



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

TAINÁ AMARAL BARRETO

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE REVESTIMENTO DE QUITOSANA E ÓLEO
ESSENCIAL DE ORÉGANO NO CONTROLE DA QUALIDADE PÓS-
COLHEITA EM TOMATES CEREJA**

JOÃO PESSOA - PB

2016

TAINÁ AMARAL BARRETO

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE REVESTIMENTO DE QUITOSANA E ÓLEO
ESSENCIAL DE ORÉGANO NO CONTROLE DA QUALIDADE PÓS-
COLHEITA EM TOMATES CEREJA**

JOÃO PESSOA - PB

2016

TAINÁ AMARAL BARRETO

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE REVESTIMENTO DE QUITOSANA E ÓLEO
ESSENCIAL DE ORÉGANO NO CONTROLE DA QUALIDADE PÓS-
COLHEITA EM TOMATES CEREJA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

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

JOÃO PESSOA - PB

2016

B273e Barreto, Tainá Amaral.

Efeitos da aplicação de revestimento de quitosana e óleo essencial de orégano no controle da qualidade pós-colheita em tomates cereja / Tainá Amaral Barreto.- João Pessoa, 2016. 88f.

Orientadora: Marciane Magnani

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT

1. Tecnologia de alimentos. 2. Tomates cerejas (*Lycopersicon esculentum* L). 3. *Aspergillus niger*. 4. *Rhizopus stolonifer*. 5. Revestimentos comestíveis. 6. Qualidade pós-colheita. 7. Deterioração fúngica.

UFPB/BC

CDU: 664(043)

TAINÁ AMARAL BARRETO

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE REVESTIMENTO DE QUITOSANA E ÓLEO
ESSENCIAL DE ORÉGANO NO CONTROLE DA QUALIDADE PÓS-
COLHEITA EM TOMATES CEREJA**

Dissertação _____ em ___/___/2016.

BANCA EXAMINADORA

**Profa. Dra. Marciane Magnani - DEA, CT, UFPB
Orientadora**

**Prof. Dr. Evandro Leite de Souza - DN, CCS, UFPB
Membro Externo**

**Profa. Dra. Graciele da Silva Campelo Borges - DTA, CTDR, UFPB
Membro Interno**

Se você encontrar um caminho sem obstáculos, ele provavelmente não leva a lugar nenhum.

Frank Clark

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre ao meu lado e ser a força que eu preciso para seguir em frente. Por ouvir cada prece minha, e jamais se esquecer de mim. Por toda a paciência e força que me deu para seguir em frente.

Aos meus pais, Magna e Samuel, por sempre estarem ao meu lado me dando força e incentivando. Por todos os sacrifícios que fizeram para que hoje eu pudesse chegar até aqui. Amo-os com todo o meu coração.

Ao meu marido, Danilo, por trilhar junto comigo está carreira acadêmica e por ser meu grande amigo. Por sua atenção, esforço e compreensão a cada dificuldade que encontrei neste projeto. Espero poder compartilhar para sempre minha vida com você.

Aos meus irmãos, cunhados, avós, tios, primos e sobrinhos por sempre torcerem por mim e por serem a base da minha vida. Agradeço por tê-los em minha vida e por poder dividir momentos únicos com cada um de vocês.

A orientadora professora Dr^a. Marciane Magnani, por todo tempo, compreensão e conhecimento dados no decorrer deste mestrado. As suas sugestões e observações foram fundamentais na elaboração desta dissertação.

Aos professores participantes da banca examinadora, pela disponibilidade de participar e pelas contribuições a essa dissertação: Profa. Dra. Graciele da Silva Campelo Borges e o prof. Dr. Evandro Leite de Souza.

À Sonálle, por dividir comigo essa difícil tarefa de trabalhar com fungos. Por todas as horas que estivemos juntas no laboratório, por todas as dúvidas tiradas, por toda força, por ser aquela que sempre sabia do que eu estava falando. Por termos realmente feito uma parceria nessa pesquisa, você mais que ninguém sabe tudo por que passamos para chegar aqui.

A todas que fazem parte do Laboratório de Processos Microbianos do CT, Adma, Whyara, Laênia, Jéssica, Myrella, Geany, Rayssa, Vanessa, sem vocês esse mestrado não seria o mesmo, vocês tornaram esses dois anos mais felizes.

À Lindalva secretária da pós-graduação por toda atenção, ajuda, disponibilidade em ajudar a todos.

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

Há muito mais a quem agradecer... A todos aqueles que, embora não nomeados, me brindaram com seus inestimáveis apoios em distintos momentos, o meu reconhecido e carinhoso muito obrigada!

BARRETO, T.A. **Efeitos da aplicação de revestimento de quitosana e óleo essencial de orégano no controle da qualidade pós-colheita em tomates cereja.** 2016. Orientadora Marciane Magnani

RESUMO

Tomates cereja (*Lycopersicon esculentum* L.) são frutos altamente perecíveis. A contaminação destes frutos com os fungos patogênicos *Aspergillus niger* e *Rhizopus stolonifer* é associada à elevadas perdas pós-colheita e à redução da qualidade durante o armazenamento. Este estudo avaliou a eficácia de um revestimento comestível composto de quitosana (QUI; 4 mg/mL) e óleo essencial de *Origanum vulgare* L. (OEOV; 1.25 µL/mL) na manutenção da qualidade de frutos de tomate cereja durante o armazenamento em temperatura ambiente (25 °C; 12 dias) e refrigerada (12 °C; 24 dias) considerando os aspectos físicos, físico-químicos e sensoriais. A concentração inibitória mínima (CIM) da QUI e do OEOV foram 4 mg/mL e 10 µL/mL, respectivamente, contra *R. stolonifer* e *A. niger*. A incorporação de QUI a 4 mg/mL e OVEO a 5 µL/mL, 2,5 µL/mL e 1,25 µL/mL no meio de crescimento mostrou efeito fungicida e inibiu fortemente a germinação dos esporos, o crescimento micelial e esporulação das cepas teste. O revestimento de QUI-OEOV reduziu a incidência de bolor negro e podridão-mole causada por estes fungos em frutos de tomate cereja artificialmente contaminados durante o armazenamento em ambas as temperaturas estudadas. Frutos revestidos com QUI-OEOV mostraram maior firmeza e menor perda de peso. O revestimento de QUI-OEOV retardou a redução de licopeno, ácido ascórbico e cítrico, glicose e frutose durante o armazenamento em temperatura ambiente ou refrigerada. Ao final do armazenamento, os frutos revestidos com QUI-OEOV apresentaram maiores quantidades de catequina, miricetina, ácido cafeico e ácido siríngico em comparação aos frutos não revestidos. Nos testes sensoriais, os frutos revestidos com QUI-OVEO receberam maiores escores para os atributos aparência, sabor e cor quando comparados aos frutos sem revestimento. Estes resultados indicam que o revestimento comestível de QUI-OEOV é um tratamento viável para manter a qualidade de tomates cereja durante o armazenamento.

Palavras-chave: *Lycopersicon esculentum* L., *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, revestimentos comestíveis, qualidade pós-colheita, deterioração fúngica.

BARRETO, T.A. **Effects of application of coating comprising chitosan and oregano essential oil for controlling postharvest quality in cherry tomato fruit.** 2016. Orientadora Marciane Magnani

ABSTRACT

Cherry tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit are highly perishable. The infection of cherry tomato fruit with the pathogenic fungi *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer* is associated with high postharvest losses and decreased quality during storage. This study evaluated the efficacy of an edible coating comprising chitosan (CHI; 4 mg/mL) and *Origanum vulgare* L. essential oil (OVEO; 1.25 µL/mL) for keeping the quality of cherry tomato fruit during storage at room (25 °C; 12 days) and cold (12 °C; 24 days) temperatures, considering the physical, physicochemical and sensory aspects. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of CHI and OVEO were 4 mg/mL and 10 µL/mL respectively, against *R. stolonifer* and *A. niger*. The incorporation of CHI 4 mg/mL and OVEO 5 µL/mL, 2.5 µL/mL and 1.25 µL/mL in the growth media showed fungicidal effect and strongly inhibited the germination of spores, mycelial growth and sporulation of fungal strains test. CHI-OVEO coating reduced black mold and soft-rot incidence caused by these fungi in artificially contaminated cherry tomato fruit during storage at both temperatures. Fruit coated with CHI-OVEO showed higher firmness and lower weight loss. CHI-OVEO coating delayed the decrease of lycopene, ascorbic and citric acid, glucose and fructose during storage at room or cold temperatures. Fruit coated with CHI-OVEO showed increased amounts of catechin, myricetin, caffeic and syringic acids at the end of storage. CHI-OVEO coating is a feasible treatment for keep the storage quality of cherry tomato fruit. These results indicate that the CHI-OVEO edible coating is a viable treatment for maintaining quality during storage cherry tomatoes.

Keywords: *Lycopersicon esculentum* L., *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, edible coatings, postharvest quality, mold decay.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO

- Figura 1** Changes in sugar concentrations in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or cold temperature (12 °C, 24 days). 81
- Figura 2** Changes in organic acids concentrations in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days). 82
- Figura 3** Changes in organic acids concentrations in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed (A) by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or (B) by storage at cold temperature (12 °C, 24 days). 83

LISTA DE TABELAS

DISSERTAÇÃO

- Tabela 1.** Análise de GC–MS do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. 26

ARTIGO

- Tabela 1.** Occurrence of *Rhizopus* soft rot and *Aspergillus* black mold in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO) followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or low temperature (12 °C, 24 days). 77
- Tabela 2.** Mean values of the physicochemical quality parameters in cherry tomato fruits uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or cold temperature (12 °C, 24 days). 78
- Tabela 3.** Changes (increase or decrease) in phenolic compounds in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or cold temperature (12 °C, 24 days). 80
- Tabela** GC–MS analysis of the essential oil *Origanum vulgare* L. 84
Suplementar 1
- Tabela** Effects of chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO) alone or in combination on *R. stolonifer* URM 3728 and *A. niger* URM 5842 spore germination and sporulation after 24 h-incubation (25 °C). 85
Suplementar 2
- Tabela** Mean values of the color in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or cold temperature (12 °C, 24 days). 86
Suplementar 3
- Tabela** Mean values of the sensory attributes in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or cold temperature (12 °C, 24 days). 88
Suplementar 4

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE TOMATE CEREJA.....	15
2.2 DOENÇAS FUNGICAS EM TOMATES.....	19
2.3 REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS DE QUITOSANA.....	21
2.4 POTENCIAL ANTIFUNGICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	23
2.4.1 Óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i> L.	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3. 1 MATERIAIS.....	25
3.2 CEPAS FUNGICAS.....	26
3.3 MÉTODOS.....	27
3.3.1 Preparo das soluções de QUI e OEOV	27
3.3.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) da QUI e do OEOV	28
3.3.3 Efeitos antifungicos <i>in vitro</i> da QUI e OEOV	28
3.3.4 Aplicação dos revestimentos de QUI e OEOV nos frutos de tomate cereja	30
3.3.5 Análises físico-químicas dos frutos de tomate cereja	30
3.3.6 Determinação de açúcares e ácidos orgânicos dos frutos de tomate cereja	31
3.3.7 Determinação dos compostos fenólicos dos frutos de tomate cereja	32
3.3.8 Análise sensorial	33
3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	34
REFERÊNCIAS	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1 ARTIGO.....	44

1 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é um dos frutos mais consumidos no mundo (FAO, 2016). No Brasil, o tomate é cultivado em praticamente todas as regiões, em sistemas de manejo adaptados as diferentes condições climáticas. Disponível no mercado durante todo o ano, o tomate é reconhecido como a principal fonte de licopeno da dieta humana, além de ser considerado rico em vitamina C e compostos fenólicos (PINHEIRO et al., 2013; FAGUNDES et al., 2015; WU et al., 2016).

Nos últimos anos o consumo do tomate cereja tem aumentado, particularmente, devido seu sabor adocicado e tamanho reduzido, sendo consumido principalmente na forma de *snaks* (SOUZA et al., 2015; D`AQUINO et al., 2016). Entretanto, este tipo de tomate apresenta alta perecibilidade, em parte devido à fragilidade dos seus tecidos e elevada atividade metabólica após a colheita. A principal causa de perdas pós-colheita de tomates cereja deve-se a doenças causadas por fungos patogênicos, que ao atacar os frutos podem causar desde pequenas manchas até a deterioração completa (FAGUNDES et al., 2013).

A contaminação com os fungos patogênicos *Aspergillus niger* Tiegh. e *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. e posterior desenvolvimento de doenças resulta em elevadas perdas na qualidade pós-colheita em frutos de tomate cereja (GUERRA et al., 2015). Os sintomas característicos do bolor negro causado por *A. niger* em tomates cereja são escurecimento e amolecimento no local infectado do fruto, seguido de ruptura da casca e desenvolvimento de micélio negro (PLASCENCIA-JATOMEA et al., 2014). Por outro lado, os sinais da podridão mole causada por *R. stolonifer* são identificados como áreas úmidas cobertas por micélio cinza abundante que apresenta uma massa de esporos negros em suas pontas (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2014).

As perdas pós-colheita causadas por contaminação fúngica em tomates cereja são controladas principalmente com aplicação de fungicidas sintéticos (por exemplo, benzimidazóis, hidrocarbonetos aromáticos e inibidores da biossíntese de esterol) no campo e durante o período de pós-colheita (SOUZA et al., 2015; GUERRA et al., 2015). Estes agentes antifúngicos não prejudicam a aparência ou afetam a qualidade dos frutos tratados (AMIRI et al., 2008), entretanto, seu uso indiscriminado e excessivo durante e pós-cultivo tem sido a principal causa do desenvolvimento de populações

fúngicas resistentes (OLIVEIRA et al., 2014). Além disso, há um aumento da preocupação dos consumidores no que diz respeito à presença de resíduos químicos tóxicos em culturas alimentares (FAO, 2016).

O uso de revestimentos comestíveis com o objetivo de reduzir a contaminação por fungos e alterações das características físico-químicas em vegetais tem sido sugerido como um tratamento pós-colheita (WANG et al., 2009). Os revestimentos comestíveis formam uma barreira semipermeável à troca de água e gases entre o alimento e o ambiente circundante, reduzindo a taxa respiratória e a perda de umidade durante o armazenamento (FAGUNDES et al., 2013).

Revestimentos comestíveis formados por polissacarídeos são considerados uma tecnologia eco sustentável e podem substituir o uso de fungicidas sintéticos aplicados para tratamentos pós-colheita (EL-ANANY et al., 2009; ALI et al., 2011). Diversos estudos relatam os revestimentos à base de QUI como alternativas promissoras para prolongar o período de vida útil de frutos (GUERRA et al., 2015). A quitosana (QUI) é um polissacarídeo reconhecido como um produto não tóxico, biodegradável e possuidor de propriedades antimicrobianas (SANTOS et al., 2012; ELSABEE; ABDU, 2013). A aplicação dos revestimentos de QUI controla o apodrecimento por fungos em frutos, como uvas (OLIVEIRA et al., 2014), tangerinas (SHAO et al., 2015) e morangos (PERDONES et al., 2012). A incorporação de óleos essenciais em revestimentos de QUI pode ampliar os efeitos na qualidade pós-colheita sobre o fruto recoberto. Quando os óleos essenciais são incorporados na matriz de QUI seus constituintes são continuamente liberados ao longo do tempo sobre a superfície do fruto, mantendo uma concentração adequada de componentes antimicrobianos durante o período de armazenamento (GUERRA, et al., 2015; SANTOS et al., 2012).

O OE obtido a partir da espécie *Origanum vulgare* L. (orégano - OEOV), usado principalmente como agente aromatizante em alimentos (LLANA-RUIZ-CABELLO et al., 2015) tem sido citado como eficaz para controlar o crescimento de fungos patogênicos pós-colheita (SOUSA et al., 2013). Estudos anteriores mostraram resultados interessantes quando o OEOV foi incorporado em revestimentos à base de QUI para controlar a deterioração fúngica em uvas (SANTOS et al., 2012; SOUSA et al., 2013). Além disso, foi observado que a aplicação do revestimento de QUI e OEOV, não afeta negativamente alguns aspectos de qualidade dos frutos (SANTOS et al.,

2012). No entanto, a eficácia dos revestimentos de QUI contendo OEOV na preservação da qualidade pós-colheita de tomate cereja ainda não é totalmente conhecida.

Considerando esses aspectos, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos *in vitro* da aplicação de QUI e/ou OEOV frente *A. niger* e *R. stolonifer* bem como a eficácia de um revestimento de QUI contendo OEOV no controle da deterioração fungica e da qualidade pós-colheita de tomates cereja durante o armazenamento a temperatura ambiente e refrigerada.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE TOMATE

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é um dos frutos mais consumidos no Brasil. Atualmente, o Brasil é considerado o oitavo maior produtor mundial de tomates (FAO, 2014). A produção brasileira deste fruto para o consumo *in natura* sofreu grandes transformações tecnológicas ao longo dos últimos 25 anos, incluindo o melhoramento genético, com desenvolvimento de novas cultivares. Cerca de dois terços da produção nacional de tomates são destinados à mesa e um terço para o processamento industrial (SEAGRI, 2010).

Os cultivares de tomate de mesa são divididos em cinco grupos, Santa Cruz, Salada ou Caqui, Saladinha, Saladete ou Italiano e Cereja (ALVARENGA, 2004). Nos últimos anos no Brasil vem se destacando produção do tomate cereja da variedade cerasiforme, uma forma ancestral de tomate, devido ao tamanho e a forma dos frutos (2 a 2,5 cm de diâmetro) serem intermediários entre o tomate selvagem e ao cultivado (FAO, 2014; FILGUEIRA, 2000). A produção comercial de tomates cereja no Brasil teve início nos anos de 1990 e despertou o interesse de muitos agricultores devido a alta produtividade e retorno financeiro (PRECZENHAK, 2013).

Os tomates do tipo cereja podem apresentar forma redonda, periforme ou ovalada, a coloração varia do amarelo ao vermelho, e a massa varia de 5 a 30g. Na maioria das vezes, apresentam frutos biloculares e formam cachos que podem apresentar de 6 a 18 frutos (ALVARENGA, 2004). O tomate cereja apresenta em sua composição baixo teor de massa seca, baixo valor calórico, alto conteúdo de vitamina C e cálcio, sendo também boa fonte de ácido fólico. Além destes nutrientes, contém vitamina E, vitamina K e flavonóides em quantidades consideráveis (GOMES, 2014). A composição química dos frutos sofrem alterações devido a origem genética, período de maturação, época de cultivo e condições endoclimáticas (ROCHA, 2010; ALVARENGA et al., 2004).

O sabor do tomate, independente da variedade, resulta de uma interação complexa entre açúcares, ácidos orgânicos, minerais e componentes do aroma. A fração volátil neste fruto é constituída por mais de 400 substâncias, entre as quais se encontram hidrocarbonetos, éteres, aminas e uma ampla gama de moléculas heterocíclicas (SELLI

et al., 2014). Os açúcares constituem a maioria dos sólidos solúveis nas variedades comerciais de tomate, com valores de 1,5 a 4,0% do peso seco, o que equivale a aproximadamente 65% dos sólidos solúveis totais. Os açúcares livres mais abundantes são a glicose e a frutose, que se encontram em proporções similares (BECKLES, 2012; SELLI et al., 2014).

A coloração do fruto maduro deve-se particularmente a presença de licopeno (vermelho) e β -caroteno (amarelo), a proporção em que estes carotenoides se encontram determina a intensidade de cor dos frutos. A distribuição dos pigmentos é diferente na pele e na polpa e pode ser influenciada pela intensidade e qualidade da luz. (ODRIOZOLA-SERRANO et al., 2009).

Após a colheita, o tomate apresenta-se como um fruto altamente perecível, devido apresentar elevada quantidade de água, por ser um fruto climatérico e possuir casca muito fina, o que o torna extremamente sensível. A perda de água ocasiona perda de massa e danifica a aparência do fruto (FAGUNDES et al., 2015; GUERRA et al., 2015). Estima-se que as perdas pós-colheitas chegam até 21% do total colhido (CHIUMARELLI; FERREIRA, 2006).

Os principais fatores que afetam a qualidade pós-colheita dos frutos incluem o cultivar (BECKLES, 2012), crescimento na pré-colheita, condições de colheita, maturidade do fruto na colheita, manuseio durante a pós-colheita, contaminação fungica e o armazenamento. No período pós-colheita, os frutos são submetidos a modificações físico-químicas e bioquímicas que afetam principalmente a cor, sabor e textura, reduzindo a qualidade do produto (TOOR et al., 2006).

A aceitação do tomate depende de inúmeros fatores, porém frutos que mantêm a firmeza e o turgor são altamente desejáveis porque os consumidores associam esses atributos de textura ao frescor do vegetal *in natura* (MODOLON et al., 2012). A firmeza é um dos aspectos da textura de um fruto, que se relaciona com a força necessária para que o produto atinja uma dada deformação. Nos frutos “verdes”, o material péctico, encontra-se principalmente na forma de protopectina, insolúvel em água, que promove a resistência dos tecidos (PINHEIRO et al., 2013). Ao longo da maturação ocorre redução da cadeia polimérica da pectina, formando uma pectina solúvel em água e com pouca resistência, diminuindo a rigidez do fruto (SAAVEDRA et al., 2016).

A mudança da textura do tomate é um processo complexo onde ocorre além da redução do tamanho e distribuição dos polímeros das paredes celulares, mas também devido à perda de turgor celular, ação de enzimas hidrolíticas e mecanismos não enzimáticos como a perda excessiva de água pela transpiração (ALI et al., 2010; FAGUNDES et al., 2015). Esse amolecimento ocorre em razão da diminuição das forças coesivas que mantêm as células unidas decorrentes da decomposição da protopectina pela ação das enzimas poligalacturonase e pectinametilesterase (KHALIQ et al., 2015; GUERRA et al., 2015).

A perda de água pode ser uma das principais causas de deterioração de vegetais, já que resulta em perdas quantitativas, na aparência (murchamento), na textura (amolecimento) e conseqüentemente na qualidade nutricional. O processo de respiração está associado ao da transpiração, principal fator responsável pela perda de peso de vegetais. Estes dois processos são considerados vitais para as frutas e hortaliças (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A perda de peso, associada diretamente a perda de água, é prejudicial principalmente nos casos em que é suficientemente alta para afetar a aparência e a aceitabilidade do produto. Os produtos perecíveis, mesmo quando colocados em condições ideais, sofrem alguma perda de peso durante o armazenamento devido ao efeito combinado da respiração e da transpiração (FAGUNDES et al., 2015; GUERRA et al., 2015; KHALIQ et al., 2015; SOUZA et al., 2015; SAAVEDRA et al., 2016).

A mudança de cor ocorre durante a maturação dos tomates, e compõe um dos critérios mais importantes utilizado pelo consumidor para julgar sua maturidade. A mudança mais comum consiste no desaparecimento da cor verde pela degradação da clorofila, seguido do aparecimento de várias cores que variam do amarelo ao vermelho (BARRETO et al., 2014). Essas alterações na coloração do produto são freqüentemente acompanhadas de mudanças indesejáveis na aparência e nas propriedades sensoriais do produto, ocasionando a diminuição da vida de prateleira e do valor de mercado. Para tomates maduros, as características desejadas de coloração do fruto, são a cor vermelha intensa e uniforme, em ambas porções externa e interna (STINCO et al., 2013; FAGUNDES et al., 2015).

De acordo com Chitarra e Chitarra (2006), os sólidos solúveis correspondem principalmente aos açúcares, minerais e as pectinas, os quais se encontram em solução

no vacúolo. Sendo compostos principalmente por açúcares, representam indiretamente o teor destes compostos no produto. Grande parte dos sólidos solúveis totais em tomate é composta por açúcares (glicose e frutose) formados a partir da hidrólise do amido, os quais constituem importantes componentes do sabor e doçura dos frutos por meio do equilíbrio com os ácidos orgânicos. O teor de açúcares usualmente aumenta com o amadurecimento dos frutos através dos processos bioquímicos de degradação de polissacarídeos. (BECKLES, 2012; D'AQUINO et al., 2016). Esse aumento varia com a taxa de respiração do fruto, já que os polissacarídeos são substratos utilizados no processo respiratório (ALI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2014; SOUZA et al., 2015).

A acidez titulável é o conjunto de compostos ácidos livres presentes nos tecidos vegetais. A acidez total em frutos pode estar relacionada a adstringência do tomate (GIORDANO; SILVA, 2000; CHITARRA; CHITARRA, 2006). É um parâmetro de grande importância para o sabor e aroma dos frutos e é atribuída, principalmente, aos ácidos orgânicos dissolvidos nas células, tanto na forma livre como combinada. Alguns desses ácidos são voláteis por isso que se espera uma redução da acidez no valor no período de pós-colheita do tomate. O consumo de ácidos orgânicos no processo respiratório é o principal responsável pela diminuição de acidez e o aumento de pH (WU et al., 2016). A acidez pode ser utilizada, em conjunto com a doçura, como ponto de referência do grau de maturação (BECKLES, 2012; SAAVEDRA et al., 2016). Essa relação tende a aumentar durante o amadurecimento, devido ao aumento dos teores de açúcar e a diminuição dos ácidos. Sendo assim, todos os fatores, sejam eles ambientais ou fisiológicos, que interferem no metabolismo dos açúcares e ácidos, estarão interferindo na relação sólidos solúveis/acidez titulável e, conseqüentemente no sabor do tomate (OEY et al., 2008; PONCE-VALADEZ et al., 2016).

Os tomates são fonte dietética de compostos fenólicos, particularmente de flavonóides (SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ et al., 2012). Estes compostos tem se destacado devido ao seu potencial antioxidante, que varia de acordo com a estrutura química apresentada. Segundo Gahler, Otto e Bohm (2003), a distribuição dos compostos fenólicos varia nas diferentes partes do fruto do tomate, sendo que a parte externa apresenta maiores teores de fenólicos, quando comparada à parte interna. Ainda, os compostos fenólicos também estão relacionados às características sensoriais, tais como adstringência, amargor e aroma do tomate (SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ et al., 2012).

2.2 DOENÇAS FÚNGICAS EM TOMATES

De maneira geral, os frutos devido ao seu baixo pH, elevado teor de umidade e composição de nutrientes, são muito susceptíveis à ação de patógenos fúngicos, os quais em adição a sua ação deteriorante, podem tornar os produtos impróprios para o consumo devido à produção de micotoxinas (LIU et al., 2007; VU et al., 2011). Os fungos apresentam uma grande versatilidade para crescerem em substratos e em condições que outros micro-organismos não são capazes de se reproduzir, tais como: atividade de água (Aw) reduzida (0,65 até 0,99); pH reduzido; ampla faixa de temperatura (< 0 °C a 40 °C); Ainda os fungos podem utilizar grande versatilidade de substrato, como fonte de carbono e nitrogênio e possuem capacidade de esporulação (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Consideráveis perdas pós-colheita, com conseqüente diminuição da qualidade de mercado dos frutos, são causadas em decorrência da ação de fungos fitopatógenos. A presença de fungos e seus metabólitos está entre as principais causas biológicas primárias de perdas de produtos perecíveis de origem vegetal, como o tomate (BERGER et al., 2011). A deterioração microbiana varia amplamente de acordo com o tipo de fruto, área de produção e aspectos sazonais, e embora seja difícil determinar a total magnitude das perdas pós-colheita devido a este tipo de deterioração, sabe-se que até 25% da produção mundial de frutos está sujeita ao ataque de micro-organismos em países industrializados, enquanto que em países em desenvolvimento este dano é frequentemente mais elevado, podendo atingir até 50% da produção (SPADARO; GULLINO, 2004; SOUZA et al., 2015).

Em tomates cereja as principais doenças pós-colheita são ocasionadas por fungos patogênicos, particularmente *Aspergillus niger* e *Rhizopus stolonifer*, que causam o bolor negro e a podridão-mole, respectivamente. Estes fungos estão entre os patógenos mais comumente responsáveis pela deterioração pós-colheita em frutos de tomate em todo o mundo (GUERRA et al., 2015; FAGUNDES et al, 2014; WANG et al, 2010; LIU et al, 2007).

O gênero *Aspergillus* pertence a família *Trichocomaceae*, da ordem *Eurotiales* e filo *Ascomycota*. Este gênero apresenta mais de 185 espécies de fungos filamentosos encontradas nos mais diversos habitats, que constituem um grupo de micro-organismos

aeróbios fisiologicamente diversos (ELIZEI, 2009). A espécie *A. niger* da classe dos fungos mitosporicos, possui coloração negra (*niger*: preto em latim) e abriga uma grande variedade de subespécies. Em meio favorável, esporos de *A. niger* deixam seu estado de dormência e passam para a etapa de germinação, que consiste em um conjunto de fenômenos morfológicos e metabólicos, permitindo o desenvolvimento de hifas que formam o micélio, usualmente observado sobre frutos e vegetais infectados (TIAN et al., 2015). Em tomates, o bolor negro causado por *A. niger* caracteriza-se pelo amolecimento do local infectado, seguido pelo desenvolvimento do mofo escuro que corresponde às estruturas de frutificação dos fungos (LICHTER et al., 2002; TIAN et al., 2015).

O gênero *Rhizopus* pertence a família *Mucoraceae*, da ordem *Mucorales* e filo *Zygomycota*. Considerado um fungo polífago, devido a variedade de matrizes que pode colonizar, *R. stolonifer* causa a podridão mole pós-colheita em inúmeros vegetais e frutos (AGRIOS, 2005). O fungo produz rizóides amarelos ou marrom-claros, os quais ficam submersos em substrato e a partir dos quais se desenvolvem hifas aéreas, os estalões, que ao tocar o substrato formam novos rizóides (MASSOLA JÚNIOR; KRUGNER, 2011). *R. stolonifer* causa sérias perdas na pós-colheita de tomate, pois cresce rapidamente produzindo micélio branco haplóide, que se torna, com o tempo, de coloração marrom-acinzentada, com hifas asseptadas ou raramente septadas (MASSOLA JÚNIOR; KRUGNER, 2011).

R. stolonifer tem grande capacidade saprofítica, e após a penetração, rapidamente coloniza o fruto, causando uma podridão-mole e aquosa, geralmente não incidindo em frutos imaturos, e raramente vista no campo (CARVALHO et al., 2009). As infecções em frutos caracterizam-se por zonas amolecidas, rapidamente cobertas por um micélio grosso formando uma massa de esporângios pretos em suas pontas (BAUTISTA-BAÑOS, MOLINA e BARRERA NECHA, 2014).

Antifúngicos sintéticos pertencentes ao grupo de benzimidazoles, hidrocarbonetos aromáticos e inibidores da biossíntese do esterol tem sido freqüentemente utilizados como tratamento para evitar a deterioração fúngica em tomates. Entretanto, relatos de carcinogenicidade, teratogenicidade, toxicidade aguda, longo período de degradação, poluição ambiental, influência sobre os caracteres sensoriais dos alimentos, e efeitos colaterais em humanos têm restringido o uso de

fungicidas químicos no controle da deterioração pós-colheita (UNNIKRISHNAN; NATH, 2002; GUERRA et al., 2016). Ainda, devido ao surgimento de cepas de fungos fitopatógenos resistentes a estes agentes, muitos dos compostos fungitóxicos sintéticos amplamente empregados estão tornando-se gradualmente menos efetivos (OLIVEIRA et al., 2014).

Neste contexto, o uso revestimentos comestíveis a base de polissacarídeos adicionados de substâncias naturais com propriedades antifúngicas têm sido relatados como uma alternativa promissora em substituição a fungicidas sintéticos na prevenção de doenças fungicas pós-colheita de vegetais, a citar própolis, óleos essenciais (GUERRA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2014; SUN et al., 2014; SOUSA et al., 2013; LATHA et al., 2009; MAGRO et al., 2006).

2.3 REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS DE QUITOSANA

Os revestimentos comestíveis podem ser definidos como uma fina camada contínua formada ou depositada no alimento, preparada a partir de polímeros que agem como barreira a fatores externos (umidade, óleo e gases) e, conseqüentemente, protegem o alimento, aumentando a sua vida útil. As coberturas comestíveis podem ser obtidas de diferentes tipos de materiais, sendo mais utilizados os polissacarídeos, tais como goma arábica, amido e quitosana (ELSABEE; ABDU, 2013).

A quitosana é um heteropolímero natural, composto por unidades β -1,4 D-glucosamina ligadas a resíduos de N-acetilglucosamina. Apresenta baixa toxicidade, e é inerte no trato gastrointestinal de mamíferos. Além disso, é biodegradável, devido à ampla distribuição de quitinases na natureza, que são encontradas em bactérias, fungos, plantas e no sistema digestivo de muitos animais. A quitosana é comercialmente obtida da N-deacetilação da quitina (β -1,4 N-acetilglucosamina) encontrada no exoesqueleto de crustáceos, insetos e parede celular de fungos (OLIVEIRA et al., 2014).

Dentre as características que distinguem a quitosana e seus derivados dos demais polissacarídeos, destaca-se a sua potencialidade antifúngica. O mecanismo de ação antimicrobiana da quitosana não está completamente elucidado, porém diversas hipóteses têm emergido. Alguns pesquisadores correlacionam a atividade da quitosana à formação de complexos polieletrólíticos, uma vez que seus grupos amínicos protonados,

provavelmente, se ligam à superfície celular, interferindo na atividade celular e na permeabilidade da membrana, causando perda de componentes intracelulares, sem a formação de poros (AVADI et al., 2004; YADAV; BHISE, 2004; KONG et al., 2010). Além disso, pode haver o comprometimento da geração de energia pela desestabilização celular da cadeia transportadora de elétrons, interferindo no aporte adequado de oxigênio, forçando as células a produzirem energia anaeróbica, desencadeando a disfunção do aparelho celular (KONG et al., 2010). Outra ação seria a penetração da quitosana em células vivas, levando à inibição de várias enzimas e interferindo na síntese de RNA e de proteínas (RABEA et al., 2003; ZHENG; ZHU, 2003). Ou ainda, formação de camada impermeável ao redor da célula, bloqueando o transporte intracelular (EATON et al., 2008).

Como revestimento de vegetais, a quitosana pode apresentar dupla função na interação patógeno-hospedeiro, podendo apresentar atividade antifúngica como retardar o crescimento micelial, diminuir a germinação de conídios e acarretar em alterações morfológicas no tubo germinativo de algumas espécies de fitopatógenos (LIU et al., 2007). Ainda, a quitosana pode induzir a ativação de mecanismos bioquímicos de defesa do vegetal, como o aumento na produção de compostos fenólicos e a diminuição da ação de enzimas, como a polifenoloxidase (BADAWI e RABEA, 2009).

A quitosana não altera as propriedades sensoriais dos produtos devido ao fato de apresentar-se como um composto inodoro, insípido e capaz de formar um filme translúcido quando aplicado sobre a superfície de alimentos (CAMPANA-FILHO et al., 2007; SHAO et al., 2015). Estudos realizados utilizando-se a quitosana como revestimento em frutos, em diferentes concentrações, mostram resultados satisfatórios tanto em relação ao potencial antifúngico, como também como agente de manutenção da qualidade pós-colheita de vegetais revestidos. Em estudos com tomate e tomate-cereja os autores, Muñoz e Garcés (2009); Badawi e Rabea (2009); Chen et al. (2014) e Souza et al. (2015) avaliaram o potencial antifúngico da quitosana frente aos fungos *Colletotrichum gloesporioides*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* e *A. flavus*, respectivamente, e concluíram que o revestimento de quitosana inibiu o crescimento micelial, a germinação de esporos e/ou a alongação do tubo germinativo dos espécimes fúngicos estudados.

2.4 POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de compostos voláteis produzidos em diferentes partes (folhas, caule, frutos, folhas e flores) de plantas aromáticas, sendo estocados em células secretórias, cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares (BURT, 2004). Estes compostos têm grande importância para os vegetais, promovendo resistência a doenças e ação de microrganismos fitopatogênicos, além de atuarem como inibidores de germinação, na atração de polinizadores, além de inibirem a perda de água e aumento da temperatura (FENG; ZHENG, 2007). A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais depende da sua composição química e suas atividades biológicas são frequentemente atribuídas aos seus componentes majoritários (TEIXEIRA et al., 2012; AIT-OUAZZOU et al., 2012). Alguns autores, no entanto, referem que a atividade antimicrobiana se deve ao equilíbrio entre os constituintes majoritários e os demais constituintes que aparecem em menor proporção (AIT-OUAZZOU et al., 2012; RIAHI et al., 2013).

Os OEs são hidrofóbicos e o seu sítio de ação principal é a membrana celular da célula microbiana. Estas substâncias 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).

De modo geral, a ação dos OEs sobre os fungos compreende coagulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática, inibição das enzimas fungicas, 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 lipofílicos como OEs são absorvidos pelos fungos, pois o micélio fúngico apresenta larga natureza lipofílica, associado à grande área superficial relativa em comparação ao volume do fungo (REGNIER et al., 2008; SANTOS, 2012). O mecanismo subjacente à ação antifúngica de OEs serve como interruptor entre a fase vegetativa e reprodutiva do desenvolvimento fúngico. Os compostos presentes nos OEs

impactam a 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.

2.4.1 Óleo essencial de *Origanum vulgare* L.

O gênero *Origanum* pertence à família Lamiaceae, que é composta por 3 grupos, 10 secções, 38 espécies, 6 subespécies e 17 híbridos, sendo caracterizada por uma larga diversidade morfológica e química. As diferentes espécies são largamente empregadas e têm diferentes nomenclaturas, sendo os mais conhecidos o orégano grego (*Origanum vulgare* L.), orégano turco (*Origanum onites* L.), orégano espanhol (*Coridothymus capitatus* L.) e o orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK) (KOKKINI et al., 1994; ARCILA-LOZANO et al., 2004).

O óleo essencial de *O. vulgare* (orégano) é amplamente utilizado como flavorizante em alimentos. Este composto apresenta em torno de 34 constituintes ativos, sendo que a soma dos fenóis como carvacrol, timol, *gama*-terpeno e *p*-cimeno podem alcançar entre 80,2% a 98% da composição total do óleo (BAMPIDIS et al., 2005). As concentrações dos constituintes majoritários têm influência na sua atividade antimicrobiana, entretanto os constituintes secundários (linalol, α -terpenol, etc) dessa espécie tem demonstrado significativa relevância, visto que a eficiência dos constituintes majoritários carvacrol e timol isolados, não atingem a mesma eficiência do óleo essencial (ARCILA-LOZANO et al., 2004). A concentração e a eficácia dos constituintes do óleo essencial de orégano podem variar de acordo com a parte da planta utilizada, espécie da planta e condições de cultivo (BAMPIDIS et al., 2005).

O óleo essencial de orégano possui atividade antifúngica frente a diferentes espécies de fungos filamentosos. Muitos estudos tem demonstrado a significativa capacidade do óleo de orégano de inibir o crescimento de fungos patogênicos pós-colheita como *A. niger*, *R. stolonifer* e *A. flavus* (SANTOS et al., 2012; SOUSA et al.,

2013; OLIVEIRA et al., 2014; SOUZA et al., 2015). Além de inibir o crescimento estes estudos demonstram o retardo do crescimento micelial e da germinação.

A aplicação do óleo essencial de orégano como agente conservante em sistemas alimentares tem sido sugerida, não só devido a sua efetividade, como também porque este óleo não demonstrou capacidade de induzir tolerância direta e cruzada em micro-organismos contaminantes de alimentos (LUZ et al., 2014). Considerando a potencialidade do óleo essencial de orégano como agente antifúngico, sua aplicação em revestimentos comestíveis para controle da infecção fúngica pós-colheita pode ser uma alternativa promissora.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

A quitosana (QUI) de médio peso molecular (grau de deacetilação 75 – 85%, lote 03318AJ) utilizada nos ensaios foi adquirida da Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, EUA). O óleo essencial de *Origanum vulgare* (OEOV) (Lote OREORG01, densidade a 20°C: 0,90; índice de refração a 20°C: 1,47) foi obtido da Empresa Aromalândia Ind. Com. Ltda. (Minas Gerais, Brasil). Os componentes individuais de OEOV foram identificados através de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massa - GC-MS (CGMS-QP2010 Ultra Shimadzu), conforme análise realizada anteriormente (TARGINO et al., 2016) e permitiu a identificação de 22 constituintes individuais. Os constituintes presentes em maiores quantidades no OEOV foram carvacrol (64,42%), σ -cimol (12,50%) and γ -terpineno (6,78%). Outros constituintes, como timol (3,82%), linalol (2,85%) and α -pineno (1,69%) foram encontrados em menores quantidades (**Tablela 1**).

Tomates cereja (*Lycopersicon esculentum* L.) comercialmente maduros foram obtidos na EMPASA (Empresa Paraibana de Abastecimento e Serviços, João Pessoa, Brasil). Os frutos foram adquiridos sem sinais visíveis de danos mecânicos ou infecção fúngica, sendo selecionados e padronizados de acordo com o tamanho, cor, aparência e forma. Antes dos ensaios, os tomates cereja foram lavados e higienizados 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 enxaguados em água destilada esterilizada e secos durante 2 h em uma cabine de fluxo laminar previamente esterilizada (SOUSA et al., 2013).

Tabela 1. Análise GC–MS do óleo essencial de *Origanum vulgare* L.

Picos	Constituintes	Area (%) [*]
1	2-hexanona	0,04
2	2- hexanona, 3,3-dimetil	0,57
3	etanona 1-(3-etiloxiranyl)	0,42
4	α -tujeno	0,36
5	α - pineno	1,69
6	biciclo[2.2.1]heptano, 2,2 dimetil-3-metil	0,57
7	3-hexen-2-one	0,29
8	β -pineno	0,69
9	Mirceno	1,15
10	Pseudolimoneno	0,12
11	α -terpineno	0,93
12	σ -cimol	12,50
13	Limoneno	0,11
14	Eucaliptol	0,30
15	γ -terpineno	6,78
16	Linalol	2,85
17	Timolmetileter	0,17
18	Anetol	0,60
19	Timol	3,82
20	Carvacrol	64,42
21	cariofileno (E)	1,23
22	óxido de cariofileno	0,39

*A quantificação dos constituintes foi obtida após normalizar as áreas de cada constituinte detectado, expresso como uma área percentual.

3.2 CEPAS FUNGICAS

As cepas de *R. stolonifer* URM 3728 e *A. niger* URM5162 foram obtidas a partir da coleção de culturas da Micoteca da Universidade de Recife (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 quantificado utilizando 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 (OLIVEIRA et al., 2014).

Antes dos ensaios, foi verificada a capacidade de crescimento de infecção por bolor negro ou podridão mole em frutos de tomate cereja de cada cepa fungica utilizada no ensaio. Após o desenvolvimento do bolor negro e da podridão mole, as cepas fúngicas foram re-isoladas e identificadas com chaves taxonômicas. Contínuas re-inoculações e re-isolamento foram realizados em tomates cereja para manter a patogenicidade das cepas fungicas teste (GUERRA et al., 2015; PLASCENCIA-JATOMEA et al., 2014).

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Preparo das soluções de QUI e OEOV

As soluções de QUI foram obtidas por dissolução do polímero (16 mg/mL) em ácido acético (1 mL/100 mL) durante 24 h à temperatura ambiente com agitação (120 rpm) (SÁNCHEZ-GONZÁLES et al., 2011). Diluições sucessivas (1:1) foram realizadas em caldo Sabouraud para obter soluções de diferentes concentrações (16, 8, 4, 2 e 1 mg/mL). Para assegurar que a atividade antifungica foi devido a QUI e não ao ácido acético, o pH de todas as soluções de QUI para o ensaio foram ajustadas para 5.0 adicionando NaOH 1 M. Soluções de OEOV foram obtidas por dissolução da substância (80 µL/mL) contendo Tween 80 [2%, v/v (Himedia, India)] como agente estabilizante (SANTOS et al., 2012; SOUSA et al., 2013) com diluições sucessivas (1:1) no mesmo caldo até se obter soluções de diferentes concentrações (20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,06 µL/mL). Tween 80 na sua concentração final mais elevada, após diluição em caldo Sabouraud (2%, v/v), não causou inibição do crescimento fungico. Para a aplicação combinada de QUI e OEOV, a QUI (4 mg/mL) foi inicialmente diluída em ácido acético (1 mL/100 mL), com agitação constante (120 rpm) durante 6 h à temperatura

ambiente. Em seguida, diferentes concentrações de OEOV foram adicionadas (5, 2,5, 1,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$), e a mistura foi agitada durante um período adicional de 18 h à temperatura ambiente. Para ensaiar a aplicação da solução formada pela combinação de QUI como revestimento, foi adicionado glicerol (2 mL/100 mL) como um plastificante devido ao óleo essencial ser incorporado na solução de revestimento (OJAGH et al., 2010).

3.3.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) da QUI e do OEOV

Os valores CIM da QUI e OEOV contra *A. niger* e *R. stolonifer* 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 de QUI (16 – 1 mg/mL) ou (20 – 0,03 $\mu\text{L}/\text{mL}$) de OEOV foram adicionados. A mistura foi incubada a 25 °C durante 7 dias, e ao término do período de incubação, a menor concentração de QUI ou OEOV (diluição mais elevada) que não exibiu crescimento fúngico visível foi considerado a CIM (SANTOS et al., 2012).

3.3.3 Efeitos antifúngicos *in vitro* da QUI e OEOV

Os efeitos antifúngicos *in vitro* da QUI e do OEOV foram mensurados pela inibição do crescimento micelial radial, da germinação de esporos e da esporulação das cepas fúngicas teste. A inibição do crescimento micelial radial de *A. niger* e *R. stolonifer* foi determinada usando a técnica de substrato envenenado (diluição em meio sólido). Para tanto, discos de 2 cm de diâmetro foram retirados a partir de uma cultura fúngica de 7 dias, cultivada em ágar Sabouraud a 28 °C, e colocados no centro de placas de Petri contendo Sabouraud suplementado com apenas QUI (4 mg/mL) ou OEOV (1,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$) ou QUI (4 mg/mL) combinado com OEOV (5, 2,5 and 1,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$) 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, cepas fúngicas cultivadas em

meio de crescimento sem QUI ou OEOV foram igualmente testadas. Os resultados foram expressos como inibição da taxa de crescimento micelial radial (cm) em relação ao controle (OLIVEIRA et al., 2014).

Para avaliar os efeitos sobre a germinação de esporos, alíquotas de 0,1 ml de suspensão esporica de *A. niger* ou *R. stolonifer* (aproximadamente 10^6 esporos/ml) obtida a partir de uma cultura de 7 dias, cultivadas em ágar Sabouraud a 25 °C foram colocados em tubos Eppendorf contendo 0,1 mL de dispersão contendo QUI (4 mg/mL) ou OEOV (1,25µL/mL) ou QUI (4 mg/mL) combinada com OEOV (5, 2,5 and 1,25 µL/mL). Subsequentemente, 0,1 mL das misturas foram colocadas 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 QUI e OEOV 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 QUI e ou OEOV com a do ensaio de controle. Os esporos (conídios) foram considerados germinados quando o tubo de germinação desenvolvido era pelo menos duas vezes o seu diâmetro original (GUERRA et al., 2015).

A produção de esporos por *A. niger* e *R. stolonifer* foi avaliada de acordo com procedimentos descritos 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 apenas com QUI (4 mg/mL) ou OEOV (1,25 µL/mL) ou QUI (4 mg/mL) combinada com OEOV (5, 2,5 and 1,25 µL/mL). A partir de cada placa de Petri contendo o micélio, três discos de 2 cm foram retirados em diferentes regiões do 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 QUI e OEOV foi analisado de forma semelhante. Os

resultados foram expressos como número total de esporos em relação ao tratamento controle.

3.3.4 Aplicação dos revestimentos de QUI e OEOV nos frutos de tomate de cereja

Os tomates cereja foram primeiramente imersos em 500 mL da solução de inóculo (aproximadamente 10^6 esporos/mL) fúngico 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 esterilizada por 1 h (25 °C). Subsequentemente, os frutos foram imersos em 500 mL de solução de revestimento formado apenas de QUI (4 mg/mL) ou OEOV (1,25 µg/mL) ou CHI (4 mg/mL) combinada com OEOV (1,25 µg/mL) 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 frutos foi armazenado à temperatura ambiente (25 °C), enquanto o outro grupo foi armazenado a temperatura refrigerada (12 °C) comumente aplicada durante o transporte e o armazenamento no mercado em frutos de tomate cereja (LI et al., 2016). Além disso, um experimento controle foi realizado, no qual a QUI e ou o OEOV foram substituídos por água destilada estéril contendo glicerol (2 g/100 mL). Cada tratamento incluiu 40 frutos. Em intervalos de tempo de armazenamento diferentes (temperatura ambiente 1, 4, 8 e 12 dias; temperatura refrigerada 1, 6, 12, 18 e 24 dias), os frutos foram examinados para avaliar a presença de sinais característicos de podridão mole ou bolor negro (FENG; ZENG, 2007; LIU et al., 2007). Os resultados foram expressos como percentual de aparecimento de sinais visíveis de podridão mole ou bolor negro e de frutos podres (incidência da doença) no final do tempo de armazenamento avaliado (GUERRA et al., 2015).

3.3.5 Análises físico-químicas dos frutos de tomate cereja

Os tomates cereja revestidos e não revestidos foram avaliados quanto à perda de peso e parâmetros de qualidade gerais, tais como firmeza, sólidos solúveis totais (SST),

acidez titulável (AT), conteúdo de licopeno e cor nos mesmos períodos de armazenamento avaliados para infecção fúngica. Para determinar a perda de peso dos frutos durante o período de estocagem, a perda de peso em cada período avaliado foi calculada como porcentagem do peso inicial (OLIVEIRA et al., 2014). 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). Antes das análises de SST, AT e licopeno, oito frutos de cada grupo foram escolhidos aleatoriamente, macerados e homogeneizados para posterior uso nos diferentes ensaios. O teor de SST foi determinado usando um refratômetro digital (Modelo HI 96801, Hanna Instruments, São Paulo, Brasil), e os resultados foram expressos em ° Brix (ALI et al., 2010). A AT foi determinada por meio de titulação com NaOH 0,1 N até o ponto de viragem da fenolftaleína, os resultados são expressos como porcentagem de ácido cítrico (AQUINO et al., 2015). A cor da pele foi medida em três diferentes posições equatoriais do fruto 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 (GUERRA et al., 2015). O licopeno foi extraído utilizando uma mistura de hexano: acetona: etanol (2: 1: 1). O teor de licopeno dos frutos de tomate cereja foi medido por meio do uso de espectrofotômetro a 472 nm utilizando um coeficiente de extinção (E%) de 3450. Os resultados foram expressos em mg/100 g de fruta (LI et al., 2016).

3.3.6 Determinação de açúcares e ácidos orgânicos dos frutos de tomate cereja

Açúcares e ácidos orgânicos foram determinados no 1° e 12° dias de armazenamento à temperatura ambiente e no 1°, 12° e 24° dias de armazenamento à temperatura refrigerada. Dos frutos macerados obtidos para as análises físico-químicas uma alíquota de 2 g, foi homogeneizada 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 mm. Os açúcares (xilose, glicose, frutose e sacarose) e os ácidos orgânicos (ascorbico, acético, cítrico, formico, láctico, málico, propionico e succinico) foram separados e identificados em um sistema cromatográfico líquido usando [Varian Waters 2690 (Califórnia, EUA)] equipado 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 µm); fase móvel 0,009 H₂SO₄; taxa de fluxo, 0,7 µL/ min. Os picos de HPLC da amostra foram identificados por comparação dos seus tempos de retenção com os de padrões de referência de açúcares ou ácidos orgânicos (Sigma Aldrich) (ZEPPA et al., 2001).

3.3.7 Determinação dos compostos fenólicos dos frutos de tomate cereja

Os compostos fenólicos foram determinados em frutos de tomate cereja nos mesmos intervalos de tempo de armazenamento da análise dos açúcares e dos ácidos orgânicos. Uma alíquota de 5 g foi homogeneizada em metanol (50 mL) durante 4 h, agitada à temperatura ambiente em mesa agitadora e filtrada em papel filtro Whatman n°4. Os solventes foram evaporados em rotaevaporador e os extratos obtidos foram dissolvidos em água. Os ácidos fenólicos e flavonóides foram determinados usando Shimadzu LG2OAT HPLC equipado com um detector IR (SPDM20) e coluna de fase reversa (Shimpack CLC0DS, 4,6 mm x 250 mm x 5 mm). Para os derivados do ácido cinâmico e benzóico (2,4-di-hidroxibenzóico, 3,4-di-hidroxibenzóico, ferúlico, elágico, ácido *trans*-cinâmico, *p*-cumárico, siringico), a fase móvel foi constituída por uma mistura de ácido acético aquoso a 2% em água (A) e acetonitrila: 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 (miricetina, quercetina, catequina, rutina, kaempferol, hesperetina, naringenina, crisina) foram separados utilizando uma fase móvel de 1% de ácido acético aquoso (A) e metanol (B) a uma taxa de fluxo de 1 mL/min. A fase móvel

utilizou 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-injeção) com marcadores autênticos de Sigma Aldrich.

3.3.8 Análise sensorial

Amostras de tomate cereja não revestidas ou revestidas foram submetidos a testes de aceitação e preferência em intervalos de tempo diferentes (1, 6 e 12 dias) a temperatura refrigerada em todo o armazenamento (para garantir a segurança microbiológica das amostras oferecidas para os membros do painel). Um total de cem 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) sob condições de temperatura e iluminação controladas em cabines individuais. Cada membro do painel recebeu quatro tomates cereja, sendo três tratados com os diferentes revestimentos e o controle. As amostras foram servidas em pratos descartáveis brancos codificados com um número aleatório de três dígitos, sendo simultaneamente servidas em sequência aleatória, imediatamente após a saída do armazenamento a temperatura refrigerada. Os provadores foram aconselhados a 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 instruídos a escolher as amostras mais e menos apreciadas 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) (SOUSA et al., 2013).

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as análises foram realizadas em triplicata, em três repetições. Os dados foram analisados usando o software Sigma Stat 2.03 (Jandel Scientific Software, San Jose, California). Os resultados foram avaliados por ANOVA seguido por teste de Tukey ou student t. Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão, e uma probabilidade $p \leq 0,05$ foi considerada significativa.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.
- 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.
- ALI, A.; MAHMUD, T.M.M.; SIJAM, K.; SIDDIQUI, Y. Effect of chitosan coatings on the physico-chemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. **Food Chemistry**, v. 124, p. 620-626, 2011.
- ALVARENGA, M.A.R.; SOUZA R.A.M. de. Comercializacao, colheita, classificacao e embalagens. ALVARENGA, M.A.R. (Ed.) Tomate. Produção em campo, em casa de-vegetação e em hidroponia. Lavras: UFLA, 2004. p. 369-388.
- AMIRI, A.; DUGAS, R.; PICHOT, A.L.; BOMPEIX, G. In vitro and in vitro activity of eugenol oil (*Eugenia caryophyllata*) against four important postharvest apple pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, v. 126, p. 13–19, 2008.
- AQUINO, A.B.; BLANK, A.F.; SANTANA, L.C.L.A. Impact of edible chitosan-cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature. **Food chemistry**, v. 171, p. 108-116, 2015.
- ARCILA-LOZANO, C. C.; LOARCA-PIÑA, G.; LECONA-URIBE, S.; MEJÍA, E. G. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. **ALAN**, v. 54, n. 1, 2004.
- AVADI, M. R.; SADEGHI, A. M. M.; TAHZIBI, A.; BAYATI, K. H.; POULADZADEH, M.; ZOHURIAAN-MEHR, M. J.; RAFIEE-TEHRANI, M. Diethylmethyl chitosan as an antimicrobial agent: Synthesis, characterization and antibacterial effects. **European Polymer Journal**, v. 40, p. 1355-1361, 2004.
- BADAWY, M.E.I.; RABEA, E.I. Characterization and antimicrobial activity of water-soluble N-(4-carboxybutyryl) chitosans against some plant pathogenic bacteria and fungi. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 250-256, 2012.
- BAMPIDIS, V. A.; CHRISTODOULOU, V.; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; SPAIS, A. B.; CHATZOPOULOU, P. S. Effect of dietary dried oregano leaves

supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 1, p. 1-11, 2005.

BARBOSA, C.C.; MONTEIRO, A.C.; CORREIA, A.C.B.; PEREIRA, G.T. Crescimento e esporulação de isolados de *Verticillium lecanii* sob diferentes condições nutricionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, p. 375-381, 2002.

BARRETO, A.R.M.; LEITE, R.H.L.; AROUCHA, E.M.M.; SANTOS, F.K.G.; OLIVEIRA, T.A. **Efeito de coberturas à base de fécula de mandioca, lecitina de soja e cera de abelha na perda de massa e cor de tomates durante o amadurecimento**. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Florianópolis, SC, 2014.

BAUTISTA-BAÑOS, S.B.; MOLINA, E.B.; BARRERA-NECHA, L.L. *Botrytis cinerea* (gray mold). S. Bautista-Baños (Ed.), **Postharvest Decay**, p. 31–144, 2014.

BECKLES, D. Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 63, p. 129-140, 2012.

BERGER, L.R.R.; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, N.P. Empelo del quitosano en agricultura, **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 12(4), p. 195-215, 2011.

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.

CAMPANA-FILHO, S. P.; DE BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; PRISCILLA SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, estruturas e propriedades de α – e β -quitina. **Química Nova**, v. 30, p. 644-650, 2007.

CARVALHO, V.L.; CUNHA, R.L.; CHALFUN, N.N.J.; MOURA, P.H.A. Alternativas de controle pós-colheita da podridão-parda e da podridão-mole em frutos de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 78-83, 2009.

CHEN, J.; ZOU, X.; LIU, Q.; WANG, F.; FENG, W.; WAN, N. Combination effect of chitosan and methyl jasmonate on controlling *Alternaria alternata* and enhancing activity of cherry tomato fruit defense mechanisms. **Crop Protection**, v. 56, p. 31-36, 2014.

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

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliça: Glossário**. Lavras: UFLA, 2006. 256 p.

CHIUMARELLI, M.; FERREIRA, M.D. Qualidade pos-colheita de tomates ‘Debora’ com utilização de diferentes coberturas comestíveis e temperaturas de

armazenamento. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 3, p. 381-385, 2006.

D'AQUINO, S.; MISTRIOTIS, A.; BRIASSOULIS, D.; DI LORENZO, M.L.; MALINCONICO, M.; PALMA, A. Influence of modified atmosphere packaging on postharvest quality of cherry tomatoes held at 20°C. **Postharvest Biology and Technology**, v. 115, p. 103-112, 2016.

EATON, P.; FERNANDES, J. C.; PEREIRA, E.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Atomic force microscopy study of the antibacterial effects of chitosans on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Ultramicroscopy**, v. 108, p. 1128-1134, 2008.

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.

ELIZEI, V. G. **Avaliação da viabilidade de fungos encapsulados e armazenados em diferentes temperaturas**. 2009. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009. 50 p.

ELSABEE, M.Z., ABDU, E.S. Chitosan based edible films and coatings: a review. Materials science & engineering. C, **Materials for biological applications**, v. 33, n.4, p. 1819-1841, 2012.

FAO, (2014) - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>>. Acesso em: 10 abr. 2016.

FAO, (2016). Agricultural statistical database. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org>>. Acesso em: 23 mar 2016.

FAGUNDES, C.; PÉREZ-GAGO, M.B.; MONTEIRO, A.R.; PALOU, L. Antifungal activity of food additives in vitro and as ingredients of hydroxypropyl methylcellulose-lipid edible coatings against *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* on cherry tomato fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, p. 391-398, 2013.

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

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

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

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: Ed. UFV. 2000. 402 p.

GAHLER, S.; OTTO, K.; BOHM, V. Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 51, n. 27, p. 7962-7968, 2003.

GOMES, M.A. **Caracterização de filmes comestíveis do amido fosfatado da *Swartzia burchelli* para aplicação pós-colheita em tomate cereja**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Goiás. Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas de Anápolis. Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola. Anápolis, GO, 2014. 56 p.

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 x villosa* Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 214, p. 168-178, 2015.

GUERRA, I.C.D.; OLIVEIRA, P.D.L.; FERNANDES, M.M.; LÚCIO, A.S.S.C.; TAVARES, J.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; MADRUGA, M.S.; SOUZA, E.L. The effects of composite coatings containing chitosan and *Mentha (piperita* L. or *X villosa* Huds) essential oil on postharvest mold occurrence and quality of table grape cv. Isabella. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 34, p. 112–121, 2016.

GIORDANO, L.B.; RIBEIRO, C. S. C. **Tomate para processamento industrial**. Brasília: Embrapa Comunicação para transferência de Tecnologia/ Embrapa hortaliças, 2000.

HERNANDEZ-MUÑOZ, P.; ALMENAR, E.; OCIO, M.J., GAVARA, R. Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, p. 247–253, 2006.

KHALIQ, G.; MOHAMED, M.; TENGKU, M.; ALI, A.; DING, P.; GHAZALI, H.M. Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. **Scientia Horticulturae**, v. 190, p. 187-194, 2016.

KOKKINI, S.; KAROUSOU, R.; VOKOU, D. Pattern of geographic variation of *Origanum vulgare* trichomes and essential oil content in Greece. **Biochem System Ecology**, v. 22, p. 517-528, 1994.

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

- LATHA, P.; ANAND, T.; RAGUPATHI, N.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. 2009. Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and Zimmu leaf extract against *Alternaria solani*. **Biological Control**, v. 50, p. 85–93, 2009
- LICHTER, A.; ZUTKHY, Y.; SONEGO, L.; DVIR, O.; KAPLUNOV, T.; SARIG, P.; BEN-ARIE, R. Ethanol controls postharvest decay of table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, p. 301-308, 2002.
- LI, P.; YIN, F.; SONG, L.; ZHENG, X. Alleviation of chilling injury in tomato fruit by exogenous application of oxalic acid. **Food Chemistry**, v. 202, p. 125–132, 2016.
- 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.
- LLANA-RUIZ-CABELLO, M.; PICHARDO, S.; MAISANABA, S.; PUERTO, M.; PRIETO, A.I.; GUTIÉRREZ-PRAENA, D.; JOS, A.; CAMEÁN, A.M. In vitro toxicological evaluation of essential oils and their main compounds used in active food packaging: A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 81, p. 9-27, 2015.
- LUZ, I. S. ; MELO, A. N. F. ; BEZERRA, T. K. A. ; MADRUGA, M. S. ; MAGNANI, M. ; SOUZA, E. L. . Sublethal amounts of *Origanum vulgare* L. essential oil and carvacrol cause injury and changes in membrane fatty acid of *Salmonella Typhimurium* cultivated in a Meat Broth. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 11(5), p. 357-361, 2014.
- MAGRO, A.; CAROLINO, M.; BASTOS, M.; MEXIA, A. Efficacy of plant extracts against stored products fungi. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 23, p. 176–178, 2006.
- MASSOLA JUNIOR, N.S.; KRUGNER, T.L. **Fungos Fitopatogênicos**. (Ed.). Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. 4 ed., cap. 8, p. 149-206, 2011.
- 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.
- MODOLON TA; BOFF P; ROSA JM; SOUSA PMR; MIQUELLUTI DJ. Qualidade pós-colheita de frutos de tomateiro submetidos a preparados em altas diluições. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 58-63, 2012.
- 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.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. **Food Chemistry**, v. 112, p. 258-266, 2009.

OEY, I.; LILLE, M.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Effect of high-pressure processing on colour, texture and flavour of fruit- and vegetable-based food products: a review. **Trends in Food Science Technology**, v. 19, p. 320-328. 2008.

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.

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.

PLASCENCIA-JATOMEA, M.; YÉPEZ-GÓMEZ, M.S.; VELEZ-HARO, J.M. *Aspergillus* spp. (gray mold). In: Bautista-Baños, S. (Ed.), **Postharvest Decay**, pp. 267–282, 2014.

PINHEIRO, J.; ALEGRIA, C.; ABREU, M.; GONÇALVES, E.M.; SILVA, C.L.M. Kinetics of changes in the physical quality parameters of fresh tomato fruits (*Solanum lycopersicum*, cv. ‘Zinac’) during storage. **Journal of Food Engineering**, v. 114, p. 338-345, 2013.

PONCE-VALADEZ, M.; ESCALONA-BUENDÍA, H.B.; VILLA-HERNÁNDEZ, J.M.; LEÓN-SÁNCHEZ, F.D.; RIVERA-CABRERA, F.; ALIA-TEJACAL, I.; PÉREZ-FLORES, L.J. Effect of refrigerated storage (12.5°C) on tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit flavor: A biochemical and sensory analysis. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 6-14, 2016.

PRECZENHAK, A.P. **Diversidade genética estimada por meio de marcadores moleculares e morfoagronômicos em acessos de mini-tomate**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, 2013.

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.

REGNIER, T. et al. Fungitoxicity of *Lippia scaberrima* essential oil and selected terpenoid components on two mango postharvest spoilage pathogens. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p. 254-8, 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.

ROCHA M.Q.; PEIL, R.M.N.; COGO, C.M. Rendimento do tomate cereja em função do cacho foral e da concentração de nutrientes em hidroponia. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 466-471, 2010.

SAAVEDRA, G.M.; FIGUEROA, N.E.; POBLETE, L.A.; CHERIAN, S.; FIGUEROA, C.R. Effects of preharvest applications of methyl jasmonate and chitosan on postharvest decay, quality and chemical attributes of *Fragaria chiloensis* fruit. **Food Chemistry**, v. 190, p. 448-453, 2016.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, E.; RUIZ, J.M.; FERRERES, F.; MORENO, D.A. Phenolic profiles of cherry tomatoes as influenced by hydric stress and rootstock technique. **Food Chemistry**, v. 134, n. 2, p. 775-782, 2012.

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, n. 2, p. 345-353, 2012.

SEAGRI. Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Regularização fundiária. Disponível em: < www.seagri.ba.gov.br>. Acesso em: 10 abr. 2016.

SELLI, S.; KELEBEK, H.; AYSELI, M.T.; TOKBAS, H. Characterization of the most aroma-active compounds in cherry tomato by application of the aroma extract dilution analysis. **Food Chemistry**, v. 165, p. 540-546, 2014.

SHAO, X.; CAO, B.; XU, F.; XIE, S.; YU, D.; WANG, H. Effect of postharvest application of chitosan combined with clove oil against citrus green mold. **Postharvest Biology and Technology**, v. 99, p. 37-43, 2015.

SOUSA, L.; ANDRADE, S.C.A.; ATHAYDE, A.J.A.A.; OLIVEIRA, C.E.V.; SALES, C.V.; MADRUGA, M.S.; DE SOUZA, E.L. 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). **International Journal of Food Microbiology**, v. 165(3), p. 312-318, 2013.

SOUZA, E.L.; SALES, C.V.; OLIVEIRA, C.E.V.; LOPES, L.A.A.; CONCEIÇÃO, M.L.; BERGER, L.R.R.; STAMFORD, T.C.M. Efficacy of a coating composed of

chitosan from *Mucor circinelloides* and carvacrol to control *Aspergillus flavus* and the quality of cherry tomato fruits. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 732-740, 2015.

SPADARO, D.; GULLINO, M. L. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. **International Journal of Food Microbiology**, v. 91, p. 185-194, 2004.

STINCO, C.M.; RODRÍGUEZ-PULIDO, F.J.; ESCUDERO-GILETE, M.L.; GORDILLO, B.; VICARIO, I. M.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.J. Lycopene isomers in fresh and processed tomato products: Correlations with instrumental color measurements by digital image analysis and spectroradiometry. **Food Research International**, v. 50, p. 111-120, 2013.

SUN, X.; NARCISO, J.; WANG, Z.; FERENCÉ, C.; BAI, J.; ZHOU, K. Effects of chitosan-essential oil coatings on safety and quality of fresh blueberries. **Journal of Food Science**, v. 79, p. 955 – 960, 2014.

TANIWAKI, M. H., SILVA, N. **Fungos em alimentos: ocorrência e detecção**. Campinas: ITAL, 2001.

TARGINO, G.; CARVALHO, R.J.; SOUSA, J.P.; SCHAFFNER, D.; SOUZA, E.L.; MAGNANI, M. Effects of the essential oil from *Origanum vulgare* L. on survival of pathogenic bacteria and starter lactic acid bacteria in semi-hard cheese broth and slurry. **Journal of Food Protection**, v. 79, p. 246-252, 2016.

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.

TIAN, J.; WANG, Y.; ZENG, H.; LI, Z.; ZHANG, P.; TESSEMA, A.; PENG, X. Efficacy and possible mechanisms of perillaldehyde in control of *Aspergillus niger* causing grape decay. **International journal of food microbiology**, v. 202c, p. 27-34, 2015.

TOOR, R.K.; SAVAGE, G.P.; LISTER, C.E. Seasonal variations in the antioxidant composition of greenhouse grown tomatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 1-10, 2006.

TURINA, A. V.; NOLAN, M. V.; ZYGADLO, J. A.; PERILLO, M. A. Natural terpenes: self-assembly 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.

UNNIRISHNAM, V.; NATH, B. S. Hazardous chemicals in food. **Indian Journal of Dairy Bioscience**, v. 11, p. 155-158, 2002.

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

WANG, Y.; YU, T.; LI, Y.; CAI, D.; LIU, X.; LU, H.; ZHENG, X. D. Postharvest biocontrol of *Alternaria alternata* in Chinese winter jujube by *Rhodosporidium paludigenum*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, p. 1492-1498, 2009.

WU, S.; LU, M.; WANG, S. Effect of oligosaccharides derived from *Laminaria japonica*-incorporated pullulan coatings on preservation of cherry tomatoes. **Food Chemistry**, v. 199, p. 296-300, 2016.

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

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. 49:6, 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.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ARTIGO - Effects of chitosan coating containing essential oil from *Origanum vulgare* L. on storage- keeping quality of cherry tomato fruit

Artigo submetido a LWT (Fator de Impacto 2,711)

Effects of a chitosan coating containing essential oil from *Origanum vulgare* L. on the storage-keeping quality of cherry tomato fruit

Running title: A coating to retain tomato fruit quality

Tainá A. Barreto^a, Sonalle C. A. Andrade^a, Janeeyre F. Maciel^a, Narciza M. O. Arcanjo^c, Marta S. Madruga^c, Bruno Meireles^d, Ângela M. T. Cordeiro^d, Evandro L. Souza^b, 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 Food Microbiology, Department of Nutrition, Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil*

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

^d *Laboratory of Fuel, Federal University of Paraíba, Campus I, 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: + 55 83 3216 7576; Fax: + 55 83 3216 735

Abstract

The efficacy of an edible chitosan coating (CHI; 4 mg/mL) and *Origanum vulgare* L. essential oil (OVEO; 1.25 μ L/mL) for maintaining the quality of cherry tomato fruit during storage at room (25 °C; 12 days) and cold (12 °C; 24 days) temperatures was assessed. CHI and OVEO in combination showed *in vitro* fungicidal effects against *R. stolonifer* and *Aspergillus niger*. CHI-OVEO coating reduced black mold and soft rot incidence caused by these fungi in artificially contaminated cherry tomato fruit during storage at both temperatures. Fruit coated with CHI-OVEO showed higher firmness and lower weight loss. CHI-OVEO coating delayed the decrease of lycopene, ascorbic and citric acid, glucose and fructose during storage at room or cold temperatures. Fruit coated with CHI-OVEO showed increased amounts of catechin, myricetin, caffeic and syringic acids at the end of storage. CHI-OVEO coating is a feasible treatment for maintaining the storage quality of cherry tomato fruit.

Keywords: *Lycopersicon esculentum* L., edible coatings, phenolic compounds, storage quality

1. Introduction

Cherry tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruits have increased in popularity due to their high content of sugars and health promoting compounds as well as their convenience of use; they are consumed either as an ingredient (such as in salads) or alone (D`Aquino et al., 2016; Wu, Lu & Wang, 2016).

The infection of cherry tomato fruit with the pathogenic fungi *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer* is associated with most postharvest losses and decreased storage quality in these fruit (Fagundes, Palou, Monteiro & Pérez-Gago, 2015a). Black mold, caused by *A. niger*, is a postharvest disease characterized by softening and darkening of the fruit infected site, followed by breaking of the peel and development of a dark mycelia (Plascencia-Jatomea, Yépez-Gomes & Velez-Haro, 2014). *R. stolonifer* is the etiological agent of the soft rot in cherry tomato fruit, a disease recognized by watery areas covered by coarse, gray hairy mycelium that forms a mass of black sporangia at its tips (Bautista-Baños, Velaquez-Del Valle, Hernandez-Lauzardo & Barka, 2008).

The postharvest decay caused by fungal contamination or by the ripening process in cherry tomato fruit has been primarily controlled by the application of synthetic fungicidal agents in the field and during the postharvest period (Fagundes et al., 2015; Guerra et al., 2015). These agents do not adversely affect the appearance or quality of the treated fruit (Amiri, Dugas, Pichot & Bompeix, 2008). However, its indiscriminate and excessive use on crops has been a major cause of the development of resistant fungal pathogen populations (Oliveira et al., 2014). In addition, there is an increased awareness the potentially harmful nature of these chemical compounds on human health and the environment due to the use of chemical preservatives in food crops (Aquino, Blank, & Santana 2015; FAO, 2016).

Edible coatings based on polysaccharides (e.g., hydroxypropylmethylcellulose, locust bean gum, cassava starch or chitosan) are considered environmentally friendly alternatives and can reduce the use of chemical preservatives applied for postharvest treatments (Ali, Mahmud, Sijam & Siddiqui, 2011; El-Anany, Hassan & Rahab, 2009). Chitosan (CHI) has favorable characteristics for use as an edible coating because it is a biodegradable cationic hydrocolloid that possess antifungal activity in addition to its film-forming ability (Elsabee & Abdou, 2013; Shao et al., 2015).

The incorporation of essential oils (EOs) in CHI-coatings reduces the water permeability and can improve the coating-efficacy because the EO constituents are released onto the fruit surface over time (Sánchez-González et al., 2011). The EO obtained from *Origanum vulgare* L. (oregano - OVEO) has received increased attention because it possesses strong inhibitory effects against a variety of phytopathogenic fungi and low resistance-inducing effects in microorganisms (Llana-Ruiz-Cabello et al., 2015; Luz et al., 2012; Santos et al., 2012).

A previous study showed interesting results when OVEO was incorporated into CHI-coatings to control mold decay in grapes (Santos et al., 2012). However, the efficacy of CHI-coating containing OVEO for controlling black mold and soft rot or for preserving the storage quality in cherry tomato fruit is unknown. Thus, the present study was performed to assess the following: i) the *in vitro* effects of CHI and/or OVEO on mycelial growth, spore germination and sporulation of *A. niger* and *R. stolonifer*; ii) the efficacy of a coating comprised of CHI and OVEO to control dark mold and soft rot in cherry tomato fruit during storage at room and cold temperature, and iii) the effects of this coating on cherry tomato fruit quality parameters.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Chitosan (CHI) of medium molecular weight (deacetylation degree 75-85%, batch 03318AJ) was obtained from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, USA). *Origanum vulgare* L. essential oil (OVEO) (Batch ORE001 density at 20 °C: 0.90, refractive index at 20 °C: 1.47) was supplied by Aromalândia Ind. Com. Ltda. (Minas Gerais, Brazil). The GC–MS analysis of the OVEO was performed following previously described procedures (Targino et al., 2016). A total of 22 different constituents were identified in the OVEO. The constituents present in the highest amounts in OVEO were carvacrol (64.42%), σ -cymol (12.50%) and γ -terpinene (6.78%). Other constituents, such as thymol (3.82%), linalol (2.85%) and α -pinene (1.69%) were found in minor amounts (**Supplementary Table 1**).

Mature, commercially available cherry tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit were purchased from EMPASA (Supplies and Services Company of Paraiba, João Pessoa, Brazil). Fruit without signs of fungal infection or mechanical damage were selected according to homogeneous size, shape and color. Prior to the tests, the cherry tomato fruit were disinfected via immersion in a sodium hypochlorite solution (1 mL/100 mL; pH 7.2) for 15 min, rinsed with sterile water and dried for 2.5 h in a safety cabinet (Sousa et al., 2013).

2.2. Fungal strains

R. stolonifer URM 3728 and *A. niger* URM5162 were obtained from the Mycology Culture Collection of the Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil. The stock cultures were grown in Sabouraud agar (Himedia, India) at 25 °C for seven

days to allow for sufficient sporulation. Spores were collected in a sterile saline solution (0.85 g/100 mL NaCl), and the obtained suspension was filtered through triple gauze to retain hyphal fragments. The number of spores was verified using a hemocytometer and adjusted with a sterile saline solution to yield an inoculum of approximately 10^6 spores/mL (Guerra et al., 2015).

Prior to the assays, each test fungal strain was verified for its ability to cause the dark mold or soft rot infection in cherry tomato fruit (virulence) with a characteristic set of symptoms. After black mold or soft rot development, the strains were re-isolated and identified with taxonomical keys. Continuous re-inoculations and re-isolations on cherry tomato fruit were carried out to maintain the pathogenicity of the test fungal strains (Guerra et al., 2015; Plascencia-Jatomea, Yépez-Gomez, & Velez-Haro, 2014).

2.3. *Experimental*

2.3.1. *Preparation of CHI and/or OVEO solutions*

CHI solutions were obtained by dissolving the powder (16 mg/mL) in acetic acid (1 mL/100 mL) with stirring (120 rpm) at room temperature (28 °C) for 24 h (Sánchez-González et al., 2011). Successive serial dilutions (1:1) were performed in Sabouraud broth (Himedia, India) to obtain solutions of different concentrations (16, 8, 4, 2, and 1 mg/mL). The pH of the CHI solutions used in the *in vitro* antifungal activity assays was adjusted to 5.0 by adding 1 M NaOH. OVEO solutions 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), and successive dilutions (1:1) in the same broth were prepared to obtain solutions of different concentrations (20, 10, 5, 2.5, 1.25, and 0.06 µL/mL). Tween 80 at the highest final concentration tested (2%, v/v) did

not interfere with the fungal growth. For the combined application, CHI was diluted in acetic acid (1 mL/100 mL) (as described above) and OVEO was added at the desired concentration. The combined solution was obtained by stirring for 18 h at room temperature (Ojagh, Rezaei, Razavi, & Hosseini, 2010).

2.3.2. Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of CHI and OVEO

The MIC values of CHI and OVEO against *A. niger* and *R. stolonifer* were determined by macrodilution in broth. An aliquot of 1 mL of the spore suspension (approximately 10^6 spores/mL) was inoculated in 4 mL of double-concentrated Sabouraud broth, and 5 mL of the CHI solutions at different concentrations (16 - 1 mg/mL) or OVEO (20 - 0.03 μ L/mL) were added. The mixture was incubated at 25 °C for 7 days. At the end of this period, the lowest CHI or OVEO concentration that caused inhibition of the visible fungal growth was considered as the MIC (Santos et al., 2012).

2.3.3. In vitro antifungal effects of CHI and OVEO

The *in vitro* antifungal effects of CHI and OVEO were measured by the inhibition of the radial mycelial growth, spore germination and sporulation of the test fungal strains. The inhibition of the radial mycelial growth of *A. niger* and *R. stolonifer* was determined using the poisoned solid substrate technique. For this method, 2-mm disks taken from a 7-days fungal culture (grown on Sabouraud agar at 28 °C) were placed on the center of Petri dishes containing Sabouraud supplemented with only CHI (4 mg/mL) or OVEO (1.25 μ L/mL) or CHI (4 mg/mL) combined with OVEO (5, 2.5 and 1.25 μ L/mL). The material was incubated at 28 °C for 7 days and the radial mycelial growth (mm) was measured using calipers every 24 h over a 72 h period.

Fungal cultures cultivated in growth media without addition of CHI or OVEO were similarly tested (controls). The results were expressed in inhibition rates (percentage) of mycelial radial growth (mm) relative to the control (Oliveira et al., 2014).

To assess the effects on spore germination, 0.1 mL aliquots of the *A. niger* or *R. stolonifer* spore suspensions (10^6 spores/mL) obtained from a 7-day-old culture cultivated on Sabouraud agar at 28 °C were placed in tubes with 0.1 mL of the solution containing CHI (4 mg/mL) or OVEO (1.25 μ L/mL) or CHI (4 mg/mL) combined with OVEO (5, 2.5 and 1.25 μ L/mL). The mixture (0.1 mL) was placed on a glass slide and statically incubated in a moist chamber for 24 h at 28 °C. The slides were treated with lactophenol cotton blue stain and observed under light microscopy. On each slide, 200 spores were counted. As controls, spore suspensions obtained from fungal cultures grown in media without the addition of CHI and/or OVEO were similarly assayed. The results were expressed as the percent inhibition of spore germination by comparing the number of germinated spores in the media supplemented with CHI and/or OVEO with those obtained in the control assay (Guerra et al., 2015).

The sporulation by *A. niger* and *R. stolonifer* was evaluated according to a previously described procedure (Barbosa, Monteiro, Correia, & Pereira, 2002). The fungi were grown for 7 days at 25 °C in Sabouraud agar or under the same conditions in Sabouraud agar supplemented with CHI (4 mg/mL) or OVEO (1.25 μ L/mL) or CHI (4 mg/mL) combined with OVEO (5, 2.5 and 1.25 μ L/mL). From each Petri dish containing the mycelium, three 8 mm-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 Neubauer chamber. As a control, mycelium plugs not exposed to CHI and/or OVEO were similarly assayed. The results were expressed as the number of total spores relative to the control treatment.

2.3.4. Application of CHI and OVEO coatings to cherry tomato fruit

The fruit was first immersed in an inoculum solution (10^6 spores/mL) of *A. niger* or *R. stolonifer* for 1 min and then maintained in a biosafety cabinet for 1 h (25 °C). Then, the fruit was immersed in 500 mL of the solutions composed of only CHI (4 mg/mL) or OVEO (1.25 µg/mL) or CHI (4 mg/mL) combined with OVEO (1.25 µg/mL), with mild shaking for 1 min. The fruit were air-dried and packed in a polyethylene container. One fruit group was stored at 25 °C (room temperature), and the other at was stored at 12 °C, the cold temperature commonly applied during transportation and market storage of cherry tomato fruit (Li, Yin, Song, & Zheng, 2016). In the control experiment, CHI and OVEO solutions were replaced with sterile distilled water containing glycerol (2 g/100 mL). Each treatment included 40 fruit. At different time intervals (room temperature at 1, 4, 8 and 12 days; cold temperature at 1, 6, 12, 18 and 24 days), the fruit were examined for characteristic signs of *Rhizopus* soft rot and *Aspergillus* black mold (Feng & Zeng, 2007; Liu, Tian, Meng & Xu, 2007). The results were expressed as the storage time needed for the visible signs of fungal infection and the disease incidence (percent of infected fruit) at the assessed time intervals (Guerra et al., 2015).

2.3.5. Physicochemical analyses of cherry tomato fruit

The uncoated or coated cherry tomato fruit were evaluated for weight loss, firmness, total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), lycopene content and color at the same time intervals evaluated for fungal infection. To determine the weight loss of the cherry tomato fruit during storage, the fruit weight loss during each assessed period was calculated as a percentage of the initial weight (Oliveira et al., 2014). The firmness was measured in a TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems, United Kingdom) using a 3 mm diameter probe (1/8). The results were expressed as N/mm (Guerra et al., 2015). Prior to the TSS, TA and lycopene analysis, ten fruit from each group were randomly chosen, macerated and homogenized to remove the required amount of sample for each experiment. The TSS was determined using a digital refractometer (HI96801, Hanna Instruments, São Paulo, Brazil), and the results were expressed as °Brix (Ali, Maqbool, Ramachandran, & Alderson, 2010). The TA was determined via titration with 0.1 N NaOH to the phenolphthalein-end point, and the results are expressed as a percent of anhydrous citric acid (Aquino et al., 2015). The peel color was measured at three different equatorial points of the fruit using the CIELab system ($L^* a^* b^*$). The chroma (C^*_{ab}) and hue angle (h^*_{ab}) were measured in a Minolta colorimeter (CR-300 Co., Osaka, Japan) using a 10-mm quartz cuvette according to the International Commission on Illumination (CIE, 1986). A D65 illuminant (standard daylight) at a 10° angle was used for the CIELab color scale ($L^*a^*b^*$). Lycopene content in the cherry tomato fruit was determined according to procedures described by Li, Yin, Song and Zheng (2016). Lycopene was extracted using a mixture of hexane:acetone:ethanol (2:1:1). The lycopene content of cherry tomato

fruit was measured spectrophotometrically at 472 nm using an extinction coefficient (E%) of 3450. The results were expressed in mg/100 g of fruit.

2.3.6. Determination of sugars and organic acids in cherry tomato fruit

Sugars and organic acids in the cherry tomato fruit were determined at the 1st and 12th day of storage at room temperature or at the 1st, 12th and 24th days of storage at cold temperature. From the fruit-macerate obtained for the physicochemical analyses, an aliquot of 2 g was homogenized in ultra-pure water (10 mL) for 10 min using a mini-Turrax apparatus. The mixture was centrifuged (4000 rpm, 15 min, 4 °C), and the supernatant was collected and filtered through a 0.45 µm membrane. Sugars (xylose, glucose, fructose and sucrose) and organic acids (ascorbic, acetic, citric, formic, lactic, malic, propionic and succinic acids) were measured in the extract by HPLC using a Varian Waters chromatograph (model 2690, Varian, 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 GALAXIE Chromatography Data System processing software. The other analytic conditions were as follows: 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 and sugar standards (Sigma Aldrich®). The results were expressed in mg per 100 g of fresh weight (Zeppa, Conterno, & Gerbi, 2001).

2.3.7. Determination of phenolic compounds in cherry tomato fruit

Phenolic compounds in the cherry tomato fruit were determined at the same storage time intervals as the sugar and organic acid analyses. An aliquot of 5 g was homogenized in methanol (50 mL) for 4 h, stirred at room temperature on a shaker table, filtered through Whatman no. 4 paper, and dried by evaporation. The phenolic extracts obtained in this way were then dissolved in water. Phenolic acids and flavonoids were measured using a Shimadzu Prominence LG2OAT HPLC equipped with a photodiode array detector (SPDM20) and a reversed-phase column (Shimpack CLCDS, 4.6 mm x 250 mm x 5 mm). For the benzoic and cinnamic acid derivatives (2,4-dihydroxybenzoic, 3,4-dihydroxybenzoic, ferulic, ellagic, *trans*-cinnamic, *p*-coumaric, syringic), 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 (myricetin, quercetin, catechin, rutin, kaempferol, hesperetin, naringenin, chrysin) 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 μ L. The identification and quantification of phenolic compounds was based on the retention times, the UV spectra and a chromatographic comparison (co-injection) with authentic markers from Sigma Aldrich®. The results were expressed as changes in mg per g of fresh weight during the storage time (Borges et al., 2011).

2.3.8. Sensory analysis

Uncoated or coated cherry tomato fruit were subjected to sensory tests at the 1st, 6th and 12th days of the cold temperature storage (to ensure the microbiological safety of the samples offered to the panelists). The acceptance and preference tests were performed with one hundred untrained panelists after approval from an Ethics Research Committee (protocol 712.884/2014). The tests were performed in individual booths under controlled temperature and lighting conditions. Each panelist received the uncoated or coated cherry tomato fruit served on white plates codified with a three-digit number in a blinded and random sequence. The panelists were advised to eat a salty biscuit and drink water between samples to avoid aftertaste interference. For the acceptance of attributes (appearance, flavor, texture, color, aftertaste and overall evaluation), a 9-point structured hedonic scale was used, ranging from one “dislike very much” to nine “like very much”. For the preference test, the panelists were oriented to select the most and least appreciated samples considering the overall evaluation. The purchase intent was assessed using a 5-point structured hedonic scale ranging from one “certainly would not buy” to five “certainly would buy”. (Sousa et al., 2013).

2.4. Statistical analysis

All analyses were performed in triplicate on three different occasions. The data were analyzed using Sigma Stat software 2.03 (Jandel Scientific Software, San Jose, California). The results were evaluated by ANOVA followed by Tukey’s post-hoc test or Student’s t test. The results were presented as the means \pm standard deviation, and a probability $p \leq 0.05$ was considered significant.

3. Results

3.1. *In vitro* antifungal effects of CHI and OVEO

CHI and OVEO exhibited a MIC of 8 mg/mL and 10 μ L/mL, respectively, against both *R. stolonifer* and *A. niger*. CHI was tested at 4 mg/mL (1/2 MIC) in assays of inhibition of mycelial growth, spore germination and sporulation because this is the lowest concentration needed to form a viscous solution with coating features for application in cherry tomato fruit (Guerra et al., 2015).

The incorporation of CHI at 4 mg/mL combined with OVEO at 5, 2.5 or 1.25 μ L/mL, or OVEO at 10 μ L/mL in growth media resulted in a fungicidal effect toward *R. stolonifer* and *A. niger* with the complete inhibition of fungal mycelial growth throughout the 48 h-incubation time. During the same period of incubation, the incorporation of only CHI at 4 mg/mL or OVEO at 1.25 μ L/mL in growth media inhibited less than 50% of the mycelial growth of both *R. stolonifer* and *A. niger*.

The application of CHI at 4 mg/mL combined with OVEO at 5 μ L/mL, 2.5 μ L/mL or 1.25 μ L/mL strongly inhibited the spore germination of *R. stolonifer* (75 - 84%) and *A. niger* (90 - 100%). Lower inhibition ($p \leq 0.05$) of the spore germination of *R. stolonifer* or *A. niger* was observed when assays were performed with only CHI at 4 mg/mL ($\leq 50\%$) or OVEO at 1.25 μ L/mL ($\leq 30\%$) (**Supplementary Table 2**).

The sporulation of the tested fungal strains was completely inhibited by CHI at 4 mg/mL combined with OVEO at 5, 2.5 or 1.25 μ L/mL. Similar to the results observed in the assays of mycelial growth inhibition, there were no differences ($p > 0.05$) in the inhibition of the spore germination or the sporulation of both fungi induced by the

combination of CHI with OVEO at the different tested concentrations (**Supplementary Table 2**).

3.2. Effects of CHI and OVEO coatings on cherry tomato fruit

Considering that CHI combined with the different concentrations of OVEO showed similar *in vitro* antifungal effects against both *A. niger* and *R. stolonifer*, the assays with cherry tomato fruit were performed with a CHI-coating containing OVEO at 1.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, the lowest OVEO concentration assayed.

Cherry tomato fruit artificially contaminated and coated with CHI-OVEO presented visible signs of soft rot after 8 days of storage at room temperature, and after 21 days of storage at cold temperature (**Table 1**). The first visible signs of black mold on fruit coated with CHI-OVEO were observed after 8 days and 15 days of storage at room and cold storage temperature, respectively. Uncoated cherry tomato fruit or coated fruit with only CHI or OVEO presented the first visible signs of black mold and soft rot in a shorter period of storage at room or cold temperatures (**Table 1**).

The incidence of black mold in cherry tomato fruit coated with CHI-OVEO at the end of the storage at room and cold temperature was 19% and 10%, respectively; whereas for the uncoated fruit the incidence was greater than 85% (**Table 1**). At the end of the storage time at room and cold temperatures, the incidence of soft rot in cherry tomato fruit coated with CHI-OVEO was 12% and 5%, respectively. In uncoated cherry tomato fruit, the incidence of soft rot was greater than 87% in fruit stored at room or cold temperature (**Table 1**). The incidence of black mold or soft rot in fruit coated with only CHI or OVEO was $\geq 50\%$ for storage at either room or cold temperature (**Table 1**).

3.3. Effects on the physicochemical parameters of cherry tomato fruit

The physicochemical parameters in uncoated and coated cherry tomato fruit were evaluated during storage at room (25 °C) and cold temperatures (12 °C). The weight loss of the cherry tomato fruit coated with CHI-OVEO was lower ($p \leq 0.05$) than that observed for uncoated fruit or fruit coated with only CHI or OVEO (**Table 2**).

The firmness decreased ($p \leq 0.05$) with increasing storage time in coated and uncoated cherry tomato fruit. The firmness of fruit coated with CHI-OVEO was higher ($p \leq 0.05$) in all assessed storage time points when compared with that of uncoated fruit or fruit coated with only CHI or OVEO (**Table 2**).

The TA and TSS decreased in uncoated fruit ($p \leq 0.05$) stored at both room and cold temperatures, whereas no changes ($p > 0.05$) were observed in TA or TSS in fruit coated with CHI-OVEO (**Table 2**).

The content of lycopene decreased ($p \leq 0.05$) in uncoated and coated fruit during storage at room or cold temperature. However, cherry tomato fruit coated with CHI-OVEO showed the minor ($p \leq 0.05$) decrease of lycopene when compared with the other fruit groups (**Table 2**).

The uncoated and coated cherry tomato fruit were predominantly red throughout storage at room and cold temperatures (**Supplementary Table 3**). The a^* values decreased ($p \leq 0.05$) over time in uncoated fruit stored at both temperatures, whereas they did not change in fruit coated with CHI-OVEO. The b^* values decreased ($p \leq 0.05$) in uncoated and coated fruit during storage at room and cold temperature. The lightness values (L^* value) were higher ($p \leq 0.05$) in fruit coated with CHI-OVEO or those coated only with CHI at all time intervals assessed in both room and cold temperature storage (**Supplementary Table 3**).

3.4. Effects on sugars and organic acids in cherry tomato fruit

The sugar present in the highest ($p \leq 0.05$) amounts in uncoated or coated cherry tomato fruit was xylose (**Figure. 1**). This sugar decreased in all fruit groups during storage at room or cold temperature; however, the greater ($p \leq 0.05$) decrease was observed in uncoated fruit compared with fruit coated with CHI-OVEO.

Cherry tomato fruit coated with CHI-OVEO exhibited an increase in the amount of glucose ($p \leq 0.05$) during storage at room and cold temperatures, whereas the other fruit group decreased ($p \leq 0.05$) in the amount of this sugar (**Figure 1**). No changes in the amount of fructose ($p > 0.05$) were observed in fruit coated with CHI-OVEO stored at room or cold temperature. Uncoated fruit or fruit coated with only CHI or OVEO stored at both temperatures showed decreases ($p \leq 0.05$) in fructose contents (**Figure 1**). Sucrose amounts decreased ($p \leq 0.05$) in all fruit groups during storage at both room and cold temperatures (**Figure 1**).

Ascorbic and citric acids were the organic acids detected in highest ($p \leq 0.05$) amounts in all fruit groups stored at both room and cold temperatures (**Figures 2 and 3**). The decrease ($p \leq 0.05$) in ascorbic acid was greater in uncoated fruit or fruit coated with only OVEO or CHI than that in fruit coated with CHI-OVEO during storage at both room and cold temperature (**Figures 2 and 3**). The amounts of citric acid decreased ($p \leq 0.05$) in all fruit groups during cold storage, whereas it increased ($p \leq 0.05$) in fruit coated with CHI-OVEO during storage at room temperature (**Figures 2 and 3**).

During storage at both room temperature or cold temperatures, pyruvic, succinic, propionic and lactic acids amounts decreased ($p \leq 0.05$) in uncoated cherry tomato fruit

and in fruit coated with only CHI or OVEO. No changes in the amounts of these organic acids were observed in fruit coated with CHI-OVEO stored at room or cold temperatures (**Figures 2 and 3**). The increases observed in the amounts of formic and acetic acids were higher ($p \leq 0.05$) in uncoated fruit than those detected in fruit coated with CHI-OVEO during storage at room or cold temperature (**Figures 2 and 3**).

3.5. Effects on phenolic compounds in cherry tomato fruit

During storage at room and cold temperatures, uncoated and coated fruit exhibited decreases in the amount of 2,5-dihydroxybenzoic acid. The minor decrease ($p \leq 0.05$) in the amount of this phenolic acid was observed in fruit coated with CHI-OVEO (**Table 3**). The amount of 4-dihydroxybenzoic, salicylic, syringic and caffeic acids increased ($p \leq 0.05$) in all fruit groups during storage at both temperatures (**Table 3**). However, cherry tomato fruit coated with CHI-OVEO always exhibited the most significant increase ($p \leq 0.05$) in the levels of these compounds (**Table 3**). The decrease ($p \leq 0.05$) of sinapinic acid and the increase ($p \leq 0.05$) of *p*-coumaric and *trans*-cinnamic acids amounts were similar ($p > 0.05$) among the fruit groups (**Table 3**). Vanillic acid amounts increased ($p \leq 0.05$) only in fruit coated with CHI-OVEO during storage at room or cold temperature (**Table 3**). Ellagic acid amounts decreased ($p \leq 0.05$) in uncoated fruit and fruit coated with only CHI or OVEO stored at both temperatures. No changes ($p > 0.05$) in the amount of this acid were observed in fruit coated with CHI-OVEO (**Table 3**).

Regarding flavonoids, rutin amounts decreased ($p \leq 0.05$) in uncoated fruit or fruit coated with only CHI or OVEO stored at room or cold temperatures; however, they did not change ($p > 0.05$) in fruit coated with CHI-OVEO (**Table 3**). Catechin and

myricetin amounts increased in all fruit groups during storage at both temperatures; however, the greatest increases ($p \leq 0.05$) occurred in fruit coated with CHI-OVEO (**Table 3**).

3.6. *Effects on sensory aspects of cherry tomato fruit*

The uncoated and coated cherry tomato fruit received similar scores ($p > 0.05$) for flavor, texture, aftertaste and overall evaluation at the different storage times assessed (**Supplementary Table 4**). The scores fell between “liked slightly” or “liked moderately” for all sensory parameters tested. Fruit coated with CHI-OVEO received higher scores ($p \leq 0.05$) for appearance, taste and color (corresponding to “liked very much”) in tests performed after 6 and 12 days of storage. When the panelists were asked to indicate the intent to purchase the cherry tomato fruit, the responses were generally “possibly purchase” for all fruit groups and assessed storage periods.

4. Discussion

The combined incorporation of CHI and OVEO at different concentrations in growth media resulted in fungicidal effects against both *R. stolonifer* and *A. niger* and inhibited the spore germination and sporulation of these fungi over time. OVEO acts primarily on the fungal cell wall and, after an initial disturbance, can attack intracellular targets causing thinning and wrinkling of mycelia upon the loss of cytoplasmic material, resulting in mycelium death and lack of sporulation (Moreira, Lima, Wanderley, Carmo, & Souza, 2010; Vesentini et al., 2007). CHI can change the fungal membrane permeability through interactions with the negatively charged phospholipids of the plasma membrane. The enhanced antifungal effects observed for the combined

application of CHI and OVEO likely occurred because the initial disturbance of the cell exterior is promoted by CHI, which facilitates cellular uptake of OVEO (Ojagh et al., 2010; Santos et al., 2012).

The CHI-OVEO coating delayed the occurrence of black mold and soft rot in cherry tomato fruit during storage at room and cold temperatures and reduced the incidence of rotten fruit at the end of storage. These results support the antifungal effects observed in *in vitro* assays. Interestingly, antifungal efficiency of CHI combined with EOs has not always been observed in *in vitro* studies with fruit, probably due to the high volatility of the EOs constituents and the possible interactions between the coating components and the vegetative tissue (Cháfer, Sánchez-Gonzalez, González-Martinez & Chiralt, 2012; Perdonés, Sánchez-Gonzalez, Chiralt & Vargas, 2012; Shao et al., 2015).

Control of postharvest fungal diseases using CHI-coatings containing EOs seems to occur through a direct inhibitory effect on fungi cells and an indirect effect of inducing defense mechanisms in the fruit tissue (Aquino et al., 2015; Shao et al., 2015). It has been proposed that the efficacy of CHI-EOs in inhibiting pathogenic fungi in fruit could be partially related to their ability to induce production of defense-related enzymes, e.g., polyphenoloxidase, peroxidase, chitinase, and β -1,3-glucanase, in coated fruits (Shao et al., 2015).

Great antifungal efficacy was observed when CHI-OVEO coating was applied in cherry tomato fruit stored at cold temperature. These results are probably associated with the slowing of physiological maturation processes in fruit stored at cold temperatures, which consequently led to a higher resistance to mold infection (Sánchez-González et al., 2011). Another important reason could be the weaker pathogenicity of the fungal strains at low temperatures because the antifungal activity of CHI and EOs

on fruit increases with decreased storage temperature (Oliveira et al., 2014; Santos et al., 2012).

Fruit coated with CHI-OVEO had higher firmness and lower weight loss during storage at room or cold temperatures. The firmness of fruit during storage is directly related to softening resulting from the cell wall modification caused by the hydrolysis of starch and degradation of pectin during respiration (Ali et al., 2010). Otherwise, weight loss in fruit is primarily associated with the water loss caused by transpiration and respiration (Wu et al., 2016). The observed results are probably related to the effects of CHI-OVEO coating as a semi-permeable barrier to O₂, CO₂, water and solutes (Aquino et al., 2015). Because of its hydrophobicity, OVEO improved the physical barrier properties of CHI-coatings (Perdones et al., 2012). Consequently, the respiration rates may be decreased in fruit coated with CHI-OVEO, as well as the water loss and softening. The antifungal effects of the CHI-OVEO coating may also contribute to the maintenance of firmness because this coating may protect the fruit against fungal cell wall-degrading enzymes used for colonization and infection (Oliveira et al., 2014).

TA decreased in uncoated cherry tomato fruit, whereas fruit coated with CHI-OVEO did not change this parameter during storage at both studied temperatures. The TA decreases with the fruit ripening; however, a delay of this decrease is interesting because low amounts of TA induce faster senescence of fruit (Khaliq et al., 2015). TA indexes are related to amounts of organic acids present in tomato fruit, and acidity found in the early stages of maturation tends to decrease by degradation of these compounds (Wu et al., 2016). Organic acids are used as substrates for enzymatic reactions, as a major source of ATP, or as intermediate metabolites in biochemical reactions during fruit respiration (Khaliq et al., 2015; Wu et al., 2016). In the present

study, organic acids directly related to respiration metabolism (e.g., citric, pyruvic, succinic and lactic acids) decreased only in uncoated fruit during the storage at both room and cold temperatures, explaining the observed TA decrease (Wu et al., 2016). Because the metabolism was slowed, the degradation of organic acids in fruit coated with CHI-OVEO was reduced and contributed to maintenance of the TA values during storage. Additionally, the increase of formic and acetic acids amounts only in uncoated fruit indicated the effectiveness of the CHI-OVEO coating to delay the senescence in cherry tomato fruit (Shao et al., 2015). Overall, the CHI-OVEO coating slowed the decrease of ascorbic acid levels, an important bioactive compound of cherry tomato fruit. The inhibition of gas exchange between the fruit tissues and the environment near the CHI-OVEO coating probably reduced the O₂ penetration and, consequently, the oxidation of ascorbic acid (Shao et al., 2015).

The TSS amounts decreased in uncoated fruit and did not change in fruit coated with CHI-OVEO during storage at room or cold temperature. Sugars are the major components of the TSS in tomato fruit (Wu et al., 2016). The CHI-OVEO coating most likely prevented the reduction of TSS because it delayed the hydrolysis of carbohydrates to sugars due the slower ripening (Elsabee & Abdou, 2013). The reduction in fruit metabolism could also explain the higher amounts of glucose and fructose observed in fruit coated with CHI-OVEO because these sugars are the predominant sugars metabolized during fruit respiration (Beckles, 2012; D'Aquino et al., 2016). The higher content of glucose, fructose, and citric acid in fruit coated with CHI-OVEO could explain the higher scores attributed to this fruit group for "taste" in the sensory test. They likely exhibited a better balance between sugars and acids

because the ratio of sugars to acids defines the taste of a ripe tomato fruit (Beckles, 2012).

The application of CHI-OVEO positively affect the color of the cherry tomato fruit because the coating helped maintain the red intensity (a^* values) during storage. The red color of the in cherry tomato fruit is one of the most important quality criteria used in market or by consumers to judge the commercial quality of the fruit (Fagundes, Moraes, Pérez-Gago, Palou, Maraschin & Monteiro, 2015b). The increased red color observed in the cherry tomato fruit coated with CHI-OVEO was most likely related to the higher quantities of lycopene present in those fruit during storage. Lycopene is the main colored carotenoid in red tomato fruit, and these fruit are the most important sources of lycopene in the human diet (Stinco, Rodríguez-Pulido, Escudero-Gilete, Gordillo, Vicario, & Meléndez-Martínez, 2013). The efficacy of CHI-OVEO coating in slowing the degradation of lycopene is noteworthy and similar to that observed for ascorbic acid. These observations were probably related to the barrier for gas exchange and slower metabolism. Increased respiration rates result in the ability of reactive oxygen groups to oxidize the lycopene (Bensinela Junior, Monarim, Camargo, Mahl, Simões, & da Silva, 2010).

The cherry tomato fruit coated with CHI-OVEO or only with CHI presented increase in lightness (L^*) compared to the uncoated fruit or fruit coated with only OVEO. Greater lightness/brightness has been described for fruit coated with polymer-based dispersions, which can be associated with characteristics brightness and high transparency of the formed coating (Oliveira et al., 2014). This increased lightness of the CHI and CHI-OVEO coated fruit was positively perceived by panelists who assigned higher scores for appearance and color attributes to fruit from these groups.

The phenolic acids and flavonoids detected in cherry tomato fruit were similar among the uncoated or coated fruit. However, the CHI-OVEO coating delayed any decreases and even increased specific phenolic acids or flavonoids. It is known that during the tomato fruit maturation, a variety of phenolic compounds are synthesized by hydroxylation, methylation and dehydrogenation reactions (Bicudo, Ribani & Beta, 2014; Choi et al., 2014; Sánchez-Rodríguez, Ruiz, Ferreres & Moreno, 2012). The synthesis or degradation of phenolic compounds is clearly associated with the ripening process, and the regulatory events in climacteric fruit (e.g., cherry tomato) depend on the action of ethylene (Alexander & Grierson, 2002). Thus, the CHI-OVEO coating interfered within the metabolism of phenolic compounds in cherry tomato fruit likely due to the creation of an internal modified atmosphere leading to the biosynthesis and accumulation of these secondary metabolites (Beckles, 2012). Overall, fruit coated with CHI-OVEO exhibited higher amounts of several phenolic compounds at the end of storage at both room and cold temperatures. Thus, given the knowledge that phenolic compounds are related to protection against fungal infection in plant tissues (Pane et al., 2016), the CHI-OVEO coating could enhance the resistance to pathogenic fungi in cherry tomato fruit during storage.

Conclusions

CHI and OVEO in combination inhibited spore germination and showed fungicidal *in vitro* effects against *R. stolonifer* and *A. niger*. The application of CHI-OVEO coating delayed the mold decay in cherry tomato fruit and enhanced important quality and sensory aspects of these fruit during storage at room or cold temperatures. The tested CHI-OVEO increased the amounts of phenolic compounds retained during the storage

time assessed. CHI-OVEO coating is a feasible treatment for maintaining the quality of cherry tomato fruit during storage.

Acknowledgments

The authors thank CAPES-Brazil for the scholarship awarded to the first author, T.A. Barreto

References

Alexander L., & Grierson D. (2002). Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. *Journal Experimental of Botany*, 53, 2039-2055.

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 Biology and Technology*, 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 Chemistry*, 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. *International Journal of Food Microbiology*, 126, 13–19.

Aquino, A.B., Blank, A.F., & Santana, L.C.L.A. (2015). Impact of edible chitosan-cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature. *Food Chemistry*, 171, 108-116.

Bautista-Baños, S., Velázquez-del Valle, M.G., Hernández-Lauzardo, A.N., & Ait Barka, E. (2008). The *Rhizopus stolonifer* e tomato interaction. In: Barka, E.A., Clément, C. (Eds.), *Plant Microbe Interaction* (pp. 269-289). Kerala, India: Research Signpost.

Beckles, D. (2012). Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 63, 129-140.

Bicudo, M.O.P., Ribani, R.H., & Beta, T. (2014). Anthocyanins, phenolic acids and antioxidant properties of juçara fruit (*Euterpe edulis* M.) along the on-tree ripening process. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69, 142–147.

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 Research International*, 44, 2128-2133.

Cháfer, M., Sánchez-González, L., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2012). Fungal Decay and Shelf Life of Oranges Coated With Chitosan and Bergamot, Thyme, and Tea Tree Essential Oils. *Journal of Food Science*, 77, 182–187.

Choi, S.H., Kim, D.S., Kozukue, N., Kim, H.J., Nishitani, Y., Mizuno, M., Levin, C.E., & Friedman, M. (2014). Protein, free amino acid, phenolic, β -carotene, and lycopene content, and antioxidative and cancer cell inhibitory effects of 12 greenhouse-grown commercial cherry tomato varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 34, 115-127.

D'Aquino, S., Mistriotis, A., Briassoulis, D., Di Lorenzo, M.L., Malinconico, M., & Palma, A. (2016). Influence of modified atmosphere packaging on postharvest quality of cherry tomatoes held at 20°C. *Postharvest Biology and Technology*, 115, 103-112.

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. *Journal Food Technology*, 7, 5-11.

Elsabee, M.Z., & Abdou, E.S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: a review. *Materials Science & Engineering*, 33, 1819-1841.

Fagundes, C., Palou, L., Monteiro, A.R., & Pérez-Gago, M.B. (2015a). Hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible coatings formulated with antifungal food additives to reduce alternaria black spot and maintain postharvest quality of cold-stored cherry tomatoes. *Scientia Horticulturae*, 193, 249-257.

Fagundes, C., Moraes, K., Pérez-Gago, M.B., Palou, L., Maraschin, M., & Monteiro, A.R. (2015b). Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 73-81.

FAO, (2016). Agricultural statistical database. <http://www.faostat.fao.org/> Accessed 23.03.16.

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

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. *International Journal of Food Microbiology*, 214, 168-178.

Khaliq, G., Mohamed, M., Tengku, M., Ali, A., Ding, P., & Ghazali, H.M, (2016). Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. *Scientia Horticulturae*, 190, 187-194.

- Li, P., Yin, F., Song, L., & Zheng, X. (2016). Alleviation of chilling injury in tomato fruit by exogenous application of oxalic acid. *Food Chemistry*, *202*, 125–132.
- Liu, J., Tian, S., Meng, X., & Xu, Y. (2007). Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *44*, 300-306.
- Llana-Ruiz-Cabello, M., Pichardo, S., Maisanaba, S., Puerto, M., Prieto, A.I., Gutiérrez-Praena, D., Jos, A., & Cameán, A.M. (2015). *In vitro* toxicological evaluation of essential oils and their main compounds used in active food packaging: A review. *Food and Chemical Toxicology*, *81*, 9-27.
- Luz, I.S., Gomes Neto, N.J., Tavares, A.G., Nunes, P.C., Magnani, M., & Souza, E.L. (2012). Evidence for Lack of Acquisition of Tolerance in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium ATCC 14028 after Exposure to Subinhibitory Amounts of *Origanum vulgare* L. Essential Oil and Carvacrol. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*, 5021-5024.
- 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. *Brazilian Journal of Microbiology*, *41*, 28-33.
- 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 Chemistry*, *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.). *International Journal of Food Microbiology*, *171*, 54–61.

Pane, C., Fratianni, F., Parisi, M., Nazzaro, F., & Zaccardelli, M. (2016). Control of *Alternaria* post-harvest infections on cherry tomato fruits by wild pepper phenolic-rich extracts. *Crop Protection*, *84*, 81-87.

Perdones, A., Sanchez-Gonzalez, L., Chiralt, A., & Vargas, M. (2012). Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, *70*, 32–41.

Plascencia-Jatomea, M., Yépez-Gomez, M.S., & Velez-Haro, J.M. (2014). *Aspergillus* spp. (gray mold). In: Bautista-Baños, S. (Ed.), *Postharvest Decay* (pp. 267–282).

Sánchez-González, L., Pastor, C., Vargas, M., Chiralt, A., González-Martínez, C., & Cháfer, M. (2011). Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biology and Technology*, *60*, 57–63.

Sánchez-Rodríguez, E., Ruiz, J.M., Ferreres, F., & Moreno, D.A. (2012). Phenolic profiles of cherry tomatoes as influenced by hydric stress and rootstock technique. *Food chemistry*, *134*, 775-782.

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 Microbiology*, *32*, 345-353.

Shao, X., Cao, B., Xu, F., Xie, S., Yu, D., & Wang, H. (2015). Effect of postharvest application of chitosan combined with clove oil against citrus green mold. *Postharvest Biology and Technology*, *99*, 37-43.

Sousa, L., Andrade, S.C.A., Athayde, A.J.A.A., Oliveira, C.E.V., Sales, C.V., Madruga, M.S., & Souza, 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). *International Journal of Food Microbiology*, 165, 312-318.

Stinco, C.M., Rodríguez-Pulido, F.J., Escudero-Gilete, M.L., Gordillo, B., Vicario, I. M., & Meléndez-Martínez, A.J. (2013). Lycopene isomers in fresh and processed tomato products: Correlations with instrumental color measurements by digital image analysis and spectroradiometry. *Food Research International*, 50, 111-120.

Targino, G., Carvalho, R.J., Sousa, J.P., Schaffner, D., Souza, E.L., & Magnani, M. (2016). Effects of the essential oil from *Origanum vulgare* L. on survival of pathogenic bacteria and starter lactic acid bacteria in semi-hard cheese broth and slurry. *Journal of Food Protection*, 79, 246-252.

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. *Mycological Research*, 111, 875-890.

Wu, S., Lu, M., & Wang, S. (2016). Effect of oligosaccharides derived from *Laminaria japonica*-incorporated pullulan coatings on preservation of cherry tomatoes. *Food Chemistry*, 199, 296-300.

Zeppa, G., Conterno, L., & Gerbi, V. (2001). Determination of Organic Acids, Sugars, Diacetyl, and Acetoin in Cheese by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6, 2722-2726.

Figures

Figure 1. Changes in sugar concentrations in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or cold temperature (12 °C, 24 days). (■) 0 µL/ mL of chitosan and essential oil (control); (■) CHI 4: CHI 4 mg/ mL; (■) OVEO 1.25: OVEO 1.25 µL/ mL; (■) CHI 4 + OVEO 1.25: CHI 4 mg/ mL + OVEO 1.25 µL/ mL. A-C For each trial, different superscript letters denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the same treatment at different storage periods) according to Tukey's test or Student's t test. a-d: For each trial, different superscript letters denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the different treatments at a same storage period) according to Tukey's test.

Figure 2. Changes in organic acid concentrations in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days). (■) 0 µL/ mL of chitosan and essential oil (control); (■) CHI 4: CHI 4 mg/ mL; (■) OVEO 1.25: OVEO 1.25 µL/ mL; (■) CHI 4 + OVEO 1.25: CHI 4 mg/ mL + OVEO 1.25 µL/ mL. A-D: For each trial, different superscript letters denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the same treatment at different storage periods) according to Tukey's test or Student's t test. a-d: For each trial, different superscript letters denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the different treatments at a same storage period) according to Tukey's test.

Figure 3. Changes in organic acids concentrations in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at cold temperature (12 °C, 24 days). (■) 0 µL/ mL of chitosan and essential oil (control); (■) CHI 4: CHI 4mg/ mL; (■) OVEO 1.25: OVEO 1.25 µL/ mL; (■) CHI 4 + OVEO 1.25: CHI 4 mg/ mL + OVEO 1.25 µL/ mL. A-C For each trial, different superscript letters denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for the same treatment at different storage periods) according to Tukey's test or Student's t test. a-d: For each trial, different superscript letters denote differences ($p \leq 0.05$) among

the mean values (for the different treatments at a same storage period) according to Tukey's test

Table 1. Occurrence of *Rhizopus* soft rot and *Aspergillus* black mold in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and/or *O. vulgare* L. essential oil (OVEO) followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or low temperature (12 °C, 24 days).

Treatments	Days of storage for detection of first signs of mold infection		Percent of infected fruit at the end of the storage time	
	Room temperature	Cold temperature	Room temperature	Cold temperature
<i>R. stolonifer</i>				
Control	2nd	9th	100.0% (± 0.00) ^a	87.50% (± 0.00) ^a
CHI 4	4th	15th	53.75% (± 0.02) ^c	68.75% (± 0.09) ^b
OVEO 1.25	4th	12th	63.81% (± 0.09) ^b	67.52% (± 0.00) ^b
CHI 4 + OVEO 1.25	8th	21th	12.02% (± 0.00) ^d	5.05% (± 0.04) ^c
<i>A. niger</i>				
Control	2nd	6th	100.0% (± 0.00) ^a	87.53% (± 0.00) ^a
CHI 4	4nd	9th	62.75% (± 0.04) ^c	52.50% (± 0.04) ^c
OVEO 1.25	4nd	6th	75.01% (± 0.00) ^b	62.51% (± 0.00) ^b
CHI 4 + OVEO 1.25	8th	15th	10.05% (± 0.03) ^d	19.00% (± 0.05) ^d

Control: 0 μ L/mL of chitosan and essential oil; CHI 4 + OVEO 1.25: CHI 4 mg/mL + OVEO 1.25 μ L/mL; a–d For each trial, different superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for each fungus submitted for the different treatments at the same storage condition).

Table 2. Mean values of the physicochemical quality parameters in cherry tomato fruits uncoated and coated with chitosan (CHI) and *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or cold temperature (12 °C, 24 days).

Treatments	Days of storage at room temperature (25°C)				Days of storage at cold temperature (12 °C)				
	1	4	8	12	1	6	12	18	24
WeighthLoss (%)									
Control	0.00(±0.00) ^D	1.99 (±0.01) ^{aC}	6.22 (±0.01) ^{aB}	10.85 (±0.02) ^{aA}	0.00 (±0.00) ^E	0.52 (±0.06) ^{aD}	2.39 (±0.06) ^{aC}	4.49 (±0.08) ^{aB}	6.21 (±0.03) ^{aA}
CHI 4	0.00 (±0.00) ^D	1.75 (±0.02) ^{bC}	6.01 (±0.04) ^{bB}	8.01 (±0.03) ^{cA}	0.00 (±0.00) ^E	0.36 (±0.06) ^{bD}	1.32 (±0.04) ^{bC}	2.23 (±0.07) ^{bB}	4.19 (±0.02) ^{bA}
OVEO 1.25	0.00 (±0.00) ^D	1.94 (±0.01) ^{aC}	6.11 (±0.02) ^{abB}	9.82 (±0.02) ^{bA}	0.00 (±0.00) ^E	0.49 (±0.04) ^{aD}	1.54 (±0.05) ^{bC}	2.44 (±0.03) ^{bB}	4.81 (±0.01) ^{bA}
CHI4 + OVEO 1.25	0.00 (±0.00) ^D	1.20 (±0.01) ^{cC}	4.37 (±0.03) ^{cB}	6.58 (±0.01) ^{dA}	0.00 (±0.00) ^E	0.30 (±0.03) ^{bD}	1.02 (±0.05) ^{cC}	1.74 (±0.02) ^{cB}	3.80 (±0.02) ^{cA}
Firmness (N/mm)									
Control	10.55 (±0.05) ^{bA}	8.63 (±0.03) ^{bB}	7.94 (±0.07) ^{bC}	6.40 (±0.04) ^{cD}	10.15 (±0.07) ^{bcA}	10.01 (±0.04) ^{aA}	9.23 (±0.04) ^{bB}	8.51 (±0.03) ^{bC}	6.31 (±0.03) ^{cD}
CHI 4	8.94 (±0.05) ^{dA}	7.54 (±0.03) ^{cB}	7.47 (±0.01) ^{cB}	7.19 (±0.02) ^{bC}	10.09 (±0.04) ^{cA}	8.98 (±0.02) ^{bB}	8.61 (±0.03) ^{cC}	8.06 (±0.04) ^{cD}	7.54 (±0.03) ^{bD}
OVEO 1.25	9.65 (±0.02) ^{cA}	8.44 (±0.08) ^{bB}	7.30 (±0.04) ^{cB}	6.54 (±0.03) ^{cB}	10.33 (±0.03) ^{bA}	8.75 (±0.04) ^{bB}	8.34 (±0.03) ^{cB}	7.34 (±0.04) ^{dC}	6.40 (±0.04) ^{cD}
CHI4 + OVEO 1.25	11.36 (±0.03) ^{aA}	9.26 (±0.02) ^{aB}	8.17 (±0.05) ^{aC}	8.07 (±0.02) ^{aC}	12.68 (±0.04) ^{aA}	10.22 (±0.05) ^{aB}	9.94 (±0.02) ^{aC}	9.15 (±0.05) ^{aD}	8.77 (±0.01) ^{aE}
Titrable acidity (mg/100g of citric acid)									
Control	12.39 (±0.05) ^{aA}	10.26 (±0.06) ^{aB}	9.40 (±0.03) ^{aBC}	8.43 (±0.03) ^{cC}	11.71 (±0.08) ^{aA}	10.59 (±0.07) ^{bB}	9.05 (±0.21) ^{bC}	8.51 (±0.05) ^{bD}	8.11 (±0.03) ^{cE}
CHI 4	9.87 (±0.09) ^{cA}	9.56 (±0.15) ^{aA}	9.50 (±0.06) ^{aA}	9.33 (±0.04) ^{bA}	11.10 (±0.01) ^{B A}	11.04 (±0.07) ^{aA}	11.02 (±0.09) ^{aA}	10.99 (±0.01) ^{aA}	10.97 (±0.01) ^{aA}
OVEO 1.25	9.67 (±0.01) ^{cA}	9.47 (±0.06) ^{aA}	9.37 (±0.02) ^{aA}	9.11 (±0.09) ^{bcA}	11.09 (±0.05) ^{bA}	10.99 (±0.01) ^{aB}	10.95 (±0.05) ^{aB}	10.93 (±0.02) ^{aB}	10.92 (±0.03) ^{bB}
CHI 4 + OVEO 1.25	10.86 (±0.14) ^{bA}	10.44 (±0.18) ^{aA}	10.37 (±0.06) ^{aA}	10.34 (±0.05) ^{AA}	11.06(±0.04) ^{bA}	11.09 (±0.01) ^{aB}	10.98 (±0.01) ^{aB}	10.97 (±0.02) ^{aB}	10.95 (±0.01) ^{abB}
Total Soluble Solids (°Brix)									
Control	7.15 (±0.07) ^{AA}	6.85 (±0.08) ^{bAB}	6.60 (±0.01) ^{cB}	6.10 (±0.14) ^{bC}	6.70 (±0.02) ^{aA}	6.35 (±0.05) ^{aB}	6.05 (±0.07) ^{aB}	5.70 (±0.00) ^{aC}	5.40 (±0.09) ^{bC}
CHI 4	7.10 (±0.14) ^{AA}	7.05 (±0.06) ^{abA}	6.90 (±0.02) ^{bA}	6.85 (±0.07) ^{AA}	6.05 (±0.01) ^{bA}	6.00 (±0.03) ^{bA}	5.96 (±0.03) ^{aA}	5.90 (±0.04) ^{aA}	5.85 (±0.07) ^{aA}
OVEO 1.25	7.08 (±0.14) ^{AA}	7.00 (±0.07) ^{abA}	6.95 (±0.07) ^{abA}	6.90 (±0.01) ^{AA}	6.00 (±0.01) ^{bA}	5.97 (±0.07) ^{bA}	5.95 (±0.02) ^{aA}	5.93 (±0.07) ^{aA}	5.75 (±0.06) ^{abA}
CHI 4 + OVEO 1.25	7.20 (±0.00) ^{AA}	7.15 (±0.05) ^{aA}	7.08 (±0.04) ^{aA}	7.05 (±0.07) ^{AA}	6.05 (±0.07) ^{bA}	5.98 (±0.04) ^{bA}	5.92 (±0.03) ^{bA}	5.90 (±0.02) ^{aA}	5.85 (±0.04) ^{aA}
Lycopene (µg/g)	1-12 days				1-24 days				
	Control	CHI 4	OVEO 1.25	CHI 4 + OV 1.25	Control	CHI 4	OVEO 1.25	CHI 4 + OV 1.25	
	- 8.80 (±0.02) ^a	-6.25 (±0.01) ^b	-6.24 (±0.03) ^b	-4.21 (±0.02) ^c	-7.77 (±0.04) ^a	-5.10 (±0.01) ^c	-5.64 (±0.02) ^b	-3.49 (±0.02) ^d	

Control: 0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of chitosan and essential oil; CHI 4 + OVEO 1.25: CHI 4 mg/mL + OVEO 1.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$. A-E 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 a same storage period) according to Tukey's test.

Table 3. Changes in phenolic compounds determined in cherry tomato fruits uncoated and coated with chitosan (CHI) and *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or cold temperature (25 °C, 24 days).

Phenolic	Room temperature (25° C)				Cold temperature (12° C)			
	Control	CHI 4	OVEO 1.25	CHI 4 + OVEO 1.25	Control	CHI 4	OVEO 1.25	CHI 4 + OVEO 1.25
	1-12 days	1-12 days	1-12 days	1-12 days	1-24 days	1-24 days	1-24 days	1-24 days
4-hydroxybenzoic acid	+ 3.00 (±0.05) ^b	+ 1.00 (±0.02) ^d	+ 2.00 (±0.05) ^c	+ 5.00 (±0.02) ^a	+ 3.00 (±0.01) ^b	Zero	+ 3.00 (±0.02) ^b	+ 5.00 (±0.01) ^a
Salicylicacid	+ 11.00 (±0.01) ^d	+ 12.00 (±0.03) ^c	+ 14.00 (±0.01) ^b	+ 16.00 (±0.01) ^a	+ 13.00 (±0.03) ^d	+ 15.00 (±0.04) ^c	+ 16.00 (±0.02) ^b	+ 19.00 (±0.01) ^a
Sinapinicacid	- 4.00 (±0.01) ^a	- 3.50 (±0.02) ^b	- 2.00 (±0.02) ^c	- 4.00 (±0.02) ^a	- 4.00 (±0.03) ^c	- 6.00 (±0.01) ^d	- 1.00 (±0.05) ^a	- 2.00 (±0.05) ^b
Syringicacid	+ 4.00 (±0.02) ^c	+ 3.00 (±0.02) ^d	+ 7.00 (±0.02) ^b	+ 13.00 (±0.03) ^a	+ 2.00 (±0.05) ^c	Zero	+ 3.00 (±0.01) ^b	+ 7.00 (±0.04) ^a
2.5-dihydroxybenzoic acid	-39.00 (±0.03) ^d	- 22.00 (±0.04) ^c	- 21.00 (±0.02) ^b	- 16.00 (±0.01) ^a	- 76.00 (±0.05) ^d	- 35.00 (±0.01) ^b	- 31.00 (±0.03) ^b	- 26.00 (±0.02) ^a
Vanillicacid	Zero	zero	zero	+ 1.00 (±0.05) ^a	zero	Zero	Zero	+ 1.00 (±0.01) ^a
Feluricacid	- 3.00 (±0.05) ^b	zero	- 2.00 (±0.03) ^a	- 3.00 (±0.02) ^b	- 3.00 (±0.01) ^b	Zero	- 2.00 (±0.02) ^a	- 3.00 (±0.01) ^b
Ellagicacid	- 1.00 (±0.02) ^b	- 1.00 (±0.02) ^b	- 1.00 (±0.05) ^b	zero	- 1.00 (±0.02) ^b	- 1.00 (±0.02) ^b	- 1.00 (±0.01) ^b	zero
<i>p</i> -coumaricacid	+ 1.50 (±0.02) ^a	+ 1.40 (±0.01) ^a	+ 1.30 (±0.03) ^a	+ 1.20 (±0.01) ^a	+ 1.00 (±0.01) ^b	+ 1.00 (±0.01) ^b	+ 1.00 (±0.01) ^b	+ 1.50 (±0.01) ^a
Caffeicacid	+ 35.00 (±0.01) ^c	+ 33.00 (±0.02) ^d	+ 36.00 (±0.02) ^b	+ 37.00 (±0.04) ^a	+ 34.00 (±0.03) ^d	+ 37.00 (±0.02) ^b	+ 36.00 (±0.02) ^c	+ 41.00 (±0.05) ^a
<i>trans</i> -cinnamicacid	+ 1.00 (±0.03) ^a	+ 1.00 (±0.01) ^a	+ 1.00 (±0.01) ^a	+ 1.00 (±0.02) ^a	+ 1.00 (±0.01) ^a	+ 1.00 (±0.02) ^a	+ 1.00 (±0.03) ^a	+ 1.00 (±0.01) ^a
Rutin	- 1.00 (±0.01) ^a	- 2.00 (±0.01) ^b	- 1.00 (±0.01) ^a	zero	+ 12.00 (±0.02) ^c	+ 7.00 (±0.05) ^d	+ 15.00 (±0.03) ^b	+ 17.00 (±0.04) ^a
Myricetin	+ 8.00 (±0.03) ^b	+ 4.00 (±0.01) ^d	+ 5.00 (±0.01) ^c	+ 10.00 (±0.03) ^a	+ 7.00 (±0.01) ^c	+ 5.00 (±0.05) ^d	+ 9.00 (±0.01) ^b	+ 15.00 (±0.02) ^a
Catechin	+ 7.00 (±0.01) ^b	+ 4.00 (±0.02) ^d	+ 5.00 (±0.01) ^c	+ 14.00 (±0.02) ^a	+ 3.00 (±0.02) ^c	+ 3.00 (±0.02) ^c	+ 6.00 (±0.03) ^b	+ 11.00 (±0.03) ^a
Naringenin	+ 2.00 (±0.02) ^b	+ 2.80 (±0.03) ^{ab}	+ 3.00 (±0.02) ^a	+ 3.00 (±0.01) ^a	+ 2.00 (±0.01) ^b	+ 2.00 (±0.01) ^b	+ 2.00 (±0.01) ^b	+ 3.00 (±0.02) ^a

Mean values (mg/g of cherry tomato fruit) from two repetition ± standard deviations; (+ increase of compounds during the storage period; - decrease of compounds during the storage period); Control: 0 µL/mL of chitosan and essential oil CHI 4 + OVEO 1.25: CHI 4 mg/mL + OVEO 1.25 µL/mL. a-d 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 a same storage period) according to Tukey's test.

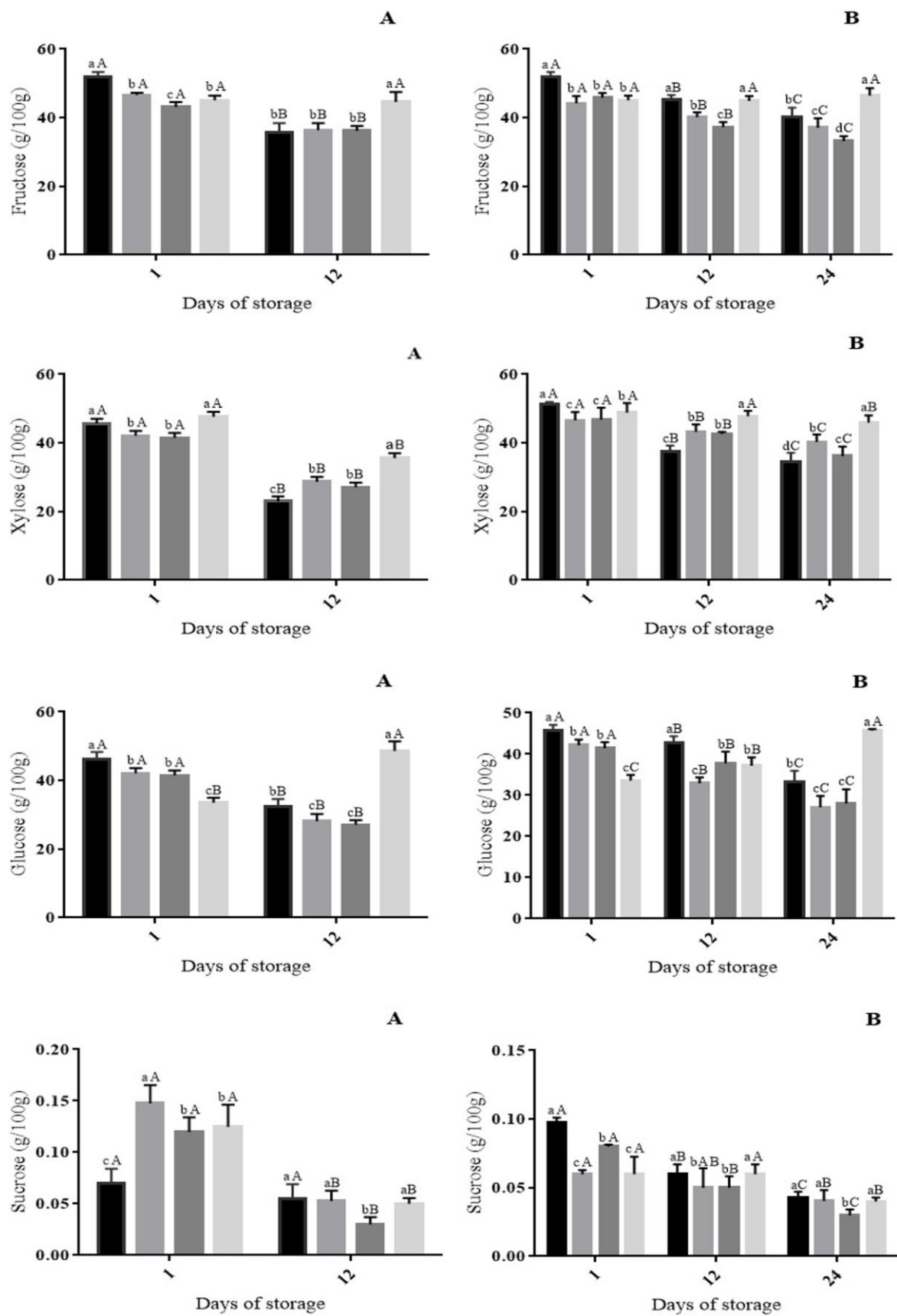


Figure 1.

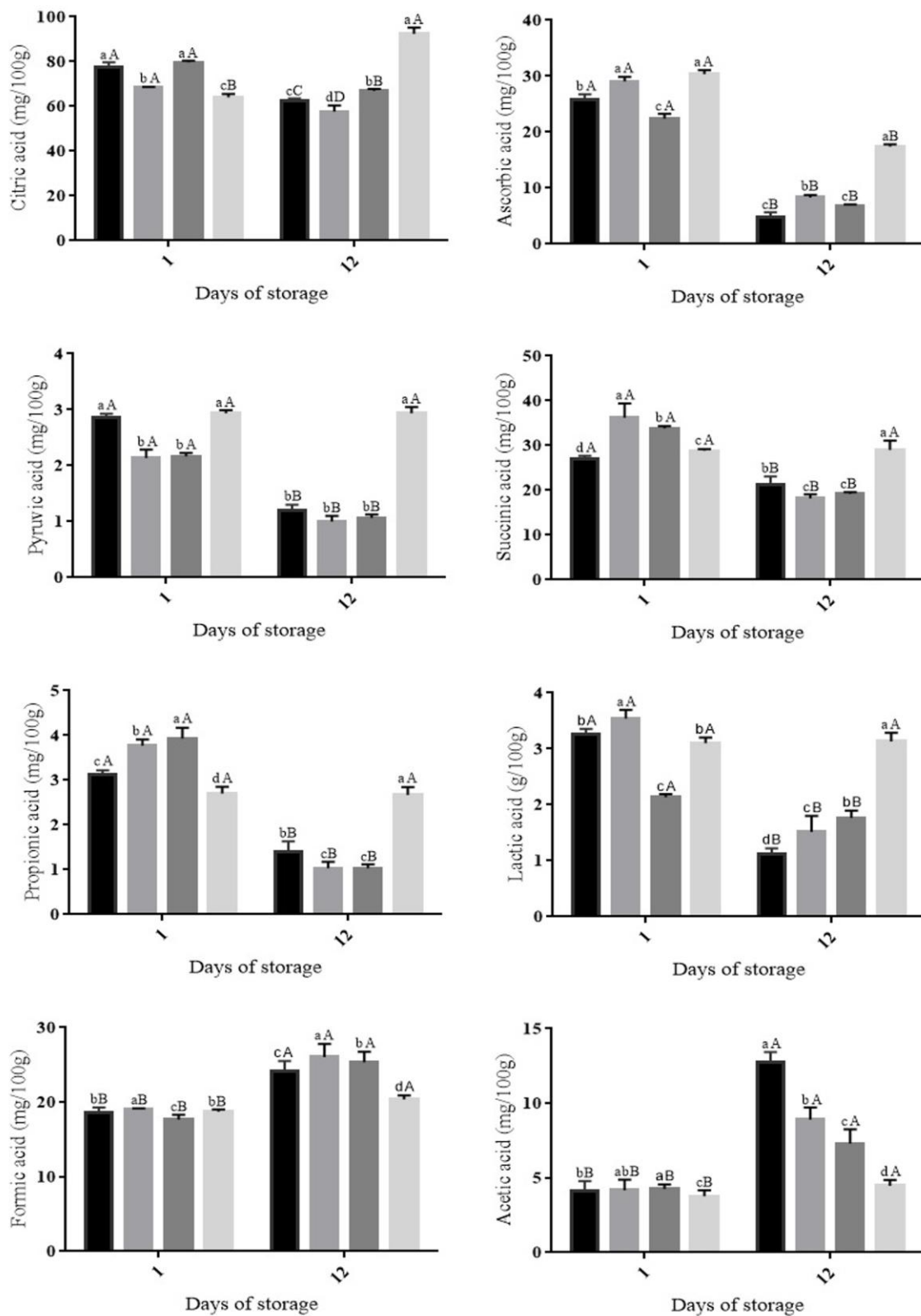


Figure 2.

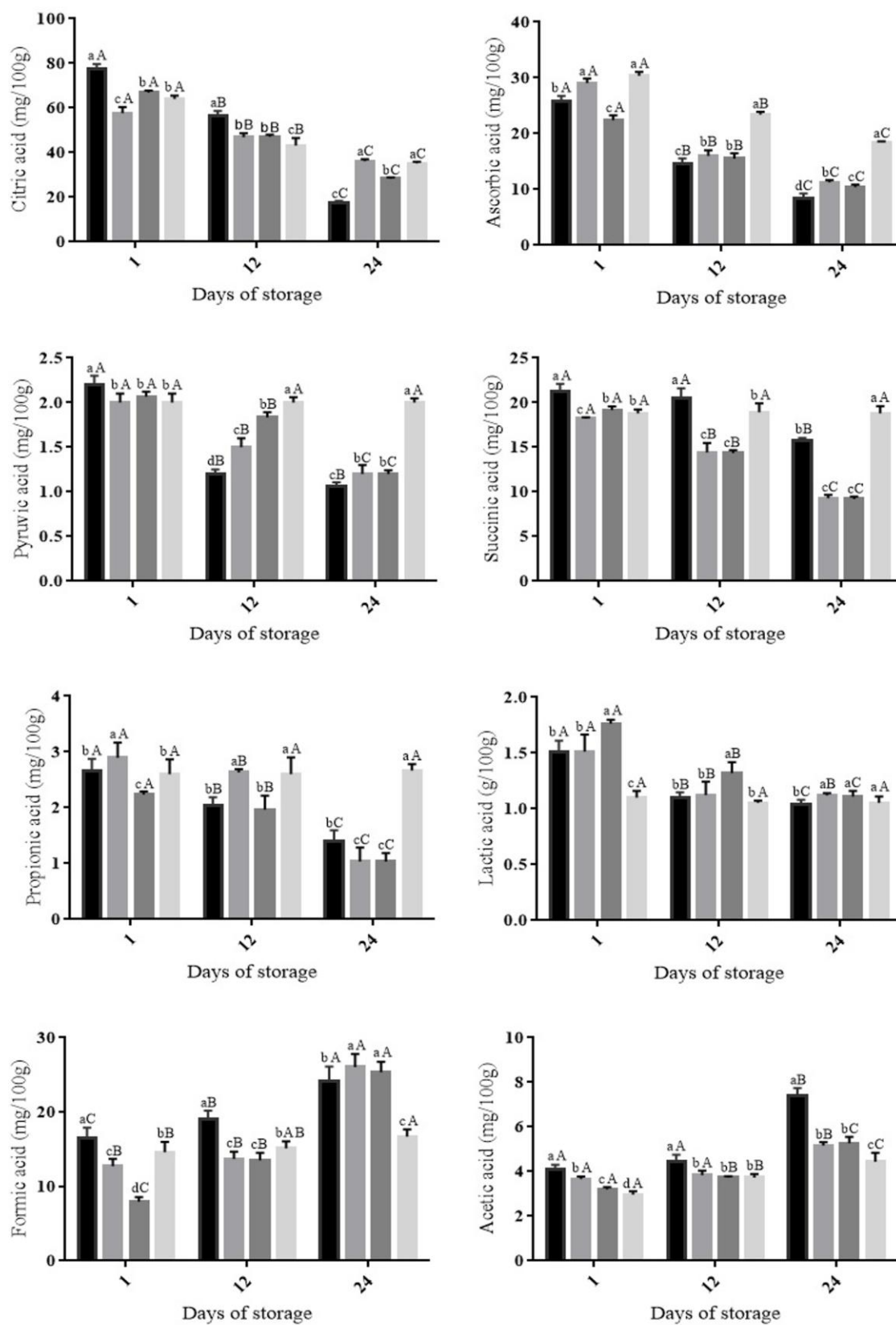


Figure 3.

Supplementary Table 1. GC–MS analysis of the essential oil *Origanum vulgare L.*

Peaks	Constituents	Area (%) [*]
1	2-hexanone	0.04
2	2- hexanone, 3,3-dimethyl	0.57
3	ethanone 1-(3-ethyloxiranyl)	0.42
4	α -thujene	0.36
5	α - pinene	1.69
6	bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2 dimethyl-3-methyl	0.57
7	3-hexen-2-one	0.29
8	β -pinene	0.69
9	myrcene	1.15
10	pseudolimonene	0.12
11	α -terpinene	0.93
12	σ -cymol	12.50
13	limonene	0.11
14	eucalyptol	0.30
15	γ -terpinene	6.78
16	linalool	2.85
17	thymolmethylether	0.17
18	anethole	0.60
19	thymol	3.82
20	carvacrol	64.42
21	caryophyllene (E)	1.23
22	caryophyllene oxide	0.39

*- The quantification of the constituents was obtained after normalizing the areas of each detected constituent, expressed as a percentage area (%).

SupplementaryTable 2. Effects of chitosan (CHI) and *O. vulgare* essential oil (OVEO) alone or in combination on *R. stolonifer* URM 3728 and *A. niger* URM 5842 spore germination and sporulation after 24 h-incubation (25 °C).

Treatments	Inhibition of spore germination (%)		N° esporos/ mL (10 ⁴)	
	<i>R. stolonifer</i>	<i>A. niger</i>	<i>R. stolonifer</i>	<i>A. Níger</i>
Control	0.00% (± 0.00) ^c	0.00% (± 0.00) ^d	18.20(± 0.10) ^a	75.63(± 0.30) ^a
CHI 4	82.00% (± 0.10) ^{ab}	26.00 (± 0.10) ^b	16.60(± 0.25) ^b	36.80(± 0.40) ^b
OVEO 1.25	61.00% (± 0.10) ^b	11.00 (± 0.10) ^c	0.00(± 0.00) ^c	0.00(± 0.00) ^c
CHI 4 + OVEO 5	84.00% (± 0.10) ^a	100.00% (± 0.00) ^a	0.00(± 0.00) ^c	0.00(± 0.00) ^c
CHI 4 + OVEO 2.5	83.00% (± 0.30) ^a	90.00% (± 0.10) ^a	0.00(± 0.00) ^c	0.00(± 0.00) ^c
CHI 4 + OVEO 1.25	75.00% (± 0.20) ^{ab}	90.00% (± 0.10) ^a	0.00(± 0.00) ^c	0.00(± 0.00) ^c

The results expressed as percent inhibition rates of spore germination compared with the control treatment (0 μ L/mL of chitosan and essential oil). CHI 4 + OVEO 5: CHI 4mg/ mL+ OVEO 5 μ L/ mL; CHI 4 + OVEO 2.5: CHI 4mg/ mL + OVEO 2.5 μ L/ mL; CHI 4 + OVEO 1.25: CHI 4 mg/ mL + OVEO 1.25 μ L/ mL; a–d For each trial, different superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) among the mean values (for each fungus submitted for the different treatments) according to Tukey's test.

Supplementary Table 3. Mean values of the color in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or cold temperature (12 °C, 24 days).

Parameters	Days of storage	Treatments			
		Control	CHI 4	OVEO 1.25	CHI 4 + OVEO 1.25
Room temperature					
L	0	35.70 (±0.18) ^{abB}	35.21 (±0.21) ^{bC}	36.27 (±0.13) ^{aB}	35.02 (±0.08) ^{bC}
	4	35.93 (±0.23) ^{abB}	35.51 (±0.07) ^{bC}	36.74 (±0.12) ^{aB}	36.45 (±0.19) ^{abB}
	8	37.33 (±0.22) ^{aA}	37.13 (±0.20) ^{aB}	37.01 (±0.21) ^{aAB}	36.89 (±0.17) ^{aB}
	12	38.18 (±0.12) ^{bA}	41.71 (±0.22) ^{aA}	37.94 (±0.11) ^{bA}	42.26 (±0.18) ^{aA}
a	0	17.32 (±0.16) ^{aA}	13.88 (±0.17) ^{bcA}	13.08 (±0.02) ^{cA}	14.28 (±0.08) ^{bA}
	4	16.77 (±0.22) ^{aA}	14.16 (±0.18) ^{bA}	12.96 (±0.06) ^{cA}	14.17 (±0.16) ^{bA}
	8	13.85 (±0.10) ^{aB}	14.37 (±0.10) ^{aA}	13.00 (±0.15) ^{bA}	14.10 (±0.18) ^{aA}
	12	11.90 (±0.06) ^{cC}	14.37 (±0.09) ^{aA}	13.04 (±0.03) ^{bA}	14.07 (±0.13) ^{aA}
b	0	19.90 (±0.17) ^{aA}	18.07 (±0.15) ^{bA}	19.61 (±0.04) ^{aA}	18.66 (±0.08) ^{bA}
	4	18.73 (±0.07) ^{aB}	17.88 (±0.06) ^{aA}	18.07 (±0.16) ^{aB}	17.83 (±0.05) ^{aB}
	8	17.30 (±0.14) ^{bC}	17.62 (±0.07) ^{abA}	18.05 (±0.12) ^{aB}	17.14 (±0.16) ^{bB}
	12	15.77 (±0.09) ^{bcD}	15.20 (±0.16) ^{cB}	17.42 (±0.23) ^{aC}	16.00 (±0.09) ^{bC}
C*ab	0	21.11 (±0.13) ^{aB}	22.85 (±0.12) ^{aAB}	23.09 (±0.11) ^{aAB}	23.63 (±0.13) ^{aA}
	4	23.69 (±0.06) ^{aAB}	24.10 (±0.24) ^{aA}	22.35 (±0.16) ^{aB}	22.40 (±0.17) ^{aAB}
	8	25.73 (±0.20) ^{aA}	24.32 (±0.16) ^{aA}	26.27 (±0.21) ^{aA}	24.14 (±0.02) ^{aA}
	12	23.45 (±0.15) ^{aAB}	20.85 (±0.18) ^{abB}	21.71 (±0.20) ^{abB}	20.24 (±0.14) ^{bB}
h*ab	0	55.70 (±0.01) ^{aA}	52.66 (±0.20) ^{aA}	51.51 (±0.22) ^{aA}	53.00 (±0.13) ^{aA}
	4	53.57 (±0.11) ^{abAB}	47.27 (±0.18) ^{bA}	54.74 (±0.19) ^{aA}	50.96 (±0.05) ^{abA}
	8	49.91 (±0.04) ^{aB}	47.93 (±0.24) ^{aA}	49.96 (±0.06) ^{aA}	48.23 (±0.16) ^{aA}
	12	43.53 (±0.13) ^{cC}	47.16 (±0.15) ^{bcA}	54.30 (±0.09) ^{aA}	53.16 (±0.23) ^{abA}
Cold temperature					
L	0	36.08 (±0.12) ^{aA}	34.86 (±0.07) ^{bC}	35.63 (±0.13) ^{abD}	33.94 (±0.5) ^{cD}
	6	36.33 (±0.08) ^{aA}	35.08 (±0.13) ^{bC}	36.22 (±0.18) ^{aCD}	35.51 (±0.12) ^{bC}
	12	36.76 (±0.13) ^{bA}	35.98 (±0.22) ^{bB}	36.91 (±0.09) ^{bBC}	38.05 (±0.18) ^{aB}
	18	36.86 (±0.18) ^{bcA}	36.13 (±0.21) ^{cB}	37.16 (±0.03) ^{bAB}	38.59 (±0.15) ^{aB}
	24	36.94 (±0.09) ^{cA}	38.15 (±0.19) ^{bA}	37.95 (±0.16) ^{bA}	40.24 (±0.04) ^{aA}
a	0	15.72 (±0.15) ^{aA}	13.10 (±0.08) ^{bA}	12.20 (±0.07) ^{cA}	12.98 (±0.16) ^{bA}
	6	15.13 (±0.08) ^{aAB}	13.30 (±0.10) ^{bA}	12.21 (±0.14) ^{cA}	13.00 (±0.14) ^{bA}
	12	14.73 (±0.18) ^{aB}	13.07 (±0.13) ^{bA}	12.21 (±0.16) ^{cA}	13.04 (±0.09) ^{bA}
	18	13.02 (±0.19) ^{abC}	13.09 (±0.09) ^{aA}	12.25 (±0.11) ^{bA}	13.07 (±0.10) ^{aA}
	24	12.26 (±0.20) ^{bC}	13.15 (±0.15) ^{aA}	12.26 (±0.07) ^{bA}	13.84 (±0.14) ^{abA}
b	0	22.51 (±0.05) ^{aA}	20.95 (±0.17) ^{bA}	21.19 (±0.21) ^{bA}	19.75 (±0.04) ^{cA}
	6	22.05 (±0.16) ^{aA}	20.17 (±0.06) ^{cB}	20.80 (±0.13) ^{bAB}	18.95 (±0.15) ^{dB}
	12	20.18 (±0.04) ^{aB}	19.17 (±0.07) ^{bC}	20.18 (±0.08) ^{aB}	18.67 (±0.16) ^{bB}
	18	17.44 (±0.12) ^{cC}	18.72 (±0.12) ^{bC}	20.15 (±0.14) ^{aB}	18.55 (±0.13) ^{bBC}
	24	17.15 (±0.11) ^{bC}	17.12 (±0.13) ^{bD}	18.05 (±0.19) ^{aC}	18.17 (±0.09) ^{aC}
C*ab	0	21.15 (±0.15) ^{aC}	21.56 (±0.21) ^{aB}	21.01 (±0.13) ^{aB}	23.38 (±0.08) ^{aA}
	6	21.89 (±0.11) ^{aBC}	22.16 (±0.16) ^{aB}	23.38 (±0.07) ^{aAB}	24.86 (±0.04) ^{aA}
	12	25.07 (±0.18) ^{aAB}	24.27 (±0.12) ^{aAB}	24.64 (±0.09) ^{aAB}	22.83 (±0.19) ^{aA}
	18	27.49 (±0.02) ^{aA}	24.40 (±0.05) ^{aAB}	26.44 (±0.14) ^{aA}	23.66 (±0.15) ^{aA}
	24	26.89 (±0.12) ^{aA}	26.53 (±0.18) ^{aA}	25.58 (±0.13) ^{abA}	23.59 (±0.22) ^{bA}
h*ab	0	54.65 (±0.06) ^{abA}	52.80 (±0.16) ^{bA}	60.91 (±0.15) ^{aA}	53.13 (±0.16) ^{bA}
	6	53.40 (±0.15) ^{aA}	58.92 (±0.10) ^{aA}	58.53 (±0.16) ^{aAB}	52.74 (±0.12) ^{aA}
	12	54.11 (±0.20) ^{aA}	57.06 (±0.09) ^{aA}	59.93 (±0.12) ^{aAB}	54.85 (±0.15) ^{aA}
	18	55.43 (±0.05) ^{aA}	52.58 (±0.13) ^{aA}	52.02 (±0.08) ^{aB}	50.45 (±0.08) ^{aA}
	24	55.96 (±0.21) ^{aA}	52.30 (±0.22) ^{aA}	53.07 (±0.13) ^{aAB}	54.12 (±0.15) ^{aA}

Control: 0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of chitosan and essential oil; CHI 4 + OVEO 1.25; CHI 4 mg/mL + OVEO 1.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$. A-D 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. 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 a same storage period) according to Tukey's test.

Supplementary Table 4. Mean values of the sensory attributes in cherry tomato fruit uncoated and coated with chitosan (CHI) and *O. vulgare* L. essential oil (OVEO), followed by storage at room temperature (25 °C, 12 days) or cold temperature (12 °C, 24 days).

Attributes	Storage time (days)	Control	CHI 4	OVEO 1.25	CHI 4 + OVEO 1.25
Appearance	0	7.93 (± 0.13) ^{aB}	7.87 (± 0.02) ^{aC}	8.10 (± 0.10) ^{aA}	7.73 (± 0.13) ^{aB}
	6	8.03 (± 0.15) ^{bB}	8.23 (± 0.07) ^{bA}	8.17 (± 0.13) ^{bA}	8.80 (± 0.14) ^{aA}
	12	8.20 (± 0.06) ^{bA}	8.00 (± 0.11) ^{bB}	8.00 (± 0.04) ^{bA}	8.60 (± 0.01) ^{aA}
Color	0	7.70 (± 0.05) ^{aB}	7.70 (± 0.22) ^{aB}	7.77 (± 0.16) ^{aB}	7.50 (± 0.14) ^{aB}
	6	8.03 (± 0.15) ^{bAB}	8.07 (± 0.17) ^{bA}	8.07 (± 0.13) ^{bA}	8.95 (± 0.17) ^{aA}
	12	8.30 (± 0.09) ^{bA}	7.90 (± 0.26) ^{bAB}	8.10 (± 0.01) ^{bA}	8.89 (± 0.07) ^{aA}
Flavor	0	7.20 (± 0.22) ^{aB}	6.97 (± 0.11) ^{aB}	7.20 (± 0.16) ^{aA}	7.30 (± 0.19) ^{aB}
	6	7.77 (± 0.07) ^{aA}	7.70 (± 0.19) ^{aA}	7.70 (± 0.19) ^{aA}	7.87 (± 0.17) ^{aAB}
	12	8.20 (± 0.19) ^{aA}	7.80 (± 0.06) ^{aA}	7.70 (± 0.09) ^{aA}	8.00 (± 0.21) ^{aB}
Taste	0	7.43 (± 0.24) ^{aB}	7.43 (± 0.16) ^{aA}	7.67 (± 0.18) ^{aA}	7.37 (± 0.16) ^{aB}
	6	7.50 (± 0.14) ^{bB}	7.73 (± 0.21) ^{bA}	7.60 (± 0.19) ^{bA}	8.70 (± 0.17) ^{aA}
	12	7.90 (± 0.16) ^{bA}	7.67 (± 0.14) ^{bA}	7.40 (± 0.07) ^{bA}	8.37 (± 0.14) ^{aA}
Aftertaste	0	7.40 (± 0.23) ^{aA}	7.13 (± 0.17) ^{aA}	7.47 (± 0.14) ^{aA}	7.00 (± 0.13) ^{aB}
	6	7.73 (± 0.08) ^{aA}	7.50 (± 0.12) ^{aA}	7.37 (± 0.11) ^{aA}	7.60 (± 0.17) ^{aA}
	12	7.80 (± 0.19) ^{aA}	7.40 (± 0.23) ^{abA}	7.20 (± 0.01) ^{bA}	7.80 (± 0.06) ^{aA}
Firmness	0	7.50 (± 0.20) ^{aB}	7.37 (± 0.06) ^{aA}	7.83 (± 0.13) ^{aA}	7.50 (± 0.16) ^{aA}
	6	7.53 (± 0.17) ^{aB}	7.77 (± 0.20) ^{aA}	7.73 (± 0.08) ^{aA}	7.63 (± 0.09) ^{aA}
	12	8.20 (± 0.19) ^{aA}	7.70 (± 0.22) ^{aA}	7.70 (± 0.09) ^{aA}	8.00 (± 0.09) ^{aA}
Overall evaluation	0	7.57 (± 0.07) ^{aA}	7.53 (± 0.12) ^{aA}	7.43 (± 0.17) ^{aA}	7.03 (± 0.16) ^{aB}
	6	7.63 (± 0.19) ^{aA}	7.67 (± 0.16) ^{aA}	7.63 (± 0.11) ^{aA}	7.70 (± 0.09) ^{aA}
	12	7.80 (± 0.16) ^{aA}	7.30 (± 0.22) ^{aA}	7.40 (± 0.23) ^{aA}	7.73 (± 0.21) ^{aA}

Control: 0 μ L/mL of chitosan and essential oil; CHI 4 + OVEO 1.25: CHI 4 mg/mL + OVEO 1.25 μ L/mL. A-C 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. a-b 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 a same storage period) according to Tukey's test.