

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO
ANÁLISE E CONTROLE DE QUALIDADE DE ALIMENTOS

SONÁLLE CAROLINA ALBUQUERQUE DE ANDRADE

EFICÁCIA DE REVESTIMENTOS DE GOMA ARÁBICA INCORPORADOS COM
ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* L. E *Rosmarinus officinalis* L. NO
CONTROLE DA PODRIDÃO MOLE EM AMEIXAS

JOÃO PESSOA - PB

2016

SONÁLLE CAROLINA ALBUQUERQUE DE ANDRADE

**EFICÁCIA DE REVESTIMENTOS DE GOMA ARÁBICA INCORPORADOS COM
ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* L. E *Rosmarinus officinalis* L. NO
CONTROLE DA PODRIDÃO MOLE EM AMEIXAS**

JOÃO PESSOA - PB

2016

SONÁLLE CAROLINA ALBUQUERQUE DE ANDRADE

**EFICÁCIA DE REVESTIMENTOS DE GOMA ARÁBICA INCORPORADOS COM
ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* L. E *Rosmarinus officinalis* L. NO
CONTROLE DA PODRIDÃO MOLE EM AMEIXAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição.

Área de concentração: Análise e Controle de Qualidade de Alimentos

ORIENTADOR: Prof^ª. Dr^ª. Marciane Magnani

JOÃO PESSOA - PB

2016

A553e Andrade, Sonálle Carolina Albuquerque de.
Eficácia de revestimentos de goma arábica incorporados
com óleo essencial de *Origanum vulgare* L. e *Rosmarinus
officinalis* L. no controle da podridão mole em ameixas /
Sonálle Carolina Albuquerque de Andrade.- João Pessoa,
2016.
94f.
Orientadora: Marciane Magnani
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS
1. Nutrição. 2. Alimentos - análise - controle de qualidade.
3. *Pronus domestica* L. 4. Revestimentos comestíveis.
5. *Rhizopus stolonifer*. 6. Qualidade pós-colheita.

UFPB/BC

CDU: 612.39(043)

SONÁLLE CAROLINA ALBUQUERQUE DE ANDRADE

**EFICÁCIA DE REVESTIMENTOS DE GOMA ARÁBICA INCORPORADOS
COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* L. E *Rosmarinus officinalis* L.
NO CONTROLE DA PODRIDÃO MOLE EM AMEIXAS**

Dissertação _____ em ___/___/2016.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Marciane Magnani
Orientadora

Prof. Dr. Marcos Antônio Barbosa de Lima
Membro externo

Dra. Lúcia Raquel Ramos Berger
Membro interno

À Deus, pela fé que me mantém viva e fiel à vida honesta,

À minha família que soube entender a minha ausência nos muitos momentos desde que ingressei no mestrado, até a conclusão desta dissertação,

Aos meus verdadeiros e queridos amigos por todo companheirismo e palavras de carinho.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, por seu amor, aparo e cuidado. Por ser minha fonte inestimável de força.

À minha mãe, Izabel, pelo amor e incentivo, principalmente por nunca medir esforços para termos educação de qualidade.

Às minhas irmãs, Eryka, Isabelle e Michela, que sempre estiveram do meu lado, me apoiando e torcendo por mim em qualquer decisão tomada. Agradeço a compreensão por todas os momentos de ausência.

À toda a minha família, compreendendo tios, sobrinhos, cunhados, primos, em especial Alex meu primo querido, por toda contribuição me ofertada direta ou indiretamente.

À orientadora professora Dr^a. Marciane Magnani, por me acolher como uma filha em seu laboratório, pelo desejo de me orientar, pela confiança em mim depositada, enfim, por todas as orientações na pesquisa, no projeto e na minha vida.

Aos professores participantes da banca examinadora, pela disponibilidade de participar e pelas contribuições a essa dissertação e também por dividirem comigo este momento tão importante e esperado: Dra Lúcia Raquel Ramos Berger e o Prof Dr Marcos Antônio Barbosa de Lima.

Aos meus amigos de infância, Maeli, Heyde, Valclemir, Maiara, Rafael, Paulinho e Daniel, que sempre estão comigo, me aconselhando, dando injeções de ânimo para nunca desanimar e dividindo comigo todas as alegrias, mesmo que distantes.

Aos amigos e companheiros de risos e alegrias, Alenna, Camila, Andreza, Karla, Jemima, Dani Videres, Noemia, Larissa, Camila, Aninha, Mário, Rodrigo, Ricardo, por me propiciarem o prazer e divertimento de agradáveis saídas, caipiroskas, conversas e conselhos.

Aos queridos que se fizeram mais presentes em minha caminhada como mestranda: Tainá, obrigada por dividir comigo todas as alegrias, angustias, dúvidas, sugestões e conhecimento durante todos os experimentos realizados por nós. Laênia, amiga que ganhei como tesouro nessa caminhada, sem você tudo seria mais difícil, pois dividi minhas agonias, lamurias, tristezas, descontentamentos, mas também muita alegria, diversão, risos frouxos, viagens, novidades e felicidade. Não poderia esquecer de Eduardo Vasconcelos, meu querido, obrigada por estar presente e se fazer um presente durante essa caminhada, você é um ser iluminado que ajuda a todos ao seu redor, obrigada pelo “peixinho” que peguei emprestado e nunca devolvi, por ir comigo fazer leitura no fim de semana, por tirar minhas dúvidas na vida acadêmica e pessoal.

À todos que foram e ainda são do grupo de pesquisa do Laboratório de Processos Microbianos do CT, Geany, Rayssa (meu anjo estatístico), Myrela, Jéssica, Whyara, Adma, Vanessa, Rafael (boró), Rayane, Juliana, Larissa Ramalho, Neyrijane, João, Larissa Romão, por todos os momentos vividos e divididos com vocês, como sempre a professora fala, somos uma família que graças a Deus convive na mais perfeita harmonia e respeito.

Aos Professores do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos, prof. Dr. Evandro Leite de Souza pela oportunidade de iniciação científica concedida, pelo aprendizado transmitido e por seu exemplo de profissional e pesquisador; como também a prof^a. Dr^a. Maria Lúcia da Conceição por sua acolhida e por transmitir experiência e conhecimentos.

À todos que foram e ainda são do grupo de pesquisa do Laboratório de Nutrição, Nereide, Ana Júlia, Rayanne, Jossana, Ingrid, Priscila, Helena, Vanessa, Camila, Neusa, Isabella, Adassa, Polyana, Daniel, Nelson “mastigador” e em especial a minha amiga Larissa Sousa, por todos os momentos agradáveis que vivenciamos que foram importantes para o crescimento profissional e científico.

Às colegas de turma da pós-graduação pela amizade, cooperação, incentivo e especialmente as da área de alimentos Nayara, Tayanna, Celina, Valdenice pelos bons momentos de convívio.

Aos professores da pós-graduação, pelos saberes concedidos, dedicação e contribuição na condução das disciplinas.

Às professoras Marta Madruga e Janeeyre Ferreira, por disponibilizar o seu laboratório e sempre colaborar para a condução da pesquisa.

Ao Departamento de Física da UFPE pela realização da Microscopia Eletrônica de Varredura, como também ao Prof. Marcos Antônio Barbosa pelo auxílio, execução e compreensão dos resultados.

Aos técnicos de laboratório Gilvandro e Claudionor, pelo apoio na realização das análises.

À “seu” Carlos secretário da pós-graduação por todo apoio prestado aos alunos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida, a qual me permitiu desenvolver este projeto de Mestrado.

À todos, que contribuíram de alguma forma para o meu crescimento os meus mais sinceros agradecimentos!

ANDRADE, S.C.A. **Eficácia de revestimentos de goma arábica incorporados com óleo essencial de *Origanum vulgare* L. e *Rosmarinus officinalis* L. no controle da podridão mole em ameixas.** 2016. Orientadora Marciane Magnani

RESUMO

Este estudo avaliou a eficácia de revestimentos de goma arábica (GA) e óleo essencial de *Origanum vulgare* L. (OEOV) sozinho ou em combinação com o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (OERO) como tratamento pós-colheita para controlar a podridão mole causada pelo fungo *Rhizopus stolonifer* em ameixas durante o armazenamento à temperatura ambiente (25 °C durante 8 dias) e temperatura refrigerada (12 °C durante 21 dias). Os efeitos dos revestimentos nas características físico-químicas e organolépticas dos frutos também foram avaliados. As concentrações inibitórias mínimas (CIM) do OEOV e do OERO foram 0,25 µL/mL e 1 µL / mL, respectivamente. O Índice de Concentração Inibitória Fracionada dos óleos essenciais (EOs) combinados foi $\leq 0,25$ contra *Rhizopus stolonifer* indicando interação sinérgica. A incorporação da combinação de GA (1 mg/mL) e OEOV (0,25 µL / mL) ou de GA (1 mg/mL) e OEOV (0,06 µL / mL) + OERO (0,25 µL / mL) inibiu fortemente o crescimento micelial, a germinação de esporos e a esporulação de *R. stolonifer*. As combinações de GA + OEOV (GA-OEOV) e GA + OEOV + OERO (GA-OEOV-OERO) retardaram a ocorrência de podridão mole em ameixas artificialmente contaminadas e reduziram o número de frutos infectados no final do armazenamento na temperatura ambiente e refrigerada. Os revestimentos GA-OEOV ou GA-OEOV-OERO preservaram os aspectos de qualidade físico-químicas pós-colheita e reforçaram os parâmetros sensoriais cor e aroma das ameixas. No entanto, o revestimento GA-OEOV afetou negativamente o atributo sabor residual. Frutos revestidos com GA-OEOV e GA-OEOV-OERO exibiram maiores quantidades de xilose, ácido málico, elágico e rutina nos períodos de armazenamento avaliados em comparação com aqueles não-revestidos. Esses resultados indicam que revestimentos de GA e OEOV sozinho ou em combinação com OERO são tratamentos promissores para a prevenção da podridão mole e manutenção da qualidade pós-colheita de ameixas.

Palavras-chave: *Prunus domestica* L., revestimentos comestíveis, *Rhizopus stolonifer*, qualidade pós-colheita.

ANDRADE, S.C.A. **Eficácia de revestimentos de goma arábica incorporados com óleo essencial de *Origanum vulgare* L. e *Rosmarinus officinalis* L. no controle da podridão mole em ameixas.** 2016. Orientadora Marciane Magnani

ABSTRACT

In this study, the efficacy of coatings comprising gum arabic (GA) and the essential oil from *Origanum vulgare* L. (OVEO) alone or in combination and *Rosmarinus officinalis* L. (ROEO) as a postharvest treatment to control *Rhizopus* soft rot on plums during storage at room temperature (25 °C for 8 days) and cold temperature (12 °C for 21 days) was evaluated. The effects of these coatings on some physicochemical and sensory characteristics of the fruit were also assessed. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of OVEO and ROEO were 0.25 µL/mL and 1 µL/mL, respectively. The Fractional Inhibitory Concentration Index of the combined EOs (≤ 0.25) against *Rhizopus stolonifer* indicated a synergic interaction. The incorporation of a combination of GA and OVEO at 0.25 µL/mL or of GA and OVEO at 0.06 µL/mL plus ROEO at 0.25 µL/mL in the growth media strongly inhibited the mycelial growth, spore germination and sporulation of *R. stolonifer*. Both the combination of GA + OVEO and GA + OVEO + ROEO delayed the occurrence of soft rot in artificially contaminated plums and decreased the number of infected fruits at the end of storage at room and cold temperatures. GA-OVEO or GA-OVEO-ROEO coatings preserved the postharvest physicochemical quality aspects and enhanced the sensory parameters color and flavor of plums. However, the GA-OVEO coating negatively affected the aftertaste of fruit. Fruit coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO exhibited greater amounts of xylose, malic and ellagic acid and rutin at the assessed storage period. These results indicate the coatings comprising GA and OVEO alone or in combination with ROEO as promising postharvest treatments to prevent the *Rhizopus* soft-rot and preserve the postharvest quality in plums.

Keywords: *Prunus domestica* L., edible coatings, *Rhizopus stolonifer*, postharvest quality.

LISTA DE FIGURAS

Revisão de Literatura

Figura 1 Exsudato da goma arábica 21

Artigo

Figura 1 Effects of Gum Arabic, *O. vulgare* and *R. officinalis* essential oils alone or in combination on *R. stolonifer* URM 3728 mycelial growth over 72 h (25 °C). 86

Figura 2 Scanning electron microscopy of the surface of plums infected with spores of *R. stolonifer* URM 3728. 87

Figura 3 Weight loss in uncoated plums and plums coated with dispersion containing gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (A) or at cold temperature (B). 88

Figura 4 Firmness of uncoated plums and plums coated with dispersion containing gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (A) or low temperature (B). 89

Figura 5 Changes in the concentrations of sugars in uncoated plums and plums coated with dispersion containing gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (A) or at cold temperature (B). 90

Figura 6 Changes in the concentrations of organic acids in uncoated plums and plums coated with dispersion containing gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (A) or at cold temperature (B). 91

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** GC-MS analysis of essential oils from *O. vulgare* L. and *R. officinalis* L. 79
- Tabela 2.** Effects of gum arabic (GA) alone or in combination with *O. vulgare* (OVEO) and or *R. officinalis* (ROEO) essential oil on *R. stolonifer* URM 3728 spore germination and sporulation after a 24 h-incubation (25 °C). 80
- Tabela 3.** Occurrence of Rhizopus soft rot in uncoated plums and plums coated with gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (25 °C, 8 days) or at cold temperature (12 °C, 21 days). 81
- Tabela 4.** Mean values for physicochemical quality parameters in uncoated plums and plums coated with gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (25 °C, 8 days) or at cold temperature (12 °C, 21 days). 82
- Tabela 5.** Phenolic compounds determined in uncoated plums and plums coated with gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (25 °C, 8 days) or at cold temperature (12 °C, 21 days) 83
- Tabela 6.** Mean values for sensory attributes in uncoated plums and plums coated with gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at cold temperature (12 °C, 10 days). 84
- T. S. 1.** Mean values of the color parameters in uncoated plums and plums coated with gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or alone or in combination with and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (25 °C, 8 days) and at cold temperature (12 °C, 21 days). 85

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 AMEIXAS: PRODUÇÃO E QUALIDADE PÓS-COLHEITA.....	15
2.2 REVESTIMENTO COMESTÍVEIS.....	17
2.2.1 Goma arábica como revestimento comestível.....	20
2.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	22
2.3.1 Óleos essenciais em revestimentos comestíveis.....	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3. 1 MATERIAIS.....	27
3.1.1 Ameixas.....	27
3.1.2 Micro-organismo teste.....	27
3.1.3 Goma Arábica e óleos essenciais	27
3.2 MÉTODOS.....	28
3.2.1 Identificação dos constituintes do OVEO e ROEO.....	28
3.2.2 Preparação de soluções de GA e OEs.....	28
3.2.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos OEs.....	29
3.2.4 Determinação do Índice de Concentração Inibitória Fracionado (ICIF).....	29
3.2.5 Efeitos sobre a germinação de esporos.....	29
3.2.6 Efeitos na esporulação fúngica.....	30
3.2.7 Efeitos sobre o crescimento micelial.....	30
3.2.8 Efeitos da GA e OEs na podridão-mole de ameixas.....	31
3.2.9 Análise de MEV da infecção por <i>R. stolonifer</i> nas ameixas.....	32
3.2.10 Análises físico-químicas das ameixas.....	32
3.2.11 Determinação de ácidos orgânicos e açúcares nas ameixas.....	33
3.2.12 Análise cromatográfica e identificação de compostos fenólicos nas ameixas.....	34
3.2.13 Análise sensorial das ameixas.....	34
3.2.14 Análises estatísticas.....	35
REFERÊNCIAS	36
APÊNDICES	45

1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como um dos maiores produtores de frutas no mundo. Nos últimos dez anos, a produção de frutas no país teve um crescimento em torno de 110% e um consumo *per capita* de 54kg/ano (MIRANDA et al., 2012). A fruticultura é uma atividade dinâmica e de forte potencial de crescimento, podendo ser um dos grandes vetores da reversão do quadro de dificuldades econômicas encontrado no Brasil (OLIVEIRA; FARIAS FILHO, 2012).

Embora segmentos da cadeia produtiva da agricultura brasileira estejam em destacável expansão, alguns permanecem frágeis e pouco estudados, como é o caso das perdas pós-colheita em frutas. Os patógenos, principalmente, os quiescentes em pós-colheita, têm causado destacáveis transtornos aos atacadistas, varejistas e principalmente aos importadores de frutos, vindo a causar perdas consideráveis e impacto na suficiência da atividade (SENHOR et al., 2009).

A ameixa (*Prunus domestica* L.) é uma espécie frutífera de regiões de clima temperado, mundialmente consumida *in natura*. A produção comercial da ameixa ultrapassa 10 milhões de toneladas/ ano e um dos principais problemas relacionados a perdas pós-colheita desta fruta é a deterioração por fungos patogênicos (FAO, 2011; CHEN E ZHU, 2011). A podridão mole em ameixas é causada por fungos do gênero *Rhizopus*, sendo a espécie *R. stolonifer* amplamente associada a elevados prejuízos econômicos decorrentes das perdas após a colheita (BAGGIO, 2015). Embora tratamentos com fungicidas químicos tem sido eficientemente aplicados como o principal método de controle de *R. stolonifer* em ameixas, há uma crescente preocupação sobre o uso destes aditivos sintéticos em frutas devido a possíveis efeitos tóxicos de seus resíduos para humanos e para o ambiente, bem como devido a emergência de cepas fúngicas resistentes (SANTOS et al., 2012; KARACA et al., 2014).

Para atender a crescente exigência do consumidor por produtos alimentícios mais naturais, e com uma vida útil prolongada, tem sido observado mudanças no processamento de alimentos, incluindo a busca de novos compostos antimicrobianos (FAI; STAMFORD; STAMFORD, 2008). Neste cenário, a aplicação de revestimentos comestíveis com propriedades antimicrobianas tem sido considerada uma alternativa promissora para inibir o crescimento e sobrevivência de fungos patogênicos pós-colheita (NGUEFACK et al., 2009; CAMELE et al, 2010; CORREA-ROYERO et al., 2010; SHUKLA et al., 2012).

A goma arábica é um biopolímero atóxico e biodegradável, obtido a partir de caules e ramos de acácia, composto de galactose, ramnose, arabinose e ácido glucorónico (MAQBOOL et al., 2011). Este polissacarídeo possui potencial como filme ou revestimento devido as suas propriedades emulsificantes (ALI et al., 2010). Revestimentos de goma arábica adicionados de substâncias antimicrobianas tem sido estudado como alternativas para tratamento pós-colheita em cogumelos (JIANG, FENG, ZHENG E LI, 2013), peixes (LUYUN CAI et al., 2014), bananas (MAQBOOL, ALI, ALDERSON, ZAHID E SIDDIQUI, 2011), mamão (MAQBOOL et al., 2011) e tomates (ALI et al., 2010).

Os óleos essenciais de plantas têm recebido destaque como antimicrobianos para controle de patógenos pós-colheita devido às suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (RASOOLI; REZAEI; ALLAMEH, 2006; SOUSA et al., 2012). Óleos essenciais são compostos voláteis complexos produzidos em diferentes partes dos vegetais, reconhecidos por possuir diversas funções nas plantas, incluindo a de proteção contra a ação de micro-organismos fitopatógenos (FENG; ZHENG, 2007). Estas substâncias se destacam como antimicrobianos naturais de amplo espectro reconhecidos como GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro) nas doses geralmente aplicadas em alimentos (OMIDBEYGI et al., 2007; GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2009).

Considerando tais aspectos, o presente estudo teve como objetivo i) avaliar *in vitro* os efeitos da aplicação de goma arábica e dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis* L. (OERO - alecrim) e de *Origanum vulgare* L. (OEOV - orégano) sozinhos ou em combinação na inibição do crescimento de *R. stolonifer*; ii) avaliar os efeitos da aplicação de coberturas comestíveis compostas de goma arábica e OEOV sozinho ou em combinação com OERO no controle da podridão mole em ameixas armazenadas em temperatura ambiente e refrigerada; iii) avaliar os efeitos da aplicação de coberturas comestíveis compostas de goma arábica e OEOV sozinho ou em combinação com OERO nas características físicas, físico-químicas e sensoriais dos frutos durante o armazenamento a temperatura ambiente e refrigerada.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AMEIXAS: PRODUÇÃO E QUALIDADE PÓS-COLHEITA

A ameixeira (*Prunus domestica* L.) pertence à família das Rosáceas, uma das maiores famílias de dicotiledôneas, são produzidas em várias regiões geográficas e consumidas em todo o mundo, sendo cultivadas comercialmente em mais de 80 países e a produção total é de mais de 10 milhões de toneladas por ano (FAO, 2011).

Os principais países produtores de ameixa são a China, com aproximadamente 51% da produção, seguida pela Sérvia com 5,1%, Romênia com 5% e os Estados Unidos com 4,9%. Na América Latina, o Chile destaca-se como o maior produtor, seguido pela Argentina. No Brasil, o cultivo da ameixa ganhou impulso nas últimas quatro décadas, deixando de ser uma cultura de subsistência para ser cultura comercial (FAOSTAT, 2013).

O mercado brasileiro de comercialização de ameixas, é de aproximadamente 653 mil toneladas por ano, sendo que praticamente a metade desta demanda é suprida pela importação do produto de países como Argentina, Espanha e Chile (MÜLLER, 2013). No ano de 2014, aproximadamente 63 mil toneladas de ameixa foram comercializadas somente na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo-CEAGESP-SP (FNP, 2015). O cultivo da ameixa no Brasil é uma atividade de alta rentabilidade para os produtores, estimada em US\$ 5.200 por hectare, além de estar relacionada com a geração de empregos no campo, por exigir mão de obra especializada e contínua (BUAINAIN; BATALHA, 2007). São escassos os levantamentos sobre o cultivo de ameixa no Brasil, os dados atuais relatam aproximadamente 4,5 mil hectares cultivados, o cultivo de ameixa ocorre praticamente em sua totalidade, nas regiões Sul e Sudeste do país, com destaque para os estados de Santa Catarina (24%), São Paulo (23%), Paraná (22%), Rio Grande do Sul (21%) e Minas Gerais (10%) (FACHINELLO et al., 2011).

As condições de mercado têm sido altamente favoráveis à comercialização, havendo espaço para o crescimento da produção nacional, uma vez que boa parte da demanda são cobertas pela importação da fruta produzida em outros países (KIST et al., 2012). Em razão do enorme potencial econômico, políticas de desenvolvimento regional têm sido implantadas para apoiar e incentivar o desenvolvimento da cultura nas regiões favoráveis às suas exigências climáticas. Apesar da ameixa estar entre as 20 frutas mais adaptáveis a clima temperado produzida no Brasil e do cenário ser muito promissor para sua expansão,

problemas fitossanitários têm exigido muita atenção por parte dos produtores (MÜLLER, 2013).

Frutos de ameixa são bastante sensíveis às injúrias pós-colheita, especialmente às doenças provocadas por patógenos necrotróficos. As doenças pós-colheita são provavelmente a causa mais séria dessas perdas em produtos perecíveis como frutos e hortaliças (VILAS BOAS, 2002). Doenças pós-colheita são definidas como doenças cujos sintomas aparecem após a colheita. Nesta categoria é possível estabelecer dois grupos: (i) doenças pós-colheita típicas e (ii) doenças pós-colheita quiescentes. No primeiro grupo estão os patógenos cuja infecção ocorre na maioria das vezes por fermento. Já no segundo grupo, a infecção ocorre no campo, algumas vezes durante a florada, permanecendo latente durante todo o desenvolvimento do fruto (AMORIM; MARTINS; BASSETO, 2005).

A ameixa é suscetível aos dois grupos de doença pós-colheita, em função, principalmente, do seu elevado teor de água, que oscila entre 75 e 95%. Além disso, apresenta um limitado período pós-colheita e necessita de cuidados específicos e especiais durante as etapas de colheita, transporte e armazenamento para reduzir as perdas e os danos pós-colheita. Dentre as principais doenças pós-colheita que incidem em frutos de ameixa, a podridão mole causada pelo fungo *Rhizopus stolonifer* é uma das principais e mais frequentes doenças pós-colheita em fruto de ameixa (MARTINS, et al., 2005). A Podridão Mole é caracterizada pela presença de áreas circulares marrons e aquosas nos frutos infectados, as quais liberam substâncias que possuem odor ácido ou fermentado (BAGGIO, 2012). O sinal mais comum da ocorrência da doença é a presença de uma massa de micélio de coloração acinzentada, densa e macia crescendo sobre a superfície do fruto, com estolões miceliais longos que se estendem sobre frutos adjacentes, ocorrendo, posteriormente, a formação de esporângios pretos (AMIRI et al., 2011).

Rhizopus é um fungo com alta capacidade saprofítica, que pode ser encontrado em todos os tipos de materiais vegetais e seus esporos são comumente encontrados na atmosfera (MASSOLA JUNIOR; KRUGNER, 2011). O principal agente etiológico da Podridão Mole, *Rhizopus stolonifer*, pertence ao filo Zygomycota, ordem Mucorales e família Mucoraceae (MASSOLA JUNIOR; KRUGNER, 2011). Em umidade baixa, *Rhizopus* produz grandes quantidades de esporos sobre hifas. Já em umidade mais elevada, que é mais facilmente encontrada no interior de embalagens de armazenamento dos frutos, a produção micelial é abundante, enquanto a de esporos é esparsa (FISHER; COOK, 2001).

É consenso na literatura que *Rhizopus* penetra seu hospedeiro apenas na presença de fermento (DAVIS, 1991; MAAS, 1998; HARTE; TAVARES; SILVA, 2006). Frutos não

injurados não seriam suscetíveis à infecção pelo patógeno (OGAWA, 1995). Em estudos realizados na CEAGESP, a importância do ferimento para a penetração do patógeno foi constatada pela correlação positiva entre a frequência de ameixas com injúrias mecânicas e a frequência de frutos doentes, isto é, quanto maior a quantidade de frutos danificados mecanicamente maior a incidência de doenças pós-colheita, como a podridão mole causada por *Rhizopus* (AMORIM et al., 2008).

Apesar do consenso generalizado de que *R. stolonifer* penetra seus hospedeiros exclusivamente na presença de ferimentos, alguns estudos vêm sugerindo que o fungo seja capaz de causar doenças em frutos não injurados. Alguns autores reportaram a presença de podridão mole em frutas intactas como foi verificado em uvas (TAVARES; SILVA, 2006; SANTOS et al., 2012) e em pêssegos e nectarinas (BAGGIO et al., 2012).

A redução da podridão mole é considerada um grande desafio, já que o progresso da doença ocorre de forma muito rápida, em poucos dias o fungo é capaz de colonizar o fruto inteiro e servir de fonte de inóculo para os demais. Para minimizar as perdas e conseqüentemente a redução na incidência de doenças pós-colheita, o principal método utilizado baseia-se na utilização de fungicidas (BENATO, 2002; SANTOS et al., 2012).

O controle químico através da aplicação de fungicidas sintéticos apresenta desvantagens como, elevado custo de produção, perigos para os manipuladores, preocupação acerca dos resíduos em alimentos e ameaça à saúde pública (GUERRA et al., 2015). A preocupação pública destes riscos tem despertado o interesse na descoberta de protetores de culturas mais seguros com vista à substituição de pesticidas químicos sintéticos. Uma alternativa emergente tem sido o uso de revestimentos naturais com potencialidade fungitóxica, os quais devem ter baixa toxicidade em mamíferos, menos efeitos deletérios sobre o ambiente, e ampla aceitação pública (HAMILTON-KEMP et al., 2000).

2.2 REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS

Após a colheita, a maioria das frutas, especialmente no ambiente tropical, apresentam aceleração da maturação e deterioração em consequência das mudanças bioquímicas e fisiológicas, bem como de acondicionamento e práticas de manuseio inadequadas. Na cadeia de frutos para exportação, a qualidade alcançada para o consumidor final é resultado da qualidade do gerenciamento de cada elo da cadeia: produtores, exportadores, importadores, atacadistas e varejistas (CARVALHO, 2003; NEVES, 2009). Durante o período denominado

pós-colheita, os produtos que não são manipulados adequadamente e/ou tratados com inibidores microbianos eficientes, podem perder a qualidade para o consumo. O declínio da resistência natural das frutas pode ativar infecções quiescentes e aumentar a incidência de doenças (TERRY; JOYCE, 2004). Dessa forma, o controle das doenças em pós-colheita é uma atividade imprescindível para manter a qualidade e aumentar a vida de prateleira da fruta, especialmente quando o período entre a colheita e o consumo for amplo (LINS et al, 2011).

Diante disso, observa-se que o potencial de conservação de um fruto está diretamente relacionado não só ao manejo adequado, mas também ao seu ponto de colheita e aos tratamentos fitossanitários e de campo, que podem interferir na deterioração desses frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A conservação pós-colheita usualmente empregada está, em quase sua totalidade, centrada na cadeia de frio e em boas práticas de armazenamento. Entretanto, a tecnologia de aplicação de revestimentos comestíveis tem se destacado por elevar o tempo de conservação permitindo uma maior flexibilidade de manuseio e comercialização (FONSECA; RODRIGUES, 2009; VARGAS et al., 2008).

Esses revestimentos não têm como objetivo substituir o uso dos materiais convencionais de embalagens ou mesmo eliminar definitivamente o emprego do frio, mas sim o de apresentar uma atuação funcional e coadjuvante, contribuindo para a preservação da textura e do valor nutricional, reduzindo as trocas gasosas superficiais e a perda ou ganho excessivo de água. Ao promover alterações na permeação e, por conseguinte, alterar a atmosfera interna, alguns autores consideram o efeito dessas coberturas similares aos conseguidos pelas embalagens com atmosfera modificada (PARK, 2005; TURHAN, 2010). As coberturas comestíveis são aplicadas ou formadas diretamente sobre a superfície das frutas, configurando membranas delgadas, imperceptíveis a olho nu e com diversas características estruturais, que são dependentes da formulação da solução filmogênica precursora. Como estas coberturas passam a fazer parte do alimento a ser consumido, os materiais empregados em sua formação devem ser considerados como GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro), ou seja, serem atóxicos e seguros para o uso em alimentos (FDA, 2011).

A aplicação de revestimento em frutos pode ser realizada de duas formas: (i) por meio de imersão rápida do fruto em uma solução filmogênica (depois, o alimento é deixado em repouso até que a água evapore e a película se forme sobre a fruto) ou (ii) por meio de aspersão, cujo processo é semelhante, porém a solução é aspergida sobre o alimento (JUNIOR et al., 2010).

Dentre as vantagens dos métodos de cobertura de frutos estão a simplicidade de equipamentos necessários para a preparação e o custo vantajoso em relação aos sistemas convencionais de embalagem, ambos muito pertinentes para o uso por pequenos produtores rurais. Uma outra vantagem é que em revestimentos podem ser incorporados aditivos que aumentem a sua eficácia, tais como antioxidantes, antimicrobianos e flavorizantes prolongando sua vida de prateleira, inibindo o crescimento de micro-organismos patogênicos, preservando o alimento da contaminação e deterioração, como também de alterações nutricionais (LÓPEZ et al., 2007).

Segundo a ANVISA (2012), com base em princípios da análise de risco, foram estabelecidos quais são os aditivos e os coadjuvantes de tecnologia permitidos para as diferentes categorias de alimentos e em que funções e limites máximos de uso, visando alcançar o efeito tecnológico sem oferecer risco à saúde humana. O emprego de aditivos alimentares é limitado ainda por normas específicas, fundamentadas em critérios restritos apoiados em regulamentações e sugestões emitidas em nível mundial por comitês especialistas da Organização Mundial da Saúde – OMS – e da Organização para Alimentação e Agricultura – FAO, dentre outros. As matérias-primas empregadas na formação de revestimentos comestíveis podem ser polissacarídeos, ceras (lipídios) e proteínas, essas são as classes de materiais mais empregados, e a escolha depende fundamentalmente das características do produto a ser revestido e do objetivo almejado com o revestimento aplicado. Atualmente, existe a tendência de classificar os materiais empregados nos revestimentos em hidrofóbicos e hidrofílicos (ASSIS et al., 2008; ZARITZKY, 2011). Os hidrofílicos são materiais com estruturas nas quais há a predominância de grupos amino ou hidroxila e carboxila (OH, COO–NH₃) caracterizados por ligações covalentes polares. Em função das características desses grupos, a cadeia carbônica apresenta sítios parcialmente carregados positivamente e outros carregados negativamente. Essa característica da estrutura química favorece o acúmulo e o rearranjo de moléculas polares, e principalmente da água, em torno desses sítios. Alguns exemplos destes materiais são os polissacarídeos, como a celulose, a quitina, a goma xantana, a goma guar, a goma arábica, a pectina, o amido e os polissacarídeos polieletrólitos, como a carboximetilcelulose, a quitosana, o alginato, etc. Os materiais hidrofílicos normalmente apresentam boa solubilidade em meio aquoso, favorecendo uma melhor dispersão do soluto e uma formação mais homogênea do filme. Dependendo da estrutura química, podem formar géis ou até mesmo requerer alterações químicas para uma completa solubilização (ASSIS; BRITO, 2014).

2.2.1 Goma arábica como revestimento comestível

A goma arábica ou goma acácia é um produto obtido da dessecação espontânea do exsudato dos troncos e dos ramos da *Acacia senegal* (Linne) (GABAS; CAVALCANTI, 2003). É um polissacarídeo ácido de estrutura ramificada, cuja a cadeia principal é formada por unidades de D-galactopiranosose unidas por ligações glicosídicas β -D-(1 \rightarrow 3). A esta cadeia principal, através de ligações β (1 \rightarrow 6), estão ligadas as cadeias laterais com diferentes estruturas químicas, formadas de D-galactopiranosose, L-ramnose, L-arabinofuranose e ácido glucorônico (BOBIO; BOBIO, 2003; EL-ANANY et al., 2009). A goma arábica contém 12% a 15% de água e várias enzimas ocluídas oxidases, peroxidases e pectinases, em base seca, possui de 1% a 2% de diferentes espécies de proteínas, além disso, pode apresentar substâncias associadas, como polifenóis e minerais (magnésio, potássio, cálcio, sódio) em cerca de 3% a 4%. Embora tenha elevado peso molecular, apresenta um comportamento reológico newtoniano em meio aquoso (10% na formulação), sendo uma consequência da compactada e altamente ramificada estrutura da molécula (FOOD INGREDIENTES, 2011). Para se obter a goma arábica as árvores são sujeitas às condições de seca ou são feridas, no entanto a produção do exsudato é condicionada, fazendo-se uma incisão transversal no córtex e descascando-o acima e abaixo do corte, expondo uma área de câmbio. Entre duas a oito semanas, as lágrimas formadas nessa superfície de exposição são colhidas, dependendo das condições climáticas. O exsudato produzido por incisão transversal no córtex da *Acácia senegal* é mostrado na Figura- 1.

A goma arábica é amplamente utilizada devido a sua capacidade de emulsificação, formação de filme, sabor suave e as propriedades de encapsulamento. É usada em alimentos (doces, bolos, biscoitos, bebidas e produtos secos embalados), medicamentos (como uma transportadora em cápsulas e em suplementos de alto teor de fibra solúvel), produtos cosméticos (cremes e loções) e tintas litográficas (MOTLAGH et al., 2006). A goma arábica possui excelente solubilidade em água, propriedades tensoativas e produz soluções com baixa viscosidade em altas concentrações de sólidos (KAUSHIK; ROOS, 2007).

Figura 1 - Exsudato da goma arábica



Fonte: ZOIA, 2011

Os três grandes campos de aplicações da goma acácia são confeitos, emulsão de aromas em bebidas e encapsulamento de aromas. A maior aplicação da goma arábica é na indústria de confeitos, onde é utilizada em uma grande variedade de produtos, tais como gomas, pastilhas, marshmallows e caramelos (toffees). A goma arábica é estável em condições ácidas, sendo extensamente usada como emulsificante na produção de óleos aromatizantes concentrados de cola e cítricos, para aplicação em refrigerantes. A goma é capaz de inibir a floculação e a coalescência de gotas de óleo durante vários meses; além disso, as emulsões permanecem estáveis por até um ano quando diluídas em até aproximadamente 500 vezes. Atualmente, a goma arábica é empregada em microencapsulamento para transformar o aroma de alimentos de líquidos voláteis para pós para facilitar sua incorporação em alimentos (YE et al., 2012).

A utilização da goma arábica para revestimento em alimentos é recente, no entanto, os resultados são promissores. No estudo realizado por Ali et al. (2010) a goma arábica foi utilizada como revestimento comestível em tomates, e foi observado redução da velocidade de maturação, permitindo um período de armazenamento em temperatura ambiente de até 20 dias sem qualquer deterioração ou comprometimento de sabor. Em outro estudo (MAQBOOL et al., 2011) empregou revestimentos de goma arábica e quitosana resultando num aumento da vida de prateleira de bananas, o qual foi associado a redução da taxa respiratória e o aumento

do prazo de validade por até 33 dias. A goma arábica foi aplicada em combinação com natamicina, resultando em aumento da durabilidade de cogumelos *Shiitake* durante armazenamento refrigerado, além de promover a manutenção da firmeza e qualidade sensorial e reduzir a perda de peso dos frutos. (JIANG et al., 2013).

Tendo em vista o efeito sensorial resultante da aplicação direta de óleos essenciais aos alimentos, a incorporação destes produtos aos filmes pode viabilizar a sua aplicação em revestimentos de alimentos (OJAGH et al., 2010). Alguns autores observaram em estudos *in vitro* e *in vivo* que a incorporação de diferentes óleos essenciais na matriz da goma arábica melhorou sua propriedade antimicrobiana. Em estudo utilizando goma arábica (GA) (10%), óleo de erva-cidreira (LG) (0,05%), óleo de canela (MC) (0,4%), e suas combinações para controle de antracnose pós-colheita de banana e mamão, e os resultados sugeriram que a aplicação combinada de 10% GA com 0,4% de MC foi a concentração ótima para o controle da antracnose em mais de 80% dos frutos contaminados artificialmente (MAQBOOL et al., 2011). Outro estudo avaliou a goma arábica (10%), óleo de cominho preto (1%) e óleo de capim-limão (0,5%) isoladamente ou em combinação na qualidade pós-colheita do fruto *Zaghloul*, no período de 60 dias de armazenamento refrigerado, e os resultados mostraram que ao término do período de armazenamento as frutas tratadas não tinham sinais visíveis de doenças pós-colheita como também apresentavam uma melhoria dos aspectos físico-químico (perda de peso, sólidos solúveis, acidez titulável) comparados com o controle (EL-SHARONY et al., 2015).

2.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais (OEs) são compostos voláteis complexos produzidos em diferentes partes (folhas, caule, frutos, folhas e flores) de plantas aromáticas (BURT, 2004). Estas substâncias proporcionam resistência as doenças causadas por micro-organismos fitopatogênicos, atuam como inibidores da germinação de fungos, atraem polinizadores, além de inibirem a perda de água e aumento da temperatura (FENG; ZHENG, 2007). OEs têm atraído interesse científico pelo fato de caracterizarem-se como produtos naturais reconhecidos como seguros - GRAS, possuir amplo espectro de atividade antimicrobiana, e apresentar eficácia no controle de micro-organismos patogênicos e deteriorantes de importância em vegetais (GUTIERREZ et al., 2009; OMIDEYGI et al., 2007).

Duas principais características são atribuídas aos OEs como agentes antimicrobianos de possível uso em alimentos: a) sua origem natural, o que significa mais segurança para os

consumidores e para o meio ambiente; e b) são considerados como possuidores de baixo risco de desenvolvimento de resistência microbiana (DAFERERA et al., 2003). A segunda característica citada toma como base o fato de que os óleos essenciais são compostos por uma grande variedade de constituintes, os quais, aparentemente, apresentam diferentes mecanismos de atividade antimicrobiana, tornando, desta forma, mais difícil uma possível adaptação dos micro-organismos frente a sua ação (MARINELLI et al., 2012). Os principais constituintes de OEs são terpenóides, monoterpênicos e sesquiterpênicos, em soma a uma variedade de fenóis aromáticos, óxidos, éteres, álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas que determinam o aroma e odor característico da planta (BATISH et al., 2008).

A atividade antifúngica dos OEs depende da sua composição química e suas atividades biológicas são frequentemente atribuídas aos seus componentes principais (TEIXEIRA et al., 2012; AIT-OUAZZOU et al., 2012). Alguns autores, no entanto, referem que a atividade antimicrobiana se deve ao equilíbrio entre os componentes majoritários e os demais que aparecem em menor proporção (AIT-OUAZZOU et al., 2012; RIAHI et al., 2013). De modo geral, a ação dos compostos fenólicos presente nos OEs sobre os fungos compreende perda de material citoplasmático, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática, inibição das enzimas fúngicas, distúrbio da funcionalidade do material genético, culminando na inibição da germinação esporica e do crescimento micelial (BURT, 2004; LIU et al., 2007; HERNÁNDEZ-LAUZARD et al., 2008; RABEA et al., 2009; MENG et al., 2010).

Compostos hidrofóbicos como OEs tem como sítio de ação a membrana celular da célula fúngica. Eles se acumulam na bicamada lipídica causando desarranjo na função e na estrutura da membrana penetrando na célula, onde exercem atividade inibitória no citoplasma celular e provocam lise e liberação do ATP intracelular, aumentando sua permeabilidade, com posterior liberação de constituintes intracelulares vitais, e danos em seus sistemas enzimáticos (TURINA et al., 2006). Os constituintes dos OEs interferem na esporulação por impedir o desenvolvimento micelial (reconhecida como 'plataforma' que suporta a produção esporica) e/ou a percepção/transdução de diferentes sinais fisiológicos envolvidos na síntese de moléculas do funcionamento da forma vegetativa com vistas ao desenvolvimento da forma reprodutiva (TZORTZAKIS; ECONOMAKIS, 2007). Como consequência da supressão da produção esporica, resultante do tratamento com OEs, ocorre limitação da propagação do patógeno, diminuindo a liberação de esporos pela atmosfera do ambiente e superfícies. Leves diferenças estruturais em algum composto dos OEs já são suficientes para alterar as características físicas e/ou químicas e, portanto, modificar a atividade antifúngica. Quando

monoterpenos tornam-se menos solúveis em água, eles podem facilmente interagir com a membrana de raiz e perturbar a integridade, e, portanto, causar uma despolarização rápida (MAFFEI et al., 2001).

Estudos recentes têm sugerido a atividade antifúngica de OEs para controlar fungos pós-colheita de frutas. Estudo desenvolvido por Arrebola et al (2010) avaliaram o efeito antifúngico do óleo de capim-limão contra os fungos patógenos pós-colheita *Botrytis cinerea* e *R. stolonifer* em pêssegos, e obteve como resultado inibição completa dos patógenos durante o período de armazenamento, mantendo a qualidade e aparência geral da fruta. Como também foi avaliado o efeito inibitório do crescimento de *Aspergillus flavus*, *A. niger* e *B. cinerea* em uvas de mesa (*Vitis labrusca* L.) utilizando OEs de *Rosmarinus officinalis* (OERO) e *Origanum vulgare* (OEOV) isolados ou em combinação e foi verificado que os óleos essenciais foram capazes de inibir o crescimento das três espécies de fungos (SOUSA et al., 2013; VITORATOS et al., 2013).

2.3.1 OEs em revestimentos comestíveis

A aplicação combinada de revestimentos e OEs tem sido intensamente pesquisada ao longo dos últimos anos, por causa de seu consumo, da segurança sobre termos ecológicos de aplicação e por preservar a qualidade de produtos frescos. A combinação das duas tecnologias os torna mais eficazes, e cria condições propícias para prolongar a vida pós-colheita dos produtos hortícolas, mantendo a qualidade geral dos frutos, seus compostos nutricionais, como também aceitação do consumidor (SIVAKUMAR; BAUTISTA-BAÑOS, 2014).

A principal vantagem da utilização de OE nas matrizes poliméricas de revestimentos é que poderia aumentar a vida de prateleira dos produtos frescos, devido à aumentada e prolongada atividade antimicrobiana dos compostos do óleo essencial sendo continuamente liberado ao longo do tempo sobre a superfície do produto por meio de manutenção de uma concentração adequada de ingredientes ativos durante o período de armazenagem (SÁNCHEZ-GONZALEZ et al., 2011a). Em um estudo foi relatado um aumento gradual do ingrediente ativo do óleo de tomilho ao longo do período de armazenamento, a concentração de timol era de 36,22% no 5º dia e passou a ser 64,23% no 18º dia de armazenamento, prolongando consideravelmente a vida de prateleira de abacates (SELLAMUTHU et al., 2013).

O método de aplicação do OE em revestimentos é mais benéfico do que a aplicação direta, porque a incorporação de OE nos revestimentos é eficaz na redução da força do inóculo patogênico pós-colheita presente na superfície do fruto (PERDONES et al., 2012). Outra vantagem é que aplicação dos revestimentos na fruta são capazes de reduzir sua perda de peso e manter a firmeza durante o armazenamento e transporte, principalmente, devido às propriedades de resistência ao vapor de água que são mais elevadas nos revestimentos (SÁNCHEZ-GONZALEZ et al., 2011a). Os tratamentos em combinação também exibem melhoria nos aspectos sensoriais dos frutos como, sabor, textura, aceitação global, sendo de fundamental importância se considerar o impacto da aplicação de OEs sobre as características sensoriais dos produtos alimentícios durante o armazenamento, uma vez que aplicados diretamente no fruto a concentração necessária para o estabelecimento da eficácia antimicrobiana pode resultar em características organolépticas desagradáveis ao consumidor (HSIEH et al., 2001; GUTIERREZ et al., 2009).

A atividade antimicrobiana dos OEs é atribuída a mais de um mecanismo (BURT, 2004; MOREIRA, 2005), de modo que aplicação combinada de OEs, ou de seus componentes, pode resultar em uma eficácia aumentada frente a ação contra microorganismos patogênicos e deteriorantes de alimentos (GUTIERREZ et al., 2008). Nesse contexto, Burt (2004) relata que um efeito aditivo resultante da aplicação combinada de compostos antimicrobianos ocorre quando a ação combinada é igual à soma dos efeitos individuais; por sua vez, o efeito de sinergismo ocorre quando o efeito das substâncias combinadas é maior do que a soma dos efeitos individuais.

Considerando estes aspectos alguns estudos vêm sendo realizados com diversos materiais de revestimentos e OEs. Um estudo realizado com quitosana e *O. vulgare* L. (OEOV) inibiu o desenvolvimento de alteração na cor de uvas de mesa, melhorando a aparência do produto após o armazenamento. A combinação também foi eficaz na inibição de *R. stolonifer* e *A. niger* em uvas inoculadas artificialmente (SANTOS et al., 2012). Outro estudo utilizou óleo de canela incorporado em revestimentos de quitosana, resultando no efeito do controle das infecções fúngicas típicas da microbiota autóctone de pimentões (XING et al., 2010).

Revestimentos de goma de algaroba contendo óleos de tomilho e limão mexicano reduziram a deterioração de frutos causada por *C. gloeosporioides* e *R. stolonifer* em mamão para 50% e 40%, respectivamente, durante o armazenamento, enquanto que a fruta não tratada revelou 100% de decaimento (BOSQUEZ-MOLINA et al., 2010). Revestimentos de goma arábica contendo óleo de canela e capim-limão, isoladamente ou em combinação, revelou um

efeito sinérgico no controle da antracnose no mamão (*C. gloeosporioides*) e banana (*C. musae*) (MAQBOOL et al., 2010).

Ao decidir pelo uso da aplicação de OEs em alimentos, é fundamental considerar o impacto sobre as características sensoriais dos produtos após o armazenamento, uma vez que a concentração dos OEs necessárias para o estabelecimento da eficácia antimicrobiana pode resultar em características organolépticas desagradáveis ao consumo (GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2009). Considerando estes aspectos, o uso dos OEs combinados e associados a outros métodos na inibição do crescimento microbiano em alimentos tem sido objeto de investigação e aperfeiçoamento, visto que se mostram como alternativa para reduzir as perdas pós-colheita e proporcionar ao mercado consumidor alternativas mais saudáveis sem implicações sensoriais dado a possibilidade de uso de menores concentrações de óleo essencial (SOUZA et al., 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Ameixas

Ameixas (*Prunus domestica* L.) comercialmente maduras foram obtidas na EMPASA (Empresa Paraibana de Abastecimento e Serviços, João Pessoa, Brasil). As frutas foram adquiridas sem sinais visíveis de danos mecânicos ou infecção fúngica, sendo selecionadas e padronizadas de acordo com o tamanho, cor, aparência e forma. Antes dos ensaios, as ameixas foram lavadas e higienizadas através de imersão em uma solução de hipoclorito de sódio (1 mL / 100 mL, pH 7,2 ajustado com NaOH a 1 M) durante 15 min. Em seguida foram enxaguadas em água destilada esterilizada e secas durante 2 h em uma cabine de fluxo laminar previamente esterilizada.

3.1.2 Micro-organismo teste

R. stolonifer URM 3728 foi obtido a partir da coleção de culturas da Micoteca (Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil). Para os ensaios de atividade antifúngica foram utilizados repiques das culturas estoque subcultivadas em ágar Sabouraud (Himedia, Índia) a 25 °C durante sete dias para permitir a esporulação suficiente. Os esporos fúngicos foram colhidos numa solução de soro fisiológico estéril (0,85 g / 100 mL de NaCl) no meio de crescimento fúngico e a suspensão obtida foi filtrada através de uma tripla camada de gaze estéril para retenção dos fragmentos de hifas. O número de esporos presentes na suspensão foi quantificada com um hemocitômetro. A concentração obtida de esporos foi ajustada com uma solução de soro fisiológico estéril para prover um inóculo fúngico de aproximadamente de 10^6 esporos / mL (GUERRA et al., 2015). Antes do ensaio, *R. stolonifer* foi inoculado na fruta, e após o desenvolvimento da podridão mole, a estirpe fúngica foi re-isolada e identificada com chaves taxonômicas (SCHIPPER, 1984). Contínuas re-inoculações e re-isolamento foram realizados em ameixas para manter a patogenicidade do fungo. A estirpe fúngica foi verificada por sua capacidade de causar a podridão mole em ameixa (virulência), com um conjunto característico de sintomas. O sinal de infecção característico para podridão-mole em ameixas foi zonas alagadas rapidamente,

cobertas por filamentos grossos e micélios cinzentos formando uma massa de esporângios preto em suas pontas (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2014).

3.1.3 Goma Arábica e óleos essenciais

A Goma Arábica (GA) (CAS 9000-01-5, densidade 0,424 g / cm³, pureza de 99,98%, brilho > 250 °C) foi obtida a partir da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). O OEOV (Lote OREORG01, massa volumétrica a 20 °C: 0,90, índice de refração a 20 °C: 1,47) e OERO (ROSTUN04, massa volumétrica a 20 °C: 0,94, índice de refração a 20 °C: 1,51) foram fornecidos por Aromalândia Ind . Com. Ltda. (Minas Gerais, Brasil).

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Identificação dos constituintes do OVEO e ROEO

Os componentes individuais de OEOV e OERO foram identificados através de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massa - GC-MS (CGMS-QP2010 Ultra Shimadzu). Análise por GC-MS foi realizada sob as seguintes condições: coluna capilar RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm); temperatura do programa: 60-240 °C (3 °C / min); temperatura do injetor: 250 °C; temperatura do detector: 220 °C; veículo: gás hélio ajustado a 0,99 mL / min de velocidade; ionizante de energia: 70 eV; e faixa de massa (m / z): 40-500. O banco espectros de GC / MS, NIST / EPA / NIH de Massa Espectral de banco de dados (Versão 1.7) foi usado para identificar os constituintes dos óleos essenciais individuais. A quantificação dos componentes foi obtida normalizando as áreas de cada constituinte detectado, e foi expresso como percentual de área (%) (BARBOSA et al., 2016).

3.2.2 Preparação de soluções de GA e OEs

A concentração utilizada de GA foi de 1mg / mL, a quantidade mínima necessária para produzir uma dispersão de revestimento (MAQBOOL et al., 2011). Para obter a dispersão, 10 g de GA foram dissolvidos em 100 mL de água purificada por agitação a 40 °C durante 60 min e os materiais insolúveis foram removidos por filtração. As soluções de OEOV e OERO

foram obtidas por dissolução de cada óleo (80 µL / mL) em caldo de Sabouraud contendo Tween 80 [2%, v / v (Himedia, Índia)] como agente de estabilização (SANTOS et al, 2012; SOUSA et al., 2013) com diluições sucessivas (1:1) no mesmo caldo para se obter soluções de diferentes concentrações (20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,06 e 0,03 µL / mL). Tween 80 (2%, v / v) e GA (10%), na concentração utilizada, obtida após a diluição em caldo Sabouraud (0,5%, v / v), não causou inibição do crescimento de fungos. Para os ensaios com GA e OEOV e / ou OERO, diferentes concentrações de óleo essencial (1, 0,50, 0,25, 0,12 e 0,06 µL / mL), foram adicionadas na dispersão de GA e misturados por agitação durante 1 h a temperatura ambiente (OJAGH et al., 2010).

3.2.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos OEs

Os valores CIM foram determinados por meio da técnica de macrodiluição em caldo. Inicialmente, 1 mL de suspensão fúngica (aproximadamente 10^6 esporos / mL) foi inoculado em 4 mL de caldo Sabouraud e 5 mL de soluções contendo diferentes concentrações (20 - 0.03 µL/mL) de OEOV e OERO foram adicionados. A mistura foi incubada a 25 °C durante 7 dias, ao término do período de incubação, a menor concentração de OEOV e OERO (diluição mais elevada) que não exibiu crescimento fúngico visível foi considerado a CIM (SANTOS et al., 2012).

3.2.4 Determinação do Índice de Concentração Inibitória Fracionado (ICIF)

O ICIF foi realizado pela técnica de macrodiluição utilizando caldo teste (Sabouraud), para a aplicação combinada de OEOV e OERO contra a *R. stolonifer*. OVEO e ROEO foram ensaiadas no CIM sozinho e em combinações de concentrações subinibitórias (1/2 CIM, 1/4 CIM, 1/8 CIM, 1/16 CIM e 1/32 CIM). O ICIF foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

$$\frac{\text{CIM do OE A em combinação}}{\text{CIM do OE A sozinho}} + \frac{\text{CIM do OE B em combinação}}{\text{CIM do OE B sozinho}}$$

Os resultados foram interpretados como sinergismo ($ICIF \leq 0.5$), aditivo ($0.5 \leq ICIF \leq 1$), indiferente ($1 \leq ICIF \leq 4$) or antagonismo ($ICIF \leq 4$) (Gutierrez et al., 2008).

3.2.5 Efeitos sobre a germinação de esporos

Alíquotas de 0,1 mL de suspensão esporica de *R. stolonifer* (aproximadamente 10^6 esporos / mL) obtida a partir de uma cultura de 7 dias de idade, cultivadas em ágar Sabouraud a 25 °C foram colocados em tubos Eppendorf contendo 0,1 mL de dispersão contendo GA sozinho, GA em combinação com OEOV ou OERO na CIM (GA-OEOV; GA-OERO) e GA em combinação com OEOV e OERO em 1/2 CIM e 1/4 CIM (GA-OEOV-OERO). Subsequentemente, 0,1 mL das misturas foi colocada no centro de uma lâmina de vidro esterilizada e incubadas numa câmara úmida a 25 °C durante 24 h. Cada lâmina foi fixada e tratada com corante azul lactofenol algodão e a germinação de esporos foi observada por meio de microscopia óptica. Cerca de 200 esporos foram contados em cada lâmina. Como controle, as suspensões de esporos de fungos cultivados em meio de crescimento sem GA e OEs foram ensaiadas de forma semelhante. A eficácia da inibição da germinação de esporos foi avaliada por comparação do número de esporos germinados no meio contendo dispersões de GA sozinho e óleos essenciais, isoladamente ou em combinação com a do ensaio de controle. Um esporo (conídios) foi considerado germinado quando o tubo de germinação desenvolvido era pelo menos duas vezes o seu diâmetro original (GUERRA et al., 2015).

3.2.6 Efeito na esporulação fúngica

A produção de esporos por *R. stolonifer* foi avaliada de acordo com um procedimento descrito anteriormente (BARBOSA et al., 2002). O fungo foi cultivado durante 7 dias a 25 °C em ágar Sabouraud ou nas mesmas condições em ágar Sabouraud suplementado com GA, GA-OEOV, GA-OERO (CIM) ou GA-OEOV-OERO (1/2 CIM e 1/4 CIM). A partir de cada placa de Petri contendo o micélio, três discos de micélio de 2 cm foram retirados em diferentes regiões halo de crescimento (central, médio e região periférica) usando um furador de cobre. Os discos foram transferidos para tubos de ensaio individuais contendo 10 mL de

uma mistura (1:1) de solução salina (NaCl a 0,85% v / v) e solução de Tween 80 (0,1% v / v). Após agitação vigorosa das misturas, os esporos foram contados numa câmara de Newbauer. O controle não exposto a GA e OEs foram analisadas de forma semelhante. Os resultados foram expressos como número total de esporos em relação à testemunha.

3.2.7 Efeitos sobre o crescimento micelial

A inibição do crescimento micelial radial de *R. stolonifer* foi determinada usando a técnica de substrato envenenado (diluição em meio sólido). Para este fim, discos de 2 cm de diâmetro foram retirados a partir de uma cultura fúngica de 7 dias de idade, cultivadas em ágar Sabouraud a 25 °C, e colocados no centro de placas de Petri contendo Sabouraud com GA, GA-OEOV, GA-OERO (CIM) ou GA-OEOV-OERO (1/4 CIM) e incubados a 25 °C. O crescimento micelial radial (cm) foi medido utilizando paquímetro a cada 24 h durante um período de 72 h. Como controle, estirpes fúngicas cultivadas em meio de crescimento sem GA ou OEs foram igualmente testadas. Os resultados são expressos como inibição da taxa de crescimento micelial radial (cm) em relação à testemunha (OLIVEIRA et al., 2014)

3.2.8 Efeito da GA e OEs na podridão-mole de ameixas

As ameixas foram primeiramente imersas em 500 ml de uma solução de inóculo (aproximadamente 10^6 esporos / mL) fúngico teste durante 1 min, com suave agitação, utilizando um bastão de vidro estéril, em seguida, os frutos foram secos em uma cabine de fluxo laminar previamente esterilizado por 1 h (25 °C). Subsequentemente, os frutos foram imersos em 500 mL de solução de revestimento (GA, GA-OEOV e GA-OEOV-OERO) com suave agitação usando um bastão de vidro estéril durante 1 min. Os frutos foram colocados sobre um filtro de nylon para drenar o excesso de líquido, após secagem, foram embalados em recipiente de polietileno com tampa. Um grupo de frutas foi armazenado à temperatura ambiente (25 °C), enquanto o outro grupo foi armazenado a temperatura refrigerada (12 °C). Além disso, um experimento controle foi realizado em que GA e EOs dispersões / emulsão foram substituídos por água destilada estéril contendo glicerol (2 g / 100 mL). Cada tratamento incluiu 30 frutas. Em intervalos de tempo de armazenamento diferentes (temperatura ambiente 2, 4, 6 e 8 dias; temperatura refrigerada 3, 6, 9, 12, 15,18 e 21 dias), as frutas foram examinadas para avaliar a presença de sinais característicos de podridão mole

(FENG; ZENG, 2007; LIU et al., 2007). Os resultados foram expressos como percentual de aparecimento de sinais visíveis de podridão mole e de frutos podres (incidência da doença) no final do tempo de armazenamento avaliado (GUERRA et al., 2015).

3.2.9 Análise de MEV da infecção por *R. stolonifer* nas ameixas

Após 18 h de incubação a 25 °C, fragmentos da região próxima ao mesocarpo de ameixas artificialmente infectados com *R. stolonifer* por imersão em uma solução de inoculo (aproximadamente 10⁶ esporos / mL) estando revestidas ou não revestidas com GA e OEOV e/ou OERO foram removidos utilizando um bisturi estéril e colocados em lâminas de vidro dentro de placas de petri contendo papel de filtro umedecido para simulação de uma câmara úmida. As amostras foram fixadas durante 60 minutos a 25 °C com 30 µL de glutaraldeído a 2,5% em tampão de fosfato 0,1 M (pH 7,4). Após lavagem no mesmo tampão, tetróxido de ósmio 2% em tampão fosfato 0,1 M foi introduzido na placa de petri para a fixação com o vapor de ósmio. A placa foi selada em parafilme, envolvida com papel alumínio e mantida durante 24 h numa câmara de segurança, a 25 °C. Subsequentemente, as amostras foram desidratadas num dissecador durante 24 h, em seguida, preparadas em suportes de alumínio "stubs" e, finalmente, observadas em microscópio electrónico de varredura JEOL JSM 5900 (JEOL, EUA) (KIM, 2008).

3.2.10 Análises físico-químicas das ameixas

As ameixas foram avaliadas quanto à perda de peso e parâmetros de qualidade gerais, tais como cor, firmeza, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e fenólicos totais nos mesmos períodos de armazenamento avaliados para infecção fúngica (cinco frutas de cada grupo foram escolhidas aleatoriamente e submetidas as análises em cada período de armazenamento pré-estabelecido). O teor de SS (uma gota foi retirada a partir de uma amostra de 5 g dos frutos macerados) foi determinada usando um refractómetro digital (Modelo HI 96801, Hanna Instruments, São Paulo, Brasil), e os resultados foram expressos em ° Brix (ALI et al., 2010). A TA foi determinada com fenolftaleína como indicador, com NaOH 0,1 N, e os resultados foram expressos como mmol H⁺ / 100 g de fruta (MENG et al., 2008). Para determinar a perda de peso, o peso da fruta foi monitorado nos mesmos intervalos de

armazenamento avaliados para infecção fúngica, e a perda de peso da fruta em cada período avaliado foi calculada como porcentagem do peso inicial (OLIVEIRA et al., 2014). A cor da pele foi medida em três diferentes posições equatoriais da fruta usando o sistema CIELab ($L^* a^* b^*$). O ângulo Hue ($h^* ab$) e croma ($C^* ab$) foram medidos em um colorímetro Minolta Modelo CR-300 (Osaka, Japão), de acordo com a Comissão Internacional de Iluminação (CIE, 1986). A escala de cores CIELab ($L^* a^* b^*$) foi usado com um iluminante D65 (luz do dia normal) a um ângulo de 10° . Usando placas de referência, o aparelho foi calibrado no modo de reflectância, e a reflexão especular foi excluída. A firmeza foi determinada utilizando um probe 1/8 de 3 mm de diâmetro acoplado a um TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Haslemere, Reino Unido), e os resultados foram expressos como N / mm (GUERRA et al., 2015). O teor de compostos fenólicos totais foi medido utilizando o reagente fenol de Folin-Ciocalteu. Amostras de ameixas (5 g) homogeneizadas em água ultrapura (10 mL) foram filtradas em papel de filtro qualitativo, adicionada de 0,2 N de reagente de Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio a 7,5%. Após 2 h de incubação, foi realizada a medição à temperatura ambiente em absorbância a 760 nm. O ácido gálico (0 - 100 mg / mL) foi utilizado como um padrão para produzir a curva de calibração. O conteúdo total de fenólicos foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) / 100 g de fruta (BORGES et al., 2015).

3.2.11 Determinação de ácidos orgânicos e açúcares nas ameixas

Os ácidos orgânicos (málico, acético, cítrico, propiônico, fórmico, láctico e pirúvico) e açúcares (xilose, frutose e glicose) em ameixas não revestidas e revestidas foram determinadas nos 1º e 8º dias de armazenamento à temperatura ambiente e no 1º, 12º e 21º dias à temperatura refrigerada. As ameixas foram moídas e, em seguida, uma alíquota de 2 g, foi homogeneizado em água ultra pura (10 mL) durante 10 min, utilizando um dispositivo de mini-Turrax. O material foi centrifugado (4000 rpm, 15 min, 4°C) e o sobrenadante foi recolhido e filtrado através de uma membrana de 0,45 μm . O extrato obtido foi submetido a análise de Cromatografia em fase líquida para determinar os ácidos orgânicos e os açúcares utilizando o equipamento Varian Waters 2690 (Califórnia, EUA) provido com um sistema binário de solventes "válvula Rheodyne" com 20 μL por ciclo; a uma temperatura de 65°C , acoplado a um detector IR (Varian 330) em comprimentos de onda de 220-275 nm, sistema de bombeamento com configuração de gradiente de alta pressão (Varian 230) e software de processamento de Cromatografia GALAXIE Data System. As outras condições analíticas

foram como se segue: uma coluna Agilent Hi-Plex H (7,7 x 300 milímetros, 8 μ); fase móvel 0,009 H₂SO₄; taxa de fluxo, 0,7 μ L / min. Os picos de HPLC da amostra foram identificados por comparação dos seus tempos de retenção com os de padrões de ácidos orgânicos (Sigma Aldrich). Foram realizadas injeções em duplicata, e as médias das áreas de pico foram usadas para quantificação (ZEPPA et al., 2001).

3.2.12 Determinação dos compostos fenólicos nas ameixas

Os compostos fenólicos foram determinados nos dias 1º e 8º de armazenamento à temperatura ambiente e no 1º, 12º e 21º dias de armazenamento à temperatura refrigerada. As análises de HPLC foram realizadas utilizando um Shimadzu proeminência LG20AT HPLC equipado com um detetor IR (SPDM20) e uma coluna de fase reversa (Shimpack CLC0DS, 4,6 mm x 250 mm x 5 mm). Para os derivados do ácido cinâmico e benzóico, a fase móvel era constituída por uma mistura de ácido acético aquoso a 2% em água (A) e acetonitrilo: metanol (2: 1) (B) a uma taxa de fluxo de 1 mL / min. Um gradiente de eluição foi utilizado, começando com 20% de B até 15 min, 30% de B em 20 min, 40% de B em 30 min e isocrática a 40% de B até 45 min. Os flavonóides foram separados utilizando uma fase móvel que consiste em 1% de ácido acético aquoso (A) e metanol (B) a uma taxa de fluxo de 1 mL / min. A fase móvel foi realizada utilizando o seguinte gradiente de solvente: 0-3 min 40% B, 5-15 min 45% B, 17-25 min 50% de B, 27-35 min 55% de B e de 35-40 min 70% B. O volume de injeção foi de 10 μ L. A identificação de compostos fenólicos foi baseada nos tempos de retenção, espectros da radiação UV e uma comparação cromatográfica (co-injecção) com marcadores autênticos de Sigma Aldrich (BORGES et al., 2011).

3.2.13 Análise sensorial das ameixas

Ameixas não revestidas ou revestidas com GA, GA-OEOV ou GA-OEOV-OERO foram submetidos a testes de aceitação e preferência em intervalos de tempo diferentes (1, 5 e 10 dias) a temperatura refrigerada em todo o armazenamento (para garantir a segurança microbiológica das amostras oferecidas para os membros do painel). Sessenta provadores não treinados participaram dos testes de aceitação e preferência. As análises sensoriais foram realizadas após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (protocolo 712, 884 / 2014). A análise foi realizada sob condições de temperatura e iluminação controladas em cabines

individuais. Cada membro do painel recebeu cerca de 1/4 da fruta (ameixa) tratada com os diferentes revestimentos de GA-EOs servido em pratos descartáveis branco codificados com um número aleatório de três dígitos. As mostras da fruta foram simultaneamente servidas em uma sequência cega e aleatória imediatamente após a saída do armazenamento a temperatura refrigerada. Os provadores foram convidados para comer um biscoito salgado e beber água entre as amostras para evitar contradição com o sabor residual anterior. Para o teste de preferência, os provadores foram convidados a escolher as amostras mais e menos apreciados com base na avaliação global. A intenção de compra foi avaliada em uma escala hedônica estruturada de cinco pontos variando de um (certamente não compraria) a cinco (certamente compraria). Para a aceitabilidade da aparência, cor, aroma, textura, sabor residual e avaliação global, uma escala hedônica estruturada de nove pontos foi utilizada, variando de um (desgostei muito) a nove (gostei muito) (SANTOS et al., 2012).

3.2.14 Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas em triplicata, em três repetições e os resultados expressos como a média dos dados obtidos em cada repetição. As análises estatísticas foram realizadas utilizando estatística descritiva (média e desvio padrão) e inferencial (testes ANOVA, seguido pelo teste de Tukey) para determinar diferenças estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos. Para as análises estatísticas, o software Sigma Stat 3.1 foi utilizado.

REFERENCIAS

- ACEVEDO, C.A.; LÓPEZ, D.A.; TAPIA, M.J.; ENRIONE, J.; SKURTYS, O.; PEDRESCHI, F.; BROWN, D.I.; CREIXELL, W.; OSORIO, F. Using of RGB image processing for designing an alginate edible film. **Food Bioprocess Technology**, 2010.
- 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.; PAGÁN, R.; CONCHELLO, P. 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.
- ALI, A.; MAQBOOL, M.; RAMACHANDRAN, S.; ALDERSON, P.G. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 58, p. 42–47, 2010.
- ALMEIDA, N.; SOUZA, B.; LIMA, E.; GUEDES, D.N.; PEREIRA, F.; SOUZA, E. L.; SOUSA, F.B. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, p. 499-508, 2010.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre aditivos aromatizantes**. Resolução - RDC nº 3. Brasil, 2012.
- ARREBOLA, E.; SIVAKUMAR, D.; BACIGALUPO, R.; KORSTEN, L. Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. **Crop Protection**, v. 29, p. 369–377, 2010.
- ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Evaluation of the antifungal properties of chitosan coating on cut apples using a non-invasive image analysis technique. **Polymer International**, v. 60, n. 6, p. 932-936, 2011.
- AZERÊDO, G.A.; STAMFORD, T. L. M.; NUNES, P. C.; GOMES NETO, N. J.; OLIVEIRA, M. E. G.; SOUZA, E. L. Combined application of essential oils from *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables. **Food Research International**, v. 44, p. 1541 - 1548, 2011.
- BAGGIO, J. S.; GONÇALVES, F. P.; LOURENÇO, S. A.; TANAKA, F. A. O.; PASCHOLATI, S. F.; AMORIM, L. Direct penetration of *Rhizopus stolonifer* into stone fruits causing *Rhizopus* rot. **Plant pathology**, 2015.
- BARBOSA, I.M.; MEDEIROS, J.A.C.; OLIVEIRA, K. A.R.; GOMES-NETO, N.J.; TAVARES, J.; MAGNANI, M.; SOUZA, E.L. Efficacy of the combined application of oregano and rosemary essential oils for the control of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Enteritidis in leafy vegetables. **Food Control**, v. 59, p. 468-477, 2016.

BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K.; KAUR, S. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. **Forest Ecology and Management**, v. 256, p. 2166 - 2174, 2008.

BAUTISTA-BAÑOS, S.B.; MOLINA, E. B.; BARRERA-NECHA, L.L. *Botrytis cinerea* (gray mold). In: Bautista-Baños, S. (Ed.). **Postharvest Decay**, p.131-144, 2014.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, p. 238, 2003.

BOSQUEZ-MOLINA, E.; RONQUILLO-DE JESÚS, E.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VERDE-CALVO, J.R.; MORALES-LÓPEZ, J. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 57, p. 132–137, 2010.

BRODY, A. L. What's the hottest food packaging technology today? **Food Technology**, v. 55, p. 82-84, 2001.

BRUL, S.; COOTE, P. Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 50, n. 1/2, p. 1-17, 1999.

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.

CAMELE, I.; DE FEO, V.; ALTIERI, L.; MANCINI, E.; DE MARTINO, L.; RANA, G. L. An attempt of postharvest orange fruit rot control using essential oils from Mediterranean plants. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, p. 1515 - 1523, 2010.

CASTRO, L.A.S.; CAMPOS, A.D. Introdução. **Ameixa: produção**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 9-12. (Série Frutas do Brasil, 43).

CASTRO, L.A.S.; NAKASU, B.H.; PEREIRA, J.F.M. **Ameixeira: histórico e perspectivas do cultivo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 10p. (Circular Técnico, 70).

CHEN, Z.; ZHU, C. Combined effects of aqueous chlorine dioxide and ultrasonic treatments on postharvest storage quality of plum fruit (*Prunus salicina* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 61, p. 117–12, 2011.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças**. Ed. UFLA, Lavras, p. 785, 2005.

CHUNG, Y.C.; SU, Y.A.; CHEN, C.C.; JIA, G.; WANG, H.L.; WU, J. C.G.; LIN, J.G. Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 25, p. 932-936, 2004.

CORREA-ROYERO, J.; TANGARIFE, V.; DURÁN, C.; STASHENKO, E.; MESA-ARANGO, A. *In vitro* antifungal activity and cytotoxic effect of essential oils and extracts of medicinal and aromatic plants against *Candida krusei* and *Aspergillus fumigatus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, p. 734 - 741, 2010.

CUETO-WONG, M. C.; RIVAS-MORALES, C.; ALANÍS-GUZMÁN, M. G.; ORANDAYCÁRDENAS, A.; AMAYA-GUERRA, C. A.; NÚÑEZ-GONZÁLEZ, A. Antifungal properties of essential oil of mexican oregano (*Lippia berlandieri*) against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. **Revista Mexicana de Micologia**, v. 31, p. 29 – 25, 2010.

DAFERERA, D. J.; ZIOGAS, B. N.; POLISSIOU, M. G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*. **Crop Protection**, v. 22, p. 39-44, 2003.

DELAMARE, A.P.; PISTORELLO, I.T.M.; ARTICO, L.; SERAFINI, L.A.; ECHEVERRIGARAY, S. Antibacterial activity of essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. **Food Chemistry**, v. 100, p. 603-608, 2007.

DU, W.X.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; HUA, S.S.T.; MCHUGH, T.H. **Antimicrobial volatile essential oils in edible films for food safety**. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, p. 1124-1134, 2011.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; GARCIA, V. L.; DELARMELINA, C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.97, p. 305 - 311, 2005.

EL-ANANY, A.M.; HASSAN, G.F.A.; RAHAB, A.F.M. Effects of edible coatings on the shelf-life and quality of Anna apple (*Malus domestica Borkh*) during cold storage. **Journal Food Technology**, v. 7, p. 5-11, 2009.

EL-SHARONY, T.F.; ABD-ALLAH, A.S.E. The effectiveness of plant essential oils and Arabic gum on the postharvest treatments of Zaghoul dates fruit during cold storage. **International Journal of ChemTech Research.**, v. 8, n. 4, p. 1492-1501, 2015.

FACHINELLO, J.C.; PASA, M.S.; SCHMTIZ, J.D.; BETEMPS, D.L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p.109-120, 2011.

FAI, A. E. C.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, T. L. M. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 9, p. 435-451, 2008.

FAKHOURI, F.M.; FONTES, L.C.B.; GONÇALVES, P.V.M.; MILANEZ, C.R.; STEEL, C.J.; COLLARES-QUEIROZ, F.P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 369-375, 2007.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2011.

FAOSTAT. **Production-crops**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#> Acesso em: 10 jan. 2016.

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

FISHER, F.; COOK, N.B. **Micologia: Fundamentos e diagnósticos**. ed. Rio de Janeiro: Revinter, p. 337, 2001.

FOOD INGREDIENTS. As gomas exudadas de plantas. Revista **Food Ingredientes Brasil**, n. 17, 2011. Disponível <http://www.revista-fi.com/materias/176.pdf>.

FNP CONSULTORIA COMERCIO. Hortifrutícolas. In: _____. Agriannual 2013: **anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, p. 313, 2013.

GABAS, V.G.S.; CAVALCANTI, O.A. Influência da adição da goma arábica em filmes isolados de polímero acrílico. Estudo das propriedades de intumescimento e de permeabilidade. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, p. 441-448, 2003.

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

GUERRA, I.C.D.; OLIVEIRA, P.D.L.; PONTES, A.L.S.; LÚCIO, A.S.S.C.; TAVARES, J.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; MADRUGA, M.S.; SOUZA, E.L. 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, 2015.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **International Journal of Food Microbiology**, v. 124, p. 91-97, 2008.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: efficacy, synergistic potential and interactions with food components. **Food Microbiology**, v. 26, p. 142-150, 2009.

HAMILTON-KEMP, T.R.; McCRAKEN Jr., C.T.; LOUGHRIM, J.H.; ANDERSON, R.A.; HIDELBRAN, D.F. Effect of some natural volatile on the pathogenic fungi *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, p. 1083-1091, 2000.

ISMAIL, M.; ZHANG, J. Post-harvest citrus diseases and their control outlook. **Pest Manage**. v. 15, p. 29–35, 2004.

JIANG, T.J.; FENG, L.F.; ZHENG, X.L.; LI, J.R. Physicochemical responses and microbial characteristics of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) to gum Arabic coating enriched with natamycin during storage. **Food Chemistry**, v. 138, p. 1992–1997, 2013.

JIANG, Y. M.; LI, Y.B. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. **Food Chemistry**, v. 73, p. 139-143, 2001.

KARACA, H.; PÉREZ-GAGO, M.B.; TABERNER, V.; PALOU, L. Evaluating food additives as antifungal agents against *Monilinia fructicola* *in vitro* and in hydroxypropyl methylcellulose–lipid composite edible coatings for plums. **International Journal of Food Microbiology**, v. 179, p. 72–79, 2014.

KAUSHIK, V.; ROOS, Y.H. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic–sucrose–gelatin systems. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 1381–1391, 2007.

KHALIQ, G.; MOHAMED, M.T.M.; GHAZALI, H.M.; DING, P.; ALI, A. Influence of gum arabic coating enriched with calcium chloride on physiological, biochemical and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit stored under low temperature stress. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 362–369, 2016.

KIM, I.Y.; SEO, S.J.; MOON, H.S.; YOO, M.K.; PARK, I.Y.; KIM, B.C.; CHO, C.S. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. **Biotechnology Advances**, v. 26, p. 1–21, 2008.

KIST, B.B.; VENCATO, A.C.; SANTOS, C.; CARVALHO, C.; REETZ, E.R.; POLL, H.; BELING, B.R. **Anuário brasileiro da fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, p. 128, 2012.

LINS, S. R. O.; OLIVEIRA, S. M. A.; ALEXANDRE, E.M.; SANTOS, A.M.G.; OLIVEIRA, T.A.S. Controle alternativo da podridão peduncular em manga. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 3, p. 121–126, 2011.

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 Technology**, v. 44, p. 300–306, 2007.

LÓPEZ, P.; SÁNCHEZ, C.; BATLLE, R.; NERÍN, C. Development of flexible antimicrobial films using essential oils as active agents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 8814–8824, 2007.

MACKAY, M. L.; MILNE, I. M.; GOULD, I. M. Comparison of methods for assessing synergic antibiotic interactions. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 15, p. 125–129, 2000.

MAFFEI, M.; CAMUSSO, W.; SACCO, S. Effect of *Mentha piperita* essential oil and monoterpenes on cucumber root membrane potential. **Phytochemistry**, v. 58, p. 703–707, 2001.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; ALDERSON, P.G. Effect of *Cinnamon* oil on incidence of anthracnose disease and postharvest quality of bananas during storage. **International Journal Agricultural and Biology**, v. 12, p. 516–520, 2010.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; ALDERSON, P.G.; ZAHID, N.; SIDDIQUI, Y. Effect of a novel edible composite coating based on gum arabic and chitosan on biochemical and

physiological responses of banana fruits during cold storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5474–5482, 2011.

MARINELLI, E.; ORZALI, L.; LOTTI, E.; RICCIONI, L. Activity of some essential oils against pathogenic seed borne fungi on legumes. **Asian Journal of Plant Pathology**, v. 6, p. 66-67, 2012.

MASSOLA JUNIOR, N.S.; KRUGNER, T.L. **Fungos Fitopatogênicos**. (Ed.). Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. 4 ed., cap. 8, p. 149-206, 2011.

MCNAMEE, B.F.; O’RIORDAN, E.D.; O’SULLIVAN, M. Effect of partial replacement of gum Arabic with carbohydrates on its microencapsulation properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 3385–3388, 2001.

MENG, X.; YANG, L.; KENNEDY, J. F.; TIAN, S. Effects of chitosan and oligochitosan on growth of two fungal pathogens and physiological properties in pear fruit. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 70-75, 2010.

MIGUEL, A.C.A.; DIAS, J.R.P.S.; ALBERTINI, S.; SPOTO, M.H.F. Pós-colheita de uva ‘Itália’ revestida com filmes à base de alginato de sódio e armazenada sob refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 277-282, 2009.

MOREIRA, M.; PONCE, A.; del VALLE, C.; ROURA, S. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT-Food Science and Technology**, v. 38, p. 565–570, 2005.

MOTLAGH, S.; RAVINES, P.; KARAMALLAH, K.A.; MA, Q. The analysis of *Acacia* gums using electrophoresis. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 848-854, 2006.

MÜLLER, C. **Xylella fastidiosa de ameixeira: transmissão por cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) e colonização de plantas hospedeiras**. 2013. 105p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

MUÑOZ, Z.; MORET, A.; GARCES, S. Assessment of chitosan for inhibition of *Colletotrichum sp.* on tomatoes and grapes. **Crop Protection**, v.28, p.36–40, 2009.

NGUEFACK, J.; DONGMO, J. B. L.; DAKOLE, C. D.; LETH, V.; VISMER, H. F.; TORP, J. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 131, p. 151 - 156, 2009.

NISPEROS-CARRIEDO, M.O. Edible coatings and films based on polysaccharides. (Eds.), Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. **Technomic Publishers**, p. 322-323, 1994.

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, 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* L.).

International Journal of Food Microbiology, v. 171, p. 54–61, 2014.

OMIDBEYGI, M.; BARZEGAR, M.; HAMIDI, Z.; NAGHDIBADI, H. Antifungal activity of thyme, summer savory and cloves essential oil against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. **Food Control**, v.18, p.1518-1523, 2007.

PARK, H. J. **Edible coatings for fruits**. (Ed.). Fruit and vegetable processing: improving quality. Boca Raton: CRC Press, p. 331-345, 2005.

PERDONES, A.; SANCHEZ-GONZALEZ, L.; CHIRALT, A.; VARGAS, M. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, v. 70, p. 32-41, 2012.

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

RASOOLI, I.; OWLIA, P. Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. **Phytochemistry**, v. 66, p. 2851 - 2856, 2005.

RASOOLI, I.; REZAEI, M. B.; ALLAMEH, A. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oil from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. **Food Control**, v. 17, p. 359 - 364, 2006.

REGNIER, T.; PLOOW, W.; COMBRINCK, S.; BOTHA, B.; Fungitocity 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.

RIAHI, 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. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 883– 889, 2013.

SÁNCHEZ-GONZÁLES, L.; PASTOR, P.; VARGAS, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, 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, 2011a.

SÁNCHEZ-GONZÁLES, L.; VARGAS, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Use of essential oils in bioactive edible coatings. **Food Engineering Reviews**, v. 3, p. 1–16, 2011b.

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

SCHIPPER M.A. A revision of the genus *Rhizopus*. I. The *Rh. Stolonifer* a group and *Rh. oryzae*. **Study Mycology**, v. 25, p. 1-19, 1984.

SEBTI, I.; MARTIAL-GROS, A.; CARNET-PANTIEZ, A.; GRELIER, S.; COMA, V. Chitosan Polymer as Bioactive Coating and Film against *Aspergillus niger* contamination. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 100-104, 2005.

SELLAMUTHU, P.S.; MAFUNE, M.; SIVAKUMAR, D.; SOUNDY, P. Thyme oil vapour and modified atmosphere packaging reduce anthracnose incidence and maintain fruit quality in avocado. **Journal Science Food Agriculture**, v. 93, p. 3024–3031, 2013.

SILVA, T.M.S.; SANTOS, F.P.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E.M.S.; SILVA, G.S., NOVAIS, J.S.; SANTOS, F.D.A.R.; CAMARA, C.A. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p. 10-18., 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.

SOUSA, L.L.; ANDRADE, S.C.A.; ATHAYDE, A.J.A.A.; OLIVEIRA, C.E.V.; SALES, C.V.; MADRUGA, M.S.; SOUZA, E.L. 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). **International Journal of Food Microbiology**, v. 165, p. 312–318, 2013.

SOUSA, J. P.; AZERÊDO, G. A.; TORRES, R. A.; VASCONCELOS, M. A. S.; CONCEIÇÃO, M. L.; SOUZA, E. L.. Synergies of carvacrol and 1,8-cineol to inhibit bacteria associated with minimally processed vegetables. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, p. 145-151, 2012.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, v. 18, p. 409 - 413, 2007.

STUPAR, M.; GRBIĆ, L.J.; DZAMIĆ, A.; UNKOVIĆ, N.; RISTIĆ, M.; JELIKIĆ, A.; VUKOJEVIĆ, J. Antifungal activity of selected essential oils and biocide *benzalkonium* chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects. **South African Journal of Botany**, v. 93, p. 118 – 124, 2014.

TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; BATISTA, I.; SERRANO, C., MATOS, O., NENG, N.R.; NOGUEIRA, J.M.F.; SARAIVA, J.A.; NUNES, M.L. European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. **Industrial Crops and Products**, v.36, p.81–87, 2012.

TERRY, L.A.; JOYCE, D.C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, p.1-13, 2004.

TURHAN, K. N. Is edible coating an alternative to MAP for fresh and minimally processed fruits? **Acta Horticulturae, Leuven**, v. 876, n. 1, p. 299-305, 2010.

TURINA, A.V.; NOLAN, M.V.; ZYGADLO, J.A.; PERILLO, M.A. Natural terpenes: selfassembly and membrane partitioning. **Biophysical Chemistry**, v.122, p.101-113, 2006.

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

VARGAS, M.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Characterization of chitosan-oleic acid composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 2, p. 536-547, 2009.

VITORATOS, A.; BILALIS, D.; KARKANIS, A.; EFTHIMIADOU, A. Antifungal activity of plant essential oils against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 41, p. 86–92, 2013.

XING, Y.; LI, X.; XU, Q.; YUN, J.; LU, Y.; TANG, Y. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum Annuum* L.). **Food Chemistry**, v. 124, p. 1443–1450, 2010.

YADAV, A. V.; BHISE, S. B. Chitosan: a potential biomaterial effective against typhoid. **Current Science**, v. 87, p.1176-1178, 2004.

YE, A. Q.; EDWARDS, P.J.B.; GILLILAND, J.; JAMESON, G. B.; SINGH, H. Temperature-dependent complexation between sodium caseinate and gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 82–88, 2012.

ZARITZKY, N. **Edible coating to improve food quality and safety**. (Ed.). Food engineering interfaces. p. 631-660, 2011.

ZEPPA, G., CONTERNO, L., GERBI, V. Determination of Organic Acids, Sugars, Diacetyl, and Acetoin in Cheese by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2722-2726, 2001.

ZHENG, L.-Y.; ZHU, J.-F. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. **Carbohydrates Polymers**, v. 54, p. 527-530, 2003.

APÊNDICE

Effects of coatings containing gum arabic and the essential oil from *Origanum vulgare* L. alone or in combination with *Rosmarinus officinalis* L. on postharvest soft rot and quality of plums

Running-title: Arabic gum-essential oil coatings to inhibit plum soft rot

Sonalle C. A. Andrade^a, Tainá A. Baretto^a, Narciza M. O. Arcanjo^b, Marta S. Madruga^b, Bruno Meireles^c, Ângela M. T. Cordeiro^c, Marcos A. Barbosa de Lima^d, Evandro L. Souza^e, Marciane Magnani^{a*}

^a *Laboratory of Microbial Process in Foods, Department of Food Engineering, Center of Technology, Federal University of Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba, Brazil;*

^b *Laboratory of Flavor, Department of Food Engineering, Center of Technology, Federal University of Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba, Brazil*

^c *Laboratory of Fuel, Federal University of Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba, Brazil*

^d *Department of Biology, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, Brazil*

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

Author for correspondence: Marciane Magnani

Laboratory of Microbial Processes in Foods, Department of Food Engineering, Technology Center, Federal University of Paraíba, Campus I, 58051-900, João Pessoa, Brazil e-mail: magnani2@gmail.com.br; Phone number: + 55 83 3216 7576; Fax number: + 55 83 3216 735

Abstract

In this study, the efficacy of coatings comprising gum arabic (GA) and the essential oil from *Origanum vulgare* L. (OVEO) alone or in combination and *Rosmarinus officinalis* L. (ROEO) as a postharvest treatment to control *Rhizopus* soft rot on plums during storage at room temperature (25 °C for 8 days) and cold temperature (12 °C for 21 days) was evaluated. The effects of these coatings on some physicochemical and sensory characteristics of the fruit were also assessed. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of OVEO and ROEO were 0.25 µL/mL and 1 µL/mL, respectively. The Fractional Inhibitory Concentration Index of the combined EOs (≤ 0.25) against *Rhizopus stolonifer* indicated a synergic interaction. The incorporation of a combination of GA and OVEO at 0.25 µL/mL or of GA and OVEO at 0.06 µL/mL plus ROEO at 0.25 µL/mL in the growth media strongly inhibited the mycelial growth, spore germination and sporulation of *R. stolonifer*. Both the combination of GA + OVEO and GA + OVEO + ROEO delayed the occurrence of soft rot in artificially contaminated plums and decreased the number of infected fruits at the end of storage at room and cold temperatures. GA-OVEO or GA-OVEO-ROEO coatings preserved the postharvest physicochemical quality aspects and enhanced the sensory parameters color and flavor of plums. However, the GA-OVEO coating negatively affected the aftertaste of fruit. Fruit coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO exhibited greater amounts of xylose, malic and ellagic acid and rutin at the assessed storage period. These results indicate the coatings comprising GA and OVEO alone or in combination with ROEO at lower concentration as promising postharvest treatments to prevent the *Rhizopus* soft-rot and preserve the postharvest quality in plums.

Keywords: *Prunus domestica* L., edible coatings, *Rhizopus stolonifer*, postharvest quality

1. Introduction

The plum (*Prunus domestica* L.) is a fruit that is produced and consumed fresh worldwide. In the last few decades, the consumption of plums has increased because several

studies have reported these fruits as good sources of vitamins, fibers and polyphenols, well-known bioactive compounds that benefit the human body (Singh and Khan, 2010; Kucuker et al., 2014). The greatest concern regarding the shelf-life storage of fresh plums is contamination with *Rhizopus stolonifer* during harvest, handling or transportation (Gonçalves et al., 2010). This fungus causes Rhizopus soft rot, a postharvest disease that limits the shelf-life of marketable plums resulting in important economic losses (Baggio et al., 2015).

The first choice for controlling fungal contamination in plums involves the application of fungicides in the field. Fungicides (e.g., benzimidazoles, aromatic hydrocarbons, and sterol biosynthesis inhibitors) are also applied on the fruit during the postharvest period, particularly because these chemical agents do not adversely affect the appearance or quality of the treated fruit (Amiri et al., 2008; Guerra et al., 2015). However, the indiscriminate and excessive use of synthetic fungicides on crops has been a major cause of the development of resistant fungal pathogen populations, prompting the use of greater amounts of antifungals in agriculture and, consequently, resulting in the detection of increased amounts of toxic residues in food products (Guerra et al., 2016). Still, there is an increased demand from consumers for fruit obtained by processes that claim the absence or minimal use of chemical preservatives (or antimicrobials), but without the loss of freshness and natural characteristics (Barbosa et al., 2016; Oliveira et al., 2014).

Edible coatings comprising polysaccharides are considered good alternatives to reduce the use of synthetic fungicides, particularly those applied as postharvest treatments (El-Anany et al., 2009; Ali et al., 2011). Generally, fruit preserved with edible coatings have an enhanced appearance and reduced moisture loss and respiration rate that consequently extend their shelf-life (Khaliq et al., 2016). However, it has been reported that the addition of natural antimicrobial substances (e.g., plant extracts, phenolic compounds and essential oils) in polysaccharide-based coatings may improve not only the antimicrobial effects but also the

quality parameters of the fruit without compromising their nutritional and sensory qualities (Maqbool et al., 2011).

Gum arabic (GA) is a natural secretion of polysaccharide from *Acacia* species that is used in food processing as an emulsifier, flavor enhancer, film-forming and encapsulating agent (Motlagh et al., 2006; Ali et al., 2010). Previous studies showed that GA-based edible coatings delay the ripening of apples during cold storage (El Anany et al., 2009) and reduce the darkening, loss of ascorbic acid and total phenolic content in tomato fruit slices (Eltoum and Babiker, 2014). Essential oils (EOs) are naturally synthesized in different plant organs as secondary metabolites, and they possess inhibitory activities against a wide variety of phytopathogenic fungi (Moreira et al., 2010). Among EOs, those obtained from *Origanum vulgare* L. (oregano – OVEO) and *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary – ROEO) are described as compounds that do not have microbial resistance-inducing effects, and they have shown promising inhibitory effects against postharvest pathogenic fungi, including *R. stolonifer* (Santos et al., 2012; Sousa et al., 2013).

Sometimes the required amounts of EOs needed to establish the desired antimicrobial effects could exceed sensory acceptability and result in unpleasant effects for consumers (Gutierrez et al., 2008) Thus, researchers have stated that EOs could be incorporated at low concentrations in coating-forming solutions to minimize the impact of these compounds on the olfactory perception of consumers (Perdones et al., 2012). However, studies verifying the efficacy of the incorporation of OVEO and/or ROEO in GA based-coatings to control soft-rot disease in plums are still scarce or nonexistent. Considering these aspects, this study assessed the efficacy of coatings comprising GA and incorporated with OVEO alone or combined with ROEO as postharvest treatments to prevent *Rhizopus* soft rot and to maintain the postharvest quality of plums.

2. Material and methods

2.1. Materials

Mature, commercially available plums (*Prunus domestica* L.) were obtained from EMPASA (Supplies and Services Company of Paraiba, João Pessoa, Brazil). Fruit without signs of mechanical damage or fungal infection were selected and standardized according to homogeneous size, color and shape. Prior to the assays, the plums were surface disinfected by immersion in a sodium hypochlorite solution (1 mL/100 mL, pH 7.2 adjusted using 1 M NaOH) for 15 min, washed with sterile distilled water and dried for 2 h in a safety cabinet.

R. stolonifer URM 3728 was obtained from the Mycology Culture Collection (Center for Biological Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil). The stock cultures were subcultured in Sabouraud agar (Himedia, India) at 25 °C for seven days to allow for sufficient sporulation. The fungal spores were collected in a sterile saline solution (0.85 g/100 mL NaCl) in Sabouraud broth (Himedia, India), and the resulting suspension was filtered through a triple layer of sterile gauze to retain hyphal fragments. The number of spores present in the suspension was quantified using a hemocytometer. The spore concentration was adjusted with a sterile saline solution to yield an inoculum of approximately 10^6 spores/mL (Guerra et al., 2015).

The GA (CAS 9000-01-5, density 0.424 g/cm³, purity 99.98%, GLOW > 250 °C) was obtained from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, USA). The OVEO (Batch OREORG01, density at 20 °C: 0.90, refractive index at 20 °C: 1.47) and ROEO (ROSTUN04, density at 20 °C: 0.94, refractive index at 20 °C: 1.51) were supplied by Aromalândia Ind. Com. Ltda. (Minas Gerais, Brazil).

2.2 Identification of OVEO and ROEO constituents

The constituents in OVEO and ROEO were identified through gas chromatography coupled to mass spectrometry – GC–MS (CGMS-QP2010 Ultra Shimadzu). Analysis by GC–MS was performed using the following conditions: an RTX-5MS capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); program temperature: 60–240 °C (3 °C/min); injector temperature: 250 °C; detector temperature: 220 °C; carrier gas: helium adjusted to 0.99 mL/min speed; ionizing energy: 70 eV; and mass range (m/z): 40–500. The spectra bank of GC/MS, NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database (Version 1.7), was used to identify the individual essential oil constituents. The constituents were quantified after normalizing the areas of each detected constituent, and were expressed as a percentage area (%) (Barbosa et al., 2016).

2.3 Preparation of GA and EOs solutions

GA was used at concentration of 1 mg/mL, the minimum quantity required to produce a coating dispersion (Maqbool et al., 2011). To obtain the dispersion, 10 g of GA was dissolved in 100 mL purified water by stirring at 40 °C for 60 min and filtered to remove the undissolved materials. OVEO and ROEO emulsions were obtained by dissolving the substance (80 μL/mL) in Sabouraud broth containing Tween 80 [2%, v/v (Himedia, India)] as a stabilizing agent (Santos et al., 2012; Sousa et al., 2013) with successive dilutions (1:1) in the same broth to obtain solutions of different concentrations (20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.06 and 0.03 μL/mL). Tween 80 (2%, v/v) and GA (10%, w/v) at the final concentration after dilution in the Sabouraud broth did not inhibit fungal growth. For the assays with GA and OVEO and/or ROEO, the OEs at desire concentrations were added in the GA dispersion and mixed by stirring for 1 h at room temperature (Ojagh et al., 2010).

2.4 Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of EOs

The MIC values were determined by macrodilution in broth. Initially, 1 mL of fungal suspension (approximately 10^6 spores/mL) was inoculated in 4 mL of double-concentrated Sabouraud broth, and 5 mL of the solutions containing different concentrations (20 - 0.03 μ L/mL) of OVEO or ROEO were added. The mixture was incubated at 25 °C for 7 days. At the end of the incubation period, the lowest OVEO and ROEO concentrations (highest dilutions) that exhibited no visible fungal growth were considered the MICs (Santos et al., 2012).

2.5 Determination of Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI)

The checkerboard method was performed using broth (Sabouraud) macrodilution tests to obtain the FICI for the combined application of OVEO and ROEO against *R. stolonifer*. OVEO and ROEO were assayed alone at MIC and at combinations of subinhibitory concentrations (1/2 MIC, 1/4 MIC, 1/8 MIC, 1/16 MIC and 1/32 MIC). The FICI was calculated using the following formula:

$$\frac{\text{MIC of EO A in combination}}{\text{MIC of EO A alone}} + \frac{\text{MIC of OE B in combination}}{\text{MIC of EO B alone}}$$

The results were interpreted as synergy ($\text{FICI} \leq 0.5$), addition ($0.5 \leq \text{FICI} \leq 1$), indifference ($1 \leq \text{FICI} \leq 4$) or antagonism ($\text{FICI} \leq 4$) (Gutierrez et al., 2008).

2.6. Effects on fungal spore germination

Aliquots of 0.1 mL of *R. stolonifer* spore suspension (approximately 10^6 spores/mL) obtained from a 7-day-old culture grown on Sabouraud agar at 25 °C were placed in Eppendorf tubes containing 0.1 mL of the dispersion containing GA alone, GA in

combination with OVEO or ROEO at MIC (GA-OVEO; GA-ROEO) and GA in combination with both OVEO and ROEO at $\frac{1}{2}$ and $\frac{1}{4}$ MIC (GA-OVEO-ROEO). Subsequently, 0.1 mL of the mixtures was placed at the center of a sterile glass slide and statically incubated in a moist chamber at 25 °C for 24 h. Each slide was fixed and treated with lactophenol cotton blue stain, and spore germination was observed by light microscopy. Approximately 200 spores were counted on each slide. As controls, suspensions of fungal spores cultivated in growth media without GA and EOs were assayed similarly. The efficacy of inhibition of spore germination was evaluated by comparing the number of germinated spores in the media containing dispersions of GA alone and GA and EOs alone or in combination with that of the control assay. A spore (conidium) was considered germinated when the developed germ tube was at least twice its original diameter (Guerra et al., 2015).

2.7. Effect on sporulation of fungal colonies

The production of spores by *R. stolonifer* was evaluated according to a procedure described elsewhere (Barbosa et al., 2002). The fungus was grown for 7 days at 25 °C in Sabouraud agar or under the same conditions in Sabouraud agar supplemented with GA, GA-OVEO, GA-ROEO or GA-OVEO-ROEO ($\frac{1}{2}$ MIC and $\frac{1}{4}$ MIC). From each Petri dish containing the mycelium, three 2 cm-mycelium plugs were taken from different regions of the colonies (central, middle and peripheral regions) using a copper awl. The plugs were transferred to individual test tubes containing 10 mL of a mixture (1:1) of saline (NaCl 0.89% w / v) and Tween 80 solution (0.1% v/v). After vigorous shaking of the mixtures, the spores were counted in a Newbauer chamber. As a control, mycelium plugs not exposed to GA and EOs were assayed similarly. The results are expressed as the number of total spores relative to the control treatment.

2.8 Effects on fungal mycelial growth

The inhibition of radial mycelial growth of *R. stolonifer* was determined using the poisoned substrate technique (dilution in solid medium). For this, 2-cm plugs taken from a 7-day-old test fungal culture grown on Sabouraud agar at 25 °C were placed on the center of Petri dishes containing Sabouraud supplemented with GA, GA-OVEO, GA-ROEO or GA-OVEO-ROEO and incubated at 25 °C. The radial mycelial growth (mm) was measured using calipers every 24 h over a period of 72 h. As a control, fungal cultures cultivated in growth media without GA or EOs were similarly tested. The results are expressed as the percent inhibition rates of mycelial radial growth (mm) relative to the control treatment (Oliveira et al., 2014).

2.9 Effects of GA and EOs on *Rhizopus soft rot* in plums

The plums were first immersed in 500 mL of an inoculum solution (approximately 10^6 spores/mL) of the test fungal strain for 1 min, with gentle stirring using a sterile glass rod, and then left to dry in a biosafety cabinet for 1 h (25 °C). Subsequently, the fruit were immersed in 500 mL of the coating solution (GA, GA-OVEO or GA-OVEO-ROEO) with gentle shaking using a sterile glass rod for 1 min. The fruit were air-dried on a nylon filter to drain the excess liquid, packed in a polyethylene container and covered with a lid. One fruit group was stored at room temperature (25 °C), whereas the other group was stored at cold temperature (12 °C). In addition, a control experiment was performed in which GA and EO dispersions/emulsions were replaced with sterile distilled water containing glycerol (2 g/100 mL). Each treatment included 30 fruits. At different storage time intervals (room temperature for 2, 4, 6 and 8 days; cold temperature for 3, 6, 9, 12, 15, 18 and 21 days), the fruit were examined for characteristic signs of *Rhizopus* soft rot (Feng and Zeng, 2007; Liu et al., 2007). The results are expressed as the storage time until the appearance of visible signs of *Rhizopus*

soft rot and the percent of rotted fruit (disease incidence) at the end of the assessed storage time (Guerra et al., 2015).

Prior to the assays, the strain was inoculated in fruit. After *Rhizopus* soft rot development, the strain was re-isolated and identified with taxonomical keys (Schipper, 1984). The test fungal strain was verified for its capability to cause soft-rot infection in plums (virulence) with a characteristic set of symptoms. Continuous re-inoculations and re-isolations on plums were carried out to maintain the pathogenicity of the test fungal strain. The characteristic sign of infection for *Rhizopus* soft rot in plums was watery areas quickly covered by coarse, gray hairy mycelia forming a mass of black sporangia at their tips (Bautista-Baños et al., 2014).

2.10 SEM analyses of R. stolonifer infection in plums

After 18 h of incubation at 25 °C, fragments from the proximal-mesocarp region of plums artificially infected with *R. stolonifer* by immersion in an inoculum solution (approximately 10^6 spores/mL) and uncoated and coated with GA, GA-OVEO or GA-OVEO-ROEO were removed using a sterile scalpel and placed on glass slides inside Petri dishes containing moistened filter paper for simulation of a humid chamber. Samples were fixed during 1 h at 25 °C with 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4). After washing in the same buffer, 2% osmium tetroxide in 0.1 M phosphate buffer was introduced into the petri dish for fixing with osmium vapor. The plate was sealed in parafilm, wrapped with aluminum paper and maintained for 24 h in a safety cabinet at 25 °C. Subsequently, the samples were dehydrated in a desiccator for 24 h, prepared in aluminum bracket "stubs" and finally visualized using a JEOL JSM-5900 scanning electron microscope (JEOL, USA) (Kim, 2008).

2.11 Physicochemical analyses of plums

The plums were evaluated for weight loss and general quality parameters, such as color, firmness, soluble solids (SS), titratable acidity (TA) and total phenolics at the same storage time periods evaluated for fungal infection (five fruits from each group were randomly chosen and submitted for analyses at each pre-established storage period). The SS content (in a drop taken from a 5 g-macerated fruit sample) was determined using a digital refractometer (Model HI 96801, Hanna Instruments, São Paulo, Brazil), and the results are expressed as °Brix (Ali et al., 2010). The TA was determined with phenolphthalein as an indicator with 0.1 N NaOH, and the results are expressed as mmol H⁺/100 g of fruit (Meng et al., 2008). To determine the weight loss during storage, the weight of the fruit was monitored at different storage time intervals, and the fruit weight loss during each assessed period was calculated as a percentage of the initial weight (Oliveira et al., 2014). The skin color was measured at three different equatorial positions of the fruit using the CIELab system (L* a* b*). The hue angle (h*ab) and chroma (C*ab) were measured in a CR-300 colorimeter (MINOLTA Co., Osaka, Japan) using a 10-mm quartz cuvette, consistent with the International Commission on Illumination (CIE, 1986). The CIELab color scale (L*a*b*) was used with a D65 illuminant (standard daylight) at a 10° angle. Using reference plates, the apparatus was calibrated in the reflectance mode, and the specular reflection was excluded. The firmness was determined using a 3-mm diameter probe (1/8) coupled to a TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Haslemere, UK), and the results were expressed as N/mm (Guerra et al., 2015). Total phenolics content was measured using Folin-Ciocalteu phenol reagent. Samples of plums (5 g) homogenized in ultrapure water (10 mL) were filtered in qualitative filter paper with 0.2 N Folin-Ciocalteu reagent and 7.5% sodium carbonate added. After a 2 h-incubation at room temperature, absorbance at 760 nm was measured. Gallic acid (0 - 100 mg/mL) was used as a standard to produce the calibration curve. The total

phenolic contents were expressed as mg of gallic acid equivalents (GAE) /100 g fruit (Silva et al., 2013).

2.12 Determination of organic acids and sugar profiles on plums

The organic acids (malic, acetic, citric, propionic, formic, lactic and pyruvic acids) and sugars (xylose, fructose and glucose) in uncoated and coated plums were determined on the 1st and 8th days of storage at room temperature and on the 1st, 12th and 21th days of storage at cold temperature. Plums were ground, and then an aliquot of 2 g was homogenized in ultra-pure water (10 mL) for 10 min using a mini-Turrax apparatus. The material was centrifuged (4000 rpm, 15 min, 4 ° C), and the supernatant was collected and filtered through a membrane of 0.45 µm. The extract obtained was subjected to High-Performance Liquid Chromatography analysis to determine the organic acids and sugars using a Varian Waters 2690 (California, USA) equipped with a binary solvent system "valve Rheodyne" with a 20-µL loop, at a temperature of 65 ° C, coupled with a diode array detector (Varian 330) at wavelengths of 220 to 275 nm, a pumping system with high pressure gradient setting (VARIAN 230) and processing software GALAXIE Chromatography Data System. The other analytic conditions were as follows: an Agilent Hi-Plex H column (7.7 x 300 mm, 8 µm); mobile phase 0.009 H₂SO₄; and flow rate, 0.7 mL/min. The HPLC sample peaks were identified by comparing their retention times with those of organic acid standards (Sigma Aldrich®). Duplicate injections were performed, and the average peak areas were used for quantification (Zeppa et al., 2001).

2.13 Chromatographic analysis and identification of phenolics

The phenolics compounds were determined on the 1st and 8th days of storage at room temperature and on the 1st, 12th and 21th days of storage at cold temperature. HPLC analyses

were performed using a Shimadzu Prominence LG2OAT HPLC equipped with a photodiode array detector (SPDM20) and a reversed-phase column (Shimpack CLC0DS, 4.6 mm x 250 mm x 5 mm). For the benzoic and cinnamic acid derivatives, the mobile phase consisted of a mixture of 2% aqueous acetic acid in water (A) and acetonitrile: methanol (2:1) (B) at a flow rate of 1 mL/min. A gradient elution was used, starting with 20% B up to 15 min, 30% B at 20 min, 40% B at 30 min and isocratic at 40% B up to 45 min. The flavonoids were separated using a mobile phase consisting of 1% aqueous acetic acid (A) and methanol (B) at a flow rate of 1 mL/min. The mobile phase was delivered using the following solvent gradient: 0–3 min 40% B, 5-15 min 45% B, 17-25 min 50% B, 27-35 min 55% B and 35-40 min 70% B. The injection volume was 10 µL. The identification of phenolic compounds was based on the retention times, the UV spectra and a chromatographic comparison (co-injection) with authentic markers from Sigma Aldrich® (Borges et al., 2011).

2.14 Sensory analysis of plums

Plums uncoated or coated with GA, GA-OVEO or GA-OVEO-ROEO were subjected to acceptance and preference tests at different time intervals (1, 5 and 10 days) throughout the cold temperature storage (to ensure the microbiological safety of the samples offered to the panelists). Sixty untrained tasters participated in the acceptance and preference tests. The sensory analyses were performed after approval from an Ethics Research Committee (protocol 712.884/2014). The analysis was performed under controlled temperature and lighting conditions in individual booths. Each panelist received approximately 1/4 of the fruit of plums treated with the different GA-EO coatings served on disposable white plates coded with a random three-digit number. The fruit samples were simultaneously served in a blinded and random sequence immediately after their removal from cold temperature storage. The tasters were asked to eat a salty biscuit and drink water between samples to avoid aftertaste effects.

For the preference test, the tasters were asked to select the most and least appreciated samples based on overall evaluation. The intent to purchase was assessed on a five-point structured hedonic scale ranging from one (certainly would not buy) to five (certainly would buy). For the acceptability of appearance, color, flavor, texture, aftertaste and overall assessment, a nine-point structured hedonic scale was used, ranging from one (dislike very much) to nine (like very much) (Santos et al., 2012).

2.15 Statistical analyses

All analyses were performed in triplicate in three independent experiments, and the results were expressed as the mean of the data obtained in each replicate. Statistical analyses were performed using descriptive statistics (mean and standard deviation) and inferential tests (ANOVA) followed by Kruskal–Wallis test for data of mycelial growth, spore germination and mold occurrence in fruit or Tukey's test for data of physicochemical and sensory parameters of fruit) to determine statistically significant differences ($p \leq 0.05$) between treatments. For the statistical analyses, the computational Sigma Stat software 2.03 was used.

3. Results

3.1 Identification of *OVEO* and *ROEO* constituents

The GC–MS analysis identified 22 different constituents in *OVEO* and 26 different constituents in *ROEO* (**Table 1**). The constituents present in the highest amounts in *OVEO* were thymol (64.42%), limonene (12.50%) and γ -terpinene (6.78%). Other constituents, such as phenol (3.82%), linalool (2.85%) and α -pinene (1.69%), were found in minor amounts. Eucalyptol (49.75%) was the major constituent in *ROEO*, followed by camphor (13.88%), α -pinene (11.08%) and β -pinene (9.40%). Constituents such as caryophyllene (3.85%), camphene (2.48%) and borneol (1.31%) were found in minor amounts.

3.2 *In vitro* effects of OVEO and ROEO against *R. stolonifer*

OVEO and ROEO exhibited MICs of 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ and 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectively, against *R. stolonifer* URM 3728. The results of the FICI assay showed a synergistic interaction for the combined application of OVEO and ROEO (data not shown). The inhibition of the test fungal strain occurred by exposure to combined EOs up to 1/4 of MIC (OVEO 0.06 $\mu\text{L}/\text{mL}$; ROEO 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$). The inhibition by the combination of OVEO and ROEO was greater ($p \leq 0.05$) than that observed in assays with each EO alone at either MIC or subinhibitory concentrations.

The incorporation of OVEO alone at 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ or at 0.12 and 0.06 $\mu\text{L}/\text{mL}$ in combination with ROEO at 0.5 and 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectively, in growth medium containing GA resulted in strong inhibition of fungal mycelium growth throughout the 72-h incubation period (**Fig. 1**). Still, GA and OVEO alone or in combination with ROEO showed strong inhibition of spore germination (87-94%) and fungal sporulation (**Table 2**). However, the GA assayed with ROEO at 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ showed weak inhibitory effects toward fungal mycelial growth over time, as well as low inhibition of fungal sporulation and spore germination (**Table 2; Fig. 1**).

3.3 *Effects of GA-EO coatings on Rhizopus soft rot*

Based on the low efficacy of GA-ROEO to inhibit the mycelial growth, spore germination and sporulation of *R. stolonifer*, despite the high MIC value of ROEO, assays were performed on plums with coatings comprising GA and OVEO at 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ as well as on plums with coatings comprising GA containing OVEO at 0.06 $\mu\text{L}/\text{mL}$ and ROEO at 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (GA-OVEO and ROEO).

Plums coated with GA-OVEO or GA-OVEO-ROEO presented visible signs of *Rhizopus* soft rot after 6 days of storage at room temperature, while fruit coated with dispersion containing only GA or uncoated fruit presented visible signs of *Rhizopus* soft rot after 2 days of storage. No visible signs of *Rhizopus* soft rot were observed on plums coated with GA-OVEO or GA-OVEO-ROEO throughout the 21 days of storage at cold temperature. Otherwise, uncoated fruit or fruit coated with dispersion containing only GA and stored at cold temperature showed visible signs of *Rhizopus* soft rot on the 6th and 9th days of storage, respectively (**Table 3**).

At the end of the storage time at room and cold temperatures, of the uncoated plums infected with *R. stolonifer*, 95% and 65% of the fruits were infected, respectively. Of the plums coated with GA without OEs incorporated, 92% of the fruits were infected at the end of storage at room temperature and 64% of the fruits were infected at the end of storage at cold temperature, while those coated with GA-OVEO and GA-OVEO + ROEO presented infection rates $\leq 15\%$ when stored at room temperature. No infected fruits were observed among plums coated with GA-OVEO or GA-OVEO + ROEO after 21 days of cold storage (**Table 3**).

3.4 SEM analyses of plums infected with *R. stolonifer*

The SEM analyses of plums infected with *R. stolonifer* spores and of uncoated plums (control) showed a large number of spores with normal spherical or elliptical appearance and prominent typical cylindrical grooves (**Fig. 2A-B**). Still, it was possible to observe a swelling in the tip of the germ tube representing pre-penetration structures (**Fig. 2A**) as well as the penetration of the germ tube in the tissue of the infected plums (**Fig. 2B**). Similar results were observed in fruit coated with only GA (germinated spores and tissue penetration) with the additional development of hyphae (**Fig. 2 E-F**). Plums coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO exhibited a sharp reduction in the number of spores present on the surface, and

the spores, when present, did not exhibit germination (germ tube) or penetration structures (hyphae) (**Fig. 2 C-D**).

3.5 Effects of GA-OEs coatings on physicochemical characteristics of plums

Considering the similar results observed for the coatings comprising GA and OVEO at 0.25 $\mu\text{L/mL}$ (GA-OVEO) and GA containing the OVEO at 0.06 $\mu\text{L/mL}$ and ROEO at 0.25 $\mu\text{L/mL}$ (GA-OVEO and ROEO) in assays of the effects on *Rhizopus* soft rot and the possible influence of the coating comprising only GA on the physicochemical aspects of the fruit during storage, the effects of GA alone, GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO on the physicochemical changes of plums were evaluated during storage at room and cold temperatures (**Table 4**). The plums coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO showed differences ($p \leq 0.05$) for all evaluated parameters compared to the uncoated fruit during storage at both room and cold temperatures, with the exception of firmness and weight loss (**Fig. 3 and 4**). However, the differences ($p \leq 0.05$) between the detected values for the same quality attribute monitored and the fruit group (coating treatment) were observed at different times intervals during storage at room or cold temperatures. Uncoated plums or plums coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO stored at both room or cold temperatures decreased ($p \leq 0.05$) their TA and SS over the assessed storage time interval.

The TPC of coated or uncoated plums decreased ($p \leq 0.05$) over the assessed storage period at both room and cold temperatures. However, the decrease was lower ($p \leq 0.05$) in fruit coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO compared to uncoated fruit for both tested storage temperatures.

The coated and uncoated fruit with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO were predominantly purple during storage, both at room and cold temperatures. Values of a^* and b^* decreased ($p \leq 0.05$) over time in all fruit groups, while lightness/brightness (L^*) showed

higher values in fruit coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO. There were no differences in the values of $h * ab$ and $C * ab$ among coated and uncoated fruit during storage at both storage temperatures ($p \geq 0.05$) (**Table S1**).

Plums coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO that were stored at cold temperature exhibited similar ($p \geq 0.05$) loss weight rates to those observed for uncoated fruit until the 12th day of storage (**Fig. 3**). After this period, fruit coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO showed lower ($p \leq 0.05$) weight loss rates than the uncoated fruit. At room temperature, uncoated fruit exhibited greater weight loss rates than GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO after the 4th day of storage until the end of the assessed storage period. In general, coated and uncoated plums stored at room temperature showed higher ($p \leq 0.05$) weight loss rates than those stored at cold temperature.

The firmness decreased with increasing storage time in coated and uncoated plums; however, the firmness of fruit coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO was higher ($p \leq 0.05$) at all assessed storage time points compared with uncoated fruit (**Fig. 4**).

3.6 Effects GA-OEs coatings on sugars and organic acids in plums

The sugar present in highest amounts in uncoated plums and plums coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO was xylose, followed by fructose and glucose (**Fig. 5**). At both room and cold storage temperatures, coated and uncoated fruit exhibited decreases in sugar contents with increased storage time; however, uncoated fruit exhibited the highest ($p \leq 0.05$) decreases, particularly in fruit stored at room temperature.

The amounts of the seven organic acids determined in coated and uncoated plums and observed at the beginning of the storage at both room and cold temperatures varied among the different fruit groups (**Fig. 6**). The organic acid detected in the highest ($p \leq 0.05$) quantities was malic acid. This acid showed a sharp decrease ($p \leq 0.05$) in all fruit groups during storage

at both room and cold temperatures; however, the reduction was higher ($p \leq 0.05$) in uncoated fruit compared to the reduction observed in GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO coated-fruits. The amounts of acetic, citric, propionic, formic and lactic acids increased ($p \leq 0.05$) during storage at room temperature in uncoated and coated fruits. Otherwise, at cold temperature, the amounts of these organic acids remained similar ($p \geq 0.05$) during storage in fruit coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO, while the amounts of these organic acids decreased ($p \leq 0.05$) in uncoated fruit.

3.7 Effects of GA-OEs coatings on phenolic compounds of plums

The HPLC chromatograms of the phenolic acids and flavonoids identified in plums indicated similar profiles in uncoated and coated fruit stored at room or cold temperature (**Table. 5**). Among the phenolic acids identified, ellagic and 2,5-dihydroxybenzoic acids were detected in the highest ($p \leq 0.05$) amounts. No difference ($p > 0.05$) was observed in the amount of 2,5-dihydroxybenzoic between fruit coated or uncoated during storage at both room and cold temperatures. Ellagic acid increased ($p \leq 0.05$) in all fruit groups during storage; however, plums coated with only GA, GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO stored at cold temperatures showed higher increases ($p \leq 0.05$). Regarding the flavonoids, rutin was detected in higher amounts ($p \leq 0.05$), and quantities of this flavonoid in coated and uncoated fruit increased ($p \leq 0.05$) during the storage period despite the storage temperatures. Higher amounts of rutin were detected in plums coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO stored at both studied storage temperatures compared with fruit coated with GA or uncoated fruit. The amounts of catechin increased ($p \leq 0.05$) in all fruit groups during storage.

3.8 Effects of GA-OEs coatings on the sensory characteristics of plums

The uncoated plums and plums coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO were subjected to acceptance and purchase intent at different time points of cold storage (1st, 5th and 10th days) (**Table. 6**). The uncoated plums and plums coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO received similar results ($p > 0.05$) for appearance, taste, texture and overall evaluation at different storage times in the categories “liked slightly” or “liked moderately”. For color and flavor attributes, higher scores were observed for plums coated with GA-OVO and GA-OVEO-ROEO, corresponding to “strongly like”; however, plums coated with GA-OVEO received the lowest scores for the aftertaste attribute, corresponding to “neither like nor dislike”, while fruit coated with GA-OVEO-ROEO did not differ ($p > 0.05$) from the uncoated plums and received scores in the category “liked slightly” for this attribute.

When the panelists were asked to indicate the intent to purchase, the responses were generally “possibly purchase” for all of the fruit groups at all of the assessed storage periods. No differences ($p \geq 0.05$) related to the time of storage were observed.

4. Discussion

In the past few years, OVEO and ROEO have been cited as alternatives to control postharvest pathogenic fungi (Soylu, Kurt, Soyly, 2010), and the incorporation of these OEs in edible coatings is reported as a feasible technology to control postharvest decay in fruit (Santos et al., 2012; Sousa et al., 2013). Considering the well-known biodegradability and non-toxicity of GA as well as its coating-forming properties (Motlagh et al., 2006; Ali et al., 2010), the efficacy of OVEO and ROEO incorporated in GA-based coatings to control *Rhizopus* soft rot in plums was assessed.

The identification of the major constituents thymol (THY) and eucaliptol (EUC) in OVEO and ROEO, respectively, supports the findings of previous studies (Jordan et al., 2013; Barbosa et al. 2016). OVEO and ROEO exhibited MICs of 0.25 $\mu\text{L/mL}$ and 1.0 $\mu\text{L/mL}$ against *R. stolonifer*, respectively. The MIC of OVEO observed in the present study was

lower than the MIC previously reported (10 $\mu\text{L}/\text{mL}$) for OVEO against the same target fungus (Santos et al., 2012), while the same MIC was reported for ROEO against *Aspergillus niger* and *A. flavus* (Sousa et al., 2013). Variation in the antimicrobial effects of EOs obtained from the same or different vegetal species, sometimes against the same microbial species, can be associated with differences in EO composition, which varies according to the characteristic of the raw materials used for extraction, the ecological and geographical conditions, the age of the plant, the harvesting time and the methods used for extraction (Carvalho et al., 2015).

The combined application of OVEO and ROEO at sub-MICs revealed the occurrence of a synergistic interaction against *R. stolonifer*, suggesting enhanced antifungal effects from the application of these substances in combination. The GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO dispersions showed higher inhibitory effects against mycelial growth compared to dispersions containing only GA and GA-ROEO. The antifungal effects of OEs are suggested to be the result of the attack on the cell wall and retraction of the hypha cytoplasm affecting morphogenesis and fungal growth and finally resulting in mycelium death or lack of sporulation (Vesentini et al., 2007; Moreira et al., 2010). However, the intensity of the inhibitory effect of an EO is mainly defined by its major individual constituents (Carović-Stanko et al., 2010). Because of its chemical structure, THY (monoterpene with a hydroxyl group in the *ortho*-position), the major individual constituent in the studied OVEO, exhibits high hydrophobicity and is considered more effective as an antimicrobial agent than other constituents present in EOs, such as EUC (terpen hydrocarbon), the major constituent detected in ROEO (Burt, 2004; Barbosa et al., 2016). This reinforces the stronger inhibitory effects against *R. stolonifer* observed in vitro for GA-dispersion containing OVEO.

However, in dispersions containing OVEO and ROEO in combination, lower amounts of each essential oil were assayed compared to those tested in dispersions of GA containing only OVEO or ROEO, and similar effects on the inhibition of mycelial growth were observed.

The synergistic interaction verified between OVEO and ROEO toward *R. stolonifer* most likely was associated with the capability of EUC to cause cell wall disturbance enabling THY to act on intracellular targets causing thinning and wrinkling of mycelia and loss of cytoplasmic material (Sousa et al., 2013). Still, it has been reported that the exposure to OVEO at sub-MICs caused significant morphological changes in spores (wilting, disruption, loss of cellular material and deepening of ridges) of *R. stolonifer* (Santos et al., 2012), thereby interfering with spore germination. These findings could explain the strong and steady antifungal effects observed for GA-OVEO-ROEO dispersion in *in vitro* assays of inhibition of the mycelial growth, sporulation and germination of spores, when lower concentrations of each OVEO and ROEO were assayed.

The application of coatings comprising GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO delayed the appearance of Rhizopus soft rot in plums during storage at room and cold temperatures and reduced the incidence of rotted fruit at the end of the assessed storage time interval, confirming the inhibitory effects verified in the “in vitro” assays. However, the soft-rot inhibitory effects displayed by both GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO coatings were stronger when plums were stored at cold temperature. Enhanced antifungal effects of polysaccharide-based coatings, containing EOs or not, at low temperature have already been reported in grapes (Guerra et al., 2015; Oliveira et al., 2014). The delay of the incidence of Rhizopus soft rot in plums treated with coatings comprising GA and OVEO alone or in combination with ROEO could be associated with the weaker pathogenicity of *R. stolonifer* at low temperatures (Santos et al., 2012) and/or the slowing of physiological processes of maturation in fruit stored at cold temperatures and consequently higher resistance to mold infection (Oliveira et al., 2014; Sánchez-González et al., 2011).

The SEM analyses in plums infected with *R. stolonifer* spores also supported the *in vitro* inhibitory effects on spore germination and fungal mycelial growth. Still, the SEM data

partially explained the reduced percentage of infected plums coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO, because these coatings are capable to prevent the spore germination of *R. stolonifer* on the surfaces of plums, a determining factor for the beginning of host colonization and infection. As observed in our study, particularly in fruit treated and untreated with the coating containing only GA, a previous study reported that *R. stolonifer* is capable of penetrating and infecting injured and intact fruit (Baggio et al., 2015); therefore, the GA coatings containing OVEO or OVEO and ROEO tested in the present study acted as barriers against fungal penetration in plums. Considering that GA coatings could influence the physicochemical and sensory properties, or sugar and organic acid profiles, and consequently affect the acceptance of consumers and/or the shelf-life of the fruit, the effects on these attributes in plums during storage were also assessed. The GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO coatings prevented the weight loss and delayed the decrease in firmness of fruit during storage at both room and cold temperatures. The weight loss in fresh fruit is primarily associated with the water loss caused by transpiration and respiration (Das et al., 2013), while the firmness of plums is directly related to the maturation degree due to postharvest cell wall modification that changes the cell wall strength and cell-to-cell adhesion (Valero and Serrano, 2010; Guerra and Casquero 2008). Therefore, the physical barrier formed by GA coatings on the fruit surface reduces the respiration and transpiration and delays the maturation (Ali et al., 2011). The enhanced effects when OVEO and ROEO were incorporated in GA-coatings most likely occurred because of the hydrophobicity of these substances (Guerra et al., 2015). These are interesting results because weight loss and firmness are important indicators of the postharvest shelf-life and market value of plums, as well as of consumer appeal and satisfaction (Karaman et al., 2013). Still, the fungal inhibition imposed by GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO coatings protect the fruit against the action of the cell wall-degrading enzymes used by *R. stolonifer* for colonization and fruit infection (Baggio et al., 2015),

which, in addition to the action of cell wall-degrading enzymes naturally present in plums, contributes to decreased fruit firmness.

The changes in TA values in uncoated plums and plums coated during the assessed storage time interval reflect the detected changes in quantities of organic acids, mainly malic acid. Malic acid is a predominant organic acid in plums, accounting for approximately 80% of their acidity. As observed in the present study, during the maturation period of plums, an initial increase in the amount of malic acid is expected, followed by a decrease over time until the last maturation stage (Guerra and Casquero, 2008). Similarly, during storage, changes in the concentrations of acetic, citric, propionic, formic and lactic acids in plums, primarily associated with metabolic pathways in the vegetal tissues, occur naturally (Singh et al., 2009). Regarding SS values, the results verified in the present study support a previous report of SS values of healthy plums ranging from 6 to 22° Brix, which, after an initial increase, decrease during storage/maturation (Valero et al., 2003). As expected, in accordance with the observed SS values, plums showed a decrease in sugars (xylose, fructose and glucose) during storage at room temperature (Crisosto et al., 2004), and, similar to the observation for organic acids, uncoated fruit exhibited the highest decreases. Overall, the higher decreases in malic acid and sugars observed in uncoated fruit during storage at room temperature compared with fruit coated with GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO most likely were related to the delay of maturation in coated fruit as a result of reduction of their respiration and transpiration.

In this study, the application of the GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO coatings had no negative effect on the purple color of the plums, even in fruit stored at cold temperature. This is an interesting result because a previous study demonstrated a decrease in L* values when fruit were treated with GA-based coatings and stored at cold temperature (Cai et al., 2014). In plums coated with GA and EOs, there was an increase in lightness compared to the uncoated fruit. Greater lightness/brightness has been described for fruit coated with polymer-based

dispersions, which can be associated with brightness and high transparency of the formed coating (Oliveira et al., 2014).

GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO coatings showed efficacy in maintaining higher quantities of ellagic acid and rutin during storage at both studied temperatures, showing the desired results, due to the bioactivity of these compounds (Singh and Khan, 2010).

The coatings comprising GA-OVEO and GA-OVEO-ROEO did not affect the appearance, taste, texture and overall evaluation of the plums, while they did enhance the flavor and color of the plums according to sensory analysis, suggesting a positive impact of the higher brightness in coated fruit. Still, the mixture of volatile compounds present in the OEs when incorporated in GA, a well-known flavor enhancer (Ali et al., 2010), was positively perceived by the panelists and apparent in the high scores awarded for flavor by the panelists.

A negative impact on the aftertaste attribute was observed for the GA-OVEO coating but not for the GA-OVEO-ROEO coating. This result could be explained by the high quantities of THY present in the tested OVEO. It has been reported that OVEO containing high amounts of THY produce a changeable “warmly pungent flavor” in food during storage, and this is considered a critical issue for organoleptic characteristics of this EO (Azerêdo et al., 2011; Sousa et al., 2013). In contrast, the EUC present in high amounts in ROEO produces a “distinctive but pleasant mint-like flavor”. Therefore, the synergistic interaction of the combined application of OVEO and ROEO in coatings is interesting because, in addition to the desirable antifungal effects, it could minimize the impact of these compounds on the sensory perception of consumers.

Conclusions

The results of the present study showed that GA-OVEO or GA-OVEO-ROEO solutions possess strong antifungal effects against *R. stolonifer* based on the inhibition of

mycelial growth, spore germination and sporulation. The application of coatings comprising GA and OVEO alone or in combination with ROEO on artificially contaminated plums delayed the appearance of signs of *Rhizopus* soft rot in fruit during storage and reduced the percentage of rotted fruit at both room and cold temperatures. The tested coatings comprising GA and OVEO or GA, OVEO and ROEO enhanced the firmness, prevented weight loss and maintained higher amounts of sugars, malic acid and polyphenols in plums during storage. Considering the sensory aspects, the tested coatings enhanced the color and flavor of the plums, while the coating comprising GA and OVEO was negatively perceived in regards to the aftertaste attribute.

These results reveal the efficacy of GA coatings containing OVEO alone or in combination with ROEO to control *Rhizopus* soft rot in plums. Particularly, the coating comprising GA-OVEO could be an interesting alternative to the synthetic antifungal agents currently used to reduce postharvest losses in these fruits.

Acknowledgments

The authors would like to thank CAPES-Brazil for the scholarship of the first author S.C.A. Andrade and IPFarm-UFPB for CG-MS analysis of essential oils.

References

- Ali, A., Maqbool, M., Ramachandran, S., Alderson, P.G., 2010. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biol. Technol.*, 58, 42-47.
- Ali, A., Mahmud, T.M.M., Sijam, K., Siddiqui, Y., 2011. Effect of chitosan coatings on the physico-chemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food Chem.*, 124, 620-626.

Amiri, A., Dugas, R., Pichot, A.L., Bompeix, G., 2008. *In vitro* and *in vivo* activity of eugenol oil (*Eugenia caryophyllata*) against four important postharvest apple pathogens. *Int. J. Food Microbiol.*, 126, 13–19.

Azerêdo, G.A., Stamford, T.L.M., Nunes, P.C., Gomes-Neto, N.J., Oliveira, M.E.G., Souza, E.L., 2011. Combined application of essential oils from *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables. *Food Res. Int.*, 44, 1541-1548.

Baggio, J.S., Gonçalves, F.P., Lourenço, S.A., Tanaka, F.A.O., Pascholati, S.F., Amorim, L., 2015. Direct penetration of *Rhizopus stolonifer* into stone fruits causing *rhizopus* rot. *Plant pathol.*, DOI: 10.1111/ppa.12434

Barbosa, I.M., Medeiros, J.A.C., Oliveira, K.A.R, Gomes-Neto, N.J., Tavares, J., Magnani, M., Souza, E.L., 2016. Efficacy of the combined application of oregano and rosemary essential oils for the control of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in leafy vegetables. *Food Control* 59, 468-477.

Bautista-Baños, S.B., Molina, E.B., Barrera-Necha, L.L., 2014. *Botrytis cinerea* (gray mold). S. Bautista-Baños (Ed.), *Postharvest Decay*, 31–144.

Borges, G. S. C., Vieira, F. G. K., Copetti, C., Gonzaga, L. V., Zambiasi, R., Mancini, J. F., Fett, R. 2011 Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. *Food Res. Int.*, 44, 2128-2133.

Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 94, 223-253.

Cai, L., Wu, X., Dong, Z., Li, X., Yi, S., Li, J., 2014. Physicochemical responses and quality changes of red sea bream (*Pagrosomus major*) to gum arabic coating enriched with *ergothioneine* treatment during refrigerated storage. *Food Chem.*, 160, 82-89.

Carović-Stanko, K., Orlić, S., Politeo, O., Strikić, F., Kolak, I., Milos, M., 2010. Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum taxa*. Food Chem., 119-196.

Carvalho, R.J., Souza, G.T., Honório, V.G., Sousa, J.P., Conceição, M.L., Magnani, M., Souza, E.L., 2015. Comparative inhibitory effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models. Food Microbiol., 52, 59-65.

CIE - Commission Internationale de l'Éclairage, 1986. Colourimetry. (2th ed.) Vienna: CIE publication.

Crisosto, C.H., Garner, D., Crisosto, G.M., Bowerman, E., 2004. Increasing 'Blackamber' plum (*Prunus salicina* Lindell) consumer acceptance. Postharvest Biol. Technol., 34, 237-244.

Das, D.K., Dutta, H., Mahanta, C.L., 2013. Development of a rice starch-based coating with antioxidant and microbe-barrier properties and study of its effect on tomatoes stored at room temperature. Food Sci. Technol., 50, 272–278.

El-Anany, A.M., Hassan, G.F.A., Rahab, A.F.M., 2009. Effects of edible coatings on the shelf-life and quality of Anna apple (*Malus domestica Borkh*) during cold storage. J. Food Technol., 7, 5-11.

Eltoum, Y.A.I., Babiker, E.E., 2014. Changes in antioxidant content, rehydration ratio and browning index during storage of edible surface coated and dehydrated tomato slices. J. Food Process. Preserv., 38, 1135-1144.

Feng, W., Zeng, X., 2007. Essential oils to control *Alternaria alternata* *in vitro* and *in vivo*. Food Control 18, 1126-1130.

Gonçalves, C.C.M., Paiva, P.C.A., Dias, E.S., Siqueira, F.G., Henrique, F., 2010. Evaluation of the cultivation of *Pleurotus sajor-caju* (Fries) Sing. on cotton textile mill waste for mushroom production and animal feeding. Ciênc. Agrotec., 34:1, 220-225.

Guerra, I.C.D., Oliveira, P.D.L., Pontes, A.L.S., Lúcio, A.S.S.C., Tavares, J.F., Barbosa-Filho, J.M., Madruga, M.S., Souza, E.L., 2015. 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, 168-178.

Guerra, I.C.D., Oliveira, P.D.L., Santos, M. M. F., Lúcio, A.S.S.C., Tavares, J.F., Barbosa-Filho, J.M., Madruga, M.S., 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. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 34, 112-121.

Guerra, M., Casquero, P.A., 2008. Effect of harvest date on cold storage and postharvest quality of plum cv. Green Gage. *Postharvest Biol. Technol.*, 47, 325–332.

Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P., 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Int. J. Food Microbiol.*, 124, 91-97.

Jordan, M.J., Lax, V., Rota, M.C., Lorán, S., Sotomayor, J.A., 2013. Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control* 30, 463-468.

Karaman, S., Ozturk, B., Genc, N., Celik, S.M., 2013. Effect of pre-harvest application of methyl jasmonate on fruit quality of plum (*Prunus salicina* Lindell cv. ‘Fortune’) at harvest and during cold storage. *J. Food Process. Preserv.*, 37, 1049-1059.

Khaliq, G., Mohamed, M.T.M., Ghazali, H.M., Ding, P., Ali, A., 2016. Influence of gum arabic coating enriched with calcium chloride on physiological, biochemical and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit stored under low temperature stress. *Postharvest Biol. Technol.*, 111, 362-369.

Kim, K.W., 2008. Vapor fixation of intractable fungal cells for simple and versatile scanning electron microscopy. *J. Phytopathol.*, 156, 125-128.

Kucuker, E., Ozturk, B., Celik, S.M., Aksit, H., 2014. Pre-harvest spray application of methyl jasmonate plays an important role in fruit ripening, fruit quality and bioactive compounds of Japanese plums. *Sci. Hortic.*, 176, 162-169.

Liu, J., Tian, S., Meng, X., Xu, Y., 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.*, 44, 300-306.

Maqbool, M., Ali, A., Alderson, P., Mohamed, M.T.M., Siddiqui, Y., Zahid, N., 2011. Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 62, 71-76.

Meng, X., Li, B., Liu, J., Tian, S., 2008. Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan pre-harvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chem.*, 106, 501-508.

Moreira, A.C.P., Lima, E.O., Wanderley, P.A., Carmo, E.S., Souza, E. L., 2010. Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) poit leaves essential oil against *Aspergillus* species. *Braz. J. Microbiol.*, 41, 28-33.

Motlagh, S., Ravines, P., Karamallah, K.A., Ma, Q., 2006. The analysis of *Acacia* gums using electrophoresis. *Food Hydrocoll.*, 20, 848-854.

Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., Hosseini, S.M.H., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chem.*, 120, 193-198.

Oliveira, C.E.V., Magnani, M., Sales, C.V., Pontes, A.L.S., Campos-Takaki, G.M., Stamford, T.C.M., Souza, E.L., 2014. Effects of chitosan from *Cunninghamella elegans* on virulence of post-harvest pathogenic fungi in table grapes (*Vitis labrusca* L.). *Int. J. Food Microbiol.*, 171, 54–61.

Perdones, A., Sanchez-Gonzalez, L., Chiralt, A., Vargas, M., 2012. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biol. Technol.*, 70, 32-41.

Sánchez-González, L., Pastor, P., Vargas, M., Chiralt, A., González-Martínez, M., 2011. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biol. Technol.*, 60, 57-63.

Santos, N.T.S., Athayde, A.J.A.A., Oliveira, C.E.V., Sales, C.V., Silva, S.M., Silva, R.S., Stamford, T.C.M., 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 Microbiol.*, 32, 345-353.

Schipper M.A., 1984. A revision of the genus *Rhizopus*. I. The *Rh. Stolonifer* a group and *Rh. oryzae*. *Study Mycol.*, 25, 1-19.

Singh, S.P., Singh, Z., Swinny, E.E., 2009. Sugars and organic acids in Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell) as influenced by maturation, harvest date, storage temperature and period. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 44, 1973–1982.

Soylu, E.M., Kurt, S., Soylu, S., 2010. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *Int. J. Food Microbiol.*, 143:3, 183–189.

Sousa, L.L., Andrade, S.C.A., Athayde, A.J.A.A., Oliveira, C.E.O., Sales, C.V., Madruga, M.S., Sousa, E.L., 2013. Efficacy of *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils in combination to control postharvest pathogenic Aspergilli and autochthonous mycoflora in *Vitis labrusca* L. (table grapes). *Int. J. Food Microbiol.*, 165, 312–318.

Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., Bigger, S.W., 2003. Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. *J. Food Sci.*, 68, 408-420.

Valero, D., Martínez-Romero, A.D., Valverde, J.M., Guillen, F., Serrano, M., 2003. Quality improvement and extension of shelf life by 1-methylcyclopropene in plum as affected by ripening stage at harvest. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 4, 339-348.

Valero, D., Serrano, M. 2010. Preserving fruit quality In: Valero, D., Serrano, M. **Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality**. New York: CRS, 1, 6, 109.

Vesentini, D., Steward, D., Singhi, A.P., Ball, R., Daniel, G., Franich, R., 2007. Chitosan mediated changes in cell wall composition, morphology and ultrastructure in two wood-inhabiting fungi. *Mycol. Res.*, 111, 875-890.

Zeppa, G., Conterno, L., Gerbi, V., 2001. Determination of Organic Acids, Sugars, Diacetyl, and Acetoin in Cheese by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 49:6, 2722-2726.

Figures

Figure 1. Effects of gum arabic, *O. vulgare* and *R. officinalis* essential oils alone or in combination on *R. stolonifer* URM 3728 mycelial growth over 72 h (28 °C). (*): 0 µL/mL of gum arabic and essential oil (control). (■): GA at 1 g/mL. (○): GA at 1 g /mL and OVEO at 0.125 µL/mL + ROEO at 0.50 µL/mL. (▲): GA at 1 g/mL + OVEO at 0.06 µL/mL + ROEO at 0.25 µL/mL. (▼): GA at 1 g/mL + OVEO at 0.25 µL/mL. (●): GA at 1 g/mL + ROEO at 1 µL/mL.

Figure 2. Scanning electron microscopy of the surface of plums infected with spores of *Rhizopus stolonifer* URM 3728. (A-B) Uncoated plums; (E-F) plums coated with gum arabic (GA) at 1 g/mL alone; (C) plums coated with GA (1 g/mL) + OVEO at 0.06 µL/mL + ROEO at 0.25 µL/mL; and (D) plums coated with GA (1 g/mL) + OVEO at 0.25 µL/mL.

Figure 3. Weight loss in uncoated plums and plums coated with dispersion containing gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (A) or at cold temperature (B). (*): 0 µL/mL of gum arabic or essential oil (control). (■): GA at 1 g/mL. (▲): GA (1 g/mL) + OVEO at 0.06 µL/mL + ROEO at 0.25 µL/mL. (▼) GA (1 g/mL) + OVEO at 0.25 µL/mL.

Figure 4. Firmness of uncoated plums and plums coated with dispersion containing gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (A) or at cold temperature (B). (*): 0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of gum arabic or essential oil (control). (■): GA at 1 g/mL. (▲): GA (1 g/mL) + OVEO at 0.06 $\mu\text{L}/\text{mL}$ + ROEO at 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$. (▼) GA (1 g/mL) + OVEO at 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Figure 5. Changes in the concentrations of sugars in uncoated plums and plums coated with dispersion containing gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (A) or at cold temperature (B). (*): 0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of gum arabic or essential oil (control). (■): GA at 1 g/mL. (▲): GA (1 g/mL) + OVEO at 0.06 $\mu\text{L}/\text{mL}$ + ROEO at 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$. (▼) GA (1 g/mL) + OVEO at 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Figure 6. Changes in the concentrations of organic acids in uncoated plums and plums coated with dispersion containing gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (A) or at cold temperature (B). (*): 0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of gum arabic or essential oil (control). (■): GA at 1 g/mL. (▲): GA (1 g/mL) + OVEO at 0.06 $\mu\text{L}/\text{mL}$ + ROEO at 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$. (▼) GA (1 g/mL) + OVEO at 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Table 1. GC-MS analysis of essential oils from *O. vulgare* L. and *R. officinalis* L.

OVEO			ROEO		
Peak	Compound	Area (%)	Peak	Compound	Area (%)
1	2-Hexanone	0.04	1	2-hexanone, 3,3-dimethyl-	0.48
2	2-Hexanone, 3,3-dimethyl-	0.57	2	Ethanone, 1-(3-ethyloxiranyl)-	0.43
3	Ethanone, 1-(3-ethylloxiranyl)-	0.42	3	α - Thujene	0.27
4	α -Thujene	0.36	4	α - Pinene	11.0
5	α - Pinene	1.69	5	Camphene	2.48
6	Bicyclo[2,2,1]heptane	0.57	6	3-Henen-2-one	0.21
7	3-Hexen-2-one	0.29	7	Sabinene	0.11
8	β -Pinene	0.69	8	β - Pinene	9.40
9	Myrcene	1.15	9	Myrcene	0.93
10	Pseudolimonene	0.12	10	α - Phellandrene	0.08
11	α - Terpinene	0.93	11	Δ -3-Carene	0.16
12	Benzene,1-methyl-2-(1-methylethyl)	0.11	12	α - Terpinene	0.30
13	Limonene	12.5	13	P-Cymene	0.89
14	Eucalyptol	0.30	14	Eucalyptol	49.7
15	γ -Terpinene	6.78	15	γ - Terpinene	0.46
16	Linalool	2.85	16	Trans-Sabinene hydrate	0.11
17	Thymol methyl ether	0.17	17	Terpinolene	0.24
18	Benzene	0.60	18	Linalool	0.92
19	Thymol	64.4	19	Camphor	13.8
20	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)	3.82	20	Borneol	1.31
21	Caryophyllene	1.23	21	3-Cyclohexenol	0.49
22	Caryophyllene oxide	0.39	22	α - Terpeneol	0.94
-	-	-	23	Bornyl acetate	0.81
-	-	-	24	α - Copaene	0.17
-	-	-	25	Caryophyllene	3.85
-	-	-	26	α - Humulene	0.26

Table 2. Effects of gum arabic (GA) alone or in combination with *O. vulgare* (OVEO) and or *R. officinalis* (ROEO) essential oil on *R. stolonifer* URM 3728 spore germination and sporulation after a 24 h-incubation (25 °C).

Treatments	Inhibition of spore germination (%)	N° esporos.mL ⁻¹ (10 ⁴)
Control	00.00 (± 0.00) a	32.42a
Gum Arabic (GA)	64.12 (± 2.53)b	29.38a
GA-OVEO 0.12 + ROEO 0.50	94.37 (± 2.02)c	3.92b
GA-OVEO 0.06 + ROEO 0.25	93.48 (± 1.72)c	4.00b
GA-OVEO 0.25	87.26 (± 2.15)d	3.86b
GA-ROEO 1.00	20.53 (± 2.54)e	26.13a

Control: without GA or EOs; GA-OVEO 0.12 + GA-ROEO 0.50: GA 1 mg/mL with OVEO 0.12 µL/mL + ROEO 0.50 µL/mL; GA-OVEO 0.06 + GA-ROEO 0.25: GA 1 mg/mL with OVEO 0.06 µL/mL + ROEO 0.25 µL/mL; GA-OVEO 0.25: GA 1 mg/mL with OVEO 0.25 µL/mL; GA-ROEO 1.00: GA 1 mg/mL with ROEO 1.00 µL/mL.

a – e For each trial, different superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the different treatments at same storage period) according to Tukey's test.

Table 3. Occurrence of *Rhizopus* soft rot in uncoated plums and plums coated with gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (25 °C, 8 days) or at cold temperature (12 °C, 21 days).

Treatments	Days of storage for detection of first signs of fungal infection		Percent of infected fruits at the end of the storage time		Control: (uncoated fruit). GA: 1 mg/mL; GA-OVEO-ROEO
	Room temperature	Cold temperature	Room temperature	Cold temperature	
Control	2nd	6th	95.20 (± 7.05) ^a	65.12 (± 4.06) ^a	
Gum Arabic (GA)	4th	9th	92.50 (± 4.13) ^a	64.35 (± 3.09) ^a	
GA-OVEO-ROEO	6th	nd	11.00 (± 3.07) ^b	nd	
GA-OVEO	6th	nd	12.50 (± 3.27) ^b	nd	

O: GA 1 mg/mL with OVEO 0.06 μ L/mL + ROEO 0.25 μ L/mL; GA-OVEO: GA 1 mg/mL with OVEO 0.25 μ L/mL.

a – b For each trial, different superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the different treatments at same storage period) according to Tukey's test.

Table 4. Mean values for physicochemical quality parameters in uncoated plums and plums coated with gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (25 °C, 8 days) or at cold temperature (12 °C, 21 days).

Treatments	Room temperature (25 °C)			Cold temperature (12 °C)		
	Days of storage			Days of storage		
	1	4	8	3	12	21
Titratable acidity (mmol H⁺/100 g of fruit)						
Control	16.10 (± 0.46) ^{Aa}	16.60 (± 0.80) ^{Aa}	10.20 (± 0.55) ^{Ba}	18.60 (± 0.34) ^{Aa}	18.10 (± 0.70) ^{Aa}	16.80 (± 0.41) ^{Ba}
Gum Arabic (GA)	17.60 (± 0.32) ^{Ab}	14.60 (± 0.58) ^{Bb}	10.20 (± 0.63) ^{Ca}	19.60 (± 0.29) ^{Ab}	16.20 (± 0.82) ^{Bb}	11.80 (± 0.35) ^{Cb}
GA-OVEO-ROEO	16.60 (± 0.33) ^{Aa}	15.40 (± 0.84) ^{Ba}	11.80 (± 0.72) ^{Aa}	18.40 (± 0.35) ^{Aa}	17.80 (± 0.24) ^{Ab}	17.00 (± 0.21) ^{Ba}
GA-OVEO	17.20 (± 0.18) ^{Ab}	14.80 (± 0.62) ^{Bb}	12.80(± 0.98) ^{Bb}	18.60 (± 0.45) ^{Aa}	17.80 (± 0.64) ^{Ab}	13.60 (± 0.32) ^{Bc}
Soluble solids (°Brix)						
Control	11.00 (± 0.28) ^{Aa}	10.15 (± 0.25) ^{Ba}	7.60 (± 0.08) ^{Ca}	19.02 (± 0.07) ^{Aa}	15.60 (± 0.19) ^{Ba}	15.10 (± 0.07) ^{Ba}
Gum Arabic (GA)	8.10 (± 0.14) ^{Ab}	8.20 (± 0.09) ^{Ab}	7.15 (± 0.05) ^{Bb}	19.30 (± 0.11) ^{Aa}	17.35 (± 0.91) ^{Bb}	16.20 (± 0.14) ^{Cb}
GA-OVEO-ROEO	9.15 (± 0.21) ^{Ac}	9.10 (± 0.14) ^{Ac}	8.25 (± 0.07) ^{Ac}	20.60 (± 0.14) ^{Ab}	17.80 (± 0.09) ^{Bb}	17.02 (± 0.04) ^{Bc}
GA-OVEO	9.05 (± 0.07) ^{Ac}	8.50 (± 0.00) ^{Ad}	7.65 (± 0.05) ^{Ba}	18.25 (± 0.07) ^{Ac}	17.45 (± 0.07) ^{Bb}	17.00 (± 0.14) ^{Bc}
Total phenolics (mg GAE/ 100g)						
Control	80.07 (± 1.18) ^{Aa}	72.83 (± 0.70) ^{Ba}	61.66 (± 1.55) ^{Ca}	67.68 (± 1.58) ^{Aa}	59.85 (± 1.55) ^{Ba}	57.96 (± 1.54) ^{Ba}
Gum Arabic (GA)	78.37 (± 1.05) ^{Aa}	69.81 (± 1.08) ^{Bb}	58.77 (± 0.14) ^{Cb}	63.00 (± 1.86) ^{Ab}	60.57 (± 1.50) ^{Ba}	59.85 (± 1.73) ^{Ba}
GA-OVEO-ROEO	82.67 (± 1.17) ^{Aa}	73.66 (± 0.37) ^{Ba}	62.90 (± 1.63) ^{Ca}	69.87 (± 1.01) ^{Aa}	64.16 (± 0.79) ^{Bb}	63.18 (± 1.30) ^{Bb}
GA-OVEO	82.25 (± 1.66) ^{Aa}	74.61 (± 1.13) ^{Ba}	63.48 (± 0.97) ^{Ca}	67.78 (± 1.32) ^{Aa}	63.02 (± 1.10) ^{Bb}	62.59 (± 0.73) ^{Bb}

Control: (uncoated fruit). GA: GA 1 1 mg/mL; GA-OVEO-ROEO: GA 1 mg/mL with OVEO 0.06 µL/mL + ROEO 0.25 µL/mL; GA-OVEO: GA 1 mg/mL with OVEO 0.25 µL/mL.

A–C For each trial, different superscript letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the same treatment at different storage periods) according to Tukey's test.

a – d For each trial, different superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the different treatments at same storage period) according to Tukey's test.

Table 5. Phenolic compounds determined in uncoated plums and plums coated with gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (25 °C, 8 days) or at cold temperature (12 °C, 21 days).

Phenolics (Room temperature 25 °C)								
Day 1	8 days							
Phenolic compounds	Control	Gum arabic	GA-OVEO-ROEO	GA-OVEO	Control	Gum arabic	GA-OVEO-ROEO	GA-OVEO
Ac. 4 Hydroxybenzoic	0.40 (± 0.03)	0.30 (± 0.03)	0.40 (± 0.03)	0.40 (± 0.03)	0.80 (± 0.08)	0.90 (± 0.03)	0.90 (± 0.03)	0.90 (± 0.03)
Ac. Syringic	0.20 (± 0.02)	0.20 (± 0.02)	0.30 (± 0.01)	0.20 (± 0.02)	0.60 (± 0.06)	0.40 (± 0.02)	0.90 (± 0.03)	0.40 (± 0.02)
Ac. 2,5 dihydroxybenzoic	4.30 (± 0.61)	3.92 (± 0.04)	5.30 (± 0.05)	5.00 (± 0.07)	3.22 (± 0.14)	4.90 (± 0.22)	5.80 (± 0.13)	5.30 (± 0.08)
Ac. Vanillic	1.10 (± 0.03)	1.00 (± 0.02)	1.00 (± 0.02)	1.00 (± 0.05)	1.20 (± 0.07)	1.20 (± 0.05)	1.30 (± 0.08)	1.30 (± 0.07)
Ac. Feluric	0.30 (± 0.02)	0.20 (± 0.03)	0.40 (± 0.02)	0.20 (± 0.03)	0.10 (± 0.01)	0.60 (± 0.03)	0.80 (± 0.02)	0.80 (± 0.02)
Ac. Ellagic	8.90 (± 0.04)	6.70 (± 0.09)	9.82 (± 0.03)	6.22 (± 0.06)	19.70 (± 0.13)	15.90 (± 0.21)	22.20 (± 0.17)	14.70 (± 0.15)
Ac. Caffeic	1.50 (± 0.02)	1.40 (± 0.04)	1.80 (± 0.01)	2.00 (± 0.08)	2.00 (± 0.09)	1.90 (± 0.02)	2.00 (± 0.06)	1.80 (± 0.06)
Rutin	18.90 (± 0.08)	10.62 (± 0.06)	15.10 (± 0.11)	15.62 (± 0.12)	21.30 (± 0.14)	22.40 (± 0.12)	26.10 (± 0.24)	29.30 (± 0.33)
Myricetin	1.20 (± 0.03)	1.30 (± 0.02)	2.10 (± 0.04)	1.80 (± 0.06)	3.40 (± 0.07)	2.40 (± 0.07)	4.30 (± 0.11)	4.00 (± 0.07)
Catechin	0.70 (± 0.03)	0.60 (± 0.04)	0.50 (± 0.04)	0.70 (± 0.04)	1.20 (± 0.06)	1.00 (± 0.02)	1.30 (± 0.02)	1.50 (± 0.03)
Phenolics (Cold temperature 12 °C)								
Day 12	21 days							
Phenolic compounds	Control	Gum arabic	GA-OVEO-ROEO	GA-OVEO	Control	Gum arabic	GA-OVEO-ROEO	GA-OVEO
Ac. 4 Hydroxybenzoic	0.60 (± 0.04)	0.40 (± 0.03)	0.20 (± 0.02)	0.20 (± 0.02)	1.00 (± 0.02)	0.40 (± 0.02)	0.30 (± 0.03)	0.40 (± 0.02)
Ac. Syringic	0.30 (± 0.01)	0.20 (± 0.01)	0.10 (± 0.01)	0.10 (± 0.01)	0.20 (± 0.03)	0.20 (± 0.01)	0.10 (± 0.012)	0.20 (± 0.01)
Ac. 2,5 dihydroxybenzoic	5.13 (± 0.09)	6.10 (± 0.18)	3.20 (± 0.08)	3.70 (± 0.11)	4.50 (± 0.09)	5.40 (± 0.12)	3.90 (± 0.09)	4.05 (± 0.13)
Ac. Vanillic	1.10 (± 0.10)	0.60 (± 0.03)	1.22 (± 0.06)	0.80 (± 0.07)	1.00 (± 0.07)	1.00 (± 0.07)	1.00 (± 0.06)	1.60 (± 0.09)
Ac. Feluric	0.20 (± 0.02)	0.20 (± 0.02)	0.20 (± 0.02)	0.20 (± 0.01)	0.20 (± 0.02)	0.20 (± 0.02)	0.20 (± 0.01)	0.20 (± 0.01)
Ac. Ellagic	12.50 (± 0.27)	15.80 (± 0.28)	13.80 (± 0.18)	15.50 (± 0.16)	17.40 (± 0.17)	18.50 (± 0.19)	21.60 (± 0.25)	19.40 (± 0.12)
Ac. Caffeic	3.40 (± 0.07)	3.40 (± 0.05)	3.60 (± 0.07)	3.40 (± 0.09)	3.30 (± 0.09)	3.40 (± 0.08)	3.30 (± 0.08)	3.40 (± 0.03)
Rutin	14.30 (± 0.18)	15.60 (± 0.14)	17.30 (± 0.23)	18.30 (± 0.13)	25.10 (± 0.21)	24.50 (± 0.17)	28.60 (± 0.18)	29.30 (± 0.07)
Myricetin	0.90 (± 0.09)	0.80 (± 0.03)	0.80 (± 0.08)	0.80 (± 0.02)	1.00 (± 0.05)	0.80 (± 0.04)	0.80 (± 0.03)	1.20 (± 0.04)
Catechin	0.60 (± 0.05)	0.70 (± 0.04)	0.90 (± 0.05)	0.70 (± 0.04)	1.40 (± 0.11)	1.20 (± 0.07)	1.70 (± 0.06)	1.20 (± 0.03)

Control: (uncoated fruit). GA: GA 1 mg/mL; GA-OVEO-ROEO: GA 1 mg/mL with OVEO 0.06 µL/mL + ROEO 0.25 µL/mL; GA-OVEO: GA 1 mg/mL with OVEO 0.25 µL/mL.

Table 6. Mean values for sensory attributes in uncoated plums and plums coated with gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or both OVEO and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at cold temperature (12 °C, 10 days).

Treatments	Appearance	Color	Flavor	Taste	Aftertaste	Firmness	Overall evaluation
Time 1							
Control	7.35 (± 0.22) ^{Aa}	7.04 (± 0.24) ^{Aa}	7.81 (± 0.26) ^{Aa}	7.34 (± 0.34) ^{Aa}	7.34 (± 0.80) ^{Aa}	7.60 (± 0.12) ^{Aa}	7.44 (± 0.96) ^{Aa}
Gum Arabic	7.26 (± 0.59) ^{Aa}	7.00 (± 0.50) ^{Aa}	7.64 (± 0.71) ^{Aa}	7.16 (± 0.62) ^{Ab}	7.20 (± 0.41) ^{Aa}	7.56 (± 0.42) ^{Aa}	7.36 (± 0.25) ^{Aa}
GA-OVEO-ROEO	7.53 (± 0.47) ^{Aa}	8.05 (± 0.25) ^{Ab}	7.32 (± 0.57) ^{Aa}	7.35 (± 0.63) ^{Ab}	7.23 (± 0.50) ^{Aa}	7.16 (± 0.72) ^{Aa}	7.24 (± 0.51) ^{Aa}
GA-OVEO	7.65 (± 0.26) ^{Aa}	8.13 (± 0.37) ^{Ab}	7.24 (± 0.27) ^{Ab}	7.28 (± 0.59) ^{Ab}	6.92 (± 0.25) ^{Ab}	7.44 (± 0.29) ^{Aa}	7.60 (± 0.81) ^{Aa}
Time 5							
Control	7.06 (± 0.41) ^{Ba}	7.31 (± 0.51) ^{Aa}	7.00 (± 0.28) ^{Ba}	7.10 (± 0.29) ^{Aa}	7.63 (± 0.45) ^{Aa}	7.27 (± 0.30) ^{Ba}	7.34 (± 1.04) ^{Aa}
Gum Arabic	7.07 (± 0.46) ^{Aa}	7.00 (± 0.53) ^{Aa}	7.03 (± 0.29) ^{Ba}	7.06 (± 0.30) ^{Aa}	7.93 (± 0.30) ^{Aa}	7.10 (± 0.42) ^{Ba}	7.24 (± 1.15) ^{Aa}
GA-OVEO-ROEO	6.90 (± 0.61) ^{Ba}	8.04 (± 0.79) ^{Ab}	6.60 (± 0.45) ^{Bb}	7.14 (± 0.43) ^{Aa}	7.67 (± 0.41) ^{Aa}	6.96 (± 0.52) ^{Aa}	7.31 (± 0.75) ^{Aa}
GA-OVEO	7.03 (± 0.42) ^{Aa}	8.09 (± 0.37) ^{Ab}	6.83 (± 0.31) ^{Bb}	7.19 (± 0.31) ^{Aa}	6.51 (± 0.52) ^{Ab}	6.93 (± 0.58) ^{Ba}	7.38 (± 1.01) ^{Aa}
Time 10							
Control	7.05 (± 0.50) ^{Ba}	7.20 (± 0.36) ^{Aa}	7.55 (± 0.35) ^{Aa}	7.30 (± 0.17) ^{Aa}	7.45 (± 0.34) ^{Aa}	7.10 (± 0.61) ^{Ca}	7.70 (± 0.92) ^{Aa}
Gum Arabic	7.05 (± 0.19) ^{Aa}	7.35 (± 0.22) ^{Aa}	7.30 (± 0.30) ^{Aa}	7.70 (± 0.17) ^{Ab}	7.50 (± 0.49) ^{Aa}	7.45 (± 0.84) ^{Aa}	7.75 (± 0.71) ^{Ba}
GA-OVEO-ROEO	7.60 (± 0.99) ^{Aa}	8.02 (± 0.22) ^{Ab}	6.90 (± 0.88) ^{Ba}	7.75 (± 0.72) ^{Aa}	7.24 (± 0.43) ^{Aa}	7.96 (± 0.75) ^{Ba}	7.80 (± 0.79) ^{Ba}
GA-OVEO	7.20 (± 0.83) ^{Aa}	8.00 (± 0.75) ^{Ab}	7.35 (± 0.81) ^{Bb}	7.55 (± 0.94) ^{Ac}	6.10 (± 0.97) ^{Ab}	7.85 (± 0.88) ^{Aa}	7.35 (± 0.67) ^{Aa}

Time 1: 1 day of storage; Time 5: 5 days of storage; Time 10: 10 days of storage. Control: (uncoated fruit). GA: GA 1 mg/mL; GA-OVEO-ROEO: GA 1 mg/mL with OVEO 0.06 µL/mL + ROEO 0.25 µL/mL; GA-OVEO: GA 1 mg/mL with OVEO 0.25 µL/mL. A–B For each trial, different superscript letters in the columns denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the same treatment at different storage periods) according to Tukey's test. a – b For each trial, different superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the different treatments at same storage period) according to Tukey's test.

Supplementary Table 1. Mean values of the color parameters in uncoated plums and plums coated with gum arabic (GA) alone or in combination with only *O. vulgare* essential oil (OVEO) or alone or in combination with and *R. officinalis* essential oil (ROEO) during storage at room temperature (25 ° C, 8 days) and at cold temperature (12 ° C, 21 days).

Parameters		Gum Arabic (GA)	GA-OVEO	GA-OVEO-ROEO	Control
Days of storage					
Room temperature					
L	1	26.10 (±0.19) ^{Aa}	26.19 (±0.97) ^{Aa}	25.75 (±1.51) ^{Aa}	21.10 (±0.51) ^{Ab}
	4	25.55 (±0.54) ^{Ba}	25.24 (±0.37) ^{Aa}	25.00 (±0.71) ^{Aa}	20.49 (±0.56) ^{Ab}
	8	25.03 (±0.52) ^{Ba}	24.62 (±1.12) ^{Ba}	24.19 (±0.18) ^{Ba}	20.64 (±1.77) ^{Ab}
a	1	3.00 (±0.32) ^{Aa}	2.77 (±0.37) ^{Aa}	2.32 (±0.14) ^{Ab}	2.00 (±0.19) ^{Ac}
	4	2.98 (±0.57) ^{Aa}	2.62 (±0.31) ^{Aa}	2.25 (±0.32) ^{Aa}	1.67 (±0.16) ^{Ab}
	8	2.19 (±0.59) ^{Ba}	2.21 (±0.32) ^{Aa}	2.11 (±1.10) ^{Aa}	0.95 (±0.90) ^{Bb}
b	1	0.69 (±0.17) ^{Aa}	0.66 (±0.06) ^{Aa}	0.57 (±0.13) ^{Aa}	0.69 (±0.19) ^{Aa}
	4	0.53 (±0.13) ^{Aa}	0.65 (±0.28) ^{Aa}	0.56 (±0.29) ^{Aa}	0.64 (±0.03) ^{Aa}
	8	0.39 (±0.07) ^{Aa}	0.54 (±0.13) ^{Ab}	0.47 (±0.09) ^{Aa}	0.59 (±0.09) ^{Ab}
h*ab	1	8.75(±0.68) ^{Aa}	13.76 (±0.57) ^{Ab}	12.40 (±0.52) ^{Ab}	8.65 (±1.27) ^{Aa}
	4	8.50 (±0.91) ^{Aa}	12.43 (±0.75) ^{Ab}	11.21 (±0.43) ^{Bb}	8.74 (±0.98) ^{Aa}
	8	7.74(±1.27) ^{Ba}	10.63 (±0.45) ^{Bb}	10.77 (±0.31) ^{Bb}	8.42 (±1.33) ^{Aa}
C*ab	1	4.54 (±0.44) ^{Aa}	2.93 (±0.07) ^{Ab}	3.08 (±0.64) ^{Ab}	3.04 (±0.86) ^{Ab}
	4	4.07 (±0.67) ^{Aa}	2.77 (±0.75) ^{Ab}	2.75 (±0.56) ^{Ab}	2.76 (±0.20) ^{Ab}
	8	3.89 (±0.86) ^{Aa}	2.05 (±0.45) ^{Ab}	2.10 (±0.16) ^{Bb}	1.95 (±0.78) ^{Bb}
Cold temperature					
L	3	28.21 (±1.20) ^{Aa}	30.84(±0.89) ^{Ab}	29.89(±1.33) ^{Ab}	24.71 (±0.85) ^{Ac}
	12	26.78 (±1.38) ^{Aa}	29.26 (±0.77) ^{Bb}	28.26 (±1.09) ^{Ab}	24.21 (±0.94) ^{Ac}
	21	25.31 (±0.40) ^{Ba}	28.07 (±1.30) ^{Bb}	26.83 (±1.25) ^{Bb}	23.85 (±1.12) ^{Ac}
a	3	3.33 (±0.71) ^{Aa}	3.89 (±0.58) ^{Aa}	3.73 (±0.37) ^{Aa}	2.99 (±0.23) ^{Aa}
	12	2.98 (±0.47) ^{Aa}	3.22 (±0.74) ^{Aa}	3.15 (±0.88) ^{Aa}	2.10 (±0.23) ^{Ab}
	21	2.78 (±0.55) ^{Aa}	3.03 (±0.78) ^{Aa}	3.09 (±0.57) ^{Aa}	1.87 (±0.17) ^{Bb}
b	3	0.92 (±0.15) ^{Aa}	0.89 (±0.28) ^{Aa}	0.86 (±0.12) ^{Aa}	0.88 (±0.15) ^{Aa}
	12	0.84 (±0.27) ^{Aa}	0.77 (±0.30) ^{Aa}	0.73 (±0.06) ^{Aa}	0.79 (±0.25) ^{Aa}
	21	0.81 (±0.28) ^{Aa}	0.68 (±0.12) ^{Aa}	0.69 (±0.59) ^{Aa}	0.69 (±0.11) ^{Aa}
h*ab	3	10.87 (±1.53) ^{Aa}	10.41 (±1.68) ^{Aa}	11.23 (±0.94) ^{Aa}	9.40 (±1.30) ^{Ab}
	12	9.98 (±1.46) ^{Aa}	9.87 (±1.44) ^{Aa}	10.34 (±0.83) ^{Aa}	8.85 (±0.79) ^{Ab}
	21	9.27 (±0.79) ^{Aa}	9.22 (±0.60) ^{Aa}	9.47 (±0.23) ^{Ba}	7.98 (±1.36) ^{Ab}
C*ab	3	4.86 (±0.34) ^{Aa}	4.65 (±0.57) ^{Aa}	5.13 (±0.63) ^{Aa}	4.74 (±0.30) ^{Aa}
	12	4.03 (±0.44) ^{Aa}	4.43 (±0.83) ^{Aa}	4.78 (±0.60) ^{Aa}	4.29 (±0.56) ^{Aa}
	21	3.75 (±0.48) ^{Aa}	4.02 (±0.71) ^{Aa}	4.07 (±0.66) ^{Aa}	3.45 (±1.02) ^{Aa}

Control: (uncoated fruit). GA: GA 1 mg/mL; GA-OVEO-ROEO: GA 1 mg/mL with OVEO 0.06 µL/mL + ROEO 0.25 µL/mL; GA-OVEO: GA 1 mg/mL with OVEO 0.25 µL/mL. a-c For each trial, different superscript letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the different treatments at the same storage period) according to Tukey's test. A-B For each trial, different superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the same treatment at different storage periods) according to Tukey's test.

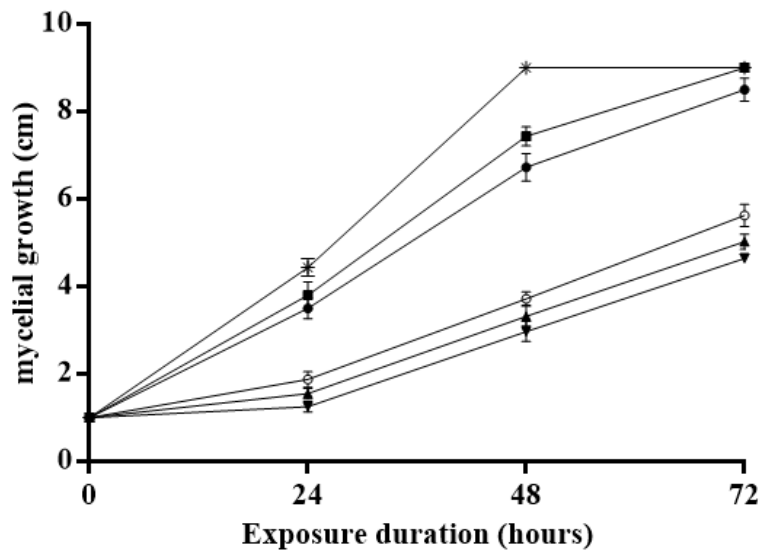


Figure 1.

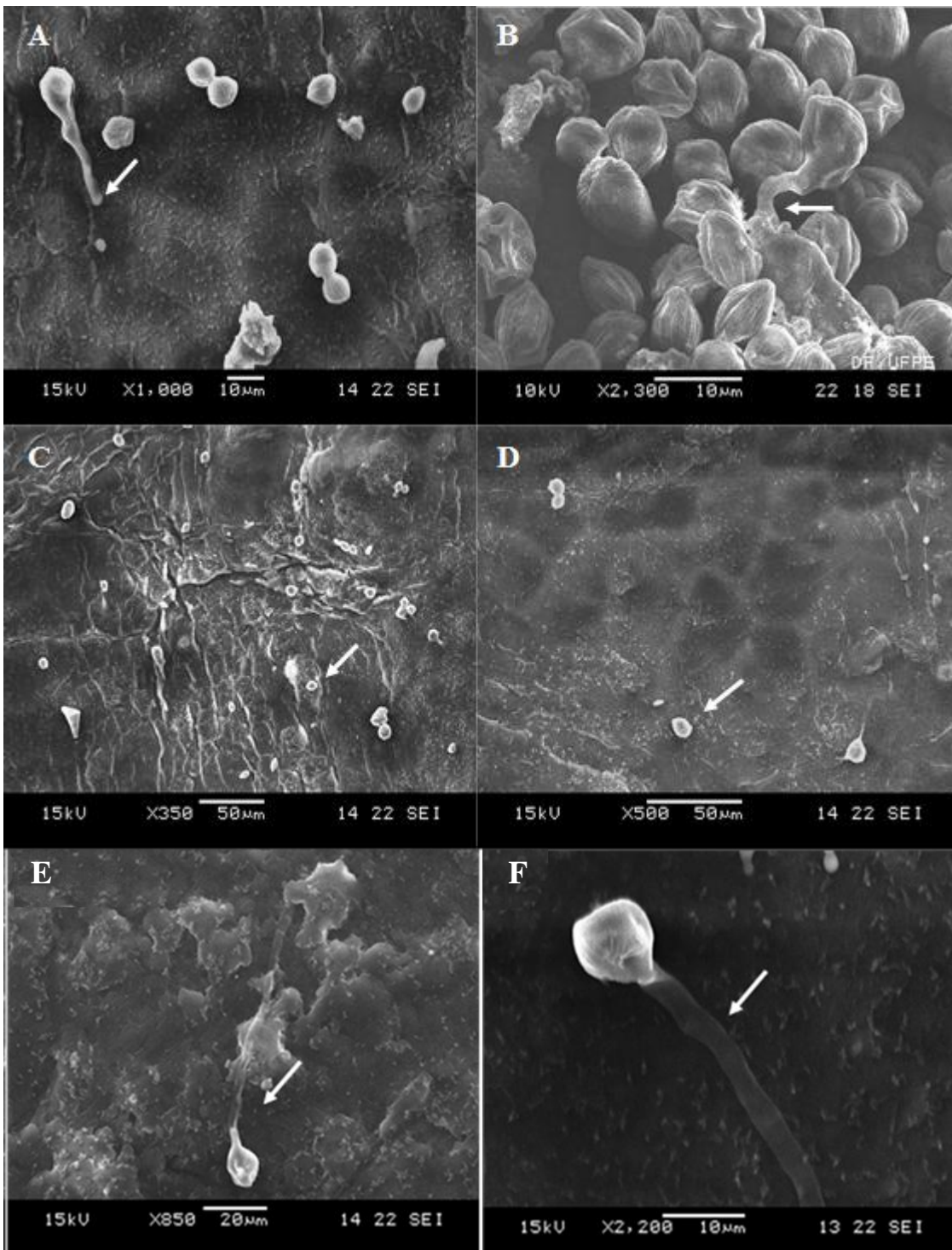


Figure 2.

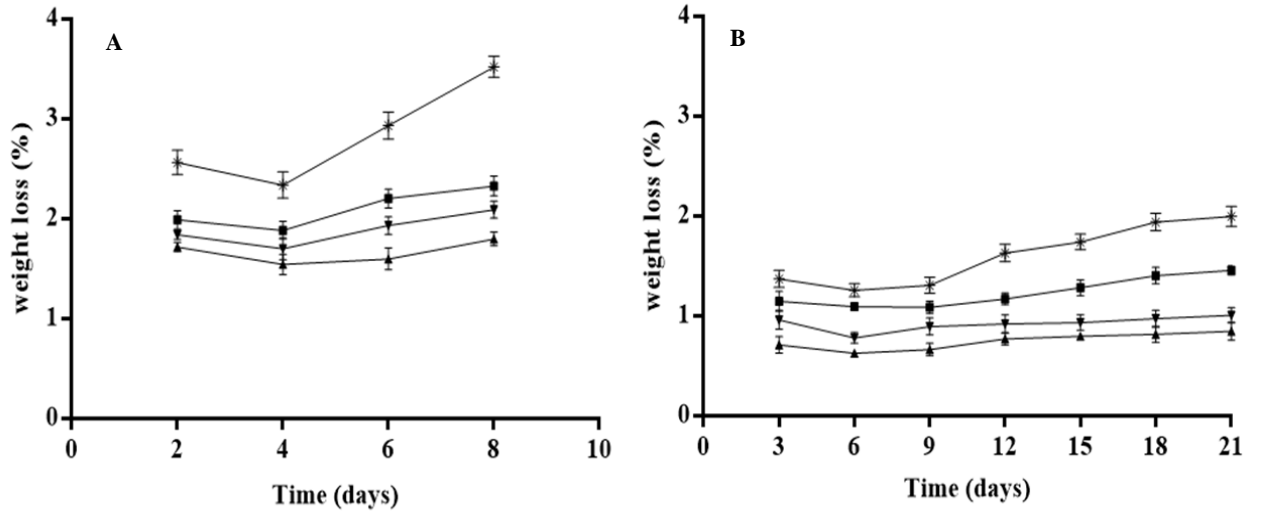


Figure 3.

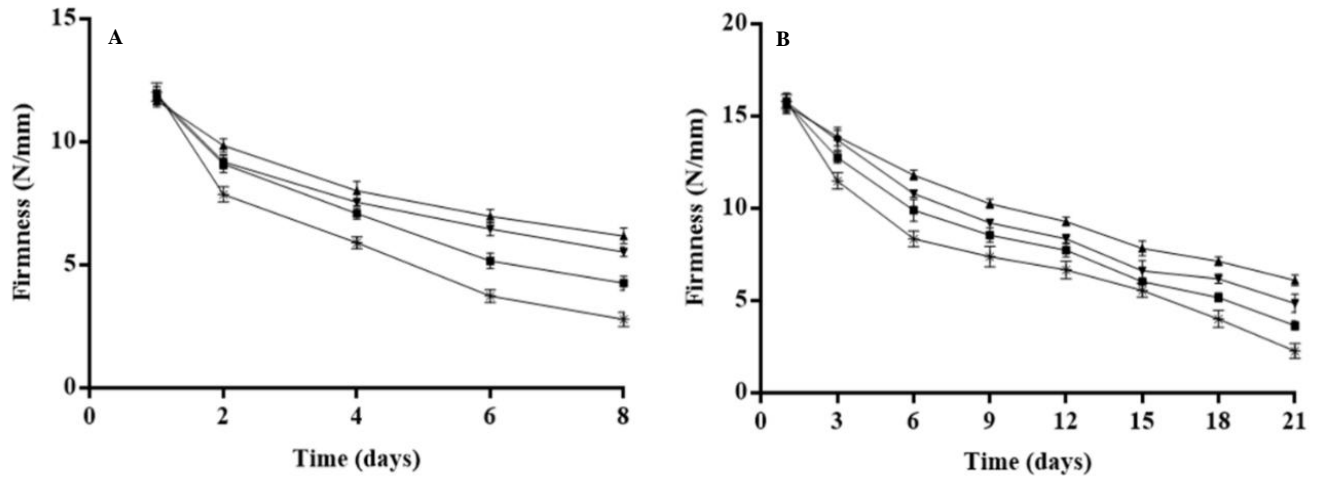


Figure 4.

Figure 5.

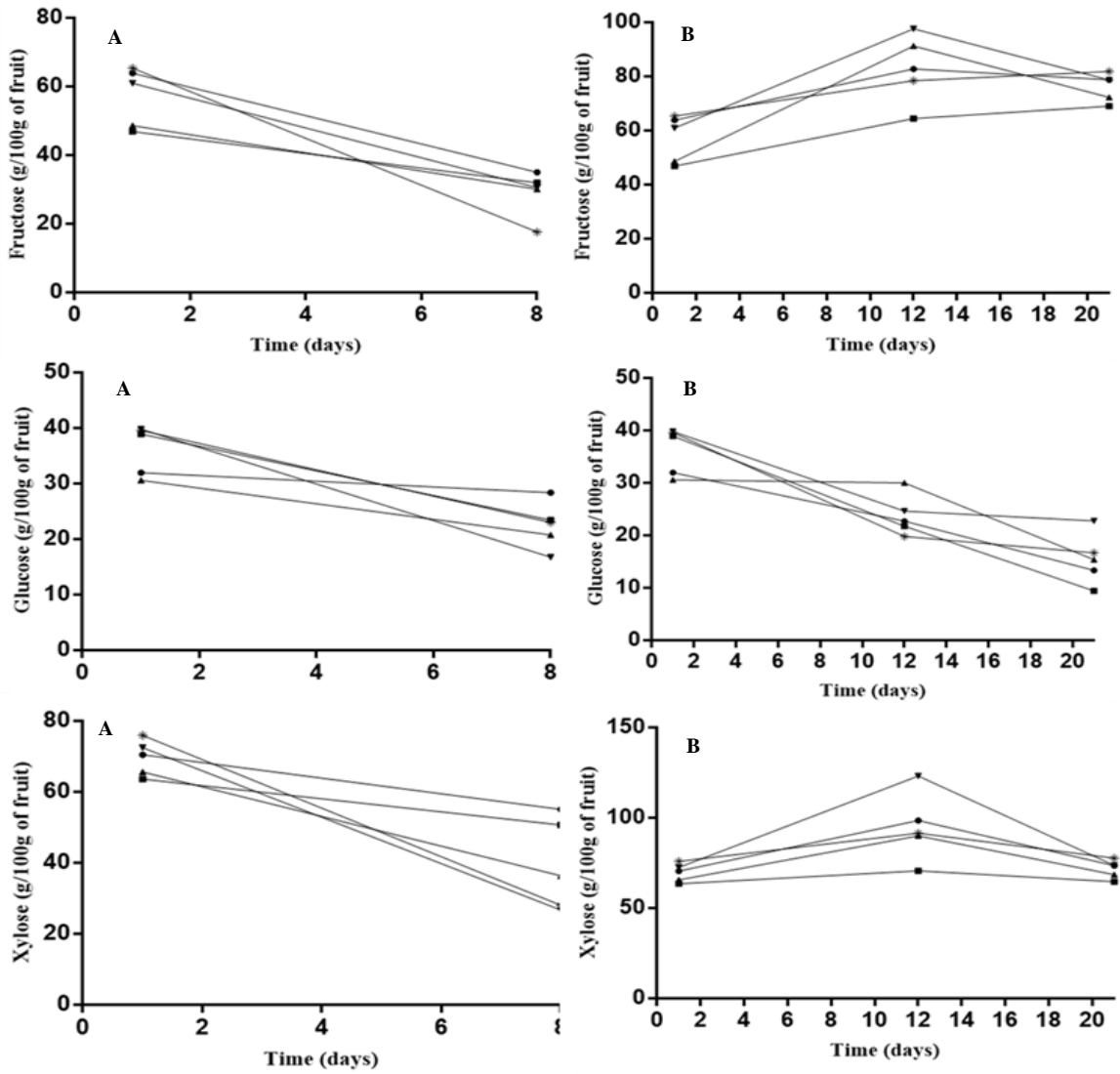
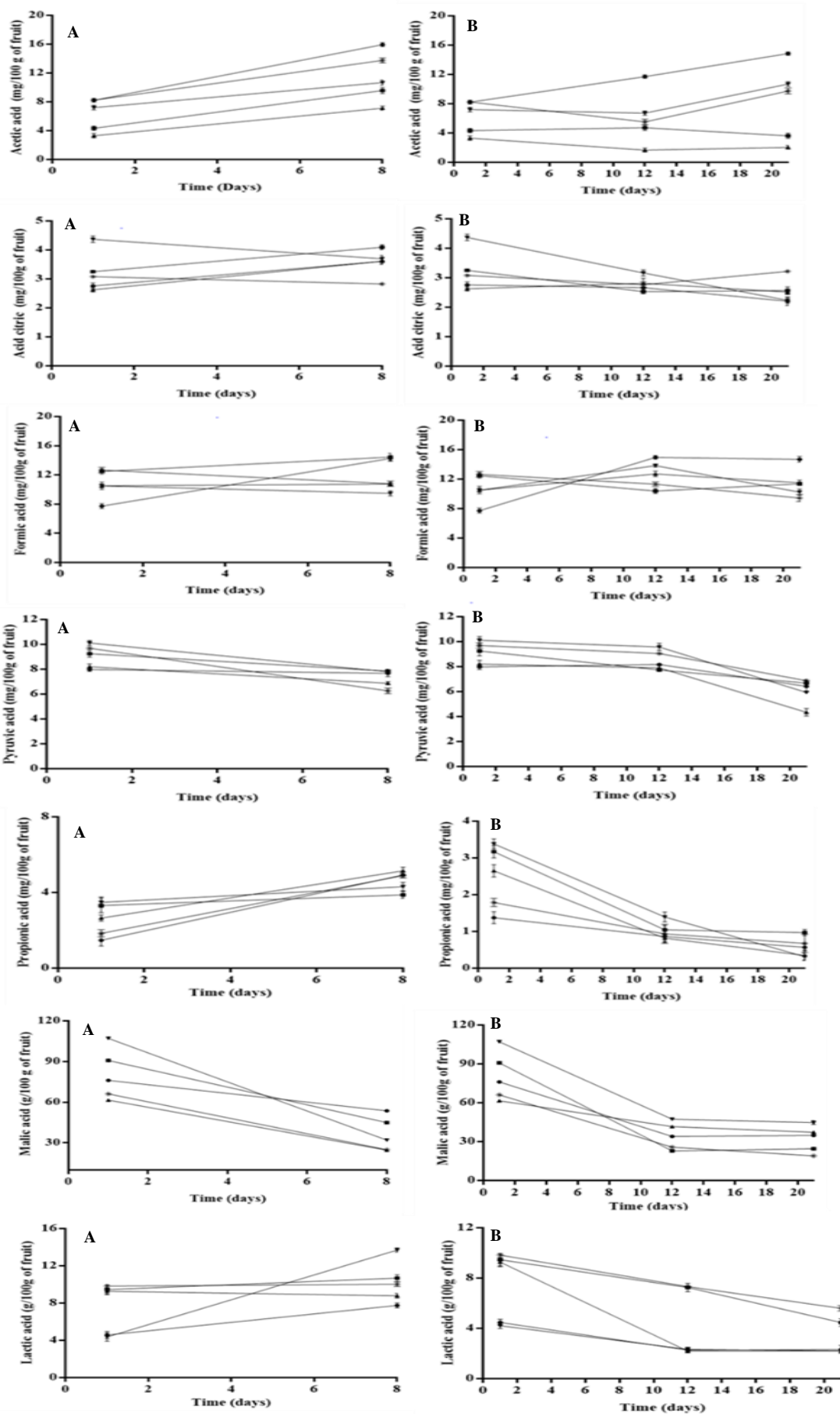


Figure 6.



APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre a utilização de antimicrobianos naturais à base de combinações de óleos essenciais de alecrim e orégano e goma arábica como revestimento comestível de frutos e está sendo desenvolvida por Sonalle Carolina A. de Andrade, aluna do Curso de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Profa. Marciani Magnani.

Os objetivos do estudo são prover informações sobre a utilização combinada de óleos essenciais de alecrim e orégano incorporados no filme comestível de goma arábica.

A finalidade deste trabalho é contribuir para o estudo de um mecanismo alternativo de manutenção da qualidade organoléptica e nutricional de vegetais *in natura* com estabilidade de armazenamento, promovendo desta forma o desenvolvimento sustentável (sem agressão ao meio ambiente) e uma possibilidade de incremento da competitividade do agronegócio nacional com a disponibilidade de produtos que venham ao encontro às emergentes demandas dos consumidores brasileiros e do mercado internacional por alimentos com uma imagem mais natural, porém com a conveniência de apresentarem qualidade, inocuidade, identidade e segurança dos produtos finais.

Solicitamos a sua colaboração para a realização de análise sensorial, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para a sua saúde.

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 dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição.

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

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa
ou Responsável Legal

APÊNDICE B – TESTE DE ACEITAÇÃO E INTENÇÃO DE COMPRA

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

Nome: _____ Idade: _____ e-mail: _____
Fone: _____ Escolaridade: _____ Data: _____

Você está recebendo amostras codificadas de (Ameixas com diferentes combinações de óleo de orégano e de alecrim). Prove-as da esquerda para direita, avalie sensorialmente as amostras de acordo com cada atributo nos quadros e escreva o valor da escala que você considera correspondente à amostra (código) no que diz respeito aos atributos avaliados. Antes de cada avaliação, você deverá fazer uso da água e da bolacha.

- 9 – gostei muitíssimo
- 8 – gostei muito
- 7 – gostei moderadamente
- 6 – gostei ligeiramente
- 5 – nem gostei/nem desgostei
- 4 - desgostei ligeiramente
- 3 – desgostei moderadamente
- 2 – desgostei muito
- 1 – desgostei muitíssimo

ATRIBUTOS	AMOSTRAS (Código)				
Aparência					
Cor					
Aroma					
Sabor					
Sabor residual					
Firmeza					
Avaliação Global					

Agora indique sua atitude ao encontrar estas frutas/vegetais no mercado.

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

ATRIBUTOS	AMOSTRAS (Código)				
Intenção de compra					

Comentários: _____

OBRIGADA!

APÊNDICE C - TESTE DE ORDENAÇÃO-PREFERÊNCIA

Nome: _____

Data: _____

Você está recebendo amostras codificadas de (Ameixas com diferentes combinações de óleo de orégano e de alecrim). Por favor, prove as amostras, da esquerda para direita, e ordene-as em ordem decrescente de preferência geral. Espere 30 segundos antes de consumir a próxima amostra e utilize água entre cada avaliação.

	Mais preferida				Menos preferida
Posto	1º Lugar	2º Lugar	3º Lugar	4º Lugar	5º Lugar
Código					

Comentários: _____

Agora, por favor, responda as seguintes questões:

Qual característica sensorial você **mais apreciou** na amostra mais preferida?

Qual característica sensorial você **não apreciou** na amostra menos preferida?

Comentários: _____

OBRIGADA!