



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
CAMPUS LIMOEIRO DO NORTE
MESTRADO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MARIA IZAMARA DE JESUS NORTE

REVESTIMENTO COMESTÍVEL ANTIFÚNGICO APLICADO EM PIMENTÃO
‘DAHRA’

LIMOEIRO DO NORTE

2015

MARIA IZAMARA DE JESUS NORTE

REVESTIMENTO COMESTÍVEL ANTIFÚNGICO APLICADO EM PIMENTÃO
'DAHRA'

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, *Campus* Limoeiro do Norte, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dra. Sc. Renata Chastinet Braga

Coorientador: Prof. Dr. Sc. Cleilson do Nascimento Uchôa

LIMOEIRO DO NORTE - CE

2015

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA IFCE
CAMPUS LIMOEIRO DO NORTE**

DIS
N863r

Norte, Maria Izamara de Jesus.

Revestimento comestível antifúngico aplicado em pimentão 'Dahra' / Maria Izamara de Jesus Norte. – Limoeiro do Norte, 2015.
66 fls.

Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, *Campus* Limoeiro do Norte, 2015.

"Orientação: Prof.^a D. Sc. Renata Chastinet Braga".
Referências.

1. Revestimento Comestível Antifúngico. 2. Pimentão 'Dahra'. 3. Goma Xantana. 4. Cravo-da-Índia - Óleo Essencial. 5. Atividade Antifúngica - Análise. I. Braga, Renata Chastinet. II. Título.

CDD 632.952

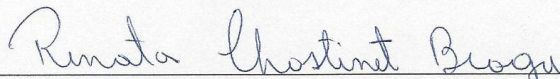
MARIA IZAMARA DE JESUS NORTE

REVESTIMENTO COMESTÍVEL ANTIFÚNGICO APLICADO EM PIMENTÃO
'DAHRA'

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso
de Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal
do Ceará Campus Limoeiro do Norte como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Tecnologia de Alimentos.

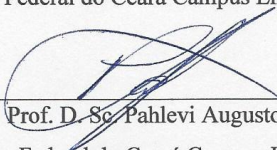
Aprovada em: 27/07/2015

BANCA EXAMINADORA



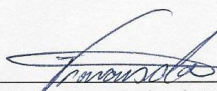
Prof.^a D. Sc. Renata Chastinet Braga (Orientadora)

Instituto Federal do Ceará Campus Limoeiro do Norte



Prof. D. Sc. Pahlevi Augusto de Souza

Instituto Federal do Ceará Campus Limoeiro do Norte



Prof. D. Sc. Franciscleudo Bezerra da Costa

Universidade Federal de Campina Grande/CCTA

Dedico esta vitória aos meus pais, Ivo e Rita,
que sempre me incentivaram a estudar e a
buscar os meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me permitido chegar até aqui e ter me protegido ao longo do caminho.

Aos meus pais, pela educação dada, assim como pelo incentivo e apoio ao longo da vida.

Ao meu marido, por ter me apoiado e ajudado em mais esta etapa de minha vida.

Aos professores Renata Chastinet Braga, Pahlevi Augusto de Souza e Cleilson Uchôa, pela paciência acima de tudo, assim como por todos os ensinamentos repassados nos momentos de dúvida.

À Darliane Veras POR TODA A AJUDA dispensada a mim ao longo do meu projeto. Mais que uma bolsista uma amiga que muito tenho a agradecer.

À Patrícia Sousa e à Adriana Mendes, por toda a colaboração dada para a realização desta pesquisa, a qual nunca serei capaz de agradecer o suficiente.

À Kelly, Regimara, Ivaneide, Elisabeth, Monique Ellen e Hirllen, pela ajuda dispensada nos laboratórios e fora deles.

Aos técnicos dos laboratórios, pela dedicação dispensada a esta pesquisa.

A todas as outras pessoas que, direta ou indiretamente, me auxiliaram neste caminho.

À FUNCAP, pelo aporte financeiro para a realização deste trabalho.

“O senhor renova as minhas forças e me guia
por caminhos certos, como ele mesmo
prometeu”.

Salmo 23:3

RESUMO

O pimentão é um vegetal muito perecível e susceptível ao ataque de microrganismos. Logo, objetivou-se desenvolver e testar um revestimento comestível antifúngico, à base de goma xantana e óleo essencial de cravo-da-índia, e aplicá-lo em pimentões com o intuito de avaliar a influência do mesmo sobre as características de qualidade dos pimentões utilizados. Para tanto avaliou-se a atividade antifúngica de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia e a concentração inibitória mínima foi adicionada as formulações do revestimento comestível, sendo as mesmas aplicadas em amostras de pimentão “Dahra”. Para a análise da atividade antifúngica do óleo essencial de cravo-da-índia utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por dose analisada, sendo as mesmas: zero (controle), 250, 500, 750, 1000, 1250 e 1500ppm. Para o preparo das formulações do revestimento comestível utilizou-se água destilada, sendo as formulações analisadas as seguintes: controle (sem revestimento), frutos imersos em água destilada, goma xantana 0,25%, goma xantana 0,5%, goma xantana 0,25% + óleo essencial (750ppm), goma xantana 0,5% + óleo essencial (750ppm) e um revestimento composto por apenas água e óleo essencial de cravo-da-índia (750ppm). Para a avaliação das formulações quanto as características físico-químicas dos pimentões utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 7 (recobrimentos) x 5 (tempos de armazenamento) sendo realizadas as análises físico-químicas a cada três dias de armazenamento em triplicata. Foram realizadas as seguintes análises: perda de massa, aparência externa, cor, pH, acidez titulável e sólidos solúveis. Para avaliar a qualidade microbiológica das amostras de pimentão foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 7 (recobrimentos) x 3 (tempos de armazenamento), sendo realizadas as análises a cada seis dias de armazenamento, em duplicata. Foram realizadas as análises microbiológicas de coliformes totais, termotolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., bolores e leveduras. Chegou-se à conclusão, através das análises realizadas, que o óleo essencial de cravo-da-índia apresenta ação antifúngica contra os fungos, *Colletotrichum* sp. e *Aspergillus* sp. sendo a concentração inibitória mínima, quanto aos dois gêneros fúngicos analisados, 750ppm. Constatou-se que as formulações testadas do revestimento comestível desenvolvido não alteraram as características físico-químicas do pimentão ‘Dahra’. Em termos microbiológicos, existe um indício de que o revestimento apenas com óleo essencial reduziu a presença de *Salmonella* sp.

Palavras- chave: Pós-colheita. Polissacarídeo. Recobrimento.

ABSTRACT

Peppers are highly perishable vegetables and they are susceptible to the attack of microorganisms. Therefore, our aim was to develop and test an antifungal edible coating based on xanthan gum and clove essential oil in order to apply it in peppers to evaluate its influence on the quality characteristics of the peppers used. We evaluated the antifungal activity of different concentrations of clove essential oil and the minimum inhibitory concentration was added to the edible coating formulations; the same concentration was applied in samples of Dahra peppers. In the interest of analyzing the antifungal activity of the clove essential oil, we used the completely randomized design with three replications by each analyzed dose: zero (control), 250, 500, 750, 1000, 1250 and 1500 ppm. As far as the preparation of the edible coating was concerned, we used distilled water and the following formulations: control (no coating); fruit immersed in distilled water; 0,25% of xanthan gum; 0,5% of xanthan gum; 0,25% of xanthan gum + essential oil (750ppm); 0,5% of xanthan gum + essential oil (750ppm); and a coating only with water and essential oil (750ppm). We used the completely randomized design with a 7 (coatings) x 5 (storage time) factorial design in order to carry out the physicochemical analyses every three days of storage in triplicate. The following analyses were performed: mass loss, external appearance, color, pH, titratable acidity and soluble solids. We used the completely randomized design with a 7 (coatings) x 3 (storage time) factorial design in order to evaluate the microbiological quality of the peppers every six days of storage in duplicate. We carried out microbiological analyses of total coliforms, thermotolerant microorganisms, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., yeasts and molds. We concluded that the clove essential oil has antifungal activity against the fungi *Colletotrichum* sp. and *Aspergillus* sp.: the minimum inhibitory concentration for them was 750 ppm. It was found that the formulations tested with the edible coating developed did not change the physicochemical for Dahra peppers. In microbiological terms, there is an indication that the coating only with essential oil reduced the presence of *Salmonella* sp.

Keywords: Postharvest. Polysaccharide. Coating.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Pimentão com diversas lesões típicas de antracnose.....	20
Figura 2 –	Fruto com lesão mole recoberta com frutificações do patógeno.....	20
Figura 3 –	Frutos com cancrios pronunciados causados por <i>Xanthomonas</i> spp.....	21
Figura 4 –	Fluxograma utilizado para a avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de cravo-da-índia frente a fungos do gênero <i>Aspergillus</i> sp. e <i>Colletotrichum</i> sp.....	27
Figura 5 –	Figura A, demonstrando o micélio do fungo <i>Colletotrichum</i> sp.; e figura B, o micélio do fungo <i>Aspergillus</i> sp., ambos isolados por isolamento indireto a partir de amostras de pimentões da cidade de Quixeré - CE. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	34
Figura 6 –	Resultado da análise da atividade antifúngica de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia quanto ao gênero <i>Aspergillus</i> sp. ao final do experimento em B. O. D a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	35
Figura 7 –	Crescimento micelial de <i>Aspergillus</i> sp. na presença de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia em placas armazenadas por seis dias em B.O.D a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	35

Figura 8 –	Resultado da análise da atividade antifúngica de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia quanto ao gênero <i>Colletotrichum</i> sp. em B. O. D a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	37
Figura 9 –	Crescimento micelial de <i>Colletotrichum</i> sp. na presença de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia em B. O. D a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	38
Figura 10 –	Perda de massa fresca das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento a $26,1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	40
Figura 11 –	Aparência externa das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento a $26,1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	42
Figura 12 –	Pimentões ‘Dahra’ na caracterização. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	43
Figura 13 –	Pimentões ‘Dahra’ aos três dias de armazenamento a $26,1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	44
Figura 14 –	Pimentões ‘Dahra’ aos seis dias de armazenamento a $26,1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	45

Figura 15 –	Pimentões ‘Dahra’ aos nove dias de armazenamento a 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	46
Figura 16 –	Pimentões ‘Dahra’ aos doze dias de armazenamento a 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	47
Figura 17 –	Cor das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento à temperatura de 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	48
Figura 18 –	Variação de pH das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento à temperatura de 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	49
Figura 19 –	Variação da acidez titulável das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento à temperatura de 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE– Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	50
Figura 20 –	Variação dos sólidos solúveis das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento à temperatura de 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Formulações do revestimento comestível avaliado aplicadas nas amostras de pimentão “Dahra”. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.	29
Tabela 2 –	Constituintes químicos do óleo essencial de cravo-da-índia. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	33
Tabela 3 –	Índice de velocidade de crescimento micelial dos micélios de <i>Colletotrichum</i> sp. na presença de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia em B. O. D à temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	38
Tabela 4 –	NMP/g de coliformes totais (35°C) das amostras de pimentão, revestidas ou não (controle) com as diferentes formulações do revestimento comestível avaliado, armazenadas à temperatura de $27,5^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 41,75%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	54
Tabela 5 –	NMP/g de coliformes termotolerantes (45°C) das amostras de pimentão, revestidas ou não (controle) com as diferentes formulações do revestimento comestível avaliado, armazenadas à temperatura de $27,5^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 41,75%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	54
Tabela 6 –	Presença ou ausência de <i>E.coli</i> nas amostras de pimentão, revestidas ou não (controle) com as diferentes formulações do revestimento comestível avaliado, armazenadas à temperatura de $27,5^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 41,75%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....	55
Tabela 7 –	UFC/g de bolores e leveduras nas amostras de pimentão, revestidas ou não	

(controle) com as diferentes formulações do revestimento comestível avaliado, armazenadas à temperatura de 27,5°C e umidade relativa de 41,75%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....56

Tabela 8 – Avaliação da presença ou ausência de *Salmonella* sp. em 25g das amostras de pimentão, revestidas ou não (controle) com as diferentes formulações do revestimento comestível avaliado, armazenadas à temperatura de 27,5°C e umidade relativa de 41,75%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.....58

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1	Aspectos gerais sobre a cultura do pimentão.....	17
3.2	Conservação pós-colheita pelo uso da atmosfera modificada.....	17
3.3	Doenças pós-colheita do pimentão.....	19
3.3.1	Antracnose.....	19
3.3.2	Murcha fitóftora.....	20
3.3.3	Mancha-bacteriana.....	21
3.3.4	Outros fungos presentes em pimentão.....	22
3.4	Goma xantana	22
3.5	Óleo essencial de cravo-da-índia	23
4	MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1	Localização e período.....	25
4.2	Obtenção do óleo essencial de cravo-da-índia	25
4.3	Avaliação dos constituintes químicos do óleo essencial de cravo-da-índia.....	25
4.4	Obtenção dos microrganismos utilizados na pesquisa	26
4.5	Identificação dos microrganismos utilizados na pesquisa.....	26
4.6	Avaliação da atividade antifúngica de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia <i>in vitro</i>	26
4.7	Materiais utilizados na pesquisa.....	27
4.8	Obtenção dos frutos de pimentão.....	27
4.9	Pré-seleção e higienização dos pimentões	28
4.10	Preparo das formulações do revestimento comestível	28
4.11	Armazenamento para análises físico-químicas.....	29
4.12	Armazenamento para análises microbiológicas.....	29
4.13	Análises físico-químicas.....	29
4.13.1	Perda de massa fresca	29
4.13.2	Aparência externa.....	30
4.13.3	Cor.....	30
4.13.4	pH.....	30
4.13.5	Acidez titulável	30
4.13.6	Sólidos solúveis.....	31
4.14	Análises microbiológicas.....	31
4.15	Delineamento experimental	31
4.15.1	Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de cravo-da-índia.....	31
4.15.2	Recobrimento.....	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5.1	Constituintes químicos do óleo essencial de cravo-da-índia.....	33
5.2	Identificação dos gêneros fúngicos.....	33
5.3	Teste da ação antifúngica do óleo essencial.....	34
5.3.1	<i>Aspergillus</i> sp.....	34
5.3.2	<i>Colletotrichum</i> sp.	37

5.4	Análises físico-químicas das amostras de pimentão ‘Dahra’ revestidas e não-revestidas (controle) com as formulações do recobrimento produzido.....	40
5.4.1	<i>Perda de massa fresca.....</i>	40
5.4.2	<i>Aparência externa.....</i>	41
5.4.3	<i>Cor.....</i>	43
5.4.4	<i>pH.....</i>	49
5.4.5	<i>Acidez titulável.....</i>	50
5.4.6	<i>Sólidos solúveis.....</i>	51
5.5	Análise microbiológica das amostras de pimentão ‘Dahra’ revestidas ou não (controle) com as formulações do recobrimento avaliado.....	53
5.5.1	<i>Coliformes totais, coliformes termotolerantes e E. coli.....</i>	53
5.5.2	<i>Bolores e leveduras.....</i>	56
5.5.3	<i>Salmonella sp.....</i>	57
6.	CONCLUSÕES.....	60
	REFERÊNCIAS.....	61

1 INTRODUÇÃO

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) é uma das hortaliças mais cultivadas em todo o mundo, sendo comercializado na forma de fruto fresco e conservas. Sua importância é dada pela presença de substâncias químicas que conferem sabor e aroma aos alimentos, além de serem fontes consideráveis de vitaminas (REIFSCHNEIDER, 2000; FINGER; SILVA, 2005).

Apesar de ser amplamente produzido para consumo “*in natura*”, estima-se que as perdas em pós-colheita do pimentão possam atingir até 10% em nível mundial. Essas perdas podem ser de ordem qualitativa e quantitativa, podendo ter causas diversas, variando de região para região, sendo ocasionadas por deteriorações fisiológicas, injúrias mecânicas, pragas e principalmente por doenças (OLIVEIRA; DANTAS; GURGEL, 2004).

Vários métodos podem ser empregados para ampliar a vida de prateleira de frutas e hortaliças. Esses métodos incluem o uso de atmosfera modificada, que pode ser pelo acondicionamento das frutas em filmes plásticos ou pelo recobrimento com revestimentos comestíveis, os quais podem ser preparados a partir de proteínas, polissacarídeos, lipídeos ou a partir da combinação desses componentes (CAO; FU; HE, 2007).

Os revestimentos comestíveis modificam o ar circundante e interno da fruta, diminuindo os níveis de O₂ e aumentando os níveis de CO₂, reduzindo, desta forma, o metabolismo e retardando a senescência (HOJO et al., 2007).

A adição de antimicrobianos naturais (bioconservantes) como óleos essenciais, na formulação dos biofilmes, visa garantir um alimento seguro e manter inalterada a qualidade do produto, devido sua origem natural e redução da resistência microbiana causada pelos componentes químicos antimicrobianos que fazem parte dos óleos essenciais (LAMBERT et al., 2001).

Diante disso, o trabalho teve por objetivo a preparação de um revestimento comestível com ação antifúngica para ser aplicado em pimentão.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e testar um revestimento comestível antifúngico para aplicação em pimentão ‘Dahra’.

2.2 Objetivos específicos

Extrair óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.) em laboratório.

Avaliar a composição química do óleo essencial de cravo-da-índia previamente extraído.

Isolar e constatar a presença de fungos pertencentes ao gênero *Colletotrichum* sp. (causador da antracnose em inúmeros frutos) e algum outro fungo comum em pimentão.

Avaliar a ação antifúngica de diferentes concentrações do óleo essencial extraído em laboratório sobre os gêneros fúngicos previamente isolados.

Utilizar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial, quanto aos gêneros fúngicos previamente analisados, para elaboração de diferentes formulações do revestimento comestível antifúngico à base de goma xantana e de óleo essencial de cravo-da-índia.

Avaliar a ação das formulações do revestimento comestível produzido quanto às características físico-químicas e microbiológicas dos pimentões.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos gerais sobre a cultura do pimentão

O pimentão (*Capsicum annuum* L.), com suas formas silvestres, tem origem no sul dos Estados Unidos, passando pelo México até o norte do Chile (FILGUEIRA, 2008).

Segundo Filgueira (2003), o pimentão já era cultivado e consumido pelos indígenas séculos antes da colonização espanhola. Há registros de que as primeiras cultivares que chegaram ao Brasil eram do grupo “Cascadura”, esse grupo foi introduzido inicialmente nos municípios de Mogi das Cruzes e Suzano, no Estado de São Paulo, e caracteriza-se por ser o tipo de fruto preferido pela maioria dos consumidores, com formato aproximadamente cônico, ligeiramente alongado e coloração verde-escura (REIFSCHNEIDER, 2000).

O conteúdo nutricional dos frutos de pimentão é relativamente alto, sendo ricos em vitaminas A, B1, B2, C e E, proteínas, carotenóides, glicídios, lipídios, minerais, água e fibras que auxiliam no processo de digestão e previnem problemas intestinais. Por serem fontes de antioxidantes naturais, os pimentões estão sendo pesquisados por áreas relacionadas à medicina e à farmácia para fins terapêuticos e utilização na prevenção de doenças cardiovasculares e degenerativas, como o câncer, catarata, e dos males de Parkinson e Alzheimer.

Os frutos possuem diversos pigmentos, como os carotenóides, que são responsáveis pela sua coloração, e pelo corante vermelho denominado páprica (REIFSCHNEIDER, 2000; MOREIRA, 2012).

A produção da cultura do pimentão é influenciada pelos fatores ambientais e suscetível ao ataque de várias pragas e doenças, que aumentam o custo de produção da cultura (HALFELD-VIEIRA et al., 2005).

3.2 Conservação pós-colheita pelo uso da atmosfera modificada

Produtos agrícolas perecíveis têm sua vida útil reduzida quando comparados aos duráveis (grãos e cereais), por apresentarem elevado teor de umidade, textura macia facilmente danificável, altas taxas respiratórias e de produção de calor. Essas características geram desvantagens quanto ao seu manuseio pós-colheita, resultando em perdas decorrentes

da falta de comercialização ou de consumo do produto em tempo hábil (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Algumas técnicas são utilizadas visando aumentar a vida útil de frutas e hortaliças, entre elas pode-se citar o aumento da umidade relativa do ar, diminuição da temperatura e o uso de embalagens (LEMOS, 2006).

Dentre essas técnicas, podemos incluir a utilização da atmosfera modificada. O uso da atmosfera modificada tem sido difundido por ser uma técnica simples de conservação, na qual normalmente empregam-se filmes plásticos que limitam as trocas gasosas e a perda de água para o ambiente, reduzindo o metabolismo do produto e prolongando sua vida pós-colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005). No entanto, o uso de filmes plásticos pode ser limitante do ponto de vista ambiental e econômico (PEREIRA et al., 2006), pelo fato de que muitas embalagens flexíveis são feitas de materiais sintéticos que, apesar de possuírem excelentes propriedades funcionais, são considerados não-biodegradáveis e estão envolvidos em problemas de gerenciamento de resíduos sólidos municipais (SOBRAL, 2000).

Por esse motivo, as pesquisas buscam substituintes para os filmes plásticos, sendo uma alternativa a utilização de biopolímeros para a elaboração de revestimentos comestíveis.

O revestimento comestível é formado a partir de uma suspensão de um agente espessante, que após aplicação no produto forma uma película ao seu redor, agindo como barreira para trocas gasosas e perda de vapor d'água, modificando a atmosfera e retardando o amadurecimento do fruto (PEREIRA et al., 2006).

O uso de revestimentos comestíveis para a conservação de produtos ao natural tem sido tema de alguns trabalhos, como o de Santos et al. (2011), o qual tinha por objetivo avaliar a ação de revestimentos comestíveis no prolongamento da vida-útil pós-colheita de mangas 'Tommy Atkins', ou o de Lemos (2006), que avaliou a utilização de biofilmes na conservação pós-colheita de pimentão 'Magali R'.

Os materiais utilizados para produzir revestimentos biodegradáveis podem ser originários de diversas fontes naturais. Esses materiais caracterizam-se pela sua complexidade estrutural e diversidade funcional e são classificados como: polissacarídeos, proteínas e lipídeos (PINHEIRO et al., 2010).

3.3 Doenças pós-colheita do pimentão

Conforme Carvalho (2006), os pimentões podem trazer do campo uma carga elevada de microrganismos, os quais, dependendo do manuseio ao qual o produto é submetido, tendem a multiplicar-se, e conseqüentemente, provocar a deterioração dos frutos.

Segundo o mesmo autor, a temperatura e umidade relativa elevada favorecem o desenvolvimento de doenças pós-colheita, e alguns desses patógenos somente encontram condições favoráveis para o seu estabelecimento após o enfraquecimento dos tecidos vegetais pela ação do processo de maturação e/ou senescência ou pela ação da injúria provocada pelo frio.

Inúmeros são os microrganismos que podem causar doenças na cultura do pimentão, desde fungos, bactérias e vírus (LOPES; ÁVILA, 2003).

No estado do Ceará as doenças mais comuns em pimentão são antracnose, murcha-de-fitóftora e mancha-bacteriana. Essas duas últimas refletindo as condições de elevada umidade na região produtora (VIANA; FREIRE; PARENTE, 2007).

3.3.1 Antracnose

A maioria dos relatos de antracnose em pimentões no Brasil aponta o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* como o responsável pela doença, embora outras espécies do mesmo gênero possam, também, causar a doença, tais como, *C. acutatum*, *C. coccodes*, *C. capsici* e *C. dematium*. Em geral, os danos causados pelo gênero *Colletotrichum* em pimentões resultam na redução direta da qualidade e da quantidade da produção (VIANA; FREIRE; PARENTE, 2007).

As lesões da antracnose nos frutos geralmente têm coloração alaranjada, correspondentes a uma massa de esporos (conídios) produzidos juntos a uma mucilagem solúvel em água, razão pela qual a doença é mais destrutiva em períodos de chuva e alta umidade (AZEVEDO et al., 2006). Essas lesões depreciam os frutos e reduzem a qualidade destes para a comercialização, provocando perdas diretas para o produtor rural (HALFELD-VIEIRA et al., 2004). A figura 1 demonstra as características da doença nos frutos.

Figura 1 – Pimentão com diversas lesões típicas de antracnose.



Fonte: VIANA; FREIRE; PARENTE (2007).

3.3.2 Murcha-de-fitóftora

A cultura do pimentão tem na murcha, causada pelo fungo *Phytophthora capsici* Leonian, um de seus maiores problemas fitossanitários (SANTOS; GOTO, 2004).

A doença pode afetar mudas ainda em sementeira, causando o tombamento, ou plantas adultas no campo. Sintomas de murcha podem ser observados principalmente nas horas mais quentes do dia. Na região do coleto e em raízes das plantas murchas observa-se uma podridão úmida, posteriormente essas plantas secam e morrem. Dependendo do estágio de desenvolvimento, a planta infectada tem a possibilidade de não secar, mas seus frutos poderão murchar. Quando a umidade é muito elevada, o fungo pode desenvolver um micélio de coloração branca sobre ramos e frutos infectados ou produzir manchas encharcadas nas folhas, ramos e frutos (PEREIRA; CARVALHO; PINHEIRO, 2013). A figura 2 demonstra as características de frutos contaminados pelo patógeno.

Figura 2 – Fruto com lesão mole recoberta com frutificações do patógeno.



Fonte: VIANA; FREIRE; PARENTE (2007).

3.3.3 Mancha-bacteriana

Dentre os principais problemas fitossanitários da cultura do pimentão, destaca-se a mancha-bacteriana, causada por espécies de *Xanthomonas* spp. A doença pode ocasionar perdas substanciais na produtividade da cultura, especialmente em períodos de elevadas pluviosidade e temperatura, além da baixa eficácia de controle com produtos químicos, como fungicidas cúpricos (AREAS, 2013).

A bactéria pode atacar qualquer órgão aéreo da planta, em qualquer estágio de desenvolvimento. No canteiro, a doença provoca a queda de folhas novas, o que atrasa o desenvolvimento da planta, contudo, essas plantas podem se recuperar no campo se as condições de umidade não forem elevadas (VIANA; FREIRE; PARENTE, 2007).

No campo, os sintomas iniciais nas folhas são pequenas manchas de 2 a 4mm de diâmetro, com aspecto encharcado que, ao crescerem, se tornam pardas e depois necrosam, podendo atingir até 1cm, circundando algumas manchas pode aparecer um halo clorótico. As lesões podem ocorrer em grande número e, nesse caso, as folhas caem com facilidade; nos frutos, essas lesões são deprimidas, esbranquiçadas, irregulares e circundadas por um halo castanho escuro; também nos frutos, elas podem ocorrer em grande número e, embora não causem sua queda, o patógeno pode alcançar o interior e infectar as sementes (VIANA; FREIRE; PARENTE, 2007). A figura 3 demonstra as características de frutos contaminados pelo patógeno.

Figura 3 – Frutos com cancos pronunciados causados por *Xanthomonas* spp.



Fonte: VIANA; FREIRE; PARENTE (2007).

3.3.4 Outros fungos presentes em pimentão

Aspergillus sp. é o gênero mais comum dos fungos filamentosos. As espécies que compõe esse gênero têm ampla distribuição mundial estando presente na superfície, no ar e na água, tanto em organismos vegetais quanto em organismos animais, além de estarem associados a deterioração de materiais vegetais e alimentos (PONTES, 2009).

As espécies mais comuns, responsáveis por diversas doenças em plantas e produtos vegetais, são *A. niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus* e *A. alliaceus* (PERRONE et al., 2007), esses microrganismos contaminam produtos agrícolas em diferentes fases, como pré-colheita, colheita, processamento e manuseio e muitas espécies são produtoras de metabólitos secundários tóxicos (MAIA, 2014).

3.4 Goma xantana

A goma xantana é um biopolímero classificado como heteroexopolissacarídeo ramificado, aniônico, produzido por fermentação, empregando a bactéria *Xanthomonas campestris* (GARCÍA-OCHOA et al., 2000). Apresenta alto peso molecular, normalmente composta de um heptasacarídeo constituído de glicose, manose e ácido glucurônico, na relação de 2:2:1 (DRUZIAN; PAGLIARINI, 2007).

Essa goma é um aditivo bastante utilizado na indústria alimentícia, na farmacêutica, de higiene e de cosméticos como estabilizante, espessante e emulsificante. Tem sido empregada também na indústria petrolífera, devido a sua alta viscosidade mesmo em baixas concentrações, alta pseudoplasticidade e estabilidade da viscosidade na presença de sais, a diferentes temperaturas e em ampla faixa de pH (ROSALAM; ENGLAND, 2006)

Borges et al. (2013) avaliaram a conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e de óleo essencial de sálvia e constataram que os revestimentos à base de goma xantana indicaram ser mais eficientes, favorecendo maior firmeza dos frutos, sendo que o revestimento contendo goma xantana e óleo essencial de sálvia foi o que proporcionou a menor incidência de fungos.

Cortez-Vega et al. (2013), avaliando a conservação de mamão minimamente processado com uso de revestimento comestível à base de goma xantana, afirmaram que o revestimento testado composto apenas de goma xantana propiciou redução da perda de massa, manutenção da luminosidade b^* e menor redução de a^* .

Pizato et al.(2013), ao testarem o efeito da aplicação de diferentes gomas (tara, xantana e alginato de sódio) associado com ácido cítrico, ascórbico e cloreto de cálcio, em relação as características químicas, físicas e microbiológicas na conservação de maçãs ‘Royal Gala’ minimamente processadas, constataram que, dos revestimentos avaliados, o tratamento com goma xantana, associado aos ácidos cítrico, ascórbico e do cloreto de cálcio foi o que apresentou os melhores resultados, mostrando-se capaz de reduzir a perda de massa, o crescimento microbiano, manter a cor e a firmeza das maçãs minimamente processadas.

3.5 Óleo essencial de cravo-da-índia

O cravo-da-índia é da família *Myrtaceae*, é uma árvore de grande porte, chegando a atingir de 12 a 15m de altura e o seu ciclo vegetativo alcança mais de cem anos (RABÊLO, 2010). Tem a origem descrita por Pahlow (2004) como sendo das Filipinas e leste da África. No entanto, outros o dizem originário da Índia (LORENZETTI, 2012).

O eugenol, principal constituinte químico do óleo essencial de cravo-da-índia, exhibe comprovadas atividades como antibacteriano, antimicótico, antimicrobiano, anti-inflamatório, anestésico, antisséptico, antioxidante, alelopático e repelente (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Pereira et al. (2008), testando o óleo essencial de cravo e de outras plantas medicinais, observaram seu efeito inibitório sobre duas bactérias patogênicas, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Rozwalka (2010), avaliando a ação fungitóxica dos compostos voláteis e fixos de diversos óleos essenciais, dentre estes o óleo essencial de cravo-da-índia, frente aos micélios de *C. gloeosporioides* e *C. musae*, constatou a ação fungitóxica dos compostos voláteis de cravo-da-índia, tendo em vista que o mesmo inibiu em 100% o crescimento micelial dos fungos testados.

Abreu (2006) analisou a ação de diferentes óleos essenciais quanto ao controle de *Alternaria solani* em tomateiro e constatou que o óleo essencial de cravo-da-índia, na concentração de 750ppm, foi capaz de inibir em 100% o crescimento micelial do fungo analisado.

Souza Junior, Sales e Martins (2009) avaliaram o feito fungitóxico de óleos essenciais sobre *C. gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo, e concluíram que a

partir da concentração de 1µL/mL já houve uma inibição de 100% do crescimento micelial do fungo analisado.

Lorenzetti (2012), ao avaliar o controle de doenças do morangueiro com óleos essenciais e *Trichoderma* spp., constatou que a 1000 ppm o óleo essencial de cravo-da-índia inibiu completamente o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Localização e período

A pesquisa foi realizada nos laboratórios de Química dos Alimentos e Microbiologia de Alimentos do IFCE - Campus Limoeiro do Norte - e no laboratório de Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa da Universidade Federal do Ceará (UFC), no período de agosto de 2014 a maio de 2015.

4.2 Obtenção do óleo essencial de cravo-da-índia

O material vegetal (botão floral do cravo-da-índia e pedúnculo) foi adquirido em feira livre na cidade de Limoeiro do Norte - CE, este foi submetido ao processo de hidrodestilação por arraste de vapor d'água para a extração do óleo essencial (OLIVEIRA et al., 2009).

4.3 Avaliação dos constituintes químicos do óleo essencial de cravo-da-índia

Para avaliar a composição química do óleo essencial, foi realizada análise de cromatografia gasosa e espectrometria de massa. Os espectros de massas do óleo essencial foram obtidos em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massa (CG-EM SHIMADZU, modelo QP5050), com injetor automático AOC-20i, coluna capilar RTX-5MS (5% fenil e 95% dimetilpolisiloxano, 30m x 0,25mm, 0,25µm) e tendo o hélio (He) como gás de arraste, com vazão de 1,0mL/min para o óleo essencial.

Para análise do óleo essencial, a temperatura do forno foi programada de 40°C - 180°C a uma taxa de 4°C/min, depois de 180°C - 280°C a uma taxa de 20°C/min e mantida a 280°C durante 10min. A temperatura do injetor e do detector (ou interface) foi de 250°C e 300°C, respectivamente.

A identificação dos compostos foi feita através de comparação de seus espectros de massas com os da biblioteca NIST08, índices de retenção e dados publicados (ADAMS, 2007). As concentrações dos compostos foram calculadas a partir das áreas dos picos do cromatograma e dispostas por ordem de eluição.

Os espectros de massas das substâncias isoladas foram obtidos em espectrômetro de massa modelo QP2010 da SHIMADZU, operando em impacto eletrônico de 70 eV.

4.4 Obtenção dos microrganismos utilizados na pesquisa

Para avaliar a ação antifúngica do óleo essencial em fungos originários do pimentão, foi realizado isolamento de gêneros fúngicos a partir de pimentões adquiridos em comércio da região onde a pesquisa foi desenvolvida. Os pimentões foram acondicionados individualmente em câmaras úmidas (sacolas plásticas com algodão umedecido) e mantidos à temperatura ambiente por dois a três dias (até o aparecimento dos sintomas de doenças) (ROZWALKA, 2003).

Os pimentões passaram por higienização prévia, sendo desinfetados em álcool 70%, hipoclorito de sódio a 2% e lavados com água destilada esterilizada. Por meio de isolamento indireto, pedaços das lesões desenvolvidas nos pimentões foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultura BDA (Ágar-batata-dextrose) com auxílio de estilete, em câmara de fluxo e condições assépticas. As placas foram incubadas em B.O.D à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, até o surgimento da estrutura reprodutiva dos microrganismos.

As estruturas fúngicas presentes foram repicadas para placas de Petri contendo o meio de cultura BDA. Sendo as placas mantidas em B.O.D à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (ROZWALKA, 2010).

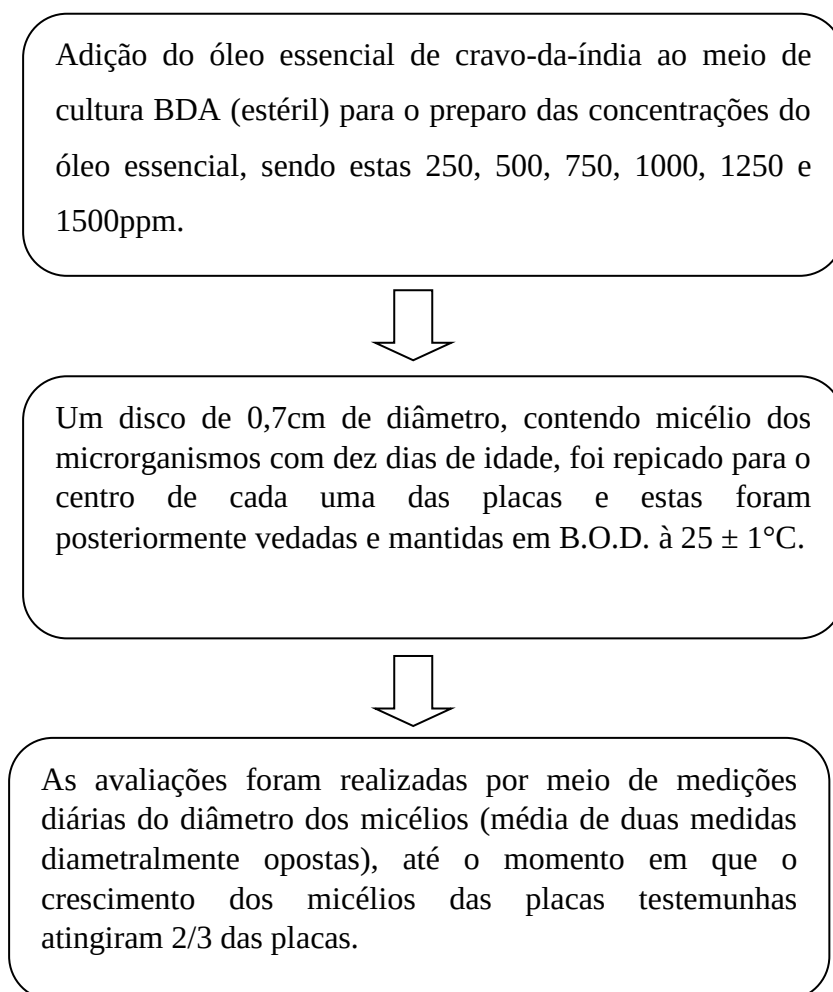
4.5 Identificação dos microrganismos utilizados na pesquisa

A identificação foi realizada em microscópio óptico sendo utilizada literatura especializada para comparação (BARNETT; HUNTER, 1972).

4.6 Avaliação da atividade antifúngica de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia *in vitro*

A avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial foi realizada a partir de metodologia utilizada por Silva e Bastos (2007), sendo que esta foi adaptada para a presente avaliação. O experimento foi realizado em triplicata. A figura 4 demonstra o fluxograma utilizado para a avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de cravo-da-índia.

Figura 4 – Fluxograma utilizado para a avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de cravo-da-índia frente a fungos do gênero *Aspergillus* sp. e *Colletotrichum* sp.



FONTE: Elaborada pela autora.

4.7 Materiais utilizados na pesquisa

Os reagentes e os meios de cultura foram adquiridos a partir de fornecedor comercial, sendo que os reagentes apresentavam grau analítico. A goma xantana, cujo pH apresentava-se dentro da normalidade (variando de 6 a 8), foi adquirida pronta para a utilização a partir de um fornecedor comercial.

4.8 Obtenção dos frutos de pimentão

As amostras de pimentão da cultivar ‘Dahra’ foram adquiridas na Chapada do Apodi, em empresa localizada no município de Quixeré - CE. A empresa em questão trabalha com adubação química, mas também faz uso de adubo à base de matéria orgânica. A água

utilizada para a irrigação dos frutos foi proveniente de poço e não sofreu nenhum tipo de tratamento.

As análises físico-químicas e microbiológicas realizadas nos pimentões revestidos com as formulações do revestimento comestível foram realizadas separadamente, para tanto se efetuou a compra de pimentões do mesmo produtor, sendo aplicada a mesma metodologia para a seleção dos frutos, higienização destes, preparo e aplicação das formulações do revestimento.

4.9 Pré-seleção e higienização dos pimentões

Os frutos foram colhidos em estágio de maturação fisiológica e foram selecionados em vista do tamanho, coloração (verde escura), firmeza ao tato e ausência de injúrias (LEMOS et al., 2007). Em seguida, foram submetidos à imersão em solução de cloro a 100ppm por 10 minutos. Após secagem ao ar, os pimentões foram separados em grupos e submetidos às formulações do revestimento avaliado.

4.10 Preparo das formulações do revestimento comestível

Para o preparo dos revestimentos, foi utilizada água destilada, goma xantana e óleo essencial de cravo-da-índia. A concentração aplicada de óleo essencial foi escolhida com base nos resultados da análise de sua atividade antifúngica, previamente realizada. A menor concentração capaz de inibir em 100% os dois gêneros fúngicos analisados foi aplicada nas formulações do revestimento.

As concentrações de goma testadas foram escolhidas com base na literatura. Portanto, foram escolhidas as concentrações 0,25% e 0,50% de goma xantana para aplicação nas formulações do revestimento comestível.

As formulações do revestimento comestível foram preparadas por dissolução lenta da goma em água destilada, sob agitação, até completa dissolução, seguindo de aquecimento a 60°C, por 20 minutos, e resfriamento até a temperatura ambiente, para após ser adicionado o óleo essencial de cravo-da-índia (CORTEZ-VEGA et al., 2013). Os pimentões foram separados em grupos, sendo posteriormente imersos nas suspensões do revestimento avaliado. A tabela 1 demonstra as formulações do revestimento comestível aplicadas aos pimentões.

Tabela 1 – Formulações do revestimento comestível avaliado aplicadas às amostras de pimentão “Dahra”. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.

Formulações	Goma xantana	Óleo
1 (controle)	-	-
2	- *	- *
3	0,25%	-
4	0,50%	-
5	0,25%	750ppm
6	0,50%	750ppm
7	-	750ppm

FONTE: Elaborada pela autora.

* Pimentões imersos em água destilada. Optou-se por este tratamento devido ao fato de as formulações do revestimento terem como base água destilada.

Os pimentões foram submetidos às suspensões por um minuto e, em seguida, foram colocados para secar em bancada por 1 hora antes do acondicionamento.

4.11 Armazenamento para análises físico-químicas

Para a análise das características físico-químicas, os pimentões, após receberem os recobrimentos, foram acondicionados em bandejas de isopor e armazenados à temperatura de 26,1°C e umidade relativa de 38,85%, por 12 dias. As análises foram realizadas a cada três dias de armazenamento, em triplicata.

4.12 Armazenamento para análises microbiológicas

Para a análise das características microbiológicas, os pimentões, após receberem os recobrimentos, foram acondicionados em bandejas de isopor e armazenados à temperatura de 27,5°C e umidade relativa de 41,75%, por 12 dias. As análises foram realizadas a cada seis dias de armazenamento, em duplicata.

4.13 Análises físico-químicas

4.13.1. Perda de massa fresca

A perda de massa fresca foi avaliada considerando-se a diferença entre a massa inicial da hortaliça e aquela obtida em cada dia de análise, sendo expressa em porcentagem (%) (SANTOS et al., 2011).

4.13.2 Aparência externa

Foi desenvolvida pela autora do presente estudo uma escala visual de cinco notas, que considerava a ausência ou presença de defeitos, depressões e murchamento, com os seguintes pontos: 1= fruto extremamente deprimido, defeituoso e com extremo murchamento, 2= quantidade de depressões, defeitos e murchamento severo, 3= quantidade média de depressões, defeitos e murchamento, 4= quantidade leve de depressões, defeitos e murchamento, 5= ausência de defeitos, depressões e murchamento. Pimentões com nota inferior ou igual a três foram considerados impróprios para o consumo. Participaram do experimento três avaliadores.

4.13.3 Cor

Foi determinada visualmente através de uma escala de quatro notas (1 - verde; 2 - verde com traços de vermelho; 3 - vermelho com traços de verde; 4 - vermelho) de acordo com Bussel e Kenigsberger (1975), a partir do exame de três avaliadores.

4.13.4 pH

O potencial hidrogeniônico (pH) foi determinado diretamente no triturado da hortaliça, obtido por sua trituração em liquidificador doméstico, utilizando-se um peagâmetro digital (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1992).

4.13.5 Acidez titulável

Para determinação da acidez titulável, foi utilizado o método da titulometria com solução de NaOH 0,1N, com fenolftaleína alcoólica a 1% como indicador, sendo os resultados expressos em % de ácido cítrico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4.13.6 Sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis foi determinado utilizando-se refratômetro de bancada. As leituras foram feitas na polpa homogeneizada em liquidificador doméstico, obtidas a partir das gotas no refratômetro (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2000).

4.14 Análises microbiológicas

Seguindo a metodologia de Siqueira (1995), foi feita a determinação do número mais provável por grama de amostra (NMP/g) de coliformes totais e termotolerantes e avaliação da presença ou ausência de *E.coli*; a determinação das Unidades Formadoras de Colônias por grama de amostra (UFC/g) para bolores e leveduras; e o teste de avaliação da presença ou ausência de *Salmonella* sp.

4.15 Delineamento experimental

4.15.1. Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de cravo-da-índia

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado para avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de cravo-da-índia *in vitro*. Sendo que os tratamentos foram compostos por: Controle (0% de óleo essencial de cravo-da-índia), 250, 500, 750, 1000, 1250 e 1500ppm de óleo essencial. Foram realizados, a partir dos dados obtidos, os cálculos para se obter o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM). Realizou-se a análise citada utilizando fórmula utilizada por Lorenzetti (2012). Equação 1:

$$IVCM = \sum \frac{(D - D_a)}{N} \quad (1)$$

Em que IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial, D= diâmetro médio atual, Da= diâmetro médio do dia anterior e N=número de dias após a inoculação.

Foram realizadas avaliações, calculando-se a Porcentagem de Inibição do Crescimento dos tratamentos em relação à testemunha, segundo a fórmula utilizada por Souza Júnior, Sales e Martins (2009). Equação 2:

$$PIC = \frac{(D_{test} - D_{trat})}{D_{test}} \times 100 \quad (2)$$

Em que PIC= Percentual de Inibição de Crescimento; Dtest= Diâmetro da testemunha; Dtrat= Diâmetro do tratamento.

A partir do percentual de inibição de crescimento, foi possível determinar a concentração inibitória mínima expressa em ppm, que representa a mais baixa concentração necessária para causar total inibição do crescimento micelial dos fungos (SILVA; BASTOS, 2007).

Em seguida, as médias da análise realizada foram calculadas, assim como também o desvio padrão delas.

4.15.2 Recobrimento

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 7 x 5 (7 recobrimentos x 5 tempos de armazenamento) na avaliação da interferência das formulações do revestimento comestível na qualidade físico-química das amostras de pimentão. Sendo as análises realizadas a cada três dias de armazenamento, em triplicata.

Logo depois, as médias das análises realizadas, referentes à qualidade físico-química das amostras de pimentão, foram calculadas, assim como o desvio padrão delas.

Para a avaliação das formulações do revestimento comestível produzido quanto às características microbiológicas das amostras, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 7 x 3 (7 recobrimentos x 3 tempos de armazenamento). Sendo as análises realizadas a cada seis dias de armazenamento, em duplicata.

Realizou-se análise de variância e aplicou-se o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para a avaliação do NMP/g de coliformes totais e termotolerantes, utilizando-se o programa ASSISTAT 7.7 (SILVA, 2012).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Constituintes químicos do óleo essencial de cravo-da-índia

Foram identificados dois componentes no óleo essencial de cravo-da-índia, representando 100% da composição total deste. A tabela 2 representa os componentes identificados.

Tabela 2 – Constituintes químicos do óleo essencial de cravo-da-índia. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.

Constituintes	TR	Área (%)
Eugenol	23,024	82,01
Acetato de eugenila	28,377	17,99

FONTE: Elaborada pela autora.

TR: tempo de retenção.

Costa et al. (2011) detectaram a presença de eugenol (83,6%), acetato de eugenila (11,6%) e cariofileno (4,2%) em óleo essencial de cravo-da-índia.

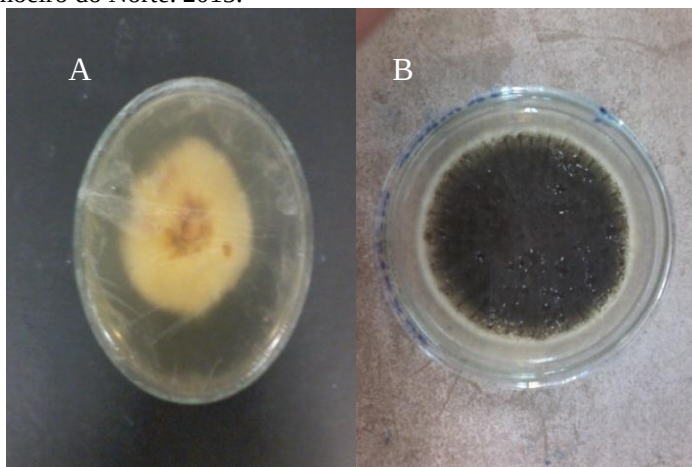
Rozwalka (2010) detectou a presença de eugenol e α -humuleno em óleo essencial de cravo-da-Índia na concentração de 91,94% e 1,51%, respectivamente.

A diferença na composição do óleo essencial extraído no presente estudo e o obtido pelos autores citados consiste no fato de a composição química dos óleos essenciais depender de vários fatores, tendo como exemplos os climáticos, ação de predadores, idade da planta etc. (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

5.2 Identificação dos gêneros fúngicos

No tocante à identificação dos microrganismos, constatou-se o isolamento de dois gêneros fúngicos diferentes, sendo estes *Aspergillus* sp. e *Colletotrichum* sp, como consta na figura 5.

Figura 5 – Figura A, demonstrando o micélio do fungo *Colletotrichum* sp. e figura B, o micélio do fungo *Aspergillus* sp., ambos isolados por isolamento indireto a partir de amostras de pimentões da cidade de Quixeré - CE. IFCE– Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

Os fungos detectados nas amostras de pimentão, por serem comuns nesta cultura, já eram esperados. O gênero *Aspergillus* sp. tem ampla distribuição mundial estando presente na superfície do solo, no ar e na água, tanto em organismos vegetais quanto em organismos animais (PONTES, 2009).

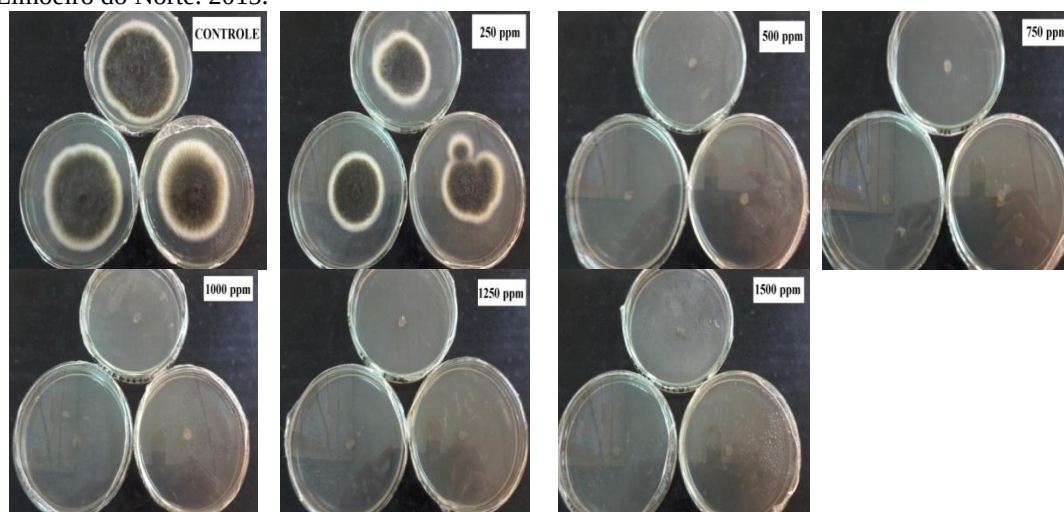
O gênero *Colletotrichum* sp. é comum em pimentão, sendo disseminado pela água de chuva e pelo vento, e pode ser transmitido por sementes, sobrevivendo ainda em restos de cultura (VIANA; FREIE; PARENTE, 2007).

5.3 Teste da ação antifúngica do óleo essencial

5.3.1 *Aspergillus* sp.

Verificou-se que as concentrações de 500 a 1500ppm de óleo essencial inibiram em 100% o gênero fúngico avaliado. Apenas a dose de 250ppm de óleo essencial não apresentou 100% de inibição segundo o PIC (percentual de inibição de crescimento). Figura 6.

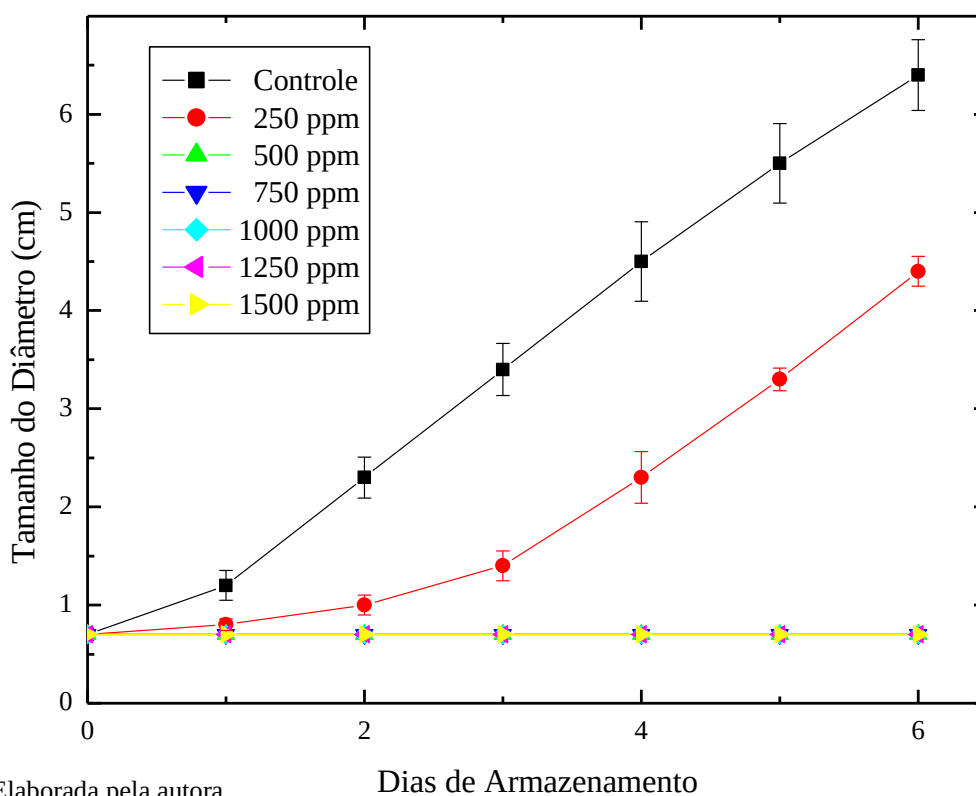
Figura 6 – Resultado da análise da atividade antifúngica de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia quanto ao gênero *Aspergillus* sp. ao final do experimento em B. O. D à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

Logo, a concentração inibitória mínima de óleo essencial de cravo-da-índia para *Aspergillus* sp. foi de 500ppm. A figura 7 descreve os resultados obtidos.

Figura 7 – Crescimento micelial de *Aspergillus* sp. na presença de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia em placas armazenadas por seis dias em B.O.D à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

Mesmo para o tratamento que não inibiu 100% o crescimento micelial do fungo analisado (250ppm), constatou-se um percentual de inibição equivalente a 31,25% segundo o PIC (percentual de inibição de crescimento).

Calculou-se o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) dos micélios de *Aspergillus* sp. de cada tratamento, em relação ao total de dias de análise. No entanto, os micélios que sofreram 100% de inibição do crescimento micelial pelo tratamento aplicado não apresentaram IVCM, pois não houve crescimento micelial algum ao longo do experimento. Para o controle, o IVCM foi equivalente a 0,95cm e para o tratamento com 250ppm de óleo essencial o IVCM foi equivalente a 0,6cm.

O IVCM demonstra a velocidade de crescimento que o microrganismo apresentou no decorrer do experimento, logo, a partir dele, pode-se avaliar o quanto o tratamento testado interferiu ou não no crescimento do microrganismo.

O óleo essencial de cravo-da-índia já havia demonstrado seu efeito antifúngico em outros estudos semelhantes, sendo confirmada sua ação antifúngica no presente trabalho.

Moura (2007), ao analisar produtos biológicos e alternativos no controle de doenças pós-colheita em melão Cantaloupe, testou o efeito do óleo essencial de alecrim pimenta e do óleo essencial de citronela, assim como a ação de um fungicida natural e um fungicida químico, frente a fungos isolados de melões Cantaloupe, dentre estes se encontravam *A. niger* e *A. flavus*. A autora alegou que dentre os tratamentos testados os mais efetivos na inibição do crescimento micelial de todos os fungos foram o biofungicida a 20mL/L e o alecrim pimenta a 20mL/L, não diferindo entre si.

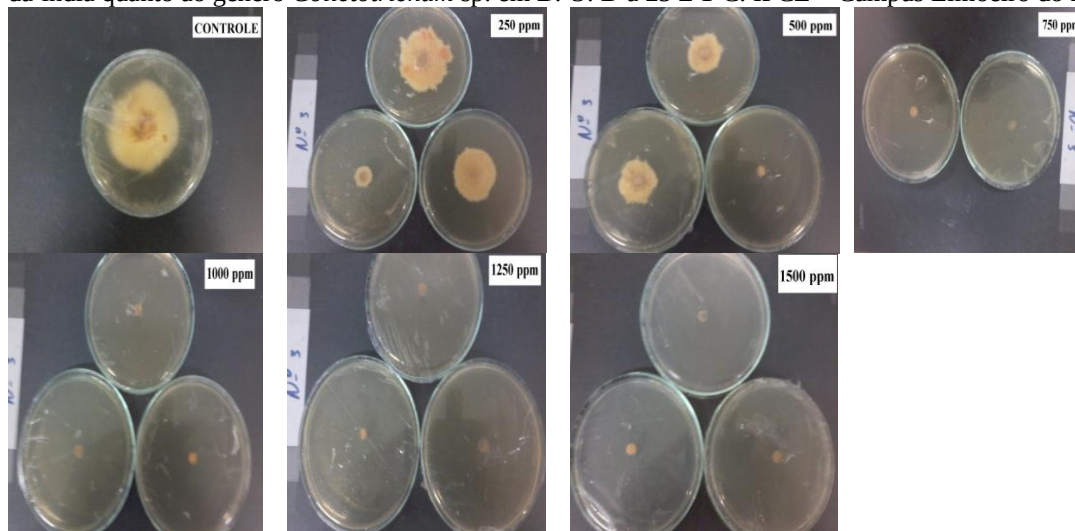
Abreu (2006) analisou a ação de diferentes óleos essenciais quanto ao controle de *Alternaria solani* em tomateiro e constatou que o óleo essencial de cravo-da-índia, na concentração de 750ppm, foi capaz de inibir em 100% o crescimento micelial do fungo analisado.

Lorenzetti (2012), ao avaliar o controle de doenças do morangueiro com óleos essenciais e *Tricoderma* spp. (sendo que dentre os microrganismos avaliados estava o gênero *Colletotrichum* sp.), constatou que o óleo essencial de cravo-da-índia foi capaz de inibir em 100% o crescimento micelial do patógeno.

5.3.2 *Colletotrichum* sp.

Para o gênero fúngico *Colletotrichum* sp., apenas as concentrações de 750 a 1500ppm de óleo essencial, com base no PIC (percentual de inibição de crescimento), inibiram em 100% o crescimento micelial do microrganismo (figura 8). Ou seja, para este a concentração inibitória mínima foi equivalente a 750ppm de óleo essencial de cravo-da-índia. Embora os tratamentos 250 e 500ppm de óleo essencial não tenham inibido em 100% o crescimento micelial do fungo, esses tratamentos inibiram em 40% e 60% o crescimento fúngico, respectivamente, segundo o PIC.

Figura 8 – Resultado da análise da atividade antifúngica de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia quanto ao gênero *Colletotrichum* sp. em B. O. D à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.

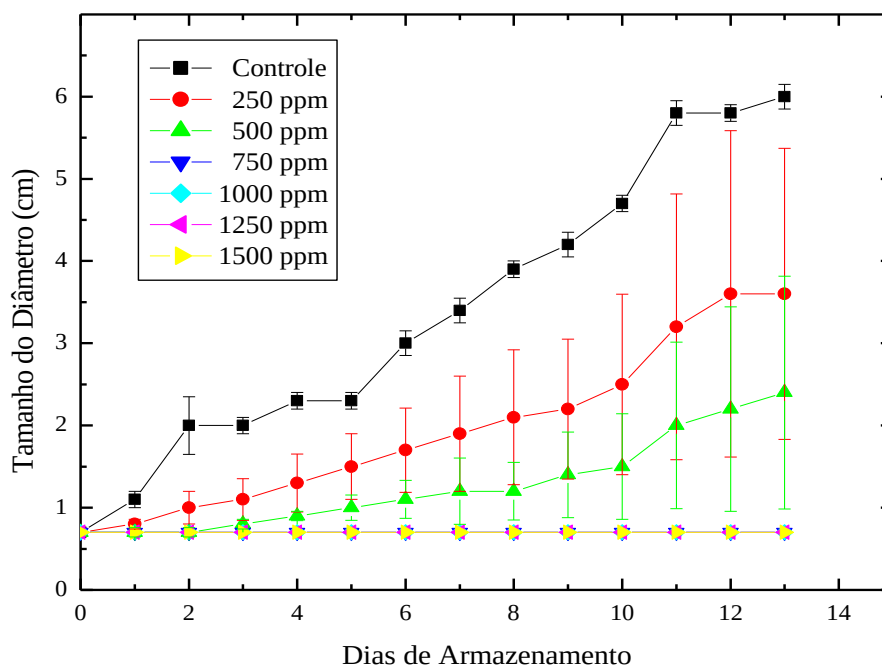


FONTE: Elaborada pela autora.

Observou-se ainda que a concentração de 500ppm apresentou efeito fungistático, pois o micélio fúngico, na presença dessa dose de óleo, apenas apresentou crescimento micelial a partir do terceiro dia de avaliação

A figura 9 apresenta os resultados obtidos quanto ao crescimento micelial de *Colletotrichum* sp.

Figura 9 – Crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. na presença de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia em B. O. D à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

Calculou-se o índice de velocidade de crescimento micelial dos micélios de *Colletotrichum* sp. de cada tratamento, em relação ao total de dias de análise, sendo que os micélios que sofreram 100% de inibição do crescimento micelial pelo tratamento aplicado não apresentaram índice de velocidade de crescimento micelial, pois não houve crescimento micelial algum ao longo do experimento.

Os valores dos índices de velocidade de crescimento micelial dos tratamentos testados apresentam-se na tabela 3.

Tabela 3 – Índice de velocidade de crescimento micelial dos micélios de *Colletotrichum* sp. na presença de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo-da-índia em B. O. D à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.

Índice de velocidade de crescimento micelial de <i>Colletotrichum</i> sp.	
Controle	0,4cm
250ppm de óleo essencial	0,2cm
500ppm de óleo essencial	0,1cm

FONTE: Elaborada pela autora.

O resultado alcançado no presente trabalho quanto à efetividade do óleo essencial de cravo-da-índia confirma os dados repassados por outros autores, que declaravam sua ação inibitória frente ao crescimento de inúmeras espécies de fungos. Destaca-se ainda a baixa concentração do óleo essencial de cravo-da-índia necessária para inibir o crescimento micelial do gênero *Colletotrichum* sp. (750 ppm).

A atividade antifúngica constatada no presente trabalho, quanto aos dois fungos analisados, pode ser atribuída aos constituintes químicos do óleo essencial de cravo-da-índia, principalmente ao eugenol, seu principal constituinte químico. Alguns estudos creditam ao eugenol caráter antibacteriano, antimicótico, antimicrobiano, anti-inflamatório, anestésico, antisséptico, antioxidante, alelopático e repelente (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Segundo alguns autores, a ação de inibição microbiana do eugenol pode estar relacionada com a ruptura da membrana ou por inativação de enzimas e materiais genéticos (OLIVEIRA; ABREU FILHO, 2012).

Resultado positivo quanto ao caráter antifúngico do óleo essencial de cravo-da-índia foi obtido por Rozwalka et al. (2008), esses autores, ao avaliarem a ação de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas (inclusive cravo-da-índia) na inibição de *Colletotrichum* sp. (na fase sexuada e assexuada) de frutos de goiabeira, constataram que o extrato aquoso e o óleo essencial de cravo-da-índia inibiram em 100% o crescimento micelial dos microrganismos testados. Esses mesmos autores avaliaram os extratos aquosos a 10% e os óleos essenciais na dose de 10µL por placa.

Em trabalho realizado por Souza Junior, Sales e Martins (2009), no qual avaliou-se o feito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum* sp., isolado do maracujazeiro amarelo, os autores concluíram que a partir da concentração de 1µL/mL já houve uma inibição de 100% do crescimento micelial do fungo analisado. Dentre os tratamentos avaliados, apenas o óleo essencial das folhas frescas de goiaba não apresentou 100% de inibição em nenhuma das concentrações testadas.

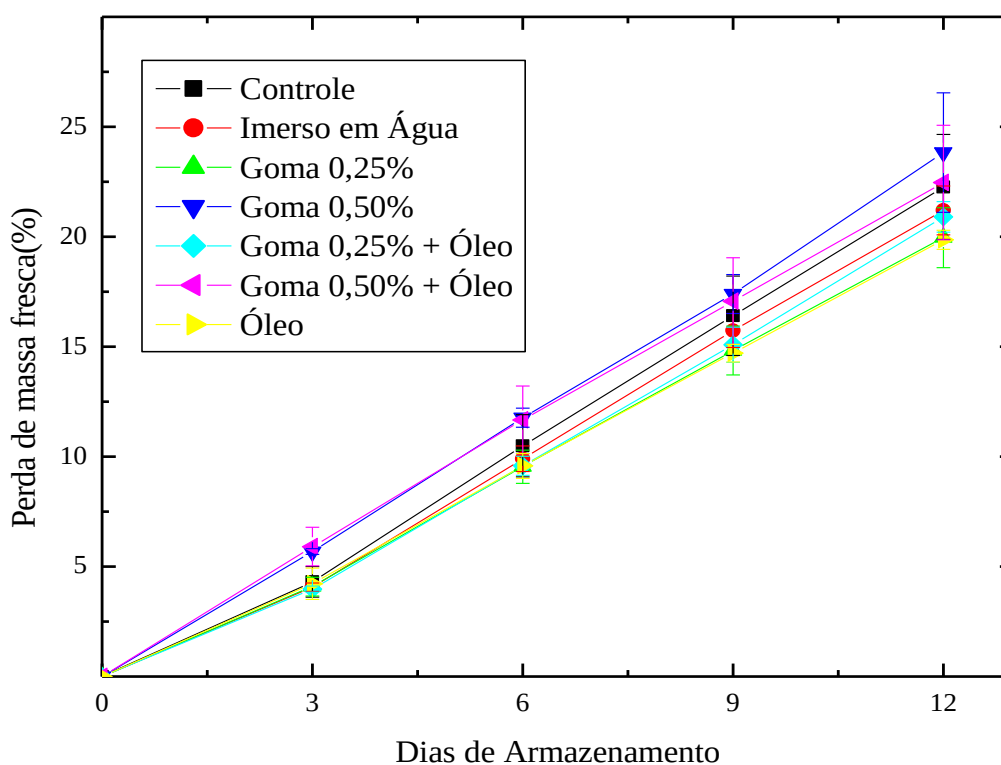
Em estudo realizado por Rozwalka (2010), avaliou-se a ação fungitóxica dos compostos voláteis e fixos de diversos óleos essenciais, na dose de 20µL por placa (dentre estes o óleo essencial de cravo-da-índia), frente aos micélios de *C. gloeosporioides* e *C. musae*, nesse estudo, a ação fungitóxica dos compostos voláteis de cravo-da-índia foi confirmada, tendo em vista que ele inibiu em 100% o crescimento micelial dos fungos testados.

5.4 Análises físico-químicas das amostras de pimentão ‘Dahra’ revestidas e não-revestidas (controle) com as formulações do recobrimento produzido

5.4.1 Perda de massa fresca

A presença dos revestimentos não foi eficaz em diminuir a perda de massa fresca, pois os frutos recobertos, independente da formulação do revestimento aplicada, apresentaram perda de massa gradual e contínua ao longo do experimento, sendo que no último tempo de armazenamento seu valor foi equivalente a 21,5%, como consta na figura 10.

Figura 10 – Perda de massa fresca das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento à 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

Uma explicação para os revestimentos aplicados não terem impedido a perda de massa dos pimentões seria talvez o fato de o seu principal componente, em porcentagem, ser um polissacarídeo, sendo que, como afirmado por Nelson e Cox (2000) e Park (1995), revestimentos/filmes de polissacarídeos caracterizam-se por serem uma boa barreira ao CO₂ e O₂ e uma fraca barreira ao vapor de água. Ou seja, o revestimento à base de polissacarídeos apresenta baixa capacidade de impedir a perda de água pelo fruto.

Em estudo realizado por Lemos (2006), em cujo trabalho foi avaliada a utilização de biofilmes comestíveis na conservação pós-colheita de pimentão “Magali R” armazenados por 20 dias a temperatura ambiente, houve uma perda de massa ao final do experimento equivalente a 32,42%. O autor ainda afirma que o biofilme aplicado à base de fécula de mandioca na temperatura ambiente não foi efetivo na contenção da perda de massa.

Resultado positivo quanto à perda de massa foi obtido por Cortez-Vega et al. (2013), no qual os autores avaliaram a conservação de mamão minimamente processado com uso de revestimento comestível à base de goma xantana. Os tratamentos com glicerol 1% e goma xantana a 0,5%; e glicerol a 1%, goma xantana a 0,5% e quitosana a 1% apresentaram as menores perdas, 6,03% e 5,30%, respectivamente.

Resultado semelhante ao obtido no presente trabalho foi observado no estudo realizado por Vicentini, Castro e Cereda (1999), no qual foi avaliada a influência de películas de fécula de mandioca na qualidade pós-colheita de frutos de pimentão. A perda de massa foi gradual e contínua em todos os tratamentos no decorrer do armazenamento (12 dias) e não houve diferença significativa entre a testemunha e os demais tratamentos.

Borges et al. (2013) avaliaram a conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e de óleo essencial de sálvia e constataram que, independente do tratamento, a perda de massa aumentou significativamente durante os 12 dias de armazenamento.

A perda de massa de frutas e hortaliças durante o armazenamento ocorre principalmente devido a transpiração e a respiração (LEMOS, 2006). A transpiração, caracterizada pela perda de água, leva ao murchamento e amolecimento dos tecidos, tornando os frutos mais susceptíveis as deteriorações, bem como alterações no sabor e aparência (HOJO, 2005). A respiração, por sua vez, também causa redução de massa, pois átomos de carbono são perdidos do fruto toda vez que uma molécula de CO₂ é produzida e perdida para a atmosfera (BHOWMIK; PAN, 1992).

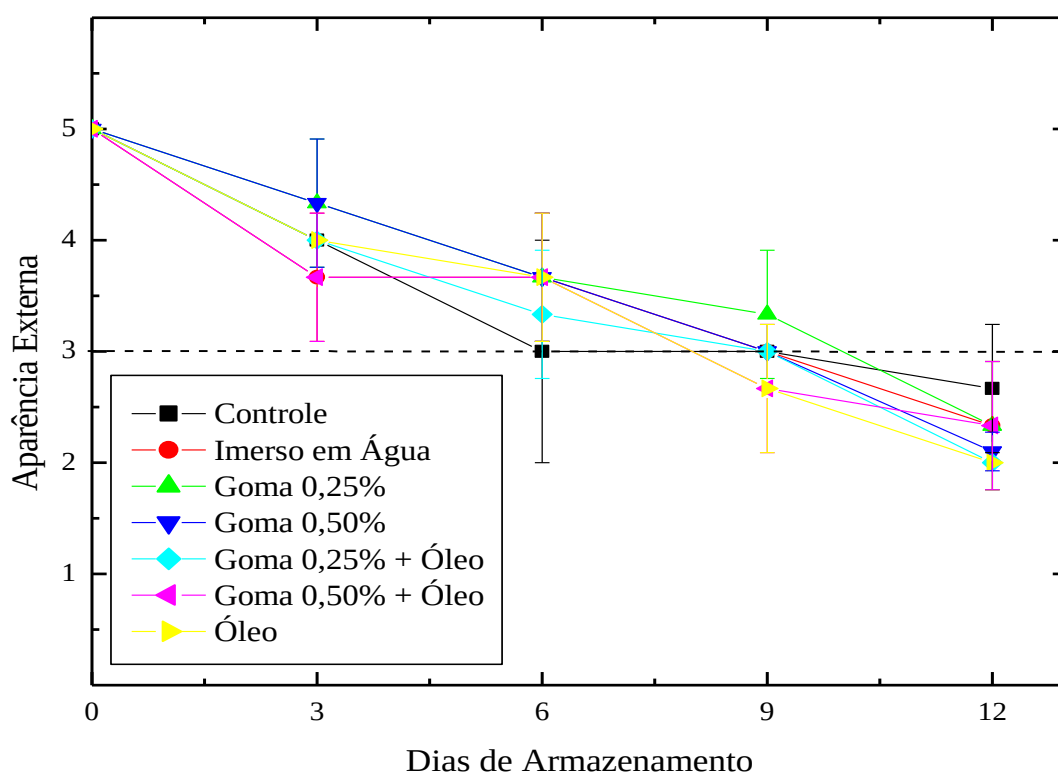
5.4.2 Aparência externa

Observou-se que as formulações do recobrimento aplicadas aos pimentões apresentaram boa aparência, sendo que, com o aumento da concentração da goma, observou-se visualmente uma melhor aderência do revestimento ao fruto.

Quanto à ação das formulações em preservar a aparência dos frutos em si, constatou-se a ineficiência destas, indiferente da formulação avaliada. A linha pontilhada na

figura 11 demonstra que os frutos com nota igual ou inferior a três foram considerados impróprios para o consumo.

Figura 11 – Aparência externa das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento à 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

Souza et al. (2009), avaliando a conservação pós-colheita de berinjela com revestimentos de fécula de mandioca ou filme de PVC, observaram que houve interação significativa entre os tipos de revestimento e o tempo de armazenamento, quanto à aparência externa; e que houve perda de qualidade externa no final do armazenamento, sendo mais nítida para os tratamentos controle e fécula quando comparado ao filme plástico.

Oliveira et al. (2011), ao estudarem o efeito do revestimento de tomate com biofilme na aparência externa e perda de massa durante o armazenamento, observaram que os tomates revestidos com o biofilme adquiriram inicialmente melhoras em sua aparência, entretanto, durante o armazenamento, o biofilme restringiu excessivamente à troca de gases, visto que o amadurecimento normal do fruto não ocorreu.

Santos et al. (2011), ao testarem o uso de biofilmes comestíveis (à base de fécula de mandioca) na conservação pós-colheita de tomates e pimentões em duas temperaturas (12°C e 24°C) de armazenamento, constataram que para pimentão a película na concentração

de 4% tem o inconveniente de descascar, comprometendo a aparência do produto principalmente na temperatura a 24°C. Para o armazenamento à 12°C a melhor aparência ao final do armazenamento foi observada para a amostra com 3% de fécula.

5.4.3 Cor

A presença dos recobrimentos, indiferente de qual revestimento se tratasse, não interferiu na cor dos pimentões analisados, sendo que, ao final dos doze dias de armazenamento, os frutos foram considerados, pelos avaliadores, verdes com traços vermelhos, como consta nas figuras 12, 13, 14, 15 e 16.

Figura 12 –Pimentões ‘Dahra’ na caracterização. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



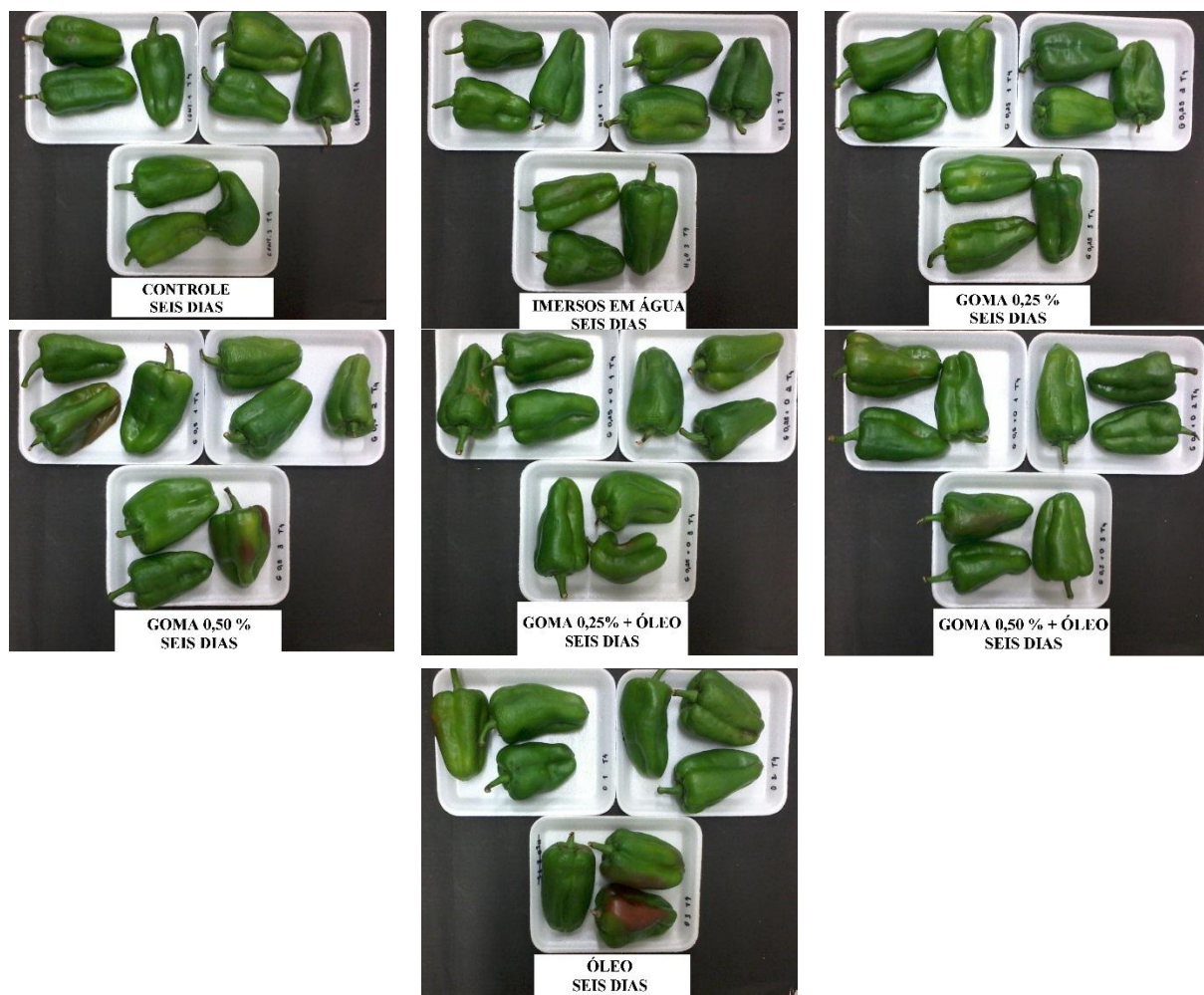
FONTE: Elaborada pela autora.

Figura 13 – Pimentões ‘Dahra’ aos três dias de armazenamento à 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



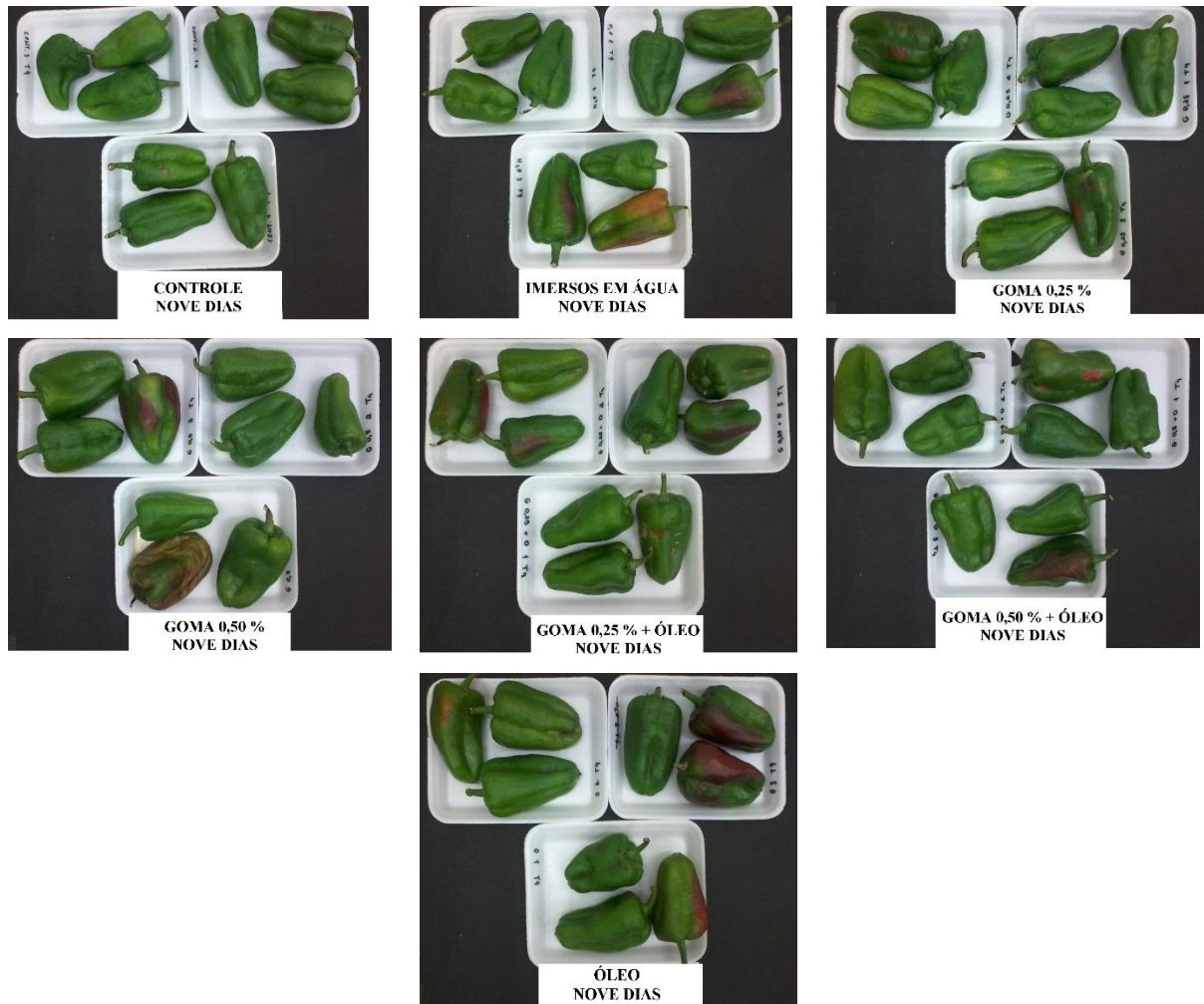
FONTE: Elaborada pela autora.

Figura 14 – Pimentões ‘Dahra’ aos seis dias de armazenamento à 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



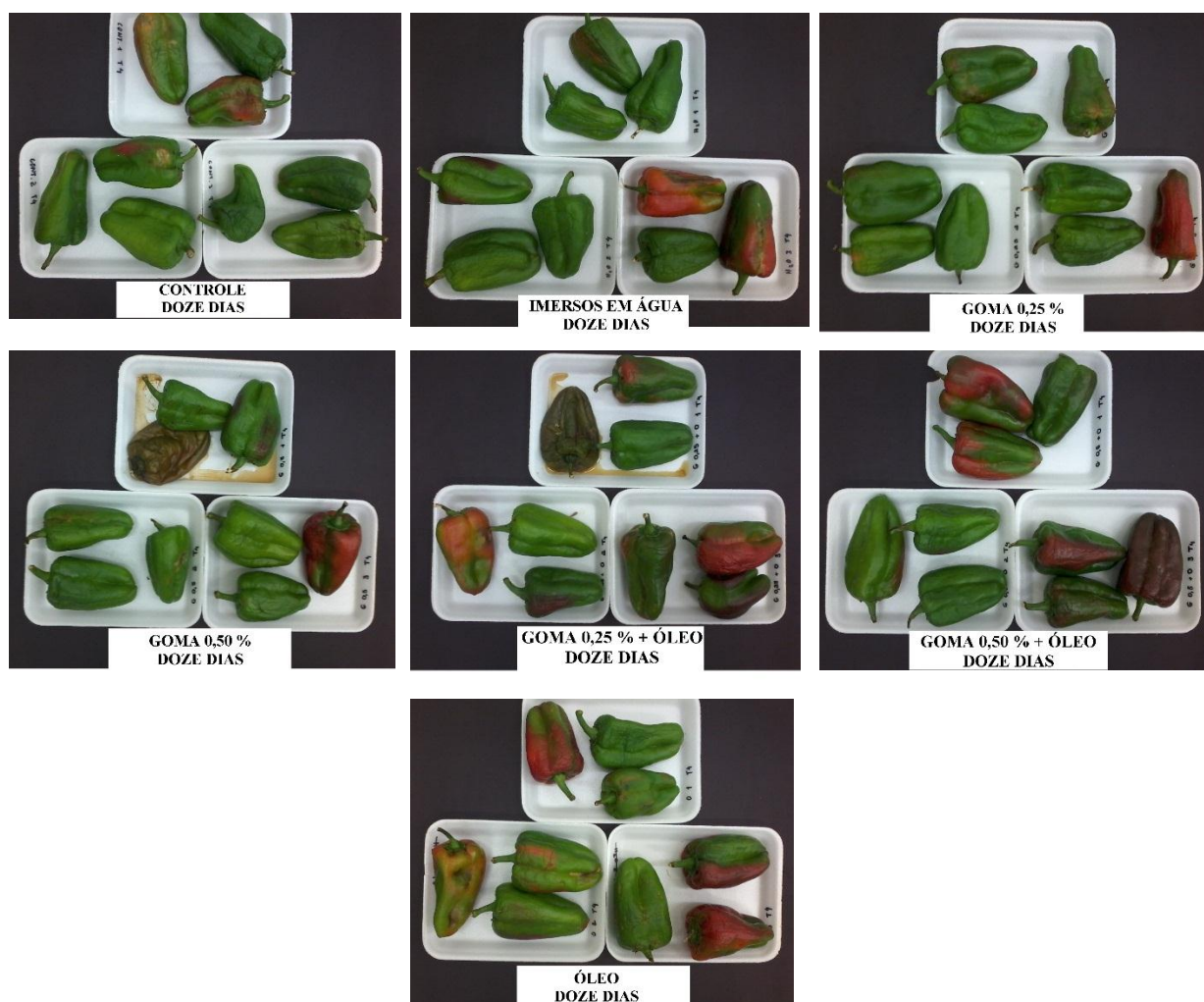
FONTE: Elaborada pela autora.

Figura 15 – Pimentões ‘Dahra’ aos nove dias de armazenamento à 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

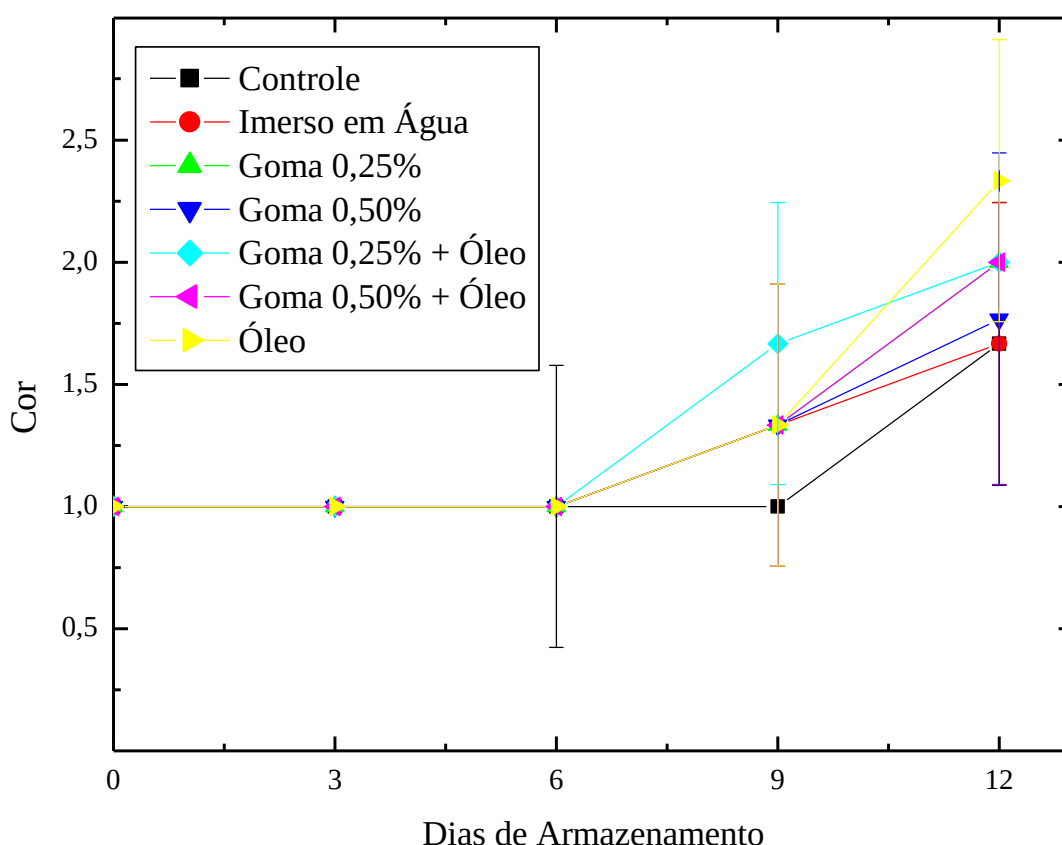
Figura 16 – Pimentões ‘Dahra’ aos doze dias de armazenamento à 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

A figura 17 demonstra a evolução da cor dos pimentões ao longo dos doze dias de armazenamento.

Figura 17 – Cor das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento à temperatura de 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte, 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

De acordo com Wang (1977) e Ahrens e Barmore (1988) a diminuição nos níveis de O_2 e CO_2 retardam a mudança da cor. Logo, apesar dos revestimentos apresentarem como principal componente um polissacarídeo e de os revestimentos com esta característica apresentarem, geralmente, boa impermeabilidade contra O_2 e CO_2 , aparentemente as formulações testadas não possuem boa ação de barreira contra os gases citados.

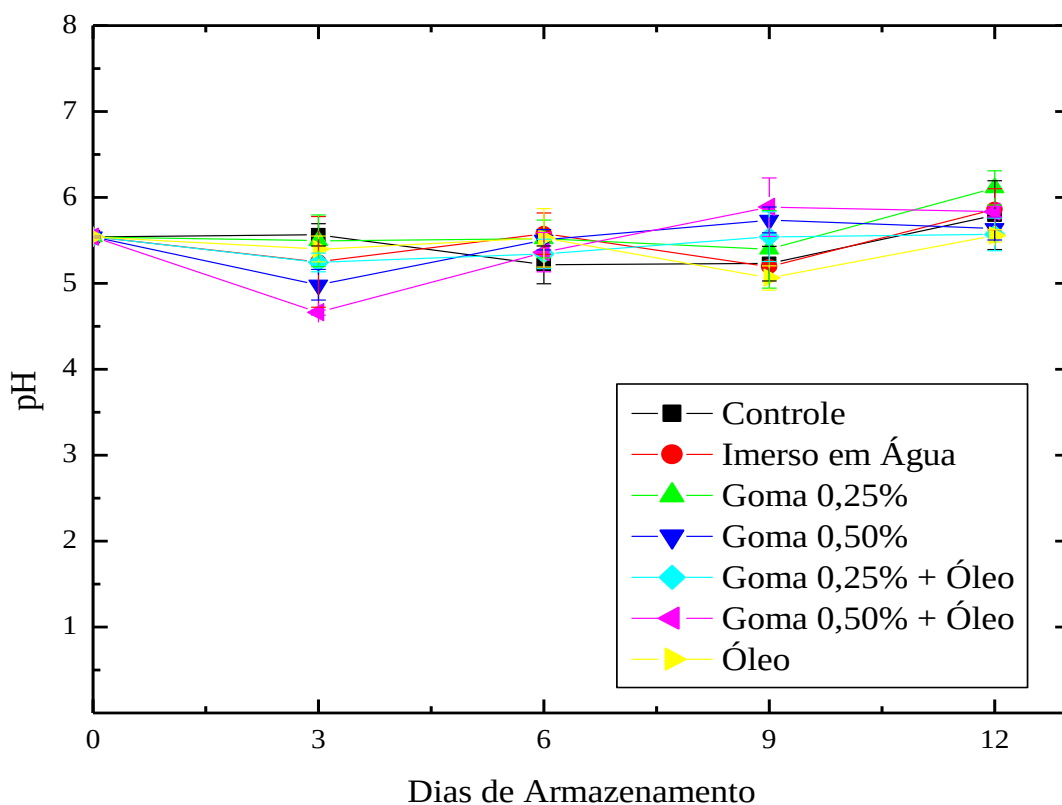
Hojo et al. (2007), avaliando o uso de películas de mandioca e PVC na conservação pós-colheita de pimentão, constataram que as variáveis L^* e a^* , associadas à coloração dos frutos, não foram influenciadas pelo fator tratamento, embora tenham sido afetadas pelo tempo de armazenamento.

Borges et al. (2013) avaliaram a conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e de óleo essencial de sálvia e constataram que os tratamentos não influenciaram na tonalidade do fruto.

5.4.4 pH

Houve um aumento no pH das amostras ao longo do armazenamento sendo o valor inicial 5,54 e o final 5,77 (figura 18).

Figura 18 – Variação de pH das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento à temperatura de 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

Importante observar que, segundo Lemos (2006), o pH aumenta com a diminuição da acidez, que tende a diminuir durante o amadurecimento do fruto.

Portanto, no presente trabalho, ao longo do armazenamento, houve um acréscimo do pH das amostras analisadas, o que é indicativo de amadurecimento dos pimentões.

Haertel (2013), ao avaliar compostos bioativos e características físico-químicas de morangos cv. Camarosa minimamente processados submetidos a revestimentos à base de gelatina, de xantana e de óleo de canola, constatou que, após 15 dias de armazenamento, todos

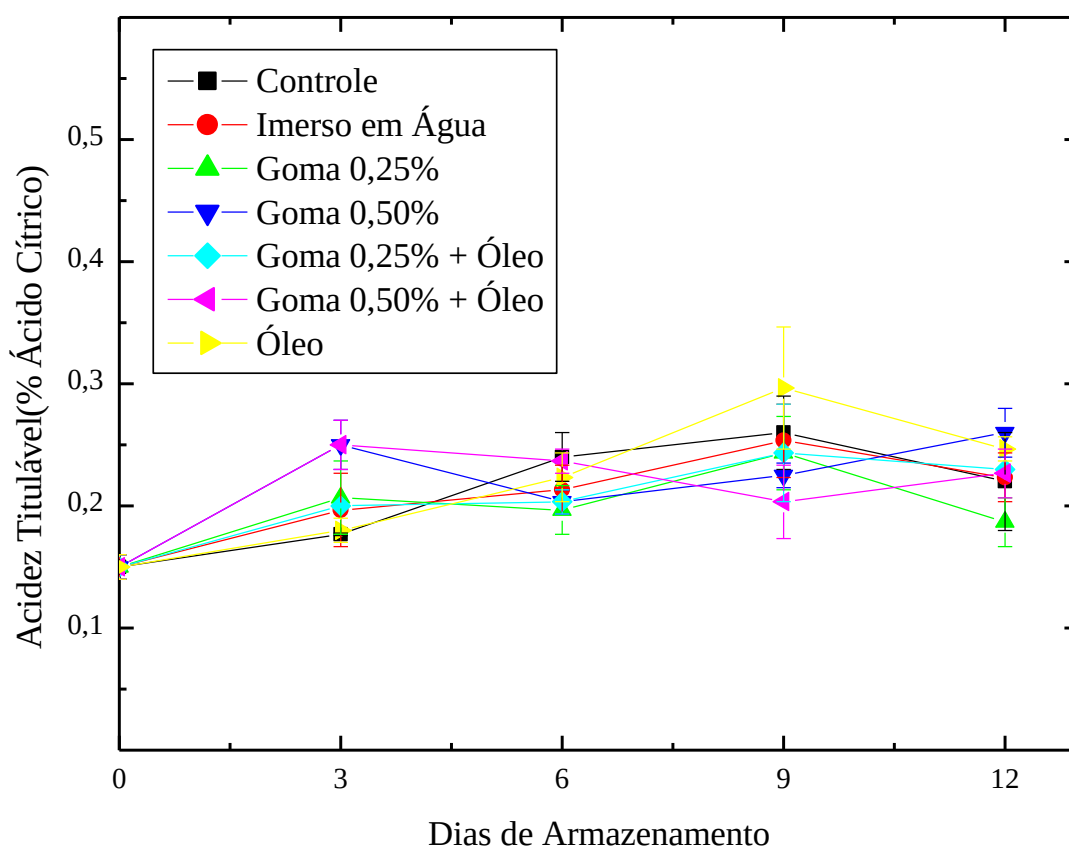
os valores de pH foram superiores aos encontrados no primeiro dia do estudo, incluindo o valor da amostra controle.

Já Vicentini, Castro e Cereda (1999), ao avaliarem a ação de películas de fécula de mandioca na qualidade pós-colheita de frutos de pimentão, afirmaram que não houve variação significativa do pH ao longo do armazenamento, nem em relação aos tratamentos, nem em relação aos tempos, sendo em média 4,4 o pH das amostras avaliadas.

5.4.5 Acidez titulável

Houve oscilação na acidez titulável dos pimentões ao longo do armazenamento, sendo o valor no início do experimento 0,15% e ao final, em média 0,23% (figura 19).

Figura 19 – Variação da acidez titulável das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento à temperatura de 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

O teor de ácidos orgânicos tende a diminuir devido à sua oxidação no ciclo de ácidos tricarboxílicos. Como durante o amadurecimento ocorre uma maior demanda

energética pelo aumento do metabolismo, ocorre a diminuição dos ácidos orgânicos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Observou-se que apenas a partir dos 12 dias de armazenamento houve um decréscimo da acidez titulável das amostras, logo, somente a partir deste dia os pimentões encontravam-se em processo mais avançado de amadurecimento, quanto ao parâmetro acidez titulável, apresentando um maior consumo dos ácidos orgânicos.

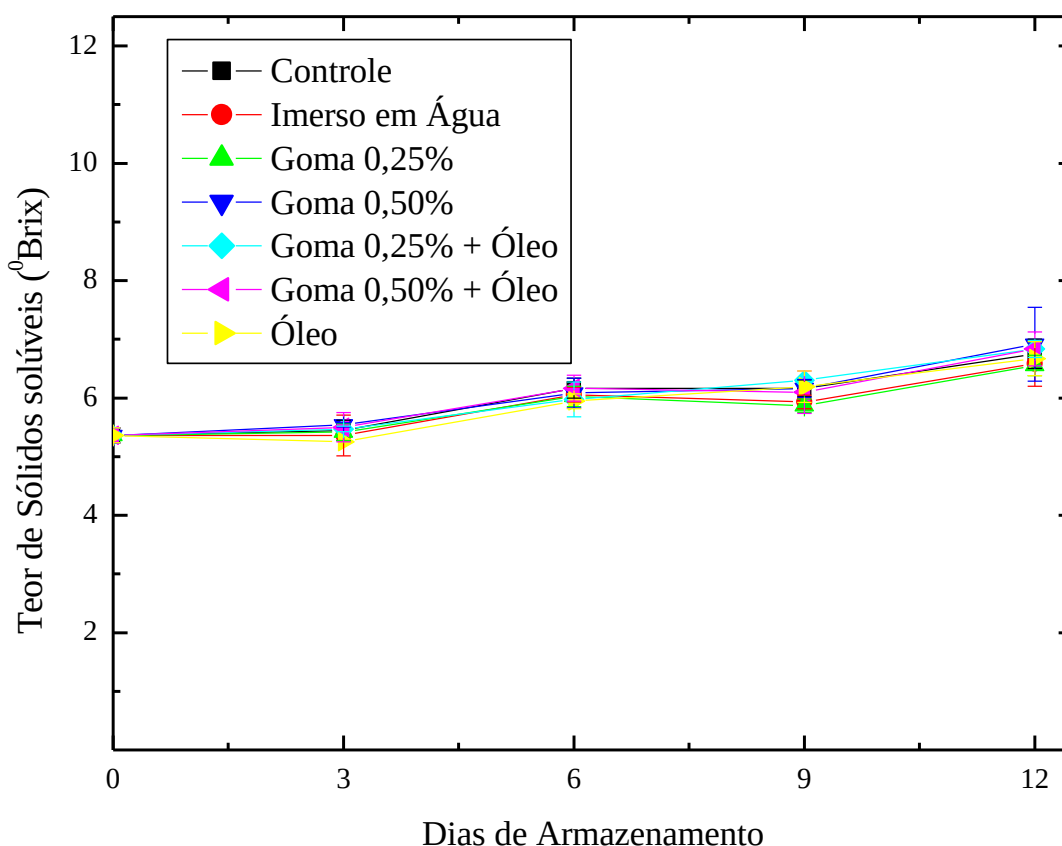
Em estudo realizado por Costa et al. (2012), avaliando a ação de coberturas comestíveis compostas por quitosana e argila em tomates sob refrigeração pelo método *dipping*, constatou-se que houve um pequeno aumento na acidez titulável do início até a metade do período de conservação, e em seguida uma diminuição, de 0,50% a 0,40% para ambos os tratamentos.

Haertel (2013), ao avaliar compostos bioativos e características físico-químicas de morangos cv. Camarosa minimamente processados submetidos a revestimentos à base de gelatina, de xantana e de óleo de canola, constatou que, de um modo geral, o conteúdo de acidez oscilou no decorrer do tempo, no entanto, os conteúdos encontrados ao final do experimento foram inferiores aos conteúdos iniciais das amostras para todos os tratamentos utilizados.

5.4.6 Sólidos solúveis

A presença dos recobrimentos, indiferente de qual, não influenciou de forma positiva ou negativa a variável sólidos solúveis. Sendo que, a partir do sexto dia de armazenamento, houve um aumento no teor de sólidos solúveis dos pimentões. Com posterior estabilização no nono dia de armazenamento e, no último dia do experimento (12º), houve um aumento no seu valor. Ao final do experimento, os sólidos solúveis eram equivalentes a 6,7ºBrix (figura 20).

Figura 20 – Variação dos sólidos solúveis das amostras de pimentão ‘Dahra’ ao longo de doze dias de armazenamento à temperatura de 26,1°C e umidade relativa de 38,85%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.



FONTE: Elaborada pela autora.

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), o teor de sólidos solúveis apresenta a tendência de aumento com a maturação, seja por biossíntese, pela degradação de polissacarídeos, ou, ainda, pela excessiva perda de água dos frutos.

Lemos et al. (2007), ao avaliarem a utilização de biofilme comestível na conservação de pimentão ‘Magali R’ em duas condições de armazenamento, constataram que os teores de sólidos solúveis dos frutos dos pimentões não foram afetados significativamente pelos tratamentos com fécula de mandioca e pelo armazenamento em temperatura ambiente até 20 dias. Os autores ainda afirmam que houve um aumento no teor de sólidos solúveis no decorrer do período de armazenamento.

Pizato et al. (2013), ao avaliarem o efeito da aplicação de diferentes revestimentos comestíveis na conservação de maçãs ‘Royal Gala’ minimamente processadas, observaram que os sólidos solúveis totais oscilaram durante o armazenamento, com tendência de aumento. No entanto, os frutos com revestimento à base de goma xantana, assim como o revestimento à base de goma tara, apresentaram menor acréscimo da variável.

5.5 Análise microbiológica das amostras de pimentão ‘Dahra’ revestidas ou não (controle) com as formulações do recobrimento comestível avaliado

De acordo com os critérios exigidos pela legislação vigente no Brasil, representada pela Resolução nº 12 de 02/01/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para hortaliças frescas, *in natura*, inteiras, selecionadas ou não, com exceção de cogumelos, o padrão microbiológico recomendado é apenas ausência de *Salmonella* sp. em 25g de amostra (BRASIL, 2001). No entanto, no presente trabalho também se realizou a contagem de coliformes totais, termotolerantes e avaliou-se a presença ou ausência de *E.coli* por ser um produto (frutos revestidos) de origem vegetal proveniente de uma plantação que realiza adubação química e com matéria orgânica e utiliza água de poço (sem tratamento) para a irrigação. Realizou-se também a contagem de bolores e leveduras para avaliar a ação *in vivo* do óleo essencial de cravo-da-índia contra microrganismos de origem fúngica, provenientes das amostras de pimentão.

5.5.1 Coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli*

Os coliformes podem ser divididos em dois grupos: coliformes totais (35 °C) e coliformes termotolerantes (45 °C) ou coliformes fecais. Atualmente sabe-se que o grupo dos coliformes termotolerantes inclui pelo menos quatro gêneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* (SIQUEIRA, 1995), sendo que a presença de coliformes termotolerantes é menos representativa como indicadora de contaminação fecal do que a enumeração direta de *E.coli* (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

Bactérias como *E.coli* têm como habitat primário o trato intestinal de animais e do homem. Podem estar presentes no esterco utilizado na adubação de culturas organicamente cultivadas e em outros ambientes, como solos e vegetais, podendo haver contaminação dos produtos (ALCÂNTARA, 2009).

Não houve diferença significativa entre os frutos (revestidos ou não) quanto ao crescimento de coliformes totais ao longo dos dias de armazenamento; logo, a presença do revestimento comestível, indiferente da formulação, não foi eficiente em controlar o desenvolvimento de coliformes totais. No entanto, observa-se uma tendência, aos doze dias, dos pimentões revestidos com goma 0,25% e goma 0,25% + óleo apresentarem menor NMP/g de coliformes totais (tabela 4).

Tabela 4 – NMP/g de coliformes totais (35°C) das amostras de pimentão revestidas ou não (controle) com as diferentes formulações do revestimento comestível avaliado, armazenadas à temperatura de 27,5°C e umidade relativa de 41,75%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte, 2015.

Revestimentos	Dias de armazenamento		
	Caracterização	Seis dias	Doze dias
Controle	1205,5 aA	2400,0 aA	2400,0 aA
Imersos em água	1205,5 aA	2400,0 aA	2400,0 aA
Goma 0,25%	1205,5 aA	2400,0 aA	1430,0 aA
Goma 0,50%	1205,5 aA	2400,0 aA	2400,0 aA
Goma 0,25% + óleo	1205,5 aA	2400,0 aA	1305,0 aA
Goma 0,50% + óleo	1205,5 aA	2400,0 aA	2400,0 aA
Óleo	1205,5 aA	2400,0 aA	2400,0 aA

FONTE: Elaborada pela autora.

*As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto aos coliformes termotolerantes, não houve diferença significativa segundo a análise de variância entre os tratamentos. A tabela 5 demonstra o NMP/g de coliformes termotolerantes nas amostras de pimentão analisadas. Portanto, não houve inibição do crescimento de coliformes termotolerantes pelas formulações do revestimento aplicado. No entanto, embora não de forma significativa, observa-se que os pimentões que possuíam o óleo essencial de cravo-da-índia apresentaram, aos seis dias de armazenamento, menor NMP/g de coliformes termotolerantes.

Tabela 5 – NMP/g de coliformes termotolerantes (45°C) das amostras de pimentão, revestidas ou não (controle) com as diferentes formulações do revestimento comestível avaliado, armazenadas à temperatura de 27,5°C e umidade relativa de 41,75%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.

Revestimentos	Caracterização	Seis dias de armazenamento	Doze dias de armazenamento
Controle	3	6,5	<3
Imersos em água	3	4,5	<3
Goma 0,25%	3	2,5	<3
Goma 0,50%	3	4,5	<3
Goma 0,25% + óleo	3	2,0	<3
Goma 0,50% + óleo	3	2,0	15
Óleo	3	2,0	8,5

FONTE: Elaborada pela autora.

Constatou-se a presença de *E.coli* apenas no último tempo de armazenamento, somente nos pimentões revestidos com as formulações goma 0,50% + óleo e óleo. A tabela 6 demonstra o resultado obtido.

Tabela 6 – Presença ou ausência de *E. coli* nas amostras de pimentão, revestidas ou não (controle) com as diferentes formulações do revestimento comestível avaliado, armazenadas à temperatura de 27,5°C e umidade relativa de 41,75%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.

<i>E.coli</i>			
Revestimentos	Caracterização	Seis dias de armazenamento	Doze dias de armazenamento
Controle	Ausente	Ausente	Ausente
Imersos em água	Ausente	Ausente	Ausente
Goma 0,25%	Ausente	Ausente	Ausente
Goma 0,50 %	Ausente	Ausente	Ausente
Goma 0,25% + óleo	Ausente	Ausente	Ausente
Goma 0,50% + óleo	Ausente	Ausente	Presente
Óleo	Ausente	Ausente	Presente

FONTE: Elaborada pela autora.

A presença de *E.coli*, apenas no último tempo de armazenamento e somente em pimentões de duas formulações, pode ter diversas causas. Considerando que todos os cuidados higiênico-sanitários foram tomados com as amostras ao longo do experimento, pode ter ocorrido contaminação por ação de insetos. Como os pimentões não estavam em ambiente fechado, insetos podem os ter percorrido, contaminando-os. Assim como não pode ser excluída a ideia de contaminação proveniente do campo. Considerando que em uma plantação os tipos e a quantidade de microrganismos não estão igualmente divididos, os pimentões podem ter trazido do campo espécies diferentes de microrganismos e em quantidades diferentes. Isso poderia inclusive explicar o fato de que em alguns casos houve redução do número mais provável de coliformes ao longo do armazenamento, como, por exemplo, os frutos controle, que, aos seis dias, apresentavam NMP/g de coliformes termotolerantes equivalente a 6,5 e aos doze dias apresentavam NMP/g equivalente a <3.

A redução do número mais provável de coliformes por grama em algumas amostras ainda pode ter ocorrido pelo fato de que ao longo do armazenamento, com a deterioração dos frutos, pode haver uma redução do substrato necessário para a sobrevivência dos microrganismos, ocasionando uma redução do número de suas células viáveis.

Arruda et al. (2011), ao avaliar o uso de atmosfera modificada (filme plástico) em laranja ‘Pêra’ minimamente processada, declararam que não foram detectados coliformes totais e termotolerantes em nenhuma das amostras de todos os tratamentos testados.

Duarte (2006), avaliando o reuso de água residuária tratada na irrigação da cultura do pimentão, constatou que os frutos produzidos no experimento apresentaram contagem de coliformes fecais sempre inferior a 2,2NMP/g.

Pizato et al. (2014), ao avaliarem a qualidade microbiológica e sensorial de abacaxi (*Smooth Cayenne*) minimamente processado, revestido com diferentes gomas (goma pectina, goma tara e goma xantana), constataram a ausência de *E. coli* no produto avaliado.

5.5.2 Bolors e leveduras

O desenvolvimento de fungos pode provocar aumento do pH de alimentos ácidos para valores de pH favoráveis ao desenvolvimento de bactérias patogênicas, como, por exemplo, *Salmonella* sp., podendo desencadear surtos de toxinfecção no consumidor (WADE et al., 2003) ou bactérias deterioradoras que diminuem a vida de prateleira do produto (ALCÂNTARA, 2009).

Pode-se observar na tabela 7 que a presença do óleo essencial não foi eficiente em inibir o crescimento fúngico nas amostras analisadas.

Tabela 7 – UFC/g de bolors e leveduras nas amostras de pimentão, revestidas ou não (controle) com as diferentes formulações do revestimento comestível avaliado, armazenadas à temperatura de 27,5°C e umidade relativa de 41,75%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.

Revestimentos	Caracterização	Seis dias de armazenamento	Doze dias de armazenamento
Controle	$3,8 \times 10^4$	Incontável	Incontável
Imersos em água	$3,8 \times 10^4$	Incontável	Incontável
Goma 0,25%	$3,8 \times 10^4$	Incontável	Incontável
Goma 0,50%	$3,8 \times 10^4$	Incontável	Incontável
Goma 0,25% + óleo	$3,8 \times 10^4$	Incontável	Incontável
Goma 0,50% + óleo	$3,8 \times 10^4$	Incontável	Incontável
Óleo	$3,8 \times 10^4$	Incontável	Incontável

FONTE: Elaborada pela autora.

A ineficiência das formulações analisadas, no presente estudo, inclusive as que possuíam o óleo essencial de cravo-da-índia em sua formulação, em inibir o desenvolvimento fúngico nas amostras analisadas pode ser justificada pela alta volatibilidade dos óleos

essenciais, assim como pela alta facilidade de oxidação deles, quando em contato com o ar (ABREU, 2006).

Apesar da legislação brasileira não estabelecer limites de bolores e leveduras para hortaliças frescas, *in natura*, inteiras, selecionadas ou não, alimentos contendo contagem microbiana acima de 10^5 e 10^6 são considerados impróprios para o consumo humano (VERZELETTI; FONTANA; SANDRI, 2010).

Considerando esses resultados, temos que todas as amostras, a partir do sexto dia de armazenamento, estavam impróprias para o consumo quanto ao parâmetro analisado.

Borges et al. (2013), avaliando a conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e de óleo essencial de sálvia, relataram, quanto à contagem de bolores e leveduras, que a maior contagem foi $1,4 \times 10^8$ UFC/g para os frutos recobertos por óleo essencial de sálvia e Tween 80 e a menor contagem para o tratamento composto por óleo essencial de sálvia, goma xantana, glicerol e Tween 80, sendo a mesma $5,8 \times 10^7$ UFC/g.

Pizato et al. (2013), ao testarem o efeito da aplicação de diferentes gomas (tara, xantana e alginato de sódio) associado com ácido cítrico, ascórbico e cloreto de cálcio, em relação às características de qualidade na conservação de maçãs ‘Royal Gala’ minimamente processadas, constataram que o tratamento composto por goma xantana, ácido ascórbico, ácido cítrico, CaCl_2 e glicerol, assim como o tratamento composto por goma tara, ácido ascórbico, ácido cítrico, CaCl_2 e glicerol obtiveram o menor crescimento de bolores e leveduras em 12 e 15 dias de armazenamento em relação aos outros tratamentos.

5.5.3 *Salmonella* sp.

Constatou-se que apenas os frutos revestidos com a formulação que possuía somente o óleo essencial de cravo-da-índia não apresentaram a presença de *Salmonella* sp. aos seis e doze dias de armazenamento. No entanto, na caracterização houve a detecção dela.

Para todas as outras formulações, em todos os tempos de armazenamento, observou-se a presença de *Salmonella* sp., como consta na tabela 8.

Tabela 8 – Avaliação da presença ou ausência de *Salmonella* sp. em 25g das amostras de pimentão, revestidas ou não (controle) com as diferentes formulações do revestimento comestível avaliado, armazenadas à temperatura de 27,5°C e umidade relativa de 41,75%. IFCE – Campus Limoeiro do Norte. 2015.

Revestimentos	Caracterização	Seis dias de armazenamento	Doze dias de armazenamento
Controle	Presente	Presente	Presente
Imersos em água	Presente	Presente	Presente
Goma 0,25%	Presente	Presente	Presente
Goma 0,50%	Presente	Presente	Presente
Goma 0,25% + óleo	Presente	Presente	Presente
Goma 0,50% + óleo	Presente	Presente	Presente
Óleo	Presente	Ausente	Ausente

FONTE: Elaborada pela autora.

Com base nos resultados obtidos, apenas as amostras que foram revestidas com o recobrimento que possuía somente o óleo essencial de cravo-da-índia (aos seis e doze dias de armazenamento) encontravam-se aptas ao consumo segundo a legislação vigente.

Na caracterização, todas as amostras apresentaram a presença de *Salmonella* sp., contudo, da mesma forma que para os coliformes, para esta bactéria pode ser alegado que em uma plantação não há uma divisão igualitária de microrganismos ao longo dela. Logo, pode se supor que alguns pimentões podem ter trazido *Salmonella* sp. do campo e outros não.

A contaminação das amostras de pimentão por *Salmonella* sp. pode ser proveniente do solo, da água ou ainda de contaminação por fezes (SIQUEIRA, 1995). Tendo em vista que a água utilizada na empresa fornecedora das amostras de pimentão era proveniente de poço e não sofria tratamento algum, poderia ser fonte de inúmeros tipos de microrganismos.

Quando a qualidade da água utilizada na irrigação é negligenciada poderão ocorrer efeitos indesejáveis na condução de uma cultura comercial ou ela poderá servir como veículo para contaminação da população, no momento em que ocorre a ingestão dos alimentos que receberam essa água contaminada (MANTOVANI et al., 2006).

Outra provável fonte de *Salmonella* sp. nas amostras de pimentão utilizadas no presente estudo poderia ser o adubo proveniente de matéria orgânica utilizado na plantação.

Segundo Alcântara (2009), o habitat primário de *Salmonella* sp. é o trato intestinal de animais homeotérmicos piciledérmicos, como aves, répteis e animais de produção, de seres humanos, e ocasionalmente de insetos. A utilização de esterco animal pode contaminar os produtos provenientes da área de plantação pela presença de *Salmonella* sp.

Pizato et al. (2013), ao testarem o efeito da aplicação de diferentes gomas (tara, xantana e alginato de sódio) associado com ácido cítrico, ascórbico e cloreto de cálcio, em relação às características de qualidade na conservação de maçãs ‘Royal Gala’ minimamente processadas, constataram ausência de *Salmonella* sp. nas amostras analisadas.

Cortez-Vega et al. (2013) avaliaram a conservação de mamão minimamente processado com uso de revestimento comestível à base de goma xantana e constataram a ausência de *Salmonella* sp. nas amostras analisadas.

Pizato et al. (2014), ao avaliarem a qualidade microbiológica e sensorial de abacaxi minimamente processado, revestidos com diferentes gomas (goma pectina, goma tara e goma xantana), constataram a ausência de *Salmonella* sp. no produto avaliado.

6 CONCLUSÕES

O óleo essencial de cravo-da-índia apresenta ação antifúngica *in vitro* contra *Colletotrichum* sp. e *Aspergillus* sp., sendo a concentração inibitória mínima, quanto aos dois gêneros fúngicos, 750ppm.

As formulações do revestimento comestível avaliado não alteraram os parâmetros físico-químicos para o pimentão ‘Dahra’.

Em termos microbiológicos, existe um indício de que apenas o revestimento com óleo essencial reduziu a presença de *Salmonella* sp.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. L. M. **Controle de alternaria solani em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. 2006. 82 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.
- ADAMS, R.P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4. ed. Carol Stream: Allured Pub. Corp., 2007. 803 p.
- AHRENS, M. J.; BARMORE, C. R. Interactive effects of washing, film wrapping and ethylene concentration on color development in grapefruit flavedo. **Sci. Hort.** v.34, p.275-281, 1988.
- ALCÂNTARA, E. M. **Caracterização física, química e microbiológica de morango, alface e cenoura orgânicos**. 2009. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.
- AREAS, M. S. **Identificação e caracterização de *Xanthomonas euvesicatoria* de pimentão no Brasil**. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) –Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2013.
- ARRUDA, M. C.; JACOMINO, A. P.; TREVISAN, M. J.; JERONIMO, E. M.; MORETTI, C. L. Atmosfera modificada em laranja ‘Pêra’ minimamente processada. **Bragantia**. Campinas, v. 70, p.664-671, 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the association of analytical chemists**. 12. ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists. 1992. p. 69.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 2000.
- AZEVEDO, C. P.; CAFÉ FILHO, A. C.; HENZ, G. P.; REIS, A. **Recomendações de manejo da antracnose do pimentão e das pimentas**. 1. ed. Brasília: Embrapa hortaliças, 2006, 6p.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3^a ed. Burgess publishing company, Minneapolis, Minnesota. 1972.
- BHOWMIK, S. R.; PAN, J. C. Shelf life of mature green tomatoes stored in controlled atmosphere and high humidity. **Journal of Food science**, v. 57, p. 948-953, 1992.
- BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. R. B.; ZAMBIAZI, R. C.; NOGUEIRA, D.; PINTO, E. M.; PAIVA, F. F. Conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e óleo essencial de sálvia. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, p. 1071-1083, 2013.
- BRASIL. RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 10 de jan. 2001.
- BUSSEL, J.; KENIGSBERGER, Z. Packaging green bell peppers in selected permeability films. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 40, p. 1300-1303, 1975.

CAO, N.; FU, Y.; HE, J. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1153-1162, 2007.

CARVALHO, J. B. **Potencial fungitóxico de *Cymbopogon citratus* (dc.) stapf. e *Cymbopogon martinii* (roxb.) j. f. watson a *Colletotrichum* sp. e proteção pós-colheita de frutos de pimentão.** 2006. 60 f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

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

CORTEZ-VEGA, W. R.; PIOTROWICZ, I. B. B.; PRENTICE, C.; BORGES, C. D. Conservação de mamão minimamente processado com uso de revestimento comestível à base de goma xantana. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, p. 1753-1764, 2013.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.13, p.240-245, 2011.

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

DRUZIAN, J. I.; PAGLIARINI, A. P. Produção de goma xantana por fermentação do resíduo de suco de maçã. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p.26-31, 2007.

DUARTE, A. M. S. **Reuso de água residuária tratada na irrigação da cultura do pimentão (*Capsicum annun* L.).** 2006. 187 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.** 3. ed. Viçosa: Editora UFV. 2008. p. 242.

FILGUEIRA, F. A. R. **Solanáceas: agrotecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, pimenta, berinjela e jiló.** Viçosa: UFV, 2003. p.333.

FINGER, F. L.; SILVA, D. J. H. da. **Cultura do pimentão e pimentos.** In: Fontes, P.C.R. Olericultura - teoria e pratica. Viçosa, MG, cap. 27, p. 429, 2005.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: Production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, p.549-579, 2000.

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

HAERTEL, A. O. S. **Compostos bioativos e características físico-químicas de morangos cv. Camarosa minimamente processados submetidos a revestimentos à base de gelatina,**

xantana e óleo de canola. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L.; PEREIRA, P. R. V. S.; MOURÃO JUNIOR, M. **Aspectos agrônômicos de híbridos de pimentão em cultivo protegido em Roraima.** Boa Vista: Embrapa. 2005. 15p.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L.; PEREIRA, P. R. V. S.; MOURÃO JUNIOR, M. Incidência da antracnose em frutos de cinco híbridos de pimentão em condições de cultivo protegido. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p.33, 2004.

HOJO, E. T. D.; CARDOSO, A. D.; HOJO, R. H.; VILAS BOAS, E. V. B.; ALVARENGA, M. A. Uso de películas de fécula de mandioca e PVC na conservação pós-colheita de pimentão. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.184-190, 2007.

HOJO, E. T. D. **Qualidade de mangas ‘Palmer’ tratadas com 1-metilciclopropeno e armazenadas sob refrigeração.** 2005. 127 f. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas:** métodos químicos e físico-químicos para análise de alimentos. 2 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. 1985. 371 p.

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 Microbiology**, v. 91, p.453-462, 2001.

LEMOS, O. L.; REBOUÇAS, T. N. H.; SÃO JOSÉ, A. R.; VILA, M. T. R.; SILVA, K. S. Utilização de biofilme comestível na conservação de pimentão ‘Magali R’ em duas condições de armazenamento. **Bragantia**, v. 66, p.693-699, 2007.

LEMOS, O. L. **Utilização de biofilmes comestíveis na conservação pós-colheita de pimentão ‘Magali R’.** 2006. 115 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) -Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2006.

LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. **Doenças do pimentão:** Diagnose e controle. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2003. 6 p.

LORENZETTI, E. R. **Controle de doenças do morangueiro com óleos essenciais e *Trichoderma ssp.*** 2012. 107 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MAIA, T. F. ***Aspergillus* da seção *nigri* de interesse biotecnológico isolados de solo e serrapilheira.** 2014. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

MANTOVANI, E.C.; BERNARDO, S.; PALARTTI, L.F. **Irrigação:** princípios e métodos. Viçosa: UFV. 2006. p.328.

MOREIRA, S. O. **Caracterização morfológica e molecular de pré-cultivares de *Capsicum annuum* L. com resistência à mancha-bacteriana.** 2012. 124f. Dissertação (Genética e

Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual Norte Fluminense “Darcy Ribeiro”, Campos Goytacazes, 2012.

MOURA, R. D. **Produtos biológicos e alternativos no controle de doenças pós-colheita em melão Cantaloupe**. 2007. 72 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, 2007.

NELSON, L.N.; COX, M.M. **Lenhinger principles of biochemistry**. 3. ed. **Worth Publishers**, 2000.

OLIVEIRA, J. G.; ABREU FILHO, B. A. Propriedade antimicrobiana do eugenol frente às amostras de *Alicyclobacillus* spp. isoladas de suco de laranja. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. v. 71, p. 410-414, 2012;

OLIVEIRA, R. A.; REIS, T. V.; SACRAMENTO, C. K.; DUARTE, L. P.; OLIVEIRA, F. F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v. 19, p. 771-775, 2009.

OLIVEIRA, S. M. A.; DANTAS, S. A. F.; GURGEL, L. M. S. Indução de resistência em doenças pós colheita em frutas e hortaliças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 12, p. 343-371, 2004.

OLIVEIRA, T. A.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; FERREIRA, R. M. A. Efeito do revestimento de tomate com biofilme na aparência e perda de massa durante o armazenamento. **Revista Verde**, v. 6, p. 230 – 234, 2011.

PAHLOW, M. Das grosse buch der heilpflazen: gesund durch die heilkräft der natur. **Weltbild Verlag**. 526 p. 2004.

PARK, H.J.; CHINNAN, M. S. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **Journal Food Engineering**, v. 25, p.497-507, 1995.

PEREIRA, A. A.; CARDOSO, M. G.; ABREU, L. R.; MORAIS, A. R.; GUIMARÃES, L. G. L.; SALGADO, A. P. S. P. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 887-893, 2008.

PEREIRA, M. E. C.; SILVA, A. S.; BISPO, A. S. R.; SANTOS, D. B.; SANTOS, S. B.; SANTOS, V. J. Amadurecimento de mamão formosa com revestimento Comestível à base de fécula de mandioca. **Ciência e agrotecnologia**, v. 30, p. 1116-1119, 2006.

PEREIRA, R. B.; CARVALHO, A. D. F.; PINHEIRO, J. B. **Diagnose e controle alternativo de doenças em tomate, pimentão, cucurbitáceas e cenoura**. 1. ed. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013. 16 p.

PERRONE, G.; SUSCA, A.; COZZI, G.; EHRLICH, K.; VARGA, J.; FRISVAD, J. C.; MEIJER, M.; NOONIM, P.; MAHAKARNCHANAKUL, W.; SAMSON, R. A. Biodiversity Of *Aspergillus* species in some important agricultural products. **Studies in Mycology**, v. 59, p. 53-66, 2007.

PINHEIRO, A. C.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; MARTINS, J. T.; TEXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. **Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares**. Portugal: Sociedade Portuguesa de Biotecnologia. p. 18-28. 2010.

PIZATO, S.; CORTEZ-VEGA, W. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; BORGES, C. D. Efeito da aplicação de diferentes revestimentos comestíveis na conservação de maçãs ‘Royal Gala’ minimamente processadas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, p. 253-264, 2013.

PIZATO, S.; HONMA, J. M.; SILVA, G. F. A.; SANTOS, M. F.; COSTA, T. S.; CORTEZ-VEGA, W. R. Avaliação da Qualidade Microbiológica e Sensorial de Abacaxi (*Smooth Cayenne*) Minimamente Processado, Revestidos com Diferentes Gomas. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS – MICROAL ,n. 1, 2014, São Paulo, **Anais...** São Paulo: Editora Blucher, 2014.

PONTES, C. R. **Enriquecimento protéico do bagaço de caju através de fermentação semi-sólida utilizando *Aspergillus niger***. 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

RABÊLO, W. F. **Caracterização química, toxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.)**. 2010. 77 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2010.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. ***Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil**. Brasília: Embrapa, 2000. p.113.

ROSALAM, S.; ENGLAND, R. Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, p. 197-207, 2006.

ROZWALKA, L. C. **Controle alternativo da antracnose em frutos de goiabeira, em laboratório**. 2003. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

ROZWALKA, L. C.; LIMA, M. L. R. Z. C.; MIO, L. L. M.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, v.38, p.301-307, 2008.

ROZWALKA, L. **Óleos essenciais: Ação sobre *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum musae*, associados ou não a películas de fécula de mandioca no controle da antracnose em goiaba**. 2010. 198 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

SANTOS, A. E. O.; ASSIS, J. S.; BERBERT, P. A.; SANTOS, O. O.; BATISTA, P. F.; GRAVINA, G. A. Influência de biofilmes de fécula de mandioca e amido de milho na qualidade pós-colheita de mangas “Tommy Atkins”. **Revista Brasileira Ciência Agrária**, v.6, p.508-513, 2011.

SANTOS, A. F.; SILVA, F.V. G.; LOPES, M. F.; VIEIRA, M. M. S.; BEZERRA, J. M. Uso de biofilmes comestíveis na conservação pós-colheita de tomates e pimentões. **Revista Verde**, v.6, p. 146 – 153, 2011.

SANTOS, H. S.; GOTO, H. Enxertia em plantas de pimentão no controle da murcha de fitóftora em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v.22, p. 45-49, 2004.

SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de Piper sobre *Crinipellis perniciosa*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.143-145, 2007

SILVA, F. A. S. **ASSISTAT Versão 7.7 beta**. DEAG-CTRN-UFCG, Campina Grande-PB. 2012.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Varela. 1997. p. 101.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995. 159 p.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa e Agropecuária Brasileira**, v.35, p.1251-1259, 2000.

SOUZA JUNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, v.22, p. 77-83, 2009.

SOUZA, P. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, A. E. D.; COSTA, A. R. F. C.; FERREIRA, G. S.; NETO, F. B. Conservação pós-colheita de berinjela com revestimentos de fécula de mandioca ou filme de PVC. **Horticultura brasileira**, v. 27, p. 235-239, 2009.

VERZELETTI, A.; FONTANA, R. C.; SANDRI, I. G. Avaliação da vida-de-prateleira de cenouras minimamente processadas. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, p. 87-92, 2010.

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; PARENTE, G. B. **Controle das Principais doenças do pimentão cultivado nas regiões serranas do estado do Ceará**. 1. ed. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 4 p.

VICENTINI, N. M.; CASTRO, T. M. R.; CEREDA, M. P. Influência de películas de fécula de mandioca na qualidade pós-colheita de frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, p. 713-716. 1999.

WADE, W. N.; VASDINNYEI, R.; DEAK, T.; BEUCHAT, L. R.; Proteolytic yeasts isolated from raw, ripe tomatoes and metabiotic association of *Geotrichum candidum* with *Salmonella*. **International Journal of Food Microbiology**, v .1, p. 101-111, 2003.

WANG, C.Y. Effect of CO₂ treatment on storage and shelf life of sweet pepper. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.102, p.808-812, 1977.