

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

SELMA DOS PASSOS BRAGA

REVESTIMENTOS DE QUITOSANA INCORPORADOS DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Mentha piperita* L. e *M. x villosa* Huds PARA O
CONTROLE DE ANTRACNOSE E QUALIDADE PÓS-COLHEITA EM
MAMÃO (*Carica papaya* L.)

João Pessoa

2020

SELMA DOS PASSOS BRAGA

**REVESTIMENTOS DE QUITOSANA INCORPORADOS DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Mentha piperita* L. e *M. x villosa* Huds PARA O
CONTROLE DE ANTRACNOSE E QUALIDADE PÓS-COLHEITA EM
MAMÃO (*Carica papaya* L.)**

João Pessoa

2020

SELMA DOS PASSOS BRAGA

**REVESTIMENTOS DE QUITOSANA INCORPORADOS DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Mentha piperita* L. e *M. x villosa* Huds PARA O
CONTROLE DE ANTRACNOSE E QUALIDADE PÓS-COLHEITA EM
MAMÃO (*Carica papaya* L.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da
Saúde, Universidade Federal da Paraíba, como
requisitos para obtenção do título de Doutor (a) em
Ciências da Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Evandro Leite de Souza

João Pessoa

2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

B813r Braga, Selma dos Passos.

Revestimentos de quitosana incorporados de óleos essenciais de *Mentha piperita* L. e *M. x villosa* Huds para o controle de antracnose e qualidade pós-colheita em mamão (*Carica papaya* L.) / Selma dos Passos Braga. - João Pessoa, 2020.

99 f. : il.

Orientação: Evandro Leite de Souza.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Cultivo de mamão (*Carica papaya* L.). 2. Biopolímero. 3. *Mentha*. 4. Efeitos antifúngicos. 5. Qualidade pós-colheita. 6. Revestimentos comestíveis. I. Souza, Evandro Leite de. II. Título.

UFPB/BC

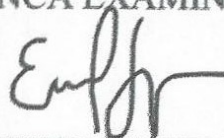
CDU 634.651(043)

SELMA DOS PASSOS BRAGA

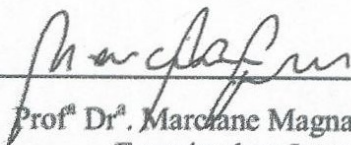
REVESTIMENTOS DE QUITOSANA INCORPORADOS DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Mentha piperita* L. e *M. x villosa* Huds PARA O
CONTROLE DE ANTRACNOSE E QUALIDADE PÓS-COLHEITA EM
MAMÃO (*Carica papaya* L.)

Tese Aprovada em 01/07/2020.

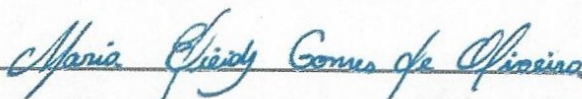
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Evandro Leite de Souza – UFPB
Orientador



Profª Drª. Marciane Magnani - UFPB
Examinadora Interna



Profª Drª. Maria Elieidy Gomes de Oliveira - UFPB
Examinadora Interna

Profª Drª. Cristina Paiva de Sousa – UFSCar
Examinadora externa



Prof. Dr. Fillipe de Oliveira Pereira – UFCG
Examinador externo

**Aos meus pais, esposo e filhos,
Dedico.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, misericordioso, que não me deixou desistir, segurando a minha mão e guiando meus passos, me mantendo firme em toda a jornada;

A meu marido e meus filhos, que me apoiaram, acompanhando cada etapa. O amor e compreensão foram fundamentais para que eu pudesse perseverar ao final;

Aos meus pais que desde sempre, a despeito de terem menos estudos devido às oportunidades, sempre souberam colocar o valor da educação como prioridade, e, mesmo distantes, estiveram presentes, me fortalecendo e incentivando;

Ao professor Dr. Evandro Leite de Souza pela orientação e ensinamentos, sempre presente, com muito profissionalismo. Exemplo de dedicação e empenho. Meu muito obrigada;

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição (PPGCN) pela organização, atenção e incentivo e a todos os professores pelos ensinamentos transmitidos e dedicação;

Ao Sr. Carlos Fernando da Silva, secretário do PPGCN, sempre prestativo e atencioso;

À professora Marciane Maganani pelos ensinamentos, disponibilidade e colaboração no desenvolvimento da pesquisa;

À professora Marta Suely Madruga e as servidoras técnicas de laboratório Mércia Galvão e Lorena Lucena pela receptividade e disponibilidade para a realização das análises, colaborando grandemente para o alcance dos objetivos da tese;

Aos membros da banca examinadora, Profa Dra. Cristina Paiva de Sousa (UFSCar), Prof Dr. Fillipe de Oliveira Pereira (UFCG), Profa Dra. Marciane Magnani (UFPB) e Profa Dra. Maria Elieidy Gomes de Oliveira (UFPB), pela disponibilidade e contribuições para a melhoria do trabalho.

A toda equipe e colegas do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos que contribuíram direta ou indiretamente com a realização dos experimentos, em especial Priscila Dinah, Kataryne, Samara, Giovana, Ana Cristina, Iara, Amanda, Raquel, Sônia, Eloisa, Érika... Foi enriquecedor conviver com vocês.

Ao professor Dr. Eliton Souto de Medeiros, coordenador do Laboratório de Materiais e Biosistemas/DEM/CT/UFPB, pela oportunidade de trabalhar numa área tão enriquecedora, que me trouxe muitos conhecimentos, bem como à Lucas Ricardo pela disponibilidade e parceria, sempre muito solícitos;

Ao professor Dr. André Ulisses, coordenador do Laboratório Integrado de Biomateriais e a Rebeca/DOR/CCS/UFPB, pela oportunidade, receptividade, parceria, orientação e auxílio. Seus ensinamentos me trouxeram grande aprendizado;

Ao professor Dr. Josean Fachine Tavares e a Sócrates Golzio dos Santos (LMCA/IpeFarm/UFPB) pela receptividade, contribuição e suporte essenciais para o desenvolvimento do presente estudo;

Aos meus amigos e colegas do Departamento de Gastronomia e ao Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional/UFPB, que me possibilitaram o afastamento das atividades para que eu desenvolvesse minha pesquisa;

Aos professores coordenadores e técnicos do Laboratório de Análise Sensorial/CTDR pela receptividade e apoio na realização das análises;

Aos meus colegas de turma, pelo companheirismo na busca pelo conhecimento.

Às minhas amigas Bernadete e Samara, que caminharam junto comigo, me ouvindo, aconselhando e me fortalecendo, nos momentos que mais precisei.

Ao corpo editorial das Revistas *International Journal of Biological Macromolecules* e *Innovative Food Science and Emerging Technologies* por reconhecerem o mérito para publicação dos artigos elaborados a partir dos resultados apresentados nessa tese (artigos disponíveis nos links <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.010> e <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102472>).

A todos, meu muito obrigada!

“Foi o tempo que dedicaste a tua rosa que a tornou tão importante”

Antonie de Saint-Exupéry

RESUMO

As perdas pós-colheita em frutíferas representam uma preocupação mundial, a exemplo das ocorridas em mamão (*Carica papaya* L.), reconhecido como umas das principais frutas tropicais de importância econômica, porém suscetível ao desenvolvimento de doenças fúngicas, destacando-se a antracnose causada por espécies de *Colletotrichum*. O controle da antracnose em mamão tem ocorrido por meio da aplicação de fungicidas sintéticos, os quais podem causar danos ao meio ambiente e a saúde dos consumidores, além de induzirem ao surgimento de cepas fúngicas resistentes. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de revestimentos formulados com quitosana (Qui) e óleos essenciais de *Mentha piperita* L. (OEMP) ou *M. x villosa* Huds (OEMV) para controle do desenvolvimento de antracnose causada por isolados de *C. gloeosporioides* e *C. brevisporum* em mamão papaya. Para o alcance desses objetivos, foram realizados testes *in vitro* onde se avaliou o crescimento micelial e o tipo de interação entre a Qui e OEMP ou OEMV, e testes *in situ* para avaliação da eficácia dos revestimentos em inibir o desenvolvimento de lesões de antracnose em mamões artificialmente infectados com os isolados fúngicos durante o armazenamento (25 °C, 10 dias). Ainda, foram avaliadas as características físico-químicas dos revestimentos por meio das análises de FTIR, TGA, DSC e rugosidade de superfície, bem como os efeitos da aplicação dos revestimentos sobre parâmetros físico-químicos e sensoriais relacionados a qualidade pós-colheita do mamão. Qui (2,5; 5; 7,5 e 10 mg/mL), OEMV e OEMP (0,15; 0,3, 0,6 e 1,25 µL/mL) inibiram o crescimento de todos os isolados testados *in vitro* e as combinações de Qui (5 ou 7,5 mg/mL) e OEMV ou OEMP (0,15; 0,3; 0,6 ou 1,25 mL/mL) apresentaram interações aditivas ou sinérgicas. Os frutos revestidos com as combinações de Qui (5 mg/mL) e OEMV ou OEMP (0,3; 0,6 ou 1,25 µL/mL) apresentaram redução do desenvolvimento das lesões de antracnose durante o armazenamento, sendo esses efeitos similares ou superiores àqueles causados por uma formulação comercial de fungicidas (trifloroxistrobina + tebuconazol). Os resultados das análises de caracterização dos revestimentos formulados com Qui (5 mg/mL) e OEMV ou OEMP (0,6 ou 1,2 µL/mL) mostraram aumento da intensidade das bandas de FTIR, sugerindo possível interação entre os componentes utilizados na sua formulação. O OEMV e OEMP afetaram positivamente a estabilidade térmica desses revestimentos. A análise da rugosidade de superfície mostrou que os revestimentos possuem superfícies homogêneas, com capacidade de formação de barreira física sobre os frutos. Os frutos revestidos com as formulações de Qui (5 mg/mL) e OEMV ou OEMP (0,6 ou 1,2 µL/mL) apresentaram atraso na evolução de alguns parâmetros físico-químicos relacionados ao avanço do processo de maturação, além de não afetarem a aceitação da maioria dos parâmetros sensoriais dos frutos ao longo do armazenamento (12 ± 0,5 °C). Esses resultados sugerem que a aplicação de revestimentos formulados com combinações selecionadas de Qui e OEMV ou OEMP pode representar uma estratégia no controle pós-colheita da antracnose em mamão, sem afetar negativamente os aspectos relacionados à qualidade geral do fruto.

Palavras-chave: Revestimentos comestíveis. Biopolímero, *Mentha*. Efeitos antifúngicos. Qualidade pós-colheita.

ABSTRACT

Postharvest losses of fruits represent a global concern, such as those occurring in papaya (*Carica papaya* L.), which is known as one of the most important tropical fruits with remarkable economic importance, but very susceptible to the development of fungal diseases, especially, anthracnose caused by *Colletotrichum* species. Control of anthracnose in papaya has been reached with the application of synthetic fungicides, which can cause damage to the environment and consumers' health, besides inducing resistant fungal strains occurrence. In this context, this study aimed to evaluate the efficacy of coatings formulated with chitosan (Chi) and essential oils from *Mentha piperita* L. (MPEO) or *M. villosa* Huds (MVEO) to control the development of anthracnose caused by *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates in papaya. To reach these objectives, *in vitro* tests were conducted to evaluate the fungal mycelial growth and type of interaction between Chi and MVEO or MPEO, as well as *in situ* tests to evaluate the efficacy of the coatings to inhibit the development of anthracnose lesions in papaya artificially infected with fungal isolates during storage (25 °C, 10 days). In addition, the physicochemical characteristics of coatings with FTIR, TGA and DSC analysis were evaluated, as well as the surface rugosity and the effects of the application of these coatings on physicochemical and sensory parameters related to the postharvest quality of papaya. Chi (2.5; 5; 7.5 and 10 mg/mL), MVEO and MPEO (0.15; 0.3, 0.6 and 1.25 µL/mL) inhibited the growth of *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates *in vitro*, and combinations of Chi (5 or 7.5 mg/mL) and MVEO or MPEO (0.15; 0.3; 0.6 or 1.25 mL/mL) had additive or synergistic interactions. Fruits coated with combinations of Chi (5 mg/mL) and MVEO or MPEO (0.3; 0.6 or 1.25 µL/mL) showed a reduction in the development of anthracnose lesions during storage and these effects were similar to or higher than those caused by a commercial synthetic fungicide formulation (trifloroxistrobin + tebuconazole). The results of the characterization of the coatings formulated with Chi (5 mg/mL) and MVEO or MPEO (0.6 or 1.2 µL/mL) showed an increase in intensity of FTIR bands, suggesting a possible interaction between components used in their formulation. MVEO and MPEO affected the coating thermal stability positively. Surface roughness analysis showed that the formulated coatings (with Chi and MVEO or MPEO) had homogeneous surfaces, being capable of forming a physical barrier on fruit. Fruits coated with Chi (5 mg/mL) and MVEO or MPEO (0.6 or 1.2 µL/mL) had a delay in the evolution of some physico-chemical parameters related to the advance in the maturation process, besides not affecting negatively most of their sensory parameters during storage (12 ± 0.5 °C). These results suggest that the application of coatings formulated with selected combinations of Chi and MVEO or MPEO could be a strategy to cause postharvest control of anthracnose in papaya, without affecting negatively aspects related to fruit overall quality.

Keywords: Edible coatings. Biopolymer. *Mentha*. Antifungal effects. Postharvest quality.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DA TESE

Figura 1. Características da antracnose em mamão papaya.....	23
Figura 2. Estrutura química da quitina e quitosana.....	26
Figura 3. <i>Mentha piperita</i> L. (A) e <i>Mentha x villosa</i> Huds (B).....	30
Figura 4. Estrutura química dos principais constituintes encontrados nos óleos essenciais de <i>Mentha piperita</i> L. e <i>Mentha x villosa</i> Huds.....	31
Figura 5. Proposta de efeitos de revestimentos de quitosana incorporados de óleos essenciais sobre células fúngicas.....	34
Figura 6. Etapas do desenho experimental do estudo.....	36
Figura 7. Esquema da aplicação de revestimento de quitosana (QUI) e óleo essencial de <i>M. piperita</i> L. (OEMP) e <i>M. x villosa</i> Huds (OEMV) em frutos artificialmente feridos.....	42

FIGURAS DO ARTIGO 2

Figure 1. FTIR spectra of coatings formulated with chitosan (Chi) e Chi + <i>Mentha x villosa</i> (MVEO) or <i>M. piperita</i> L. essential oil (MPEO).....	86
Figure 2. TGA (A) and DSC curves (B) of coatings formulated with chitosan (Chi) and Chi + <i>Mentha villosa</i> (MVEO) or <i>M. piperita</i> (MPEO) essential oil.....	86
Figure 3. Images captured with roughness analysis of coatings formulated with 5 g/L chitosan (Chi) (B and G), 5 g/L Chi + 0.6 mL/L <i>M. villosa</i> essential oil (MVEO) (C and H), 5 g/L Chi + 1.2 MVEO (D and I), 5 g/L Chi + 0.6 mL/L <i>M. piperita</i> L. essential (MPEO) (E and J) and 5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO (F and K) when formed on papaya (A – E) and glass slide (F – J).	87

LISTA DE TABELAS E QUADROS

QUADRO DA TESE

Quadro 1. Estudos que utilizaram revestimentos a base de quitosana e óleos essenciais em frutas e principais resultados encontrados.....	35
---	----

TABELAS DO ARTIGO 1

Table 1. Constituents identified in the essential oil from <i>Mentha piperita</i> L. (MPEO) and <i>M. x villosa</i> Huds. (MVEO) in amounts >1%.....	76
Table 2. Percent of mycelial growth inhibition (MGI%) of different isolates of <i>Colletotrichum gloesporioides</i> and <i>Colletotrichum brevisporum</i> after a seven-day exposure to different concentrations of chitosan (Chi), <i>Mentha piperita</i> L. essential oil (MPEO) and <i>M. x villosa</i> Huds. essential oil (MVEO) in solid medium (25 °C).....	76
Table 3. Effects of chitosan (Chi) and <i>Mentha piperita</i> L. essential oil (MPEO) alone or in combination on the mycelial growth (expressed as percent of mycelial growth inhibition, MGI%) of different isolates of <i>Colletotrichum gloesporioides</i> and <i>Colletotrichum brevisporum</i> , and their type of interaction as measured by the Abbott method.....	77
Table 4. Effects of chitosan (Chi) and <i>Mentha x villosa</i> L. Huds. essential oil (MVEO) alone or in combination on the mycelial growth (expressed as percent of mycelial growth inhibition, MGI%) of different isolates of <i>Colletotrichum gloesporioides</i> and <i>Colletotrichum brevisporum</i> and their type of interaction as measured by the Abbott method.....	78
Table 5. Percentage (average $\pm$ standard deviation) of anthracnose lesion diameter reduction in papaya fruit coated with combinations of chitosan (Chi) and <i>Mentha piperita</i> L. essential oil (MPEO) or treated with a synthetic fungicide (trifloroxistrobina + tebuconazole) and inoculated with different isolates of <i>Colletotrichum gloesporioides</i> or <i>Colletotrichum brevisporum</i> , stored at 25 $\pm$ 0.5 °C during 10 days.....	78

Table 6. Percentage (average $\pm$ standard deviation) of anthracnose lesion diameter reduction in papaya fruit a coated with combinations of chitosan (Chi) and *Mentha x villosa* Huds. essential oil (MVEO) or treated with a synthetic fungicide (trifloroxistrobina + tebuconazole) and inoculated with different isolates of *Colletotrichum gloesporioides* or *Colletotrichum brevisporum*, and stored at 25 ± 0.5 °C during 10 days.....

79

TABELAS DO ARTIGO 2

Table 1. Results of physical and physicochemical parameters of papaya uncoated and coated with chitosan (Chi) + *Mentha villosa* (MVEO) or *M. piperita* essential oil (MPEO) during 20 days of cold storage (12 ± 1 °C). Results are expressed as average $\pm$ standard deviation (n: 3).....

89

Table 2. Results of colour parameters in papaya uncoated and coated with chitosan (Chi) + *Mentha piperita* (MPEO) or *M. villosa* essential oil (MPEO) during 20 days of cold storage (12 ± 1 °C). Results are expressed as average $\pm$ standard deviation (n: 3).....

90

Table 3. Results of peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO) and pectinmethylesterase (PME) activity in papaya uncoated and coated with chitosan (Chi) + *Mentha villosa* (MVEO) or *M. piperita* essential oil (MPEO) stored during 20 days of cold storage (12 ± 1 °C). Results are expressed as average $\pm$ standard deviation (n:3).....

91

Table 4. Scores for sensory attributes in acceptance tests and purchase intention of papaya uncoated and coated with chitosan (Chi) + *M. villosa* (MVEO) or *M. piperita* essential oil (MPEO) on day 10 and 20 of cld storage (12 ± 1 °C). Results are expressed as average $\pm$ standard deviation (n:3).....

92

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

ABD – Ágar Batata dextrose

DSC – Diferencial scanning calorimetry

FTIR – Fourier transform infrared spectroscopy

ICM – Inibição do Crescimento Micelial

OE – Óleo essencial

OEMP - Óleo essencial de *Mentha x piperita* L.

OEMV – Óleo essencial de *Mentha x villosa* Huds

PME - Pectinametilesterase

POD – Peroxidase

PPO – Polifenolxidase

PRLA – Percentual de redução do diâmetro da lesão de antracnose

QUI – Quitosana

TGA – Análise Termogravimétrica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1 Mamão: Produção e aspectos pós-colheita.....	19
2.2 Antracnose em mamão.....	21
2.3 Revestimentos comestíveis em frutas.....	24
2.3.1 Quitosana.....	25
2.4 Óleos essenciais e suas propriedades antimicrobianas.....	28
2.4.1 Óleos essenciais de <i>Mentha spp.</i>	29
2.5 Uso de revestimentos de quitosana incorporados de óleos essenciais em frutas.....	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
3.1 Locais de execução das análises.....	37
3.2 Obtenção das matérias primas.....	37
3.3 Identificação dos constituintes do óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. e <i>M. x villosa</i> Huds	38
3.4 Preparo das soluções de quitosana e do revestimento com incorporação do óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. Ou <i>M. x villosa</i> Huds	39
3.5 Efeito da quitosana e dos óleos essenciais de <i>M. Piperita</i> L. Ou <i>M. x villosa</i> sobre o crescimento micelial radial fúngico.....	39
3.6 Determinação do tipo de interação das combinações de quitosana e óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. ou <i>M. x villosa</i> Huds.....	40
3.7 Efeitos da combinação de quitosana e óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. ou <i>M. x villosa</i> Huds sobre o desenvolvimento da antracnose em mamão.....	41
3.8 Avaliação das características físico-químicas e da rugosidade de superfície dos revestimentos.....	42
3.8.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	43
3.8.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC).....	43
3.8.3 Análise Termogravimétrica (TGA).....	43
3.8.4 Análise da rugosidade de superfície.....	43

3.9 Efeitos da aplicação dos revestimentos de quitosana e óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. ou <i>M. x villosa</i> Huds sobre os parâmetros de qualidade de mamão.....	44
3.9.1 <i>Determinação das características físico-químicas.....</i>	44
3.9.2 <i>Determinação de açúcares e ácidos orgânicos.....</i>	45
3.9.3 <i>Determinação da atividade enzimática.....</i>	46
3.9.3.1 <i>Atividade da polifenoloxidase – PPO.....</i>	46
3.9.3.2 <i>Atividade da peroxidase – POD.....</i>	46
3.9.3.3 <i>Atividade da pectinametilesterase – PME.....</i>	46
3.9.4 <i>Avaliação sensorial.....</i>	47
3.10 Análises estatísticas.....	48
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICE A - ARTIGO 1: Application of coatings formed by chitosan and <i>Mentha</i> essential oils to control antracnose caused by <i>Colletotrichum gloesporioides</i> and <i>C. brevisporum</i> in papaya (<i>Carica papaya</i> L.) fruit	72
APÊNDICE B - ARTIGO 2: Characterization of edible coatings formulated with chitosan and <i>Mentha</i> essential oils and their use to preserve papaya (<i>Carica papaya</i> L.).....	82
ANEXO A – CERTIDÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	94
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	97
ANEXO C – QUESTIONÁRIO PARA ANÁLISE SENSORIAL.....	98

1 INTRODUÇÃO

O mamão (*Carica papaya* L.) é uma fruta tropical originária da América Central, cultivada em diversos países (MONZON-ORTEGA, et al., 2018; SOUZA et al., 2014), sendo o Brasil um dos maiores produtores mundiais, ocupando o segundo lugar no ranking em 2018, onde produziu 1 060,392 toneladas, situando-se também entre os principais países exportadores (FAOSTAT, 2018; BARBIERI et al., 2019). Apresenta destacável importância econômica e social, grandemente valorizada por seus atributos nutricionais e sensoriais, com polpa macia, rica em açúcares solúveis e de sabor agradável (PAIXÃO et al., 2012; RIBEIRO; SERRA; ARAÚJO et al., 2016).

Entretanto, a preservação da qualidade e comercialização dessa fruta têm sido intensamente comprometidos devido a sua curta vida útil pós-colheita. Por ser uma fruta climatérica, os processos de maturação fisiológica, marcados pela perda de firmeza e alterações de cor ocorrem aceleradamente (WU et al., 2019), além da suscetibilidade ao desenvolvimento de doenças fúngicas (FAÇANHA, 2019) que levam a depreciação de sua qualidade, acarretando perdas. (JACOMINO, 2013; RIBEIRO; SERRA; ARAÚJO, 2016).

A antracnose é a principal doença pós-colheita causada por fungos em mamão, tornando-se um dos fatores limitantes à sua comercialização (RIBEIRO, SERRA; ARAÚJO, 2016; SARKAR, 2016). Sua ocorrência tem sido atribuída às espécies de fungos do gênero *Colletotrichum*, especialmente ao *C. gloeosporioides*. Contudo, um estudo filogenético identificou a prevalência de *C. brevisporum* em lesões características de antracnose em mamões cultivados na região Nordeste do Brasil (VIEIRA et al., 2013). A utilização de fungicidas sintéticos tem sido uma das técnicas empregadas para controle dessas infecções fúngicas, garantindo maior sobrevida pós-colheita dos frutos (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013; PALOU et al., 2015; VENTURA et al., 2003;). No entanto, o uso desses defensivos agrícolas pode causar prejuízos ao meio ambiente e ainda induzir à seleção de espécies de fungos com resistência aumentada aos fungicidas (BRISHT et al., 2013; DEMARTELAERE et al., 2015; LIMA et al., 2014; RAHMAN et al., 2014).

Nessa perspectiva, a aplicação de revestimentos comestíveis a base de compostos naturais com propriedades antimicrobianas tem sido estudada com o intuito de prolongar a vida útil pós-colheita de frutos (DE SOUZA et al., 2015; MONZÓN-ORTEGA et al., 2018; SALVADOR-FIGUEROA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018; VALENCIA-CHAMORRO et al., 2011), possibilitando a obtenção de produtos mais atrativos ao consumidor (AZEREDO,

2003; GUERRA et al., 2015; MAIA et al., 2000). Entre os compostos naturais utilizados na elaboração de coberturas comestíveis, destaca-se a quitosana, um biopolímero de baixa toxicidade e solúvel em soluções ácidas diluídas, com capacidade de formar um gel viscoso, o qual, quando aplicado na superfície de frutas, pode formar um recobrimento semipermeável (YOUSUF et al., 2018). Esse recobrimento pode prolongar a vida útil pós-colheita de frutos não só por meio da redução da taxa de respiração e da perda de água (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006; GRANDE-TOVAR et al., 2018; ROMANAZZI et al., 2015), mas também em virtude das já reconhecidas propriedades antifúngicas (ALI et al., 2010; de OLIVEIRA et al., 2018; GUERRA et al., 2015; VAN DEN BROEK et al., 2015; XING et al., 2016).

Os óleos essenciais consistem em compostos naturais com destacável ação antifúngica, constituídos por uma complexa mistura de substâncias voláteis resultantes do metabolismo secundário de plantas, caracterizados por forte odor, e que estão relacionados às funções de defesa da planta frente a patógenos (BURT, 2004; CAMILETTI et al., 2016; DE SOUZA, 2016; SARKHOSH et al., 2018). Seu uso tem sido considerado um tratamento seguro para o controle pós-colheita em alimentos vegetais frescos, podendo representar uma alternativa para o controle de doenças em frutíferas (SIVAKUMAR; BAUTISATA-BAÑOS, 2014)

Contudo, devido a sua elevada taxa de volatilização, a aplicação de óleos essenciais isoladamente em frutos pode não exercer a mesma eficácia, além de causar alterações sensoriais indesejáveis, especialmente quando utilizados em doses elevadas para promover a atividade antimicrobiana (HYLDGAARD et al., 2012). Nesse sentido, pesquisas têm investigado os efeitos da aplicação combinada de óleos essenciais com diferentes compostos ou substâncias antimicrobianas, a exemplo da combinação com quitosana na formulação de coberturas comestíveis aplicadas em frutas (MUNHUWEYI, et al., 2017; OLIVEIRA et al. 2018; SEVERINO et al., 2014). Os resultados disponíveis na literatura trazem evidências de que a incorporação de óleos essenciais em soluções de quitosana geralmente resulta em melhora da atividade antimicrobiana quando aplicada na superfície do fruto e maior extensão do período de efetividade no controle do crescimento microbiano (ALLOUI et al., 2014; ATARÉS; CHIRALT, 2016; SÁNCHEZ-GONZALES et al., 2011; SANTOS et al., 2012). Essa aplicação combinada também melhora as propriedades físicas do gel de quitosana, conferindo-lhe maior hidrofobicidade (ELSABEE et al., 2016; SHEN, KANDON, 2015).

No que se refere às plantas produtoras de óleos essenciais, as espécies do gênero *Mentha* tem sido exploradas em diversos setores, incluindo alimentos, agronomia, cosméticos, medicina e farmácia, devido, principalmente, as diferentes propriedades do seu óleo essencial, a exemplo da atividade antibacteriana, antiviral e antifúngica (SINGH et al., 2011). O óleo

essencial (OE) de *Mentha piperita* L. (menta, hortelã-pimenta ou “peppermint”) apresenta, geralmente, como compostos majoritários o mentol e mentona (FREIRE et al., 2012; GUERRA et al., 2015; TYAGI; MALIK, 2011). Por sua vez, o OE de *Mentha x villosa* Huds (hortelã da folha miúda, hortelã de cheiro ou hortelã da horta) é rico no composto rotundifulona (da CRUZ ALMEIDA et al., 2018; GUERRA et al., 2015), o qual tem mostrado eficácia em inibir o desenvolvimento de fungos causadores de doenças em frutas (GUERRA et al., 2016; de OLIVEIRA et al., 2017; SERVILI et al., 2017).

Perante o exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da aplicação de revestimentos formulados com quitosana e óleos essenciais de *M. piperita* L. (OEMP) e *M. villosa* Huds (OEMV) como agentes protetores frente à ação de diferentes isolados de *C. gloeosporioides* e *C. brevisporum* causadores da antracnose em mamão, avaliar as características físico-químicas e de superfície desses recobrimentos, bem como os seus efeitos sobre diferentes parâmetros indicadores da qualidade pós-colheita de mamão durante o armazenamento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Mamão: Produção e aspectos pós-colheita

A produção mundial de mamão (*C. papaya* L.) atingiu aproximadamente 13 290,320 toneladas em 2018, tendo como principais países produtores a Índia, Brasil, México, República Dominicana, Indonésia e Nigéria. O Brasil, segundo maior produtor, responde com 1 060,392 toneladas da produção mundial (FAOSTAT, 2018), com destaque para os estados do Espírito Santo, Bahia, Ceará e Rio Grande do Norte, sendo a região Nordeste responsável por mais de 50% produção nacional (637.665 toneladas), constituindo-se como uma importante atividade econômica, gerando emprego e renda (IBGE, 2018).

O fruto do mamoeiro, o mamão, é uma baga de forma e tamanho variado, muito apreciado pelo sabor adocicado, polpa levemente perfumada e de coloração variando de amarelo à vermelho. Suas características sensoriais (textura, cor e aroma), químicas (baixa acidez e bom equilíbrio entre açúcares e ácidos orgânicos), digestivas, além das propriedades antioxidantes, tornam essa fruta um alimento atrativo e de grande aceitação (CHUTICHUDET; CHUTICHUDET, 2014; FABÍ et al., 2010; LATA, 2018). O elevado valor nutricional do mamão está relacionado, principalmente, com o seu teor de vitaminas, como a pró-vitamina A (2020 UI) e vitamina C (ácido ascórbico, 35,4 a 187 mg/100 g), além dos compostos fenólicos e polissacarídeos (AYON-REYNA, 2017; BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013; LATA, 2018; NUNS et al., 2006; WALL, 2006).

Entre as variedades de mamão mais cultivadas comercialmente destacam-se as do grupo Solo e os híbridos do grupo Formosa. No Brasil, a variedade mais exportada é a “Golden”, do grupo Solo (JACOMINO et al., 2002; RUGGIERO et al., 2011). A cultivar “Sunrise Solo” conhecida como mamão “papaya”, também chamado de mamão Havaí ou mamão da Amazônia, produz frutos pequenos, com massa média de 500 g, formato variando de piriforme à ovalado, casca lisa e firme e cavidade interna estrelada. Essa cultivar, geralmente, é consumida *in natura*, mas sua industrialização permite o aproveitamento integral do fruto e oferta de uma variedade de produtos que podem ser utilizados pelas indústrias de alimentos, farmacêuticas e de ração para animais (MAIA, 2007).

Quanto ao padrão respiratório, o mamão é classificado como fruta climatérica, ou seja, pode amadurecer na própria planta ou após a colheita, passando por mudanças bioquímicas significativas, iniciadas pela produção de etileno, geralmente em concordância com o aumento

da atividade respiratória máxima, levando ao rápido amadurecimento (CHITARRA; CHITARRA, 2005; JACOMINO et al., 2002; OLIVEIRA; VITÓRIA, 2011; ONG et al., 2013). O etileno é um dos principais fatores endógenos capazes de estimular sua própria síntese nos frutos climatéricos (GONÇALVES et al., 2013). O aumento da produção de etileno está relacionado com o estímulo da atividade respiratória no fruto, que desencadeia uma gama de transformações (YAO et al., 2014), relacionadas com a expressão de genes ligados à resistência, ao estresse biótico e abiótico, e ao amadurecimento (BARRAGAN-IGLESIAS, 2018; SIVAKUMAR; WALL, 2013).

Durante o processo de maturação do mamão ocorrem transformações físicas, químicas e bioquímicas importantes por tornar o fruto mais atrativo para o consumo humano em decorrência das modificações de textura, da cor da casca e polpa, além do aroma e sabor (BARRAGÁN-IGLESIAS et al., 2018). A mudança na firmeza está associada à hidrólise de protopectinas altamente esterificadas presentes na parede celular a partir da atividade de enzimas, como a pectinametilesterase (PME). A PME promove a hidrólise dos grupos metílicos do ácido galacturônico, causando amaciamento do fruto (BADUI, 2013; YAO et al., 2014). Já a modificação da coloração de verde para amarelo alaranjado deve-se ao decréscimo da clorofila na casca, além da síntese e revelação de carotenoides responsáveis pela cor do fruto maduro. O paralelo entre a atividade da clorofilase e o processo de amadurecimento tem sido estabelecido, sabendo-se que a medida que decresce a concentração de clorofila, o fruto se aproxima do climatério (KYING et al., 2013; SCHWEIGGERT et al., 2011). Durante o amadurecimento, ocorre ainda a síntese de compostos voláteis e alteração do teor de açúcares e ácidos orgânicos. O aumento no teor de açúcares solúveis pode ser resultado da hidrólise dos carboidratos presentes na parede celular, bem como da conversão dos ácidos orgânicos pelo processo de gliconeogênese (OLIVEIRA; VITÓRIA, 2011; YAO et al., 2014).

A intensidade da atividade respiratória e ocorrência do pico de emissão de CO₂ dos frutos são dependentes da espécie vegetal e podem variar entre cultivares (KRONGYUT et al., 2011), podendo ser influenciado por diversos fatores, tais como temperatura e composição da atmosfera (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Em virtude de suas características já apresentadas, o mamão papaya apresenta vida útil pós-colheita curta, chegando ao estágio de maturação final e senescência em aproximadamente sete dias quando mantido à temperatura ambiente. Portanto, para aumentar o tempo de conservação e reduzir as perdas pós-colheita, torna-se importante que se conheça e utilize as práticas adequadas de manuseio durante as fases de colheita, armazenamento e comercialização do fruto (SOUZA et al., 2014).

A colheita do mamão é realizada manualmente, torcendo os frutos até a ruptura do pedúnculo. Nessa fase de colheita, há possibilidade de infecção por fungos, visto que o fruto apresenta casca fina e delicada e, portanto, grandemente suscetível a danos mecânicos (JACOMINO et al., 2003). Quando a colheita é realizada antes dos frutos atingirem a completa maturação fisiológica ocorre prejuízo no processo de amadurecimento, interferindo na sua qualidade. Por outro lado, a colheita de frutos totalmente maduros reduz sua vida útil e dificulta o seu manuseio e transporte devido a sua baixa resistência física e maior susceptibilidade a podridões fúngicas, causando perdas quantitativas e qualitativas (OLIVEIRA, 2010).

A vida útil pós-colheita curta marcada pela rápida maturação que leva a mudanças na textura, tais como amolecimento da casca e polpa, torna o mamão suscetível ao estresse biótico e abiótico, portanto vulnerável a uma ampla variedade de doenças pós-colheita, como a antracnose (ONG et al., 2013), resultante da colonização dos tecidos do fruto por espécies do gênero *Colletotrichum* (ALI et al., 2015; SARKAR, 2016).

2.2 Antracnose em mamão

A antracnose refere-se a um grupo de doenças fúngicas que acomete diferentes culturas, caracterizada pelo desenvolvimento de lesões, geralmente com bordas elevadas, apresentando-se na folhagem, caules, e, principalmente nos frutos, causando rápida destruição e perda de qualidade. Configura-se como doença relativamente comum, considerada grave em frutíferas de todo o mundo devido a sua natureza e variabilidade patogênica (SARKAR, 2016). Ocorre em todas as regiões produtoras de mamão do mundo, e, por causar importantes perdas, tem sido reconhecida como um dos fatores limitantes para incrementos na exportação do fruto. Nos meses mais quentes do ano, na ausência de medidas de controle, sua incidência pode atingir de 70 a 100% dos frutos (ALI; HEI; KEAT, 2016; LIBERATO; TATAGIBA, 2001).

Diversos estudos relatam que *Colletotrichum* spp. é o principal agente causador da antracnose em mamão, em particular, *C. gloeosporioides*, responsável por acentuadas perdas da produção desse fruto, sendo estimado volumes entre 25-90% do volume de produção (AYÓN-REYNA, et al., 2017; BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013; MACHADO et al., 2014; MADANI et al., 2014; RIBEIRO et al., 2016; VALENZUELA et al., 2015). Entretanto, Vieira et al. (2013), com base em dados morfológicos e moleculares, identificaram *C. brevisporum* como principal causador de antracnose em culturas de mamão cultivados no Nordeste do Brasil. Espécies patogênicas de *Colletotrichum* em geral requerem calor e umidade para infectar plantas hospedeiras. Assim, a antracnose atinge a maior incidência da doença e gravidade em

áreas com umidade relativa e precipitação mais altas e temperatura do ar quente, ocorrendo, geralmente, entre 18 e 25 °C. Sendo bastante severa em regiões tropicais e subtropicais, podendo afetar significativamente frutas destinadas à exportação (FERRARI-ROCKENBACH et al., 2015; SARKAR, 2016; SINGH et al., 2012).

A antracnose no mamão inicia-se no campo quando a fruta é infectada, de modo que os fungos (*Colletotrichum*) podem permanecer quiescentes até a pós-colheita e à medida que amadurecem surgem lesões características da infecção, reduzindo a qualidade e ampliando as perdas (MOURA et al., 2013). Os esporos infecciosos são dispersos em gotas de água da chuva através do vento e podem formar tubos germinativos quando depositados nos frutos verdes. Os apressórios formam-se nas extremidades dos tubos germinativos na superfície do fruto e penetram na camada epidérmica como um "pino de penetração" para estabelecer a infecção (SINGH, 2012; SARKAR, 2016).

A infecção permanece latente no fruto até o período pós-climatério, assim, quando o fruto inicia o processo de amadurecimento, o patógeno retoma o crescimento e os sintomas típicos da antracnose aparecem. O fungo absorve nutrientes da fruta colonizada, então, novamente, forma o acérvulo e esporos para completar o ciclo de vida. Em áreas tropicais e subtropicais, onde as estações são contínuas, o ciclo da doença é perpetuado. Na ausência de uma planta hospedeira o *C. gloeosporioides* pode sobreviver como saprófito em tecidos mortos infectados ou em outras matérias orgânicas (SARKAR, 2016; SINGH, 2012).

Nos frutos infectados, os primeiros sinais surgem como pequenos pontos e manchas de cor clara e, à medida que essas manchas aumentam, se tornam mais profundas e assumem aparência úmida. Esses pontos de infecção podem se fundir, caracterizando o sintoma típico da antracnose nos frutos de mamoeiro, ou seja, a presença de lesões arredondadas, grandes, necróticas, com o centro dos tecidos deprimidos, as quais podem atingir diferentes diâmetros e de onde pode emergir esporos fúngicos de coloração salmão (AJAY KUMAR, 2014; GOMES-MORAES, 2013; LIBERATO; TATAGIBA, 2001) (Figura 1).

As colônias de *C. gloeosporioides* apresentam coloração variando de cinza claro à cinza escuro. Os esporos são formados em massas de cor salmão, com forma reta, cilíndrica e de ápice obtuso. Essa espécie apresenta-se muito heterogênea em meio de cultura, especialmente quanto às características miceliais (TAVARES, 2004).

Figura 1. Características da antracnose em mamão papaya.



Fonte: Halfeld-Vieira et al., 2010

O controle da contaminação fúngica em frutas envolve, além de outros mecanismos, a aplicação de fungicidas de diferentes grupos químicos, tais como ditiocarbamatos (Mancozeb), tiazóis (tebuconazol), benzimidazóis, estrobirulina (trifloxistrobina) e carboxiamidas (AGROFIT; AMIRI et al., 2008; USALL et al., 2016). No entanto, o uso indiscriminado e excessivo desses defensivos agrícolas sobre as culturas tem sido uma das principais causas para o desenvolvimento de fungos resistentes. Isso tem levado ao uso de maiores quantidades de antifúngicos na agricultura e, conseqüentemente, à detecção de quantidades aumentadas de resíduos tóxicos nos produtos alimentares, favorecendo a contaminação ambiental (AYÓN-REYNA et al., 2017; BAJWA, SANDHU, 2014; CABRAL et al., 2013). Além disso, a utilização de produtos químicos sintéticos destinados a preservar a qualidade de frutos na pós-colheita tem sido restrita em alguns países (CHÁVEZ-SÁNCHEZ et al., 2013; SHARMA; SINGH; PAL, 2013).

De acordo com Romanazzi et al. (2016), essa perspectiva tem gerado a tendência mundial de reduzir o uso de fungicidas sintéticos em busca de novas alternativas para o controle de patógenos em frutos. Desta forma, estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de investigar a eficácia de revestimentos comestíveis como tecnologias pós-colheita com o intuito de reduzir a utilização de fungicidas sintéticos em frutíferas (GUERRA et al., 2015; LIU et al., 2007; MAQBOOL et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2014; SANTOS et al., 2012; de SOUZA et al., 2015; TOKATLI, DEMIRDOVEN, 2020).

2.3 Revestimentos comestíveis em frutas

Revestimentos e filmes comestíveis são definidos como camadas finas de materiais comestíveis aplicados em produtos alimentares, cuja finalidade é prolongar sua vida útil, mantendo e/ou melhorando os aspectos de qualidade, garantindo sua conservação, distribuição e comercialização (FALGUERA et al., 2011; HASSAN et al., 2017). Os filmes são preparados separadamente e depois aplicados sobre a superfície dos alimentos, enquanto os revestimentos são formados a partir da sua deposição direta sobre as superfícies desses produtos (CORDEIRO DE AZEREDO, 2012).

Geralmente, os revestimentos comestíveis são aplicados na forma líquida, podendo-se utilizar diferentes métodos como pulverização, eletro-pulverização ou imersão (FALGUERA; QUINTERO; JIMENEZ; MUÑOZ; IBARZ, 2011; HASSAN et al., 2017). Sendo a Imersão nas soluções formadoras de filme a maneira mais simples de se obter produtos revestidos. Nesse processo, o alimento deve absorver quantidade adequada de solução, a qual quando seca forma uma camada protetora sobre a sua superfície (GALLUS et al., 2015). A aplicação de revestimentos em frutas tem se destacado pela eficácia na ampliação do tempo de conservação, atuando como barreira a gases e vapor de água, bem como exercendo efeitos antimicrobianos (ASSIS et al., 2008; FONSECA; RODRIGUES, 2009; MONZO'N-ORTEGA et al., 2018; MORADI et al., 2012; SANCHEZ GONZÁLES et al., 2011;).

Segundo Arnon e Poverenov (2018), os revestimentos comestíveis usados para preservação de frutas devem apresentar propriedades de permeabilidade a gases (CO_2 e O_2), permeabilidade limitada ao vapor de água, atividade antimicrobiana e boa adesão à superfície. Ainda, não devem promover alterações no sabor, odor e na aparência natural do fruto e serem biodegradáveis (ASSIS et al., 2009).

Nesse contexto, revestimentos à base de proteínas, lipídeos e carboidratos, bem como de combinação de diferentes compostos têm sido propostos (GALLUS et al., 2015; GRANDE-TOVAR, 2018). Além do custo, fatores relacionados às propriedades mecânicas e sensoriais podem influenciar na escolha de revestimentos comestíveis (FALGUERA et al., 2011; KALIA; PARSHAD, 2015; MALHOTRA; KESHWANI; KHARKWAL, 2015).

Filmes e revestimentos formulados com quitosana têm sido considerados sistemas promissores para aplicação em frutas (YUAN; CHEN; LI, 2016), entretanto, cabe ressaltar que a quitosana pode gerar revestimentos com limitações em relação a suas propriedades de barreira devido à sua natureza hidrofílica (HAMBLETON, et al., 2012). Nesse sentido, os revestimentos podem ser formulados a partir da associação de uma matriz hidrofílica com um componente

hidrofóbico, resultando em melhora das propriedades de barreira à umidade (HASSAN et al., 2017).

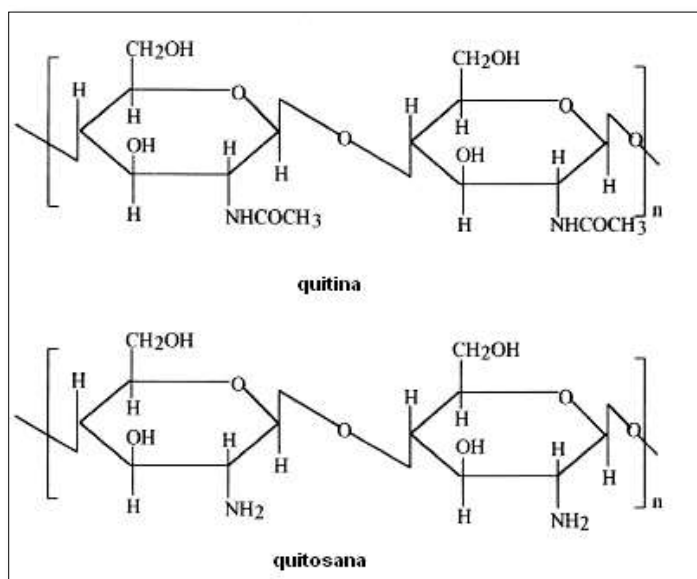
Diferentes substâncias ativas com propriedades antimicrobianas e antioxidantes podem ser combinadas com materiais formadores de filmes com o propósito de obter sistemas de liberação controlada (GRANDE-TOVAR, 2018). A exemplo dos óleos essenciais, os quais têm recebido atenção devido as suas propriedades biológicas e quando incorporados na matriz de quitosana, por meio de processo de emulsificação, podem desempenhar papel importante como materiais ativos (YUAN; CHEN; LI, 2016)

Porém, a aplicação de recobrimentos comestíveis ainda requer avanços tecnológicos e mais estudos para o estabelecimento do real potencial de uso na conservação pós-colheita de frutos como o mamão, importantes no mercado.

2.3.1 *Quitosana*

A quitosana (Figura 2) consiste em um polissacarídeo de cadeia linear, composto por unidades de 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose e 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose, caracterizado por ser biodegradável, biocompatível e possuir baixa toxicidade. Embora ocorra naturalmente nas paredes celulares de algumas espécies de fungos e exoesqueleto de insetos, é produzida industrialmente a partir da N-desacetilação do seu copolímero quitina (β -1,4 N-acetilglicosamina), a qual é conhecida como sendo um polímero fibroso e constituinte base que fornece estrutura ao exoesqueleto de crustáceos, insetos e parede celular de fungos (AIDER, 2010; ANDRADE et al., 2003; DOMARD, 2011; ESCAMILLA-GARCIA, 2018; MUJTABA et al., 2019).

A desacetilação da quitina corresponde à hidrólise alcalina dos grupos acetoamido (-NHCOCH_3), transformando-os em grupos amino (-NH_2). Nestas condições, o grupo N-acetil da quitina pode sofrer vários graus de desacetilação, sendo necessário adequado processo de conversão a fim de garantir elevado grau de pureza e ausência de contaminantes (proteínas, endotoxinas e metais tóxicos) no produto final. Posteriormente, a quitosana deve ser caracterizada quanto ao grau de desacetilação e massa molar, visto que são os determinantes principais das suas propriedades funcionais, tais como viscosidade, porosidade das membranas/coberturas/filmes e propriedades mecânicas (BERGER et al., 2014; DE OLIVEIRA et al., 2014).

Figura 2. Estrutura química da quitina e quitosana

Fonte: Azevedo et al., 2007.

A quitosana apresenta configuração tridimensional helicoidal estabilizada por ligações de hidrogênio intramolecular, sendo solúvel em soluções aquosas diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos, o que tem sido atribuído a à protonação dos grupos NH₂ em meio ácido, induzindo a transformação do polissacarídeo em polieletrólito, com numerosas cargas positivas ao longo das cadeias (DOMARD, 2011; ESCAMILLA-GARCIA et al., 2018; ELSABEE; ABDOL, 2013). A presença de grupos funcionais, como os grupamentos amino, permite a quitosana sofrer modificações químicas, além de desempenharem papel importante sobre algumas características físico-químicas, incluindo solubilidade e atributos mecânicos gerais (MUJTABA et al., 2019).

A fácil dissolução de quitosana em soluções aquosas de ácidos orgânicos (acético, fórmico e cítrico) e inorgânicos (ácido clorídrico), formando um gel com viscosidade variável, determina sua capacidade de formação de coberturas e filmes (AKYUZ et al., 2013), tornando um polímero adequado para grande número de aplicações (MUJTABA et al., 2019). Esse biopolímero tem sido estudado e aplicado em diferentes áreas, como agricultura, medicina e cosmética, em virtude de suas variadas propriedades, tais como: biodegradabilidade, biocompatibilidade, bioadesividade, policationicidade, antimicrobianas, imunoadjuvantes, anti-trombogênica, formadora de filme, hidratante e hipolipemiante (AKYUZ et al., 2013).

Na indústria alimentícia, a quitosana oferece amplo espectro de possíveis aplicações, além da formação de revestimentos biodegradáveis, tais como a recuperação de subprodutos;

purificação de água; clarificação de sucos; ação emulsificante de aromas; agente antioxidante e estabilizante, destacando-se a sua eficácia na preservação da qualidade de alimentos (ALLOUI et al., 2014; CHEN et al., 2014; ESCAMILA-GARCIA et al., 2018; MUJTABA et al., 2019).

Quando utilizada na forma de revestimentos, a quitosana pode ampliar a vida útil de frutíferas ao promover uma barreira a trocas gasosas, reduzindo os níveis de O₂ e aumentando os níveis de CO₂, além de causar redução da perda de água e atraso da atividade enzimática, com consequente redução do metabolismo vegetal e desaceleração do processo de maturação ao longo do armazenamento (APAIL et al., 2009; BASSETTO et al., 2005; GALLUS et al., 2015; PICHYANGKURA; CHADCHAWAN, 2015). Tem sido comprovado que a estrutura microporosa de revestimentos de quitosana contribui consideravelmente na manutenção da coloração natural de frutos, na redução da taxa respiratória, perda de massa e manutenção dos compostos nutricionais e funcionais ao longo do armazenamento (LUVIELMO, LAMAS, 2013; XING et al., 2016).

Com relação à atividade antimicrobiana, a quitosana tem sido avaliada frente a uma diversidade de microrganismos, incluindo espécies de bactérias e fungos (LI et al., 2019) sendo importante destacar que essa propriedade pode ser influenciada por vários fatores, tais como peso molecular e grau de desacetilação (HASSAN et al., 2018). Alguns autores associam o efeito antifúngico da quitosana com sua capacidade de interagir, por meio da sua cadeia catiônica, com resíduos carregados negativamente na superfície da célula fúngica (GRANDE-TOVAR et al., 2018; De OLIVEIRA et al., 2012). Esta interação altera a permeabilidade da membrana celular, causando perda de componentes intracelulares e perturbação da síntese de proteínas (MÁRQUEZ et al., 2013), inibindo o crescimento micelial e germinação de conídios e induzindo alterações morfológicas em algumas espécies de fungos (LIU et al., 2007; WANG et al., 2011). Ademais, tem sido sugerido que a quitosana, quando aplicada em frutos, pode induzir a ativação de mecanismos de defesa, com a produção de enzimas e compostos antioxidantes, ativando respostas que repercutem em maior tolerância às ações de patógenos pós-colheita (RAPPUSSI et al., 2011).

Resultados de estudos com revestimentos comestíveis de quitosana combinadas ou não com outras substâncias ativas, como os óleos essenciais, têm mostrado a sua eficácia na inibição do crescimento de fungos patógenos em diferentes frutos, diminuindo a severidade de doenças pós-colheita (GUERRA et al., 2015; MONZO'N-ORTEGA, 2018; MUNHUWEYI et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018; dos SANTOS et al., 2012). Além de melhorar as propriedades dos revestimentos, otimizando sua aplicabilidade. (SHAHBAZI et al., 2018; SHEN, KANDEM, 2015; SOUZA et al., 2017; ZHANG et al., 2019).

2.4 Óleos essenciais e suas propriedades antimicrobianas

Os óleos essenciais (OEs) são descritos como produtos obtidos a partir de matérias-primas naturais de origem vegetal (flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, madeira, frutos e raízes) por meio de destilação a vapor, tratamento mecânico do epicarpo de citrinos ou destilação seca após a separação da fase aquosa (caso esteja presente) por processos físicos (ISO 9235; 2013). São sintetizados naturalmente como metabólitos secundários em diferentes partes das plantas (EL ADBAHANIA et al., 2015), sendo constituídos por uma mistura complexa de componentes aromáticos em diferentes concentrações.

A aplicabilidade dos OEs envolve diferentes setores, tais como, as indústrias farmacêuticas, sanitárias, cosméticas e de alimentos (BAKKALI et al., 2008; BURT, 2004; GRANDE-TOVAR et al., 2016; HOSSAIN, 2016), podendo, em algumas situações, apresentar toxicidade a humanos, logo seu uso deve obedecer às doses recomendadas conforme o uso a que se destina (MALEKMOHAMMAD et al., 2019).

Os compostos voláteis que compõem os OEs são uma mistura de terpenos, terpenóides, constituintes aromáticos e alifáticos caracterizados pela baixa massa molar, sendo que os compostos terpênicos representam a segunda maior classe de compostos encontrados em relação ao número de constituintes ativos (BAKKALI et al., 2008). Os terpenos são resultantes da combinação de várias unidades de cinco carbonos (C5), chamadas isoprenos, dentre os quais se destacam os monoterpenos (C10) e os sesquiterpenos (C15). Os terpenoides são terpenos que contêm moléculas de oxigênio na sua composição em razão de modificações enzimáticas, os quais se dividem em alcoóis, ésteres, aldeídos, cetonas, éters e fenóis. Suas estruturas químicas estão estreitamente relacionadas com as dos terpenos e suas propriedades podem ser atribuídas, na maioria das vezes, aos seus grupos funcionais (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012).

Segundo Mazzarrino et al. (2015) a composição dos OEs pode diferir amplamente entre espécies e de acordo com a parte da planta utilizada na extração, condições climáticas, fotoperíodo, intensidade luminosa, sazonalidade e método de extração empregado para sua obtenção. Embora alguns autores tenham sugerido que os efeitos antimicrobianos dos OEs possam ser atribuídos, principalmente, aos compostos mais abundantes, existe a possibilidade de ocorrência de outros fenômenos, como sinergia ou antagonismo, entre os componentes encontrados em menores quantidades (GRANDE-TOVAR et al., 2016; WANG et al., 2011).

As propriedades antimicrobianas dos OEs estão associadas a sua participação nos sistemas de defesa dos vegetais (MALDONADO; SCHIEBER; ANZLE, 2015). Sendo que os principais mecanismos de ação antimicrobiana relatados na literatura são: desestabilização e

interrupção das funções da membrana (LAMBERT et al., 2001); inibição das reações metabólicas (COX MANN, MARKHAM, 2001; PICONE et al., 2013); danos às proteínas de membrana (ULTEE et al., 2000); esgotamento de força motriz de prótons (ULTEE; TFE; SMID, 2001) e perda de constituintes citoplasmáticos, metabólitos e íons (AZERÊDO et al., 2012; GUSTAFSON et al., 1998). O mecanismo subjacente à ação antifúngica de OEs pode envolver a interrupção entre a fase vegetativa e reprodutiva do desenvolvimento fúngico. Essas substâncias são citadas por causarem impacto negativo na esporulação fúngica devido ao impedimento do desenvolvimento micelial e da percepção de diferentes sinais fisiológicos envolvidos na síntese de moléculas necessárias ao funcionamento da célula fúngica na forma vegetativa, com vistas ao desenvolvimento da forma reprodutiva (TZORTZAKIS; ECONOMAKIS, 2007).

A exploração das propriedades antimicrobianas dos OEs tem se constituído em alternativa potencial para controle de fungos e bactérias patogênicas em diversos setores (DE SOUZA, 2016; SHARIFI-RAD et al., 2017), incluindo o seu uso no controle do crescimento de fungos fitopatogênicos em frutos (SERVILLI ; FELZIANI; ROMANAZZI, 2017; SEFU et al., 2015;; SARKHOSH et al., 2018).

2.4.1 Óleos essenciais de *Mentha* spp.

As espécies do gênero *Mentha* pertencem à família Lamiaceae e diferem entre si não só em relação aos aspectos morfológicos, mas também quanto à produção e composição do óleo essencial (DESCHAMPS et al., 2013) . O qual é produzido e armazenado em tricomas glandulares peltados, presentes em maiores quantidades em folhas e flores, e em menores quantidades nos caules das planta.

Quanto à composição, os OEs das espécies de *Mentha* são, geralmente, constituídos por uma mistura de terpenos, de modo que a prevalência de um ou mais desses componentes determina o quimiotipo (DESCHAMPS et al., 2013). Estudos têm relatado que esses OEs possuem ação antibacteriana, antiviral e antifúngica, sendo tais atividades associadas, principalmente, aos compostos majoritários mais frequentemente identificados, tais como mentol, mentona, acetato de metila e iso-mentona (SINGH et al., 2011; MAKKAR et al., 2018; PARK et al., 2016).

A espécie *Mentha piperita* L. (Figura 3) é um híbrido natural entre *M. aquatica* e *M. spicata*. Trata-se de uma erva aromática de haste ramosa e quadrangular, verde ou roxo-purpúrea, cultivada em larga escala em regiões temperadas e tropicais para a produção de óleo

essencial (SOUZA, 2006). Nativa da Europa, porém no Brasil, seu cultivo é difundido em todas as regiões, especialmente no Nordeste (PRAMILA et al., 2012; SOUZA, 2006).

O óleo essencial de *Mentha piperita* L. (OEMP) é considerado um dos mais populares, amplamente utilizado em virtude dos seus principais componentes, como o mentol e a mentona (DERWICH et al., 2010). No setor de alimentos, o OEMP é utilizado primariamente como agente flavorizante em alimentos e bebidas (BURT, 2004; MAHBOUBI; KAZEMPOUR, 2014), embora estudos têm revelado propriedades antioxidantes e antimicrobianas (GUERRA et al., 2015; RIACHI et al., 2013; SAHARKHIZ et al., 2012).

A espécie *Mentha x villosa* Huds (Figura 3) é uma planta aromática e híbrida de *M. spicata* L. e *M. suaveolens*. Ehrh, conhecida popularmente como hortelã-rasteira, hortelã da folha miúda, hortelã de cheiro ou hortelã da horta, sendo frequentemente utilizada na medicina popular brasileira contra protozários (LAHLOU et al., 2002; MATOS, 1999). Ao passo que, pesquisas têm mostrado que o uso do OE de *M. villosa* (OEMV) apresentou efeito larvicida (LIMA et al., 2014) e antimicrobiano (ALMEIDA et al., 2018; ARRUDA et al., 2006). Segundo Freitas et al. (2014) o OEMV apresenta, geralmente, como compostos majoritários a mentona e 1,2 – epoxipulegona, os quais têm sido avaliados quanto ao seu potencial antimicrobiano.

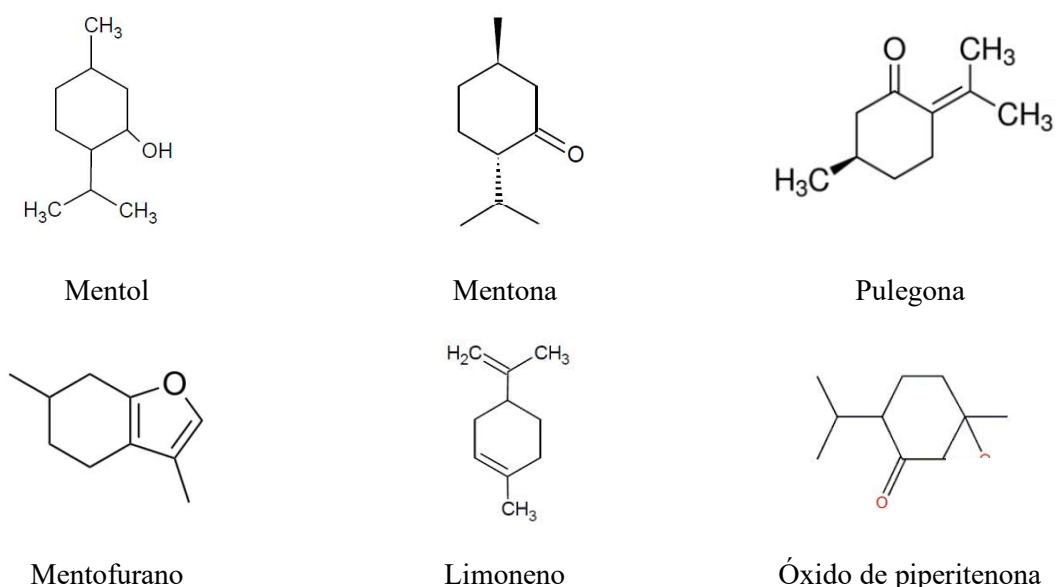
Figura 3. *Mentha piperita* L. (A) e *M. x villosa* Huds (B).



Fonte: Florafaunaweb

Na Figura 5 são apresentadas as estruturas químicas dos principais constituintes encontrados no OEMP e OEMV.

Figura 4. Estrutura química dos principais constituintes encontrados nos óleos essenciais de *Mentha piperita* L. e *M. x villosa* Huds.



Fonte: GONZÁLEZ-MARTÍNÉZ, 2014.

O mentol ($C_{10}H_{20}O$) é um álcool terpênico cíclico, e, embora este tipo de álcool ocorra extensamente na natureza, são poucos que possuem propriedades químicas de fragrância e sabor. O mentol apresenta três átomos de carbono assimétricos em seu anel de ciclohexano, e, consequentemente, ocorre como quatro pares de isômeros óticos, a citar: (-) - e (+) - menthol, (-) - e (+) - neomenthol, (-) - e (+) - isomenthol e (-) - e (+) - neoisomenthol (-) (OZ et al., 2017). O mentol é considerado o principal componente do OEMP (HUSSAIN et al., 2010; MAHBOUBI; KAZEMPOUR, 2014), seguido, geralmente, por mentona, limoneno, mentil acetato, mentofurano, cariofileno, carvona e beta-pineno (HUSSAIN et al., 2010). Durante a progressão da estação de crescimento da planta, as quantidades de mentol e mentil acetato aumentam na espécie *M. piperita*, enquanto as quantidades de mentona diminuem (LORENZI; MATOS, 2008).

A mentona, 5-metil-2-(1-metiletil) ciclohexanona ($C_{10}H_{18}O$), é uma cetona análoga ao mentol e existe na forma de dois isômeros (mentona e isomentona), sendo encontrada com frequência nos OEs de espécies do gênero *Mentha*, especialmente em *M. piperita*. Esse composto apresenta forte tendência à interconversão de mentol e, por esse motivo, não é fácil obtê-lo com alto grau de pureza (KAMATOU et al., 2013; SCHIMITZ et al., 2015).

O limoneno, de nomenclatura 1-metil-4-isopropenilciclohex-1-eno, é um hidrocarboneto cíclico insaturado que pertence a família dos terpenos. Com exceção do alfa-

pineno, é o mais importante e mais frequente dos monoterpenóides, sendo formado a partir do alfa-terpineol. Apresenta duas formas ópticas ativas, D e L-limoneno (DE SOUZA BARROS, 2015). Apresenta-se como precursor-chave dos principais monoterpenos encontrados nas espécies de *Mentha*, sendo obtido a partir do pirofosfato de geranil por isomerização cis-trans da ligação dupla (GARLET, 2007). O limoneno é o precursor da carvona e pulegona, que por reações sucessivas pode formar mentofurano, mentona, isomentona, mentol e seus isômeros e acetato de mentila (CROTEAU et al., 2000). Estudo realizado com plantas que apresentam o limoneno como composto majoritário revelou atividade antimicrobiana eficaz frente bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos (SHARIFI RAD et al., 2015).

O mentofurano ($C_{10}H_{14}O$) é um monoterpenoide presente em espécies de *Mentha* e se forma como um metabólito do monoterpeno pulegona. Em espécies de *Mentha*, as cetonas mentona e pulegona e o mentofurano possuem fragrância menos agradável que os demais terpenos, e aparecem em maior proporção em folhas jovens, sendo sintetizadas preferentemente em dias curtos (THOMASSEN et al. 1992).

O óxido de piperitenona consiste em um monoterpeno também frequentemente encontrado no OEMV, o qual geralmente determina o quimiotipo (LIMA et al., 2014). Apresenta-se como líquido transparente e levemente amarelado, com fórmula molecular $C_{10}H_{14}O_2$, sendo solúvel em água e solventes orgânicos (SILVA, 2014). Uma possível rota metabólica para a formação de óxido de piperitenona partiria da pulegona, da qual derivaria a cis-pulegona e piperitenona. A piperitenona daria origem ao óxido de piperitenona (VÁSQUEZ et al., 2014), o qual tem sido descrito como possuidor de propriedades antimicrobiana e inseticida (AIT-QUAZZOU et al., 2012; DIAS et al., 2011; GUERRA et al., 2015).

Estudos têm revelado que a utilização do OEMP e OEMV mostrou-se eficaz quanto à inibição de fungos fitopatogênicos (DE OLIVEIRA et al., 2017; GUERRA et al., 2015; GUERRA et al., 2016; RIAHI et al., 2013).

2.5 Uso de revestimentos de quitosana incorporados de óleos essenciais em frutas

O uso de OEs emulsionados incorporados em filmes e/ou revestimentos comestíveis biodegradáveis, como aqueles à base de quitosana, tem contribuído para o fortalecimento da atividade antimicrobiana, reduzindo o crescimento de fungos patogênicos na superfície de frutos, enquanto mantém a qualidade desses produtos, conservando os compostos nutricionais e garantindo a aceitação pelo consumidor (ROMANAZZI; SMILANICK; FELIZIANI; DROBY, 2016; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011).

Embora os OEs possuam, geralmente, destacável atividade antimicrobiana, algumas desvantagens do seu uso de forma isolada em frutas relacionam-se à elevada taxa de volatilidade, alterações no odor e sabor e possível fitotoxicidade (MOHAMMADI, HASHEMI, HOSSEINI, 2015). Nos revestimentos de quitosana incorporados com OEs, o possível aparecimento de interações fracas, por meio de pontes de hidrogênio, entre os compostos terpênicos presentes nos OEs e quitosana (MAYACHIEW; DEVAHASTIN; MACKEY; NIRANJAN, 2010; YUAN; CHEN; LI, 2016) pode reduzir a quantidade liberada de óleo essencial, mantendo concentrações mais elevadas de compostos ativos em contato com a superfície do alimento por períodos mais longos (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011; WANG et al., 2011).

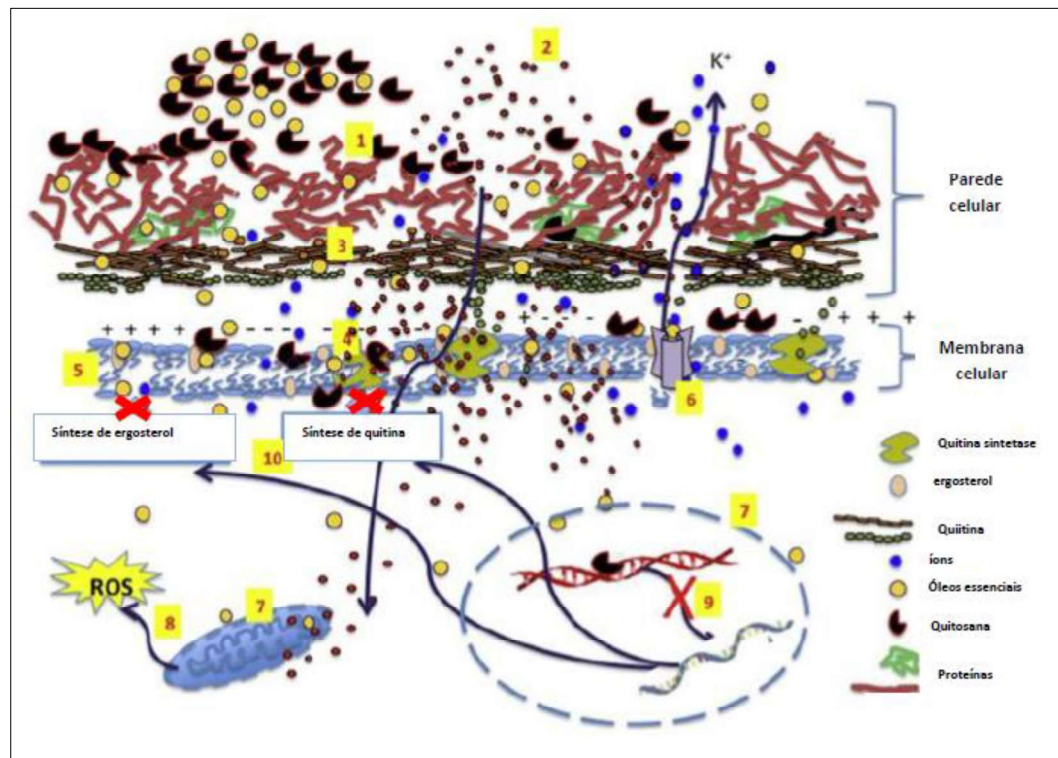
Outrossim, quando OEs são incorporados na matriz polimérica podem ocorrer interações químicas entre grupos funcionais, possibilitando o surgimento de alteração das propriedades físico-químicas dos revestimentos (YUAN; CHEN; LI, 2016). Essas interações podem levar ao aumento das propriedades interfaciais dos revestimentos, as quais são primordiais para ampliar a aderência da matriz do filme ou revestimento à superfície dos alimentos, eventualmente aperfeiçoando a eficiência antimicrobiana do material (KUREK; GALUS; DEBEAUFORT, 2014). Por apresentarem características hidrofóbicas, os OEs podem melhorar as propriedades físicas dos revestimentos, tais como estabilidade térmica e redução da permeabilidade ao vapor de água, diminuindo as características hidrofílicas e repercutindo no aumento da resistência à solubilidade em água (SHEN; KAMDOM, 2015).

Nessa perspectiva, revestimentos de quitosana contendo OEs têm revelado melhor eficácia na redução da taxa respiratória de frutos quando comparados àqueles formulados somente com quitosana (MOHAMMADI et al., 2015; PASTOR et al., 2011; PERDONES et al., 2012; SANCHEZ-GONZALEZ, 2011).

Por sua vez, o efeito da combinação de quitosana e OEs sobre o crescimento de fungos depende da capacidade da matriz polimérica em liberar o composto antimicrobiano, do tipo de OE utilizando na formulação, da espécie de fungo alvo e do tipo de fruto revestido (PARK et al., 2008; GALLUS et al., 2015). Ademais, outros fatores podem afetar a atividade biológica de certos compostos quando em contato com o tecido do fruto, o que depende do complexo sistema hospedeiro/composto antimicrobiano/patógeno. (YUAN et al., 2016). Embora o mecanismo de ação de revestimentos de quitosana incorporados de OEs não estejam bem esclarecido, segundo Mohammadi et al. (2015), a quitosana e os OEs podem agir sinergicamente potencializando a atividade antimicrobiana. A Figura 6 mostra uma proposta de

mecanismos de ação de revestimentos ou filmes formulados com combinações de quitosana e OEs em células fúngicas (GRANDE-TOVAR et al., 2018).

Figura 5. Proposta de efeitos de revestimentos de quitosana incorporados de óleos essenciais sobre células fúngicas.



Fonte: GRANDE-TOVAR et al., 2018 (1 - Alteração da superfície e estrutura da parede celular; 2 - Aumento na captação de oxigênio; 3 - Interrupção da quitina; 4 - Alteração conformacional da quitina-sintetase; 5 - Desestabilização da membrana citoplasmática; 6 - Interação com proteínas e porinas e vazamento de íons citoplasmáticos; 7 - Interrupção da membrana celular (núcleo e mitocôndrias); 8 - Produção de espécies reativas de oxigênio (ROS); 9 - Interação com DNA e inibição da síntese de RNA; e 10 - Inibição da síntese de proteínas).

Alguns estudos têm relatado a eficácia da utilização de revestimentos à base de quitosana e OEs no controle pós-colheita de frutos e outros vegetais, repercutindo na manutenção da qualidade desses produtos e prolongamento da vida de prateleira, sendo esses efeitos diretamente relacionados à inibição do crescimento de fungos causadores de doenças e/ou desaceleração dos processos relacionados à maturação dos frutos (Quadro 1).

Quadro 1. Estudos relacionadas ao uso de revestimentos à base de quitosana e óleos essenciais no controle de doenças em frutas.

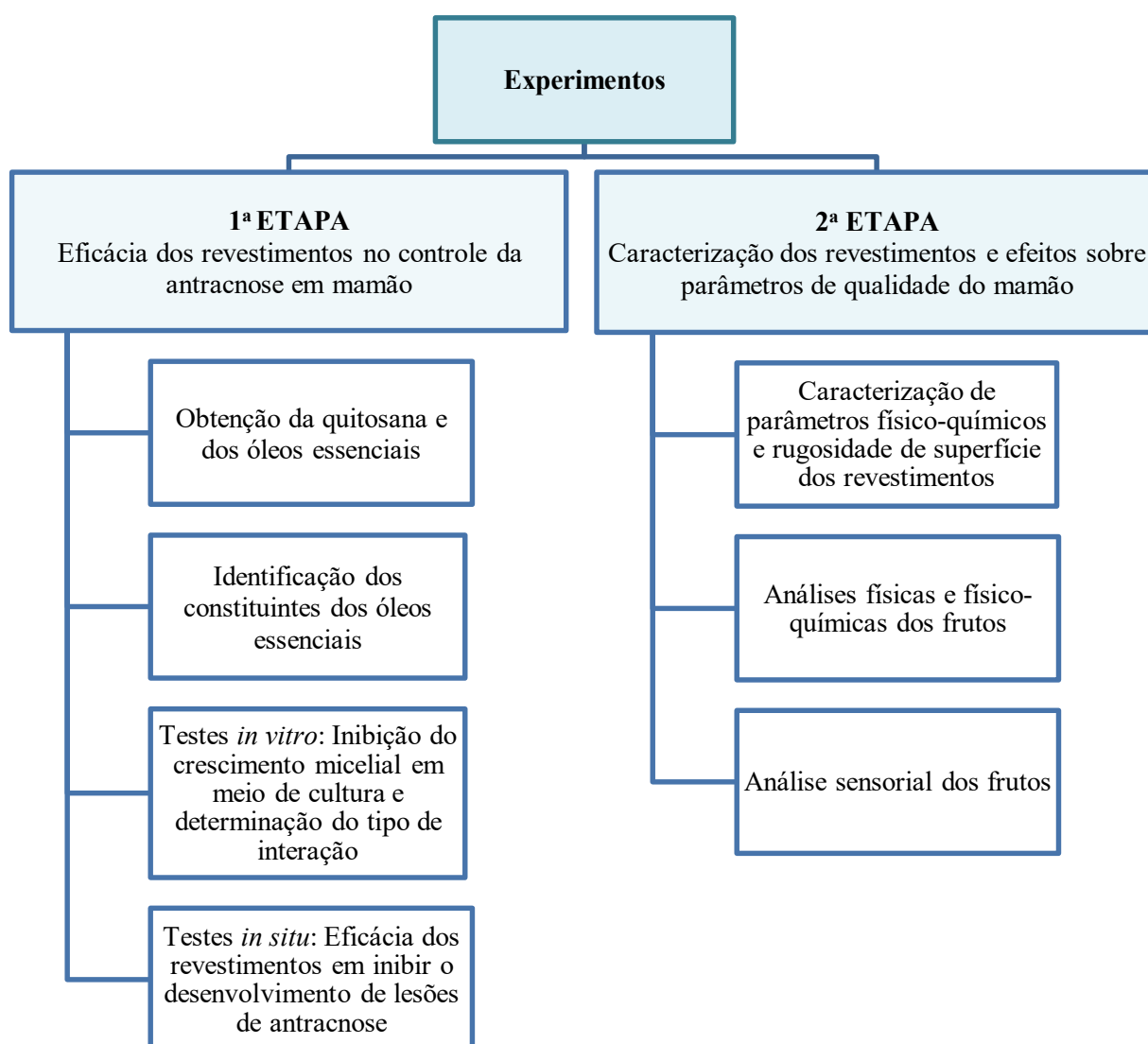
Frutas	Composição do revestimento	Principais resultados encontrados	Referência
Goiaba, mamão, manga	Quitosana (5 mg/mL) + óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (D.C. ex Nees) (0,15; 0,3; 0,6 µL/ mL)	Redução da lesão de antracnose causada por espécies de <i>Colletotrichum</i> (<i>C. asianum</i> , <i>Csiamense</i> , <i>C. fruticola</i> , <i>C. tropicale</i> and <i>C. karstii</i>).	Oliveira et al., 2018
Mamão	Quitosana (1,5 e 2,0 %)	Redução dos sinais de antracnose causada por <i>C. gloeosporioides</i> ; Ampliou o tempo de maturação de mamão.	Ali et al., 2010
Manga	Quitosana (5 e 7,5 mg/mL) + óleo essencial de <i>M. piperita</i> (0,6 e 1,25 µL/mL)	Redução da severidade da lesão de antracnose causada por espécies de <i>Colletotrichum</i> .	de Oliveira et al., 2017
Pimenta	Quitosana (1,0%) + óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (0,5%)	Eficaz na inibição da antracnose e extensão da vida de prateleira.	Ali et al., 2015
Romã	Quitosana + óleo essencial de <i>Cinnamon verum</i> , <i>Cymbopogon citratus</i> e <i>Origanum vulgare</i> (10, 50 or 100 g/L)	Inibiu o crescimento de patógenos (<i>Botrytis</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., e <i>Pilidiella granati</i>).	Munhuweyi et al., 2017
Uvas Isabella	Quitosana (4,8 mg/mL) + óleo essencial de <i>M. piperita</i> e <i>M. villosa</i> (1,25, 2 e 5 µL/ mL)	Reduziu a incidencia de infecções causadas por fungos (<i>Aspergillus niger</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium expansum</i> and <i>Rhizopus stolonifer</i>) e manteve a qualidade físico-química e sensorial das uvas.	Guerra et al., 2016

Sabendo-se da potencial eficácia de coberturas comestíveis formuladas com quitosana e OEs de *Mentha* para manutenção da qualidade pós-colheita de frutos, torna-se necessário a realização de estudos que avaliem os seus efeitos no controle pós-coheita de mamão, o que pode representar um avanço nas tecnologias disponíveis para a conservação desse fruto.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido em duas etapas como mostra o esquema apresentado na Figura 6. Na primeira etapa foram realizados os testes *in vitro* e *in situ*, quando foram avaliados os efeitos da quitosana, OEMP e OEMV frente diferentes isolados de *Colletotrichum*, bem como dos revestimentos formulados com essas substâncias sobre o desenvolvimento de lesões de antracnose em mamão. Na segunda etapa foram realizadas análises referentes à caracterização dos revestimentos formulados com quitosana e OEMP ou OEMV, bem como os seus efeitos sobre características relacionadas à qualidade pós-colheita de mamão.

Figura 6. Etapas do desenho experimental do estudo.



3.1 Locais de execução das análises

Os testes *in vitro* referentes à avaliação da eficácia da quitosana e dos OEs frente aos isolados de *Colletotrichum*, assim como as análises *in situ* destinadas a avaliar o percentual de inibição do crescimento das lesões de antracnose em mamão, além de parte das análises físico-químicas foram realizados no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos/Departamento de Nutrição/CCS/UFPB. A identificação dos constituintes dos OEs foi realizada na Unidade de Caracterização e Análise/IPeFarm/UFPB.

As análises de cor e textura, bem como o perfil de açúcares e ácidos orgânicos nos frutos foram realizadas no Laboratório de Análises Química de Alimentos e Laboratório de Flavor/Departamento de Engenharia de Alimentos/CT/UFPB. As análises de caracterização dos revestimentos, a citar espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial, foram realizadas no Laboratório de Materiais e Biosistemas/Departamento de Engenharia de Materiais/CT/UFPB, enquanto as análises de rugosidade da superfície foram realizadas no Laboratório Integrado de Biomateriais/Departamento de Odontologia Restauradora/CCS/UFPB. A avaliação sensorial das frutas revestidas e não revestidas foram conduzidas no Laboratório de Análise sensorial/CTDR/UFPB.

3.2 Obtenção das matérias-primas

Os mamões (*C. papaya* L.) foram adquiridos em supermercados da cidade de João Pessoa - Paraíba - Brasil, apresentando grau de maturação 2 (20% da superfície da casca amarela) e selecionados de acordo com uniformidade de cor, tamanho e ausência de injúrias mecânicas e fisiológicas visíveis (MAQBOOL, 2011). Em seguida, foram transportados para o laboratório onde foram realizados os experimentos. Antes dos ensaios, os frutos foram higienizados com água potável e detergente neutro, sanitizadas por meio de imersão em solução de hipoclorito de sódio (150 ppm, pH 7,2 ajustado com NaOH a 1 M) durante 5 minutos, lavados novamente com água destilada esterilizada e deixadas por 2 horas sob temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C) para secar.

A quitosana (QUI) de médio peso molecular ($5,6 \times 10^5$ g/mol, grau de desacetilação 75 - 85%) foi obtida da Sigma-Aldrich Corp. (St Louis, CA, EUA). O óleo essencial da espécie *Mentha piperita* L. (OEMP), extraído por hidrodestilação, foi obtido da empresa Ferquima Ind. Ltda (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brazil), enquanto o óleo essencial de *Mentha x*

villosa Huds (OEMV), também extraído por hidrodestilação, foi fornecido pela Hebron[®] Company (Caruaru, Pernambuco, Brazil). A formulação comercial de fungicidas, trifloroxistrobina (100 g/L) e tebuconazol (200 g/L) comumente utilizada em pomares de mamão papaya no Brasil foram utilizadas como controle positivo (COSTA et al., 2017; TATAGIBA et al., 2002).

Os isolados de *C. gloeosporioides* (CMM 1767, CMM 24 e CMM 320) e *C. brevisporum* (CMM 1642, CMM 1728 e CMM 1936) foram fornecidos pela Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos – Professora Maria Menezes (Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil). Esses isolados foram recuperados de lesões de antracnose em mamão papaya cultivados no Nordeste do Brasil e identificados por meio de inferência filogenética (VIEIRA et al., 2013). Antes dos ensaios, cada isolado foi inoculado em um mamão e após o desenvolvimento das lesões características de antracnose cada estirpe foi re-inoculada e cultivada em ágar batata dextrose (ABD, HiMedia, Mumbai, Índia) a $25 \pm 0,5$ °C por sete dias (DE OLIVEIRA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018). As lesões induzidas por todos os isolados foram geralmente semelhantes e consistiram de manchas marrom-escuro, deprimidas e/ou proeminentes, arredondadas e com aparência encharcada (VIEIRA et al., 2013). Os isolados estoque foram mantidos sob temperatura ambiente em microtubos contendo 1,5 mL de solução de NaCl a 1%. Para os ensaios de atividade antifúngica, foram utilizadas culturas subcultivadas em ABD mantidas a $25 \pm 0,5$ °C durante sete dias.

3.3 Identificação dos constituintes do óleo essencial de *Mentha piperita* L. e *M. villosa* Huds.

A identificação dos constituintes do OEMP e OEMV foi realizada com o uso de cromatógrafo gasoso acoplado à espectrômetro de massa (CG/MS), modelo CGMS-QP2010 Ultra (Shimadzu, Kyoto, Japão), com coluna capilar RTX- 5MS (30 m comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme) sob as seguintes condições analíticas: temperatura programada, 60 - 240 °C, 3 °C/minuto; temperatura do injetor, 250 °C; temperatura do detector, 220 °C; impacto de elétrons, 70 eV; gás de transporte, Hélio; Taxa de fluxo, 0,99 mL/min; velocidade linear, 36,4 cm/s; pressão, 57 kPa; e faixa de massa (m/z), 40 a 500. O volume injetado foi de 1 mL de uma solução contendo aproximadamente 0,1 mL do óleo essencial em 1 mL de acetato de etila. Cada componente foi identificado após a comparação dos espectros de massa com a base de dados das bibliotecas NIST/EPA/NIH (Instituto Nacional de Tecnologia de padrões, Norwalk, CT, Estados Unidos) e FFNS C1.3 (*Flavor and Fragrance*

Natural and Synthetic Compounds), bem como o índice de retenção de Kovats (ADAMS, 2001). A quantificação dos constituintes do OEMP e OEMV foi obtida após normalização das áreas e expressos em porcentagem total de área (%) (DE SOUSA GUEDES et al., 2016).

3.4 Preparo das soluções de Quitosana (Qui) e do revestimento com incorporação do óleo essencial de *M. piperita* L. ou *M. x villosa*.

Diferentes concentrações de quitosana (QUI) (2,5; 5; 7,5 e 10 mg/mL) foram obtidas por meio da dissolução do polímero em solução aquosa de ácido acético (1 mL/100 mL, pH 5,6; Química Moderna, São Paulo, Brazil) sob constante agitação à temperatura ambiente durante 18 h. Com intuito de obter dados que viessem a garantir que o ácido acético não causasse interferência na atividade antifúngica dos compostos testados, o pH da solução foi ajustado para 5 - 5,6 com adição de NaOH 3 M ou HCl a 0,1 M (Química Moderna, São Paulo, Brazil). As soluções do OEMP e OEMV em diferentes concentrações (0,15; 0,30; 0,6; 1,25 e 5 µL/mL) foram obtidas por dissolução de cada óleo essencial em água destilada esterilizada seguido de adição de Tween 80 (1%, v/v; Sigma Aldrich) como agente estabilizador (MAQBOOL et al., 2011). Para avaliar o uso das combinações de QUI com OEMP ou OEMV como revestimentos em mamão, adicionou-se glicerol (2,5 mL/100mL) como agente plastificante logo após a adição do óleo essencial na dispersão formadora do revestimento (OJAGH et al., 2010)

3.5 Efeito da quitosana e dos óleos essenciais de *M. piperita* L. e *M. x villosa* sobre o crescimento micelial radial fúngico

O efeito da QUI, OEMP e OEMV sob o crescimento micelial radial dos isolados de *Colletotrichum* foi avaliado por meio do procedimento de diluição em meio sólido (CAMILETTI et al., 2014). Um disco (5 mm de diâmetro) contendo micélios dos isolados testados foram retirados da margem de uma cultura mantida por sete dias em ABD a $25 \pm 0,5$ °C, transferido para o centro de uma placa de Petri contendo ABD com QUI, OEMP ou OEMV na concentração final desejada (QUI: 2,5; 5,0; 7,5 e 10 mg/mL; OEMP e OEMV: 0,15; 0,3; 0,6 e 1,25 µL/mL) e incubados a 25 ± 5 °C. ABD sem QUI, MPEO e MVEO (pH 5,6) foi utilizado como controle negativo. Adicionalmente, ABD contendo solução de ácido acético a 0,1 M (1 mL/100 mL, pH 5,6) foi testada como controle para garantir que não causaria efeito inibitório sob o crescimento micelial radial dos isolados de *Colletotrichum* testados.

O crescimento micelial radial foi medido durante sete dias ou quando as placas de Petri contendo o controle negativo estavam totalmente cobertas com os micélios fúngicos. As medidas foram tomadas em duas direções perpendiculares para o cálculo do diâmetro médio das colônias. A percentagem de inibição do crescimento micelial (%ICM) foi calculada usando a fórmula $ICM = [(C - T) / C] \times 100$, onde C é o diâmetro da colônia crescida no experimento controle e T é o diâmetro da colônia crescida no ABD adicionado de QUI, OEMP ou OEMV (CAMILETTI et al., 2014; LIMA et al., 2015).

3.6 Determinação do tipo de interação das combinações de quitosana e óleo essencial de *M. piperita* L. ou *M. x villosa* Huds.

A determinação do tipo de interação das diferentes combinações de QUI e OEMP ou OEMV foi realizada a partir do método de Abbott (CAMILETTI et al., 2016; KOSMAN; COHEN, 1996). Para isso, foi calculado o percentual de inibição do crescimento micelial (%ICM) causado por essas substâncias quando testadas em combinação (QUI: 5 ou 7,5 mg/mL; OEMP e OEMV: 0,15; 0,3; 0,6 ou 1,25 µL/mL) frente a cada isolado de *Colletotrichum*. O valor encontrado foi denominado de %ICM observado (ICM% obs). Em seguida, calculou-se o ICM% esperado (ICM% esp) para cada combinação utilizando a fórmula:

$$ICM\%_{esp} = ICMQUI\%_{obs} + ICMOEMP\%_{obs} \text{ ou } ICMOEMV\%_{obs} - (ICMQUI\%_{obs} \times ICMOEMP\%_{obs} \text{ ou } OEMV\%_{obs})/100$$

onde, $ICMQUI\%_{obs}$, $ICMOEMP\%_{obs}$ e $ICMOEMV\%_{obs}$ são os valores individuais de ICM% causados por QUI, OEMP e OEMV nas diferentes concentrações ensaiadas, respectivamente.

O estabelecimento do tipo de interação das combinações sobre o crescimento micelial fúngico foram determinados por meio do cálculo do Índice de Abbott (IA), como segue: $IA = ICM\%_{obs} / ICM\%_{esp}$. A classificação como efeito sinérgico foi designada quando encontrado valor de $IA \geq 1,5$; como efeito aditivo quando encontrado valor de $IA \geq 0,5 - < 1,5$; e antagonista quando encontrado valor de $IA < 0,5$ (CAMILETTI et al., 2016; KOSMAN; COHEN, 1996).

3.7 Efeitos da combinação de quitosana e óleo essencial de *M. piperita* L. ou *M. x villosa* Huds sobre o desenvolvimento da antracnose em mamão

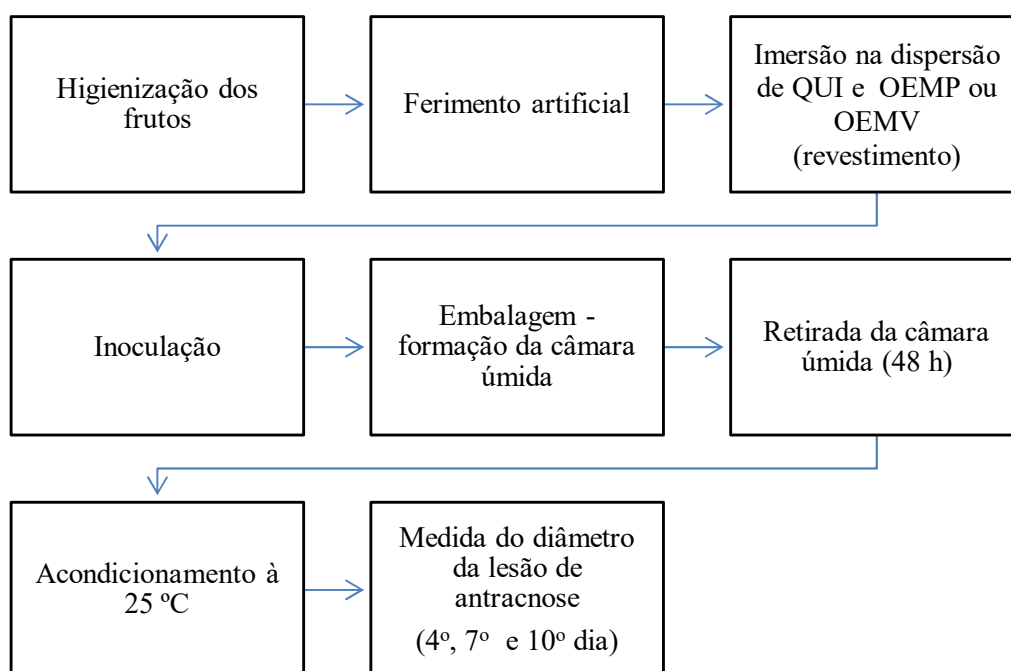
Para realização dos ensaios, a superfície (epiderme) do mamão foi perfurada (cinco perfurações por fruto) com o auxílio de agulhas esterilizadas (3 mm de profundidade e 2 mm de largura) em pontos específicos na região equatorial. Posteriormente, cada fruto foi cuidadosamente imerso em 500 mL das dispersões formadoras dos revestimentos contendo as combinações das diferentes concentrações de QUI e OEMP ou OEMV que apresentaram efeitos sinérgicos ou aditivos (QUI: 5 mg/mL; OEMP: 0,3; 0,6; e 1,25 µL/mL; OEMV: 0,3; 0,6 e 1,25 µL/mL). Os frutos foram mantidos à $25 \pm 0,5$ °C sobre papéis de filtro absorvente e mantidos em câmara de biossegurança por 2 h para secagem. Em seguida, um disco de ágar (5 mm de diâmetro) contendo os micélios do isolado de *Colletotricum* testado, obtidos da margem de uma colônia cultivada durante sete dias em ABD a $25 \pm 0,5$ °C, foi transferido para o ponto do ferimento no fruto com o auxílio de pinças de aço inoxidável esterilizadas. O ágar foi fixado na superfície do fruto com o auxílio de fita adesiva (DE OLIVEIRA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018).

Cada mamão foi acondicionado individualmente em recipientes de polietileno, contendo toalhas de papel umedecidas com água destilada esterilizada (formando uma câmara úmida), recoberto com saco plástico para gerar umidade relativa satisfatória e mantidos em incubadora tipo BOD ($25 \pm 0,5$ °C). As câmaras de umidade foram removidas após 48 h de armazenamento (LIMA et al., 2015; de OLIVEIRA et al., 2017). Em diferentes intervalos de armazenamento (4º, 7º e 10º dia), os frutos foram examinados quanto ao surgimento dos sintomas visíveis característicos de antracnose, sendo realizada a medida do diâmetro das lesões. Controles positivos e negativos foram incluídos nos experimentos e analisados de forma semelhante. Para o controle negativo, foi utilizada água destilada esterilizada adicionada de glicerol (2,5 mL/100 mL; pH 5,6). Para o controle positivo, foi utilizada formulação comercial composta por uma mistura dos fungicidas químicos trifloroxistrobina (100 g/L) e tebuconazol (200 g/L) (Nativo, AgroBayer, Brasil) com diluição final de 0,1 e 0,2 g/L, respectivamente.

Os resultados foram expressos como porcentagem da redução do diâmetro da lesão de antracnose (% PRLA) determinada pela diferença do diâmetro da lesão em frutos revestidos com as combinações QUI e OEMP ou OEMV ou tratados com a formulação dos fungicidas sintéticos quando comparada ao diâmetro da lesão nos frutos não revestidos/não tratados (controle negativo) (MUNHUWEYI et al., 2017), de acordo com a fórmula: $\% \text{ PRLA} = [(N - F/N) \times 100]$, onde N é o diâmetro da lesão de antracnose no controle negativo e F é o diâmetro

da lesão de antracnose em frutos revestidos com as combinações de QUI e OEMP ou OEMV ou tratados com a formulação de fungicidas sintéticos. Essas medidas foram determinadas a partir do 4º até o 10º dia de armazenamento, pois os primeiros sinais visíveis das lesões nos frutos não revestidos/não tratados surgiram somente a partir do 4º dia de armazenamento (Figura 8).

Figura 7. Esquema da aplicação de revestimento de quitosana (QUI) e óleo essencial de *M. piperita* L. (OEMP) e *M. x villosa* Huds (OEMV) em frutos artificialmente feridos.



3.8 Avaliação das características físico-químicas e da rugosidade de superfície dos revestimentos

As características físico-químicas de revestimentos formulados com QUI (5 g/L) e QUI (5 g/L) + OEMV ou OEMP (0,6 e 1,2 mL/L) foram avaliadas por meio de análises de espectroscopia na região do infravermelho, calorimetria diferencial exploratória e termogravimetria. As diferentes dispersões formadoras dos revestimentos foram vertidas em placa de Petri esterilizadas e mantidas por 48 h sob temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C) para secagem (ABDOLLAHI et al., 2012; PENG et al., 2013). A escolha das concentrações de QUI, OEMP e OEMV utilizadas para a formulação dos revestimentos submetidos às análises de

caracterização se deu com base nos melhores resultados obtidos nos ensaios antifúngicos *in vitro* e de inibição do desenvolvimento de lesões de antracnose em mamão.

3.8.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

Os espectros foram obtidos em um intervalo de comprimento de onda de 400 e 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 e 64 varreduras usando equipamento FTIR Shimadzu (Modelo Prestige-21 IR Affinity-1 FTIR 8400S, Kyoto, Japão) (GUO et al., 2019).

3.8.2 Calorimetria diferencial exploratória (DSC)

As análises de DSC foram realizadas com um analisador térmico (DSC-60 Plus, Shimadzu). Amostras dos revestimentos de aproximadamente 3 a 5 mg foram dispostas em cadinho de alumínio hermeticamente fechado, o qual foi submetido a taxa de aquecimento e resfriamento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e fluxo de gás de 50 mL/min em atmosfera de argônio inerte. As análises foram realizadas em duas rampas de aquecimento, partindo da temperatura ambiente até 300 $^{\circ}\text{C}$, seguidas por rampa de resfriamento (VELO et al., 2019).

3.8.3 Análise termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica dos revestimentos foi avaliada por termogravimetria usando analisador termogravimétrico (DTG-60H, Shimadzu) com programa de temperatura de 25-500 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e vazão de 50 mL/min em atmosfera de nitrogênio (MENDES et al., 2015)

3.8.4 Análise da rugosidade da superfície

A análise da rugosidade da superfície dos revestimentos foi realizada com perfilômetro óptico 3D sem contato (Talysurf CCI MP, Leicester, Reino Unido) conectado a uma unidade computadorizada. Foi utilizado um ponto de corte para os revestimentos de 8 μm com lente de 50x, abertura numérica de 0,4 e velocidade de varredura de 1x no modo XY (0,3 μm x 0,3 μm). Foram realizadas cinco medidas para cada amostra, sendo uma na área central e duas de acordo com o movimento da lente (2 mm para a direita, esquerda, abaixo e acima), seguindo um

desenho cruzado. A rugosidade final dos padrões Ra e Sz (μm), indicando rugosidade média e altura, respectivamente, foi obtida pela média de cinco pontos das amostras dos revestimentos (SOARES et al., 2019). Também foram analisados os parâmetros de rugosidade da superfície de mamão não revestido, bem como quando revestido com QUI, QUI + OEMV e QUI + OEMP (SOARES et al., 2019).

3.9 Efeitos da aplicação dos revestimentos de quitosana e óleo essencial de *M. piperita* L. ou *M. x villosa* Huds sobre parâmetros de qualidade de mamão

Para avaliação dos parâmetros gerais de qualidade (físico, físico-químicas e sensoriais), os mamões foram revestidos com as dispersões de Chi (5 g/L) + MVEO (0,6 e 1,2 mL/L) e QUI (5 g/L) + MPEO (0,6 e 1,2 mL/L) que apresentaram os melhores resultados nos ensaios antifúngicos *in vitro* e de inibição do desenvolvimento de lesões de antracnose em mamão. Após a aplicação dos revestimentos, os frutos (revestidos e não revestidos) foram armazenados a 12 ± 1 °C e em diferentes intervalos de tempo (0, 10 e 20 dias) foram analisados quanto aos aspectos físicos, físico-químicos e sensoriais, os quais são descritos a seguir.

3.9.1 Determinação das características físicas e físico-químicas

Perda de peso: determinada por meio da diferença obtida entre a pesagem inicial dos frutos e a pesagem a cada período de armazenamento, sendo os valores expressos em porcentagem de perda de peso (ALI, HEI, KEAT, 2016).

Cor: As medidas de cor foram tomadas a partir de quatro pontos equidistantes da casca e polpa após a remoção da epiderme. Estas medições foram realizadas usando-se um colorímetro portátil Konica Minolta CR400 (Osaka, Japão) após a calibração com uma placa de porcelana (CR-A43) (HAMZAH et al., 2013). Utilizou-se o sistema CIELab: L* (0: escuro, 100: branco), a* (valor negativo: verde, valor positivo: vermelho) e b* (valor negativo: azul, valor positivo: amarelo) de acordo a Comissão Internacional de Iluminação (CIE, 1986). O cálculo do ângulo Hue (°Hue) e croma (C) foi realizado por meio das seguintes equações (LIU et al., 2010): $^{\circ}\text{Hue} = \arctan(b^*/a^*)$ e $C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ (WILLS; WIDJANARKO, 1995)

Firmeza: A firmeza dos frutos foi medida com uso de analisador de textura TA-XTplus (Stable Micro Systems Ltd., Inglaterra) contendo probe cilíndrico de aço inoxidável de 8 mm de diâmetro no modo de compressão com velocidade de pré-teste, teste e pós-teste de 0,5, 10 e 10 mm/s, respectivamente, e distância de 15 mm (FAÇANHA et al., 2019; LIU et al., 2013;

WAGHMARE; ANNAPURE, 2013). Para obter boa estimativa da firmeza global, as medições foram realizadas na posição superior, média e inferior de ambos os lados dos frutos (JHA et al., 2010). Cada valor de firmeza relatado representou a média de seis medidas individuais tomadas nos pontos equidistantes, sendo os resultados expressos como força em Newton (N).

pH: O pH foi determinado por meio de leitura direta em pHmetro digital a partir de filtrado da polpa triturada (AOAC, 2016).

Sólidos solúveis (SS): Amostras de cinco gramas dos frutos trituradas com processador doméstico (Philips Walita, São Paulo, Brasil) foram analisadas utilizando refratômetro digital Modelo digital Brix/RI Chek (Reichert Analytical Instruments, Nova Iorque, EUA), sendo os resultados expressos como °Brix (GUERRA et al., 2016).

Acidez titulável (TA): Foi determinada em 10 mL da polpa homogeneizada por meio de titulometria com NaOH 0,1 M na presença de fenolftaleína como indicador de modificação de pH. O cálculo foi realizado a partir da fórmula: $TA (\%) = (C \times V2 \times K / V1) \times (V0 / P) \times 100$, onde C é a concentração padronizada de NaOH (0,1 M), P é o peso total da amostra (g), V2 é o volume de NaOH utilizado (mL), V1 é o volume de amostra utilizado (mL), V0 é o volume total de amostra (mL) e K é o fator de conversão de ácido. O resultado foi expresso em gramas de ácido cítrico por 100 g de amostra de fruta (LIU et al., 2013; Cissé et al., 2015).

3.9.2 Determinação de açúcares e ácidos orgânicos

Extratos aquosos dos frutos foram utilizados para quantificar açúcares (glicose, sacarose e frutose) e ácidos orgânicos (acético, cítrico, láctico, málico, succínico e tartárico). Para obtenção desses extratos, uma amostra de 2 g das polpas dos mamões revestidos e não revestidos foram homogeneizadas em 10 mL de água ultra-pura por 10 minutos usando mini-Turrax, centrifugadas (4000 x g, 15 minutos, 4 °C) e filtradas com uso de filtro 45-µm Millex-HÁ (Millipore Co., Bedford, MA) (BARRETO et al., 2016).

O conteúdo de açúcares e ácidos orgânicos dos extratos solúveis foram determinados usando cromatógrafo líquido de alta eficiência (Varian, Waters, Califórnia, EUA) equipado com sistema de solvente binário, válvula "Rheodyne" com alça de 20 µL, acoplado a detector de índice de refração (Varian 330, Waters, Califórnia, EUA) em comprimento de onda de 220-275 nm e sistema de bombeamento com ajuste de gradiente de alta pressão (Varian 230). Os dados foram processados utilizando software GALAXIE Chromatography Data System. A separação de açúcares e ácidos orgânicos foi realizada em coluna Agilent Hi-Plex Ca (7,7 x 300 mm, 8 µm) a temperatura de 65 °C, com água ultra-pura como fase móvel em fluxo de 0,6

mL/minuto para açúcares e ácido sulfúrico (0,009 M) como fase móvel em fluxo de 0,7 mL/minuto para ácidos orgânicos. A quantificação foi realizada por meio da equação construída a partir da injeção de padrões de açúcares e ácidos orgânicos (Sigma Aldrich Corp) e expressa em g/100 g de polpa de fruta (BARRETO et al., 2016).

3.9.3 Determinação da atividade enzimática

A atividade da polifenoloxidase e peroxidase foi avaliada a partir de extrato preparado com a polpa do mamão triturada em processador doméstico. Para isso, 10 g da polpa foram homogeneizados com 10 mL de tampão fosfato 0,02 M (pH 6,5) e polivinil polipirrolidona a 4% (PVPP) por 2 minutos utilizando Vortex (Tecnal, São Paulo, Brasil), deixando descansar por 1 hora ($4 \pm 0,5$ °C), seguido por centrifugação (9000 x g, 20 minutos, 4 °C). O sobrenadante obtido foi utilizado como extrato enzimático para a medição da atividade da polifenoloxidase e peroxidase (LIU et al., 2007; ONG et al., 2014).

3.9.3.1 Atividade da polifenoloxidase (PPO)

Para determinação da atividade da PPO utilizou-se uma mistura de 0,5 mL de extrato enzimático com 2,5 mL de catecol 0,07 M em solução tampão fosfato de sódio 0,02 M (pH 6,5), que foi mantida a 30 ± 1 °C por 20 segundos antes das medições de absorvância a 420 nm (A420) com uso de espectrofotômetro (Bel Engineering, Monza, Itália). Uma unidade de PPO foi definida como um aumento de 0,01 em A420 por minuto por grama de amostra (U/min/g) (LIU et al., 2013; NDIAYE et al., 2009).

3.9.3.2 Atividade da peroxidase (POD)

A atividade de POD foi determinada a partir de uma mistura de 0,1 mL de extrato enzimático com 3 mL de guaiacol a 1% (v/v) dissolvido em tampão fosfato 0,02 M (pH 6,5) + 0,2 mL de H₂O₂ a 1,5% (p/v, dissolvido em água destilada) e mantida a 30 ± 1 °C por 20 segundos antes das medições de absorvância a 470 nm (A470). Uma unidade de POD foi definida como um aumento de 0,01 em A470 por minuto por grama de amostra (U/min/g) (LIU et al., 2013).

3.9.3.3 Atividade de pectinametilesterase (PME)

A extração de PME foi realizada com uma mistura de tampão Tris-6 M HCl 0,02 M (pH 7,5) e NaCl 0,01 M. A proporção de tampão (mL) para amostra do fruto (g; casca e polpa) foi de 2:1. A solução do ensaio foi deixada em repouso por 12 horas ($4 \pm 0,5$ °C), centrifugada ($9000 \times g$, 4 °C, 15 minutos) e o sobrenadante foi coletado como extrato enzimático. O princípio da reação consistiu em remover os grupos metoxila específicos localizados em C6 de alguns grupos galacturonil da PME. A atividade da PME foi medida através de um pHmetro digital, por titulação de grupos carboxila liberados da pectina (Quimis, São Paulo, Brasil). Extratos de PME (5 mL) foram misturados com 60 mL de pectina a 1% (p/v, pH = 7,5) + NaCl 0,01 M. A titulação foi realizada com NaOH 0,05 M para atingir pH constante de 7,5 durante 10 minutos (30 ± 1 °C). Uma unidade de atividade da PME foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação da pectina correspondente ao consumo de 1 mmol de NaOH por minuto. Os resultados foram expressos em mmol/L (JEN; ROBINSON, 1984).

3.9.4 Avaliação sensorial

As análises sensoriais foram realizadas após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde/UFPB (Parecer número: 3.218.936) (ANEXO A).

Os parâmetros sensoriais do mamão revestido e não revestido foram avaliadas por 60 indivíduos não treinados (Estudantes e servidores da UFPB, do sexo masculino e feminino, maiores de 18 anos) em dois intervalos de tempo de armazenamento (5 e 10 dias), os quais responderam aos testes de aceitação e intenção de compra (ANEXO C). Para avaliação da aceitação, quanto aos parâmetros de aparência, cor, sabor, firmeza, sabor residual e avaliação global utilizou-se uma escala hedônica estruturada de nove pontos ancorados em 1 (desgostei muitíssimo), 5 (nem gostei/ nem desgostei) e 9 (gostei muitíssimo). A intenção de compra foi avaliada utilizando uma escala hedônica estruturada de cinco pontos ancorados em 1 (certamente não compraria), 3 (talvez comprasse/talvez não comprasse) e cinco (certamente compraria). As análises foram realizadas sob condições de temperatura ($25 \pm 0,5$ °C) e iluminação controladas em cabines individuais. Cada participante do painel recebeu uma porção de fruta (dois cubos com aproximadamente 3,5 cm de borda) de mamão não revestido e revestido, imediatamente após a retirada do armazenamento a frio ($12 \pm 0,5$ °C), servido em pratos descartáveis brancos, codificadas com número de três dígitos aleatórios, acompanhados

de biscoito água e sal e água mineral para serem utilizados entre as amostras de modo a limpar o paladar (SANTOS et al., 2012).

3.10 Análises estatísticas

A avaliação dos efeitos sobre o crescimento micelial dos fungos, bem como as características físico-químicas dos frutos revestidos e não-revestidos foram executadas em triplicata em dois experimentos independentes. As análises do desenvolvimento das lesões de antracnose nos frutos foram realizadas em delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por três repetições para cada grupo experimental (tratamentos) e seis frutos por repetição, em três experimentos independentes. Todos os resultados foram expressos como os valores médios dos dados obtidos em cada réplica. Inicialmente, os dados foram avaliados por meio de análise descritiva (média e desvio padrão) para obter a ordem de descrição das variáveis. Posteriormente, foram efetuadas análises inferenciais (teste *t de Student* ou ANOVA seguida do teste post hoc de Tukey) para verificar a ocorrência de diferenças ($p \leq 0,05$) entre os resultados obtidos. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software computacional Sigma Stat 3.5 (Jandel Scientific Software, San Jose, CA, EUA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme as normas estipuladas pelo colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição/CCS/UFPB, a seção de Resultados e Discussão dessa tese será apresentada na forma de dois artigos originais, presentes no apêndice A e B, os quais estão formatados de acordo com as revistas de publicação ou submissão.

O artigo apresentado no Apêndice A intitulado “**Application of coatings formed by chitosan and *Mentha* essential oils to control antracnose caused by *Colletotrichum gloesporioides* and *C. brevisporum* in papaya (*Carica papaya* L.)**” aborda a eficácia de revestimentos comestíveis formulados com QUI e OEMP ou OEMV no controle do desenvolvimento de lesões de antracnose em mamão papaya artificialmente contaminados com diferentes isolados de *C. gloesporioides* e *C. brevisporum*. Os resultados apresentados nesse artigo mostraram que combinações de QUI e MPEO ou MVEO foram capazes de inibir o crescimento de isolados de *C. gloesporioides* e *C. brevisporum* em meio laboratorial, com o estabelecimento de interações do tipo aditiva ou sinérgica para inibição desses isolados. Ainda, combinações selecionadas de QUI e MPEO ou MVEO foram eficazes em retardar o desenvolvimento de lesões de antracnose em mamões artificialmente contaminados com diferentes isolados de *C. gloesporioides* e *C. brevisporum* durante o armazenamento. Este artigo foi publicado no *International Journal of Biological Macromolecules* (doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.010).

O artigo apresentado no Apêndice B, intitulado “**Characterization of coatings formulated with chitosan and *Mentha* essential oils and their use to preserve postharvest quality of papaya (*Carica papaya* L.)**”, aborda sobre as características físico-químicas e de superfície dos dos revestimentos formulados com QUI e OEMP e OEMV, os quais mostraram os melhores resultados nos ensaios de controle do desenvolvimento das lesões de antracnose em mamão papaya, bem como os seus efeitos sobre parâmetros físico-químicos e sensoriais indicadores de qualidade pós-colheita de mamão. Os resultados revelaram possível interação entre os constituintes dos revestimentos possibilitando a formação de barreira física sobre os frutos, bem como que a adição do OEMP ou OEMV não interferiu de forma negativa na estabilidade térmica desses revestimentos. Os frutos revestidos com os revestimentos formulados com QUI e OEMP ou OEMV apresentaram atraso na evolução dos valores de parâmetros físico-químicos relacionados ao amadurecimento, tais como firmeza, perda de peso e cor, bem como não apresentaram alteração nos seus parâmetros sensoriais ao longo do

armazenamento. Este artigo foi publicado no periódico *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102472>).

De forma geral, os resultados obtidos nesses estudos mostraram que revestimentos formulados com combinações aditivas ou sinérgicas de QUI e OEMP ou OEMV frente isolados de *C. gloesporioides* e *C. brevisporum* apresentam-se como estratégias alternativas para o controle do desenvolvimento de antracnose em mamão papaya, bem como para manter ou melhorar parâmetros relacionados a qualidade pós-colheita desses frutos, resultando em período de armazenamento mais prolongado.

REFERÊNCIAS

ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M., AND FARZI, G. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, p. 847-853, 2012.

AGROFIT Sistema Agrifit - Sistema de Agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/primeira_pagina/extranet/AGROFIT.html. Acessado em 22 jul. 2020.

AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. **LWT – Food Science and Technology**, v.43, p. 837-842, 2010.

AIT-OUAZZOU, A.; LORÁN, S.; ARAKRAK, A.; LAGLAOUI, A.; ROTA, C.; HERRERA, A. Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea* and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. **Food Research International**, v. 45, p. 313-319, 2012.

AJAY KUMAR, G. *Colletotrichum gloeosporioides*: biology, pathogenicity and management in India. **Journal of Plant Physiology and Pathology**, v.2, n.2, 2014.

AKYUZ, L.; KAYA, M.; KOC, B.; MUJTABA, M.; ILK, S.; LABIDI, J.; SALABERRIA, A. M.; CAKMAK, S.; YILDIZ, A. Diatomite as a novel composite ingredient for chitosan film with enhanced physicochemical properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.105, p. 1401-1411, 2017.

ALI, A.; MUHAMMAD, M.T.M.; SIJAM, K.; SIDDIQUI, Y.; Potential of chitosan coating in delaying the postharvest anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) of Eksotika II papaya. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 2134-2140, 2010.

ALI, A.; NOH, N. M.; MUSTAFA, M. A. Antimicrobial activity of chitosan enriched with lemongrass oil against anthracnose of bell pepper. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 3, p. 56-61, 2015.

ALI, A.; HEI, G.K.; KEAT, Y.W. Efficacy of ginger oil and extract combined with gum arabic on anthracnose and quality of papaya fruit during cold storage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p.1435-1444, 2016.

ALMEIDA, E.T.C., BARBOSA, I.M., TAVARES, J.F., BARBOSA-FILHO, J.M., MAGNANI, M., DE SOUZA, E.L. Inactivation of spoilage yeasts by *Mentha spicata* L. and *M. x villosa* Huds. essential oils in cashew, guava, mango, and pineapple juices. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.

ALOUI, H.; HWALDIA, K.; LICCIARDELLO, F.; MAZZAGLIA, A.; MURATORE, G.; HA, M. Efficacy of the combined application of chitosan and Locust Bean Gum with different citrus essential oils to control post harvest spoilage caused by *Aspergillus flavus* in dates. **International Journal of Food Microbiology**, v. 170, p. 21-28, 2014.

ALVES K.F.; LARANJEIRA, D.; CÂMARA, M.P.S.; CÂMARA, C.A.G.; MICHEREFF, S.J. Efficacy of plant extracts for anthracnose control in bell pepper fruits under controlled conditions. **Horticultura Brasileira**, v. 33, p. 332-338, 2015.

AMIRI, A.; DUGAS, R.; PICHOT, A. L.; BOMPEIX, G. In vitro and in vitro activity of eugenol oil (*Eugenia caryophyllata*) against four important postharvest apple pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, v. 126, p. 13-19, 2008.

ANDRADE, V. S.; NETO, B. B.; FUKUSHIMA, K.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Effect of medium components and time of cultivation on chitin production by *Mucor circinelloides* (*Mucor javanicus* IFO 4570) – A factorial study. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 20, p.149-153, 2003.

APAIL, W.; SARSDUD, V.; BOONPRASOM, P. et al. Effects of chitosan and citric acid on pericarp browning and polyphenol oxidase activity of longan fruit. Songklanakarin. **Journal of Science and Technology**, v.31, n.6, p.621-628, 2009.

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

ARRUDA, T. A.; ANTUNES, R. M. P.; CATÃO, R. M. R.; LIMA, E. O.; SOUSA, D. P.; NUNES, X. P.; PEREIRA, M. S. V.; BARBOSA-FILHO, J. M.; CUNHA, E.V.L. Preliminary study of the antimicrobial activity of *Mentha x villosa* Hudson essential oil, rotundifolone and its analogues. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 307-311, 2006.

ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. Revestimentos Comestíveis Protetores em Frutos Minimamente Processados. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 160, p. 99-106, 2008.

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

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, Official methods of analysis of A.O.A.C. International, 20^o ed. 2016.

ATARES, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 51-62, 2016.

AYÓN-REYNA, L. E.; GONZÁLEZ-ROBLES, A.; RENDÓN-MALDONADO, J. G.; BÁEZ-FLORES, M. E.; LÓPEZ-LÓPEZ, M. E.; VEGA-GARCÍA, M. O. Application of a hydrothermal-calcium chloride treatment to inhibit postharvest anthracnose development in papaya. **Postharvest Biology and Technology**, v. 124, p. 85-90, 2017.

AYÓN-REYNA, L. E.; DELGDO-VARGAS, F.; SOLTERO-SÁNCHEZ, C. A.; LÓPEZ-ÂNGULO, G.; LÓPEZ-LÓPEZ, M. E.; LÓPEZ-VELAZQUEZ, G.; PARRA-UNDA, J. R.; VEJA-GARCIA, M. O. Bioactive compounds and antioxidant activity of papaya inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides* as affected by hot water–calcium chloride. **Journal of Food Biochemistry**, v. 42, p. 1-10, 2018.

AZEREDO, H. M. C. Películas comestíveis em frutas conservadas por métodos combinados: potencial da aplicação. **Boletim do CEPPA**, v. 21, 2003.

AZERÊDO, G. A.; STAMFORD, T. L. M.; DE FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; DE SOUZA, E. L. The cytotoxic effect of essential oils from *Origanum vulgare* L. and/or *Rosmarinus officinalis* L. on *Aeromonas hydrophila*. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 9, p. 298-304, 2012.

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

BADUI, S. D.; Química de los Alimentos. 5 ed. México: Pearson Educacion, 2013.

BAJWA, U.; SANDHU, K.S. Effect of handling and processing on pesticide residues in food- a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 2, p. 201-220, 2014.

BAKKALI, F. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p.446-475, 2008.

BARBIERI, M. G.; ADAMI, A. C. O.; BOTEON, M.; MARCOMINI, L. R. S. Performance Analysis of Brazilian papaya exports. **Brazilian Journal of Development**, 2019.

BARRAGÁN-IGLESIAS, J.; MÉNDEZ-LAGUNAS, L. L.; RODRÍGUEZ-RAMÍRE, J. Ripeness indexes and physicochemical changes of papaya (*Carica papaya* L. cv. Maradol) during ripening on-tree. **Scientia Horticulturae**, v. 236, p. 272-278, 2018.

BARRETO, T.A.; ANDRADE, S.C.A.; MACIEL, J.F.; OLIVEIRA, N.M.; MADRUGA, M.S.; MEIRELES, B.; CORDEIRO, A.; SOUZA, E.L.; MAGNANI, M. A chitosan coating containing essential oil from *Origanum vulgare* L. to control postharvest mold infections and keep the quality of cherry tomato fruit. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 17-24, 2016.

BASSETTO, E.; JACOMINO, A.P.; PINHEIRO, A.L.; KLUGE, R.A. Delay of ripening of 'Pedro Sato' guava with 1- methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, n. 3, p. 303-308, 2005.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; LOPES, M. H.; MOLINA, E. B. WILSON, C. L. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v.22, p. 1087-1092, 2003.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNANDEZ-LAUZARDO, A.N.; VELAZQUEZ DEL VALLE, M.G.; HERNANDEZ- LOPEZ, M.; AIT BARKA, E.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Chitosan as a potential natural compound to control pre- and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, v. 25, p. 108-118, 2006.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; SIVAKUMAR, D.; BELLO-PÉREZ, A.; VILLANUEVA-ARCE, R.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; A review of the management alternatives for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain. **Crop Protection**, v. 49, p. 8-20, 2013.

BERGER, L.R.R.; STAMFORD, T.C.M., Stamford, N. P. Perspectivas para o uso da quitosana na agricultura. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 12, n. 4, 2011.

BERGER, L.R.R.; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD-ARNAUD, T.M.; DE OLIVEIRA FRANCO, L.; DO NASCIMENTO, A.E.; CAVALCANTE, H.M.M.; MACEDO, R.O.; DE CAMPOS-TAKAKI, G.M. Effect of Corn Steep Liquor (CSL) and Cassava Wastewater (CW) on Chitin and Chitosan Production by *Cunninghamella elegans* and Their Physicochemical Characteristics and Cytotoxicity. **Molecules**, v. 19, p. 2771-2792, 2014.

BEYKI, M.; ZHAVEH, S.; KHALILI, S. T.; RAHMANI-CHERATI, T.; ABOLLAHI, A.; BAYAT, M.; TABATABAEI, M.; MOHSENIFAR, A. Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan-cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p. 310-319, 2014.

BOSQUEZ-MOLINA, E.; RONQUILLO-DE JESÚS, E.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VERDE-CALVO, R.; MORALES-LÓPEZ, J. Evaluation of the inhibitory effect of essential oils against two papaya fungal diseases, and their possible application in coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 57, p.132-137, 2010.

BOTELHO, R. V.; MAIA, A. J.; RICKLI, E. H.; LEITE, C. D.; FARIA, C. M. D. R. Quitosana no controle de *Penicillium* sp na pós-colheita de maçãs. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, n.2, p.200-206, 2010.

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

CABRAL, L. C.; PINTO, V. F.; PATRIARCA, A. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, p. 1-14, 2013.

CAMILETTI, B.X.; ASENSIO, C.M.; PECCI, M.D.L.P.G.; LUCINI, E.I. Natural control of corn postharvest fungi *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. using essential oils from plants grown in Argentina. **Journal of Food Science**, v. 79, p. M2499-M2506, 2014.

CAMILETTI, B.X.; ANSENSIO, C.M.; GADBAN, L.C.; PECCI, M.P.G.; CONLES, M.Y.; LUCINI, E.I. Essential oils and their combinations with iprodione fungicide as potential antifungal agents against with the rot (*Sclerotium cepivorum* Berk) in garlic (*Allium sativum* L.) crops. **Industrial Crops and Products**, v. 85, p. 117-124, 2016.

CARNELOSSI, P.R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 11, p. 399-406, 2009.

CHÁVEZ-SÁNCHEZ, I., CARRILLO-LÓPEZ, A., VEGA-GARCÍA, M., YAHIA, E.M. The effect of antifungal hot-water treatments on papaya postharvest quality and activity of pectinmethylesterase and polygalacturonase. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, p. 101-107, 2013.

- CISSE, M.; POLIDORI, J.; MONTET, D.; LOISEAU, G.; DUCAMP-COLLIN, M.N. Preservation of mango quality by using functional chitosan-lactoperoxidase systems coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 101, p. 10-14, 2015.
- CHEN, J.; ZOU, X.; LIU, Q.; WANG, F.; FENG, W.; ANDWAN, N. Combination effect of chitosan and methyl jasmonate on controlling *Alternaria alternata* and enhancing of cherry tomato fruits defense mechanisms. **Crop Protection**, v. 56, p. 31-36, 2014.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças**. Editora UFLA, Lavras, 2005, 783p.
- CHUTICHUDET, B.; CHUTICHUDET, P. Effects of chitosan or calcium chloride on external postharvest qualities and shelf-life of 'Holland' papaya fruit. **Journal of Agricultural Science**, v. 6, n. 11, p.160, 2014.
- CORDEIRO DE AZEREDO, H. M. Edible coatings. In S. Rodrigues, & F. A. N. Fernandes (Eds.). *Advances in fruit processing technologies* (pp. 345–361). Boca Raton: CRC Press Inc.2012.
- COSTA, A.V., DE OLIVEIRA, M.V.L., PINTO, R.T., MOREIRA, L. C., GOMES, E.M.C., ALVES, T.A., PINHEIRO, P.F., QUEIROZ, V.T., VIEIRA, L.F.A., TEIXEIRA, R.R., JÚNIOR, W.C.J. Synthesis of novel glycerol-derived 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities. **Molecules**, v. 22, p. 1-15, 2017.
- COX, S. D.; MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. Determining the antimicrobial actions of the tree oil. **Molecules**, v. 6, p. 87-91, 2001.
- CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M. LEWIS, N.G. Natural Products (Secondary Metabolites) Chapter 24 - In- *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, Eds. © 2000, **American Society of Plant Physiologists**, p. 1250-1318, 2000.
- DE OLIVEIRA JÚNIOR, E. N.; SOARES DE MELO, I.; TEXEIRA FRANCO, T. Changes in hyphal morphology due to chitosan treatment in some fungal species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, p. 637-646, 2012.
- DE OLIVEIRA, C. E. V.; MAGNANI, M.; DE SALES, C. V.; PONTES, A. L. D.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; STAMFORD, T. C. M.; DE SOUZA, E. L. 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. 171, p. 54-61, 2014.
- DE OLIVEIRA, K.A.R.; BERGER, L.R.R.; DE ARAÚJO, S.A.; CÂMARA, M.P.S.; DE SOUZA, E.L. 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.
- DE SOUZA, E. L.; SALES, C. V.; OLIVEIRA, C. V.; LOPES, L. A.; CONCEIÇÃO, M. L.; BERGER, L. R. R.; STAMFORD, T. M. Efficacy of a coating composed of chitosan from *Mucor circinelloides* and carvacrol to control *Aspergillus flavus* and the quality of cherry tomato fruits. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 732, 2015.

DE SOUSA BARROS A.; MORAIS, S. M.; FERREIRA, P. A. T.; VIEIRA, I. G.P.; CRAVEIRO, A. A.; FONTENELLE, R. O.S.; MENEZES, E. S. A.; SILVA, F. W. F.; DE SOUSA, H. A. Chemical composition and functional properties of essential oils from *Mentha* species. **Industrial Crops and Products**, v. 76 p. 557–564, 2015.

DE SOUZA, E. L. The effects of sublethal doses of essential oils and their constituents on antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance among food-related bacteria: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 56, p. 1-12, 2016.

DE SOUSA GUEDES, J. P.; DA COSTA MEDEIROS, J. A.; DE SOUZA SILVA, E. R. S.; DE SOUSA, J. M.; DA CONCEIÇÃO, M. L.; DE SOUZA, E. L. The efficacy of *Mentha arvensis* L. and *M. piperita* L. essential oils in reducing pathogenic bacteria and maintaining quality characteristics in cashew, guava, mango, and pineapple juices. **International Journal of Food Microbiology**, v. 238, p. 183-192, 2016.

DESCHAMPS, C.; MONTEIRO R.; MACHADO, M.P.; SCHEER, A.P.; LÍLIAN COCCO, L.; YAMAMOTO, C. Avaliação de genótipos de *Mentha arvensis*, *Mentha x piperita* e *Mentha spp.* para a produção de mentol. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n.2, p. 178-183. 2013.

DERMARTELAERE, A.C.F.; GUIMARÃES, G.H.C.; SILVA, J.A.; LUNA, R.G.; NASCIMENTO, C.L. Extratos vegetais no controle da antracnose e na conservação da qualidade em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.4, p.1041-1048, 2015.

E. Derwich, Z. Benziene, R. Taouil, O. Senhaji, and M. Touzani, “Aromatic plants of morocco: GC/MS analysis of the essential oils of leaves of *Mentha piperita*,” *Advances in Environmental Biology*, vol. 4, no. 1, pp. 80–85, 2010.

DIAS, G.O.C., MOREL, A. F., ILHA, V. **Isolamento e identificação do principal constituinte químico do óleo essencial de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds e suas possíveis aplicações.** 63ª. Reunião da SBPC. Goiânia-GO. 2011. Resumo.

DOMARD, A. A perspective on 30 years research on chitin and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 696-703, 2011.

DOS SANTOS, N. S. T.; ATHAYDE AGUIAR, A. J. A.; DE OLIVEIRA, C. E. V.; VERÍSSIMO DE SALES, C.; DE MELO, E.; SILVA, S.; Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.). **Food Microbiology**, v. 32, n. 2, p. 345-353, 2012.

EL ASBAHANI, A.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; AÏT ADDI, E.H.; CASABIANCA, H.; EL MOUSADIK, A.; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F.N.; ELAISSARI, A. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, p. 220-243, 2015.

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

ELSABEE, M. Z.; MORSI, R. E.; FATHY, M. Chitosan-Oregano Essential Oil Blends Use as Antimicrobial Packaging Material Antimicrobial. **Food Packaging**, p. 539-551, 2016.

ESCAMILLA-GARCÍA, M., RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, M.J., HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, H.M., DELGADO-SÁNCHEZ, L.F., GARCÍA-ALMENDÁREZ, B.E., AMARO-REYES, A., AND REGALADO-GONZÁLEZ, C. Effect of an edible coating based on chitosan and oxidized starch on shelf life of *Carica papaya* L. and its physicochemical and antimicrobial properties. **Coatings**, v. 8, p. 318, 2018.

FABI, J. P.; PERONI, F. H. G.; GOMEZ, M. L. P. A. Papaya, mango and guava fruit metabolism during ripening: postharvest changes affecting tropical fruit nutritional content and quality. **Fresh Produce**, v. 1, p. 56-66, 2010.

FAÇANHA, R. V.; SPRICIGOA, P. C.; PURGATTOB, A. P. J. Combined application of ethylene and 1-methylcyclopropene on ripening and volatile compound production of 'Golden' papaya. **Postharvest Biology and Technology**, v. 151, p. 160-169, 2019.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMÉNEZ, A.; MUÑOZ, J. A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 292-303, 2011.

FERRARI-ROCKENBACH, M.; ITAMAR BONETI, J.; CANGAHUALA-INOCENTE, G.C.; ANDRADE GAVIOLI-NASCIMENTO, M.C.; GUERRA, M.P. Histological and proteomics analysis of apple defense responses to the development of *Colletotrichum gloeosporioides* on leaves. **Physiology Molecular Plant Pathology**, v. 89, p. 97-107, 2015.

Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division (FAOSTAT), 2018. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (Accessed 07.06.20).

FONSECA, S. F.; RODRIGUES, R. S. Utilização de embalagens comestíveis na indústria de alimentos. Trabalho Acadêmico. Universidade Federal de Pelotas, 34 p. 2009.

FREIRE, M. M.; JHAM, G. N.; DHINGRA, O. D.; JARDIM, C. M.; BARCELOS, R. C.; VALENTE, V. M. N. Composition, antifungal activity and main fungitoxic components of the essential oil *Mentha piperita* L. **Journal of Food Safety**, v. 32, p. 29-36, 2012.

FREITAS, R.C.; AZEVEDO R.R.S.; SOUZA, L. I.O.; ROCHA, I.J.M.; SANTOS, A.F. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante das espécies *Plectranthus amboinicus* (Lour.) e *Mentha x villosa* (Huds.). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, p. 13-118, 2014.

GALUS S.; KADZINSKA, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, p. 273-283, 2015.

GAYET, J. P.; BLEINROTH, E. W.; MATALLO, M.; GARCIA, E. E. C.; GARCIA, A. E.; ARDITO, E. F. G.; BORDIN, M. R. **Mamão para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**. Brasília: FRUPEX, Embrapa-SPI, 1995. 38p.

GEROMINI, K. V. N.; RORATTO, F. B.; FERREIRA, F. G.; POLIDO, P. B. S.; SOUZA, G. H.; VALLE, J. S.; COLAUTO, N. B. G.; LINDE, A. Atividade antimicrobiana de óleos

essenciais de plantas medicinais. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 15, n. 2, 2012.

GOMES-MORAES, S. R.; ASAMA TANAKA, F. A.; MASSOLA JÚNIOR, N.S. Histopathology of *Colletotrichum gloeosporioides* on guava fruits (*Psidium guajava* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 35, n. 2, p. 657-664, 2013.

GONÇALVES, C. X.; TIECHER, A.; CHAVES, F. C.; NORA, L.; ZHENGGUO, L.; LATCHÉ, A.; PECH, J. C.; ROMBALDI, C. V. Putative role of cytokinin in differential ethylene response of two lines of antisense ACC oxidase cantaloupe melons. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.86, p.511-519, 2013.

GRANDE-TOVAR, C.; CHAVES-LÓPEZ, C.; VIUDA-MARTOS, M.; SERIO, A.; DELGADO, J.; PEREZ-ALVAREZ, J. A. Sublethal concentrations of Colombian *Austro eupatorium inulifolium* (H.B.K.) essential oil and their effects on fungal growth and production of enzymes. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 315-323, 2016.

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

GUERRA, I. C. D.; OLIVEIRA, P. D. L.; PONTES, A. L. S.; LÚCIO, A. S. S. C.; TAVARES, J. F., BARBOSA-FILHO, J. M., Coatings comprising chitosan and *Mentha piperita* L. or *Mentha × 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.; OLIVEIRA, P.D.L.; FERNANDES, M.M.S.; LÚCIO, A.S.S.C.; TAVARES, J.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; MADRUGA, M.S.; SOUZA, E.L. 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.

GOMES NETO, N. J.; MAGNANI, M.; CHUECA, B.; GONZALO GARCIA, D.; PAGAN, R.; SOUZA, E. L. Influence of general stress-response alternative sigma factors sS (RpoS) and sB (SigB) on bacterial tolerance to the essential oils from *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. and pulsed electric fields. **International Journal of Food Microbiology**, v. 211, p.32-37, 2015.

GUO, Y., CHEN, X., YANG, F., WANG, T., NI, M., CHEN, Y., YANG, F., HUANG, D., FU, C., AND WANG, S. Preparation and characterization of chitosan-based ternary blend edible films with efficient antimicrobial activities for food packaging applications. **Journal of Food Science**, v. 84, 2019.

GUSTAFSON, J. E.; LIEW, Y. C.; CHEW, S.; MARKHAM, J. L.; BELL, H. C.; WYLLIE, S. G. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. **Letters in Microbiology**, v. 26, p. 194-199, 1998.

HAMBLETON, A., PERPIÑAN-SAIZ, N., FABRA, M. J., VOILLEY, A., & DEBEAUFORT, F. The Schroeder paradox or how the state of water affects the moisture transfer through edible films. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1671-1678, 2012.

HAMZAH, H. M.; OSMAN, A.; TAN, C. P.; GAZALI, F. M. Carrageenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika). **Postharvest Biology and Technology**, v. 75, p. 142-146, 2013.

HAN, J. H., & GENNADIOS, A. Edible films and coatings: A review. In J. H. Han (Ed.). **Innovations in food packaging**, p. 138-156, 2005.

HASSAN, B.; CHATHA, S. A. S.; HUSSAIN, A. I.; ZIA, K. M.; AKHTAR, N. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 1095-1107, 2018.

HASSAN, M.A.; OMER, A.M.; ABBAS E.; BASET, W.M.A.; TAMER, T.M. Preparation, physicochemical characterization and antimicrobial activities of novel two phenolic chitosan Schiff base derivatives. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 11416, 2018.

HOSSAIN, F.; FOLLET, P.; VU, K. D.; HARICH, M.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food. **Food Microbiology**, v. 53, p. 24-30, 2016.

HUSSAIN, A.I.; ANWAR, F.; NIGAM, P.S.; ASHRAFD, M.; GILANIF, A.H. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 1827-1836, 2010.

HYLDGAARD, M., MYGIND, T., MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 1-24, 2012.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal, 2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/>. Acessado em: 30 de outubro de 2020.

JACOMINO, A. P.; BRON, I. U.; KLUGE, R. A. Avanços em tecnologia pós-colheita de mamão. In: Martins, D. S. Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno. Vitória, ES: INCAPER, 2003. p. 277-290.

JACOMINO, A. P. **Fruticultura tropical e subtropical. A cultura do mamão**. USP, Piracicaba, 2013. Disponível em: <<http://www.lpv.esalq.usp.br/lpv661/Aula%20mamao%20Fruti%20Tropical%20out.2013.pdf>>.

JACOMINO, A. P.; KLUGE, R. A.; BRACKMANN, A.; CASTRO, P. R. C. Amadurecimento do mamão com 1-metilciclopropeno. **Scientia Agrícola**, v. 59, n. 2, p. 303, 2002.

JEN, J. J.; ROBINSON, M. L. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers *Capsicum annuum*. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 1085-1087, 1984.

JHA, S.K.; SETHI, S.; SRIVASTAV, M.; DUBEY, A.K.; SHARMA, R.R.; SAMUEL, D.V.K.; SINGH, A.K. Firmness characteristics of mango hybrids under ambient storage. **Journal of Food Engineering**, v. 97, p. 208-212, 2010.

KALIA, A.; PARSHAD, V. R. Novel trends to revolutionize preservation and packaging of fruits/fruit products: Microbiological and nanotechnological perspectives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, p.159-182, 2015.

KAMATOU, G. P. P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M.; LAWRENCE, B. M. Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties. **Phytochemistry**, v. 96, p. 15-25, 2013.

KAYA, M.; CESONIENE, L.; DAUBARAS, R.; LESKAUSKAITE, D. ZABULIONE, D. Chitosan coating of red kiwifruit (*Actinidia melanandra*) for extending of the shelf life. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 85, p. 355-360, 2016.

KYING, M.O., FORNEY, C.F., ALDERSON, P.G., ALI, A. Postharvest profile of a Solovariety 'Frangi' during ripening at ambient temperature. **Science Horticulturae**, v. 160, p. 12-19, 2013.

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

KOSMAN, E.; COHEN, Y.; Procedures for calculating and differentiating synergism and antagonism in action of fungicide mixtures. **Phytopathology**, v. 86, p. 1263-1272, 1996.

KRONGYUT, W.; SRILAONG, V.; UTHAIRATANAKIJ, A.; WONGS-AREE, C.; ESGUERRA, E. B.; KANLAYANARAT, S. Physiological changes and cell wall degradation in papaya fruits cv. 'Kaek Dum' and 'Red Maradol' treated with 1- methylcyclopropene. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 4, p. 1.251-1.259, 2011.

LAHLOU, S., CARNEIRO-LEÃO, R.F.L., LEAL-CARDOSO, J.H. Cardiovascular effects of the essential oil of *Mentha × villosa* in DOCA-salt-hypertensive rats. **Phytomedicine**, v. 9, v. 715-720, 2002.

KUREK, M.; GUINAULT, A.; VOILLEY, A. GALIC, K.; DEBEAUFORT, F. Effect of relative humidity on carvacrol release and permeation properties of chitosan based films and coatings. **Food Chemistry**, v. 144, p. 9-17, 2014.

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

LATA, D.M.A.; AFTAB ·FOZIA HOMA · MD. SHAMSHER AHMAD · MOHAMMED WASIM SIDDIQUI. Effect of eco-safe compounds on postharvest quality preservation of papaya (*Carica papaya* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 8, 2018.

LI, J.; ZHAO, L.; WU, Y.; RAJOKA, M.S.R. Insights on the ultra high antibacterial activity of positionally substituted 2'-O-hydroxypropyl trimethyl ammonium chloride chitosan: a

joint interaction of -NH₂ and -N⁺(CH₃)₃ with bacterial cell wall. **Colloids Surf B: Biointerfaces**, v. 173, p. 429-436, 2019.

LIBERATO, J. R.; TATAGIBA, J. S. Avaliação de fungicidas *in vitro* e em pós-colheita para o controle da antracnose e da podridão em frutos de mamão. **Summa Phytopathologica**, v. 27, n. 4, p. 409-414, 2001.

LI, X.; ZHU, X.; ZHAO, N.; FU, D.; LI, J.; CHEN, W. Effects of hot water treatment on anthracnose disease in papaya fruit and its possible mechanism. **Postharvest Biology and Technology**, v.86, p. 437-446, 2013.

LIMA, T.C.; SILVA, T.K.M.; SILVA, F.L.; BARBOSA-FILHO, J.M.; MARQUES, M.O.M.; SANTOS, R.L.; CAVALCANTI, S.C.H.; SOUSA, D.P. Larvicidal activity of *Mentha × villosa* Hudson essential oil, rotundifolone and derivatives. **Chemosphere**, v. 104, p. 37-43. 2014.

LIMA, N.B.; LIMA, W.G.; TOVAR-PEDRAZA, J.M.; MICHEREFF, S.J.; CÂMARA, M.P.S. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, p. 679-688, 2015.

LIU, J.; TIAN, S.; MENG, X.; XU, Y. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. **Postharvest Biology and Tecnology**, v. 44, p. 300-306, 2007.

LIU, F.X.; CAO, X.M.; WANG, H.Y.; LIAO, X.J. Changes of tomato powder qualities during storage. **Powder Technology**, v. 204, p. 159-166, 2010.

LIU, F.; FU, S.; BI, X.; CHEN, F.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J. Physico-chemical and antioxidante properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. **Food Chemistry**, v. 138, p. 396-405, 2013.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa-SP. Instituto Plantarum. 2008. 544p.

LUVIELMO, M. M.; LAMAS, S. V. Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 1, p. 8-15, 2013.

MAYACHIEW, P.; DEVAHASTIN, S.; MACKEY, B. M., NIRANJAN, K. Effects of drying methods and conditions on antimicrobial activity of edible chitosan films enriched with galangal extract. **Food Research Internatioanal**, v. 43, p. 125-132, 2010.

MACHADO, L. P.; MATSUMOTO, S. T.; JAMAL, C. M.; DA SILVA, M. B.; DA CRUZ CENTENO, D.; NETO, P. C.; DE CARVALHO, L. R.; YOKOYA, N. S. Chemical analysis and toxicity of seaweed extracts with inhibitory activity against tropical fruit anthracnose fungi. **Journal of the Science and Food Agricultural**, v. 94, p. 1739-1744, 2014.

MADANI, B.; MOHAMED, M. T. M.; BIGGS, A. R.; KADIR, J.; AWANG, Y., TAYEBIMEIGOONI, A.; SHOJAEI, T. R. Effect of pre-harvest calcium chloride applications on fruit calcium level and post-harvest anthracnose disease of papaya. **Crop Protection**, v. 55, p. 55-60, 2014.

MADRUGA, M. S.; SOUZA, E. L.; GUILBERT, A. S.; GONTARD, N.; GORRIS, G. M. Prolongation of the shelf-life of perishable food product using biodegradable films and coatings. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, p. 10-17, 1996.

MAHBOUBI, M.; KAZEMPOUR, N. Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 36, p. 83-87, 2014.

MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e o oxigênio. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 18, 2000.

MAIA, L.C.; DRECHSLER-SANTOS, E.R.; CÁCERES, M. Representatividade dos fungos nos herbários brasileiros. *Micologia: avanços no conhecimento*. UFPE, p. 189-194, 2007.

MAKKAR, M. K.; SHARMA, S.; KAUR, H. Evaluation of *Mentha arvensis* essential oil and its major constituents for fungitoxicity. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, p. 3840-3844, 2018.

MALDONADO, A. F. S.; SCHIEBER, A.; GANZLE, M. G. Plant defense mechanisms and enzymatic transformation products and their potential applications in food preservation: Advantages and limitations. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, p. 49-59, 2015.

MALEKMOHAMMAD, K.; RAFIEIAN-KOPAEI, M.; SARDAR, S.; SEWELL, R. D. E. Toxicological effects of *Mentha piperita* (peppermint): a review. **Toxin Reviews**, 2019.

MALHOTRA, B.; KESHWANI, A.; KHARKWAL, H. Antimicrobial food packaging: Potential and pitfalls. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 611, 2015.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; ALDERSON, P. G.; MOHAMED, M. T. M.; SIDDIQUIC, Y.; ZAHIDA, N. 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, p. 71-76, 2011.

MÁRQUEZ, I.G.; AKUAKU, J.; CRUZ, I.; CHEETHAM, J.; GOLSHANI, A.; ZAHID, N.; SMITH, M.L. Disruption of protein synthesis as antifungal mode of action by chitosan. **International Journal of Food Microbiology**, v. 164, p. 108-112, 2013.

MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.; CRAVEIRO A.A.; BARBOSA-FILHO, J.M.; ALENCAR, J.W.; BARBOSA-FILHO, J.M.; CUNHA, E.V.L.; HIRUMA, C.A. Essential oil of *Mentha x villosa* Huds. An antiparasitic medicinal herb from Northeastern Brazil. **Journal of Essent Oil Research**, v. 11, p. 41-44, 1999.

MAYACHIEW, P., DEVAHASTIN, S., MACKEY, B. M., & NIRANJAN, K. Effects of drying methods and conditions on antimicrobial activity of edible chitosan films enriched with galangal extract. **Food Research International**, v. 43, n. 1, p. 125-132, 2010.

MAZZARRINO, G.; PAPARELLA, A.; CHAVES-LÓPEZ, C.; FABERI, A.; SERGI, M.; SIGISMONDI, C. *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* inactivation dynamics after treatment with selected essential oils. **Food Control**, v. 50, p. 794-803, 2015.

MEDINA, J. C.; SALOMON, E. A. G.; VIEIRA, L. F.; RENESTO, O. V.; FIGUEIREDO, N. M. S.; CANTO, W. L. **Mamão: da cultura ao processamento e comercialização**. Campinas: ITAL, 1980. 244p.

MENDES, J.F., PASCHOALIN, R.T., CARMONA, V.B., SENA NETO, A.R., MARQUES, P., MARCONCINI, J.M., MATTOSO, L.H.C., MEDEIROS, E.S., AND OLIVEIRA, J.E. Biodegradable polymer blends based on cornstarch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 452-458, 2015.

MOHAMMADI, A., HASHEMI, M., & HOSSEINI, S. M. Nanoencapsulation of *Zataria multiflora* essential oil preparation and characterization with enhanced antifungal activity for controlling *Botrytis cinerea*, the casual agent of gray mould disease. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 28, p. 73-80, 2015.

MORADI, M.; TAJIK, H.; RAZAVI ROHANI, S. M.; OROMIEHIE, A. R.; MALEKINEJAD, H.; ALIAKBARLU, J.; HADIAN, M. Characterization of Antioxidant Chitosan Film Incorporated with *Zataria multiflora* Boiss Essential Oil and Grape Seed Extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 2, p. 477-484, 2012.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Integração de métodos biocompatíveis no manejo de doenças e pragas: experiências em plantas ornamentais e medicinais. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 31-34, 2008.

MOURA, M. C. F.; OLIVEIRA, L. C. S. Atividade agrícola: produção, impacto e sustentabilidade. **Revista Iberoamericana de Ciências Ambientais**, v. 4, p. 6-14, 2013.

MONZÓN-ORTEGA, K.; SALVADOR-FIGUEROA, M.; GALVEZ-LÓPEZ, D.; ROSAS-QUIJANO, R.; OVANDO-MEDINA, I.; VAZQUEZ-OVANDO, A.; Characterization of Aloe vera-chitosan composite films and their use for reducing the disease caused by fungi in papaya Maradol. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, p. 4747-4757, 2018.

MUJTABA, M., MORSI, R.E., KERCH, G., ELSABEE, M.Z., KAYA, M., LABIDI, J., AND KHAWAR, K.M. Current advancements in chitosan-based film production for food technology: A review. *International Journal Biological Macromolecules*, v. 121, p. 889-904, 2019.

MUNHUWEYI, K.; CALEB, O.J.; LENNOX, C.L.; REENEN, A.J.V.; OPARA, U.L. *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.

NAZZARO, F. I. D.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. Essential oils and antifungal activity. **Pharmaceuticals**, v. 10, p. 86, 2017.

NDIAYE, C., XU, S.Y., AND WANG, Z. Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. **Food Chemistry**, v. 113, p. 92-95, 2009.

NUNES-NESI, A.; FERNIE, A. R.; STITT, M. Metabolic and signaling aspects underpinning the regulation of plant carbon nitrogen interactions. **Molecular Plant**, v.3, n.6, p.973-996, 2010.

NUNS, M.C.N; EMOND, J.P.; BRECHT, J.K. Brief deviations from set point temperatures during normal airport handling operations negatively affect the quality of papaya (*Carica papaya* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 41, p. 328-340, 2006.

OJAGH, S.M., REZAEI, M., RAZAVI, S.H., HOSSEINI, S.M.H.,. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. **Food Chemistry**, v. 120, p. 193-198, 2010.

OLIVEIRA, A. R. O.; FILHO, H. P. S. Mancha Chocolate. **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**: mamão em foco. 2006.

OLIVEIRA, A. A. R.; FILHO, H. P. S. Podridão de Rhizopus. Bahia: **Embrapa**, n. 26, 2007.

OLIVEIRA, C. E. V.; MAGNANI, M.; SALES, C. V.; PONTES, A. L. S.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; STAMFORD, T. C. M.; SOUZA, E. L. Effects of chitosan from *Cunninghamella elegans* on virulence of post-harvest pathogenic fungi in table grapes (*Vitis labrusca*). **International Journal of Food Microbiology**, v. 171, p. 54-61, 2014.

OLIVEIRA, J.G.; VITORIA, A.P. Papaya: nutritional and pharmacological characterization, and quality loss due to physiological disorders. An overview. **Food Research International**, Amsterdam, v. 44, n. 5, p.1306-1313, 2011.

OLIVEIRA, P.D.L.; DE OLIVEIRA, K.A.R.; VIEIRA, W.A.S.; CÂMARA, M.P.S.; DE SOUZA, E.L. Control of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in guava, mango and papaya using synergistic combinations of chitosan and *Cymbopogon citratus* (D.C. ex Nees) Stapf. essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 266, p. 87-94, 2018.

ONG, M. K.; FORNEY, C. F.; ALDERSON, P. G.; ALI, A. Postharvest profile of a Solo variety ‘Frangi’ during ripening at ambient temperature. **Scientia Horticulturae**, v.160, p.12-19, 2013.

ONG, M. R.; ALI, A.; ALDERSON, P. G.; FORNEY, C. F. Effect of different concentrations of ozone. **Scientia Horticulturae**, v. 179, p. 163-169, 2014.

OZ, M.; EL NEBRISI, E. G.; YANG, S. K.; HOWARTH, C. F.; AL KURY, L. T. Cellular and molecular targets of menthol actions. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, 2017.

PAIXÃO, M.V.S.; SCHMILDT, E.R.; MATTIELLO, H.N.; FERREGUETTI, G. A.; ALEXANDRE, R.S.. Frações orgânicas e mineral na produção de mudas de mamoeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1105-1112, 2012.

PALMU, P. T.; FAKHOURI, F. M.; GROSSO, C. R. F. Filmes biodegradáveis. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 26, p. 12-17, 2002.

PALOU, L.; VALENCIA-CHAMORRO, S. A.; PÉREZ-GAGO, M.B. Antifungal Edible Coatings for Fresh Citrus Fruit: A Review. **Coatings**, v. 5, p. 962-986, 2015.

PARK, Y.; KIM, M. H.; PARK, S.C., CHEONG, H.; JANG, M. K.; NAH, J. W. Investigation of the antifungal activity and mechanism of action of LMWS-Chitosan. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, p. 1729-1734, 2008.

PASTOR, C.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; MARCILLA, A.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, p. 64-70, 2011.

PENG Y.; YIN, L.; LI, Y. Combined effects of lemon essential oil and surfactants on physical and structural properties of chitosan films. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, p. 44-50, 2013.

PERDONES, A.; SÁNCHEZ-GONZÁLES, L.; CHIRALT, A.; VARGAS, M. Effect of chitosanlemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, v. 70, p. 32-41, 2012.

PICHYANGKURAA, R.; CHADCHAWANB, S. Biostimulant activity of chitosan in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 49-65, 2015.

PICONE, G.; LAGHI, L.; GARDINI, F.; LANCIOTTI, R.; SIROLI, L.; CAPOZZI, F. Evaluation of the effect of carvacrol on the *Escherichia coli* 555 metabolome by using 1HNMR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 141, p. 4367-4374, 2013.

PLOOY, W.; REGNIER, T.; COMBRINCK, S. Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management. **Postharvest Biology and Technology**, v.53, p.117-122, 2009.

PRAMILA, D. M.; XAVIER, R.; MARIMUTHU, K.; KATHIRESAN, S.; KHOO, M. L.; SENTHILKUMAR, M.; SATHYA, K.; SREERAMANAN, S. Phytochemical analysis and antimicrobial potential of methanolic leaf extract of peppermint (*Mentha piperita*: *Lamiaceae*). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, p. 331-335, 2012.

PRASHAR, A.; HILI, P.; VENESS, R. G.; EVANS, C. S. Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martini*) on *Saccharomyces cerevisiae*. **Phytochemistry**, v. 63, p. 569-575, 2003.

RAHMAN, M.D.H.; SHO VAN, L. H.; HJELJORD, L. G. BERIT BJUGAN A.A.M, EIJSINK, V. G. H.; MORTEN SØRLIE, TRONSMO, A. Inhibition of fungal plant pathogens by synergistic action of chito-oligosaccharides and commercially available fungicides. **Plos One**, v. 9, 2014.

RAPPUSSI, M.C.C.; BENATO, E.A.; CIA, P. & PASCHOLATI, S.F. Quitosana e fungicidas no controle pós-colheita de *Guignardia citricarpa* e na qualidade de laranjas 'Pêra Rio'. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.3, p.142-144, 2011.

REGNIER, T.; DU PLOOY, W.; COMBRINCK, S.; BOTH A, B. Fungitoxicity of *Lippia scaberrima* essential oil and selected terpenoid components on two mango postharvest spoilage pathogens. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, p.254-258, 2008.

RESENDE, E. C. O.; MARTINS, P. F.; AZEVEDO, R. A. D.; JACOMINO, A. P.; BRON, I. U. Oxidative processes during 'Golden' papaya fruit ripening. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v.24, n.2, p.85-94, 2012.

RIAH, L.; ELFERCHICHI, M.; GHAZGHAZI, H.; JEBALI, J.; ZIADI, S.; AOADHI, C.; CHOGRANI, H.; ZAOUALI, Y.; ZOGHLAMI, N.; MLIKI, A. Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. **Industri Crop and Products**, v. 49, p. 883-889, 2013.

RIBEIRO, J. G.; SERRA, I. M. R. S.; ARAÚJO, M.U. P. Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 2, p. 160-164, 2016.

ROMANAZZI, G.; FELIZIANI, E.; BAÑOS, S.B.; SIVAKUMAR, D. Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 57, p. 579-601, 2015.

ROMANAZZI, G.; SMILANICK, J. L.; FELIZIANI, E.; DROBY, S. Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 113, p. 69-76, 2016.

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

RUGGIERO, C.; MARIN, S. L. D.; DURIGAN, J. F. Mamão, uma história de sucesso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 76-82, 2011.

SALVADOR-FIGUEROA, M.; CASTILLO-LÓPEZ, D.; ADRIANO-ANAYA, L.; GÁLVEZ-LÓPEZ, D.; ROSAS-QUIANO, R.; VÁZQUEZ-OVANDO. Chitosan composite films: physicochemical characterization and their use as coating in papaya Maradol stored at room temperature. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 29, n.10, p. 779-791, 2017.

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

SANTOS, J. E.; SOARES, J.P.; DOCKAL, E.R.; CAMPANA-FILHO, S.P.; CAVALHEIRO, E. T. G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros Ciência e Tecnologia**, v. 13, p. 242-249, 2003.

SANTOS, N. S. T. Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L). **Food Microbiology**, v.32, p.345-353, 2012.

SARKAR, A. K. Anthracnose diseases of some common medicinally important fruit plants. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 4, n. 3, p. 233-236, 2016.

SARKHOSHS, A.; VARGAS, A. I.; SHAFFER, B.; PALMATEER, A.; LOPEZ, P. SOLEYMANI, A.; FARZANEH, M. Postharvest management of anthracnose in avocado (*Persea americana* Mill.) fruit with plant-extracted oils. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 12, p.16-22, 2017.

SARKHOSH, A.; SCHAFFER, B.; VARGAS, A. I.; PAMATEER, A. J.; LOPEZ, P.; SOLEYMANI, A.; FRZANEH, M. Antifungal activity of five plant-extracted essential oils against anthracnose in papaya fruit. **Biological Agriculture & Horticulture**, v, 34, p. 18-26, 2018.

SARMENTO, C. A. R. **Determinação do ponto de colheita e avaliação da pós-colheita de banana princesa utilizando biofilme**. Dissertação (mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, 2012. 74 p.

SEFU, G.; SATHEESH, N.; BERECHA, G. Effect of essential oils treatment on anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) disease development, quality and shelf life of mango fruits (*Mangifera indica* L). **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 15, p. 2160-2169, 2015.

SCHMITZ, D.; ALVIN SHUBERT, A.; BETZ, T.; SCHNELL, M. Exploring the conformational landscape of menthol, menthone, and isomenthone: a microwave study. **Frontiers in Chemistry**, v. 3, 2015.

SCHWEIGGERT, R.M.; STEINGASS, C.B.; MORA, E.; ESQUIVEL, P.; CARLE, R. Carotenogenesis and physico-chemical characteristics during maturation of red fleshed papaya fruit (*Carica papaya* L.). **Food Research International**, v. 44, p. 1373-1380, 2011.

SERRANO, L.A.L.; CATTANEO, L.F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.3, 2010 (editorial).

SERVILI, A.; FELZIANI, E.; ROMANAZZI, G. Exposure to volatiles of essential oils alone or under hypobaric treatment to control postharvest gray mold of table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 133, p. 36-40, 2017.

SEVERINO, R.; VU, K.D.; DONSI, F.; SALMIERI, S.; FERRARI, G.; LACROIX, M. Antibacterial and physical effects of modified chitosan based-coating containing nanoemulsion of mandarin essential oil and three non-thermal treatments against *Listeria innocua* in green beans. **International Journal of Food Microbiology**, v. 191, p. 82-88, 2014.

SHAHBAZI, Y. Application of carboxymethyl cellulose and chitosan coatings containing *Mentha spicata* essential oil in fresh strawberries. **International Journal of Biological and Macromolecules**, v. 112, p. 264-272, 2018.

SHARIFI-RAD, J.; HOSEINI-ALFATEMI, S. M.; SHARIFI-RAD, M.; SHARIFI-RAD, M.; IRITI, M., SHARIFI-RAD, M.; SHARIFI-RAD, R.;RAEISI, S.; Phytochemical Compositions

and biological activities of essential oil from *Xanthium strumarium* L. **Molecules**, v. 20, p. 7034-7047, 2015.

SHARIFI-RAD, J.; SUREDA, A.; TENORE, G.C.; DAGLIA, M.; SHARIFI-RAD, M.; VALUSSI, M.; TUNDIS, R.; LOIZZO, M. R.; ADEMILUYI, A. O.; SHARIFI-RAD, R.; AYATOLLAHI, S. A.; IRITI, M. Biological activities of essential oils: from plant chemoeology to traditional healing systems. **Molecules**, v. 22, 2017.

SHARMA, R.R.; SINGH, D.; PAL, R.K. Synergistic influence of pre-harvest calcium sprays and postharvest hot water treatment on fruit firmness, decay, bitter pit incidence and postharvest quality of Royal Delicious apples (*Malus x domestica* Borkh). **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, p. 153-159, 2013.

SHARMA, V. Evaluation of incidence and alternative management of post-harvest fungal diseases of papaya fruits (*Carica papaya* L.) in Western U.P. **International Scientific Journal Theoretical & Applied Science**, v. 7, p. 6-12, 2015.

SHEN, Z.; KAMDEM, D.P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. **International Journal Biological Macromolecules**. v. 74, p. 289-296, 2015.

SILVA, A.C.; SOUZA, A.P.; LEONEL, S.M.; SOUZA, E.; RAMOS, D.P.A.; TANAKA, A.; Growth and flowering of five mango cultivar under subtropics conditions of Brazil. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, p.393-402, 2014.

SINGH, R.; SHUSHNI, M.A.M.; BELKHEIR, A. Antibacterial and antioxidant activity of *Mentha piperita* L. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 4, p.1-20, 2011.

SINGH, P.; MISHRA, A.K.; TRIPATHI, N.N. Assessment of mycoflora associated with postharvest losses of papaya fruits. **Journal of Agricultural and Technology**, v. 8, n. 3, p. 961-968, 2012.

SIVAKUMAR, D.; WALL, M. M. Papaya fruit quality management during the postharvest supply chain. **Food Reviews International**, v.29, n.1, p. 24-48, 2013.

SIVAKUMAR, D.; BAUTISTA-BAÑOS, S. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. **Crop Protection**, v.64, p.27-37, 2014.

SOARES, I.A., LEITE, P.K.B.S., LEMOS, O.R.F.G.A., BATISTA, A.U.D., AND MONTENEGRO, R.V. Polishing methods' influence on color stability and roughness of 2 provisional prosthodontic materials. **Journal of Prosthodontics**, v. 28, p. 564–571, 2019.

SOUZA M. L.; MORGADO, C. M. A.; MARQUES, K. M.; MATTIUZ, C. F. M.; MATTIUZ, B. Pós-colheita de mangas “Tommy Atkins” recobertas com quitosana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 337-343, 2011.

SOUZA, A.F.; SILVA, W.B.; GONÇALVES, Y. S.; SILVA M. G.; OLIVEIRA, J.G. Fisiologia do Amadurecimento de mamões de variedades comercializadas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 318-328, 2014.

SOUZA, M.A.A.; LEMOS, M.J.; BRITO, D.M.C.; FERNANDES, M.S.; CASTRO, R.N.; SOUZA, S.R. Production and quality of menthol Mint essential oil and antifungal and antigerminative activity. **American Journal of Plant Sciences**, v.5, p.3311-3318, 2014.

SOUZA, V. G. L.; FERNANDO, A. L.; PIRESA, J. R. A.; RODRIGUES, P. F.; LOPES, A. A. S.; SOUZA, F. M. B. F. Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants **Industrial Crops & Products**, v. 107, p. 565-572, 2017.

TATAGIBA, J.S., LIBERATO, J.R., ZAMBOLIM, L., VENTURA, J.A., COSTA, H. Control and environmental conditions that favor papaya anthracnose. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 186-192, 2002.

TAVARES, G. M. **Controle químico e hidrotérmico da antracnose em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) na pós-colheita**. Dissertação de Mestrado. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2004. 55p.

THOMASSEN, D.; KNEBEL, N. SLATTERY, J.T., MCCLANAHAN, R.H., NELSON, S.D. Reactive intermediates in the oxidation of menthofuran by cytochromes P-450. **Chemical Research and Toxicology**, v.5, p 123-130, 1992.

TOKATLI, K.; DEMIRDÖVEN, A. Effects of Chitosana Edible film coatings on the physicochemical and microbiological qualities of sweet cherry (*Prunus avium* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 259, 108656, 2020.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**, v. 22, p. 1707 - 1714, 2011.

TZORTZAKIS, N. G.; ECONOMAKIS, C. D. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, p. 253-258, 2007.

ULTEE, A.; KETS, E. P. W.; ALBERDA, M.; HOEKSTRA, F. A.; SMID, E. J. Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. **Archives of Microbiology**, v. 174, p. 233-238, 2000.

ULTEE, A.; KETS, E. P. W.; SMID, E. J. Mechanism of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, p. 373-378, 2001.

USALL, J.; IPPOLITO, A.; SISQUELLA, M.; NERI, F. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, v. 122, p. 30-40, 2016.

VALENZUELA, N.L.; ANGEL, D.N.; ORTIZ, D.T.; ROSAS, R.A.; GARCÍA, C.F.O.; SANTOS, M.O. Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on maradol papaya fruit. **Biological Control**, v. 91, p. 88-93, 2015.

VALENCIA-CHAMORRO, S. A.; PALOU, L.; DEL RÍO, M. A.; PÉREZ-GAGO, M. B. Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, p. 872-900, 2011.

VAN DEN BROEK, L. A.; KNOOP, R. J.; KAPPEN, F. H.; BOERIU, C. G. Chitosan films and blends for packaging material, **Carbohydrate Polymers**. v. 116, p. 237-242, 2015.

VÁZQUEZ, A.M.; AIMAR, M.L.; DEMMEL, G.I.; CABALEN, M.E.; DECARLINI, M.F.; CANTERO, J.J.; CRIADO, S.G.; RUIZ, G.M. Identification of volatile compounds of *Clinopodium odorum* (Lamiaceae): A comparison between HS-SPME and classic hydrodistillation. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 13, p. 285-296, 2014.

VELO, M.M.A.C., NASCIMENTO, T.R.L., SCOTTI, C.K., BOMBONATTI, J.F.S., FURUSE, A.Y., SILVA, V.D., SIMÕES, T.A., MEDEIROS, E.S., BLAKER, J.J., NIKOLAOS, S., AND MONDELLI, R.F.L. Improved mechanical performance of self-adhesive resin cement filled with hybrid nanofibers-embedded with niobium pentoxide. **Dental Materials Journal**, v. 35, p. 272-285, 2019.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J. S. Manejo das doenças do mamoeiro. In: MARTINS, D.S.; COSTA, A.F.S. **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória, ES: Incaper, p.231-67, 2003.

VIEIRA, W. A.; NASCIMENTO, R. J.; MICHEREFF, S.; HYDE, K.D.; CAMARA, M. P. S. First report of papaya fruit anthracnose caused by *Colletotrichum brevisporum* in Brazil. **Plant Disease**, v. 97, p. 1659, 2013.

VILLADIEGO, A. M. D.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J.; PUSCHMANN, R.; MINIM, V.P.R.; CRUZ, R. Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, v. 52, n. 300, p. 221-244, 2003.

WAGHMARE, R. B.; ANNAPURE, U. S. Combined effect of chemical treatment and/or modified atmosphere packaging (MAP) on quality of fresh-cut papaya. **Postharvest Biology and Technology**, v. 85, p. 147-153, 2013.

WALL, M. Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* sp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 434-445, 2006.

WANG, L.; LIU, F.; JIANG, Y.; CHAI, Z.; LI, P.; CHENG, Y. Synergistic antimicrobial activities of natural essential oils with chitosan films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 12411-12419, 2011.

WILLS, R. B. H.; WIDJANARKO, S. B. Changes in physiology, composition and sensory characteristics of Australian papaya during ripening. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, n. 35, p. 1173-1176, 1995.

WU, Q.; LI, Z.; CHEN, X.; YUN, Z. LI, T.; JIANGA, Y. Comparative metabolites profiling of harvested papaya (*Carica papaya* L.) peel in response to chilling stress. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, v. 99, p. 6868-6881, 2019.

XING, Y.; XU, Q.; LI, X.; CHEN, C.; MA, L.; LI, S.; CHE, Z.; LIN, H. Chitosan-based coating with antimicrobial agents: preparation, property, mechanism, and application effectiveness on fruits and vegetables. **International Journal Polymer Science**, p. 1-24, 2016.

XING, Y.; XU, Q.; YANG, S.X.; CHEN, C.; TANG, Y.; SUN, S.; ZHANG, L.; CHE, Z.; LI, X. Preservation mechanism of chitosan-based coating with cinnamon oil for fruits storage based on sensor data. **Sensors**, v. 16, n. 7, 1111, 2016.

YAO, B.N.; TANO, K.; KONAN, H.K.; BÉDIÉ, G.K.; OULÉ, M.K.; KOFFI-NEVRY, R.; ARUL, J. The role of hydrolases in the loss of firmness and of the changes in sugar content during the post-harvest maturation of *Carica papaya* L. var Solo 8. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 3309-3316, 2014.

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

ZHENG, M. Antimicrobial effects of volatiles produced by two antagonistic *Bacillus* strains on the anthracnose pathogen in postharvest mangos. **Biological Control**, v. 65, p. 200-206, 2013.

ZHANG, W.; LI, X.; ZHANG, W.J.W.; LI, X.; JIANG, W. Development of antioxidant chitosan film with banana peels extract and its application as coating in maintaining the storage quality of apple. **International Journal of Biological Macromolecules**, 154, 1205-1214, 2019.

APÊNDICE A - ARTIGO 1

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



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Biological Macromolecules

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ijbiomac>

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

Selma dos Passos Braga^a, Giovanna Alencar Lundgren^a, Samara Alves Macedo^b, Josean Fechine Tavares^c, Willie Anderson dos Santos Vieira^b, Marcos Paz Saraiva Câmara^b, Evandro Leite de Souza^{a,*}

^a Laboratory of Food Microbiology, Department of Nutrition, Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil

^b Laboratory of Mycology, Department of Agronomy, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, Brazil

^c Unity of Characterization and Analysis, Department of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 June 2019

Received in revised form 30 July 2019

Accepted 1 August 2019

Available online 02 August 2019

Keywords:

Papaya

Colletotrichum spp.

Edible coating

ABSTRACT

This study investigated the efficacy of coatings formed by chitosan (Chi) and *Mentha piperita* L. (MPEO) or *M. × villosa* Huds (MVEO) essential oil to control the development of anthracnose in papaya fruit caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. brevisporum*. Chi (2.5–10 mg/mL), MPEO and MVEO (0.15–1.25 µL/mL) alone effectively inhibited the growth of *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates in laboratory media. Combinations of Chi (5 and 7.5 mg/mL) and MPEO or MVEO (0.15–1.25 mL/mL) inhibited the growth of *Colletotrichum* isolates and mostly presented additive or synergistic interactions. Development of anthracnose lesions caused by *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates was reduced by coatings formed by Chi (5 mg/mL) and MPEO or MVEO (0.3–1.25 µL/mL) combinations during storage (10 days, 25 ± 0.5 °C). Decreases in anthracnose lesion development in papaya coated with Chi (5 mg/mL) and MPEO or MVEO (0.6 and 1.25 µL/mL) were similar or higher than those caused by a commercial fungicides formulation. The application of coatings formed by combinations of selected Chi and MPEO or MVEO concentrations could be considered an alternative strategy to control papaya anthracnose caused by *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum*.

© 2019 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

Papaya cv papaya (*Carica papaya* L.) is an important fruit cultivated in tropical and subtropical areas [1]. Brazil is the second world largest papaya fruit (papaya) producer, reaching a total production of 13,016,281 tonnes in 2017 [2]. Papaya has high nutritional value and attractive sensory characteristics, in addition to present a variety of health-related bioactive compounds [3,4]. However, the overall quality and safety of papaya are commonly affected by postharvest diseases caused by pathogenic fungi [5].

Anthrachnose is the most important disease attacking papaya, causing important postharvest losses [6]. *Colletotrichum gloeosporioides* has been commonly reported as the main causal agent of papaya anthracnose [7,8]. However, other *Colletotrichum* species have been also associated with papaya anthracnose in field and postharvest conditions in different countries [9]. A recent phylogenetic study characterized

C. brevisporum (previously named *C. magna*) as an important etiological agent of anthracnose in papaya cultivated in Northeastern Brazil [10].

Postharvest fungal infections in papaya have been traditionally controlled by combining heat treatments and chemical fungicide. The excessive and continuous use of chemical fungicides has been associated with toxicity to human and environment [9], as well as with the development of antifungal resistance in *Colletotrichum* species [7]. Consequently, alternative strategies for reducing the occurrence of postharvest disease in fruit have been demanded [8,11].

Chitosan (Chi) is a natural polysaccharide derived from deacetylation of chitin mostly obtained from crustacean shells and fungi cell wall [12,13]. In addition to the well-known antifungal properties, the film-forming abilities of Chi have become this polysaccharide a candidate for use in the formulation of edible coatings to be used as a postharvest technology on fruit [14–16]. Essential oils (EOs) are characterized as complex mixtures of compounds naturally synthesized as secondary metabolites in different organs of aromatic plants, with important role in plant defence against pathogens [17]. EOs have received increasing attention for use as food preservatives because of their strong and wide spectrum antimicrobial properties and low resistance-inducing effects in target microorganisms [18,19].

* Corresponding author at: Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição, Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Campus I, 58051-900, Cidade Universitária, João Pessoa, Paraíba, Brazil.

E-mail address: evandroleitesouza@ccs.ufpb.br (E.L. de Souza).

The combined use of Chi and EOs for the formulation of edible coatings has received increasing interest primarily because of the possibilities of exploiting enhancing antifungal effects from the interaction of these substances. These enhanced antifungal effects should allow the decrease of the effective doses of Chi and EOs to inhibit target organisms when compared to their use separately [20,21]. Furthermore, the combined use of low effective antifungal doses of Chi and EOs should be useful to decrease potential negative impacts on coated fruit [5,12,19].

Among the EOs reported as having inhibitory properties against fungi contaminating fruit, stand out the EOs from *Mentha* species [20–23]. *Mentha piperita* L. essential oil (MPEO) has a long safe use as a flavoring agent in foods and beverages [24], in addition to have been exploited in different sectors because of their antioxidant and antimicrobial properties [25,26]. *Mentha × villosa* Huds. (MVEO) is an aromatic plant hybrid of *M. spicata* L. and *M. suaveolens* Ehrh. with few studies exploring its biological activities when compared to other *Mentha* species, but with antioxidant and antimicrobial properties also reported in literature [25–27]. The available literature has shown the efficacy of coatings formed by Chi and *Mentha* EOs to inhibit anthracnose development in mango [14] and mold decay in grape and tomato [20,21], as well as of coatings formed by Chi and lemongrass and cinnamon EO to inhibit anthracnose development in bell pepper [28], guava, mango and papaya [12,28]. Nevertheless, studies on the effects of coatings formed by Chi and *Mentha* EOs to control anthracnose development caused by *C. gloeosporioides* or *C. brevisporum* in papaya are still lacking.

This study assessed the efficacy of Chi, MPEO and MVEO alone or in combinations for controlling the growth of different isolates of *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* associated with anthracnose in papaya. The efficacy of coatings formed by combined concentrations of Chi and MPEO or MVEO to control the development of anthracnose caused by these *Colletotrichum* isolates in papaya during storage was also evaluated.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Papayas (*Carica papaya* L.) with color index of two (i.e. green peel with a trace of yellow) were purchased from EMPASA (Supplies and Services Company of Paraíba, João Pessoa, Brazil) on the same day of harvest. Fruit with uniform shape, size, maturity and free from physical injury and insect or pathogen infection were selected for the experiments. Prior to the assays, fruit were washed using domestic detergent and running water, surface disinfected via immersion in sodium hypochlorite (150 ppm, pH 7.2 adjusted using 1 M NaOH) for 5 min, rinsed with potable water and air-dried at room temperature (25 ± 0.5 °C).

Chi of medium molecular weight (extracted from shrimp cells, deacetylation degree $\geq 75\%$, batch MKBH1108V) was obtained from Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, MO, USA). MPEO and MVEO extracted using hydrodistillation were gently supplied by Ferquima Ind. Ltda. (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brazil) and Hebron® company (Caruaru, Pernambuco, Brazil), respectively. A commercial formulation containing trifloxystrobin (100 g/L) and tebuconazole (200 g/L) commonly used in papaya orchard in Brazil was used as a standard chemical fungicide [29,30]. The fungicides formulation (1 mL) was diluted in sterile distilled water (1 L) to reach a final concentration of 0.1 and 0.2 g/L for trifloxystrobin and tebuconazole, respectively, following the manufacturer instructions.

Three isolates of *C. gloeosporioides* (CMM 1767, CMM 24 and CMM 320) and *C. brevisporum* (CMM 1642, CMM 1728 and CMM 1936) associated with papaya anthracnose in were gently provided by Culture Collection of Phytopathogenic Fungi - Prof. Maria Menezes (Federal Rural University of Pernambuco, Recife, Brazil) and used as target fungi. These isolates were recovered from lesions of anthracnose in papaya in orchards from Northeastern Brazil and identified through phylogenetic inference [10]. Before assays, each isolate was inoculated in one

papaya, and, after the development of characteristic anthracnose lesions, the isolate was re-isolated and cultured in potato dextrose agar (PDA, HiMedia, Mumbai, India) at 25 ± 0.5 °C for seven days [12,14]. Anthracnose lesions induced by all *Colletotrichum* isolates in papaya were overall similar and comprised water-soaked, prominent and generally rounded dark brown lesions. The presence of orange conidial masses on lesions was also observed [10].

2.2. Identification of the constituents of MPEO and MVEO

The constituents of MPEO and MVEO were identified using a gas chromatography coupled to mass spectrometer (model CGMS-QP2010 Ultra, Shimadzu, Kyoto, Japan). The analysis was performed under the following conditions: capillary column RTX-5MS (30-m column, internal diameter: 0.25 mm, film thickness: 0.25 μm); temperature programmed from 60 to 240 °C at 3 °C/min; injector temperature, 250 °C; detector temperature, 220 °C; electron impact, 70 eV; carrier gas, helium adjusted to 0.99 mL/min speed; linear velocity, 36.4 cm/s; pressure, 57 kPa; and mass range (m/z), 40 to 500. Identification of each constituent was performed by comparing their mass spectra with the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database (National Institute of Standards Technology, Norwalk, CT, United States) and FFNSC1.3 (Flavor and Fragrance Natural and Synthetic Compounds) libraries as well as the Kovats retention index [31]. Quantification of MPEO and MVEO constituents was obtained after normalizing the areas of each detected constituent and expressed as a percentage of area (%) [32].

2.3. Preparation of Chi dispersions, MPEO or MVEO emulsions and coatings

Chi dispersions were prepared at different concentrations (2.5, 5, 7.5 or 10 mg/mL) after dissolving the polymer in an aqueous 0.1 M acetic acid (1 mL/100 mL, pH 5.6; Química Moderna, São Paulo, Brazil) solution for 24 h at room temperature under stirring (120 rpm). To ensure that the antifungal activity was due to the assayed Chi and not acetic acid, the pH values of all solutions used in control assays were adjusted to 5.6 by adding 3 M NaOH (Química Moderna, São Paulo, Brazil) or 0.1 M HCl (Química Moderna, São Paulo, Brazil). MPEO and MVEO emulsions at different concentrations were obtained after dissolving EO in sterile distilled water (~ 45 °C) containing Tween 80 (1%, v/v; Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA) as a stabilizing agent [33].

For the use in combination, Chi (final concentration of 5 or 7.5 mg/mL) was initially diluted in aqueous 0.1 M acetic acid (1 mL/100 mL) solution (pH 5.6) with constant stirring (120 rpm) for 6 h at room temperature. Subsequently, the MPEO or MVEO was added (final concentration of 0.15, 0.3, 0.6 or 1.25 $\mu\text{L/mL}$) to the Chi dispersions, followed by stirring for an additional 18 h at room temperature. To assay the combined use of Chi and MPEO or MVEO to coat the fruit, glycerol was added (2.5 mL/100 mL) as a plasticizer immediately after the MPEO or MVEO was incorporated into the coating-forming dispersions [34].

2.4. Effects of Chi, MPEO and MVEO on fungal mycelial growth

The effects of Chi, MPEO and MVEO on the radial mycelial growth of the *Colletotrichum* isolates were assessed using a dilution in solid media procedure. *Colletotrichum* isolates were grown on PDA during seven days at 25 °C. Mycelial agar plugs (5 mm diameter) were taken from the margin of the cultures and transferred to the centre of a Petri dish containing PDA with Chi, MPEO or MVEO at the desired final concentration (i.e., Chi: 2.5, 5, 7.5 or 10 mg/mL; MPEO and MVEO: 0.15, 0.3, 0.6, 1.25 and 2.5 $\mu\text{L/mL}$) and incubated at 25 ± 0.5 °C. PDA without Chi, MPEO or MVEO (pH 5.6) was similarly tested as a negative control. Additionally, PDA containing aqueous 0.1 M acetic acid (1 mL/100 mL) solution (pH 5.6) was tested as a control and exhibited no inhibitory effects on the radial mycelial growth of the tested *Colletotrichum* isolates. Measures of orthogonal diameters of the colonies were taken

daily during 10 days or up to the negative control Petri dishes were fully covered with fungal mycelia. The percentage of mycelial growth inhibition (MGI%) was calculated using the formula: $MGI\% = [(C - T)/C] \times 100$, where C is the colony diameter in the control assay, and T is the diameter of the colony growing in PDA supplemented with Chi, MVEO or MPEO [35,36].

2.5. Evaluation of the type of interaction of Chi and MPEO or MVEO

To evaluate the type of interaction from the combination of different concentrations of Chi and MPEO or MVEO, first the MGI% caused by Chi, MPEO or MVEO alone (Chi: 5 and 7.5 mg/mL; MPEO and MVEO: 0.15, 0.3, 0.6 and 1.25 $\mu\text{L/mL}$) and in combinations (Chi: 5 or 7.5 mg/mL; MPEO and MVEO: 0.15, 0.3, 0.6 or 1.25 $\mu\text{L/mL}$) on each *Colletotrichum* isolate, named MGI% observed (MGI%obs), was determined using the same procedures described in Section 2.4. The type of interaction from Chi and MPEO or MVEO combinations was determined using the Abbott method [37,38], which considers the calculation of the expected MGI% (MGI%exp) for each combination using the equation:

$$MGI\% \text{ exp} = MGI\% \text{ Chi} \text{ obs} + MGI\% \text{ Obs}(\text{MPEO or MVEO}) - (MGI\% \text{ Chi} \text{ obs} \times MGI\% \text{ Obs}(\text{MPEO or MVEO}))/100.$$

MGI%Chi%obs, MGI%MPEO%obs and MGI%MVEO%obs are the individual values of MGI% caused by Chi, MPEO and MVEO alone at the given concentrations, respectively. The effects of Chi and MPEO or MVEO combinations on fungal mycelial growth were achieved using the Abbott index (AI), as follow: $AI = MGI\% \text{ obs}/MGI\% \text{ exp}$. A synergistic effect was assigned for $AI \geq 1.5$, additive effect for $AI \geq 0.5$ to 1.5 and antagonistic effect for $AI < 0.5$ [3,38].

2.6. Evaluation of the effects of Chi and MPEO or MVEO on anthracnose lesion development in papaya during storage

For these assays, the surface (epidermis) of papaya was wounded (five wounds per fruit) using a sterilized needle (3 mm-deep and 2 mm-wide) in the middle region on the same fruit side. Subsequently, each fruit was carefully immersed in 500 mL of the coating-forming dispersions containing the combinations of different Chi and MPEO or MVEO concentrations (Chi: 5 mg/mL; MPEO and MVEO: 0.3, 0.6 or 1.25 $\mu\text{L/mL}$) for 1 min. Fruit were air-dried and kept in a biosafety cabinet for 2 h. Afterwards, for the tested *Colletotrichum* isolate, an agar plug (5 mm diameter) containing mycelia obtained from the margin of a seven-day-old colony grown on PDA at 25 °C was inoculated on the puncture point of an individual fruit. The agar plug was fixed with the aid of a tape on the fruit surface [12,14].

Fruit were immersed for 1 min in sterile distilled water with glycerol (2.5 mL/100 mL; pH 5.6) or in sterile distilled water with the commercial formulation of trifloroxistrobina (0.1 g/L) and tebuconazole (0.2 g/L), which were used as negative and positive control, respectively. The fruit were individually covered with a polyethylene plastic bag to avoid direct contact and placed in containers with a moistened paper towel to generate satisfactory relative humidity and stored under 25 ± 0.5 °C [14,36]. During different storage time intervals (4th, 7th and 10th days), the fruit were examined for visible symptoms of anthracnose and anthracnose lesion diameter measurement. Fruit were evaluated from the 4th to 10th day of storage because the first visible signs of anthracnose lesions in all uncoated/untreated fruit only arose from the 4th day of storage onward.

The results were expressed as percentage of anthracnose lesion diameter reduction (%ALDR) determined by the difference in lesion diameter in fruit coated with the Chi-MPEO or Chi-MVEO combinations or treated with the fungicide formulation (positive control) compared to lesion diameter in uncoated/untreated fruit (negative control) [39], calculated using the formula: $\%ALDR = [(N - F)/N] \times 100$, where N is the

lesion diameter in negative control, and F is the lesion diameter in fruit coated with Chi-MPEO or Chi-MVEO combinations or treated with the fungicide formulation.

2.7. Statistical analysis

The analysis of the effects on fungi mycelial growth was performed in triplicate in three independent experiments. The analyses of the development of anthracnose lesions on fruit were performed using a completely randomized experimental design that consisted of three replicates for each experimental group (treatments) and six fruit per replicate in three independent experiments. All results were expressed as the average values of the data obtained in each replicate. Initially, the data were assessed via descriptive analysis (average and standard deviation) to obtain the description order of the variables. Subsequently, inferential analyses (ANOVA followed by post hoc Tukey's test) were performed to determine differences ($p \leq 0.05$) between the obtained results. The statistical analyses were performed using the computational software Sigma Stat 3.5 (Jandel Scientific Software, San Jose, CA).

3. Results

3.1. Identification of the constituents of MPEO and MVEO

Seven and ten different constituents were identified in amounts $>1\%$ in MPEO and MVEO, respectively. Menthone (52.91%), pulegone (12.81%), menthol (11.42%) and eucalyptol (10.84%) were the constituents identified in the highest amounts in MPEO, while piperitenone oxide (43.38%) and limonene (6.62%) were identified in the highest amounts in MVEO (Table 1). Other constituents identified in MPEO and MVEO were in the range of 1.70% (α -pinene) to 5.21% (caryophyllene) and 1.03% (α -pinene) to 2.31% (sabinene), respectively.

3.2. Effects of Chi, MPEO and MVEO on mycelial growth of *C. brevisporum* and *C. gloeosporioides*

All tested Chi, MPEO and MVEO concentrations caused mycelial growth inhibition toward all *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates (Table 2). Chi at 2.5 and 5 mg/mL Chi caused MGI% in the range of 7.5 to 44.0% and 23.3 to 77.1%, respectively. Chi at 7.5 and 10 mg/mL caused total mycelial growth inhibition (i.e., %MGI: 100%) toward the three tested *C. brevisporum* isolates as well as toward *C. gloeosporioides* CMM 1767, and caused %MGI in the range of 56.0 to 82.9% toward *C. gloeosporioides* CMM 320 and *C. gloeosporioides* CMM 24.

MPEO and MVEO at 0.15, 0.3 and 0.6 $\mu\text{L/mL}$ caused MGI% lower than 55% toward all tested *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates (6.1–38.2%). MGI% values caused by 1.25 $\mu\text{L/mL}$ MPEO and MVEO toward the tested *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates were in the range of 35.4 to 83.7%. MPEO and MVEO at 2.5 $\mu\text{L/mL}$ caused total mycelial growth inhibition toward all tested *C. brevisporum* isolates and toward *C. gloeosporioides* CMM1767, in addition to cause %MGI values in the range of 77.0 to 89.0% toward *C. gloeosporioides* CMM 24 and *C. gloeosporioides* CMM 320.

Overall, the %MGI values caused by Chi, MPEO or MVEO varied with tested concentrations and target *Colletotrichum* isolate. Still, the %MGI values increased when the concentrations of Chi, MPEO and MVEO increased. Concentrations of Chi, MPEO and MVEO that caused MGI% $<100\%$ when tested alone were selected for use in assays to verify their type of interaction against *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum*.

Table 1Constituents identified in the essential oil from *Mentha piperita* L. (MPEO) and *Mentha × villosa* Huds. (MVEO) in amounts >1%.

MPEO				MVEO			
Retention time (min)	Kovats index	Constituent	%	Retention time (min)	Kovats index	Constituent	%
5.949	934	α-Pinene	1.70	5.845	930	α-Pinene	1.03
7.460	988	β-Pinene	3.65	7.075	974	Sabinene	2.31
7.553	991	Eucalyptol	10.84	7.438	987	Myrcene	1.19
12.116	1112	Menthone	52.91	7.542	990	Eucalyptol	2.08
12.549	1122	Menthol	11.42	8.862	1028	Limonene	6.62
18.131	1250	Pulegone	12.81	14.834	1176	Isomenthone	1.78
23.498	1372	Caryophyllene	5.21	19.811	1289	Piperitone	1.17
				23.665	1376	Piperitenone oxide	43.38
				25.561	1419	Caryophyllene	1.46
				28.163	1481	Germacrene	1.22

3.3. Effects of Chi-MPEO and Chi-MVEO combinations on the mycelial growth of *C. brevisporum* and *C. gloeosporioides* and their type of interaction

Combination of 5 mg/mL Chi + 0.6 or 1.25 µL/mL MPEO caused total mycelial growth inhibition (%MGI: 100%) toward the tested *C. brevisporum* and *C. gloeosporioides* isolates, with the exception of *C. gloeosporioides* CMM 320 (5 mg/mL Chi + 0.6 µL/mL caused %MGI of 83.3%) (Table 3). The combination of 7.5 mg/mL Chi + 0.3, 0.6 or 1.25 µL/mL MPEO caused total mycelial growth inhibition (%MGI: 100%) toward *C. gloeosporioides* CMM 24 and *C. gloeosporioides* CMM 320. The combinations of 5 mg/mL Chi + 0.15 µL/mL MPEO and 5 mg/mL Chi + 0.3 µL/mL MPEO caused %MGI values varying from 16.0% (*C. gloeosporioides* CMM 320) to 38.1% (*C. brevisporum* CMM 1728) and 27.4% (*C. brevisporum* CMM 320) to 100% (*C. gloeosporioides* CMM 24, *C. brevisporum* CMM 1936 and *C. brevisporum* CMM 1642), respectively.

All combined concentrations of Chi and MVEO caused total mycelial growth inhibition (%MGI: 100%) toward *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates (Table 4). These data indicate that the combinations of the lowest tested combined concentrations of Chi (5 mg/mL) and MVEO (0.15, 0.3 and 0.6 µL/mL) had overall higher efficacy to inhibit the target isolates in comparison with the same combined concentrations of Chi and MPEO.

The different combined concentrations of Chi and MPEO or MVEO presented synergistic, additive or antagonistic effects considering the determined Abbott index values (Tables 3 and 4). Synergistic effects were observed when Chi and MPEO were combined in a range of concentrations, to cite: 5 mg/mL Chi + 0.3 µL/mL MPEO toward *C. gloeosporioides* CMM 24, *C. brevisporum* CMM 1936 and *C. brevisporum* CMM 1642; 5 mg/mL Chi + 0.6 or 1.25 µL/mL MPEO, 7.5 mg/mL Chi + 0.3 or 0.6 µL/mL MPEO toward *C. gloeosporioides* CMM 320; and 5 mg/mL Chi + 0.3 or 0.6 µL/mL MPEO toward *C. brevisporum* CMM 1936. Only the combination of 5 mg/mL Chi + 0.15 µL/mL MPEO presented antagonistic effects against *C. gloeosporioides* CMM 1767, *C. gloeosporioides* CMM 24 and *C. gloeosporioides* CMM 320.

All the tested combinations of Chi and MVEO presented additive effects against *C. gloeosporioides* CMM 1767 and *C. brevisporum* CMM 1728, and presented synergistic effects against *C. brevisporum* CMM 1936. However, synergistic effects were achieved by 5 or 7.5 mg/mL Chi + 0.15 or 0.3 µL/mL MVEO against *C. gloeosporioides* CMM 24 and *C. gloeosporioides* 320; 5 mg/mL Chi + 0.6 µL/mL MVEO *C. gloeosporioides* CMM 320; and 5 mg/mL Chi + 0.15 or 0.3 µL/mL MVEO against *C. brevisporum* CMM 1642.

The combinations of 5 mg/mL Chi and +0.3, 0.6 or 1.25 µL/mL MPEO or MVEO presented synergistic or additive interactions against the tested *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates, being selected for

Table 2Percent of mycelial growth inhibition (MGI%) of different isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum brevisporum* after a seven-day exposure to different concentrations of chitosan (Chi), *Mentha piperita* L. essential oil (MPEO) and *Mentha × villosa* Huds. essential oil (MVEO) in solid medium (25 °C).

Chi	MGI %					
	<i>C. gloeosporioides</i> CMM 1767	<i>C. gloeosporioides</i> CMM 24	<i>C. gloeosporioides</i> CMM 320	<i>C. brevisporum</i> CMM 1936	<i>C. brevisporum</i> CMM 1642	<i>C. brevisporum</i> CMM 1728
2.5 mg/mL	21.7% (±1.0) ^{cC}	44.0% (±0.8) ^{dA}	37.1% (±0.7) ^{dB}	10.8% (±0.3) ^{cC}	7.8% (±0.8) ^{cD}	7.5% (±0.4) ^{cD}
5 mg/mL	72.5% (±0.4) ^{bA}	52.5% (±0.3) ^{cC}	45.0% (±0.8) ^{cD}	23.3% (±0.4) ^{bE}	57.2% (±0.4) ^{bB}	77.1% (±2.1) ^{bA}
7.5 mg/mL	100% (±0.0) ^{aA}	56.2% (±1.5) ^{bB}	56.0% (±1.6) ^{bB}	100% (±0.0) ^{aA}	100% (±0.0) ^{aA}	100% (±0.0) ^{aA}
10 mg/mL	100% (±0.0) ^{aA}	82.9% (±1.2) ^{aB}	64.3% (±0.9) ^{aC}	100% (±0.0) ^{aA}	100% (±0.0) ^{aA}	100% (±0.0) ^{aA}
MPEO						
0.15 µL/mL	11.5% (±0.2) ^{dBd}	14.0% (±0.4) ^{eB}	7.0% (±1.0) ^{dD}	6.1% (±0.4) ^{eD}	10.0% (±0.6) ^{dA}	10.4% (±0.3) ^{dC}
0.3 µL/mL	15.8% (±1.2) ^{dC}	23.7% (±1.8) ^{dB}	10.8% (±0.7) ^{dD}	16.2% (±0.7) ^{dC}	12.5% (±1.1) ^{dD}	30.0% (±2.0) ^{cA}
0.6 µL/mL	21.3% (±1.8) ^{cE}	38.2% (±1.4) ^{cA}	22.7% (±0.4) ^{cD}	22.6% (±2.0) ^{cD}	27.5% (±0.8) ^{cC}	32.1% (±2.2) ^{cB}
1.25 µL/mL	35.4% (±2.9) ^{bD}	64.4% (±0.5) ^{bB}	51.3% (±1.8) ^{bC}	83.7% (±4.4) ^{bA}	55.8% (±4.4) ^{bC}	58.8% (±1.2) ^{bC}
2.5 µL/mL	100% (±0.0) ^{aA}	84.6% (±1.1) ^{aB}	82.4% (±2.2) ^{aB}	100% (±0.0) ^{aA}	100% (±0.0) ^{aA}	100% (±0.0) ^{aA}
MVEO						
0.15 µL/mL	7.5% (±0.2) ^{eE}	17.8% (±0.6) ^{eA}	11.0% (±1.2) ^{eC}	6.3% (±0.2) ^{eD}	15.8% (±0.8) ^{eB}	12.1% (±0.2) ^{eC}
0.3 µL/mL	20.8% (±0.7) ^{dC}	24.6% (±1.2) ^{dB}	23.5% (±1.4) ^{dC}	11.7% (±1.2) ^{dD}	25.8% (±0.6) ^{dB}	44.6% (±0.5) ^{dA}
0.6 µL/mL	26.2% (±0.9) ^{cC}	44.6% (±1.4) ^{cC}	32.2% (±0.8) ^{cD}	19.2% (±0.7) ^{cE}	46.7% (±1.6) ^{cB}	53.3% (±0.7) ^{cA}
1.25 µL/mL	47.6% (±0.3) ^{bD}	55.3% (±1.5) ^{bC}	53.0% (±0.8) ^{bC}	45.4% (±1.7) ^{bD}	80.8% (±1.2) ^{bA}	65.4% (±0.6) ^{bB}
2.5 µL/mL	100% (±0.0) ^{aA}	89.0% (±1.2) ^{aB}	77.0% (±1.5) ^{aC}	100% (±0.0) ^{aA}	100% (±0.0) ^{aA}	100% (±0.0) ^{aA}

The results are expressed as percent inhibition rates of radial mycelial growth compared with the control treatment (0 µL/mL of Chi, MPEO or MVEO).

^{a-e} Average values in the same column with different lowercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$) based on Tukey's test.

^{A-E} Average values in the same row with different uppercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$) based on Tukey's test.

Table 3

Effects of chitosan (Chi) and *Mentha piperita* L. essential oil (MPEO) alone or in combination on the mycelial growth (expressed as percent of mycelial growth inhibition, MGI%) of different isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum brevisporum*, and their type of interaction as measured by the Abbott method.

Isolates	Combinations	CHI or MPEO alone		CHI and MPEO combination		Abbott method	
		MGI% ^a Chi	MGI% MPEO	MGI% ^b observed	MGI% expected	Abbott index	Effect
C. gloeosporioides CMM 1767	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.15 µL/mL	75.0%	11.5%	25.4%	77.9%	0.3	Antagonism
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	75.0%	15.8%	38.3%	79.0%	0.5	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	75.0%	21.3%	100%	80.3%	1.2	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	75.0%	35.4%	100%	83.9%	1.2	Additive
C. gloeosporioides CMM 24	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.15 µL/mL	52.5%	14.0%	23.3%	59.2%	0.4	Antagonism
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	52.5%	23.7%	100%	63.8%	1.6	Synergism
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	52.5%	41.2%	100%	72.1%	1.4	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	52.5%	64.4%	100%	83.1%	1.2	Additive
	Chi 7.5 mg/mL + MPEO 0.15 µL/mL	56.0%	14.0%	61.5%	62.2%	1.0	Additive
	Chi 7.5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	56.0%	23.7%	100%	66.4%	1.5	Synergism
	Chi 7.5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	56.0%	41.2%	100%	74.1%	1.3	Additive
	Chi 7.5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	56.0%	64.4%	100%	84.3%	1.2	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.15 µL/mL	45.0%	7.0%	16.0%	48.9%	0.3	Antagonism
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	45.0%	10.8%	27.4%	50.9%	0.5	Additive
C. gloeosporioides CMM 320	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	45.0%	22.7%	83.3%	57.5%	1.5	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	45.0%	31.3%	100%	62.2%	1.6	Synergistic
	Chi 7.5 mg/mL + MPEO 0.15 µL/mL	56.0%	7.0%	54.7%	59.1%	0.9	Additive
	Chi 7.5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	56.0%	10.8%	100%	60.7%	1.6	Synergistic
	Chi 7.5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	56.0%	22.7%	100%	66.0%	1.5	Synergistic
	Chi 7.5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	56.0%	31.3%	100%	69.8%	1.4	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.15 µL/mL	23.3%	6.1%	37.2%	28.0%	1.3	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	23.3%	16.2%	100%	35.7%	2.8	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	23.3%	22.6%	100%	40.6%	2.5	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	23.3%	83.7%	100%	87.5%	1.1	Additive
C. brevisporum CMM 1936	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.15 µL/mL	57.2%	10%	37.8%	61.5%	0.6	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	57.2%	12.5%	100%	62.6%	1.6	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	57.2%	27.5%	100%	69.0%	1.5	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	57.2%	55.8%	100%	77.5%	1.3	Additive
C. brevisporum CMM 1642	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.15 µL/mL	77.1%	10.4%	38.1%	79.5%	0.5	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	77.1%	30.0%	85.4%	84.0%	1.0	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	77.1%	32.1%	100%	84.4%	1.2	Additive
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	77.1%	55.8%	100%	89.7%	1.1	Additive

^a MGI%: Percent of radial mycelial growth inhibition.

^b Results expressed as average. Standard deviations were always in a range of ± 0.4 to $\pm 3.9\%$.

use in assays to evaluate the control of anthracnose lesions development in papaya.

3.4. Effects of coatings comprising Chi and MPEO or Chi and MVEO combinations on anthracnose lesion development in papaya during storage

The results of the efficacy of coatings formed by different concentrations of Chi and MPEO or MVEO, as well as of commercial fungicides formulation, to inhibit the development of anthracnose lesion in papaya artificially infected with *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates, during a 10-days storage at 25 °C are presented in Tables 5 and 6, respectively.

For the combinations of Chi and MPEO, the highest %ALDR values were observed in papaya coated with 5 mg/mL Chi + 0.6 µL/mL MPEO (%ALDR: 33–100%) and 5 mg/mL Chi + 1.25 µL/mL MPEO (%ALDR: 49–100%). Total inhibition of the anthracnose lesion development (%ALDR: 100%) during the measured storage period was observed in papaya coated with 5 mg/mL Chi + 0.6 or 1.25 µL/mL MPEO and inoculated with *C. gloeosporioides* CMM 1767 or *C. brevisporum* CMM 1728. Total inhibition of the anthracnose lesion development was observed up to the 7th day of storage in papaya coated with 5 mg/mL Chi + 1.25 µL/mL and inoculated with *C. gloeosporioides* CMM 320 or *C. brevisporum* CMM 1936. Total inhibition of the anthracnose lesion development was also observed up to the 4th day of storage in papaya coated with 5 mg/mL Chi + 0.6 or 1.25 µL/mL MPEO and inoculated with *C. gloeosporioides* CMM 24, as well as in papaya coated 5 mg/mL Chi + 0.6 µL/mL and inoculated with *C. gloeosporioides* CMM 320 and *C. brevisporum* CMM 1936. %ALDR values caused by 5 mg/mL Chi +

0.3 µL/mL MPEO were in range of 23 to 88% during the measured storage period (Table 5).

For the combinations of Chi + MVEO, the highest %ALDR values during storage were observed in papaya coated with 5 mg/mL Chi + 0.6 µL/mL MVEO (%ALDR: 29–100%) and 5 mg/mL Chi + 1.25 µL/mL MVEO (%ALDR: 39.3–100%). Total inhibition of the anthracnose lesion development (%ALDR: 100%) during the measured storage period was observed in papaya coated with 5 mg/mL Chi + 1.25 µL/mL MVEO and inoculated with *C. gloeosporioides* CMM 24; in papaya coated with 5 mg/mL Chi + 0.6 or 1.25 µL/mL MVEO and inoculated with *C. gloeosporioides* CMM 1767 up to the 7th day of storage; in papaya coated with 5 mg/mL Chi + 1.25 µL/mL MVEO and inoculated with *C. gloeosporioides* CMM 24 or *C. gloeosporioides* CMM 320 up to the 7th day of storage; in papaya coated with 5 mg/mL Chi + 0.6 or 1.25 µL/mL MVEO and inoculated with *C. brevisporum* CMM 1936; 5 mg/mL Chi + 1.25 µL/mL MVEO and inoculated with *C. brevisporum* CMM 1728; coated with 5 mg/mL Chi + 0.6 µL/mL MVEO and inoculated with *C. gloeosporioides* CMM 24 and *C. gloeosporioides* CMM 320 up to the 4th day of storage. %ALDR values caused by 5 mg/mL Chi + 0.3 µL/mL MVEO were in range of 15 to 95.2% during the measured storage period (Table 6).

The commercial fungicides formulation used as a positive control only caused a total inhibition of the anthracnose lesion development in papaya inoculated with *C. brevisporum* CMM 1728 up to the 4th day of storage. %ALDR values observed for papaya coated with 5 mg/mL Chi + 0.6 or 1.25 µL/mL MPEO or MVEO were in most cases similar ($p > 0.05$) or higher ($p \leq 0.05$) than those observed for papaya treated with the fungicides (17.9–100%). Furthermore, the coatings formed by 5 mg/mL Chi + 0.3, 0.6 or 1.25 µL/mL MPEO or MVEO presented no phytotoxic effects on papaya (figure in supplementary data).

Table 4
Effects of chitosan (Chi) and *Mentha × villosa* L. Huds. essential oil (MVEO) alone or in combination on the mycelial growth (expressed as percent of mycelial growth inhibition, MGI%) of different isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum brevisporum* and their type of interaction as measured by the Abbott method.

Isolates	Combinations	Chi or MVEO alone		Chi and MVEO combination		Abbott method	
		MGI% ^a Chi	MGI% MVEO	MGI% ^b observed	MGI% expected	Abbott index	Effect
C. gloeosporioides CMM 1767	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.15 µL/mL	75.0%	7.5%	100%	76.9%	1.3	Additive
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 µL/mL	75.0%	20.8%	100%	80.2%	1.2	Additive
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 µL/mL	75.0%	26.2%	100%	81.6%	1.2	Additive
C. gloeosporioides CMM 24	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 µL/mL	75.0%	47.6%	100%	86.9%	1.1	Additive
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.15 µL/mL	52.5%	17.8%	100%	50.9%	2.0	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 µL/mL	52.5%	24.6%	100%	64.2%	1.6	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 µL/mL	52.5%	44.6%	100%	73.7%	1.4	Additive
	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 µL/mL	52.5%	55.3%	100%	78.8%	1.3	Additive
	Chi 7.5 mg/mL + MVEO 0.15 µL/mL	56.2%	17.8%	100%	63.8%	1.6	Synergistic
	Chi 7.5 mg/mL + MVEO 0.30 µL/mL	56.2%	24.6%	100%	66.8%	1.5	Synergistic
	Chi 7.5 mg/mL + MVEO 0.60 µL/mL	56.2%	44.6%	100%	75.6%	1.3	Additive
	Chi 7.5 mg/mL + MVEO 1.25 µL/mL	56.2%	55.3%	100%	80.3%	1.2	Additive
C. gloeosporioides CMM 320	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.15 µL/mL	45.0%	11.0%	100%	51.1%	1.9	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 µL/mL	45.0%	23.5%	100%	57.9%	1.7	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 µL/mL	45.0%	32.2%	100%	62.7%	1.6	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 µL/mL	45.0%	53.0%	100%	74.2%	1.3	Additive
	Chi 7.5 mg/mL + MVEO 0.15 µL/mL	56.0%	11.0%	100%	60.8%	1.6	Synergistic
	Chi 7.5 mg/mL + MVEO 0.30 µL/mL	56.0%	23.5%	100%	66.3%	1.5	Synergistic
	Chi 7.5 mg/mL + MVEO 0.60 µL/mL	56.0%	32.2%	100%	70.2%	1.4	Additive
	Chi 7.5 mg/mL + MVEO 1.25 µL/mL	56.0%	53.0%	100%	79.4%	1.3	Additive
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.15 µL/mL	23.3%	6.3%	100%	28.1%	3.6	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 µL/mL	23.3%	11.7%	100%	32.3%	3.1	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 µL/mL	23.3%	19.2%	100%	38.0%	2.6	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 µL/mL	23.3%	45.4%	100%	58.1%	1.7	Synergistic
C. brevisporum CMM 1936	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.15 µL/mL	57.2%	15.8%	100%	64.0%	1.6	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 µL/mL	57.2%	25.8%	100%	68.2%	1.5	Synergistic
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 µL/mL	57.2%	46.7%	100%	77.2%	1.3	Additive
C. brevisporum CMM 1642	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 µL/mL	57.2%	80.8%	100%	91.8%	1.1	Additive
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.15 µL/mL	77.1%	12.1%	100%	79.9%	1.3	Additive
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 µL/mL	77.1%	44.6%	100%	87.3%	1.1	Additive
C. brevisporum CMM 1728	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 µL/mL	77.1%	53.3%	100%	89.3%	1.1	Additive
	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 µL/mL	77.1%	65.4%	100%	92.1%	1.1	Additive

^a MGI%: Percent of radial mycelial growth inhibition.

^b Results expressed as average. Standard deviations were always in a range of ± 0.4 to $\pm 2.6\%$.

Table 5
Percentage (average $\pm$ standard deviation) of anthracnose lesion diameter reduction in papaya fruit coated with combinations of chitosan (Chi) and *Mentha piperita* L. essential oil (MPEO) or treated with a commercial chemical fungicide formulation (trifloroxystrobin + tebuconazole) and inoculated with different isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* or *Colletotrichum brevisporum*, during 10 days of storage (25 ± 0.5 °C).

Isolates	Treatments	Days of storage		
		4th	7th	10th
C. gloeosporioides CMM 1767	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	67.0% (± 1.9) ^{BB}	76.0% (± 3.6) ^{BA}	67.0% (± 4.5) ^{BB}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	100% (± 0.0) ^{AA}	100% (± 0.0) ^{AA}	100% (± 0.0) ^{AA}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	100% (± 0.0) ^{AA}	100% (± 0.0) ^{AA}	100% (± 0.0) ^{AA}
	Chemical fungicides formulation	17.9 (± 1.4) ^{DC}	31.7 (± 2.9) ^{CB}	42.0% (± 3.0) ^{CA}
C. gloeosporioides CMM 24	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	78.3% (± 3.8) ^{BA}	46.0% (± 1.5) ^{BB}	25.0% (± 2.4) ^{DC}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	100% (± 0.0) ^{AA}	45.0% (± 1.7) ^{BB}	38.0% (± 3.3) ^{BC}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	100% (± 0.0) ^{AA}	63% (± 1.6) ^{AB}	49.0% (± 4.9) ^{AC}
	Chemical fungicides formulation	59.6% (± 2.1) ^{CA}	40.0% (± 3.6) ^{CB}	20.6% (± 1.8) ^{CC}
C. gloeosporioides CMM 320	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	82.0% (± 1.0) ^{BA}	35.0% (± 3.0) ^{CB}	23.0% (± 2.6) ^{CC}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	100% (± 0.0) ^{AA}	53.0% (± 4.4) ^{BB}	33.3% (± 3.1) ^{BC}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	100% (± 0.0) ^{AA}	100% (± 0.0) ^{AA}	73% (± 5.8) ^{AB}
	Chemical fungicides formulation	48.5% (± 1.0) ^{CB}	51.5% (± 3.8) ^{BA}	31.4% (± 2.2) ^{BC}
C. brevisporum CMM 1936	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	86.0% (± 4.0) ^{BA}	88.0% (± 5.1) ^{BA}	41.0% (± 5.5) ^{DB}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	100% (± 0.0) ^{AA}	71% (± 2.8) ^{CB}	64.0% (± 2.5) ^{CC}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	100% (± 0.0) ^{AA}	100% (± 0.0) ^{AA}	75.0% (± 5.0) ^{BB}
	Chemical fungicides formulation	74.5% (± 3.3) ^{CB}	77.3% (± 4.5) ^{CB}	80.2% (± 4.3) ^{AA}
C. brevisporum CMM 1642	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	35.0% (± 2.9) ^{CA}	36.0% (± 2.5) ^{CA}	33.5% (± 0.5) ^{CA}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	55.0% (± 2.6) ^{BB}	60.0% (± 5.2) ^{BA}	33.0% (± 0.2) ^{CC}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	90.0% (± 5.0) ^{AA}	88.0% (± 5.8) ^{AA}	58.0% (± 1.7) ^{AB}
	Chemical fungicides formulation	38.5% (± 1.7) ^{CB}	40.0% (± 2.9) ^{CA}	40.7% (± 2.5) ^{BA}
C. brevisporum CMM 1728	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.3 µL/mL	61.0% (± 4.1) ^{BA}	45.0% (± 2.5) ^{CB}	43.0% (± 5.8) ^{CC}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 0.6 µL/mL	100% (± 0.0) ^{AA}	100% (± 0.0) ^{AA}	100% (± 0.0) ^{AA}
	Chi 5 mg/mL + MPEO 1.25 µL/mL	100% (± 0.0) ^{AA}	100% (± 0.0) ^{AA}	100% (± 0.0) ^{AA}
	Chemical fungicides formulation	100% (± 0.0) ^{AA}	76.4% (± 3.6) ^{BB}	58.0% (± 5.9) ^{BB}

The results are expressed as percentage reduction rates of anthracnose lesion diameter in coated/treated fruit compared with the uncoated/untreated fruit, according to the formula: % ALDR = $[(N - F) / N] \times 100$, where N is the anthracnose lesion diameter in negative control fruit and F is the anthracnose lesion diameter in fruit coated with Chi-MPEO combinations or treated with the chemical fungicides [40].

^{a-c} Average values in the same column with different lowercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Tukey's test.

^{A-C} Average values in the same row with different uppercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Tukey's test.

Table 6

Percentage (average $\pm$ standard deviation) of anthracnose lesion diameter reduction in papaya fruit a coated with combinations of chitosan (Chi) and *Mentha* $\times$ *villosa* Huds. essential oil (MVEO) or treated with a commercial chemical fungicides formulation (trifloroxistrobina + tebuconazole) and inoculated with different isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* or *Colletotrichum brevisporum*, during 10 days of storage (25 ± 0.5 °C).

Isolates	Treatments	Days of storage		
		4th	7th	10th
<i>C. gloeosporioides</i> CMM 1767	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 μ L/mL	93.1% (± 5.1) ^{bA}	47.0% (± 3.0) ^{bb}	22.0% (± 1.2) ^{cc}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 μ L/mL	100% (± 0.0) ^{aA}	100% (± 0.0) ^{aA}	47.0% (± 4.4) ^{bb}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 μ L/mL	100% (± 0.0) ^{aA}	100% (± 0.0) ^{aA}	60.0% (± 0.0) ^{ab}
	Chemical fungicides formulation	17.9% (± 1.2) ^{cc}	31.7% (± 2.3) ^{cb}	42.0% (± 1.6) ^{bA}
<i>C. gloeosporioides</i> CMM 24	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 μ L/mL	85.7% (± 4.2) ^{bA}	48.0% (± 2.4) ^{cb}	42.0% (± 1.0) ^{cc}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 μ L/mL	100% (± 0.0) ^{aA}	80.3% (± 0.2) ^{bA}	75.0% (± 1.4) ^{bA}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 μ L/mL	100% (± 0.0) ^{aA}	100% (± 0.0) ^{aA}	100% (± 0.0) ^{aA}
	Chemical fungicides formulation	59.6% (± 0.9) ^{dA}	40.0% (± 2.9) ^{db}	20.6% (± 1.4) ^{db}
<i>C. gloeosporioides</i> CMM 320	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 μ L/mL	95.2% (± 4.3) ^{bA}	22.0% (± 3.8) ^{db}	15.0% (± 0.9) ^{cc}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 μ L/mL	100% (± 0.0) ^{aA}	34.0% (± 2.2) ^{cb}	35.0% (± 1.0) ^{bb}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 μ L/mL	100% (± 0.0) ^{aA}	100% (± 0.0) ^{aA}	46.0% (± 3.4) ^{ab}
	Chemical fungicides formulation	60.1% (± 0.8) ^{cA}	45.1% (± 3.5) ^{bb}	33.7% (± 1.9) ^{bc}
<i>C. brevisporum</i> CMM 1936	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 μ L/mL	93.0% (± 2.9) ^{bA}	33.0% (± 1.1) ^{dc}	47.0% (± 3.3) ^{bb}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 μ L/mL	100% (± 0.0) ^{aA}	59.0% (± 1.5) ^{bb}	45.0% (± 5.0) ^{bc}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 μ L/mL	100% (± 0.0) ^{aA}	52.0% (± 2.6) ^{cb}	48.0% (± 2.5) ^{bb}
	Chemical fungicides formulation	74.5% (± 3.3) ^{cA}	77.3% (± 2.6) ^{aA}	80.2% (± 4.3) ^{aA}
<i>C. brevisporum</i> CMM 1642	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 μ L/mL	42.0% (± 2.8) ^{bA}	34.0% (± 0.9) ^{cb}	31.0% (± 2.3) ^{cb}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 μ L/mL	45.0% (± 3.0) ^{bA}	43.0% (± 2.5) ^{aA}	29.0% (± 2.6) ^{cb}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 μ L/mL	65.0% (± 4.9) ^{aA}	48.0% (± 2.7) ^{ab}	39.3% (± 1.5) ^{bc}
	Chemical fungicides formulation	38.5% (± 5.7) ^{bA}	40% (± 0.1) ^{bA}	40.7% (± 2.5) ^{aA}
<i>C. brevisporum</i> CMM 1728	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.3 μ L/mL	35.0% (± 3.2) ^{cA}	23.0% (± 2.1) ^{db}	33.0% (± 3.8) ^{cA}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 0.6 μ L/mL	63.0% (± 4.1) ^{bA}	46.0% (± 2.3) ^{cb}	41.0% (± 1.1) ^{bc}
	Chi 5 mg/mL + MVEO 1.25 μ L/mL	100% (± 0.0) ^{aA}	61.0% (± 4.9) ^{aAB}	44.0% (± 0.6) ^{bc}
	Chemical fungicides formulation	100% (± 0.0) ^{aA}	76.4% (± 3.6) ^{ab}	58.0% (± 5.9) ^{aC}

The results are expressed as percentage reduction rates of anthracnose lesion diameter in coated/treated fruit compared with the uncoated/untreated fruit, according to the formula: %ALDR = $[(N - F) / N] \times 100$, where N is the anthracnose lesion diameter in negative control fruit and F is the anthracnose lesion diameter in fruit coated with Chi-MVEO combinations or treated with the chemical fungicides [40].

^{a-c}Average values in the same column with different lowercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Tukey's test.

^{A-C}Average values in the same row with different uppercase letters are significantly different ($p \leq 0.05$), based on Tukey's test.

%ALDR values overall increased when the concentration of MPEO or MVEO in the coating increased and %ALDR values decreased when the storage time increased.

4. Discussion

The oxygenated monoterpenes methone and piperitinone-oxide (also named rotundifolone) were identified as the most prevalent constituents in MPEO and MVEO used in this study, respectively, characterizing these EOs as belonging to the chemotypes most commonly reported in literature [40,27].

Chi at the tested concentrations (2.5, 5, 7.5 and 10 mg/mL) was capable of inhibiting the mycelial growth of all *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates in in vitro assays. However, the highest inhibitory effects were caused by 7.5 and 10 mg/mL Chi, when a total mycelial growth inhibition was observed for most of the tested *Colletotrichum* isolates. The amounts of Chi capable of causing total mycelial growth inhibition on *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* in this study are lower than those reported by previous investigations using *C. gloeosporioides* [9,41] and *C. asianum*, *C. fructicola*, *C. tropicale*, *C. siamense* and *C. karstii* [14]. The antifungal properties of Chi have been commonly associated with the interactions between positively charged Chi molecules and negatively charged fungal cell membranes, causing alterations in membrane permeability and loss of electrolytes and other intracellular constituents important for fungal growth and survival [20,14,42,43].

MPEO and MVEO (0.15–2.5 μ L/mL) also exerted inhibitory effects on the mycelial growth of all tested *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates. The highest inhibitory effects were caused by 1.25 and 2.5 μ L/mL MPEO and MVEO. The inhibitory effects on fungal mycelial growth observed in this study were higher or close to those reported by early investigations evaluating the effects of *Mentha* EOs on the mycelial

growth of fungi associated with fruit decay. The results of these early investigations also revealed overall that the inhibitory effects on fungal growth increased when the *Mentha* EOs concentrations increased [21,44].

The antifungal properties of MPEO and MVEO could be primarily associated with the abilities of their most prevalent constituents, menthone and piperitinone-oxide, respectively, to induce depolarization and physical or chemical alterations in fungal cell membranes, disrupting various metabolic activities [45]. However, terpenes present in MPEO and MVEO (e.g., eucalyptol, menthol, β -pinene, limonene and caryophyllene) in lower amounts can also disturb enzymatic reactions and synthesis in fungal cells, discontinuing the energy metabolism and, consequently, affecting the morphogenesis and hyphae/mycelial growth [46,47]. No study reporting the effects of MPEO and MVEO on the mycelial growth of *C. gloeosporioides*, as well as of Chi, MPEO or MVEO on the mycelial growth of *C. brevisporum* was found in available literature.

Different combinations of Chi (5 and 7.5 mg/mL) and MPEO or MVEO (0.15, 0.3, 0.6 and 1.25 μ L/mL) showed overall higher inhibitory effects on the mycelial growth of tested *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates when compared to these substances acting alone, which resulted in additive or synergistic interactions. These results indicate the possibility of reducing the active doses of Chi and MPEO or MVEO when applied in combination to inhibit pathogenic *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum*. The results obtained in this study are in agreement with the available literature that commonly report increased efficacy of the combined use of Chi and EOs against phytopathogenic fungi [39,48–51].

The occurrence of additive or antagonistic interactions from the tested combined concentrations of Chi and MPEO or MVEO should be associated with the high inhibition rates toward the target fungi observed when Chi was tested alone. This high inhibition rate increases

the possibility to reach an additive or antagonistic interaction rather than a synergistic interaction when Chi is tested in combination with other antifungal substances, mostly when the type of interaction is determined using the AI [14,38].

The coating formed by tested combined concentrations of Chi (5 mg/mL) and MPEO or MVEO (0.3, 0.6 and 1.25 µL/mL) were effective to decrease the development of anthracnose lesion in papaya artificially contaminated with pathogenic *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates during 10 days of storage. These findings are in agreement with the results of previous investigations that showed the efficacy of combinations of Chi and MPEO to reduce the development of anthracnose lesions in mango artificially inoculated with *Colletotrichum asianum*, *C. fructicola*, *C. tropicale*, *C. siamense* or *C. karstii* isolates [14]. No early study reporting the effects of coatings comprising Chi and MPEO or MVEO on the development of anthracnose caused by *C. gloeosporioides* or *C. brevisporum* in fruit was found in available literature.

The coatings formed by 5 mg Chi + 0.6 or 1.25 µL/mL MPEO or MVEO was overall similarly or more effective to inhibit the development of anthracnose lesions induced by either of the tested *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* isolates in papaya during storage when compared to a commercial fungicide formulation (trifloroxistrobina + tebuconazole). For most of the tested combined Chi and MPEO or MVEO concentrations, as well as for the commercial fungicides formulation, the reduction of anthracnose lesion development decreased when the storage time increased. These findings should be related with the increase in fruit ripening during the measured storage period, since it has been typically associated with increased fruit susceptibility to pathogenic *Colletotrichum* species [12].

Furthermore, losses of MPEO and MVEO constituents into coatings due to volatilization should be also related to decreased efficacy of the tested coatings to control anthracnose in papaya with the increase of the storage time [19,20]. However, it has been reported that incorporation of EOs into Chi-based coatings reduces the diffusion process of EOs constituents on fruit surface, extending their efficacy to inhibit fungal infection and fruit decay compared to the application of EOs alone [51,52].

In conclusion, the combination of different concentrations of Chi and MPEO or MVEO exerted additive or synergistic interactions toward different isolates of *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum* previously identified as causative agents of papaya anthracnose. Coatings formed by combined additive or synergistic concentrations of Chi and MPEO or MVEO caused partial or total inhibition of anthracnose lesion development in papaya artificially inoculated with these isolates during 10 days of storage. The application of coatings formed by selected Chi and MPEO or MVEO concentrations could be considered in strategies for the management of papaya anthracnose caused by *C. gloeosporioides* and *C. brevisporum*. The use of these coatings may reduce the amount of fungicides used to control postharvest diseases in papaya and also increase the fruit shelf-life.

Acknowledgments

The authors thank the CNPq – Brazil (Grant numbers 403122/2016-3 and 408724/2018-8) and CAPES – Brazil (Finance code 001) for funding this research. E.L. de Souza, PhD and M. P.S. Câmara, PhD are research productivity fellows from CNPq (Brazil). W.A.S. Vieira, PhD is a research fellow from Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE, Grant #BFP-0040-5.01/16).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.010>.

References

- [1] V. Sharma, Evaluation of incidence and alternative management of post-harvest fungal diseases of papaya fruits (*Carica papaya* L.) in Western U.P., *Int. J. Theor. Appl. Sci.* 7 (2015) 6–12.
- [2] FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division (FAOSTAT), <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> 2017, Accessed date: 4 March 2019.
- [3] B. Chutichudet, P. Chutichudet, Effects of chitosan or calcium chloride on external postharvest qualities and shelf-life of ‘Holland’ papaya fruit, *J. Agric. Sci.* 6 (2014) 160.
- [4] S.L. Lakshmi, R. Abirami, R. Pushkala, N. Srividya, Enhancement of storage life and quality maintenance of papaya fruits using *Aloe vera* based antimicrobial coating, *Indian J. Biotechnol.* 10 (2011) 83–89.
- [5] E. Bosquez-Molina, E. Ronquillo-de Jesús, S. Bautista-Baños, J.R. Verde-Calvo, J. Morales-López, Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings, *Postharvest Biol. Technol.* 57 (2010) 132–137.
- [6] B. Madani, M.T.M. Mohamed, A.R. Biggs, J. Kadir, Y. Awang, A. Tayebimeigoooni, T.R. Shojaei, Effect of pre-harvest calcium chloride applications on fruit calcium level and post-harvest anthracnose disease of papaya, *Crop Prot.* 55 (2014) 55–60.
- [7] A. Ali, T. Wee Pheng, M.A. Mustafa, Application of lemongrass oil in vapour phase for the effective control of anthracnose of ‘Sekaki’ papaya, *J. Appl. Microbiol.* 118 (2015) 1456–1464.
- [8] M. Hu, D. Yang, D.J. Huber, Y. Jiang, M. Li, Z. Gao, Z. Zhang, Reduction of postharvest anthracnose and enhancement of disease resistance in ripening mango fruit by nitric oxide treatment, *Postharvest Biol. Technol.* 97 (2014) 115–122.
- [9] S. Bautista-Baños, M. Hernández-López, E. Bosquez-Molina, C.L. Wilson, Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit, *Crop Prot.* 22 (2003) 1087–1092.
- [10] W.A. Vieira, R.J. Nascimento, S. Michereff, K.D. Hyde, M.P.S. Câmara, First report of papaya fruit anthracnose caused by *Colletotrichum brevisporum* in Brazil, *Plant Dis.* 97 (2013) 1659.
- [11] H. Rahman, L.R. Shovan, L.G. Hjeljord, B.B. Aam, V.G.H. Eijssink, M. Sørli, A. Tronsmo, Inhibition of fungal plant pathogens by synergistic action of chito-oligosaccharides and commercially available fungicides, *PLoS One* 9 (2014) 1–10.
- [12] P.D.L. Oliveira, K.A.R. de Oliveira, W.A.S. Vieira, M.P.S. Câmara, E.L. de Souza, Control of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in guava, mango and papaya using synergistic combinations of chitosan and *Cymbopogon citratus* (D.C. ex Nees) Stapf. essential oil, *Int. J. Food Microbiol.* 266 (2018) 87–94.
- [13] N.N. Van Long, C. Joly, P. Dantigny, Active packaging with antifungal activities, *Int. J. Food Microbiol.* 220 (2016) 73–90.
- [14] K.A.R. de Oliveira, L.R.R. Berger, S.A. de Araújo, M.P.S. Câmara, E.L. de Souza, Synergistic mixtures of chitosan and *Mentha piperita* L. essential oil to inhibit *Colletotrichum* species and anthracnose development in mango cultivar Tommy Atkins, *Food Microbiol.* 66 (2017) 96–103.
- [15] A. Ali, N. Zahid, S. Manickam, Y. Siddiqui, P.G. Alderson, M. Maqbool, Induction of lignin and pathogenesis related proteins in dragon fruit plants in response to submicron chitosan dispersions, *Crop Prot.* 63 (2014) 83–88.
- [16] A. Ali, W.L. Chow, N. Zahid, M.K. Ong, Efficacy of propolis and cinnamon oil coating in controlling post-harvest anthracnose and quality of chilli (*Capsicum annuum* L.) during cold storage, *Food Bioprocess Technol.* 7 (2014) 2742–2748.
- [17] A. El Asbahani, K. Miladi, W. Badri, M. Sala, E.H. Ait Addi, H. Casabianca, A. El Mousadik, D. Hartmann, A. Jilale, F.N. Renaud, A. Elaissari, Essential oils: from extraction to encapsulation, *Int. J. Pharm.* 483 (2015) 220–243.
- [18] E.L. de Souza, The effects of sublethal doses of essential oils and their constituents on antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance among food related bacteria: a review, *Int. J. Food Microbiol.* 56 (2016) 1–12.
- [19] L.L. Sousa, S.C.A. Andrade, A.J.A.A. Athayde, C.E.V. de Oliveira, C.V. Sales, M.S. Madruga, E.L. de Souza, Efficacy of *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils in combination to control postharvest pathogenic *Aspergillus flavus* and autochthonous mycoflora in *Vitis labrusca* L. (table grapes), *Int. J. Food Microbiol.* 165 (2013) 312–318.
- [20] I.C.D. Guerra, P.D.L. de Oliveira, A.L.S. Pontes, A.S.S.C. Lúcio, J.F. Tavares, J.M. Barbosa-Filho, M.S. Madruga, E.L. de Souza, 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, *Int. J. Food Microbiol.* 214 (2015) 168–178.
- [21] I.C.D. Guerra, P.D.L. Oliveira, M.M.S. Fernandes, A.S.S.C. Lúcio, J.F. Tavares, J.M. Barbosa-Filho, M.S. Madruga, E.L. de Souza, 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, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 34 (2016) 112–121.
- [22] A.K. Tyagi, A. Malik, Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms, *Food Control* 22 (2011) 1707–1714.
- [23] E.T.C. Almeida, I.M. Barbosa, J.F. Tavares, J.M. Barbosa-Filho, M. Magnani, E.L. de Souza, Inactivation of spoilage yeasts by *Mentha spicata* L. and *M. x villosa* Huds. essential oils in cashew, guava, mango, and pineapple juices, *Front. Microbiol.* (2018) <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01111>.
- [24] S. Burt, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review, *Int. J. Food Microbiol.* 94 (2004) 223–253.
- [25] P. Kumar, S. Mishra, A. Malik, S. Satya, Insecticidal properties of *Mentha* species: a review, *Ind. Crop. Prod.* 34 (2011) 802–817.
- [26] L. Riahi, M. Elferchichi, H. Ghazghazi, J. Jebali, S. Ziadi, C. Aoadhi, H. Chograni, Y. Zauouli, N. Zoghalmi, A. Mliki, Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial

- activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia, Ind. Crop. Prod. 49 (2013) 883–889.
- [27] T.C. Lima, T.K.M. Silva, F.L. Silva, J.M. Barbosa-Filho, M.O.M. Marques, R.L. Santos, S.C.H. Cavalcanti, D.P. Sousa, Larvicidal activity of *Mentha x villosa* Hudson essential oil, rotundifolone and derivatives, Chemosphere 104 (2014) 37–43.
- [28] A. Ali, N.M. Noh, M.A. Mustafa, Antimicrobial activity of chitosan enriched with lemongrass oil against anthracnose of bell pepper, Food Packag. Shelf Life 3 (2015) 56–61.
- [29] A.V. Costa, M.V.L. de Oliveira, R.T. Pinto, L.C. Moreira, E.M.C. Gomes, T.A. Alves, P.F. Pinheiro, V.T. Queiroz, L.F.A. Vieira, R.R. Teixeira, W.C.J. Júnior, Synthesis of novel glycerol-derived 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities, Molecules 22 (2017) 1–15.
- [30] J.S. Tatagiba, J.R. Liberato, L. Zambolim, J.A. Ventura, H. Costa, Control and environmental conditions that favor papaya anthracnose, Fitopatol. Bras. 27 (2002) 186–192 (In Portuguese).
- [31] R.P. Adams, Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois (USA, 2001 (456p).
- [32] J.P. de Sousa Guedes, J.A. da Costa Medeiros, E.R.S. de Souza Silva, J.M. de Sousa, M.L. da Conceição, E.L. de Souza, The efficacy of *Mentha arvensis* L. and *M. piperita* L. essential oils in reducing pathogenic bacteria and maintaining quality characteristics in cashew, guava, mango, and pineapple juices, Int. J. Food Microbiol. 238 (2016) 183–192.
- [33] M. Maqbool, A. Ali, P.G. Alderson, M.T.M. Mohamed, Y. Siddiqui, N. Zahid, Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage, Postharvest Biol. Technol. 62 (2011) 71–76.
- [34] S.M. Ojagh, M. Rezaei, S.H. Razavi, S.M.H. Hosseini, Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout, Food Chem. 120 (2010) 193–198.
- [35] B.X. Camiletti, C.M. Asensio, M.D.L.P.G. Pecci, E.I. Lucini, Natural control of corn post-harvest fungi *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. using essential oils from plants grown in Argentina, J. Food Sci. 79 (2014) 499–506.
- [36] N.B. Lima, W.G. Lima, J.M. Tovar-Pedraza, S.J. Michereff, M.P.S. Câmara, Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil, Eur. J. Plant Pathol. 141 (2015) 679–688.
- [37] B.X. Camiletti, C.M. Ansensio, L.C. Gadban, M.P.G. Pecci, M.P.G., M.Y. Conles, E.I. Lucini, Essential oils and their combinations with iprodione fungicide as potential antifungal agents against the rot (*Sclerotium cepivorum* Berk) in garlic (*Allium sativum* L.) crops, Ind. Crop. Prod. 85 (2016) 117–124.
- [38] E. Kosman, Y. Cohen, Procedures for calculating and differentiating synergism and antagonism in action of fungicide mixtures, Phytopathology 86 (1996) 1263–1272.
- [39] K. Munhuweyi, O.J. Caleb, C.L. Lennox, A.J.V. Reenen, U.L. Opara, *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of chitosan-essential oils against pomegranate fruit pathogens, Postharvest Biol. Technol. 29 (2017) 9–22.
- [40] D. Grulova, L. de Martino, E. Mancini, I. Salamon, V. de Feo, Seasonal variability of the main components in essential oil of *Mentha x piperita* L, J. Sci. Food Agric. 95 (2015) 621–627.
- [41] A. Ali, M.T.M. Muhammad, K. Sijam, Y. Siddiqui, Potential of chitosan coating in delaying the postharvest anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) of Eksotika II papaya, Int. J. Food Sci. Technol. 45 (2010) 2134–2140.
- [42] R.A.A. Muzzarelli, C. Muzzarelli, R. Tarsi, M. Miliani, M., F. Gabbanelli, M. Cartolari, Fungistatic activity of modified chitosans against *Saprolegnia parasitica*, Biomacromolecules 2 (2001) 165–169.
- [43] N. Zahid, A. Ali, S. Manickam, Y. Siddiqui, M. Maqbool, Potential of chitosan-loaded nanoemulsions to control different *Colletotrichum* spp. and maintain quality of tropical fruits during cold storage, J. Appl. Microbiol. 113 (2012) 925–939.
- [44] M. Mohammad, M. Pourbaige, H.K. Tabar, H.K., N. Farhadi, S.M.A. Hosseini, Composition and antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita*) essential oil from Iran, J. Essent. Oil Bear. Plants 16 (2013) 506–512.
- [45] A. Ait-Ouazzou, S. Lorán, A. Arakrak, A. Laglaoui, C. Rota, A. Herrera, Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco, Food Res. Int. 45 (2012) 313–319.
- [46] Y. Hu, J. Zhang, W. Kong, G. Zao, M. Yang, Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*, Food Chem. 220 (2017) 1–8.
- [47] I. Rasooli, M.B. Rezaei, A. Allameh, Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus xporlock*, Food Control 17 (2006) 359–364.
- [48] K. Monzón-Ortega, M. Salvador-Figueroa, D. Gálvez-López, R. Rosas-Quijano, I. Ovando-Medina, A. Vázquez-Ovando, Characterization of Aloe vera-chitosan composite films and their use for reducing the disease caused by fungi in papaya Maradol, J. Food Sci. Technol. 55 (2018) 4747–4757.
- [49] N.S.T. Santos, A.J.A.A. Aguiar, C.E.V. de Oliveira, C.V., de Sales, S.M. Silva, R.S. Silva, T.C.M. Stamford, E.L. de Souza, Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.), Food Microbiol. 32 (2012), 345–353.
- [50] D. Xu, H. Qin, D. Ren, Prolonged preservation of tangerine fruits using chitosan/montmorillonite composite coating, Postharvest Biol. Technol. 143 (2018) 50–57.
- [53] L. Sanchez-Gonzalez, C. Pastor, M. Vargas, A. Chiralt, C. Gonzalez-Martinez, M. Chafer, Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes, Postharvest Biol. Technol. 60 (2011) 57–63.
- [54] D. Sivakumar, S. Bautista-Baños, A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage, Crop Prot. 64 (2014) 27–37.

APÊNDICE B - ARTIGO 2

Characterization of edible coatings formulated with chitosan and *Mentha* essential oils and their use to preserve papaya (*Carica papaya* L.). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 65, 2020.



Characterization of edible coatings formulated with chitosan and *Mentha* essential oils and their use to preserve papaya (*Carica papaya* L.)

Selma dos Passos Braga^a, Marciane Magnani^b, Marta Suely Madruga^c, Mércia de Souza Galvão^c, Lorena Lucena de Medeiros^c, André Ulisses Dantas Batista^d, Rebeca Tibau Aguiar Dias^d, Lucas Ricardo Fernandes^e, Eliton Souto de Medeiros^e, Evandro Leite de Souza^{a,*}

^a Laboratory of Food Microbiology, Department of Nutrition, Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^b Laboratory of Microbial Processes in Foods, Department of Food Engineering, Center of Technology, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^c Laboratory of Flavor, Department of Food Engineering, Center of Technology, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^d Integrated Laboratory of Biomaterials, Department of Restorative Dentistry, Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^e Laboratory of Materials and Biosystems, Center of Technology, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Edible coating
Polymer
Mentha
Characterization
Papaya
Quality

ABSTRACT

This study evaluated physicochemical and roughness surface characteristics of edible coatings formulated with chitosan (Chi, 5 g/L) and *Mentha x villosa* Huds (MVEO, 0.6 and 1.2 mL/L) or *M. piperita* L. essential oil (MPEO, 0.6 and 1.2 mL/L) and measured the effects of these coatings on quality parameters of papaya during cold storage. MVEO and MPEO affected positively coating thermal stability. Chi + MVEO or MPEO coatings had homogeneous surfaces. Papaya coated with Chi + MVEO or MPEO had decreased firmness, weight loss, total soluble solids and enzymatic activity, as well as delayed evolution of pulp and peel colour during storage when compared to uncoated papaya. Formulated coatings did not affect papaya sensory acceptability. These results indicate occurrence of interactions and molecular compatibility among Chi and MVEO or MPEO to form coatings. Application of Chi + MVEO or MPEO coatings caused delayed maturation without negative effects on papaya postharvest quality.

Industrial relevance: Papaya is a fruit with important market value and good acceptance by consumers, but with short shelf life due to a fast maturation process and susceptibility to phytopathogenic fungi, being necessary the use of effective strategies to preserve this fruit. Edible coatings formulated with antifungal additive or synergistic mixtures of Chi and MVEO or MPEO had satisfactory thermal stability, homogeneous surfaces and ability to form physical barriers on papaya, causing maintenance or improvements of physical, physicochemical and sensory characteristics of papaya during cold storage. Formulated edible coatings could be innovative strategies to preserve papaya with functionalities related to the control of fungal rot and parameters indicative of postharvest quality and more prolonged fruit storability.

1. Introduction

Papaya (*Carica papaya* L.) is a tropical fruit appreciated worldwide (Wu et al., 2019) and an economically important crop in many countries. Papaya is a climacteric fruit with a maturation process after harvest characterized by a range of metabolic processes, causing physical and chemical alterations mainly perceived by consumers because of pulp softening and skin colour alterations (Escamilla-García et al., 2018). Typical intense metabolic activity in papaya after harvest results in fast maturation and short shelf life (Batista et al., 2020), besides to

increased papaya susceptibility to fungal diseases (Sivakumar & Bautista-Baños, 2014), demanding the application of effective post-harvest strategies to preserve this fruit.

Edible coatings are thin layers of edible components self-assembled when applied directly on fruit by spraying or dipping with the purpose of prolonging fruit storability (Ali et al., 2011; Batista et al., 2020). Chitosan (Chi) has been used to formulate edible coatings because of its capability of forming dispersions when solubilized in acidic solutions with viscosity enough to form a continuous coating layer on fruit (Mujtaba et al., 2019). Use of Chi-based coatings to maintain the

* Corresponding author at: Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição, Campus I – Cidade Universitária, CEP: 58051-900 João Pessoa, Paraíba, Brazil.

E-mail address: evandroleitesouza@ccs.ufpb.br (E.L. de Souza).

<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102472>

Received 8 June 2020; Received in revised form 9 July 2020; Accepted 22 July 2020

Available online 28 July 2020

1466-8564/ © 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

postharvest quality of fresh fruit has been linked to their ability to delay metabolic processes and control microbial infections in coated fruit (Rajoka et al., 2019). However, Chi has relatively poor mechanical and barrier properties primarily due to abundance of hydrophilic groups in its molecule, increasing the reactivity of this polymer with water and causing dissolution or swelling of Chi-based coatings. Strategies to improve these features in Chi-based coatings could consider the reinforcement of these matrices (Souza et al., 2017).

Incorporation of hydrophobic substances, such as essential oils, in Chi-based coatings could improve the physical properties of the coating-forming matrices when applied on fruit (Shen & Kamdem, 2015; Souza et al., 2017). Essential oils have shown to decrease opacity, solubility and swelling properties, besides to improve light barrier and protection against oxidative process in Chi-based coatings (Souza et al., 2017). Essential oils are substances naturally found in aromatic plants, being formed by a complex mixture of components, many of which with hydrophobic characteristics and antimicrobial properties (Shetta et al., 2019; Sivakumar & Bautista-Baños, 2014), which could improve physicochemical and functional features of Chi-based coatings (Shetta et al., 2019). High volatility of essential oils has been a possible disadvantage for their direct application on fruit (Shen & Kamdem, 2015). However, the incorporation of essential oils into Chi-based coatings could be a strategy to reduce their volatility and maintain an effective dose of active constituents in contact with fruit for a more prolonged period (Sanchez-Gonzalez et al., 2011).

An early study found additive or synergistic interactions from combined application of Chi (5 g/L) and *Mentha villosa* Huds or *M. piperita* L. essential oil (0.6 and 1.2 µL/mL) to inhibit different *Colletotrichum* species capable of inducing anthracnose development in papaya. Additionally, these synergistic or additive antifungal mixtures of Chi and *M. villosa* (MVEO) or *M. piperita* essential oil (MPEO) decreased anthracnose severity in papaya during cold storage, with inhibition rates similar or higher than those caused by a commercial synthetic antifungal formulation ordinarily used in papaya orchards (Braga et al., 2019). However, the characterization of coatings formulated with these antifungal mixtures of Chi and MVEO or MPEO, as well as the measurements of their effects on parameters indicative of overall postharvest quality of papaya have been lacking.

This study evaluated the physicochemical and surface roughness characteristics of coatings formulated with additive or synergistic antifungal mixtures of Chi and MVEO or MPEO, as well as the effects of these coatings on physical, physicochemical and sensory parameters of papaya during cold storage.

2. Material and methods

2.1. Materials

Papaya cv papaya (*C. papaya* L.) were purchased at a local supermarket (João Pessoa, Paraíba, Brazil) with a degree of maturity two (fruit with up to ¼ of the surface yellow, surrounded by light green colour) (Pereira et al., 2009) and selected based on uniformity of colour, size and absence of visible infection and mechanical and physiological injuries (Braga et al., 2019). Chitosan (Chi) with medium molecular weight (5.6×10^5 g/mol, deacetylation degree 75–85%) was obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MA, USA). MVEO and MPEO extracted from leaves and branches of respective plant species using steam distillation were obtained from Ferquima Ind. Ltda (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brazil) and Hebron® (Caruaru, Pernambuco, Brazil), respectively. Piperitone-oxide (43.4 g/100 g) and menthone (52.9 g/100 g) were identified as the major constituents in MVEO and MPEO, respectively (Braga et al., 2019). MVEO and MPEO were tested separately in experiments.

2.2. Formulation and application of coatings on papaya

Coatings were prepared by dissolving Chi (5 g/L) in a 10 mL/L acetic acid aqueous solution under stirring (120 rpm) at room temperature (25 ± 0.5 °C) for 18 h, after which the pH was adjusted to 5.6 with 3 M NaOH (Química Moderna, Barueri, São Paulo, Brazil) or 0.1 M HCl (Química Moderna). MVEO and MPEO (final concentrations 0.6 and 1.2 mL/L) were directly incorporated into the Chi dispersion, stirred (120 rpm) for 6 h at room temperature (25 ± 0.5 °C) and added of Tween 80 (10 mL/L, Sigma-Aldrich) as a stabilizing agent and glycerol (25 mL/L; Sigma-Aldrich) as a plasticizing agent just after MVEO or MPEO incorporation (Braga et al., 2019).

Each fruit was immersed into 500 mL of a coating dispersion (5 g/L Chi + 0.6 or 1.2 mL/L MPEO or MVEO). Immersion of fruit in sterile distilled water with glycerol (25 mL/L; pH 5.6) was used for a fruit control group. Fruit were air-dried, placed on polyethylene trays and stored at 12 ± 0.5 °C. This temperature was selected because 12–13 °C is the recommended storage temperature of papaya with degree of maturity two for reaching approximately 21 days of storability (Kader et al., 2002; Pereira et al., 2009). On different storage time intervals (day 1, 10 and 20), uncoated and coated fruit were evaluated for physical and physicochemical characteristics. Sensory parameters of uncoated and coated fruit were evaluated on day 10 and 20 of storage. A coating with only Chi (5 g/L) was formulated for evaluation of its physicochemical characteristics and surface roughness parameters when applied on papaya.

2.3. Measurements of physicochemical characteristics of coatings

Physicochemical characteristics of coatings formulated with only Chi (5 g/L) and Chi (5 g/L) + MVEO or MPEO (0.6 and 1.2 mL/L) were examined with spectroscopic analyzes in infrared region, differential scanning calorimetry and thermogravimetry. For preparation of coatings subjected for physicochemical analyses, Chi, Chi + MVEO and Chi + MPEO dispersions (15 mL) were layered on a sterile Petri dish and allowed to dry for 48 h at room temperature (25 ± 0.5 °C) (Abdollahi et al., 2012; Peng et al., 2013).

2.3.1. Fourier transform infrared spectroscopy

Spectra were obtained for a wavenumber range of 400 and 4000 cm^{-1} with a resolution of 4 and 64 scans using a Shimadzu FTIR (Model Prestige-21 IR Affinity-1 FTIR 8400S, Kyoto, Japan) (Guo et al., 2019).

2.3.2. Differential scanning calorimetry

Differential scanning calorimetry measurements were done with a thermal analyzer (DSC-60 Plus, Shimadzu). Differential scanning calorimetry curves were obtained under dynamic N_2 atmosphere. Coatings were arranged in a hermetically sealed aluminum crucible of approximately 3–5 mg, subjected to a heating and cooling rate of 10 °C/min and gas flow of 50 mL/min under inert argon atmosphere. Analyses were done on two heating ramps from room temperature to 300 °C, followed by a cooling ramp (Velo et al., 2019).

2.3.3. Thermogravimetric analysis

Thermal stability of coatings was measured with thermogravimetric curves using a thermogravimetric analyzer (DTG-60H, Shimadzu) with temperature program of 25–500 °C, heating rate of 10 °C/min and flow rate of 50 mL/min under a nitrogen atmosphere (Mendes et al., 2015).

2.3.4. Surface roughness analysis

Surface roughness analysis of coatings was done with a non contact 3D optical profiler (Talysurf CCI MP, Leicester, UK) connected to a computerized unit. An 8 µm-coating cut-off was used with a 50× lens, numerical aperture of 0.4 and 1× scanning speed in XY mode (0.3 µm × 0.3 µm). Five measurements were done for each sample,

being one on central area and two according to the movement of lens (2 mm to the right, left, down and up) following a cross design. Final roughness of Ra and Sa standards (μm), indicating average roughness and average height of the coating surfaces, respectively, was obtained by averaging five points of coating samples (Soares et al., 2019). Surface roughness of papaya, as well as of coatings with Chi, Chi + MVEO and Chi + MPEO formed on papaya were also analyzed.

2.4. Measurements of physical, physicochemical and instrumental colour parameters in papaya

Weight loss measurements were expressed as a percentage of fruit weight loss on each pre-established storage time compared to initial weight (time zero) (Oliveira et al., 2020). Fruit firmness was measured with a TA-XTplus texture analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Goldalming, UK) using a P-6 mm diameter stainless steel cylinder probe in compression mode with pre-test, test and post-test speed of 2, 1 and 10 mm/s, respectively. Results were expressed as force Newton (N) (Mendy et al., 2019).

Peel and pulp colour was measured with a CIELab system: L* (0: dark, 100: hite), a* (negative value: green, positive value: red) and b* (negative value: blue, positive value: yellow). Measurements were taken from four equidistant points of peel and pulp after removal of fruit epidermis. Readings were done at room temperature ($25 \pm 0.5^\circ\text{C}$) with a CR400 portable Konica Minolta colorimeter (Osaka, Japan) after calibration with a porcelain plate (CR-A43). Calculation of Hue angle ($^\circ\text{Hue}$ value) and Chroma (C) values were done with the equations: $^\circ\text{Hue value} = \arctan(b^*/a^*)$ and $C \text{ value} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ (Liu et al., 2007).

pH was measured with a digital pHmeter (Quimis, Diadema, São Paulo, Brazil) calibrated with a buffer at pH 7 and 4 before use (AOAC, 2016). Total soluble solids (TSS) were measured in papaya pulp with a digital refractometer Brix/RI Chek Model (Reichert Analytical Instruments, Depew, NY, USA) calibrated with distilled water before readings. Results were expressed in % of TSS (AOAC, 2016). Titrable acidity (TA) was measured by titration. Ten g of papaya pulp was homogenized with 50 mL of distilled water and filtered with a qualitative filter paper. Filtrate (10 mL) was titrated with 0.1 M NaOH using phenolphthalein as an indicator. Results were expressed as g citric acid equivalent per 100 g of pulp (AOAC, 2016).

2.5. Measurements of sugar and organic acid contents

Aqueous extracts of uncoated and coated papaya were prepared with homogenization of 2 g of pulp with 10 mL of ultra-pure water (Milli-Q® Type 1 Ultrapure Water Systems, Merk, Darmstadt, Germany) for 10 min using a mini-Turrax apparatus (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil), centrifuged (4000 xg, 15 min, 4°C) and filtered with an 0.45- μm filter (Millipore, Bedford, MA, USA). Sugar and organic acid contents were measured in aqueous extracts with high performance liquid chromatography using a chromatograph (Varian, Waters, CA, USA) equipped with a binary solvent system, 'Rheodyne' valve with a 20- μL loop, coupled with a diode array detector (Varian 330) at wavelengths of 220–275 nm and a pumping system with high pressure gradient setting (Varian 230). Sugar and organic acid separation was done with an Agilent Hi-Plex Ca column ($7.7 \times 300 \text{ mm}$, $8 \mu\text{m}$, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) at 65°C . Sugar separation was done with ultra-pure water as mobile phase and flow rate of 0.6 mL/min. Organic acid separation was done with sulphuric acid (0.009 M) as mobile phase and flow rate of 0.7 mL/min. Data were processed with GALAXIE Chromatography Data System software (Varian). Sugar and organic acid quantification was done with the equation of the line constructed from injection of external standards of sugars (glucose, fructose and sucrose) and organic acids (citric, malic and oxalic) (Sigma-Aldrich). Results were expressed as g/kg on a fruit pulp weight basis (Barreto et al., 2016).

2.6. Measurements of enzymatic activity

Activity of polyphenoloxidase and peroxidase was measured from an extract prepared from papaya pulp crushed in a domestic processor (Philco S.A., Manaus, Amazonas, Brazil). Papaya pulp (10 g) was homogenized with 10 mL of 0.2 M phosphate buffer (pH 6.5) and 4% polyvinyl polypyrrolidone (PVPP) for 2 min with a Vortex (Tecnal), allowed to rest for 1 h ($4 \pm 0.5^\circ\text{C}$) and centrifuged (9000 xg, 20 min, 4°C). Obtained supernatant was used as an enzyme extract for measurement of polyphenol oxidase and peroxidase activity (Kying Ong et al., 2014; Liu et al., 2007).

2.6.1. Polyphenol oxidase (PPO) activity

PPO activity was measured using a mixture of 0.5 mL of enzyme extract with 2.5 mL of 0.07 M catechol in 0.2 M sodium phosphate buffer solution (pH 6.5), which was maintained at $30 \pm 1^\circ\text{C}$ for 20 s before measurements of absorbance at 420 nm (A420) with a spectrophotometer (Bel Engineering, Monza, Italy). One unit of PPO was defined as an increase of 0.01 in A420 per min per sample gram (U/min/g) (Liu et al., 2013; Ndiaye et al., 2009).

2.6.2. Peroxidase (POD) activity

POD activity was measured using a mixture of 0.1 mL of enzyme extract with 3 mL of 1% (v/v) guaiacol dissolved in 0.2 M phosphate buffer (pH 6.5) + 0.2 mL of 15 g/L H_2O_2 (w/v, dissolved in distilled water) and maintained at $30 \pm 1^\circ\text{C}$ for 20 s before measurements of absorbance at 470 nm (A470). One unit of POD was defined as an increase in A470 per min per sample gram (U/min/g) (Liu et al., 2013).

2.6.3. Pectin methylesterase (PME) activity

PME extraction was done with a mixture of 0.02 M Tris-6 M HCl buffer (pH 7.5) and 0.1 M NaCl. Ratio of buffer (mL) to fruit sample (g; peel and pulp) was 2:1. Assay solution was allowed to rest for 12 h ($4 \pm 0.5^\circ\text{C}$), centrifuged (9000 xg, 4°C , 15 min) and supernatant was collected as an enzyme extract. Reaction principle consisted of removing the specific methoxyl groups located on C6 of some PME galacturonyl groups. PME activity was measured by titration of carboxyl groups released from pectin with a digital pHmeter (Quimis). PME extracts (5 mL) was mixed with 60 mL of 10 g/L pectin (pH = 7.5) + 0.1 M NaCl. Titration was done with 0.05 M NaOH to achieve a constant pH of 7.5 during 10 min ($30 \pm 1^\circ\text{C}$). A unit of PME activity was defined as the amount of enzyme capable of catalyzing pectin demethylation corresponding to the consumption of 1 mmol NaOH per min. Results were expressed as mmol/L (Jen & Robinson, 1984).

2.7. Evaluation of sensory characteristics of papaya

Sensory characteristics of uncoated and coated papaya were evaluated by 100 untrained panelists, which responded to acceptability and purchase intention tests. Acceptability of appearance, colour, flavor, texture, residual flavor and global impression was evaluated with a structured hedonic scale of nine points anchored in 1 (very disliked), 5 (neither liked nor disliked) and 9 (liked very much). Purchase intention was evaluated with a structured hedonic scale of five points anchored in 1 (certainly not buy), 3 (maybe buy/maybe not buy) and five (certainly buy) (Guerra et al., 2016; Santos et al., 2012). Evaluations were done in individual cabins under controlled temperature ($25 \pm 0.5^\circ\text{C}$) and lighting conditions. Each panelist received a portion of fruit (two cubes with approximately 3.5 cm of edge) of uncoated and coated papaya. Fruit samples were served simultaneously on disposable white plates coded with a random three-digit number, with a blind and random sequence immediately after removal from cold storage ($10 \pm 0.5^\circ\text{C}$). Panelists were asked to eat a salty biscuit and drink mineral water among samples (Guerra et al., 2016).

2.8. Statistical analysis

Experiments for evaluation of physicochemical and surface roughness parameters of coatings were done in triplicate in three independent experiments. Experiments for evaluation of physical, physicochemical and sensory parameters of papaya were done in a completely randomized design with three replicates for each fruit group (treatment) and eight fruit per replicate in three independent experiments. On each monitored storage time interval, two fruit were randomly chosen from each fruit group replicate and analyzed. Results were expressed as average $\pm$ standard deviation. Data were evaluated with Students *t*-test or analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test to determine significant differences ($P \leq .05$). Statistical analyses were done with Sigma Stat 3.5 (Jandel Scientific Software, São Jose, CA, USA).

3. Results and discussion

3.1. Physicochemical and surface roughness characteristics of coatings

3.1.1. Fourier transform infrared spectroscopy

Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectra of coatings formulated with Chi (5 g/L), Chi (5 g/L) + MVEO (0.6 or 1.2 mL/L) and Chi (5 g/L) + MPEO (0.6 or 1.2 mL/L) are shown in Fig. 1. Spectrum of coating formulated with only Chi had a broad band at approximately 3400 cm^{-1} typical of stretch of OH group superposition on NH (primary amine) of Chi molecule (Jahed et al., 2017). An N–H stretch of primary amine and symmetrical and asymmetrical stretches of CH_2 were found in the range of $2980\text{--}2840\text{ cm}^{-1}$. An amine folding movement was found in the range of $1660\text{--}1380\text{ cm}^{-1}$ and transmittance of C–O group of ether and alcohol (overlaps) was found in the range of $1180\text{--}940\text{ cm}^{-1}$. A stretching referring to C–O group was found at 1080 cm^{-1} (Gursoy et al., 2018; Jahed et al., 2017).

FTIR spectra of coatings formulated with Chi + MVEO had an increase in band intensity between 3600 and 3010 cm^{-1} characterizing an overlap of primary N-amine and OH and CH stretching typical of piperitone, the major constituent in MVEO (Abdollahi et al., 2012). Characteristic bands of MVEO were found at 1700 cm^{-1} referring to stretching of cyclohexene (C=C), as well as at 1660 cm^{-1} referring to carbonyl stretching of ketone with displacement to the right due to

hybridization of double bond atoms. Stretching of C=C was confirmed at 1560 cm^{-1} and folding out of the plane (=C-H) with overlapping of C–H of alkene (945 cm^{-1}) was characterized at $1000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$. FTIR spectra of coatings formulated with Chi + MPEO had a CH stretching of cyclohexane overlapping with NH stretching of Chi amine and stretching of methyl group (C–H) at 2930 cm^{-1} . Stretching of C=O typical of ketone was found at approximately 1720 cm^{-1} and CH_2 fold of cyclohexane typical of mentone, the major constituent found in MPEO (Abdollahi et al., 2012), was found at 1400 cm^{-1} .

FTIR spectra of examined coatings had similar characteristics, with most of the typical peaks of Chi (Zhang et al., 2019). Presence of Chi, MVEO and MPEO specific bands were found with increased intensity of bands typical of functional groups of Chi, as well as of MVEO and MPEO constituents. These results indicate occurrence of intermolecular interactions among hydroxyl and amino groups of Chi with functional groups of MVEO and MPEO constituents forming the coatings (Shen & Kamdem, 2015).

3.1.2. Thermogravimetric analysis

Curves generated by thermogravimetric analysis (TGA) of coatings formulated with Chi (5 g/L), Chi (5 g/L) + MVEO (0.6 or 1.2 mL/L) and Chi (5 g/L) + MPEO (0.6 or 1.2 mL/L) are shown in Fig. 2A. TGA curves of coatings formulated with only Chi had four thermal events: the first starting at 25°C and following up to 100°C with a mass loss of

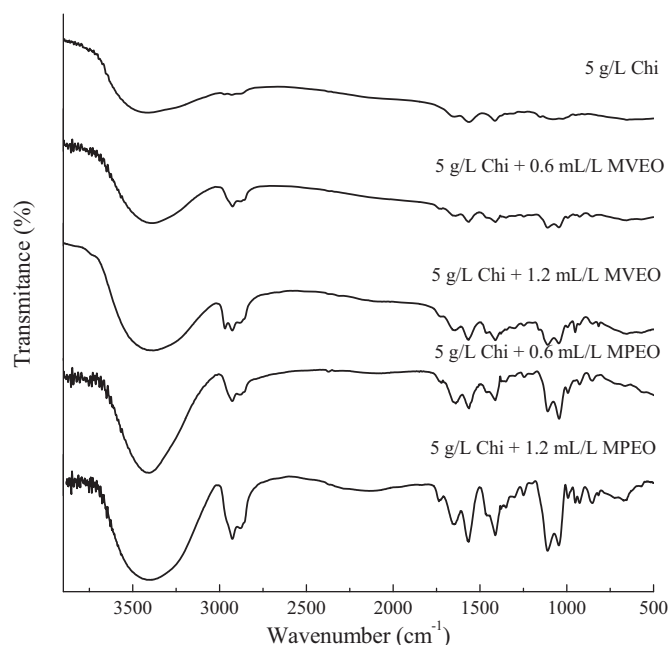


Fig. 1. FTIR spectra of coatings formulated with chitosan (Chi) and Chi + *Mentha villosa* (MVEO) or *M. piperita* L. essential oil (MPEO).

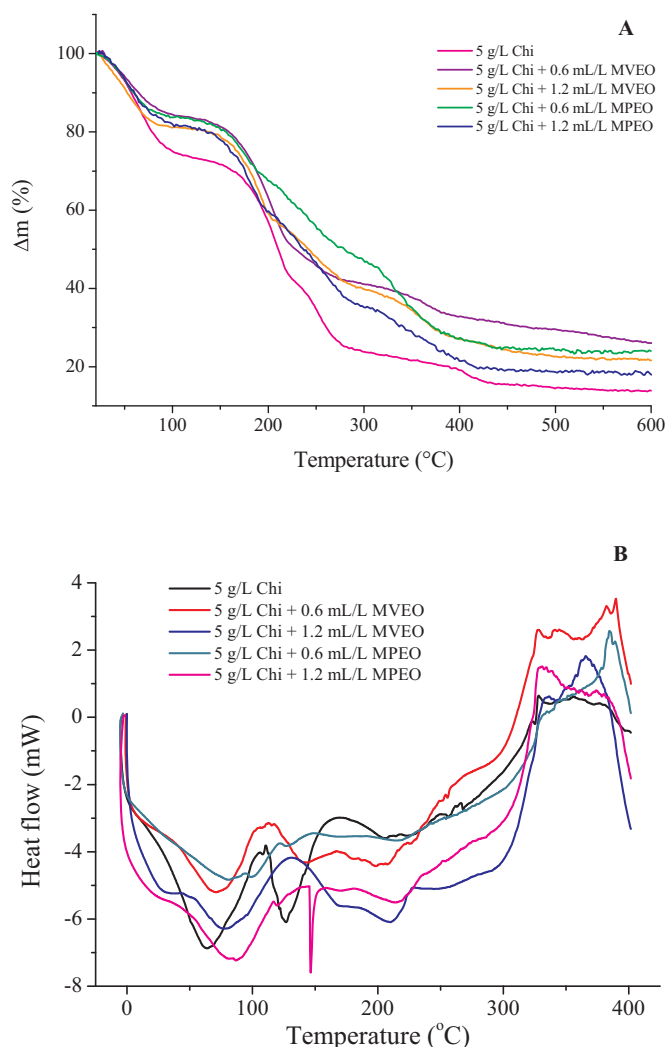


Fig. 2. TGA (A) and DSC curves (B) of coatings formulated with chitosan (Chi) and Chi + *Mentha villosa* (MVEO) or *M. piperita* (MPEO) essential oil.

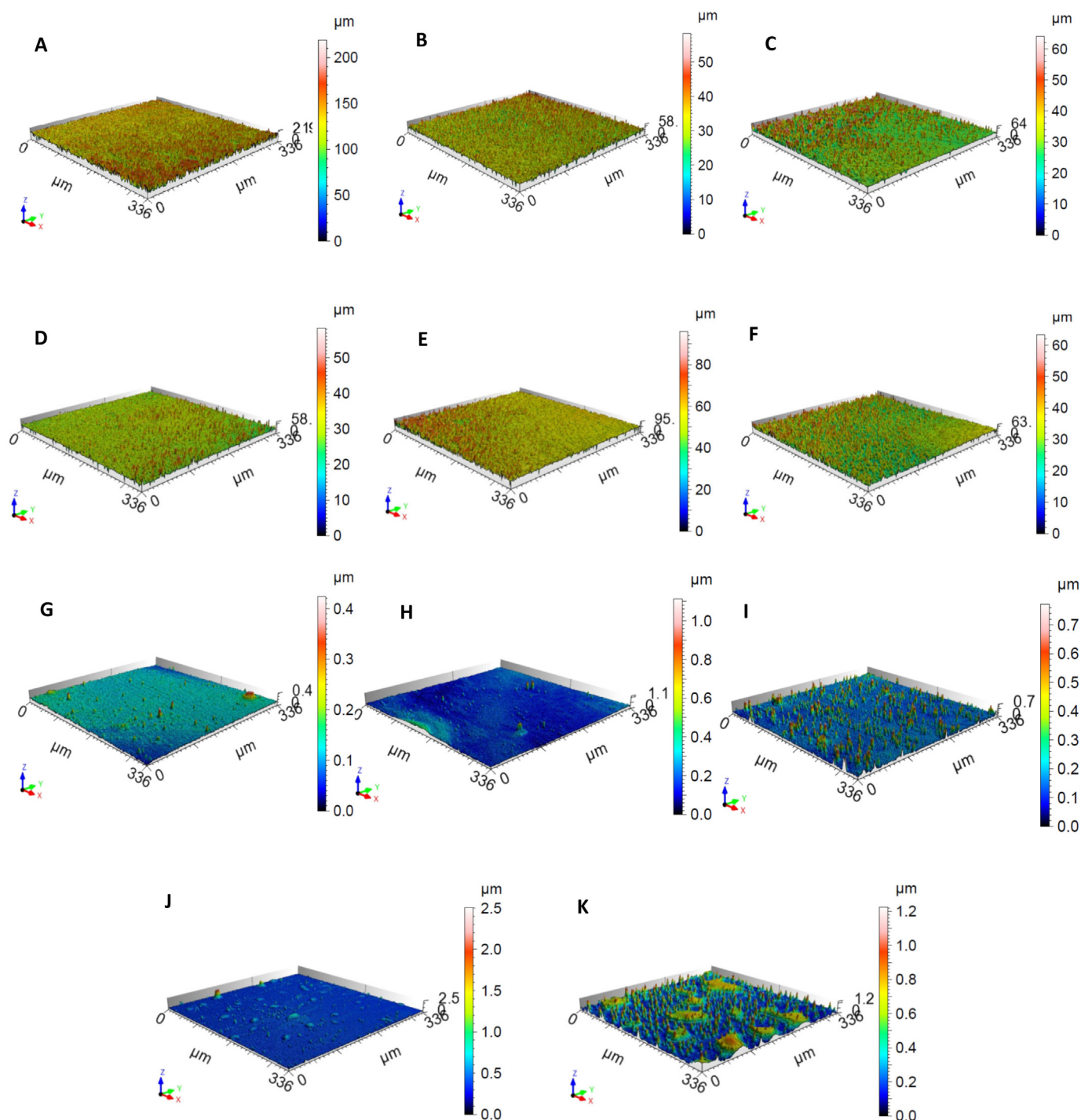


Fig. 3. Images captured with roughness analysis of papaya surface (A), as well as of coatings formulated with 5 g/L chitosan (Chi) (B and G), 5 g/L Chi + 0.6 mL/L *M. villosa* essential oil (MVEO) (C and H), 5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO (D and I), 5 g/L Chi + 0.6 mL/L *M. piperita* L. essential (MPEO) (E and J) and 5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO (F and K) when formed on papaya (B – F) and glass slide (G – K).

25.3%; a second between 100 and 280 °C with a mass loss of 49.6%; a third between 280 and 420 °C with a mass loss of 8.5%; and a fourth between 420 and 600 °C with a residual mass of 2.8%.

TGA curves of coating formulated with Chi + 0.6 mL/L MVEO had four thermal events: a first starting at 25 °C and following up to 105 °C with a mass loss of 15.8%; a second between 105 and 280 °C with a mass loss of 42.1%; a third between 280 and 380 °C with a mass loss of 8.3%; and a fourth between 380 and 600 °C with a residual mass of 7%. Coating formulated with Chi + 1.2 mL/L MVEO had five thermal events: a first starting at 25 °C and following up to 94 °C with a mass

loss of 18.4%; a second between 94 and 210 °C with a mass loss of 24.8%; a third between 210 and 285 °C with a mass loss of 15.6%; a fourth starting at 285 °C and following up to 375 °C with a mass loss of 11.9%; and a fifth between 375 and 600 °C with a residual mass of 7.3%.

TGA curves of coating formulated with Chi + 0.6 mL/L MPEO had three thermal events: a first starting at 25 °C and following up to 97 °C with a mass loss of 16.3%; a second between 97 and 430 °C with a mass loss of 58.5%; and a third between 430 and 600 °C with a residual mass of 1.8%. Coating formulated with Chi + 1.2 mL/L MPEO had four

thermal events: a first starting at 25 °C and following up to 105 °C; a second between 105 and 295 °C with a mass loss of 46.2%; a third between 295 and 420 °C with a mass loss of 15.9%; and a fourth between 420 and 600 °C with a residual mass of 1%.

In the first thermal event, which usually occurs due to evaporation of water and acetic acid, coating formulated with only Chi had a greater weight loss when compared to coatings formulated with Chi + MVEO or MPEO. These results were probably related to the lower amount of water in coatings with MVEO or MPEO because of the hydrophobic nature of the main constituents of these essential oils (Shen & Kamdem, 2015). Loss of mass found in the second thermal event could be associated with degradation of compounds with lower molecular weight, bound water and glycerol (Dou et al., 2009; Gursoy et al., 2018; Shen & Kamdem, 2015). Third thermal event could correspond to Chi degradation (Gursoy et al., 2018; Hong et al., 2007). Additional thermal events found in coatings formulated with Chi + MVEO could be associated with degradation of volatile constituents making up this essential oil. Last thermal event could be associated with degradation of more thermostable substances, such as Tween (Shen & Kamdem, 2015). Results of TGA indicate that coatings formulated with Chi + MVEO or MPEO had satisfactory thermal stability because the alterations were found only after the exposure of coatings to 25 °C and the primary purpose of this study was to develop coatings to be applied on papaya stored commonly at low temperatures (e.g., 12 °C).

3.1.3. Differential scanning calorimetry

Curves generated with differential scanning calorimetry (DSC) analysis of coatings formulated with Chi (5 g/L), Chi (5 g/L) + MVEO (0.6 and 1.2 mL/L) and Chi (5 g/L) + MPEO (0.6 and 1.2 mL/L) are shown in Fig. 2B. Endothermic peaks were found at 64 and 128 °C for coating formulated with only Chi; at 70, 77 and 144 °C for coating formulated with Chi + 0.6 mL/L MVEO; and at 77 and 210 °C for coating formulated with Chi + 1.2 mL/L MVEO. Only one endothermic peak was found at 81 and 146 °C for coatings formulated with Chi + 0.6 or 1.2 mL/L MPEO, respectively. An exothermic peak was found at 325 °C for coating formulated with only Chi and at 330 and 333 °C for coatings formulated with Chi + 0.6 or 1.2 mL/L MVEO, respectively. Coatings formulated with Chi + 0.6 or 1.2 mL/L MPEO had exothermic peaks at 334 and 328 °C, respectively.

Endothermic peaks indicate loss of water or energy needed for water evaporation from coatings (Gursoy et al., 2018), which occurred due to hydrophilic groups of Chi (Rodrigues et al., 2020). Endothermic peaks of coatings formulated with Chi + MVEO or MPEO reached a higher temperature when compared to coating formulated with only Chi, which could be associated with a lower residual content of the former because of the hydrophobic characteristic of MVEO and MPEO constituents (Amalraj et al., 2020). Exothermic peaks were associated probably with structural degradation of Chi to glucosamine units (Rodrigues et al., 2020). An increased thermal stability was found in coatings formulated with Chi + MVEO or MPEO, indicating contribution of the incorporated essential oils to this feature in examined coatings (Shen & Kamdem, 2015).

3.1.4. Surface roughness analysis

Roughness (microgeometric defects) is defined as the set of irregularities related to small protrusions (peaks) and recesses (valleys) characterizing a surface (Fabra et al., 2009). Roughness analysis (topographic visualization) of surfaces of coatings formulated with Chi (5 g/L) and Chi (5 g/L) + MVEO (0.6 or 1.2 mL/L) and Chi (5 g/L) + MPEO (0.6 or 1.2 mL/L) formed on papaya and on a glass slide, as well as of papaya surface are shown in Fig. 3. Highest values for Ra (average roughness) and Sa (average height) were found for papaya surface ($P \leq .05$) when compared to coatings with only Chi and Chi + MVEO or MPEO when formed on papaya surface or a glass slide. When formed on papaya surface, the highest Ra values were found for coating formulated with Chi + 0.6 mL/L MPEO ($P \leq .05$); however, there was

no difference among Sa values found for examined coatings ($P > .05$). When formed on a glass slide, examined coatings had similar Ra values ($P > .05$), while coatings formulated with Chi + MPEO had the highest Sa values ($P \leq .05$) (values of roughness surface parameters for examined coatings are also shown as supplementary material data, S1).

Roughness is an important characteristic of film surfaces, influencing their mechanical resistance, adhesion and appearance (Fabra et al., 2009). Results of roughness surface analysis of coatings formulated with Chi + MPEO formed on a glass slide showed an increase in average height, mainly when MPEO concentration increased, which was confirmed by surface topographical visualization. The greater the roughness the greater the hydrophobicity of a surface, indicating that MPEO hydrophobic constituents acted compatibly with Chi to form coatings with superior roughness, in addition to increase the contact angle on coated surface (Shahbazi, 2018). Coatings formulated with Chi + MVEO or MPEO had homogeneous surfaces probably because of the presence of MVEO and MPEO between Chi chains with intramolecular interactions among them (Jahed et al., 2017). These results indicate overall that MVEO and MPEO could improve the barrier properties of Chi-based coatings (Shen & Kamdem, 2015). Higher Ra and Sa values found for papaya surface in relation to those found for coatings formulated with Chi + MVEO or MPEO indicated that these coatings could be capable of reducing surface irregularities naturally found on papaya (Xing et al., 2011).

3.2. Physical, physicochemical and instrumental colour parameters in papaya

Results of physical and physicochemical parameters in papaya uncoated and coated with Chi (5 g/L) and Chi (5 g/L) + MVEO (0.6 or 1.2 mL/L) and Chi (5 g/L) + MPEO (0.6 or 1.2 mL/L) during 20 days of cold storage are shown in Table 1. Uncoated and coated papaya had weight loss and decreased firmness during storage. Papaya coated with Chi + MVEO or MPEO had lower weight loss and higher firmness than uncoated papaya during storage ($P \leq .05$). Papaya coated with Chi + MVEO or MPEO had lower pH than uncoated papaya on day 20 of storage ($P \leq .05$). TA values were similar in uncoated and coated papaya during storage ($P > .05$). Coated papaya had lower TSS values than uncoated papaya on day 10 and 20 of storage ($P \leq .05$).

Coatings formulated with Chi + MVEO or MPEO led to reduced physicochemical alterations typical of metabolic processes involved in fruit maturation. It probably occurred because of the barrier to gases function exerted by examined coatings, promoting a reduction in respiratory rate and oxidation reactions in papaya. Weight loss is an important aspect for quality and storability of papaya, being a consequence of alterations in fruit peel permeability and increased water loss (Batista et al., 2020; Yousuf et al., 2018). Decreased weight loss in papaya indicated that coatings formulated with Chi + MVEO or MPEO also acted as barriers for water diffusion, decreasing fruit perspiration (Monzón-Ortega et al., 2018). Firmness loss (softening) is another characteristic of papaya maturation linked to enzymatic degradation of cell wall components and decomposition of intracellular materials (Ali et al., 2011). Reduced firmness loss in papaya coated with Chi + MVEO or MPEO could be caused by decreased enzymatic activity in fruit as a consequence of lowered endogenous ethylene production and respiratory rate (Monzón-Ortega et al., 2018). Decreased weight loss could be linked to decreased firmness loss in papaya coated with Chi + MVEO or MPEO during storage.

Reduced alterations in pH of papaya coated with Chi + MVEO or MPEO could be caused by decreased use of some organic acids to be converted to sugars in these fruit over time because of the delayed maturation progress (Kelebek et al., 2015). Overall, fruit quickly lose acidity during maturation, but in some cases a small increase in fruit acidity can be found during maturation, which could justify pH variations in uncoated and coated papaya during the measured storage period. Results of TSS contents also indicate that coatings formulated

Table 1

Results of physical and physicochemical parameters of papaya uncoated and coated with chitosan (Chi) + *Mentha villosa* (MVEO) or *M. piperita* essential oil (MPEO) during 20 days of cold storage (12 ± 1 °C). Results are expressed as average $\pm$ standard deviation (n: 3).

Coating formulation	Days of storage		
	1	10	20
Wheight loss (%)			
Control	nd	8.93 ($\pm$ 0.13) ^{Ba}	19.76 ($\pm$ 0.05) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	nd	6.58 ($\pm$ 0.13) ^{Bb}	14.64 ($\pm$ 0.13) ^{Ab}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	nd	5.11 ($\pm$ 0.12) ^{Bb}	15.14 ($\pm$ 0.15) ^{Ab}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	nd	6.88 ($\pm$ 0.11) ^{Bb}	14.87 ($\pm$ 0.15) ^{Ab}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	nd	4.73 ($\pm$ 0.09) ^{Bb}	13.48 ($\pm$ 0.15) ^{Ab}
Firmness (N)			
Control	119.20 ($\pm$ 3.23) ^{Aa}	58.54 ($\pm$ 1.79) ^{Bb}	22.95 ($\pm$ 0.19) ^{Cc}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	118.25 ($\pm$ 1.00) ^{Aa}	67.66 ($\pm$ 5.98) ^{Ba}	32.96 ($\pm$ 0.25) ^{Cb}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	116.76 ($\pm$ 4.28) ^{Aa}	70.84 ($\pm$ 2.89) ^{Ba}	42.71 ($\pm$ 0.72) ^{Ca}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	114.55 ($\pm$ 5.24) ^{Aa}	59.37 ($\pm$ 4.18) ^{Bb}	30.88 ($\pm$ 2.08) ^{Cb}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	117.74 ($\pm$ 3.79) ^{Aa}	73.34 ($\pm$ 3.98) ^{Ba}	42.16 ($\pm$ 2.55) ^{Ca}
pH			
Control	5.76 ($\pm$ 0.02) ^{Ba}	5.87 ($\pm$ 0.25) ^{Ba}	6.51 ($\pm$ 0.02) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	5.72 ($\pm$ 0.02) ^{Ba}	5.80 ($\pm$ 0.10) ^{Ba}	6.14 ($\pm$ 0.03) ^{Ab}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	5.70 ($\pm$ 0.04) ^{Aa}	5.53 ($\pm$ 0.15) ^{ABb}	5.39 ($\pm$ 0.04) ^{Bc}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	5.70 ($\pm$ 0.05) ^{Aa}	5.38 ($\pm$ 0.03) ^{Bb}	5.45 ($\pm$ 0.02) ^{Bc}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	5.74 ($\pm$ 0.03) ^{Aa}	5.46 ($\pm$ 0.08) ^{Bb}	5.35 ($\pm$ 0.02) ^{Bc}
TA*			
Control	0.19 ($\pm$ 0.02) ^{Aa}	0.14 ($\pm$ 0.01) ^{Ba}	0.12 ($\pm$ 0.02) ^{Ba}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	0.18 ($\pm$ 0.02) ^{Aa}	0.16 ($\pm$ 0.03) ^{Aa}	0.15 ($\pm$ 0.03) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	0.18 ($\pm$ 0.03) ^{Aa}	0.15 ($\pm$ 0.00) ^{Aa}	0.15 ($\pm$ 0.02) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	0.18 ($\pm$ 0.02) ^{Aa}	0.15 ($\pm$ 0.02) ^{Aa}	0.16 ($\pm$ 0.03) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	0.17 ($\pm$ 0.02) ^{Aa}	0.15 ($\pm$ 0.03) ^{Aa}	0.13 ($\pm$ 0.02) ^{Aa}
TSS** (%)			
Control	8.17 ($\pm$ 0.29) ^{Ca}	11.47 ($\pm$ 0.32) ^{Ba}	13.23 ($\pm$ 0.32) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	8.30 ($\pm$ 0.44) ^{Ba}	9.60 ($\pm$ 1.00) ^{Bb}	12.00 ($\pm$ 0.11) ^{Ab}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	8.27 ($\pm$ 0.32) ^{Ba}	9.17 ($\pm$ 0.38) ^{Ab}	9.70 ($\pm$ 0.40) ^{Ac}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	8.40 ($\pm$ 0.36) ^{Ba}	9.70 ($\pm$ 0.75) ^{Bb}	11.23 ($\pm$ 0.57) ^{Ab}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	8.70 ($\pm$ 0.26) ^{Ba}	7.20 ($\pm$ 0.10) ^{Cc}	10.00 ($\pm$ 0.70) ^{Ac}

nd: Not determined.

Control: 25 g/L glycerol.

A–C: Average values in the same row with different capital letters are significantly different ($P \leq .05$), based on Tukey's test.

a–c: Average values in the same column, for the same physicochemical parameter and day of storage, with different small letters are significantly different ($P \leq .05$), based on Tukey's test.

* Titrate acidity (g citric acid equivalent per 100 g of pulp).

** Total soluble solids.

with Chi + MVEO or MPEO induced a delayed production of metabolites in papaya, lowering the increase of soluble solids (Mendy et al., 2019).

Results of instrumental colour parameters in papaya uncoated and coated with Chi (5 g/L) and Chi (5 g/L) + MVEO (0.6 and 1.2 mL/L) and Chi (5 g/L) + MPEO (0.6 and 1.2 mL/L) during 20 days of cold storage are shown in Table 2. L (luminosity) and Chroma (colour intensity) values increased in peel of uncoated papaya during storage ($P \leq .05$). L values of peel did not alter overall in coated papaya during storage ($P > .05$), in addition to be lower when compared to uncoated papaya ($P \leq .05$). Chroma values of peel did not alter overall in coated papaya during storage ($P > .05$). Hue values of peel decreased overall in uncoated and coated papaya during storage ($P \leq .05$). Hue values of peel were higher in papaya coated with Chi + MVEO or MPEO when compared to uncoated papaya on day 10 and/or 20 of storage.

L values of pulp of papaya coated with Chi + MVEO and MPEO did not alter during storage ($p > .05$), while these values decreased in pulp of uncoated papaya on day 20 of storage when compared to day 1 ($P \leq .05$). L values were higher in pulp of coated papaya on day 20 of storage when compared to uncoated papaya ($P \leq .05$). Chroma values of pulp of coated papaya increased on day 10 of storage when compared to day 1 ($P \leq .05$), which remained similar up to day 20 ($p > .05$). Chroma values of pulp of uncoated papaya were increased on day 10 and 20 of storage when compared to day 1 ($P > .05$). Hue values were higher in pulp of coated papaya when compared to uncoated papaya on

day 10 and 20 of storage ($P \leq .05$) (illustration of different colour characteristics of uncoated and coated papaya on day 10 of storage are shown as supplementary material data, S2).

Evolution of peel colour from green to yellow is one of the most remarkable alterations during papaya maturation (Barragán-Iglesias et al., 2018). Differences in hue and colour intensity in peel of uncoated and coated papaya were probably due to distinct levels of pigments (e.g., lycopene and carotene) synthesized in these fruit during the measured storage period (Ali et al., 2011). No alteration in Hue values (green to yellow) up to day 10 of storage in peel of papaya coated with Chi + MVEO or MPEO could be linked to reduced enzymatic and chemical reactions involved in chlorophyll degradation and/or synthesis of pigments (Jinga et al., 2015). Increased luminosity and colour hue in peel and pulp of coated papaya in comparison with uncoated papaya indicate lowered carotenoid content in the former (Oliveira & Vitoria, 2011).

3.3. Sugar and organic acid contents in papaya

Content of sugars and organic acids in papaya uncoated and coated with Chi (5 g/L), Chi (5 g/L) + MVEO (0.6 and 1.2 mL/L) and Chi (5 g/L) + MPEO (0.6 and 1.2 mL/L) during 20 days of cold storage are shown as supplementary material data (S3). In most cases, glucose and fructose contents were higher on day 20 of storage in uncoated and coated papaya when compared to day 1 ($P \leq .05$). Lowest glucose and

Table 2

Results of colour parameters in papaya uncoated and coated with chitosan (Chi) + *Mentha piperita* (MPEO) or *M. villosa* essential oil (MPEO) during 20 days of cold storage (12 ± 1 °C). Results are expressed as average $\pm$ standard deviation (n: 3).

Coating formulation	Days of storage		
	1	10	20
Fruit peel			
L value			
Control	41.13 ($\pm$ 3.32) ^{Cb}	67.61 ($\pm$ 0.92) ^{Ba}	72.38 ($\pm$ 1.97) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	54.10 ($\pm$ 1.24) ^{Aa}	53.61 ($\pm$ 2.07) ^{Ab}	55.71 ($\pm$ 3.72) ^{Ab}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	53.74 ($\pm$ 0.91) ^{Aa}	54.28 ($\pm$ 2.76) ^{Ab}	58.17 ($\pm$ 3.10) ^{Ab}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	55.15 ($\pm$ 0.23) ^{Ba}	59.14 ($\pm$ 2.64) ^{Ab}	62.02 ($\pm$ 1.98) ^{Ab}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	53.75 ($\pm$ 2.47) ^{Aa}	58.06 ($\pm$ 4.42) ^{Ab}	54.42 ($\pm$ 1.59) ^{Ab}
Chroma value			
Control	37.41 ($\pm$ 4.00) ^{Cb}	53.31 ($\pm$ 0.92) ^{Ba}	60.26 ($\pm$ 2.15) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	47.91 ($\pm$ 3.42) ^{Aa}	46.41 ($\pm$ 2.07) ^{Ab}	48.30 ($\pm$ 2.88) ^{Ac}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	53.90 ($\pm$ 2.80) ^{Aa}	55.29 ($\pm$ 3.57) ^{Aa}	58.25 ($\pm$ 2.80) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	54.51 ($\pm$ 2.42) ^{Ba}	57.27 ($\pm$ 4.65) ^{Aa}	60.12 ($\pm$ 3.68) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	49.17 ($\pm$ 4.54) ^{Aa}	55.71 ($\pm$ 1.51) ^{Aa}	52.14 ($\pm$ 1.83) ^{Ab}
°Hue value			
Control	85.89 ($\pm$ 3.02) ^{Aa}	77.62 ($\pm$ 1.54) ^{Ba}	58.84 ($\pm$ 0.27) ^{Cb}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	69.47 ($\pm$ 2.20) ^{Ab}	70.99 ($\pm$ 1.46) ^{Ab}	57.28 ($\pm$ 0.68) ^{Bb}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	67.83 ($\pm$ 1.36) ^{Ab}	67.01 ($\pm$ 1.21) ^{ABb}	59.55 ($\pm$ 3.00) ^{Bb}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	70.58 ($\pm$ 1.55) ^{Ab}	71.36 ($\pm$ 1.85) ^{Aab}	67.83 ($\pm$ 1.83) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	69.35 ($\pm$ 1.36) ^{Ab}	71.99 ($\pm$ 1.28) ^{Aab}	61.38 ($\pm$ 0.15) ^{Bb}
Fruit pulp			
L value			
Control	65.72 ($\pm$ 4.75) ^{Aa}	67.38 ($\pm$ 4.35) ^{Aa}	55.70 ($\pm$ 2.09) ^{Bb}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	60.34 ($\pm$ 3.02) ^{Aa}	64.93 ($\pm$ 3.85) ^{Aa}	62.79 ($\pm$ 1.55) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	64.47 ($\pm$ 2.30) ^{Aa}	66.78 ($\pm$ 3.35) ^{Aa}	61.95 ($\pm$ 0.97) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	60.24 ($\pm$ 2.29) ^{Aa}	61.63 ($\pm$ 1.49) ^{Aa}	65.94 ($\pm$ 3.60) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	65.88 ($\pm$ 1.24) ^{Aa}	65.71 ($\pm$ 3.33) ^{Aa}	64.19 ($\pm$ 1.04) ^{Aa}
Chroma value			
Control	24.31 ($\pm$ 2.95) ^{Ba}	36.19 ($\pm$ 4.13) ^{Aab}	42.94 ($\pm$ 2.62) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	27.76 ($\pm$ 1.79) ^{Ba}	44.15 ($\pm$ 5.25) ^{Aab}	42.60 ($\pm$ 4.04) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	27.29 ($\pm$ 2.23) ^{Ba}	45.45 ($\pm$ 1.90) ^{Ab}	43.99 ($\pm$ 1.40) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	28.01 ($\pm$ 3.22) ^{Ba}	45.55 ($\pm$ 1.83) ^{Aa}	42.19 ($\pm$ 3.80) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	23.63 ($\pm$ 3.35) ^{Ba}	43.58 ($\pm$ 3.89) ^{Aab}	41.03 ($\pm$ 4.59) ^{Aa}
°Hue value			
Control	71.78 ($\pm$ 1.51) ^{Ab}	67.09 ($\pm$ 1.18) ^{ABc}	64.84 ($\pm$ 1.71) ^{Bc}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	76.20 ($\pm$ 1.69) ^{Aa}	71.99 ($\pm$ 1.60) ^{Bab}	71.83 ($\pm$ 1.59) ^{Ba}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	75.48 ($\pm$ 5.20) ^{Aab}	74.75 ($\pm$ 0.84) ^{Aa}	73.06 ($\pm$ 4.39) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	74.69 ($\pm$ 4.99) ^{Aab}	71.36 ($\pm$ 1.09) ^{Ab}	67.33 ($\pm$ 0.56) ^{Bb}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	76.73 ($\pm$ 3.63) ^{Aa}	75.25 ($\pm$ 1.25) ^{ABa}	69.39 ($\pm$ 0.31) ^{Aa}

Control: 25 g/L glycerol.

A–C: Average values in the same row with different capital letters are significantly different ($P \leq .05$), based on Tukey's test.

a–c: Average values in the same column, for the same physicochemical parameter and day of storage, with different small letters are significantly different ($P \leq .05$), based on Tukey's test.

fructose contents were found in papaya coated with Chi + 1.2 mL/L MVEO ($P \leq .05$). Sucrose contents did not alter in uncoated and coated papaya during storage ($P > .05$). Oxalic and malic acid contents were similar in uncoated and coated papaya during storage ($P > .05$). Citric acid content was lower in papaya coated with Chi + MVEO or MPEO when compared to uncoated papaya on day 20 of storage ($P \leq .05$). There was not a clear overall effect of examined coatings on contents of measured sugars and organic acids in papaya during storage. Increase in metabolic activity during maturation is a characteristic of climacteric peak of papaya, causing consumption of substrates to produce sugars. Sweet taste of papaya is conditioned partially by a balance between contents of sugars and other substances, including organic acids, in ripe fruit (Kelebek et al., 2015). Eventual decreases in contents of some measured sugars or organic acids in papaya coated with Chi + MVEO or MPEO could be linked to reduced metabolic activity in these fruit during storage.

3.4. Enzymatic activity in papaya

Results of peroxidase (POD), polyphenoloxidase (PPO) and pectinamethyltransferase (PME) activity in papaya uncoated and coated with

Chi (5 g/L) and Chi (5 g/L) + MVEO (0.6 and 1.2 mL/L) and Chi (5 g/L) + MPEO (0.6 or 1.2 mL/L) during 20 days of cold storage are shown in Table 3. POD activity increased in uncoated and coated papaya on day 10 of storage when compared to day 1. POD activity was lower in papaya coated with Chi + 1.2 mL/L MVEO and Chi + 0.6 mL/L MPEO when compared to uncoated papaya ($P \leq .05$) on day 10 of storage. POD activity was lower in papaya coated with Chi + 0.6 or 1.2 mL/L MVEO and Chi + 1.2 mL/L MPEO when compared to uncoated papaya on day 20 of storage.

PPO activity increased in uncoated and coated papaya during storage ($P \leq .05$). PPO activity was lower in papaya coated with Chi + MVEO or MPEO when compared to uncoated papaya ($P \leq .05$). PME activity increased in uncoated papaya during storage ($P \leq .05$). Papaya coated with Chi + MVEO or MPEO had decreased PME activity on day 10 of storage when compared to day 1, being followed by an increase on day 20 ($P \leq .05$). PME activity was lower in coated papaya when compared to uncoated papaya during storage ($P \leq .05$).

Maturation of papaya is associated with increased activity of POD and PPO because of the increased oxidative metabolism and ethylene accumulation in fruit (Pandey et al., 2013). Decreased POD and PPO activity in papaya coated with Chi + MVEO or MPEO on day 10 and/or

Table 3

Results of peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO) and pectinmethylesterase (PME) activity in papaya uncoated and coated with chitosan (Chi) + *Mentha villosa* (MVEO) or *M. piperita* essential oil (MPEO) stored during 20 days of cold storage ($12 \pm 1^\circ\text{C}$). Results are expressed as average $\pm$ standard deviation (n:3).

Coating formulation	Days of storage		
	1	10	20
POD (U/min/g)			
Control	4.83 (± 0.29) ^{Ba}	5.80 (± 0.26) ^{Aa}	5.60 (± 0.26) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	4.27 (± 0.31) ^{Ca}	5.53 (± 0.15) ^{Aab}	4.87 (± 0.12) ^{Bb}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	4.32 (± 0.28) ^{Ba}	4.89 (± 0.37) ^{ABb}	5.20 (± 0.10) ^{Ab}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	4.30 (± 0.30) ^{Ba}	5.05 (± 0.25) ^{Ab}	4.23 (± 0.31) ^{Bd}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	4.70 (± 0.17) ^{Ba}	5.40 (± 0.30) ^{Aab}	5.47 (± 0.06) ^{Aa}
PPO (U/min/g)			
Control	18.50 (± 0.50) ^{Ca}	45.00 (± 2.36) ^{Ba}	117.00 (± 3.00) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	15.50 (± 2.21) ^{Ca}	29.12 (± 0.50) ^{Bb}	45.00 (± 2.00) ^{Ad}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	19.00 (± 0.57) ^{Ca}	16.50 (± 0.50) ^{Bb}	74.00 (± 5.29) ^{Ab}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	17.52 (± 1.53) ^{Ca}	41.67 (± 0.58) ^{Ba}	57.67 (± 4.36) ^{Ac}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	16.25 (± 2.54) ^{Ba}	17.00 (± 0.25) ^{Bb}	90.00 (± 1.15) ^{Ab}
PME (mmol/L)			
Control	0.11 (± 0.01) ^{Ca}	0.32 (± 0.01) ^{Ba}	0.39 (± 0.02) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	0.13 (± 0.01) ^{Ba}	0.09 (± 0.02) ^{Cb}	0.25 (± 0.03) ^{Ab}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	0.12 (± 0.02) ^{Ba}	0.09 (± 0.02) ^{Cb}	0.28 (± 0.04) ^{Ab}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	0.13 (± 0.02) ^{Ba}	0.11 (± 0.02) ^{Cb}	0.34 (± 0.02) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	0.10 (± 0.02) ^{Ba}	0.09 (± 0.02) ^{Cb}	0.33 (± 0.02) ^{Aa}

Control: 25 g/L glycerol.

A–C: Average values in the same row with different uppercase letters are significantly different ($P \leq .05$), based on Tukey's test.

a–c: Average values in the same column, for the same physicochemical parameter and day of storage, with different lowercase letters are significantly different ($P \leq .05$), based on Tukey's test.

20 of storage is an important result because these enzymes are related to fruit defence from oxidative processes, as well as to production of lignin and phytoalexins involved in plant resistance against diseases (Kyung Ong et al., 2014). Decreased PME activity in papaya coated with Chi + MVEO and MPEO could be linked to decreased firmness loss during storage found for these fruit. PME causes desesterification of galacturonans in fruit cell wall leading to fruit softening during maturation (Chávez-Sánchez et al., 2013). Phenolic antioxidants found ordinarily in essential oils could reduce activity of cell wall degrading enzymes (Alikhani, 2014), contributing to decreased PME activity in papaya coated with Chi + MVEO or MPEO.

3.5. Sensory characteristics of papaya

Results of sensory evaluation of papaya uncoated and coated with Chi (5 g/L) and Chi (5 g/L) + MVEO (0.6 and 1.2 mL/L) and Chi (5 g/L) + MPEO (0.6 or 1.2 mL/L) on day 10 and 20 of cold storage are shown in Table 4. There was no difference among scores for appearance, odor, taste, aftertaste, firmness, overall impression and purchase intention for uncoated and coated papaya on day 10 and 20 of storage ($P > .05$). Uncoated papaya received higher scores than papaya coated with Chi + MVEO or MPEO only for colour ($P \leq .05$). This particular effect on colour could be linked to the capability of examined coatings to preserve the green colour of papaya for a more prolonged storage time, which was also indicated by results of measurements of instrumental colour parameters. Scores of uncoated and coated papaya for appearance, colour, odour, taste, aftertaste, firmness and overall impression corresponded to “liked slightly” or “liked moderately”. Scores of uncoated and coated papaya for purchase intention corresponded to “maybe purchase/maybe not purchase” or “possibly purchase”.

4. Conclusion

Use of combined selected concentrations of Chi (5 g/L) + MVEO or MPEO (0.6 or 1.2 mL/L) allowed the development of coatings with homogeneous surfaces and improved thermal stability and barrier properties, indicating occurrence of interactions among Chi and MVEO

or MPEO functional groups. Application of coatings formulated with Chi + MVEO or MPEO on papaya resulted in delayed maturation during a 20-day cold storage without affecting negatively fruit overall postharvest quality, including sensory characteristics. Particularly, coatings formulated with Chi + MVEO or MPEO reduced weight loss, firmness loss and enzymatic activity besides to delay colour alteration in papaya during storage. Coatings formulated with the different concentrations of Chi + MVEO or MPEO selected for this study exerted similar effects on most of the measured quality parameters of papaya. Coatings formulated with combined additive or synergistic antifungal concentrations of Chi + MVEO or MPEO have additional functionalities related to their capability of maintaining or improving parameters indicative of postharvest quality and more prolonged storability of papaya.

Acknowledgements

Authors thank CAPES (Brazil) for partial funding (Finance code 001) and CNPq (Brazil) for financial support of this research (Grant number 403122/2016-3).

Author contribution

Conceptualization: ELS, SPB; Data curation: ELS, SPB; Formal analysis: ELS, SPB; RTAD, MM, LRF; Funding acquisition: ELS, SPB; Investigation: SPB, RTAD, MM, MSG, LLM; MSM, AUSB, ESM; Methodology: ELS, SPB, RTAD, MM, MSG, MSM, AUSB, ESM; Project administration: ELS, SPB; Resources: ELS, SPB, RTAD, MM, MSG, MSM, AUSB, ESM; Supervision: ELS; Validation: ELS, SPB, MM, MSM, ESM; Visualization; Writing – original draft: ELS, SPB, MM, RTAD; Writing – review & editing: ELS, SPB.

Declaration of competing interest

The authors of the paper “Characterization of edible coatings formulated with chitosan and *Mentha* essential oils and their use to preserve papaya (*Carica papaya* L.)” submitted to Innovative Food

Table 4

Scores for sensory attributes in acceptability tests and purchase intention of papaya uncoated and coated with chitosan (Chi) + *M. villosa* (MVEO) or *M. piperita* essential oil (MPEO) on day 10 and 20 of cold storage ($12 \pm 1^\circ\text{C}$). Results are expressed as average $\pm$ standard deviation (n:3).

Coating formulation	Days of storage	
	10	20
Appearance		
Control	7.35 (± 2.11) ^{Aa}	7.22 (± 3.61) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	7.13 (± 1.53) ^{Aa}	7.33 (± 2.41) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	6.81 (± 1.70) ^{Aa}	6.58 (± 3.69) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	6.90 (± 1.92) ^{Aa}	6.80 (± 2.35) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	6.85 (± 2.50) ^{Aa}	6.62 (± 1.53) ^{Aa}
Colour		
Control	7.53 (± 1.10) ^{Aa}	7.10 (± 1.62) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	6.82 (± 1.70) ^{Ab}	6.62 (± 1.40) ^{Ab}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	7.02 (± 1.36) ^{Ab}	6.65 (± 1.49) ^{Ab}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	6.93 (± 1.83) ^{Ab}	6.70 (± 1.41) ^{Ab}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	6.78 (± 1.50) ^{Ab}	6.40 (± 1.73) ^{Ab}
Odor		
Control	7.10 (± 2.50) ^{Aa}	6.58 (± 3.65) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	6.87 (± 1.66) ^{Aa}	6.33 (± 1.35) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	6.52 (± 2.40) ^{Aa}	7.18 (± 2.59) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	6.55 (± 3.47) ^{Aa}	6.98 (± 2.38) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	6.28 (± 1.65) ^{Aa}	6.43 (± 2.66) ^{Aa}
Taste		
Control	7.48 (± 1.20) ^{Aa}	6.97 (± 1.67) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	6.90 (± 1.47) ^{Aa}	7.22 (± 1.52) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	7.25 (± 1.35) ^{Aa}	7.38 (± 1.76) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	7.48 (± 1.56) ^{Aa}	6.97 (± 1.66) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	7.18 (± 1.67) ^{Aa}	7.03 (± 1.39) ^{Aa}
Aftertaste		
Control	6.97 (± 1.65) ^{Aa}	6.77 (± 1.71) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	6.63 (± 1.49) ^{Aa}	6.97 (± 1.55) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	6.92 (± 1.58) ^{Aa}	6.63 (± 1.97) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	7.10 (± 1.41) ^{Aa}	6.68 (± 1.56) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	7.08 (± 1.73) ^{Aa}	6.72 (± 1.41) ^{Aa}
Firmness		
Control	7.33 (± 1.27) ^{Aa}	7.38 (± 3.26) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	6.65 (± 1.79) ^{Aa}	6.92 (± 1.25) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	7.30 (± 1.52) ^{Aa}	7.68 (± 1.37) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	7.25 (± 1.49) ^{Aa}	7.30 (± 1.62) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	7.17 (± 1.20) ^{Aa}	6.95 (± 1.77) ^{Aa}
Overall impression		
Control	7.43 (± 1.12) ^{Aa}	7.10 (± 1.34) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	7.10 (± 1.50) ^{Aa}	6.63 (± 1.19) ^{Ba}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	7.17 (± 1.24) ^{Aa}	7.05 (± 1.49) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	6.97 (± 1.49) ^{Aa}	6.77 (± 1.38) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	6.77 (± 1.49) ^{Aa}	6.50 (± 1.57) ^{Aa}
Purchase intention		
Control	3.95 (± 1.10) ^{Aa}	3.58 (± 2.10) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MVEO	3.57 (± 2.14) ^{Aa}	3.35 (± 1.34) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MVEO	3.82 (± 1.10) ^{Aa}	4.03 (± 2.34) ^{Aa}
5 g/L Chi + 0.6 mL/L MPEO	3.87 (± 1.23) ^{Aa}	3.57 (± 1.34) ^{Aa}
5 g/L Chi + 1.2 mL/L MPEO	3.82 (± 1.05) ^{Aa}	3.30 (± 1.34) ^{Ba}

Control: 25 g/L glycerol.

A–B: Average values in the same row with different uppercase letters are significantly different ($P \leq .05$), based on Students *t*-test.

a–c: Average values in the same column, for the same physicochemical parameter and day of storage, with different lowercase letters are significantly different ($P \leq .05$), based on Tukey's test.

Science and Emerging Technologies declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102472>.

References

- Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G. (2012). Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 847–853. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02917.x>.
- Ali, A., Muhammad, M. T. M., Sijam, K., & Siddiqui, Y. (2011). Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food Chemistry*, 124, 620–626. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.085>.
- Alkhani, M. (2014). Enhancing safety and shelf life offresh-cut mango by application of edible coatings and microencapsulation technique. *Food Science and Nutrition*, 2, 210–217. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1110>.
- Amalraj, A., Haponiuk, J. T., Thomas, S., & Gopi, S. (2020). Preparation, characterization and antimicrobial activity of polyvinyl alcohol/gum arabic/chitosan composite films incorporated with black pepper essential oil and ginger essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 15, 366–375. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.176>.
- Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of A.O.A.C (2016). *International* (20th ed.). Rockville, USA: AOAC International.
- Barragán-Iglesias, J., Méndez-Lagunas, L. L., & Rodríguez-Ramírez, J. (2018). Ripeness indexes and physicochemical changes of papaya (*Carica papaya* L. cv. Maradol) during ripening on-tree. *Scientia Horticulturae*, 236(2018), 272–278. <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2017.12.012>.
- Barreto, T. A., Andrade, S. C. A., Maciel, J. F., de Oliveira, N. M., Madruga, M. S., Meireles, B., de Souza, E. L., & Magnani, M. (2016). A chitosan coating containing essential oil from *Origanum vulgare* L. to control postharvest mold infections and keep the quality of cherry tomato fruit. *Frontiers in Microbiology*, 7, 17–24. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01724>.
- Batista, D. V. S., Reis, R. C., Almeida, J. M., Rezende, B., D'orea Bragança, C. A., & Silva, F. (2020). Edible coatings in post-harvest papaya: Impact on physical-chemical and sensory characteristics. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 274–281. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04057-1>.
- Braga, S. P., Lundgren, G. A., Macedo, S. A., Tavares, J. F., Vieira, W. A. S., Câmara, M. P. S., & de Souza, E. L. (2019). 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*, 139, 631–639. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.010>.
- Chávez-Sánchez, I., Carrillo-López, A., Vega-García, M., & Yahia, E. M. (2013). The effect of antifungal hot-water treatments on papaya postharvest quality and activity of pectinmethylesterase and polygalacturonase. *Journal of Food Science and Technology*, 50, 101–107. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0228-0>.
- Dou, B., Dupont, V., Williams, P. T., Chen, H., & Ding, Y. (2009). Thermogravimetric kinetics of crude glycerol. *Bioresource Technology*, 100, 2613–2620. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.037>.
- Escamilla-García, M., Rodríguez-Hernández, M. J., Hernández-Hernández, H. M., Delgado-Sánchez, L. F., García-Almendárez, B. E., Amaro-Reyes, A., & Regalado-González, C. (2018). Effect of an edible coating based on chitosan and oxidized starch on shelf life of *Carica papaya* L. and its physicochemical and antimicrobial properties. *Coatings*, 8, 318. <https://doi.org/10.3390/coatings8090318>.
- Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2009). Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Food Hydrocolloids*, 23, 676–683. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.04.015>.
- Guerra, I. C. D., Oliveira, P. D. L., Fernandes, M. M. S., Lúcio, A. S. S. C., Tavares, J. F., Barbosa-Filho, J. M., Madruga, M. S., & de Souza, E. L. (2016). 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 Technology*, 34, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.01.008>.
- Guo, Y., Chen, X., Yang, F., Wang, T., Ni, M., Chen, Y., Yang, F., Huang, D., Fu, C., & Wang, S. (2019). Preparation and characterization of chitosan-based ternary blend edible films with efficient antimicrobial activities for food packaging applications. *Journal of Food Science*, 84. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14650>.
- Gursoy, M., Sargin, I., Mujtaba, M., Akuz, B., Ilk, S., Akuz, L., Kaya, M., Cakmak, Y. S., Salaberria, A. M., & Labidi, J. (2018). False flax (*Camelina sativa*) seed oil as suitable ingredient for the enhancement of physicochemical and biological properties of chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114(2018), 1224–1232. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.029>.
- Hong, P. Z., Li, S. D., Ou, C. Y., Li, C. P., Yang, L., & Zhang, C. H. (2007). Thermogravimetric analysis of chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*, 105, 547–551. <https://doi.org/10.1002/app.25920>.
- Jahed, E., Khaledabada, M. A., Almasia, H., & Hasanazadeh, R. (2017). Physicochemical properties of *Carum copticum* essential oil loaded chitosan films containing organic nanoreinforcements. *Carbohydrate Polymers*, 164, 325–338. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.022>.
- Jen, J. J., & Robinson, M. L. (1984). Pectolytic enzymes in sweet bell peppers *Capsicum annum*. *Journal of Food Science*, 49, 1085–1087. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1984.tb10398.x>.
- Jinga, G., Lia, T., Qua, H., Yuna, Z., Jiaa, Y., Zheng, X., & Jianga, Y. (2015). Carotenoids and volatile profiles of yellow- and red-fleshed papaya fruit in relation to the expression of carotenoid cleavage dioxygenase genes. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.06.006>.
- Kader, A. A., Sommer, N. F., & Arpaia, M. L. (2002). Postharvest handling systems: Tropical fruits. In A. A. Kader (Ed.). *Postharvest technology of horticultural crops* (pp. 385–398). (3rd ed.). Oakland: Univ. of Calif. Press.

- Kelebek, H., Selli, S., Gubbuk, H., & Gunes, E. (2015). Comparative evaluation of volatiles, phenolics, sugars, organic acids and antioxidant properties of Sel-42 and Tainung papaya varieties. *Food Chemistry*, 173, 912–919. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.116>.
- Kying Ong, M., Ali, A., Alderson, P. G., & Forney, C. F. (2014). Effect of different concentrations of ozone on physiological changes associated to gas exchange, fruit ripening, fruit surface quality and defence-related enzymes levels in papaya fruit during ambient storage. *Scientia Horticulturae*, 179, 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2014.09.004>.
- Liu, F., Fu, S., Bi, X., Chen, F., Liao, X., Hu, J., & Wu, X. (2013). Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. *Food Chemistry*, 138, 396–405. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.111>.
- Liu, J., Tian, S., Meng, X., & Xu, Y. (2007). Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 44, 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.12.019>.
- Mendes, J. F., Paschoalin, R. T., Carmona, V. B., Sena Neto, A. R., Marques, P., Marconcini, J. M., Mattoso, L. H. C., Medeiros, E. S., & Oliveira, J. E. (2015). Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. *Carbohydrates Polymers*, 137, 452–458. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.093>.
- Mendy, T. K., Misran, A., Mahmud, T. M. M., & Ismail, S. I. (2019). Application of *Aloe vera* coating delays ripening and extend the shelf life of papaya fruit. *Scientia Horticulturae*, 246, 769–776. <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2018.11.054>.
- Monzón-Ortega, K. M., Salvador-Figueroa, M., Gálvez-López, D., Rosas-Quijano, R., Ovando-Medina, I., & Vázquez-Ovando, A. (2018). Characterization of *Aloe vera*-chitosan composite films and their use for reducing the disease caused by fungi in papaya Maradol. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 4747–4757. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3397-2>.
- Mujtaba, M., Morsi, R. E., Kerch, G., Elsabee, M. Z., Kaya, M., Labidi, J., & Khawar, K. M. (2019). Current advancements in chitosan-based film production for food technology; a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 889–904. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.109>.
- Ndiaye, C., Xu, S. Y., & Wang, Z. (2009). Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. *Food Chemistry*, 113, 92–95. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.027>.
- Oliveira, J. G., & Vitoria, A. P. (2011). Papaya: Nutritional and pharmacological characterization, and quality loss due to physiological disorders. An overview. *Food Research International*, 44, 1306–1313. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.035>.
- Oliveira, K. A. R., da Conceição, M. L., Paula, S., de Oliveira, A., Lima, M. S., Galvão, M. S., Madruga, M. S., Magnani, M., & de Souza, E. L. (2020). Postharvest quality improvements in mango cultivar Tommy Atkins by chitosan coating with *Mentha piperita* L. essential oil. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 95, 260–272. <https://doi.org/10.1080/14620316.2019.1664338>.
- Pandey, V. P., Singh, S., Jaiswal, N., Awasthi, M., Pandey, B., & Dwivedi, U. N. (2013). Papaya fruit ripening: ROS metabolism, gene cloning, characterization and molecular docking of peroxidase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 98, 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.10.005>.
- Peng, Y., Yin, L., & Li, Y. (2013). Combined effects of lemon essential oil and surfactants on physical and structural properties of chitosan films. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 44–50. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03155.x>.
- Pereira, T., de Almeida, P. S. G., Azevedo, I. G., Cunha, M., de Oliveira, J. G., da Silva, M. G., & Vargas, H. (2009). Gas diffusion in 'Golden' papaya fruit at different maturity stages. *Postharvest Biology and Technology*, 54, 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.07.010>.
- Rajoka, M. S. R., Zhao, L., Mehwish, H. M., Wu, Y., & Mahmood, S. (2019). Chitosan and its derivatives: Synthesis, biotechnological applications, and future challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 1557–1571. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9550-z>.
- Rodrigues, C., de Mello, J. M. M., Dalcanton, D. L. P., Macuvele, N., Padoin, M. A., Fiori, C., ... Riella, H. G. (2020). Mechanical, thermal and antimicrobial properties of chitosan-based nanocomposite with potential applications for food packaging. *Journal of Polymers and the Environment*, 28, 1216–1236. <https://doi.org/10.1007/s10924-020-01678-y>.
- Sanchez-Gonzalez, L., Pastor, C., Vargas, M., Chiralt, A., Gonzalez-Martinez, C., & Chafer, M. (2011). Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.11.004>.
- Santos, N. S. T., Aguiar, A. J. A. A., de Oliveira, C. E. V., Sales, C. V., Silva, S. M., Silva, R. S., ... de Souza, E. L. (2012). Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.). *Food Microbiology*, 32, 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.07.014>.
- Shahbazi, Y. (2018). Application of carboxymethyl cellulose and chitosan coatings containing *Mentha spicata* essential oil in fresh strawberries. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 264–272. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.186>.
- Shen, Z., & Kamdem, D. P. (2015). Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.11.046>.
- Shetta, A., Keger, J., & Mamdouh, W. (2019). Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 731–742. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.161>.
- Sivakumar, D., & Bautista-Baños, S. (2014). A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. *Crop Protection*, 64, 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.05.012>.
- Soares, I. A., Leite, P. K. B. S., Lemos, O. R. F. G. A., Batista, A. U. D., & Montenegro, R. V. (2019). Polishing methods' influence on color stability and roughness of 2 provisional prosthodontic materials. *Journal of Prosthodontics*, 28, 564–571. <https://doi.org/10.1111/jopr.13062>.
- Souza, V. G. L., Fernando, A. L., Pires, J. R. A., Rodrigues, P. F., Lopes, A. A., & Fernandes, F. M. B. (2017). Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 107, 565–572. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.056>.
- Velo, M. M. A. C., Nascimento, T. R. L., Scotti, C. K., Bombonatti, J. F. S., Furuse, A. Y., Silva, V. D., Simões, T. A., Medeiros, E. S., Blaker, J. J., Nikolaos, S., & Mondelli, R. F. L. (2019). Improved mechanical performance of self-adhesive resin cement filled with hybrid nanofibers-embedded with niobium pentoxide. *Dental Materials*, 35, 272–285. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.08.102>.
- Wu, Q., Li, Z., Chen, X., Yun, Z., Lia, T., & Jiang, Y. (2019). Comparative metabolites profiling of harvested papaya (*Carica papaya* L.) peel in response to chilling stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 6868–6881. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9972>.
- Xing, Y., Li, X., Xu, Q., Yun, J., Lu, Y., & Tang, Y. (2011). Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*, 124, 1443–1450. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.105>.
- Yousuf, B., Qadri, O. S., & Srivastava, A. K. (2018). Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 89, 198–209. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.051>.
- Zhang, W., Li, X., & Jiang, W. (2019). Development of antioxidant chitosan film with banana peels extract and its application as coating in maintaining the storage quality of apple. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154, 1205–1214. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.275>.

ANEXO A

CERTIDÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: REVESTIMENTOS DE QUITOSANA INCORPORADOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Mentha piperita L. e Mentha x vilosa Huds PARA O CONTROLE PÓS-COLHEITA DA
ANTRACNOSE EM MAMÃO (Carica papaya L.)

Pesquisador: SELMA DOS PASSOS BRAGA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 03011318.3.0000.5188

Instituição Proponente: Centro De Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.218.936

Apresentação do Projeto:

Trata-se de analisar o projeto de tese da aluna SELMA DOS PASSOS BRAGA do Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição do Centro De Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a eficácia de revestimentos de quitosana incorporados de óleos essenciais de Mentha piperita L. (OEMP) e Mentha x villosa Huds (OEMV) como tratamentos pós-colheita no controle de antracnose em mamão papaya.

Objetivo Secundário:

- I - Avaliar os efeitos da aplicação de quitosana e dos OEs ensaiados, de forma isolada e em combinação, sobre o crescimento micelial radial de cepas de *C. gleosporioides* e *C. brevisporum*;
- II – Determinar o tipo de interação estabelecida quando da aplicação combinada de quitosana OEMP e OEMV frente às cepas de *C. gleosporioides* e *C. brevisporum*;
- III - Verificar a eficácia da aplicação de revestimentos de quitosana incorporados com OEMP e OEMV no controle de antracnose causada por cepas de *C. gleosporioides* e *C. brevisporum* em mamão papaya;
- IV - Avaliar os efeitos da aplicação dos revestimentos sobre alguns parâmetros físico-químicos

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

**UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA**



Continuação do Parecer: 3.218.936

indicadores de qualidade e de estágio de maturação de mamão papaya durante o armazenamento;
V - Avaliar os efeitos da aplicação dos revestimentos sobre as características sensoriais dos frutos ao longo do armazenamento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Apesar das frutas serem submetidas a avaliação prévia e só ser oferecida após comprovada a segurança alimentar, o provador pode não gostar (sabor, textura, aroma) e/ou sentir-se constrangido em preencher o questionário e/ou sentir algum desconforto ao prová-lo, o que constitui um risco, mesmo que mínimo, já que o revestimento permanece na casca do mamão, a qual não será consumida.

Benefícios:

A aplicação do revestimento de quitosana com adição de óleos essenciais de *Mentha piperita* L. (OEMP) e *Mentha x villosa* Huds (OEMV) como agente protetor frente à ação do *C. gloeosporioides* e *C. brevisporum*, consiste numa proposta inovadora, onde se utiliza compostos naturais, biodegradáveis e atóxicos que podem representar um avanço na tecnologia de preservação do mamão, atendendo desta forma aspectos mercadológicos, tecnológicos, científicos e ambientais.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O referido projeto de pesquisa incluirá na sua metodologia a análise sensorial do produto proposto, no caso mamão com revestimento de quitosana.

Para a realização da análise sensorial os participantes provadores (alunos e/ou Servidores da UFPB, Campus I) devem apresentar idade maior de 18 anos, independente do sexo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O referido projeto se encontra bem instruído conforme a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde que rege as pesquisas envolvendo seres humanos.

Recomendações:

Recomenda-se manter a metodologia proposta.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa.

Endereço: UNIVERSITARIO S/N		
Bairro: CASTELO BRANCO		CEP: 58.051-900
UF: PB	Município: JOAO PESSOA	
Telefone: (83)3216-7791	Fax: (83)3216-7791	E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

**UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA**



Continuação do Parecer: 3.218.936

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1256377.pdf	06/02/2019 15:58:29		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_consentimento_livre_e_esclarecido.docx	06/02/2019 15:57:18	SELMA DOS PASSOS BRAGA	Aceito
Outros	03071500.PDF	06/02/2019 15:17:02	SELMA DOS PASSOS BRAGA	Aceito
Folha de Rosto	00000001.PDF	12/11/2018 15:37:21	SELMA DOS PASSOS BRAGA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	00000100.PDF	12/11/2018 14:01:08	SELMA DOS PASSOS BRAGA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetotese.pdf	12/11/2018 14:00:40	SELMA DOS PASSOS BRAGA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOAO PESSOA, 25 de Março de 2019

Assinado por:

**Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador(a))**

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

ANEXO B

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

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Prezado (a) Senhor (a)

Eu, Selma dos Passos Braga, orientada pelo prof Evandro Leite de Souza, vimos convidá-lo (a) a participar da presente pesquisa, a qual faz parte do projeto de Doutorado intitulado: “REVESTIMENTOS DE QUITOSANA INCORPORADOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Mentha piperita* L. e *Mentha x villosa* Huds PARA O CONTROLE PÓS-COLHEITA DA ANTRACNOSE EM MAMÃO (*Carica papaya* L.)” que tem como um dos principais objetivos avaliar o efeito da aplicação dos revestimentos sobre os aspectos sensoriais, cor, aroma, sabor e aparência, indicadores de qualidade e de estágio de maturação de mamão papaia durante o armazenamento.

Solicitamos a sua colaboração para preenchimento dos formulários de aceitabilidade dos produtos elaborados, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde, e em revistas científicas. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos ainda que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para a sua saúde.

A sua participação implica em realizar a análise sensorial de amostras de mamão as quais foram submetidas a aplicação dos revestimentos contendo quitosana e OE, que consiste em provar e registrar sua avaliação através de perguntas e respostas de múltipla escolha. Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum prejuízo. Lembrando que não haverá nenhum custo ou benefício financeiro para você.

Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante dos esclarecimentos prestados, concordo em participar da pesquisa e dou meu consentimento para publicação dos resultados, ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para o (a) pesquisador (a) **SELMA DOS PASSOS BRAGA**. Telefone: 99924-4920. E-mail: selmaufpb@yahoo.com.br

Comitê de ética em Pesquisa (CEP/CCS/UFPB): Bairro: Castelo Branco, s/n, João Pessoa – PB, CEP: 58051-900. Tel.: (83) 3216-7791, e-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

2) Por favor, indique sua atitude ao encontrar essas frutas no mercado

5- compraria
4- possivelmente compraria
3- talvez comprasse/ talvez não comprasse
2- possivelmente não compraria
1- jamais compraria

Amostra (Código)	Intenção de compra

Comentários:

3) Por favor, de acordo com a avaliação global, qual fruta você consideraria **melhor**? Circule a melhor e anote os códigos conforme a colocação

451 - 537 - 398 - 246 - 815

	Posto				
	1º lugar	2º lugar	3º lugar	4º lugar	5º lugar
Códigos					

Comentários:

OBRIGADA!