



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

ISABELLA TEODORA DE FREITAS PONTES MACEDO

**REVESTIMENTO COMESTÍVEL DE QUITOSANA-FRUTOSE NO BIOCONTROLE
DE *Colletotrichum siamense* NO PÓS-COLHEITA DE GOIABA (*Psidium guajava* L.)**

Recife

2020

ISABELLA TEODORA DE FREITAS PONTES MACEDO

**REVESTIMENTO COMESTÍVEL DE QUITOSANA-FRUTOSE NO BIOCONTROLE
DE *Colletotrichum siamense* NO PÓS-COLHEITA DE GOIABA (*Psidium guajava* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de mestre em Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Thayza Christina Montenegro Stamford

Recife

2020

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Elaine Freitas, CRB4: 1790

M141r	Macedo, Isabella Teodora de Freitas Pontes Revestimento comestível de quitosana-frutose no biocontrole de <i>Colletotrichum siamense</i> no pós-colheita de goiaba (<i>Psidium guajava</i> L.) / Isabella Teodora de Freitas Pontes Macedo. – 2020. 55 f.; il., tab. Orientadora: Thayza Christina Montenegro Stamford. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2020. Inclui referências. 1. Frutas. 2. Reação de Maillard. 3. Fungos. 4. Antracnose. I. Stamford, Thayza Christina Montenegro (orientadora). II. Título. 613 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2020 - 100)
-------	--

ISABELLA TEODORA DE FREITAS PONTES MACEDO

**REVESTIMENTO COMESTÍVEL DE QUITOSANA-FRUTOSE NO BIOCONTROLE
DE *Colletotrichum siamense* NO PÓS-COLHEITA DE GOIABA (*Psidium guajava* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de mestre em Nutrição.

Aprovada em: 28 / 02 / 2020

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcos Antonio Barbosa de Lima (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Prof.^a Dr.^a Viviane Lansky Xavier de Souza Leão (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof.^a Dr.^a Margarida Angélica da Silva Vasconcelos (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

*Com carinho, dedico este trabalho a Deus e aos meus amados pais, Lúcia e Ronaldo,
meus maiores incentivadores.*

RESUMO

A deterioração física pelo desenvolvimento de fitopatógenos em goiabas (*Psidium guajava* L.) limitam sua vida após a colheita. Dentre as doenças que causam perdas pós-colheitas em goiabas, a antracnose é a mais preocupante em virtude dos severos sintomas que acometem a fruta. O controle da antracnose tem sido feito fundamentalmente por aplicação de fungicidas sintéticos, os quais ocasionam impactos negativos ao meio ambiente e à saúde dos consumidores. Dessa forma, outros métodos têm sido estudados em substituição a esses compostos, incluindo polímeros com capacidade de formar revestimentos comestíveis, como a quitosana (QUI), devido a sua reconhecida ação antimicrobiana. Tal propriedade pode ser potencializada quando a QUI é modificada quimicamente. Dessa forma, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica da quitosana-frutose (QF), obtida através da reação de Maillard (RM), para o controle da antracnose causada por *Colletotrichum siamense* (*C. siamense*), bem como para a extensão da vida de prateleira e manutenção da qualidade de goiabas variação 'Pedro Sato'. Foram realizadas as análises *in vitro* para avaliação dos efeitos da QF sobre o crescimento micelial radial. Também foram realizados os ensaios para verificação do efeito do revestimento de QF sobre o desenvolvimento de antracnose causada pelas diferentes cepas do fungo em goiabas armazenadas a 25 °C por nove dias. Os efeitos da aplicação do revestimento sobre os parâmetros de qualidade pós-colheita foram avaliados por meio de análises físico-químicas. A utilização da QF (6, 5, 4, 3 mg/mL) foi eficaz em inibir o crescimento de todas as cepas de *C. siamense* testadas. A aplicação de revestimentos contendo QF (8, 4 ou 2 mg/mL) resultou na redução da severidade das lesões típicas de antracnose ao longo do armazenamento em goiabas artificialmente infectadas com as cepas testadas. A severidade das lesões de antracnose nas goiabas revestidas com QF foi menor do que nas goiabas controle, revestidas com glicerol 1%. A aplicação dos revestimentos de QF também foram eficazes em retardar o amadurecimento da goiaba, proporcionando a retenção da firmeza da casca e da polpa, redução da perda de peso, retenção da vitamina C e aumento da acidez, provavelmente pela redução da degradação de ácidos orgânicos. Foi observado ainda atraso no desenvolvimento da cor das frutas. Estes resultados demonstram que a aplicação dos revestimentos de QF pode ser uma tecnologia eficaz para o controle de antracnose e na melhoria da qualidade pós-colheita em frutos.

Palavras-chave: Frutas. Reação de Maillard. Fungos. Antracnose.

ABSTRACT

The physical deterioration due to the growth of phytopathogens in guavas (*Psidium guajava* L.) limits their life after harvest. Among the diseases that causes post-harvest loss in guavas, anthracnose is the most worrying due to severe symptoms that affect the fruit. The control of anthracnose has been done mainly by applications of synthetic fungicides, which cause negative impacts on the environment and on the health of consumers. Thus, other methods have been studied to replace these compounds, including polymers with the ability to form edible coatings, such as chitosan (CHI), due to their antimicrobial activity. This property can be enhanced when a CHI is chemically modified. That way, this study aimed to evaluate the antifungal activity of chitosan-fructose (CF), obtained through the Maillard reaction (MR), to control anthracnose caused by *Colletotrichum siamense* (*C. siamense*), as well as for an extension of shelf life and maintenance of 'Pedro Sato' guava variation quality. *In vitro* analyzes were performed to assess the effects of CF on mycelial radial growth. Tests were also carried out to verify the effect of the CF coating on the development of anthracnose, caused by different strains of the fungus in guavas stored at 25 °C for nine days. The effects of applying the coating on the post-harvest quality parameters were evaluated throughout physical-chemical analysis. The use of CF (6, 5, 4, 3 mg / mL) was effective in inhibiting the growth of all strains of *C. siamense* tested. The application of coatings containing CF (8, 4 or 2 mg / mL) resulted in the reduction of the severity of typical anthracnose lesions during storage in artificially infected guavas as tested strains. The severity of anthracnose lesions in QF-coated guavas was lower than in control guavas, coated with 1% glycerol. The application of CF coatings were also able to delay the ripening of guava, providing retention of skin and pulp firmness, reducing weight loss, vitamin C retention and increasing acidity, probably by reducing the degradation of organic acids. It was also noticed that there was a delay in fruit color development. These results demonstrate that the application of CF coatings can be an effective technology to control anthracnose and improve postharvest quality in fruits.

Key words: Fruits. Maillard reaction. Fungi. Anthracnose.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Característica das lesões de antracnose em goiaba	17
Figura 2 -	Estrutura química da molécula de quitina e quitosana	18
Figura 3 -	Espectros FTIR sobrepostos da frutose e QUI comerciais e QF obtida pela RM	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Percentual de inibição das linhagens celulares HCT-116 (carcinoma colorretal humano), HT-29 (adenocarcinoma colorretal humano), HeLa (adenocarcinoma de colo de útero humano e L-929 (fibroblasto de camundongos) expostas a quitosana padrão (QUI) e quitosana-frutose (QF)	32
Tabela 2 -	Percentual de inibição do crescimento micelial radial (ICM%) das diferentes cepas de <i>C. siamense</i> após a exposição a diferentes concentrações de quitosana-frutose em meio sólido (25 °C)	33
Tabela 3 -	Redução do diâmetro da lesão de antracnose em relação ao controle negativo do tratamento curativo em goiabas revestidas com quitosana-frutose (2, 4 e 8 mg/mL) e inoculado com diferentes cepas patogênicas de <i>C. siamense</i> , armazenadas a 25 °C durante 9 dias	33
Tabela 4 -	Redução do diâmetro da lesão de antracnose em relação ao controle negativo do tratamento preventivo em goiabas revestidas com quitosana-frutose (2, 4 e 8 mg/mL) e inoculado com diferentes cepas patogênicas de <i>C. siamense</i> , armazenadas a 25 °C durante 9 dias	34
Tabela 5 -	Características físico-químicas da goiaba sem revestimento e revestido com quitosana-frutose (2, 4 e 8 mg/mL) durante 12 dias de armazenamento a temperatura ambiente (25 °C). Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão	36
Tabela 6 -	Efeito das coberturas de quitosana-frutose (2, 4 e 8 mg/mL) sobre a firmeza e cor das goiabas armazenadas a temperatura ambiente (25 °C) por 12 dias	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABD	Ágar Batata Dextrose
ABTS	2,2"-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ANOVA	Análise de variância
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AT	Acidez titulável
CEASA	Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco
CIM	Concentração inibitória mínima
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
FRAP	Poder antioxidante de redução do ferro
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho
HCT-116	Células de carcinoma colorretal humano
HeLa	Células de adenocarcinoma de colo de útero humano
HET-CAM	Hens Egg Test-Chorion Allantoic Membrane
HT-29	Células de adenocarcinoma colorretal humano
ICM%	Percentual de inibição do crescimento micelial
L-929	Células de fibroblasto de camundongos
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometodetetrazolium
PP%	Percentual de perda de peso
PRLA	Percentual de redução do diâmetro da lesão de antracnose
PRM	Produtos da reação de Maillard
QF	Quitosana-frutose
QUI	Quitosana
RM	Reação de Maillard
SS	Sólidos solúveis

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1	Qualidade pós-colheita de goiaba	14
2.2	Antracnose causada por <i>Colletotrichum siamense</i>	16
2.3	Quitosana e seu uso em revestimentos comestíveis	18
2.3.1	Quitosana	18
2.3.2	Quitosana-frutose modificada	20
3	HIPÓTESE	23
4	OBJETIVOS.....	24
4.1	Objetivo geral	24
4.2	Objetivos específicos.....	24
5	MATERIAIS E MÉTODOS	25
5.1	Matéria-prima	25
5.1.1	Frutas	25
5.1.2	Quitosana de baixo peso molar	25
5.1.3	Fungos fitopatogênos	25
5.2	Preparo do revestimento comestível a base de quitosana-frutose	25
5.3	Caracterização da quitosana, da frutose e da quitosana-frutose.....	26
5.4	Determinação da citotoxicidade.....	26
5.5	Efeitos sobre o crescimento micelial radial	27
5.6	Efeitos do revestimento de quitosana-frutose no desenvolvimento de antracnose em goiabas.....	27
5.7	Efeitos do revestimento de quitosana-frutose sobre os parâmetros físico-químicos de goiabas.....	29
5.8	Análise estatística	30
6	RESULTADOS.....	31
6.1	Caracterização da quitosana e frutose comerciais e da quitosana-frutose obtida ..	31
6.2	Efeitos da citotoxicidade da quitosana comercial e quitosana-frutose	32
6.3	Efeitos da quitosana-frutose no crescimento micelial de <i>Colletotrichum siamense</i> .	32
6.4	Efeitos do revestimento comestível de quitosana-frutose na severidade da antracnose em goiabas	33

6.5	Efeitos da quitosana-frutose sobre qualidade pós-colheita de goiabas.....	35
7	DISCUSSÃO.....	38
8	CONCLUSÃO	44
	REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

A fruticultura expande-se em todos os estados do Brasil, classificando o país como o terceiro maior produtor mundial de frutas. Dentre as espécies mais produzidas, destaca-se a goiaba (*Psidium guajava* L.), que é cultivada em muitos países, sendo que Brasil está entre os primeiros no *hanking* de produção, constituindo assim, importante atividade econômica na geração de emprego e renda (FORMIGA et al., 2019, SERENO et al., 2018).

A produção anual brasileira está em torno de 424 mil toneladas de goiaba, com uma área colhida de quase 18 mil hectares. No entanto, a fruticultura brasileira teve sua produção reduzida em aproximadamente 1,7 milhão de toneladas de frutas frescas nos últimos anos devido às más condições climáticas, ocorrência de pragas e doenças, que estão entre os principais fatores que provocam perdas pré e pós-colheitas (CARVALHO et al., 2017). Entre as doenças que causam perdas pós-colheita em goiabas, a antracnose causada por espécies do gênero *Colletotrichum* é considerada a mais importante devido à gravidade dos sintomas, resultando em perdas significativas no rendimento e comercialização (HAIDER et al., 2016).

Colletotrichum gloeosporioides tem sido relatado como o principal micro-organismo causador da antracnose em goiabas e em outras frutas, como mamão, caju, banana e manga (ALI; NOH; MUSTAFA, 2015; HU et al., 2014; MAQBOOL et al., 2011; SERRA et al., 2011; UACIQUETE; KORSTEN; VAN DER WAALS, 2013). Contudo, recentes estudos filogenéticos revelaram um grupo de espécies do complexo *Colletotrichum gloeosporioides* associadas à antracnose em frutas cultivadas no Brasil, que incluem *C. siamense*, *C. chrysophilum*, *C. fragariae*, *C. fructicola*, *C. gloeosporioides sensu stricto*, *C. queenslandicum* e *C. tropicale*, *C. asianum* (HAN et al., 2018; LIMA et al., 2013; VELOSO et al., 2018). O *C. siamense* foi a espécie mais predominante, especialmente em frutas cultivadas no estado de Pernambuco (VELOSO et al., 2018).

Perdas econômicas pós-colheita causadas por fungos consistem em um problema mundial e a principal estratégia tradicionalmente empregada para controlar a ação destes fungos no meio agrícola é a aplicação de fungicidas sintéticos (HU et al., 2014). Embora o uso desses agentes seja eficaz no combate ao desenvolvimento de fungos em frutas, a utilização indiscriminada pode induzir resistência sobre os fungos fitopatógenos, fazendo-se necessária a aplicação de maiores quantidades de antifúngicos em frutos e, conseqüentemente, gerar potenciais riscos para a saúde humana e ao meio ambiente (OLIVEIRA et al., 2018a).

Nos últimos anos, houve uma alteração na preferência do consumidor, que tem demonstrado interesse por alimentos livres ou com níveis mais baixos de conservantes químicos. Assim, em busca de soluções, estudos estão se concentrando na formulação de novas tecnologias, a exemplo dos revestimentos comestíveis elaborados com substâncias naturais, como a quitosana (QUI), visando a redução do uso de fungicidas sintéticos em frutas e vegetais (BERGER et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2014).

A QUI é um polissacarídeo derivado da desacetilação da quitina, sendo encontrada no exoesqueleto de crustáceos e insetos e naturalmente presente na parede celular de fungos. Devido as suas propriedades antimicrobianas e catiônicas, esse polímero tem sido bastante estudado e utilizado no desenvolvimento de revestimentos comestíveis de diversas matrizes alimentares, como as frutas (ELSABEE; ABDOL, 2013). Além de possuir atividade antimicrobiana contra fungos patógenos pós-colheita, revestimentos de QUI podem alterar a permeabilidade das frutas às trocas gasosas, controlando a taxa respiratória e, assim retardando o amadurecimento (MELO et al., 2018).

Modificações químicas estão sendo utilizadas para melhorar as propriedades da QUI. Deste modo, QUI associada a sacarídeos e modificadas pela reação de Maillard (RM) estão ganhando atenção em pesquisas com alimentos, visto que essas substâncias apresentam maior solubilidade e maior potencial antimicrobiano do que a QUI nativa (LI; LIN; CHEN, 2014; LI et al., 2013). Desta forma, a aplicação do revestimento de quitosana-frutose (QF) como agente protetor frente à ação do *Colletotrichum siamense*, um dos fungos responsáveis pela antracnose, pode representar um avanço tecnológico na indústria e na preservação de goiabas, contribuindo com a substituição de fungicidas sintéticos por produtos eco sustentáveis e biologicamente mais seguros.

Nenhum estudo prévio relatou o uso da quitosana modificada pela RM frente a fungos fitopatogênicos *in vitro* ou como revestimento comestível de alimentos, assim, se faz necessária a realização de pesquisas que apresentem esses dados a comunidade científica e a sociedade como um todo. A frutose é um carboidrato que pode ser utilizado para promover a modificação na QUI e possui benefícios como o seu baixo custo, além de ser um composto natural presente abundantemente em alimentos como as frutas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Qualidade pós-colheita de goiaba

A goiaba (*Psidium guajava* L.) é um fruto climatérico, com vida de prateleira limitada de três a quatro dias a temperatura ambiente e susceptível a injúrias causadas pelo frio quando armazenadas em temperaturas abaixo de 13 °C (MURMU; MISHRA, 2018; SILVA et al., 2018). Botanicamente, pertence à família Myrtaceae, e está entre as frutas que apresentam os maiores teores de vitamina C, além de apresentar alto teor de polifenóis, carotenoides, fibras, pectina e vitamina A (MANGARAJ et al., 2014).

A goiaba é popularmente conhecida como “maça dos trópicos, suas sementes são ricas em ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, ômega-6 e especialmente em fibras alimentares. Uma goiaba contém cerca de 200 mg de vitamina C por 100 g da fruta, teor que chega a ser quatro vezes maior que a quantidade de vitamina C encontrada em uma laranja. Além disso, é uma boa fonte de minerais, como o potássio e magnésio (NIMISHA et al., 2013). Seu sabor doce combinado ao seu aroma faz da goiaba um fruto muito desejável para consumo fresco ou processado (SINGH, 2011).

Trata-se de uma fruta sazonal que se adaptou a diferentes climas e solos, facilitando a sua naturalização em diversos países de regiões tropicais e subtropicais. Entre os principais países produtores estão o Brasil, Índia, África do Sul, Colômbia, Cuba, Quênia, China e Taiwan (PATIL; CHAUHAN; SINGH, 2014; SINGH; SHARMA; SINGH, 2016). A produção mundial de goiabas é cerca de 6,8 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2017). Os brasileiros são os principais consumidores de goiaba no mundo e o país produz cerca de 424 mil toneladas dessa fruta anualmente. Ao nível estadual, Pernambuco e São Paulo são os principais produtores, representando 68% da produção nacional (AGRIANUAL, 2018).

Devido ao seu valor nutricional e cultural, a goiaba é comercializada sob a forma de diversos produtos obtidos do seu processamento, como goiaba em calda, doce concentrado, produtos desidratados, geleia, suco, néctar, xarope, polpa congelada e iogurte. Contudo, mesmo com tantos produtos derivados disponíveis no mercado, a goiaba é mais consumida na sua forma *in natura* (PATIL; CHAUHAN; SINGH, 2014). É muito popular devido seu valor medicinal, com possíveis benefícios no tratamento de doenças gastrointestinais, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (ABDEL-RAHIM; ABO-ELYOUSR, 2017; JIAO et al., 2017).

A goiaba é valorizada por suas qualidades sensoriais, porém esses traços variam de acordo com o genótipo, o solo e o estágio de desenvolvimento (MOON et al., 2018). No geral,

é um fruto que possui alta taxa de respiração, alta quantidade de água, casca fina e rápido amadurecimento, tais características levam à altos índices de perda desses frutos, que podem ser ainda maiores em caso de armazenamento em alta temperatura, levando ao aumento da atividade de fungos patogênicos, alta produção de etileno, perda de peso e superfície da casca enrugada (ETEMADIPOOR et al., 2019; LO'AY; TAHER, 2018a).

A qualidade dos frutos está associada ao manejo e às condições climáticas durante a fase de cultivo, sendo necessário o uso de outros processos para evitar a deterioração microbiológica e minimizar as alterações fisiológicas e bioquímicas responsáveis pela deterioração pós-colheita (ARROYO et al., 2019). As doenças pós-colheita são muito comuns e graves nas goiabas, devido às condições quentes e úmidas das regiões tropicais na colheita e durante o seu transporte. Frutos como a goiaba podem ser infectadas por fungos fitopatogênicos durante o período de pós-colheita, sendo a antracnose a principal doença que acomete essa matriz e uma séria limitação ao seu cultivo devido as lesões na superfície da fruta que podem se tornar grandes manchas (LIMA et al., 2015).

Existem outras doenças pós-colheita que foram observadas em goiabas. Lim e Manicom (2003) classificaram as doenças em dois tipos: podridão seca e podridão mole. Na podridão seca, o micro-organismo produz lesões necróticas que são superficiais e restritas a pequenas manchas. Já na podridão mole, o fruto apodrece apresentando áreas encharcadas de água que podem se expandir e se estender para o mesocarpo do fruto ou até mesmo para a semente. A podridão seca é causada principalmente por *Cladosporium* sp., *Diplodia theobromae*, *Guignardia* sp., *Macrophoma* sp. e *Macrophomina phaseolina*, enquanto apodrecimento mole é causado por fungos como *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor heamalis*, *Fusarium solani*.

Deste modo, com a finalidade de proteger o fruto da ação de fungos patogênicos, faz-se uso do controle químico, pela aplicação de fungicidas sintéticos que apresenta desvantagens como custo elevado, risco para a saúde pública e meio ambiente. Sendo assim, uma solução urgente é necessária para melhorar a qualidade de frutas e hortaliças frescas, e isto tem despertado o interesse de diversos pesquisadores para descoberta de diferentes estratégias que visam à substituição de pesticidas sintéticos por protetores naturais na redução da ocorrência de podridão pós-colheita (GRANDE-TOVAR et al., 2018).

2.2 Antracnose causada por *Colletotrichum siamense*

Diversas doenças causam perdas pré e pós colheita em goiabas, sendo a antracnose ocasionada por espécies do gênero *Colletotrichum* uma das mais relevantes em virtude dos severos sintomas que afetam a casca e a polpa dos frutos. *C. siamense* é um patógeno comumente encontrado em outras frutas tropicais e subtropicais além da goiaba como abacate, banana, manga, mamão e maracujá. Pela sua relevância científica e econômica, foi classificado como o oitavo grupo de agentes fitopatógenos mais importante no mundo e foi encontrado associado a cerca de 2.200 espécies de plantas (DEAN et al., 2012; FARR; ROSSMAN, 2015; HAIDER et al., 2016; KAMLE et al., 2013).

Por muito tempo a antracnose foi atribuída a infecção exclusiva pela espécie *C. gloeosporioides*. Entretanto, foi demonstrado que esta espécie não é um patógeno comum de frutas tropicais (PHOULIVONG et al., 2010). A pouca informação sobre os dados filogenéticos moleculares influenciou novos estudos que mostraram diferentes espécies com potencialidade de causar sintomas característicos de antracnose em caju e mangas cultivados no Brasil. As diferentes espécies identificadas foram *C. chrysophilum*, *C. fragariae*, *C. fructicola*, *C. gloeosporioides* s. s., *C. queenslandicum*, *C. siamense* e *C. tropicale* (LIMA et al., 2013; VELOSO et al., 2018).

C. siamense é um fungo comumente isolado em diversas espécies de plantas em várias regiões tropicais e subtropicais que ataca frutos, folhas e sementes (LIU et al., 2016). Por ser uma espécie recentemente descrita, pouco se conhece sobre a sua ecologia e epidemiologia (PRIHASTUTI et al., 2009). Quando visualizados ao microscópio óptico, a morfologia da colônia de *C. siamense* exibe micélio acinzentado, pálido amarelado a rosado, os conídios apresentam $14,6 \pm 0,7$ μm de comprimento, $4,5 \pm 0,4$ μm de largura e forma cilíndrica, e sua extremidade apresenta ligeiro afilamento, com taxa de crescimento de 7,8 mm por dia (SHARMA; SHENOY, 2014).

O fungo permanece quiescente até que o ambiente se torne favorável para o seu desenvolvimento e sobrevive em tecidos vivos ou mortos remanescentes no solo (geralmente frutos). A chuva e as águas de irrigação representam a melhor forma de dispersão dos esporos (CARDOSO; VIANA, 2011; LIMA et al., 2015). Temperaturas de 22 a 30 °C por 12 horas e umidade em torno de 95 % são excelentes condições para a infecção e desenvolvimento do fungo patógeno (KAMLE et al., 2013).

Os sintomas da antracnose podem ser observados em toda parte aérea da planta, como folhas, ramos, flores, frutos e pseudofrutos. No entanto, a maior lesão ocorre nos frutos com a

formação de manchas escuras e irregulares na casca (Figura 1). Com o tempo, as lesões podem coalescer e afetar todo o fruto, podendo causar rachaduras e o apodrecimento total. Em geral, os sintomas são semelhantes em todos os hospedeiros mesmo em localização geográfica diferente (CARDOSO et al., 2013).

Figura 1 - Característica das lesões de antracnose em goiaba.



Fonte: Autor, 2020.

Considerando a gravidade da doença, a adoção de medidas preventivas e estratégias de manejo durante os períodos pré e pós-colheita, diversas técnicas vêm sendo utilizadas para reduzir a incidência de doenças infecciosas em frutas, tais como: baixa temperatura, desinfecção, uso de fungicidas, ozônio, embalagens com atmosfera modificada, luz ultravioleta e irradiação gama (ALLENDE et al., 2007; CHECHI et al., 2019; NAJAFABADI et al., 2017; SHARMA; SINGH; SINGH, 2009; TUFFI et al., 2012).

No que se refere ao uso de fungicidas no meio agrícola, isolados de *C. siamense* mostraram-se resistentes a dois fungicidas sintéticos: azoxistrobina e tiofanato-metílico, conforme determinado em testes de crescimento micelial in vitro. Essa resistência à azoxistrobina e tiofanato-metílico foi confirmada em estudos com frutos, utilizando maçãs contaminadas com *C. siamense* e tratadas com essas substâncias. A resistência ao tiofanato-metil foi baseada na mutação em um gene, enquanto a resistência à azoxistrobina foi baseada em uma outra mutação no citocromo b. O monitoramento da resistência aos fungicidas sintéticos pode alertar os produtores para possíveis ameaças na utilização desta ferramenta contra micro-organismos (CHECHI et al., 2019).

Contudo, as diversas tecnologias empregadas na conservação das frutas estão relacionadas com alterações nos aspectos de qualidade dos frutos (DEHGHAN-SHOAR; HAMIDI-ESFAHANI; ABBASI, 2010), e também com preocupações relacionadas ao impacto

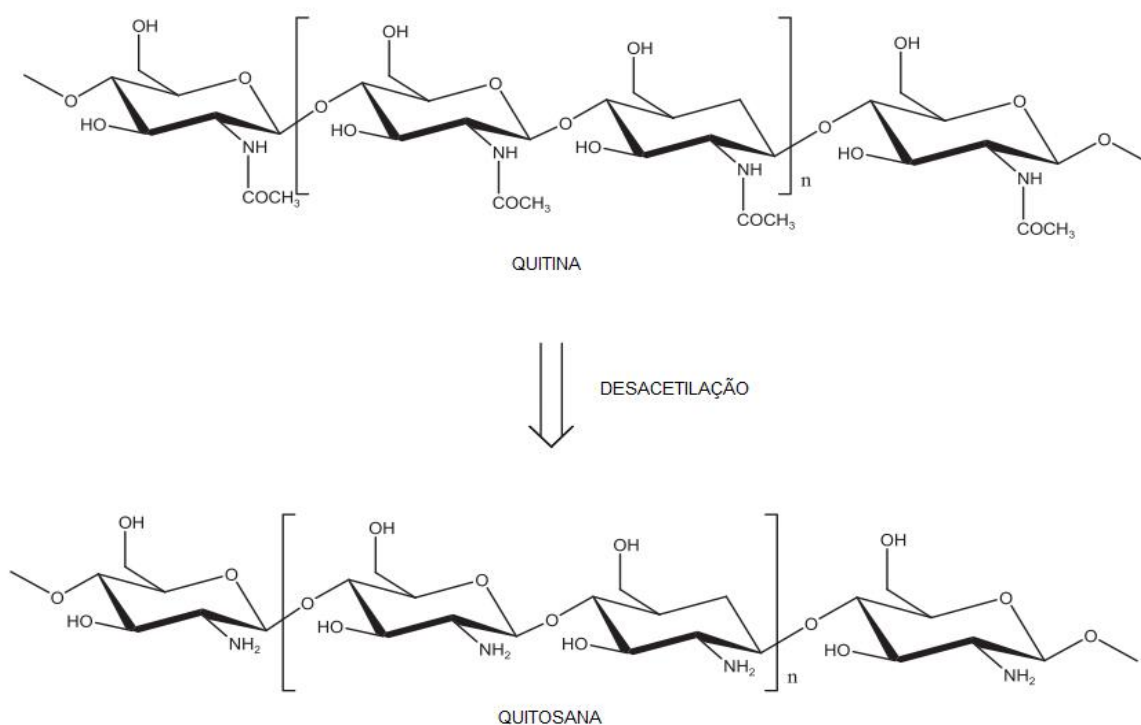
ambiental negativo pelo uso de embalagens produzidas com materiais não biodegradáveis. Assim, no que concerne o tratamento de doenças pós-colheita, uma alternativa para diminuir a contaminação e deterioração de frutos por fungos tem sido o emprego de revestimentos comestíveis de QUI devido à sua potencial atividade antifúngica (YUAN; CHENG; LI, 2016).

2.3 Quitosana e seu uso em revestimentos comestíveis

2.3.1 Quitosana

A QUI é um polímero catiônico linear, obtido da desacetilação da quitina em meio alcalino compreendendo unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose e 2-acetamida-2-desoxi-D-glicopirranose interligadas por ligações glicosídicas β -1,4 em proporções variadas (Figura 2), e pode ser encontrada no exoesqueleto de crustáceos, na parede celular de fungos e outros materiais biológicos (GUERRA et al., 2015). Atributos como a não toxicidade, capacidade de formar géis e potencial antimicrobiano fazem da QUI um produto bastante estudado para aplicação em revestimentos comestíveis de frutos (JIANGLIAN; SHAOYING, 2013).

Figura 2 - Estrutura química da molécula de quitina e quitosana.



Fonte: Adaptado de BUTOLA et al., 2019.

A QUI foi descrita pela primeira vez por Rouget em 1859, e é o segundo polissacarídeo mais abundante já descoberto, ficando atrás apenas da celulose (BUTOLA et al., 2019). É um polímero composto por cerca de 6,9% de nitrogênio, com peso molecular de 50 a 2000 kDa. Possui um pKa com discreta variação de $6,0 \pm 0,3$, dependendo do grau de desacetilação que geralmente varia de 75 a 95% (COSTA et al., 2012; GOY; BRITTO; ASSIS, 2009). É insolúvel em água, mas pode ser dissolvida em soluções ligeiramente ácidas, como soluções de ácidos orgânicos incluindo o acético, cítrico, fórmico e outros, com pH inferior ao seu pKa, quando os grupos amínicos estão na sua forma protonada (MÁRQUEZ et al., 2013; WANG; TURHAN; GUNASEKARAN, 2004).

O biopolímero de QUI tem sido amplamente utilizado devido às suas diversas atividades biológicas e químicas, apresentando excelente biocompatibilidade, baixa toxicidade, alta bioatividade, biodegradabilidade, permeabilidade seletiva, ação polieletrólítica, atividade antimicrobiana, capacidade de quelação e adsorção e alto potencial funcional resultante dos seus grupos amino e hidroxila (AZEVEDO et al., 2014; ELSABEE; ABDOL, 2013; SINGH et al., 2008).

Devido as suas propriedades, a QUI é bastante utilizada na agricultura, biomedicina, biotecnologia, em produtos farmacêuticos e em alimentos, uma vez que oferece ampla aplicabilidade na fabricação de agroquímicos, ativadores de respostas de defesa de plantas, removedor de sujidades no tratamento de efluentes, membranas à base de QUI para purificação, conservantes, emulsificante, como agente farmacêutico e em curativos (LI et al., 2007; VERLEE; MINCKE; STEVENS, 2017).

A eficiência da atividade antimicrobiana da QUI varia de acordo com o grau de desacetilação, peso molecular, condições da matriz onde ela é aplicada, o pH, o desenvolvimento de interações entre matriz alimentar e QUI, salinidade, solubilidade, o tipo de micro-organismo e outros fatores (ROMANAZZI et al., 2017; TAYEL et al., 2010). Em geral, sua ação antimicrobiana aumenta quando o grau de desacetilação é maior e o peso molecular é menor, o que pode explicar melhor o seu mecanismo de ação, visto que o número de grupos amino protonados se elevam (HONGPATTARAKERE; RIYANPHAN, 2008).

Os revestimentos a base de QUI podem diminuir a severidade de doenças pós-colheita, atuando diretamente sobre a superfície celular do fitopatógeno. O efeito antifúngico da QUI tem sido relacionado com a sua propriedade catiônica, que afeta as moléculas carregadas negativamente na superfície da célula fúngica, alterando a permeabilidade da membrana, o que leva ao extravasamento de material intracelular, resultando em morte celular. Dependendo do tipo de micro-organismo e do peso molecular, outros mecanismos de ação antimicrobiana

podem acontecer, visto que dentro da célula, a QUI pode interagir com o DNA e RNA, interferindo na expressão de genes e na síntese de proteínas (VERLEE; MINCKE; STEVENS, 2017).

Também tem sido sugerido que a eficácia da QUI na inibição de fungos patogênicos pode estar relacionada com sua capacidade de induzir mecanismos de defesa na fruta, como aumento na atividade das enzimas quitinase e β -1,3-glucanase (JONGSRI et al., 2016). Através da combinação da atividade antimicrobiana e indução de mecanismos de defesa, a QUI demonstra interferir diretamente no desenvolvimento do patógeno, ocasionando retardo no crescimento micelial, redução da germinação de conídios e modificações morfológicas no tubo germinativo de algumas espécies patogênicas (CAMILI et al., 2007; LIU et al., 2007).

Pela desacetilação da quitina, a atividade antimicrobiana e a solubilidade em meio ácido aumentam, o que resulta na propriedade de formação de gel e proteção contra danos físicos quando aplicada como revestimentos em frutos (HAMDINE; HEUZEY; BÉGIN, 2005; KONG et al., 2010). Além disso, o revestimento comestível de QUI bloqueia os poros presentes na superfície das frutas, diminuindo a taxa de respiração, transpiração e a produção de etileno, estendendo sua vida (ALI et al., 2011; XING et al., 2016). A QUI parece interagir com os compostos bioativos do alimento potencializando suas propriedades, e ainda parece preservar compostos nutracêuticos e diminuir o estresse oxidativo em frutas (JIANGLIAN; SHAOYING, 2013; PETRICCIONE et al., 2015).

2.3.2 Quitosana-frutose modificada

Apesar das diversas propriedades potenciais da QUI, ela possui certas limitações como a baixa solubilidade em água em pH neutro ou básico. Por isso, pesquisas estão sendo realizadas com o objetivo de desenvolver QUI modificadas para melhorar as suas propriedades. Para melhorar a solubilidade, a principal estratégia empregada envolve a introdução de um grupo hidrofílico na molécula de QUI. Carboidratos, na forma de mono e dissacarídeos, têm sido utilizados para promover esta modificação, sobretudo por serem substâncias simples e de baixo custo (GULLÓN et al., 2016).

A introdução do carboidrato na estrutura da QUI pode ser realizada por diferentes reações químicas, como a N-alquilação reductiva (YANG; CHOU; LI, 2002), formação de amida (MATUTE et al., 2013), reação quaternária (VERHEUL et al., 2008), reação carboximetil (SONG et al., 2010), reação de acilação (SHELMA; SHARMA, 2010) e reação de Maillard (RM) (LI; LIN; CHEN, 2014).

A RM é classificada como uma reação complexa de escurecimento não enzimático, resultante da condensação inicial do grupo amino e o grupo carbonila de açúcares redutores. Ocorre frequentemente durante o processamento e armazenamento dos alimentos produzindo uma gama de produtos com propriedades antialérgicas, antimicrobianas e antioxidantes, que atribuem odor, sabor e cor aos alimentos. Trata-se de uma reação isenta de produtos químicos sintéticos, de fácil controle e operação em comparação com outros métodos (CHANG; SUN; CHEN, 2016; JUNG et al., 2014; WANG et al., 2019).

A RM depende de muitos fatores, como pH, tempo e temperatura, atividade de água e condições físicas do alimento (JIANG et al., 2018). É dividida em três estágios: inicial, intermediário e final (YU et al., 2018). Na primeira etapa, a condensação dos aminoácidos com os açúcares dá origem as glicosilaminas, que se reorganizam em compostos de Amadori e resultam na perda da disponibilidade de lisina, o que diminui seu valor nutricional. Nos estágios intermediário e final, ocorre a formação de compostos voláteis e pigmentos. Na fase final, surgem os pigmentos marrons que são uma série complexa de polímeros e copolímeros chamados melanoidinas (LEIVA; NARANJO; MALEC, 2017).

Dentre os mecanismos propostos para explicar os efeitos antimicrobianos dos produtos da reação de Maillard (PRM), acredita-se que as melanoidinas podem interagir com as células bacterianas, uma vez que foi observada sua propriedade como composto quelante de íons Mg^{2+} , e a ausência desses íons da membrana celular externa provavelmente provoca a morte celular, devido ao rompimento da membrana celular e extravasamento de componentes intracelulares das bactérias (HAUSER et al., 2014).

A QUI modificada pela reação de Maillard, além de apresentar maior solubilidade em água, exibe melhores atividades antibacterianas e antioxidantes do que a QUI nativa (CHUNG; KUO; CHEN, 2005). A ação antimicrobiana da QUI modificada influenciou o desenvolvimento de pesquisas para avaliar essa propriedade. Assim, diferentes tipos de sacarídeos foram utilizados para elaboração da QUI modificada pela reação de Maillard. Em alguns estudos realizados foi demonstrado que a molécula modificada possui uma maior atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Vibrio parahaemolyticus* quando comparada a QUI nativa (WU et al., 2014; SUN et al., 2017).

Dentre as QUIs modificadas obtidas pela reação de Maillard, a QF modificada proposta por Zhang, Yang e Zhao (2015) mostrou maior atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* do que a QUI nativa. Dessa forma, a QF pode interagir mais efetivamente com as cargas negativas na superfície das células microbianas, rompendo a integridade da membrana do micro-organismo para inativá-lo. Assim, a reação de Maillard é

promissora e de fácil execução para a preparação de QUI modificada por ser solúvel em água, contribuindo para suas diversas aplicações, especialmente como antioxidante natural e substância antibacteriana em alimentos.

3 HIPÓTESE

Quitosana na presença de frutose modificada por reação de Maillard apresentará melhor bioatividade antimicrobiana. Dessa forma, a cobertura de quitosana-frutose será eficaz no controle de infecção por *C. siamense* e atuará diminuindo a respiração do fruto e o processo oxidativo no mesmo, certificando a manutenção da vida de prateleira de goiabas.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial da quitosana-frutose no biocontrole de *C. siamense*, assim como na extensão da vida de prateleira e no controle da qualidade nutricional de goiabas.

4.2 Objetivos específicos

- Elaborar e caracterizar cobertura quitosana-frutose obtida por reação de Maillard;
- Determinar a atividade antifúngica, e toxicidade das coberturas comestíveis a base de quitosana-frutose;
- Verificar a eficácia da aplicação da quitosana-frutose como revestimento comestível para controle de infecções causadas por *C. siamense* em goiabas;
- Avaliar os efeitos da aplicação do revestimento a base de quitosana-frutose sobre parâmetros indicadores de qualidade durante o armazenamento da goiaba.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Matéria-prima

5.1.1 Frutas

Goiabas vermelhas (*Psidium guajava* L.) da variedade Pedro Sato foram adquiridas no Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco - CEASA/PE e selecionados de acordo com o tamanho, nos estágios de maturação 2 (até 80% da casca verde) (HONG et al., 2012; LO'AY; TAHER, 2018b) e ausência de infecções visíveis e danos mecânicos. As frutas foram acondicionadas e transportadas em caixas isotérmicas ao Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos Nonete Barbosa Guerra/LEAAL, Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, onde foram conduzidos os experimentos com as frutas.

5.1.2 Quitosana de baixo peso molar

A QUI de baixo peso molecular foi adquirida da empresa Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, USA), proveniente da desacetilação da quitina de crustáceo.

5.1.3 Fungos fitopatogênicos

Cinco cepas de *C. siamense* (CMM 3222, CMM 3206, CMM 3260, CMM 3227, CMM 3253) foram obtidas da Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos “Profa. Maria Menezes” (Universidade Federal Rural de Pernambuco). Estas cepas foram isoladas de lesões de antracnose em cajus cultivados em diferentes regiões do Brasil e identificadas por meio de inferência filogenética (VELOSO et al., 2018).

5.2 Preparo do revestimento comestível a base de quitosana-frutose

A solução de QUI modificada por reação de Maillard foi obtida da seguinte forma: 1 g de QUI de baixo peso molar foi solubilizado em 100 mL de ácido acético a 1 % (Química

Moderna, São Paulo, Brasil) sob agitação por 24 h (120 rpm). Posteriormente, foi adicionado 1 g de frutose (Dinâmica) e, após homogeneização, foi autoclavada a 121 °C por 15 minutos, para que ocorresse a reação de Maillard e a obtenção da solução de QF, numa concentração final de 10 mg/mL. O pH da solução foi ajustado para 5,6 com hidróxido de sódio (NaOH) 2% (Química Moderna, São Paulo, Brasil), segundo metodologia adaptada de Gao, Zhu e Zhang (2013).

A QUI convencional para a avaliação citotóxica foi preparada na concentração de 10 mg/mL dissolvendo o polímero em solução aquosa de ácido acético a 1 % (1 mL/ 100 mL) sob agitação por 24 h (120 rpm) (OLIVEIRA et al., 2017).

5.3 Caracterização da quitosana, da frutose e da quitosana-frutose

Foi realizada a determinação das características estruturais da QUI, da frutose e da QF, utilizando a espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), de acordo com metodologia de Santos et al. (2003), em um espectrofotômetro PerkinElmer Spectrum 400 (PerkinElmer do Brasil Ltda.). Os espectros no infravermelho foram obtidos na região de 400 a 4000 cm^{-1} .

Foram avaliadas a QUI e a frutose comerciais. A QF foi preparada e seca em estufa por 15 horas a 60 °C. O espectro das amostras foi obtido utilizando pastilha de KBr como suporte. A análise de caracterização foi realizada na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE.

5.4 Determinação da citotoxicidade

O efeito da citotoxicidade foi avaliado através do método do MTT brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio, utilizando linhagens de células HCT116 (carcinoma colorretal humano), HT29 (adenocarcinoma colorretal humano), HeLa (adenocarcinoma de colo de útero humano) e L-929 (fibroblasto de camundongos) (ALLEY et al., 1988; MOSMANN, 1983). As células foram conservadas em meio de cultura DMEM suplementado com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de solução de antibiótico (penicilina e estreptomicina). As células foram mantidas em estufa a 37 °C em atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO_2 .

As células HCT-116, HT-29, HeLa e L-929 (10^5 células/mL) foram plaqueadas em placas de 96 poços e incubadas por 24 h. Posteriormente, 10 μL das soluções de QUI e QF (para efeito comparativo) foram adicionadas aos poços na concentração final de 50 $\mu\text{g/mL}$. Como padrão utilizou-se o fármaco doxorrubicina (10 $\mu\text{g/mL}$). As placas foram incubadas novamente por 72 h, e passado este período, foi adicionado 25 μL de MTT (5 mg/mL) e após novo período

de incubação de 3 h, o meio de cultura com o MTT foram aspirados e 100 µL de DMSO foi adicionado a cada poço, para realização da leitura da absorbância em leitor de microplacas (Biorad 680, Hercules, Calif., USA) no comprimento de onda de 560 nm.

A avaliação da toxicidade foi feita de acordo com a escala proposta por Rodrigues et al. (2014), que atribui as porcentagens entre 95 a 100 % de inibição celular – citotóxica; 70 a 90 % de inibição celular - citotoxicidade moderada e < 50 % de inibição celular – sem citotoxicidade.

5.5 Efeitos sobre o crescimento micelial radial

A inibição do crescimento micelial radial foi determinada pela técnica do envenenamento do substrato de crescimento (diluição em meio sólido). A partir deste teste, foi selecionada a primeira concentração capaz de inibir < 100 % do crescimento radial, assim como o dobro e a metade desta primeira concentração, para a realização das análises subsequentes. Para realização da análise, um disco de 3 mm contendo micélios de cada isolado fúngico foi retirado de uma colônia com sete dias de cultivo em Ágar Batata Dextrose (ABD) a 25 °C, e foi colocada no centro de uma placa de Petri com ABD adicionado da QF em diferentes concentrações (6 - 1 mg/mL) e incubada a 25 °C. Sistemas contendo ABD sem adição de QF foram testados similarmente como controles.

O crescimento micelial radial foi medido diariamente até que a placa contendo o controle negativo estivesse completamente coberta de micélios. O diâmetro de crescimento micelial radial (mm) de cada cepa foi aferido em duas direções perpendiculares para obtenção do diâmetro médio da colônia. O percentual de inibição do crescimento micelial (ICM%) foi calculado utilizando a fórmula: $ICM\% = [(C-T) / C] \times 100$, onde C é o diâmetro da colônia no ensaio controle e T é o diâmetro da colônia crescido em ABD suplementado com QF (LIMA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017).

5.6 Efeitos do revestimento de quitosana-frutose no desenvolvimento de antracnose em goiabas

As goiabas foram higienizadas com água corrente e detergente, sanitizadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,01 % de cloro ativo por 15 minutos, lavadas novamente com água destilada esterilizada, e deixadas por 2 horas em câmara de segurança à temperatura

ambiente (25 °C) para secar (MELO et al., 2018). Após a higienização, as frutas receberam dois tipos de tratamento, um tratamento curativo e um tratamento preventivo.

No tratamento curativo, a superfície de cada fruta foi perfurada na região média com um pino esterilizado de 5 mm, a uma profundidade de 3 mm. Em seguida foram colocados em cada perfuração um disco de ABD (5 mm de diâmetro) contendo os micélios das cepas de *Colletotrichum siamense* retiradas das margens de uma colônia cultivada por sete dias em ABD a 25 °C, sendo as frutas mantidas em câmara de segurança por 2 horas (OLIVEIRA et al., 2017). Depois, as frutas foram imersas em 400 mL do revestimento contendo diferentes concentrações de QF (8, 4 e 2 mg/mL) sob agitação suave durante 5 minutos (GUERRA et al., 2015). As frutas foram secas sobre papel absorvente estéril para drenagem do excesso de líquido e, quando secas foram acondicionadas em recipientes de polietileno estéreis e revestidos com papel toalha umedecido com água destilada esterilizada, sendo recobertas com saco plástico para manter a umidade relativa do ar. Para evitar o contato da fruta direto com a água, foram utilizadas placas de Petri esterilizadas para acomodação das frutas. Os recipientes foram incubados no escuro a temperatura ambiente (25 °C) e após 48 horas, os sacos de plástico e toalhas de papel foram retirados, mantendo-se as frutas armazenadas. As frutas foram examinadas para análise de sinais visíveis de lesões de antracnose em diferentes intervalos de tempo (3, 6 e 9 dias).

No tratamento preventivo, os frutos foram inicialmente feridos como descrito anteriormente e imersos em 400 mL de QF (8, 4 e 2 mg/L), com suave agitação por 5 minutos. Logo após, as goiabas foram colocadas para secagem sobre papel absorvente e mantidos em cabine de segurança por 2 horas. Após a secagem, o disco de ABD (5 mm) foi transferido sobre cada ferimento (OLIVEIRA et al., 2018a). Os frutos foram acondicionados, incubados e examinados da mesma forma que o tratamento anterior.

Paralelamente, nas duas formas de aplicação da QF (tratamento curativo e preventivo) controles negativos e positivos foram incluídos nos experimentos e analisados de forma semelhante. O controle negativo consistiu na aplicação de água destilada esterilizada em substituição a QF. Para o controle positivo, foi utilizado o glicerol a 1 % (1,0 mL/100 mL).

Os resultados foram expressos em percentual de redução do diâmetro da lesão de antracnose (PRLA), determinado pela diferença no diâmetro da lesão nos frutos revestidos com QF e glicerol a 1 % (controle positivo) e nos frutos do tratamento controle negativo (MUNHUWEYI et al., 2017), de acordo com a fórmula: $PRLA = [(N - F / N)] \times 100$, onde N é o diâmetro da lesão de antracnose nos frutos controle negativo e F é o diâmetro da lesão de antracnose nos frutos revestidos com glicerol a 1 % e com as diferentes concentrações de QF.

5.7 Efeitos do revestimento de quitosana-frutose sobre os parâmetros físico-químicos de goiabas

Para a avaliação dos parâmetros físico-químicos, as goiabas foram higienizadas e imersas nos revestimentos com diferentes concentrações de QF (8, 4 e 2 mg/mL). Os frutos que serviram como controle negativo foram cobertos com água estéril e como controle positivo foram tratados com glicerol a 1 %, seguindo o mesmo procedimento utilizado para os ensaios antifúngicos conforme descrito no tópico anterior. Após aplicação dos revestimentos, as frutas (tratadas e não tratadas) foram armazenadas a 25 °C em recipientes fechados, e foram analisadas em intervalos de tempo pré-estabelecidos (0, 4, 8, e 12 dias) em relação aos parâmetros descritos a seguir (MELO et al., 2018).

Perda de peso: A perda de peso foi medida durante todo o intervalo de armazenamento das goiabas e calculada de acordo com Guerra et al. (2016). As frutas foram pesadas no dia da aplicação das coberturas e a cada 4 dias, seguindo o intervalo de tempo para as demais análises físico-químicas. O resultado foi calculado com base no percentual de perda de peso (PP%) em relação ao peso inicial das frutas.

Sólidos solúveis (SS): O teor de sólidos solúveis foi determinado utilizando um refratômetro de bancada modelo MODEIIausJENA e os resultados foram expressos em °Brix (AOAC, 2012).

Acidez titulável (AT): A amostra diluída em água destilada na presença de fenolftaleína como indicador de modificação de pH foi titulada com solução de NaOH 0,1N para determinação da acidez titulável. Os resultados foram expressos em percentual de ácido cítrico (AOAC, 2012).

Vitamina C: A vitamina C (mg/100mL) foi determinada pelo método oficial titulométrico (AOAC, 2012).

pH: Os valores de pH foram determinados em 20 mL da polpa homogeneizada utilizando um pHmetro digital da marca MICRONAL B474 (AOAC, 2012).

Firmeza: A avaliação da firmeza das goiabas revestidas e não revestidas foi realizada com um analisador de textura CT3 (Brookfield Engineering Labs. Inc., Middleboro, EUA), utilizando-se probe cilíndrico de aço inoxidável de 6 mm de diâmetro acoplado ao equipamento, com velocidade de 1 mm/s e distância de 10 mm. As medições foram realizadas na posição média das frutas em 5 pontos equidistantes e os resultados foram expressos em N (AQUINO; BLANK; SANTANA, 2015).

Cor: A cor da casca e da polpa das frutas foi medida com colorímetro portátil Konica Minolta CR-400 (Osaka, Japão) que aferiu os valores do sistema CIELab (L^* , a^* , b^*), de acordo com a International Commission on Illumination (CIE, 1986).

5.8 Análise estatística

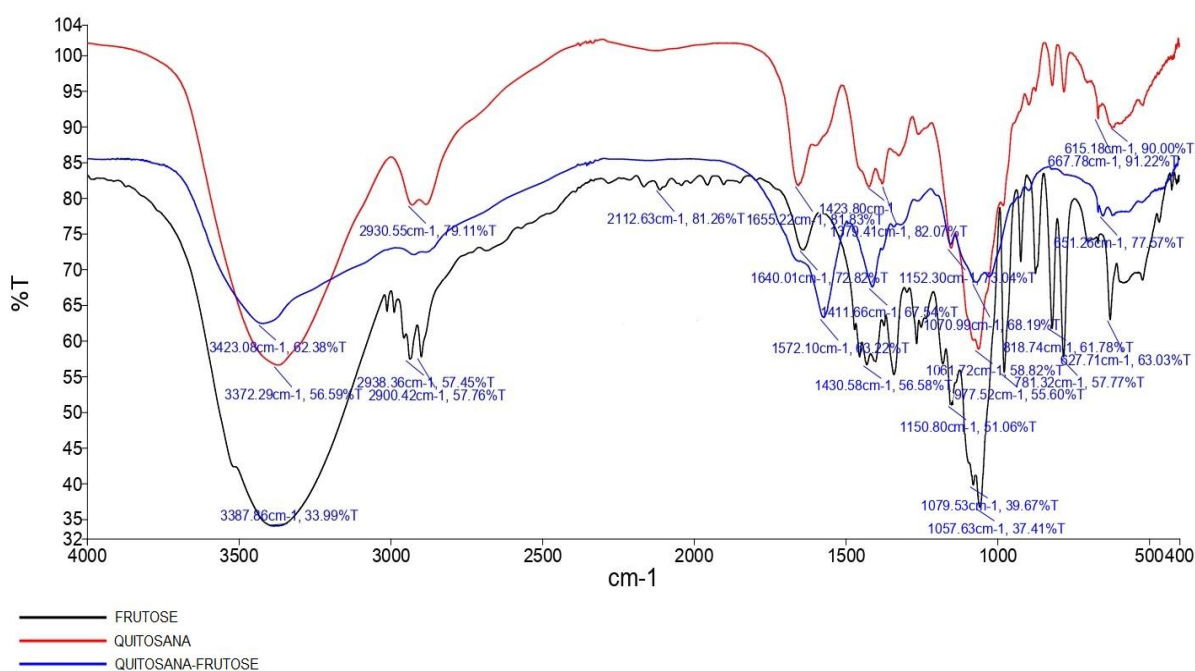
As análises estatísticas foram realizadas com estatística descritiva (média e desvio padrão) e testes inferencial (ANOVA e teste de Tukey) para determinação das diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre os tratamentos e foi utilizado o software Sigma Stat 3.5 (Jandel Scientific Software, San Jose, CA).

6 RESULTADOS

6.1 Caracterização da quitosana e frutose comerciais e da quitosana-frutose obtida

Os espectros obtidos para a QUI e a frutose comerciais e a QF elaborada (Figura 3) apresentam, respectivamente, um pico largo em 3372, 3388 e 3423 cm^{-1} , na região correspondente ao estiramento OH. O pico em 2931 cm^{-1} representa o estiramento C-H alifático da amostra de QUI. Os picos 2938 e 2900 cm^{-1} representam o estiramento C-H da frutose, o primeiro corresponde a um pico simétrico, diferentemente do segundo por este ser assimétrico. Ainda na frutose é possível observar o pico 1150 cm^{-1} que representa uma deformação angular no plano C-H.

Figura 3 - Espectros FTIR sobrepostos da frutose e QUI comerciais e QF obtida pela RM.



Fonte: Autor, 2020.

Os picos em 1655 e 1572 cm^{-1} correspondem ao grupo amina C=O da QUI e QF, respectivamente. Na frutose o pico 1640 cm^{-1} representa o grupo carbonila C=O, no espectro sobreposto pode-se observar que houve um acentuado deslocamento desse pico na QF, em relação a QUI e a frutose. O modo vibracional do estiramento da ligação N-H (amida II) com valor de 3372 cm^{-1} e 3423 pode ser observado no espectro da QUI e QF, respectivamente. Os valores do grupamento O-H e N-H estão sobrepostos no espectro.

Os picos 1062, 1058 e 1071 cm^{-1} representam o estiramento C-O do grupo alcóolico primário ($-\text{CH}_2 - \text{OH}$) da QUI, frutose e QF, respectivamente. Vale ressaltar que quando a frutose foi adicionada os picos a partir de 978 cm^{-1} desapareceram ou diminuíram na QF. O pico 1379 cm^{-1} no espectro da QUI desapareceu quando a frutose foi adicionada. A deformação axial C-N da amida apresenta-se no pico 1424 cm^{-1} na QUI e na QF este pico apresentou maior intensidade em 1411 cm^{-1} na QF.

6.2 Efeitos da citotoxicidade da quitosana comercial e quitosana-frutose

Os percentuais e o erro padrão médio da inibição das linhagens celulares expostas a QUI e QF estão apresentados na Tabela 1. O resultado do ensaio do MTT confirmou que a QUI e a QF, na concentração avaliada (10 mg/mL), não apresentaram toxicidade em relação às linhagens de células empregadas no teste. A QUI e a QF apresentaram citotoxicidade < 50% na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ frente as linhagens testadas. Com os valores obtidos abaixo de 50 % de citotoxicidade, as amostras não foram consideradas tóxicas.

Tabela 1 - Percentual de inibição das linhagens celulares HCT-116 (carcinoma colorretal humano), HT-29 (adenocarcinoma colorretal humano), HeLa (adenocarcinoma de colo de útero humano e L-929 (fibroblasto de camundongos) expostas a quitosana padrão (QUI) e quitosana-frutose (QF)

Produtos teste	% inibição $\pm$ erro padrão médio			
	HCT-116	HT-29	HeLa	L-929
QUI	11,93 $\pm$ 2,95	17,12 $\pm$ 2,15	24,82 $\pm$ 2,63	10,99 $\pm$ 0,83
QF	33,24 $\pm$ 1,34	32,38 $\pm$ 3,31	24,06 $\pm$ 0,71	20,84 $\pm$ 2,09

6.3 Efeitos da quitosana-frutose no crescimento micelial de *Colletotrichum siamense*

Os valores do ICM% causados pelas diferentes concentrações de QF nas cinco cepas de *C. siamense* são apresentados na Tabela 2. As concentrações de 6 e 5 mg/mL de QF resultaram em 100% de ICM em todas as cepas testadas, enquanto 4, 3, 2 e 1 mg/mL apresentaram valores de ICM% <100%. Os valores do ICM% diferiram estatisticamente, os maiores valores de ICM% foram verificados na cepa CMM 3227, exceto na concentração de 1 mg/mL que causou maior taxa de ICM% em CMM 3222. Enquanto os menores índices do ICM% foram observados em CMM 3206. Neste ensaio a primeira concentração capaz de inibir <100% do crescimento radial (4 mg/mL) foi selecionada, para a realização das demais análises, bem como o dobro (8 mg/mL) e a metade (2 mg/mL) desta primeira concentração.

Tabela 2 – Inibição do crescimento micelial radial (ICM%) das diferentes cepas de *C. siamense* após a exposição a diferentes concentrações de quitosana-frutose em meio sólido (25 °C).

QF mg/mL	ICM%				
	CMM 3227	CMM 3222	CMM 3206	CMM 3253	CMM 3260
6	100(±0,00) ^{aA}	100(±0,00) ^{aA}	100(±0,00) ^{aA}	100(±0,00) ^{aA}	100(±0,00) ^{aA}
5	100(±0,00) ^{aA}	100(±0,00) ^{aA}	100(±0,00) ^{aA}	100(±0,00) ^{aA}	100(±0,00) ^{aA}
4	98,76(±1,75) ^{aA}	67,71(±1,47) ^{bAB}	64,59(±2,95) ^{bB}	87,50(±17,68) ^{abAB}	87,50(±5,90) ^{aA}
3	80,21(±7,37) ^{bA}	72,92(±2,95) ^{bA}	52,09(±2,95) ^{cB}	66,67(±0,00) ^{bAB}	70,84(±5,89) ^{bA}
2	61,46(±4,42) ^{cA}	50,00(±5,90) ^{cA}	0,00(±0,00) ^{dC}	25,00(±0,00) ^{cB}	27,09(±2,95) ^{cB}
1	2,09(±2,95) ^{dB}	21,00(±5,66) ^{dA}	0,00(±0,00) ^{dB}	0,00(±0,00) ^{cB}	0,00(±0,00) ^{dB}

Os resultados são expressos como percentual de inibição do crescimento micelial radial em comparação com o tratamento controle.

^{a-d} Diferentes letras na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. ^{A-C} Diferentes letras na mesma linha significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste Tukey.

6.4 Efeitos do revestimento comestível de quitosana-frutose na severidade da antracnose em goiabas

Para realização desta análise, foram escolhidas as duas cepas que apresentaram maior tolerância a QF no ensaio da inibição do crescimento radial. Os efeitos do revestimento de QF e os tratamentos com glicerol 1% (controle positivo) no desenvolvimento da lesão de antracnose (expressa como porcentagem de redução do diâmetro da lesão de antracnose, ou seja, PRLA) causadas por diferentes cepas de *C. siamense* em goiabas durante o período de 9 dias a 25 °C são apresentados na Tabela 3 (tratamento curativo) e na Tabela 4 (tratamento preventivo).

Tabela 3 – Redução do diâmetro da lesão de antracnose em relação ao controle negativo do tratamento curativo em goiabas revestidas com quitosana-frutose (2, 4 e 8 mg/mL) e inoculado com diferentes cepas patogênicas de *C. siamense*, armazenadas a 25 °C durante 9 dias.

Fungos	Tratamentos	Dias de armazenamento		
		3	6	9
CMM 3222	Controle +	25,67 (±2,90) ^{aA}	10,64 (±4,01) ^{bB}	-2,78 (±7,65) ^{aC}
	2 mg/mL	21,98 (±5,14) ^{aA}	18,51 (±5,61) ^{abA}	3,97 (±10,13) ^{aA}
	4 mg/mL	41,93 (±11,18) ^{aA}	24,54 (±3,50) ^{aAB}	10,71 (±3,15) ^{aB}
	8 mg/mL	43,01 (±10,37) ^{aA}	20,83 (±2,41) ^{abB}	15,08 (±10,13) ^{aB}
CMM 3206	Controle +	0,00 (±7,53) ^{aA}	4,23 (±2,42) ^{aA}	3,13 (±4,75) ^{aA}
	2 mg/mL	0,00 (±13,04) ^{aA}	21,69 (±18,40) ^{aA}	14,12 (±15,29) ^{aA}
	4 mg/mL	8,69 (±15,68) ^{aA}	11,64 (±8,14) ^{aA}	10,98 (±5,81) ^{aA}
	8 mg/mL	39,13 (±54,30) ^{aA}	18,52 (±8,15) ^{aA}	13,72 (±12,08) ^{aA}

Os resultados são expressos como percentual de redução da lesão de antracnose (PRLA) em comparação ao tratamento controle negativo.

^{a-b} Diferentes letras na mesma coluna significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. ^{A-C} Diferentes letras na mesma linha significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste Tukey.

No tratamento curativo (Tabela 3), a aplicação da QF em todas as concentrações testadas (8, 4 e 2 mg/mL) resultou em diminuição da gravidade da lesão de antracnose em goiaba infectada com *C. siamense* CMM 3222 e CMM 3206. As goiabas revestidas com QF apresentaram menor gravidade da lesão em comparação aos frutos tratados com glicerol 1% (controle positivo). Houve diferença significativa entre os tratamentos no sexto dia de armazenamento. A CMM 3206 apresentou maior tolerância a QF do que a CMM 3222, achado que pode ser observado de forma mais evidente no ensaio *in vitro*, especialmente nas concentrações de 2 e 1 mg/mL da substância teste.

Com relação ao tratamento preventivo (Tabela 4), as lesões características de antracnose diminuíram em relação aos controles (positivo e negativo). Durante o armazenamento os valores de PRLA foram diminuindo em todos os tratamentos. No nono dia de análise o maior percentual de inibição pode ser observado nas goiabas revestidas com 4 mg/mL de QF na cepa CMM 3222 e no mesmo dia o maior percentual de inibição observado na CMM 3206 foi nas frutas revestidas com 8 mg/mL de QF.

Tabela 4 – Redução do diâmetro da lesão de antracnose em relação ao controle negativo do tratamento preventivo em goiabas revestidas com quitosana-frutose (2, 4 e 8 mg/mL) e inoculado com diferentes cepas patogênicas de *C. siamense*, armazenadas a 25 °C durante 9 dias.

Fungos	Tratamentos	Dias de armazenamento		
		3	6	9
CMM 3222	Controle +	10,34 ($\pm 15,03$) ^{aA}	0,55 ($\pm 7,40$) ^{aA}	-3,74 ($\pm 3,68$) ^{aA}
	2 mg/mL	31,03 ($\pm 9,12$) ^{aA}	12,02 ($\pm 15,57$) ^{aA}	2,21 ($\pm 12,58$) ^{aA}
	4 mg/mL	24,14 ($\pm 27,37$) ^{aA}	27,95 ($\pm 18,90$) ^{aA}	16,24 ($\pm 12,06$) ^{aA}
	8 mg/mL	37,93 ($\pm 6,90$) ^{aA}	20,76 ($\pm 8,41$) ^{aAB}	10,29 ($\pm 7,69$) ^{aB}
CMM 3206	Controle +	74,07 ($\pm 44,91$) ^{aA}	16,04 ($\pm 9,33$) ^{aA}	13,15 ($\pm 9,11$) ^{aA}
	2 mg/mL	-3,70 ($\pm 25,66$) ^{aA}	7,33 ($\pm 19,42$) ^{aA}	8,33 ($\pm 14,43$) ^{aA}
	4 mg/mL	66,67 ($\pm 57,74$) ^{aA}	11,69 ($\pm 7,77$) ^{aA}	16,67 ($\pm 4,23$) ^{aA}
	8 mg/mL	53,70 ($\pm 40,19$) ^{aA}	27,86 ($\pm 12,70$) ^{aA}	17,98 ($\pm 9,70$) ^{aA}

Os resultados são expressos como percentual de redução da lesão de antracnose (PRLA) em comparação ao tratamento controle negativo.

^{a-b} Diferentes letras na mesma coluna significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. ^{A-B} Diferentes letras na mesma linha significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste Tukey.

O tratamento curativo mostrou maior PRLA na CMM 3222 nos dias 6 e 9 quando as frutas foram tratadas com 4 mg/mL de QF. Já no tratamento preventivo das goiabas infectadas com CMM 3206, no dia 3 as goiabas revestidas com 4 e 8 mg/mL apresentaram os valores mais altos de PRLA, embora o controle positivo tenha apresentado valores ainda mais altos. No geral,

nos dois tipos de tratamento aplicados, o PRLA foi decrescendo no decorrer do armazenamento dos frutos, com valores de inibição muito próximos não há como afirmar qual dos testes demonstrou melhores resultados.

6.5 Efeitos da quitosana-frutose sobre qualidade pós-colheita de goiabas

Os resultados das características físico-químicas das goiabas revestidas e não revestidas com QF estão apresentados nas Tabelas 5 e 6.

Os frutos apresentaram perda de peso ao longo do armazenamento (Tabela 5). No entanto, a perda de peso foi menor nas frutas revestidas com 4 mg/mL de QF em todos os dias de armazenamento. Os maiores valores de PP% encontrados foram nas goiabas tratadas com 2 mg/mL de QF, ao longo do armazenamento.

Os teores de SS das amostras mostraram diferença significativa. Os valores de SS em frutas tratadas com 4 e 8 mg/mL foram menores no 12º dia de armazenamento em comparação aos tratamentos controle e as frutas tratadas com 2 mg/mL de QF. Os maiores valores foram encontrados nos tratamentos de 2 mg/mL de QF, controle negativo e controle positivo, respectivamente, no último dia de armazenamento.

Os dados da AT não mostraram diferença significativa no último dia de análise. Os teores de AT diminuíram em goiabas revestidas com 4 mg/mL de QF no 12º dia de armazenamento. Nas frutas revestidas com 8 mg/mL os valores de acidez diminuíram a partir do oitavo dia de armazenamento. Os maiores valores foram encontrados no oitavo dia de armazenamento nas goiabas revestidas com o controle negativo e 2 mg/mL de QF, respectivamente.

Os valores de vitamina C diferiram estatisticamente, mostrando, aumento dos teores durante o período de 8 dias de armazenamento para as frutas tratadas e não tratadas, e redução desses valores no 12º dia de análise. No último dia de armazenamento as goiabas que apresentaram o menor teor de vitamina C foram as cobertas com a 2, 8 e 4 mg/mL de QF, respectivamente.

No geral, os valores de pH aumentaram ao longo do tempo de armazenamento e apresentaram diferença significativa. A variação desse índice foi maior nas frutas cobertas com 8 mg/mL de QF e, não foi demonstrada variação entre os frutos tratados e não tratados.

Com relação a firmeza das goiabas, foi observada diferença significativa entre os grupos tratados e não tratados com QF durante os 12 dias de armazenamento (Tabela 6). Das goiabas revestidas com QF, a que apresentou menor valor de firmeza foi a concentração de 2 mg/mL.

As frutas cobertas com 4 mg/mL de QF apresentaram maior firmeza que as frutas não revestidas (controle negativo) no 12º dia de armazenamento.

Tabela 5 – Características físico-químicas da goiaba sem revestimento e revestido com quitosana-frutose (2, 4 e 8 mg/mL) durante 12 dias de armazenamento a temperatura ambiente (25 °C). Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão.

Tratamentos	Dias de armazenamento			
	0	4	8	12
Perda de peso (%)				
Controle –	Nt	8,73 ($\pm 1,15$) ^{aC}	17,87 ($\pm 2,44$) ^{abB}	25,32 ($\pm 3,46$) ^{aA}
Controle +	nt	11,37 ($\pm 1,33$) ^{aB}	16,72 ($\pm 1,26$) ^{abB}	24,37 ($\pm 3,21$) ^{aA}
2 mg/mL	nt	12,86 ($\pm 2,68$) ^{aB}	21,50 ($\pm 4,00$) ^{aAB}	28,12 ($\pm 4,42$) ^{aA}
4 mg/mL	nt	8,51 ($\pm 0,51$) ^{aC}	13,85 ($\pm 0,69$) ^{bB}	21,14 ($\pm 2,47$) ^{aA}
8 mg/mL	nt	9,85 ($\pm 2,27$) ^{aB}	15,32 ($\pm 2,50$) ^{abAB}	21,97 ($\pm 4,02$) ^{aA}
Sólidos solúveis (°Brix)				
Controle –	7,20 ($\pm 0,00$) ^{cC}	7,20 ($\pm 0,00$) ^{cD}	8,00 ($\pm 0,00$) ^{aA}	8,00 ($\pm 0,00$) ^{bB}
Controle +	7,20 ($\pm 0,00$) ^{dB}	8,00 ($\pm 0,00$) ^{aA}	4,00 ($\pm 0,00$) ^{cD}	7,20 ($\pm 0,00$) ^{cC}
2 mg/mL	8,00 ($\pm 0,00$) ^{aB}	7,20 ($\pm 0,00$) ^{dC}	6,40 ($\pm 0,00$) ^{bD}	8,80 ($\pm 0,00$) ^{aA}
4 mg/mL	8,00 ($\pm 0,00$) ^{bA}	7,20 ($\pm 0,00$) ^{eB}	4,00 ($\pm 0,00$) ^{dD}	6,40 ($\pm 0,00$) ^{dC}
8 mg/mL	6,40 ($\pm 0,00$) ^{eB}	8,00 ($\pm 0,00$) ^{bA}	3,60 ($\pm 0,00$) ^{eD}	5,60 ($\pm 0,00$) ^{eC}
Acidez titulável (% ácido cítrico)				
Controle –	0,47 ($\pm 0,07$) ^{abB}	0,59 ($\pm 0,01$) ^{abAB}	0,83 ($\pm 0,06$) ^{aA}	0,53 ($\pm 0,11$) ^{aB}
Controle +	0,43 ($\pm 0,03$) ^{bA}	0,51 ($\pm 0,03$) ^{bcA}	0,60 ($\pm 0,00$) ^{bA}	0,65 ($\pm 0,13$) ^{aA}
2 mg/mL	0,57 ($\pm 0,01$) ^{abAB}	0,47 ($\pm 0,02$) ^{cB}	0,75 ($\pm 0,08$) ^{abA}	0,71 ($\pm 0,03$) ^{aA}
4 mg/mL	0,62 ($\pm 0,01$) ^{aAB}	0,56 ($\pm 0,01$) ^{abBC}	0,63 ($\pm 0,01$) ^{bA}	0,54 ($\pm 0,03$) ^{aC}
8 mg/mL	0,56 ($\pm 0,03$) ^{abA}	0,62 ($\pm 0,03$) ^{aA}	0,57 ($\pm 0,00$) ^{bA}	0,53 ($\pm 0,02$) ^{aA}
Vitamina C (mg/100mL)				
Controle –	26,25 ($\pm 0,00$) ^{bC}	39,38 ($\pm 3,71$) ^{aB}	57,50 ($\pm 0,00$) ^{aA}	37,38 ($\pm 0,00$) ^{aBC}
Controle +	34,13 ($\pm 3,71$) ^{abA}	39,38 ($\pm 3,71$) ^{aA}	31,63 ($\pm 4,07$) ^{bA}	34,50 ($\pm 0,00$) ^{abA}
2 mg/mL	39,38 ($\pm 3,71$) ^{aB}	39,38 ($\pm 3,71$) ^{aB}	57,50 ($\pm 0,00$) ^{aA}	31,63 ($\pm 4,07$) ^{abB}
4 mg/mL	15,75 ($\pm 0,00$) ^{cC}	21,00 ($\pm 0,00$) ^{bBC}	51,75 ($\pm 8,13$) ^{aA}	37,38 ($\pm 4,07$) ^{aAB}
8 mg/mL	26,25 ($\pm 0,00$) ^{bC}	42,00 ($\pm 0,00$) ^{aA}	28,75 ($\pm 0,00$) ^{bB}	23,00 ($\pm 0,00$) ^{bD}
pH				
Controle –	3,83 ($\pm 0,01$) ^{aB}	3,64 ($\pm 0,03$) ^{cC}	3,67 ($\pm 0,01$) ^{dC}	4,03 ($\pm 0,01$) ^{cA}
Controle +	3,79 ($\pm 0,00$) ^{bC}	3,94 ($\pm 0,01$) ^{aB}	3,72 ($\pm 0,01$) ^{cD}	3,98 ($\pm 0,02$) ^{dA}
2 mg/mL	3,60 ($\pm 0,00$) ^{dC}	3,80 ($\pm 0,01$) ^{bB}	3,55 ($\pm 0,00$) ^{eD}	3,88 ($\pm 0,01$) ^{eA}
4 mg/mL	3,64 ($\pm 0,02$) ^{cD}	3,81 ($\pm 0,00$) ^{bB}	3,76 ($\pm 0,00$) ^{bC}	4,20 ($\pm 0,01$) ^{bA}
8 mg/mL	3,82 ($\pm 0,00$) ^{aC}	3,59 ($\pm 0,00$) ^{dD}	4,12 ($\pm 0,00$) ^{aB}	4,31 ($\pm 0,00$) ^{aA}

Nt: não tratadas.

^{a-e} Diferentes letras na mesma coluna significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. ^{A-D} Diferentes letras na mesma linha significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste Tukey.

Nos resultados da análise da cor (Tabela 6), houve diferença significativa entre os tratamentos. O valor de L* aumentou ao longo dos 12 dias de armazenamento das goiabas controle e com as coberturas. Dentre as goiabas revestidas com QF, a que apresentou maior valor de L* foi a concentração de 2 mg/mL.

Os valores de a^* não mostraram diferença significativa entre os tratamentos no primeiro dia de análise. Observou-se que ocorreu aumento ao longo do período de armazenamento em todas as goiabas tratadas e não tratadas. As amostras tratadas com 8 mg/mL de QF apresentaram uma menor variabilidade para este parâmetro.

Quanto ao atributo b^* , houve diferença significativa entre os índices encontrados para cada tratamento. Os valores aumentaram durante o armazenamento das goiabas revestidas e não revestidas. As frutas cobertas com 4 mg/mL de QF apresentaram menor variação nos valores de b^* durante os 12 dias de análise.

Tabela 6 – Efeito das coberturas de quitosana-frutose (2, 4 e 8 mg/mL) sobre a firmeza e cor das goiabas armazenadas a temperatura ambiente (25 °C) por 12 dias.

Tratamentos	Dias de armazenamento			
	0	4	8	12
Firmeza (N)				
Controle –	11,97 ($\pm 2,59$) ^{cB}	13,53 ($\pm 2,47$) ^{bB}	34,68 ($\pm 5,53$) ^{aA}	4,34 ($\pm 1,94$) ^{bC}
Controle +	22,12 ($\pm 5,28$) ^{bA}	3,61 ($\pm 2,24$) ^{cB}	12,45 ($\pm 4,39$) ^{bAB}	6,10 ($\pm 1,24$) ^{abB}
2 mg/mL	47,20 ($\pm 5,74$) ^{aA}	3,93 ($\pm 1,32$) ^{cB}	7,66 ($\pm 2,43$) ^{bcB}	6,95 ($\pm 1,32$) ^{abB}
4 mg/mL	21,57 ($\pm 5,45$) ^{bA}	10,56 ($\pm 1,91$) ^{bAB}	4,86 ($\pm 3,36$) ^{cB}	7,67 ($\pm 2,28$) ^{aAB}
8 mg/mL	14,35 ($\pm 1,53$) ^{bcB}	31,59 ($\pm 6,59$) ^{aA}	6,93 ($\pm 1,92$) ^{bcC}	7,07 ($\pm 0,83$) ^{abC}
Parâmetros de cor				
L*				
Controle –	26,62 ($\pm 0,72$) ^{aA}	29,46 ($\pm 2,83$) ^{aA}	30,21 ($\pm 1,17$) ^{aA}	30,67 ($\pm 3,41$) ^{bA}
Controle +	26,92 ($\pm 1,28$) ^{aB}	23,46 ($\pm 1,04$) ^{bC}	28,80 ($\pm 0,51$) ^{aB}	35,60 ($\pm 1,56$) ^{aA}
2 mg/mL	25,15 ($\pm 0,32$) ^{bB}	22,08 ($\pm 0,56$) ^{bC}	22,88 ($\pm 1,54$) ^{bC}	30,68 ($\pm 1,75$) ^{bA}
4 mg/mL	23,88 ($\pm 0,60$) ^{bB}	30,53 ($\pm 2,00$) ^{aA}	28,68 ($\pm 2,18$) ^{aA}	28,63 ($\pm 1,54$) ^{bA}
8 mg/mL	23,49 ($\pm 0,28$) ^{cB}	29,70 ($\pm 1,50$) ^{aA}	24,43 ($\pm 2,09$) ^{bB}	28,57 ($\pm 0,90$) ^{bA}
a*				
Controle –	1,05 ($\pm 0,34$) ^{aC}	4,75 ($\pm 0,55$) ^{bB}	1,01 ($\pm 0,05$) ^{cC}	6,67 ($\pm 0,49$) ^{aA}
Controle +	1,28 ($\pm 0,19$) ^{aC}	8,40 ($\pm 0,53$) ^{aA}	5,92 ($\pm 0,17$) ^{abB}	5,52 ($\pm 0,56$) ^{abB}
2 mg/mL	1,67 ($\pm 0,61$) ^{aC}	7,54 ($\pm 1,13$) ^{aA}	6,58 ($\pm 1,34$) ^{aAB}	5,74 ($\pm 0,49$) ^{abB}
4 mg/mL	1,05 ($\pm 0,21$) ^{aB}	4,04 ($\pm 0,41$) ^{bA}	4,45 ($\pm 1,57$) ^{bA}	5,76 ($\pm 1,09$) ^{abA}
8 mg/mL	1,47 ($\pm 0,83$) ^{aB}	1,52 ($\pm 0,40$) ^{cB}	4,54 ($\pm 1,26$) ^{abA}	4,86 ($\pm 0,63$) ^{bA}
b*				
Controle –	7,31 ($\pm 0,12$) ^{bC}	8,25 ($\pm 0,77$) ^{bcB}	11,63 ($\pm 0,41$) ^{aA}	11,14 ($\pm 0,21$) ^{abA}
Controle +	7,89 ($\pm 0,17$) ^{aC}	9,28 ($\pm 0,45$) ^{bB}	9,77 ($\pm 0,33$) ^{bB}	12,04 ($\pm 0,54$) ^{aA}
2 mg/mL	7,57 ($\pm 0,03$) ^{abC}	7,22 ($\pm 0,12$) ^{cC}	8,83 ($\pm 0,79$) ^{cB}	10,13 ($\pm 0,73$) ^{bcA}
4 mg/mL	7,86 ($\pm 0,27$) ^{aB}	9,22 ($\pm 0,59$) ^{bA}	9,41 ($\pm 0,36$) ^{bcA}	9,78 ($\pm 0,74$) ^{cA}
8 mg/mL	7,34 ($\pm 0,31$) ^{bC}	10,83 ($\pm 0,64$) ^{aA}	8,93 ($\pm 0,33$) ^{bcB}	10,37 ($\pm 0,30$) ^{bcA}

^{a-c} Diferentes letras na mesma coluna significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. ^{A-C} Diferentes letras na mesma linha significam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste Tukey.

7 DISCUSSÃO

No que concerne aos aspectos estruturais das substâncias, os espectros na região do infravermelho apresentam as bandas harmônicas e de combinação de algumas das vibrações refletindo a posição e a intensidade dessas bandas. É considerada uma boa técnica para avaliar quantitativamente muitos compostos além de auxiliar na detecção de modificações nos produtos (MA et al., 2018; ROHAETI et al., 2015).

Zhang, Yang e Zhao (2015) encontraram estiramento C-H assimétrico em carboidratos na região 2926 cm^{-1} . Esse estiramento assimétrico do grupo C-H pode ser observado em 2950 a 2900 cm^{-1} . As bandas OH existentes nas estruturas dos monossacarídeos como a frutose, e polímeros como a quitosana, podem ser observadas em 3600 a 3000 cm^{-1} (OLIVEIRA et al., 2014; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

Berger et al. (2018) observaram em 1657 cm^{-1} pico correspondente ao grupo amina C=O (amida I) da QUI, resultado semelhante ao encontrado nesse estudo. O deslocamento observado do pico da QF na amida I, sugere que pode ter ocorrido uma interação da QUI com a molécula de frutose. Melo et al. (2018) também encontrou picos sobrepostos do grupamento O-H e N-H (amida II) da QUI, em torno de 3551 cm^{-1} , pois o modo vibracional pode ocorrer na mesma região do espectro.

A intensidade do pico C-N da QF aumentou em relação ao da QUI, indicando que a frutose foi incorporada na quitosana através da formação das bases de Schiff (ligação dupla C-N) entre a terminação redutora da frutose e o grupo amino da quitosana (DASH et al., 2011; LIANG et al., 2014). Pavia et al. (2015) descreveram que o estiramento C-N acontece na faixa de 1350 a 1000 cm^{-1} . Com a adição da frutose os picos a partir de 978 cm^{-1} desapareceram ou diminuíram na QF, sugerindo que a unidade de açúcar da QF foi clivada com a adição de frutose (UMEMURA; KAWAI, 2007).

Com relação a citotoxicidade, o MTT é um teste colorimétrico usado para verificar a viabilidade celular e, tem sido evidenciado que alterações no funcionamento mitocondrial podem estar relacionados ao estresse oxidativo, em decorrência do papel que as mitocôndrias exercem como o principal componente celular na geração de radicais livres (GRACIOLI et al., 2013). Quanto a classificação da QUI e da QF frente a atividade citotóxica, o percentual de inibição celular por MTT quando inferior a 50 %, permite classificar a substância como não citotóxica na concentração testada (FREIRE et al., 2016).

Com relação a citotoxicidade, no estudo de Zhang et al. (2016), o teste do MTT mostrou que QUI modificada pela RM mostrou boa viabilidade celular (70,86-99,16%) em células

HLMVEC (células endoteliais microvasculares do pulmão humano) na concentração de 0,12 a 1 mg/mL. Jung et al. (2014) demonstraram que a citotoxicidade dos PRM de quitoooligômeros em células hepáticas, apontaram viabilidade de 100% para todas as concentrações da substância teste após 24 h, indicando que os compostos avaliados não eram tóxicos às células.

Estudos mostraram que os PRM de QUI exibem melhor atividade antimicrobiana em comparação com a QUI padrão (LUO et al., 2013; ZHANG; YANG; ZHAO, 2015). Nesse estudo, o ICM% da QF testada frente aos fungos fitopatogênicos demonstrou ser menor do que a da QUI convencional testada em estudos prévios, com valores inibitórios (<100%) de 5 mg/mL (BRAGA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2017).

A QF (6, 5, 4, 3, 2 mg/mL) inibiu efetivamente o crescimento de todas as cepas de *C. siamense* testadas em meio sintético (concentração-dependente). Um estudo anterior encontrou que a QUI (2,5 e 3,0%) inibiu o crescimento micelial de *C. glosporioides in vitro* em 100% durante o período de 7 dias de incubação, enquanto que nas concentrações de 0,5 e 1,5% o crescimento micelial começou no segundo e no quarto dia de incubação, respectivamente, e cessou após quatro e seis dias, respectivamente (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2003). Contudo, não há relato anterior sobre os efeitos da QF no crescimento de *C. siamense* em frutos.

As propriedades antifúngicas da QUI estão associadas com a sua capacidade de interagir através de sua cadeia catiônica (grupos amino) com os fosfolipídios da membrana plasmática dos fungos que são carregados negativamente, afetando a permeabilidade da membrana e causando perda de componentes intracelulares (ALLOUI et al., 2014; KONG et al., 2010). Além disso, a eficácia de revestimentos à base de QUI na inibição de fungos patogênicos em frutas está relacionada à capacidade de induzir o aumento da produção de enzimas relacionadas à defesa, como polifenoloxidase e peroxidase (EDIRISINGHE et al., 2014).

Os revestimentos de QF (2, 4 e 8 mg/mL) foram capazes de diminuir a severidade das lesões de antracnose em goiabas inoculadas com *C. siamense* CMM 3222 e CMM 3206 ao longo de 8 dias de armazenamento. Esses achados estão em acordo com um estudo anterior que observou em goiabas revestidas com QUI e óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, efeitos inibitórios notáveis na redução da severidade das lesões de antracnose causadas por *C. siamense*, *C. asianum*, *C. fruticola*, *C. karstii* e *C. tropicale*. O revestimento formado por 5 mg/mL de QUI + 0,6 µL/mL do óleo causou a maior redução ($p < 0,05$) no desenvolvimento da lesão de antracnose (PRLA: 100,00-33,00) nesta fruta até o 12º dia de armazenamento, mesmo em comparação a fungicidas sintéticos usados como controle positivo (thiophanate-methyl – PRLA: 90,10-0,00; difenoconazole – PRLA: 79,40-0,00) (OLIVEIRA et al., 2018a).

Com relação a perda de peso, o uso da QF pode proporcionar um controle adicional a esse parâmetro de qualidade, como verificado por Silva et al. (2018), que após 96 horas de aplicação do revestimento, as goiabas cobertas com maior concentração de QUI (3,0%) apresentaram menor PP% que concentrações mais baixas (QUI: 2,0-1,0%) e o controle (sem revestimento). Isto implica em efeito benéfico do revestimento de QF devido a diminuição na taxa de transpiração das frutas e consequente redução da perda de água.

A perda de peso se deve principalmente a perda de água causada pelos processos de respiração e transpiração dos frutos, e é considerada um bom indicador para mostrar o efeito dos revestimentos na preservação da qualidade das frutas (ETEMADIPOOR et al., 2019, ZHU et al., 2008). O revestimento de frutas com QUI é comprovadamente eficaz em conferir uma barreira física à perda de umidade; assim, uma diminuição do PP% nos frutos revestidos com esse composto natural foi demonstrada em mamão (ALI et al., 2011), morango (HERNÁNDEZ-MUÑOZ et al., 2008) e mangas (JONGSRI et al., 2016).

A redução do teor de SS nas goiabas causada pela QF pode ser devido a menor taxa de respiração e atividade metabólica da fruta, retardando o seu processo de amadurecimento (OLIVEIRA et al., 2014). Essa propriedade pode ser elevada quando a concentração de QF é maior, o que foi confirmado pela menor concentração de SS nas concentrações de 4 e 8 mg/mL de QF. Estes dados corroboram com resultados encontrados por Melo et al. (2018) em uvas tratadas com nanopartículas de QUI, o teor de SS foi menor em uvas cobertas com biofilmes feitos com maior concentração de nanopartículas.

Além disso, a propriedade de formação de gel da QUI constitui uma barreira semi-permeável ao redor da fruta, alterando a atmosfera interna, diminuindo o gás oxigênio e/ou elevando o dióxido de carbono, enquanto reduz a produção de etileno (DONG et al., 2004; SILVA et al., 2018).

O ácido cítrico é o principal ácido orgânico da fruta madura. E a AT das goiabas diminuiu nas frutas revestidas com 4 mg/mL de QF (12º dia) e 8 mg/mL a partir do 8º dia, sendo diretamente proporcional ao aumento das concentrações de QF. Han et al. (2004) observaram que a AT de morango e framboesa cobertas com QUI diminuiu, atrasando efetivamente o amadurecimento das frutas.

Um estudo anterior mostrou que processos respiratórios consomem ácidos orgânicos e sólidos solúveis para manter o metabolismo normal da fruta durante o armazenamento (ZHOU et al., 2008). A cobertura comestível torna-se uma alternativa para limitar essa atividade respiratória e metabólica da fruta, diminuindo a perda de componentes nutricionais, como SS e AT (HAGENMAIER, 2005).

Neste trabalho, foi possível observar que houve um aumento mais acentuado nos valores de vitamina C nos frutos controle em relação aos frutos revestidos. Esse mesmo resultado foi observado por Oliveira et al., (2018b). No estudo de Hong et al (2012), frutas revestidas com 1,0 e 2,0% de QUI apresentaram uma redução mais lenta dos teores de vitamina C, insinuando que o revestimento de QUI diminui a perda de vitamina C.

O revestimento atrasou o processo de amadurecimento dos frutos e esse efeito causado pela cobertura de QF induziu uma diminuição do teor de vitamina C em relação aos frutos controle, possivelmente devido à redução de difusão de O₂, o que diminui a taxa de respiração dos frutos tratados e, conseqüentemente atrasa a reação de oxidação do ácido ascórbico da fruta (GOL; PATEO; RAO, 2013).

O pH foi mantido entre 3,55 e 4,31 e mostrou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos ao longo do período de armazenamento. No entanto, Perdonés et al. (2012) observaram que, em morangos revestidos com QUI e óleo essencial de limão, os valores de pH foram significativamente inferiores aos de frutas não revestidas após o 15º dia de armazenamento a 4 °C. Conforme discutido por Kim et al. (2014), o tipo de cobertura comestível, o tempo e a temperatura de armazenamento não afetam significativamente o pH das frutas.

As diferentes concentrações de QF podem não ter influenciado nos resultados do pH, pois, as alterações de pH em frutas podem estar relacionadas com a variabilidade natural do fruto e não ao tratamento aplicado. Assim, alterações observadas nos valores de pH por alguns dias de armazenamento podem ser devido a diferenças na composição de ácidos orgânicos nas frutas (VARGAS et al., 2006).

No presente estudo, o amolecimento dos frutos revestidos com 8 mg/mL QF foi reduzido em comparação ao controle negativo no último dia de armazenamento. No entanto, em estudo realizado por Hong et al. (2012), goiabas revestidas com QUI não apresentaram diferença significativa em relação a firmeza quando comparadas ao grupo controle. Esses autores perceberam que as goiabas sem revestimento mostraram perda gradual de firmeza a partir do terceiro dia de armazenamento, enquanto a firmeza das goiabas revestidas também diminuiu, porém, no sexto dia de armazenamento, os valores de firmeza das amostras revestidas foram maiores em comparação com as amostras controle.

A firmeza das frutas é um dos mais importantes atributos da vida pós-colheita e qualidade dos frutos, sendo muitas vezes o primeiro parâmetro julgado pelo consumidor porque está relacionado a aceitação geral do fruto (SILVA et al., 2018). A perda de textura nos frutos é devida a alterações na composição da parede celular, uma vez que as pectinas são responsáveis

pela coesão dos frutos e são os principais componentes da lamela média, bem como elementos estruturais na parede celular primária (MURMU; MISHRA, 2017; KHALIQ et al., 2015).

A goiaba possui um alto teor de pectinas e, em conjunto com a fração da fibra, são responsáveis pela integridade da parede celular. Durante o processo de maturação, as principais enzimas que degradam a parede celular podem agir sinergicamente para diminuir o tamanho molecular dos polímeros de pectina dentro da parede celular, levando à despolimerização e indução de solubilidades de polissacarídeos da pectina (JAIN et al., 2001).

A manutenção da firmeza nas goiabas com coberturas a base de QUI pode estar relacionada a sua maior atividade antifúngica e cobertura da cutícula das lenticelas, reduzindo a infecção, a respiração e outros processos normais da maturação dos frutos durante o armazenamento (MARTÍNES-ROMERO et al., 2006).

A cor da casca e da polpa das frutas estão entre as características visuais mais importantes que afetam a percepção geral da qualidade das frutas pelos consumidores. As cores da casca da goiaba vão do verde ao amarelo, representando a fruta madura (CISSÉ et al., 2015; SILVA et al., 2018).

Os valores da luminosidade (L^*) oscilaram durante o período de armazenamento das goiabas, tanto nos grupos tratados com QF quanto nos grupos controle (+ e -). No entanto, em termos gerais, os grupos tratados apresentaram menores valores de L^* , sugerindo auxílio na manutenção da luminosidade devido ao retardo no processo de maturação das frutas. O aumento da luminosidade também foi demonstrado por Mattiuz e Durigan (2001) no pós-colheita de goiabas, esse processo foi atribuído ao avanço da maturação, que, em condições normais, torna os frutos mais claros.

O valor de a^* aumentou com o progresso do tempo de armazenamento, porém se manteve semelhante para as goiabas revestidas com as maiores concentrações de QF, indicando que a adição de QF poderia causar atraso no escurecimento e, portanto, no processo de amadurecimento em goiabas (NAIR; SAXENA; KAUR, 2018).

No estudo prévio das autoras Aquino, Blank e Santana (2015) goiabas revestidas de QUI, amido de mandioca e óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer, o valor de b^* aumentou nas goiabas sem revestimento e diminuiu nas goiabas revestidas durante 10 dias de armazenamento a temperatura ambiente, corroborando com os dados encontrados nesse estudo. Os revestimentos comestíveis contendo uma mistura de 1,0% ou 3,0% do óleo essencial resultaram em goiabas exibindo menor intensidade de cores vermelhas e amarelas durante o período de armazenamento à temperatura ambiente, em comparação com frutas não revestidas

e aquelas revestidas apenas com QUI. Isso indica que a adição de óleo essencial aos revestimentos comestíveis atrasou o amadurecimento dos frutos naquele período.

8 CONCLUSÃO

A análise de caracterização através dos espectros de infravermelho, mostram que houve a ligação entre a QUI e a frutose. A QF apresentou melhor atividade antifúngica *in vitro* que a QUI padrão. A QF mostrou-se atóxica conforme o ensaio do MTT. A aplicação de QF como revestimento de goiabas infectadas artificialmente diminuiu o desenvolvimento de antracnose causado por cepas de *C. siamense*, podendo ser observada a diminuição na severidade da lesão nos frutos revestidos. O revestimento elaborado manteve as características de qualidade físico-químicas da goiaba durante o armazenamento. Com base nestes resultados, a aplicação de revestimentos de QF podem ser alternativas promissoras para o controle da antracnose causada por *C. siamense* em goiabas da variedade Pedro Sato, a eficácia antifúngica destes tratamentos independe se o revestimento será aplicado com um efeito curativo ou preventivo.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAHIM, I. R.; ABO-ELYOUSR, K. A. M. Using of endophytic *Saccharomycopsis fibuligera* and thyme oil for management of gray mold rot of guava fruits. **Biological Control**, v. 110, p. 124-131, 2017.
- ABREU, F. P et al. Cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) extract from by-product of juice processing: A focus on carotenoids. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 25-31, 2013.
- ALI, A. et al. Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. **Food Chemistry**, v. 124, n. 2, p. 620-626, 2011.
- ALI, A.; NOH, N. M.; MUSTAFA, M. A. Antimicrobial activity of chitosan enriched with lemongrass oil against anthracnose of bell pepper. **Food Packaging Shelf Life**, v. 3, p. 56-61, 2015.
- ALLENDE, A. et al. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O₃, superatmospheric O₂ and high CO₂) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, n. 3, p. 201-211, 2007.
- ALLEY, M. C. et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. **Cancer Research**, v. 48, p. 589- 601, 1988.
- ALOUI, H. et al. Efficacy of the combined application of chitosan and Locust Bean Gum with different citrus essential oils to control postharvest spoilage caused by *Aspergillus flavus* in dates. **International Journal of Food Microbiology**, v. 170, p. 21-28, 2014.
- ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA (AGRIANUAL). Disponível em: <<http://www.agrianual.com.br/>>. Acesso em: 29 nov. 2019.
- AQUINO, A. B.; BLANK, A. F.; SANTANA, L. C. L. A. Impact of edible chitosan–cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature. **Food Chemistry**, v. 171, p. 108-116, 2015.
- ARROYO, B. J. et al. Antimicrobial active edible coating of alginate and chitosan add ZnO nanoparticles applied in guavas (*Psidium guajava* L.). **Food Chemistry**, p. 125566, 2019.
- Association of Official Analytical Chemists International (AOAC), 2012. Official methods of analysis, of AOAC international (19th ed.).
- AYRANCI, E.; TUNC, S. The effect of edible coatings on water and vitamin C loss of apricots (*Armeniaca vulgaris* Lam.) and green peppers (*Capsicum annuum* L.). **Food Chemistry**, v. 87, n. 3, p. 339-342, 2004.
- AZEVEDO, A. N. et al. Response surface methodology for optimisation of edible chitosan coating formulations incorporating essential oil against several foodborne pathogenic bacteria. **Food Control**, v. 43, p. 1-9, 2014.

BAUTISTA-BAÑOS, S. et al. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **Crop Protection**, v. 22, n. 9, p. 1087-1092, 2003.

BERGER, L. R. R. et al. Chitosan produced from Mucorales fungi using agroindustrial by-products and its efficacy to inhibit *Colletotrichum* species. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 635-641, 2018.

BRAGA, S. P. et al. Application of coatings formed by chitosan and *Mentha* essential oils to control anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. brevisporum* in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 631-639, 2019.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BUTOLA, B. S. et al. Recent advances in chitosan polysaccharide and its derivatives in antimicrobial modification of textile materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 905-912, 2019.

CAMILI, E. C. et al. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva “Itália” contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathology**, v. 33, p. 215-221, 2007.

CARDOSO, J. E. et al. Doenças do cajueiro. In: ARAÚJO, J.P.P (Ed). **Agronegócio do caju: práticas e inovações**. Brasília: Embrapa, 2013. p. 217-238.

CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P. Capítulo 9: Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças do cajueiro no Brasil, In: GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. (Eds). **Impacto das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil**. Jaguariúna: Embrapa, 2011. p. 162–176.

CARVALHO, C. et al. Anuário Brasileiro da Fruticultura. **Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz**, 2017, 88p.

CHANG, Y.; SUNG, W.; CHEN, J. Effect of different molecular weight chitosans on the mitigation of acrylamide formation and the functional properties of the resultant Maillard reaction products. **Food Chemistry**, v. 199, p. 581-589, 2016.

CHECHI, A. et al. Diversity in species composition and fungicide resistance profiles in *Colletotrichum* isolates from apples. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 158, p. 18-24, 2019.

CHUNG, Y.; KUO, C.; CHEN, C. Preparation and importante functional properties of water-soluble chitosan produced through Maillard reaction. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 13, p. 1473-1482, 2005.

CIE – **Commission Internationale de l’Éclairage**. **Colourimetry**, second ed. CIE Publication, Vienna, p.78, 1986.

CISSE, M. et al. Preservation of mango quality by using functional chitosan-lactoperoxidase systems coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 101, p. 10-14, 2015.

COSTA, E. M. et al. Evaluation and insights into chitosan antimicrobial activity against anaerobic oral pathogens. **Anaerobe**, v. 18, n. 3, p. 305-309, 2012.

DASH, M. et al. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 8, p. 981-1014, 2011.

DEAN, R. et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012.

DEHGHAN-SHOAR, Z.; HAMIDI-ESFAHANI, Z.; ABBASI, S. Effect of temperature and modified atmosphere on quality preservation of sayer date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 34, n. 2, p. 323-334, 2010.

DONG, H. et al. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of peeled litchi fruit. **Journal of Food Engineering**, v. 64, n. 3, p. 355-358, 2004.

EDIRISINGHE, M. et al. Chitosan controls postharvest anthracnose in bell pepper by activating defense-related enzymes. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 12, p. 4078-4083, 2014.

ELSABEE, M. Z.; ABDOL, E. S.; Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 4, p. 1819-1841, 2013.

ETEMADIPOOR, R. et al. The potential of gum arabic enriched with cinnamon essential oil for improving the qualitative characteristics and storability of guava (*Psidium guajava* L.) fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 251, p. 101-107, 2019.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y., 2015. Fungal Databases. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Disponível em: <<https://nt.arsgrin.gov/fungal databases/>>. Acesso em: 29 dez. 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), 2017. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. Acesso em: 27 set. 2018.

FORMIGA, A. S. et al. Use of edible coatings based on hydroxypropyl methylcellulose and beeswax in the conservation of red guava ‘Pedro Sato’. **Food Chemistry**, v. 290, p. 144-151, 2019.

FREIRE, P. L. L. et al. Antimicrobial and cytotoxicity evaluation of colloidal chitosan – silver nanoparticles – fluoride nanocomposites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 896–903, 2016.

GAO, P.; ZHU, Z.; ZHANG, P. Effects of chitosan–glucose complex coating on postharvest quality and shelf life of table grapes. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 371-378, 2013.

- GOL, N. B.; PATEL, P. R.; RAO, R. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. **Postharvest Biology and Technology**, v. 85, p. 185-195, 2013.
- GOY, R. C.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, p. 241-247, 2009.
- GRACIOLI, E.C. et al. Dispositivos poliméricos cardiovasculares: comportamento termomecânico e viabilidade celular. **Revista Matéria**, v. 18, n. 2, p. 1313 –1322, 2013.
- GRANATO, D.; NUNES, D. **Análises Químicas, Propriedades Funcionais e Controle de Qualidade de Alimentos e Bebidas: Uma Abordagem Teórico-Prática**. Elsevier Brasil, 2017.
- GRANDE-TOVAR, C. D. et al. Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. **Trends in Food Science and Technology**, v. 78, p. 61-71, 2018.
- GUERRA, I. C. D. et al. Coatings comprising chitosan and *Mentha piperita* L. or *Mentha x villosa* Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 214, p. 168-178, 2015.
- GUERRA, I. C. D. et al. The effects of composite coatings containing chitosan and *Mentha (piperita* L. or *x villosa* Huds) essential oil on postharvest mold occurrence and quality of table grape cv. Isabella. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 34, p. 112-121, 2016.
- GULLÓN, B. et al. Synthesis, optimization and structural characterization of a chitosan-glucose derivative obtained by the Maillard reaction. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 382-389, 2016.
- HAGENMAIER, R. D. A comparison of ethane, ethylene and CO₂ peel permeance for fruit with different coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, n. 1, p. 56-64, 2005.
- HAIDER, M. et al. Fungi associated with guava anthracnose and management of *Colletotrichum gloeosporioides* through biological and chemical means. **Pakistan Journal of Phytopathology**, v. 28, n. 2, p. 153-160, 2016.
- HAMDINE, M.; HEUZEY, M.; BÉGIN, A. Effect of organic and inorganic acids on concentrated chitosan solutions and gels. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 37, n. 3, p. 134-142, 2005.
- HAN, C. et al. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria* × *ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, n. 1, p. 67-78, 2004.
- HAN, Y. et al. Carbendazim sensitivity in populations of *Colletotrichum gloeosporioides* complex infecting strawberry and yams in Hubei Province of China. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 6, p. 1391-1400, 2018.

HAUSER, C. et al. Maillard reaction products as antimicrobial components for packaging films. **Food Chemistry**, v. 145, p. 608-613, 2014.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. et al. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) quality during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 110, n. 2, p. 428-435, 2008.

HONG, K. et al. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruit during cold storage. **Scientia Horticulturae**, v. 144, p. 172-178, 2012.

HONGPATTARAKERE, T.; RIYAPHAN, O. Effect of deacetylation conditions on antimicrobial activity of chitosan prepared from carapace of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 1-9, 2008.

HU, M. et al. Reduction of anthracnose and enhancement of disease resistance in ripening mango fruit by nitric oxide treatment. **Postharvest Biology and Technology**, v. 97, p. 115-122, 2014.

JAIN, N. et al. Compositional and enzymatic changes in guava (*Psidium guajava* L.) fruits during ripening. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 23, n. 3, p. 357-362, 2001.

JIANG, W. et al. A study of the tyramine/glucose Maillard reaction: Variables, characterization, cytotoxicity and preliminary application. **Food Chemistry**, v. 239, p. 377-384, 2018.

JIANGLIAN, D.; SHAOYING, Z. Application of chitosan based coating in fruit and vegetable preservation: A review. **Journal of Food Processing & Technology**, v. 4, n. 5, p. 227, 2013.

JIAO, Y. et al. Consumption of guava may have beneficial effects in type 2 diabetes: A bioactive perspective. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 543-552, 2017.

JONGSRI, P. et al. Effects of molecular weights of chitosan coating on postharvest quality and physicochemical characteristics of mango fruit. **LWT – Food Science and Technology**, v. 73, p. 28-36, 2016.

JUNG, W. et al. Preparation and antioxidant potential of maillard reaction products from (MRPs) chitoooligomer. **Food Chemistry**, v. 145, p. 173-178, 2014.

KAMLE, M. et al. Identification and phylogenetic correlation among *Colletotrichum gloeosporioides* pathogen of anthracnose for mango. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 2, n. 3, p. 285-287, 2013.

KHALIQ, G. et al. Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. **Scientia Horticulturae**, v. 190, p. 187-194, 2015.

KIM, I. et al. Grape berry coatings of lemongrass oil-incorporating nanoemulsion. **LWT – Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 1-10, 2014.

KONG, M. et al. Antimicrobial properties of chitosan and mole of action: a state of art review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 1, p. 51-63, 2010.

LEIVA, G. E.; NARANJO, G. B.; MALEC, L. S. A study of different indicators of Maillard reaction with whey proteins and different carbohydrates under adverse storage conditions. **Food Chemistry**, v. 215, p. 410-416, 2017.

LI, S.; LIN, J.; CHEN, X. Effect of chitosan molecular weight on the functional properties of chitosan-maltose Maillard reaction products and their application to fresh-cut *Typha latifolia* L. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 682-690, 2014.

LI, X. et al. Controllable antioxidant xylan-chitosan Maillard reaction products used for lipid food storage. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 428-433, 2013.

LI, Y. et al. Physicochemical characterization and antibacterial property of chitosan acetates. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, n. 2, p. 227-232, 2007.

LIANG, C. et al. Structure and antimicrobial mechanism of ϵ -polylysine-chitosan conjugates through Maillard reaction. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 70, p. 427-434, 2014.

LIMA, N. B. et al. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 14, n. 4, p. 679-688, 2015.

LIMA, N. B. et al. Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. **Fungal Diversity**, v. 61, n. 1, p. 75-88, 2013.

LIU, F. et al. Species boundaries in plant pathogenic fungi: a *Colletotrichum* case study. **BMC Evolutionary Biology**, v. 16, n. 1, p. 81, 2016.

LIU, J. et al. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 44, n. 3, p. 300-306, 2007.

LO'AY, A. A.; TAHER, M. A. Effectiveness salicylic acid blending in chitosan/PVP biopolymer coating on antioxidant enzyme activities under low storage temperature stress of 'Banati' guava fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 238, p. 343-349, 2018a.

LO'AY, A. A.; TAHER, M. A. Influence of edible coatings chitosan/PVP blending with salicylic acid on biochemical fruit skin browning incidence and shelf life of guava fruits cv. 'Banati'. **Scientia Horticulturae**, v. 235, p. 424-436, 2018b.

LUO, Y. et al. Maillard reaction products from chitosan-xylan ionic liquid solution. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 835-841, 2013.

MA, Y. et al. Assessment of polysaccharides from mycelia of genus *ganoderma* by mid-infrared and near-infrared spectroscopy. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2018.

MANGARAJ, S. et al. Design and development of modified atmosphere packaging system for guava (cv. Baruipur). **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 11, p. 2925-2946, 2014.

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

MÁRQUEZ, I. G. et al. Disruption of protein synthesis as antifungal mode of action by chitosan. **International Journal of Food Microbiology**, v. 164, n. 1, p. 108-112, 2013.

MARTÍNEZ-ROMERO, D. et al. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by Aloe vera treatment: a new edible coating. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, n. 1, p. 93-100, 2006.

MATHOOKO, F. M. A comparative study of the response of tomato fruit to low temperature storage and modified atmosphere packaging. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 2, p. 34-41, 2003.

MATTIUZ, B.; DURIGAN, J. F. Efeito de injúrias mecânicas na firmeza e coloração de goiabas das cultivares Paluma e Pedro Sato. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 277-281, 2001.

MATUTE, A. I. R. et al. Synthesis, characterization and functional properties of galactosylated derivatives of chitosan through amide formation. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 245-255, 2013.

MELO, N. F. C. B. et al. Effects of fungal chitosan nanoparticles as eco-friendly edible coatings on the quality of postharvest table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 139, p. 56-66, 2018.

MOON, P. et al. Assessment of fruit aroma for twenty-seven guava (*Psidium guajava*) accessions through three fruit developmental stages. **Scientia Horticulturae**, v. 238, p. 375-383, 2018.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

MUNHUWEYI, K. et al. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of chitosan-essential oils against pomegranate fruit pathogens. **Postharvest Biology and Technology**, v. 129, p. 9-22, 2017.

MURMU, S. B.; MISHRA, H. N. Engineering evaluation of thickness and type of packaging materials based on the modified atmosphere packaging requirements of guava (Cv. Baruipur). **LWT-Food Science and Technology**, v. 78, p. 273-280, 2017.

MURMU, S. B.; MISHRA, H. N. The effect of edible coating based on Arabic gum, sodium caseinate and essential oil of cinnamon and lemon grass on guava. **Food Chemistry**, v. 245, p. 820-828, 2018.

NAIR, M. S.; SAXENA, A.; KAUR, C. Effect of chitosan and alginate based coatings enriched with pomegranate peel extract to extend the postharvest quality of guava (*Psidium guajava* L.). **Food Chemistry**, v. 240, p. 245-252, 2018.

NAJAFABADI, N. S. et al. Effect of gamma irradiation on some physicochemical properties and bioactive compounds of jujube (*Ziziphus jujube* var *vulgaris*) fruit. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 130, p. 62-68, 2017.

NIMISHA, S. et al. Molecular breeding to improve guava (*Psidium guajava* L.): current status and future prospective. **Scientia Horticulturae**, v. 164, p. 578-588, 2013.

OLIVEIRA, C. E. V. et al. Effects of chitosan from *Cunninghamella elegans* on virulence of post-harvest pathogenic fungi in table grapes (*Vitis labrusca* L.). **International Journal of Food Microbiology**, v. 17, p. 54-61, 2014.

OLIVEIRA, K. A. R. et al. Synergistic mixtures of chitosan and *Mentha piperita* L. essential oil to inhibit *Colletotrichum* species and anthracnose development in mango cultivar Tommy Atkins. **Food Microbiology**, v. 66, p. 96-103, 2017.

OLIVEIRA, P. D. L. et al. Control of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in guava, mango and papaya using synergistic combination of chitosan and *Cymbopogon citratus* (D. C. ex Nees) Stapf. Essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 266, p. 87-94, 2018a.

OLIVEIRA, V. R. L. et al. Use of biopolymeric coating hydrophobized with beeswax in post-harvest conservation of guavas. **Food Chemistry**, v. 259, p. 55-64, 2018b.

PATIL, V.; CHAUHAN, A. K.; SINGH, R. P. Optimization of the spray-drying process for developing guava powder using response surface methodology. **Powder Technology**, v. 253, p. 230-236, 2014.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PERDONES, A. et al. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. **Postharvest biology and technology**, v. 70, p. 32-41, 2012.

PETRICCIONE, M. et al. Influence of a chitosan coating on the quality and nutraceutical traits of loquat fruit during postharvest life. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 287-296, 2015.

PHOULIVONG, S. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits. **Fungal Diversity**, v. 44, n. 1, p. 33-43, 2010.

PRIHASTUTI, H. et al. Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. **Fungal Diversity**, v. 39, n. 1, p. 89-109, 2009.

ROHAETI, E. et al. Fourier transform infrared spectroscopy combined with chemometrics for discrimination of *Curcuma longa*, *Curcuma xanthorrhiza* and *Zingiber cassumunar*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.137, p.1244-1249, 2015.

ROMANAZZI, G. et al. Shelf life extension of fresh fruit and vegetable by chitosan treatment. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, p. 579-601, 2017.

SANTOS, J. E. et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, p. 242-249, 2003.

SERENO, A. B. et al. Mineral profile, carotenoids and composition of cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal), a wild Brazilian fruit. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 72, p. 32-38, 2018.

SERRA, I. M. R. S. et al. Molecular analysis in the differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from cashew and mango trees. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 6, p. 1099-1108, 2011.

SHARMA, G.; SHENOY, B. D. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 47, n. 10, p. 1179-1194, 2014.

SHARMA, R. R.; SINGH, D.; SINGH, R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. **Biological Control**, v. 50, n. 3, p. 205-221, 2009.

SHELMA, R.; SHARMA, C. P. Acyl modified chitosan derivatives for oral delivery of insulin and curcumin. **Journal of Material Science: Materials in Medicine**, v. 21, n. 7, p. 2133-2140, 2010.

SILVA, W. B. et al. Chitosan delays ripening and ROS production in guava (*Psidium guajava* L.) fruit. **Food Chemistry**, v. 242, p. 232-238, 2018.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SINGH, P. et al. Effect of *Citrus reticulata* and *Cymbopogon citratus* essential oils on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production on *Asparagus racemosus*. **Mycopathologia**, v. 170, n. 3, p. 195-202, 2010.

SINGH, S. K.; SHARMA, M.; SINGH, P. K. Combined approach of intercropping and INM to improve availability of soil and leaf nutrients in fruit trees. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 2, p. 823-829, 2016.

SINGH, S. P. Guava (*Psidium guajava* L.). In: **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**. Woodhead Publishing, 2011. p. 213-246e.

SINGH, T. et al. Effect of chitosan on physiological, morphological, and ultrastructural characteristics of wood-degrading fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 62, n. 2, p. 166-124, 2008.

SONG, Q. et al. Synthesis and property studies of N-carboxymetil chitosan. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 119, n. 6, p. 3282-3286, 2010.

SUN, T. et al. Antibacterial activities and preservative effect of chitosan oligosaccharide Maillard reaction products on *Penaeus vannamei*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 764-768, 2017.

TAYEL, A. A. et al. Inhibition of microbial pathogens by fungal chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 47, n. 1, p. 10-14, 2010.

TEIXEIRA, G. H. A et al. Quality of guava (*Psidium guajava* L. cv. Pedro Sato) fruit stored in low-O₂ controlled atmospheres is negatively affected by increasing levels of CO₂. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 62-68, 2016.

TUFFI, R. et al. Effects of exposure to gaseous ozone and negative air ions on control of epiphytic flora and the development of *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* during cold storage of strawberries and tomatoes. **Italian Journal of Food Science**, v. 24, n. 2, p. 102-113, 2012.

UACIQUETE, A.; KORSTEN, L.; VAN DER WAALS, J. E. A search for anthracnose resistant cashew cultivars in Mozambique. **Crop Protection**, v. 50, p. 6-11, 2013.

UMEMURA, K.; KAWAI, S. Modification of chitosan by the Maillard reaction using cellulose model compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 2, p. 242-248, 2007.

VARGAS, M. et al. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan–oleic acid edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 41, n. 2, p. 164-171, 2006.

VELOSO, J. S. et al. Why species delimitation matters for fungal ecology: *Colletotrichum* diversity on wild and cultivated cashew in Brazil. **Fungal Biology**, v. 122, p. 677-691, 2018.

VERHEUL, R. J. et al. Synthesis, characterization and in vitro biological properties of O-methyl free N, N, N-trimethylated chitosan. **Biomaterials**, v. 29, n. 27, p. 3642-3649, 2008.

VERLEE, A.; MINCKE, S.; STEVENS, C. V. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, p. 268-283, 2017.

WANG, H. et al. Antioxidant activity of Maillard reaction products from a Yak casein-glucose model system. **International Dairy Journal**, v. 91, p. 55-63, 2019.

WANG, T.; TURHAN, M.; GUNASEKARAN, S. Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan–poly (vinyl alcohol) hydrogel. **Polymer International**, v. 53, n. 7, p. 911-918, 2004.

WU, S. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of Maillard products from xylan with chitosan/ chitooligomer glucosamine/ hydrochloride/ taurine model systems. **Food Chemistry**, v. 148, p. 196-203, 2014.

XING, Y. et al. Preservation mechanism of chitosan-based coating cinnamon oil for fruits storage based on sensor data. **Sensors**, v. 16, n. 7, p. 1111, 2016.

YANG, T. C.; CHOU, C. C.; LI, C. F. Preparation, water solubility and rheological property of the N-alkylated mono or disaccharide chitosan derivates. **Food Research International**, v. 35, n. 8, p. 707-713, 2002.

YU, H. et al. Kinetic study of high-intensity ultrasound-assisted Maillard reaction in a model system of d-glucose and glycine. **Food Chemistry**, v. 269, p. 628-637, 2018.

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

ZHANG, H. et al. Preparation, characterization and toxicology properties of α - and β -chitosan Maillard reaction products nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 287-296, 2016.

ZHANG, H.; YANG, J.; ZHAO, Y. High intensity ultrasound assisted heating to improve solubility, antioxidant and antibacterial properties of chitosan-fructose Maillard reaction products. **LWT – Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 253-262, 2015.

ZHOU, R. et al. Quality and internal characteristics of Huanghua pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai, cv. Huanghua) treated with different kinds of coatings during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n. 1, p. 171-179, 2008.

ZHU, X. et al. Effects of chitosan coating on postharvest quality of mango (*Mangifera indica* L. cv. Tainong) fruits. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 32, n. 5, p. 770-784, 2008.