±1,68 ^{bcA}	44,67±4,26 ^{abA}	44,62±3,59 ^{aA}
16	39,70±2,63 ^{abA}	39,37±4,56 ^{cA}	42,11±3,44 ^{bcA}	42,77±3,28 ^{abA}

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Duncan.

A tonalidade (hue) (Tabela 18) apresenta uma escala que parte do 0 (vermelho puro), 90 (amarelo puro), 180 (verde puro) a 270 (azul puro) (Ramallo & Mascheroni, 2012). Com exceção dos tomates revestidos com a formulação 14, os quais apresentaram um leve aumento nos valores da tonalidade (hue) até o final do armazenamento (indicando uma tonalidade mais próxima ao amarelo), os valores para as outras amostras foram reduzidos durante o armazenamento, indicando que os tomates apresentaram ao final uma tonalidade mais próxima ao vermelho. Entretanto mesmo com a redução deste parâmetro, não houve diferença significativa a 5%, durante o armazenamento, para as amostras revestidas com as formulações 3, 12, 14 e 15.

Tabela 18 - Tonalidade da casca de tomates revestidos e não revestidos (controle)

Armazenamento (dias)				
	1	4	8	12
Tonalidade (hue)				
Controle	54,14±6,81 ^{abA}	46,07±4,00 ^{efAB}	45,86±3,18 ^{cdAB}	42,25±1,21 ^{efB}
1	60,79±0,31 ^{abA}	49,77±1,33 ^{deB}	43,21±1,45 ^{deC}	42,95±0,89 ^{deC}
2	57,89±7,25 ^{abA}	40,74±2,39 ^{fB}	48,36±3,98 ^{bcAB}	43,43±3,76 ^{deB}
3	51,47±4,93 ^{bA}	49,22±2,16 ^{deAB}	45,71±0,55 ^{cdA}	46,01±1,74 ^{bcA}
4	53,84±2,75 ^{abA}	48,07±2,81 ^{deB}	41,73±1,49 ^{eC}	40,56±2,38 ^{fC}
5	56,21±1,78 ^{abA}	48,28±1,90 ^{deB}	43,40±1,11 ^{deC}	44,77±1,06 ^{cdC}
6	55,80±5,00 ^{abA}	46,64±3,80 ^{efB}	48,82±2,04 ^{bcB}	44,05±1,13 ^{deB}
7	51,49±5,28 ^{bA}	47,87±2,03 ^{efAB}	45,27±0,70 ^{cdB}	44,48±1,24 ^{bcB}
8	53,56±2,88 ^{abA}	47,46±1,65 ^{efB}	41,76±0,85 ^{eC}	42,54±1,72 ^{bcBC}
9	56,92±3,69 ^{abA}	51,08±3,57 ^{cdAB}	50,43±3,43 ^{abAB}	46,92±1,29 ^{bcB}
10	63,40±6,31 ^{aA}	61,81±3,56 ^{bA}	50,39±4,05 ^{abB}	49,81±1,90 ^{bcB}
11	57,71±6,22 ^{abA}	49,57±4,54 ^{deAB}	51,16±2,50 ^{abAB}	46,28±3,14 ^{bcB}
12	55,75±6,58 ^{abA}	51,21±2,12 ^{cdA}	48,57±2,67 ^{bcA}	50,27±5,34 ^{bA}
13	60,06±6,20 ^{abA}	55,33±7,19 ^{bcAB}	52,41±4,59 ^{abAB}	48,14±0,94 ^{bcB}
14	55,11±1,91 ^{abA}	59,28±4,76 ^{bcA}	52,98±5,44 ^{abA}	56,28±6,16 ^{aA}
15	55,50±2,61 ^{abB}	70,00±12,43 ^{aA}	56,15±5,11 ^{aB}	55,40±3,14 ^{aB}
16	60,56±7,62 ^{abA}	57,22±6,60 ^{bcA}	50,30±4,63 ^{abAB}	43,50±1,03 ^{deB}

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Duncan.

A redução do parâmetro L e b*, e o aumento do parâmetro a* também foi verificada em diversas pesquisas, dentre elas em tomates revestidos com alginato e uma mistura de óleos essenciais (ZAPATA *et al.*, 2010), em tomates revestidos com pectina (OLIVEIRA *et al.*, 2012), em tomates revestidos com quitosana e argila (COSTA *et al.*, 2012), em tomates revestidos com goma laca isolada, aloe vera (CHAUHAN *et al.*, 2015) e em tomates revestidos com amido de arroz, óleo de coco e extrato de chá verde (DAS *et al.*, 2013). Entretanto Barreto *et al.* (2014) obtiveram um comportamento diferente quanto ao parâmetro b* em tomates com revestimentos

a base de fécula de mandioca, lecitina de soja e cera de abelha, pois foi verificado um aumento neste parâmetro até o 5º dia de armazenado e posteriormente um decréscimo.

Ali *et al.* (2010) e Dávila-Aviña *et al.* (2011) utilizaram coberturas comestíveis produzidas com goma arábica e a base de carnaúba e óleo mineral, respectivamente. Ambos verificaram a redução da luminosidade durante o armazenamento. Fagundes *et al.* (2014) utilizaram tomates cereja revestidos com hidroxipropilmetilcelulose contendo carbonato de amônio, fosfato de amônio, carbonato de potássio ou propionato de sódio e constataram a redução da luminosidade e tonalidade, o aumento da intensidade do vermelho e a manutenção da cromaticidade, assim como no presente trabalho.

5.3.7 Análises Microbiológicas

A contagem total de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras em tomates revestidos e não revestidos foram avaliados durante 12 dias de armazenamento. Os resultados estão apresentados na Tabela 19 e 20.

As contagens de bactérias totais e de bolores e leveduras nos tomates revestidos variaram entre $< 2,0$ e $1,6 \times 10^3$ UFC/g est. e entre $< 1,0 \times 10$ e $> 2,0 \times 10$ est UFC/g est., respectivamente. Os tomates não revestidos obtiveram contagens de $3,6 \times 10$ UFC/g est. para bactérias totais e de 2×10 UFC/g est. para bolores e leveduras no último dia de armazenamento.

Verificou-se que com 1 dia de armazenamento os tomates não revestido apresentaram maior contagem de bactérias totais ($9,7 \times 10^2$ UFC/g est.) quando comparado aos tomates revestidos. No último dia de armazenamento os tomates revestidos com as formulações 1 ($2,2 \times 10^2$ UFC/g est.), 6 ($2,7 \times 10^2$ UFC/g), 9 ($1,6 \times 10^3$ UFC/g est.) e 14 ($5,5 \times 10^2$ UFC/g) apresentaram maior contagem de bactérias quando comparada as amostras controle ($3,6 \times 10$ UFC/g est.), mostrando-se ineficiente para a redução ou manutenção da microbiota natural durante 12 dias. No entanto com 8 dias de armazenamento, verificou-se que todas as formulações, com exceção da formulação 9 e 13, apresentaram menor contagem de bactérias quando comparada as amostras controle, mostrando-se eficiente para a redução da microbiota natural dos tomates (Tabela 19). Todas as amostras estão dentro do padrão aceitável visto que o limite para aceitabilidade de produtos à base de fruta é de $1,0 \times 10^6$ UFC/g (BIERHALS *et al.*, 2011).

Tabela 19 - Contagem de bactérias totais aeróbias mesófilas (UFC/g)

Armazenamento à 25°C (dias)				
	1	4	8	12
<i>Bactérias totais aeróbias mesófilas (UFC/g)</i>				
Controle	$9,0 \times 10^2 \pm 6,9 \times 10$ est.	$1,4 \times 10^2 \pm 4,2$ est.	$2,6 \times 10^2 \pm 5,5 \times 10$ est.	$3,6 \times 10 \pm 0,0$ est.
1	$< 10 \pm 0,0$ est.	$10 \pm 0,0$ est.	$1,0 \times 10 \pm 0,0$ est.	$2,2 \times 10^2 \pm 0,0$ est.
2	$< 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.
3	$< 10 \pm 0,0$ est.	$4,6 \times 10^2 \pm 8 \times 10$ est.	$1,7 \times 10 \pm 5,8$ est.	$2,0 \times 10 \pm 1 \times 10$ est.
4	$1,0 \times 10 \pm 0,0$ est.	$3,0 \times 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.	$1,0 \times 10 \pm 0,0$ est.
5	$< 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.	$1,0 \times 10 \pm 0,0$ est.
6	$7,0 \pm 1,41$ est.	$1,0 \times 10 \pm 0,0$ est.	$1,1 \times 10 \pm 0,0$ est.	$3,1 \times 10^2 \pm 9,9$ est.
7	$2,0 \pm 0,0$ est.	$3,6 \times 10 \pm 2,8$ est.	$2,7 \pm 1,1$ est.	$< 2,0 \pm 0,0$ est.
8	$< 2,0 \pm 0,0$ est.	$8,0 \pm 4,0$ est.	$7,0 \pm 1,4$ est.	$5,0 \pm 1,4$ est.
9	$7,0 \pm 1,4$ est.	$2,0 \pm 0,0$ est.	$4,7 \times 10^2 \pm 4,1 \times 10$ est.	$1,6 \times 10^3 \pm 5,9 \times 10$ est.
10	$3,0 \pm 1,4$ est.	$4,0 \pm 2,8$ est.	$1,3 \times 10 \pm 1,4$ est.	$4,8 \times 10 \pm 2,8$ est.
11	$2,2 \times 10 \pm 5,6$ est.	$2,6 \times 10 \pm 2,8$ est.	$4,0 \pm 0,0$ est.	$9,3 \pm 1,1$ est.
12	$3,0 \pm 1,4$ est.	$3,0 \pm 1,4$ est.	$3,0 \pm 1,4$ est.	$1,2 \times 10 \pm 0,0$ est.
13	$7,3 \pm 2,3$ est.	$2,0 \pm 0,0$ est.	$8,3 \times 10 \pm 2,12$ est.	$2,0 \pm 0,0$ est.
14	$< 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.	$5,5 \times 10^2 \pm 4,9 \times 10$ est.
15	$1,7 \times 10 \pm 5,8$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.
16	$1,0 \times 10 \pm 0,0$ est.	$1,0 \times 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.	$< 10 \pm 0,0$ est.

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato. est. = valor estimado

Para a contagem de bolores e leveduras (Tabela 20), verificou-se que os tomates com revestimento 9 foram os que apresentaram maior contagem com $1,5 \times 10^3$ UFC/g. Já as formulações 2 ($< 1,0 \times 10$ UFC/g est.), 4 ($< 1,0 \times 10$ UFC/g est.), 5 ($< 1,0 \times 10$ UFC/g est.), 7 ($< 2,0$ UFC/g est.), 8 ($< 2,0$ UFC/g est.), 11 ($< 2,0 \times 10$ UFC/g est.), 14 ($< 1,0 \times 10$ UFC/g est.), 15 ($< 1,0 \times 10$ UFC/g est.) e 16 ($< 1,0 \times 10$ UFC/g est.) apresentaram menor contagem quando comparada a amostra controle ($3,6 \times 10$ est. UFC/g), mostrando-se eficiente para a redução da carga microbiana natural durante o armazenamento.

Tabela 20 - Contagem de bolores e leveduras (UFC/g)

Armazenamento à 25°C (dias)				
	1	4	8	12
	<i>Bolores e Leveduras (UFC/g)</i>			
Controle	< 2,0 ± 0,0 est.	6,0x10 ± 2,8x10 est.	1,0x10 ² ± 8,4x10 est.	2,0x10 ± 0,0 est.
1	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	1,5x10 ² ± 7,1x10 est.
2	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.
3	< 10 ± 0,0 est.	1,5x10 ³ ± 1x10 ² est.	4,0x10 ² ± 5,8x10 est.	2,0x10 ² ± 0,0 est.
4	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.
5	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.
6	2,0x10 ± 0,0 est.	< 2x10 ± 0,0 est.	< 2,0 ± 0,0 est.	> 2,0x10 ± 0,0 est.
7	4,0x10 ± 0,0 est.	2,0x10 ± 0,0 est.	< 2,0 ± 0,0 est.	< 2,0 ± 0,0 est.
8	< 2,0 ± 0,0 est.	3,3x10 ± 1,1x10 est.	2,0x10 ± 0,0 est.	< 2,0 ± 0,0 est.
9	< 2,0 ± 0,0 est.	< 2,0 ± 0,0 est.	2,6x10 ² ± 2,8x10 est.	1,5x10 ³ ± 2,8x10 est.
10	< 2,0 ± 0,0 est.	< 2,0 ± 0,0 est.	2,0x10 ± 0,0 est.	3,3x10 ± 2,3x10 est.
11	< 2,0 ± 0,0 est.	5,0x10 ± 1,4x10 est.	3,0x10 ± 1,4x10 est.	< 2,0x10 ± 0,0 est.
12	< 2,0 ± 0,0 est.	2,0x10 ± 0,0 est.	< 2,0 ± 0,0 est.	4,0x10 ± 0,0 est.
13	< 2,0 ± 0,0 est.	< 2,0 ± 0,0 est.	2,0x10 ± 0,0 est.	2,0x10 ± 0,0 est.
14	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.
15	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.
16	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.	< 10 ± 0,0 est.

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato. est. = valor estimado.

Essa redução também foi observada por Aquino *et al.* (2015) em goiabas revestidas com quitosana, fécula de mandioca e óleo essencial *Lippia gracilis* Schauer. Sánchez-González *et al.* (2011) mantiveram a segurança microbiológica (bactérias aeróbias mesófilas totais e contagem de leveduras) em uvas revestidas com quitosana contendo óleo essencial de bergamota por 19 dias em armazenamento a frio. Sabaghi *et al.* (2015) verificaram a redução do crescimento fungico nozes revestidas com quitosana e extrato de chá verde. Alvarez *et al.* (2013), observaram a inibição do crescimento de bactérias mesófilas e psicrotróficas além de controlar a sobrevivência de *E. coli* e *L. Monocytogenes* em brócolis revestidos com quitosana óleos essenciais e compostos bioativos.

Frazão *et al.* (2017) utilizaram coberturas comestíveis a base de fécula de mandioca e quitosana com adição de óleo essencial *Myrcia ovata* Cambessedes (MYRO-174 ou -175) em mangabas e acompanharam sua qualidade microbiológica durante 12 dias a 10°C. Os autores verificaram que os revestimentos eram eficazes contra a microflora natural e *B. cereus* quando aplicados artificialmente em mangabas.

Das *et al.* (2013) analisaram as peles de tomates não revestidos e revestidos com coberturas de amido, glicerol, extrato de chá verde e óleo de coco e verificaram que as coberturas agiram como uma barreira, reduzindo a contagem de microrganismos.

Fagundes *et al.* (2015), utilizaram revestimentos comestíveis à base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), cera de abelhas e conservantes alimentícios (metilparabeno de sódio, sódio etil parabeno e benzoato de sódio) em tomates cerejas inoculados com *Alternaria alternata* e armazenados por 21 dias a 5°C, seguido por 4 dias a 20°C. As amostras controles apresentaram 100% da doença (mancha preta) enquanto os revestimentos não impediram o aparecimento das manchas, porém reduziram a incidência e a gravidade do fungo, sendo o revestimento com benzoato de sódio o mais eficaz.

Os coliformes termotolerantes são micro-organismos considerados indicadores, sendo grupos ou espécies que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a degradação de um alimento, além de poder indicar que o processamento, a conservação ou o armazenamento ocorreram sob condições sanitárias inadequadas (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001, estabelece os seguintes limites para contagem de coliformes termotolerantes (45°C): 10^2 NMP/g para hortaliças e 5×10^2 NMP/g para frutas pertencentes à categoria frescos, “in natura”, preparados, sanificados, refrigerados ou congelados para consumo direto. Portanto para coliformes termotolerantes os resultados, presentes na Tabela 21, atendem às exigências impostas pela ANVISA (BRASIL, 2001).

Tabela 21 - Número mais provável de coliformes termotolerantes (NMP/g)

Armazenamento à 25°C (dias)		
	1	12
Controle	< 3,0	< 3,0
1	< 3,0	< 3,0
2	< 3,0	< 3,0
3	< 3,0	< 3,0
4	< 3,0	< 3,0
5	< 3,0	< 3,0
6	< 3,0	< 3,0
7	< 3,0	< 3,0
8	< 3,0	< 3,0
9	< 3,0	< 3,0
10	< 3,0	< 3,0
11	< 3,0	< 3,0
12	< 3,0	< 3,0
13	< 3,0	< 3,0
14	< 3,0	< 3,0
15	< 3,0	< 3,0
16	< 3,0	< 3,0

Controle: tomates não revestidos; 1: 0,5% quitosana; 2: 0,5% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 3: 0,5% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 4: 0,5% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 5: 1% quitosana; 6: 1% quitosana- 0,25% óleo – 0,5% extrato; 7: 1% quitosana- 0,5% óleo – 1% extrato; 8: 1% quitosana- 1% óleo – 2% extrato; 9: 2% quitosana; 10: 2% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 11: 2% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 12: 2% quitosana – 1% óleo – 2% extrato; 13: 3% quitosana; 14: 3% quitosana – 0,25% óleo – 0,5% extrato; 15: 3% quitosana – 0,5% óleo – 1% extrato; 16: 3% quitosana – 1% óleo – 2% extrato.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho avaliou-se o potencial antimicrobiano do óleo de alecrim-pimenta e de extratos de romã para serem incorporados em coberturas comestíveis de fécula de mandioca e quitosana. Diferentes formulações de coberturas foram aplicadas em tomates e estes foram avaliados quanto às características físico-químicas e microbiológicas durante 12 dias de armazenamento à 25°C. O extrato das cascas de romã em metanol 60% destacou-se por inibir a bactéria *E. faecalis* com maior halo de inibição (17,0 mm) quando comparado às demais bactérias. Já o óleo essencial de alecrim-pimenta demonstrou ser um potente agente inibidor, desde que todas as bactérias testadas foram extremamente sensíveis com halos de inibição de 30,0 a 55,0 mm, valores de CIM de 25 a 50 µL/mL e CBM de 50 a > 400 µL/mL, destacando-se a *P. aeruginosa* como a mais sensível.

Os tomates revestidos com a formulação 11 (2% quitosana, 0,5% óleo e 1% extrato) foram os que apresentaram os melhores resultados de conservação, pois demonstraram menor perda de peso, mantiveram a firmeza e boa aparência durante os 12 dias de armazenamento, quando comparados aos tomates não revestidos. Além disso, todas as amostras estavam dentro dos padrões de qualidade microbiológico pois apresentaram contagens máximas na ordem de 10³ UFC/g para bactérias totais, bolores e leveduras e <3,0 NMP/g para coliformes termotolerantes, atendendo às exigências impostas pela ANVISA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKHTAR, S.; ISMAIL, T.; FRATERNALE, D.; SESTILI, P. Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. **Food Chemistry**, v. 174, p. 417-425, 2015.
- ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. DE L. R.; WILLADINO, L.; JÚNIOR, C. M.; ULISSES, C. Antimicrobial Action of the Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 49, n. 4, p.527-535, 2006.
- ALI, A.; MAQBOOL, M.; RAMACHANDRAN, S.; ALDERSON, P. G. Gum Arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 58, p. 42-47, 2010.
- ALI, A.; NOH, N. M.; MUSTAFA, M. A. Antimicrobial activity of chitosan enriched with lemongrass oil against anthracnose of bell pepper. **Food Packaging and Shelf Life**, v.3, p. 56-61, 2015.
- ALVAREZ, M. V.; PONCE, A. G.; MOREIRA, M. R. Antimicrobial efficiency of chitosan coating enriched with bioactive compounds to improve the safety of fresh cut broccoli. **LWT – Food Science and Technology**, v. 50, p. 78-87, 2013.
- AMYRGIALAKI, E.; MAKRIS, D. P.; MAUROMOUSTAKOS, A.; KEFALAS, P. Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/etanol solvente systems and response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 216-222, 2014.
- APHA - American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington, DC, 2001. 676p.
- AQUINO, A. B.; BLANK, A. F.; SANTANA, L. C. L. A. Impact of edible chitosan-cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature. **Food Chemistry**, v.171, p. 108-116, 2015.
- ASSIS, O. B. G.; LEONI, A. M. Filmes Comestíveis de Quitosana. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 30, p. 33-38, 2003.
- ASSIS, O.B.G.; FORATO, L.A.; BRITTO, D. Revestimentos Comestíveis Protetores em Frutos Minimamente Processados. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 160, p. 99-106, 2008.

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

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

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; LIA FOOK, M. V.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Electronica de Materiais e Processos**, v.2. n.3, p. 27-34, 2007.

AZEVEDO, A. N.; BUARQUE, P. R.; CRUZ, E. M. O.; BLANK, A. F.; ALVEZ, P. B.; NUNES, M. L.; SANTANA, L. C. L. A. Response surfasse methodology for optimisation of edible chitosan coating formulations incorporating essential oil against several foodborne pathogenic bactéria. **Food Control**, v. 43, p. 1-9, 2014.

BARRETO, A. R. M.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; SANTOS, F. K. G.; OLIVEIRA, T. A. Efeito de coberturas à base de fécula de mandioca, lecitina de soja e cera de abelha na perda de massa e cor de tomates durante o amadurecimento. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química – COBEQ, 2014. Disponível em:< <http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east-1.amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobeq2014/0174-26687-176342.pdf>>. Acesso: 12 de janeiro de 2017.

BATTISTI, M. V.; CAMPANA FILHO, S. P. Obtenção e caracterização de α -quitina e quitosana de cascas de *Macrobrachium rosenbergui*. **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.8, 2008.

BENÍTEZ, S.; ACHAERANDIO, I.; PUJOLÀ, M. Aloe vera as alternative to traditional edible coatings used in fresh-cut fruits: A case of study with kiwifruit slices. **LWT- Food Science and Technology**, v.61, p.184-193, 2015.

BIERHALS, V. S.; CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Effect of cassava starch coating on quality and shelf life of fresh-cut pineapple (*Ananas Comosus* L. Merrill cv “Perola”). **Journal of Food Science**, v.76, p. 62-72, 2011.

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A.; BASTOS, G. M.; FONSECA, S. G.; LEMOS, T. L.; MATOS, F. J.; MONTENEGRO, D.; HEUKELBACH, J.; RAO, V. S.; BRITO, G. A. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against

oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, p. 349-356, 2007.

BOUHDID, S., ABRINI, J., AMENSOUR, M., ZHIRI, A., ESPUNY, M. J., MANRESA, A. Functional and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Cinnamomum verum* essential oil. **Journal Applied Microbiology**, v. 109, p. 1139–1149, 2010.

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

BRASIL, 2001. RDC nº 12, de janeiro de 2001. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso em 05 de janeiro de 2017.

CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. **Food Control**, v. 54, p. 111-119, 2015.

CASTRO, C. E.; RIBEIRO, J. M.; DINIZ, T. T.; ALMEIDA, A. C.; FERREIRA, L. C.; MARTINS, E. R.; DUARTE, E. R. Antimicrobial activity of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, nº3, p. 293-297, 2011.

CAVASSA, A. L. C.; FERREIRA, M. D.; TAVARES, M.; VIGATTO, R. Conservação pós-colheita de tomates (*lycompersicon esculentum* MILL.), cv. 'Kátia' utilizando coberturas comestíveis. XXXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, São Pedro -SP, 2004. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/237313096_CONSERVACAO_POS-COLHEITA_DE_TOMATES_LYCOPERSICON_ESCULENTUM_MILL_CV_'KATIA'_UTILIZANDO_COBERTURAS_COMESTIVEIS>. Acessado em 20 de janeiro de 2017.

CEAGESP. Programa Brasileiro para Modernização da Horticultura. Normas de Classificação do Tomate. Centro de Qualidade em Horticultura CQH/CEAGESP, 2003, São Paulo (CQH. Documentos, 26).

CHAUHAN, O. P.; NANJAPPA, C.; ASHOK, N.; RAVI, N.; ROOPA, N.; RAJO, P. S. Shellac and *Alloe vera* gel based surface coating for shelf life extension of tomatoes. **Journal Food Science and Technology**, v. 52, nº2, p. 1200-1205, 2015.

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

CHIUMARELLI, M.; FERREIRA, M. D. Qualidade pós-colheita de tomates 'Debora' com utilização de diferentes coberturas comestíveis e temperaturas de armazenamento. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n° 3, p. 381-385, 2006.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactérias de crescimento aeróbico: norma aprovada - 6ª ed., M7-A6, v. 23, n. 17, 2003.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition. CLSI document M02-A11. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

CORTEZ-VEGA, W. R.; PIZATO, S.; SOUZA, J. T. A.; PRENTICE, C. Using edible coatings from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) protein isolate and organo-clay nanocomposite for improve the conservation properties of fresh-cut 'Formosa' papaya. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 22, p. 197-202, 2014.

COSTA, S. M.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; ASSUNÇÃO, J. C. C.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos de *Lippa sidoides* (Cham.) Verbenacea. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 1, p. 66-67, 2002.

COSTA, J. P. R.; ALMEIDA, A. C.; MARTINS, E. R.; RODRIGUES, M. N.; SANTOS, C. A.; MENEZES, I. R. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim-pimenta e do extrato bruto seco do barbatimão diante de bactérias isoladas do leite. **Revista Biotemas**, v. 24, n. 4, p. 1-6, 2011.

COSTA, T. L. E.; OLIVEIRA, T. A.; SANTOS, F. K. G.; AROUCHA, E. M. M. A.; LEITE, R. H. L. Avaliação de coberturas comestíveis compostas por quitosana e argila no revestimento em tomates sob refrigeração pelo método dipping. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 5, p. 12-19, 2012.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural Products (Secondary Metabolites). In: BUCHANAN, B; Gruissem, W; Jones R (Eds.). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville: Courier Companies, Inc., 2000. p. 1250-318.

CRUZ, M. M.; LINS, S. R. O.; OLIVEIRA, S. M. A.; BARBOSA, M. A. G. 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, 2012.

CUQUEL, F. L.; OLIVEIRA, C. F. S.; LAVORANTI, O. J. Sensory profile of eleven peach cultivars. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n.1, p.70-75, 2012.

DAS, D. K.; DUTTA, H.; MAHANTA, C. L. Development of a rice starch-based coating with antioxidant and microbe-barrier properties and study of its effect on tomatoes stored at room temperature. **LWT – Food Science and Technology**, v. 50, p. 272-278, 2013.

DAHAM, S. S.; ALI, M. N.; TABASSUM, H.; KHAN, M. Studies on Antibacterial and Antifungal Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.). **American-Eurasian Journal Agricultural & Environmental Sciences**, v. 9, n.3, p.273-281, 2010.

DÁVILA-AVIÑA, J. E. J.; VILLA-RODRIGUEZ, J.; CRUZ-VALENZUELA, R.; RODRIGUEZ-ARMENTA, M.; ESPINO-DÍAZ, M.; AYALA-ZAVALA, J. F.; OLIVAS-OROZCO, G. I.; HEREDIA, B.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. Effect of edible coatings, storage time and maturity stage on overall quality of tomato fruits. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 6 n. 1, p. 162-171, 2011.

DHALL, R. K. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, p. 435-450, 2013.

DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1173-1182, 2009.

ESTACA, J. GÓMEZ; LACEY, A. LÓPEZ; CABALLERO, M.E. LÓPEZ; GUILLÉN, M.C. GÓMEZ; MONTERO, P. Biodegradable gelatin chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, v. 27, p. 889-896, 2010.

FAGUNDES, C.; PALOU, L.; MONTEIRO, A. R.; PÉREZ-GAGO, M. B. Effect of antifungal hydroxy methylcellulose-beeswax edible coatings on gray mold development and quality attributes of cold-stored cherry tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 92, p. 1-8, 2014.

FAGUNDES, C.; PALOU, L.; MONTEIRO, A. R.; PÉREZ-GAGO, M. B. Hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible coatings formulated with antifungal food additives to reduce alternaria black spot and maintain postharvest quality of cold-stored cherry tomatoes. **Scientia Horticulturae**, v. 193, p. 249-257, 2015.

FEITOSA, J. G. R.; ALVES, P. B.; CARDOSO, G. C.; RIBEIRO, A. O.; SANTOS, R. B.; BLANK, A. F. Avaliação antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia sidoides* realizada pelo método de difusão em placa. **28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2005.

FENG, W.; ZHENG, X. Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo. **Food Control**, v. 18, p. 1126-1130, 2007.

FERREIRA, S. M. R.; FREITAS, R. J. S.; LAZZARI, E. N. Padrão de identidade e qualidade do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) de mesa. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 329-335, 2004.

FERREIRA, S. M. R.; QUADROS, D. A.; KARKLE, E. N. L.; LIMA, J. J.; TULLIO, L. T.; FREITAS, R. J. S. Qualidade pós-colheita do tomate de mesa convencional e orgânico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 858-864, 2010.

FERREIRA, S. M. R. **Características de qualidade do tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivado nos sistemas convencional e orgânico comercializado na região metropolitana de Curitiba**. Curitiba: Universidade Estadual do Paraná. 249p. (Tese Doutorado em Tecnologia de Alimentos), 2014.

FONTENELLE, R. O. S.; MORAIS, S. M.; BRITO, E. H. S.; KERNTOPF, M. R.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; TOMÉ, A. R.; QUEIROZ, M. G. R., NASCIMENTO, N. R. F.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Chemical compositions, toxicological activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 5, p. 934-940, 2007.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FRAZÃO, G. G. S.; BLANK, A. F.; SANTANA, L. C. L. de A. Optimisation of edible chitosan coatings formulations incorporating *Myrcia ovata* Cambessedes essential oil with antimicrobial

potential against foodborne bacteria and natural microflora of mangaba fruits. **LWT – Food Science and Technology**, v. 79, p. 1-10, 2017.

GENDE, L. B., MAGGI, M., VAN BAREN, C., DI LEO LIRA, A., BANDONI, A., FRITZ, R., EGUARAS, M. Antimicrobial and miticide activities of *Eucalyptus globulus* essential oils obtained from different Argentine regions. **Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 3, p. 642-650, 2010.

GOMIDE, M. S.; LEMOS, F. O.; LOPES, M. T. P.; ALVES, T. M. A.; VICCINI, L. F.; COELHO, C. M. The effect of the essential oils from five different *Lippia* species on the viability of tumor cell lines. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, p. 895-902, 2013.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Food packaging and preservation**, p. 159-181, 1994.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, R. M.; ZACARONI, A. B.; SANTOS, G. R. Óleo essencial de *Lippia sidoides* nativas de Minas Gerais: Composição, estruturas secretoras e atividade antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 267-275, 2014.

GUERREIRO, A. C.; GAGO, C. M. L.; FALEIRO, M. L.; MIGUEL, M. G. C.; ANTUNES, M. D. C. Raspberry fresh fruit quality as affected by pectin- and alginate-based edible coatings enriched with essential oils. **Scientia Horticulturae**, v. 194, p.138-146, 2015a.

GUERREIRO, A. C.; GAGO, C. M. L.; FALEIRO, M. L.; MIGUEL, M. G. C.; ANTUNES, M. D. C. The use of polysaccharide-based edible coatings enriched with essential oils to improve shelf-life of strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 110, p.51-60, 2015b.

GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, v. 46, p. 412-429, 2014.

HAFDANI, F. NEJATI; SADEGHINIA, N. A Review on Application of Chitosan as a Natural Antimicrobial. World Academy of Science, **Engineering and Technology**, v. 74, p. 257-261, 2011.

HAYEK, S. A.; GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Antimicrobial Natural Products. **Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education**, v. 2, p. 910-921, 2013.

HUSSAIN, A. L., ANWAR, F., SHAHID, M., ASHRAF, M., PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, p.78-84, 2010.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos/coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea – São Paulo, 2008.

ISMAIL, T.; SESTILI, P.; AKHTAR, S. Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 397-405, 2012.

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

KENAWY, E.R.; WORLEY, S.D.; BROUGHTON, R. The chemistry and applications of antimicrobial polymers: a state-of-the-art review. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 1359–1384, 2007.

KERCH, G. Chitosan films and coatings prevent losses of fresh fruit nutritional quality: A review. **Trends in Food Science & Technology**, p. 1-8, 2015.

KLUGE, R. A.; MINAMI, K. Efeito de esters de sacarose no armazenamento de tomates “Santa Clara”. **Scientia Agricola**, v. 54, p. 1-2, 1997.

KONG, M.; CHEN, X.G.; LIU, C.S.; YU, L.J.; JI, Q.X.; XUE, Y.P.; CHA, D.S.; PARK, H.J. Preparation and antibacterial activity of chitosan microspheres in a solid dispersing system. **Frontiers of Materials Science in China**, v. 2, p. 214–220, 2008.

KONG, M.; CHEN, X. G.; XING, K.; PARK, H. J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 1, pp. 51-63, 2010.

LAMBERT, R. J. W., SKANDAMIS, P. N., COOTE, P. J., NYCHAS, G. J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiological**, v. 91, p. 453–462, 2001.

LEMOES, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A. Antimicrobial activity of essential oil of brazilian plants. **Phytoterapy Research**, v. 4 n. 2, p.82-84, 1990.

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

LIMCHOOWONG, N.; SRICHAROEN, P.; TECHAWONGSTIEN, S.; CHANTHAI, S. An iodine supplementation of tomato fruits coated with an edible film of the iodide-doped chitosan. **Food Chemistry**, v. 200, p. 223-229, 2016.

LEÓN-ZAPATA, M. A.; SÁENZ-GALINDO, A.; ROJAS-MOLINA, R.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; JASSO-CANTÚ, D.; AGUILAR, C. N. Edible candelilla wax coating with fermented extract of tarbush improves the shelf life and quality of apples. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 3, p. 70-75, 2015.

MAIA, L.H.; PORTE, A.; SOUZA, V.F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 18, n. 1, p. 105-128, 2000.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MARTIÑON, M. E.; MOREIRA, R. G.; CASTELL-PEREZ, M. E.; GOMES, C. Developmente of a multilayered antimicrobial edible coating for shelf-life extension of fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L.) stored at 4°C. **LWT – Food Science and Technology**, v. 56, p. 341-350, 2014.

MASSÓN, M.; HOLAPPA, J.; HJALMARSDÓTTIR, M.; RUNARSSON, O. V.; NEVALAINEN, T.; JARVINEN, T. Antimicrobial activity of piperazine derivatives of chitosan. **Cabohydrate Polymers**, v. 74, p. 566-571, 2008.

MELO, C. L.; SPOHR, G. M.; QUADROS, C. S.; FIDALSKI, G.; JUNIOR, F. R. S. M.; MELLO, J. M. M.; DALCANTON, F. Aplicação de recobrimento de fécula de batata para a conservação de tomates. **Revista Tecnológica**, v. 25, n. 1, p. 103-117, 2016.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 4050-4063, 2009.

MORAIS, S. R.; OLIVEIRA, T. L. S.; OLIVEIRA, L. P.; TRESVENZOL, L. M. F.; CONCEIÇÃO, E. C.; REZENDE, M. H.; FIUZA, T. S.; COSTA, E. A.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. Essential Oil Composition, Antimicrobial and Pharmacological Activities of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) From São Gonçalo do Abaeté, Minas Gerais, Brazil. **Pharmacognosy Magazine**, v. 12 n. 48, p. 262-270, 2016.

NICOSIA, M. G. L. D.; PANGALLO, S.; RAPHAEL, G.; ROMEO, F. V.; STRANO, M. C.; RAPISARDA, P.; DROBY, S.; SCHENA, L. Control of postharvest fungal rots on Citrus fruit and sweet cherries using a pomegranate peel extract. **Postharvest Biology and Technology**, v. 114, p. 54-61, 2016.

OLIVEIRA JUNIOR, E. N. Caracterização dos efeitos de quitosanas na inibição de fungos fitopatogênicos. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2006.

OLIVEIRA, F. P.; LIMA, E. O.; JUNIOR, J. P. S.; SOUZA, E. L. SANTOS, B. H. C.; BARRETO, H. M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 510-516, 2006.

OLIVEIRA, E. N.; MARTINS, J. N.; SANTOS, D. C.; GOMES, J. P.; ALMEIDA, F. A. C. S. Armazenamento de tomates revestidos com pectina: avaliação colorimétrica. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 4, p. 19-25, 2012.

PAIVA, E. P.; LIMA, M. S.; PAIXÃO, J. A. Pectina: Propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. **Revista Iberoamericana de Polímero**, v. 10, n. 4, 2009.

PASTOR, C.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; MARCILLA, A.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ. Quality and safety of table grapes coated with

hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing própolis extract. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, p. 64-70, 2011.

PERDONES, A.; ESCRICHE, I.; CHIRALT, A.; VARGAS, M. Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on volatile profile of strawberries during storage. **Food Chemistry**, v. 197, p. 979-986, 2016.

PONCE, A. G.; FRITZ, R.; DEL VALLE, C.; ROURA, S. I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **LWT –Food Science and Technology**, v. 36, n. 7, p. 679-684, 2003.

RABEA, E. I.; BADAWY, M. E.; STEVENS, C. V.; SMAGGHE, G.; STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 6, p. 1457-1465, 2003.

RAMOS-GARCÍA, M.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; HERNÁNDEZ-ROMANO, J.; ZAVALA-PADILLA, G.; TERRÉS-ROJAS, E.; ALIA-TEJACAL, I.; BARRERA-NECHA, L.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; BAUTISTA-BAÑOS, S. Use of chitosan-based edible coatings in combination with other natural compounds, to control *Rhizopus stolonifer* and *Escherichia coli* DH5 α in fresh tomatoes. **Crop Protection**, v. 38, p. 1-6, 2012.

RITA, F., SALLES, L.B., BARBOZA, R.A., OLIVEIRA, M.C., PRESTES, R.A. & ALMEIDA, D.M. Atividade antimicrobiana de biofilme com óleos essenciais para conservação pós-colheita de tomate cv. Rasteiro. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, p. 466-474, 2011.

SABAGHI, M.; MAGHSOUDLOU, Y.; KHOMEIRI, M.; ZIAIIFAR, A. M. Active edible coating from chitosan incorporating green tea extract as an antioxidante and antifungal on fresh walnut kernel. **Postharvest Biology and Technology**, v. 110, p. 224-228, 2015.

SALGADO, P. R.; ORTIZ, C. M.; MUSSO, Y. S.; GIORGIO, L. D.; MAURI, A. N. Edible films and coatings containing bioactives. **Current Opinion in Food Science**, v. 5, p. 86-92, 2015.

SANCHÍS, E.; GONZÁLEZ, S.; GHIDELLI, C.; SHETH, C. C.; MATEOS, M.; PALOU, L.; PÉREZ-GAGO, M. B. 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, p. 186-193, 2016.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; PASTOR, C.; VARGAS, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHÁFER, M. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, p. 57–63, 2011.

SANTOS, N. S. T.; AGUIAR, A. J. A. A.; OLIVEIRA, C. E. V.; SALES, C. V.; SILVA, S. M.; SILVA, R. E.; STAMFORD, T. C. M; SOUZA, E. L. Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifera* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitislavirusca* L.). **Food Microbiology**, v. 32, p. 345-353, 2012.

SERPA, M. F. P.; CASTRICINI, A.; MITSOBUIZI, G. P.; MARTINS, R. N.; BATISTA, M. F.; ALMEIDA, T. H. Conservação de mangas com uso de fécula de mandioca preparada com extrato de cravo e canela. **Revista Ceres**, v. 61, n. 6, 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A.; SANTOS, S. F. R. H. M.; GOMES, R. A. R. Manual de métodos de análise Microbiológica de Alimentos e Água. 4ªed – São Paulo: Livraria Varela, 2010.

SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **Trac Trends in Analytical Chemistry**, v.76, p.40-51, 2016.

SIQUEIRA, A. P. DE O. Uso de coberturas comestíveis na conservação pós-colheita de goiaba e maracujá-azedo. Dissertação - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes – RJ, 2012.

SOGVAR, O. B.; SABA, M. K.; EMAMIFAR, A. Aloe vera and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.114, p.29-35, 2016.

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.

TEHRANIFAR, A.; SELAHVARZI, Y.; KHARRAZI, M.; BAKHSH, V. J. High potential of agro-industrial by-products of pomegranate (*Punica granatum* L.) as the powerful antifungal and antioxidant substances. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 3, p. 1523-1527, 2011.

TONON, R. V., BARONI, A. F., HUBINGER, M. D. Estudo da desidratação osmótica de tomate em soluções ternárias pela metodologia de superfície de resposta. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26 n. 3, p. 715-723, 2006.

VALENZUELA, C.; TAPIA, C.; LÓPEZ, L.; BUNGER, A.; ESCALONA, V.; ABUGOCH, L. Effect of edible quinoa protei-chitosan based films on refrigerated strawberry (*Fragaria x ananassa*) quality. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, p. 406-411, 2015.

VARGAS, M.; PASTOR, C.; CHIRALT, A.; MCCLEMENTS, D.J.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Recent Advances in Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 6, p. 496-511, 2008.

VIEIRA, J. M.; FLORES-LÓPEZ, M. L.; RODRÍGUEZ, D. J.; SOUSA, M. C. VICENTE, A. A.; MARTINS, J. T. Effect of chitosan-*Aloe vera* coating on postharvest quality of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 116, p. 88-97, 2016

VIUDA-MARTOS, M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 635-654, 2010.

VOLPE, M. G.; SIANO, F.; PAOLUCCI, M.; SACCO, A.; SORRENTINO, A.; MALINCONICO, M.; VARRICCHIO, E. Active edible coating effectiveness in shelf-life enhancement of trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. **LWT-Food Science and Technology**, v. 60, p. 615-622, 2015.

VU, K. D.; HOLLINGSWORTH, R. G.; LEROUX, E.; SALMIEI, S.; LACROIX, M. Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries. **Food Research International**, v. 44, p. 198-203, 2011.

YEHIA, H. M.; ELKHADRAGY, M. F.; MONEIM, A. E. A. Antimicrobial activity of pomegranate rind peel extracts. **African Journal os Microbiology Research**, v. 4, n. 22, p. 3664-3668, 2011.

ZAPATA, P. J.; CASTILLO, S.; VALERO, D.; GUILLÉN, F. The use of alginate as edible coating alone or in combination with essential oils maintained postharvest quality of tomato. **Acta Horticulturae (ISHS)**, v. 877, p. 1529-1534, 2010.

ZHU, Z.; CHEN, Y.; ZHANG, X.; LI, M. Effect of foliar treatment of sodium selenite on postharvest decay and quality of tomato fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 198, p. 304-310, 2016.