



OSTÓLIO ALBINO AMÉRICO MUTALIANO

**EFEITO DE QUITOSANA ADICIONADO DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) E TOMILHO
(*Thymus vulgaris*) NA INIBIÇÃO DE *Pectobacterium*
carotovorum subsp. *carotovorum* INOCULADO EM TOMATE
(*Solanum lycopersicum*)**

**LAVRAS – MG
2026**

OSTÓLIO ALBINO AMÉRICO MUTALIANO

**EFEITO DE QUITOSANA ADICIONADO DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) E TOMILHO (*Thymus vulgaris*) NA
INIBIÇÃO DE *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* INOCULADO EM
TOMATE (*Solanum lycopersicum*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli
Orientadora

**LAVRAS - MG
2026**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Mutaliano, Ostólio Albino Américo.

Efeito de quisotana adicionado de óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) na inibição de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* inoculado em tomate (*Solanum lycopersicum*) / Ostólio Albino Américo Mutaliano. - 2026.

72 p. : il.

Orientadora: Roberta Hilsdorf Piccoli

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2026.
Bibliografia.

1. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. 2. quitosana. 3. óleos essenciais. 4. conservação pós-colheita. I. Hilsdorf Piccoli, Roberta. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

OSTÓLIO ALBINO AMÉRICO MUTALIANO

EFEITO DE QUITOSANA ADICIONADO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) E TOMILHO (*Thymus vulgaris*) NA INIBIÇÃO DE *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* INOCULADO EM TOMATE (*Solanum lycopersicum*)

EFFECT OF CHITOSAN WITH ADDED ESSENTIAL OILS OF OREGANO (*Origanum vulgare*) AND THYME (*Thymus vulgaris*) IN THE INHIBITION OF *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* INOCULATED IN TOMATO (*Solanum lycopersicum*)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 08 de setembro de 2025

Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli

UFLA

Profa. Dra. Elisangela Elena Nunes de Carvalho

UFLA

Dra. Monique Suela Silva

UFLA

Documento assinado digitalmente
 **ROBERTA HILSDORF PICCOLI**
Data: 22/06/2026 23:04:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli
Orientadora

**LAVRAS - MG
2026**

Á minha mãe Arlinda Abel Marques, que já não está entre nós de forma física, mas sei que continua me guiando e dando forças nesta nobre caminhada acadêmica. Ao meu Pai Albino Américo Mutaliano, meu eterno amigo e exemplo de motivação e conselheiro. A minha esposa Nucha Chapala, e o meu filho Nathaniel que mesmo distante têm me dado suporte, tive que os deixar e rumar para bem longe a busca desta nobre oportunidade de se formar.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus, pelo dom da vida.

Aos meus pais, Arlinda Abel Marques e Albino Américo Mutaliano, por toda a educação e as oportunidades que me proporcionaram, que foram fundamentais para a minha formação.

À minha esposa, Nucha Chapala, e ao meu filho, Nathaniel Mutaliano, pelo constante apoio emocional e motivacional, pesaembora à distância, fizeram parte dos acontecimentos, o que foi essencial para objetivo alcançado.

Aos meus irmãos: José, Júlio e Raimundo, aos tios(as), primos(as), cunhados(as) e sobrinhos(as), também aos meus sogros Ângelo Chapala e Ilda Range, o meu muito obrigado pelo apoio.

Um especial agradecimento a professora Roberta Hilsdorf Piccoli, por ter me aceitado orientar neste trabalho. Agradeço por sua paciência em acomodar minhas dúvidas e sugestões em prol da pesquisa. Sua liderança, dedicação e prontidão em contribuir e oferecer soluções para os estudantes no Laboratório de Microbiologia de Alimentos. Aos Professores Eduardo Vilas Boas e Elisangela pelo suporte e aconselhamento nas técnicas de pós-colheita, e ao Professor Sebastião pelo apoio na concepção e nas técnicas de produção de tomate no CDTT.

À Universidade Federal de Lavras por me abrir as portas e possibilitar o meu ingresso na academia, em especial ao Departamento de Ciências dos Alimentos. Estendo meus agradecimentos a todos os professores que lecionaram as disciplinas e aos departamentos que tornaram este trabalho de pesquisa possível, incluindo os laboratórios de Microbiologia de Alimentos, Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças (Ingrid, Danielle, Elano, Lolla Ribeiro e Gilson), ao laboratório de Fitopatologia, e o Departamento de Olericultura, que marcaram o início desta longa jornada.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001”

À Pamela, técnica de laboratório, e aos meus colegas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos: Anderson, Bruna, Monica, Monique, Jessica, Fernanda, Manuel, Mariana, Natalia, Michele, Nathan, Luiz, Dany, Poliana e Isabela. Agradeço por cada jornada ao longo dos dois anos de curso, por todos os ensinamentos, experiências, motivação, tempo e disponibilidade para me orientar na vida acadêmica.

Por fim, a todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste sonho.

Meu muito obrigado!

"Pois desde a criação do mundo os atributos invisíveis de Deus, seu eterno poder e sua natureza divina, são vistos claramente, sendo compreendidos por meio das coisas criadas, de forma que tais homens são indesculpáveis."

(Romanos 1:20)

RESUMO

Apesar dos avanços tecnológicos em conservação pós-colheita, fatores bióticos e abióticos ainda comprometem a qualidade de frutas e hortaliças, ocasionando perdas econômicas expressivas. Entre os principais agentes envolvidos destaca-se *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc), bactéria fitopatogênica Gram-negativa, anaeróbia facultativa e mesofílica, responsável pela podridão mole em diversos hospedeiros, como tomate, batata, cenoura, pimentão, entre outros. Nesse contexto, cresce o interesse por alternativas sustentáveis de controle, destacando-se os revestimentos comestíveis. A quitosana, biopolímero obtido da desacetilação da quitina possui propriedades antimicrobianas e antioxidantes que, quando associada aos óleos essenciais ricos em compostos fenólicos, como orégano (*Origanum vulgare*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) podem apresentar um filme com ótima atividade antimicrobiana e antioxidante. O presente estudo avaliou o efeito de revestimentos comestíveis à base de quitosana adicionados de óleos essenciais sobre a inibição de Pcc inoculado em tomates (*Solanum lycopersicum*) *in natura* durante o armazenamento de 12 dias. Foram utilizados 216 frutos da variedade italiana Gyottone, que foram submetidos a diferentes tratamentos (T1-Controle, T2- revestimento de Quitosana e T3- revestimento de Quitosana e Óleos essenciais). Análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas durante os 12 dias de armazenamento. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Os revestimentos reduziram significativamente a atividade do patógeno em relação ao controle e preservaram os atributos de qualidade mensurados, com destaque para menor perda de massa nos frutos tratados quando comparados ao controle. Conclui-se que os revestimentos à base de quitosana, especialmente quando combinados a óleos essenciais, apresentam desempenho promissor para prolongar a vida útil e mitigar perdas pós-colheita de tomates.

Palavras-chave: *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*; quitosana; óleos essenciais e conservação pós-colheita.

ABSTRACT

Despite technological advances in post-harvest conservation, biotic and abiotic factors still compromise the quality of fruits and vegetables, causing significant economic losses. Among the main agents involved is *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc), a Gram-negative, facultatively anaerobic, and mesophilic phytopathogenic bacterium responsible for soft rot in various hosts, such as tomato, potato, carrot, and bell pepper, among others. In this context, there is growing interest in sustainable control alternatives, with special attention to edible coatings based on chitosan, a biopolymer obtained from the deacetylation of chitin with antimicrobial and antioxidant properties. These are often associated with essential oils rich in phenolic compounds, such as oregano (*Origanum vulgare*) and thyme (*Thymus vulgaris*). The present study evaluated the effect of chitosan-based edible coatings supplemented with essential oils on the inhibition of Pcc inoculated in tomatoes (*Solanum lycopersicum*) during 12 days of *in natura* storage. The experiment was conducted at the Federal University of Lavras (UFLA), using 216 'Gyotone' Italian variety fruits. These were subjected to three different treatments: T1-Control, T2-Chitosan, and T3-Chitosan + Essential Oils. Microbiological and physicochemical analyses were performed throughout the 12-day storage period. The obtained data were subjected to analysis of variance (ANOVA), and means were compared using Tukey's test ($p < 0.05$). The coatings significantly reduced pathogen activity compared to the control and preserved the measured quality attributes, notably showing less mass loss in the treated fruits. It is concluded that chitosan-based coatings, especially when combined with essential oils, exhibit a promising performance for extending the shelf life and mitigating post-harvest losses in tomatoes, with the potential for broader application in other fruits and vegetables.

Keywords: *Pectobacterium carotovorum*; chitosan; essential oils and postharvest conservation.

INDICADORES DE IMPACTO

O impacto desta pesquisa pode ser mensurado pela relevância prática dos resultados obtidos. A utilização de revestimentos comestíveis à base de quitosana adicionados aos óleos essenciais demonstraram não apenas a inibição efetiva de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, mas também a manutenção da qualidade físico-química, mantendo os atributos sensoriais dos frutos de tomate durante o armazenamento. Esses efeitos traduzem-se em benefícios diretos para o setor produtivo, uma vez que reduzem perdas pós-colheita, prolongam a vida útil comercial e oferecem alternativa sustentável ao uso de produtos químicos convencionais. Já em termos de abrangência, o estudo evidencia o potencial de aplicação da tecnologia em outras frutas e hortaliças, reforçando seu caráter inovador e contribuindo para maior competitividade do agronegócio e diminuição do desperdício alimentar, além de atender às demandas de consumidores e mercados cada vez mais voltados a soluções naturais e ambientalmente responsáveis.

IMPACT INDICATORS

The impact of this research can be measured by the practical relevance of the results obtained. The use of chitosan-based edible coatings added to essential oils demonstrated not only effective inhibition of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* but also the maintenance of physicochemical quality, preserving the sensory attributes of tomato fruits during storage. These effects translate into direct benefits for the production sector, as they reduce post-harvest losses, extend commercial shelf life, and offer a sustainable alternative to the use of conventional chemicals. However, in terms of scope, the study highlights the potential for applying the technology to other fruits and vegetables, reinforcing its innovative nature and contributing to greater agribusiness competitiveness and reducing food waste, in addition to meeting the demands of consumers and markets increasingly focused on natural and environmentally responsible solutions.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	O tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	13
2.2	<i>Pectobacterium carotovora</i>	14
2.3	Mecanismo de ação e virulência de <i>Pectobacterium carotovora</i>	17
2.4	Métodos de controle	18
2.4.1	Convencionais	18
2.4.2	Biológicos	18
2.4.3	Tecnologias emergentes	19
2.4.4	Revestimentos comestíveis e óleos essenciais	19
2.4.5	Estratégias combinadas	19
2.4.5.1	Quitosana: fontes de obtenção, propriedades e aplicações	20
2.4.5.2	Óleos essenciais: agentes bioativos complementares	24
2.4.5.2.1	Óleo essencial de orégano (<i>Origanum vulgare</i>)	25
2.4.5.2.2	Óleo essencial de tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>)	26
2.5	Ação antimicrobiana dos óleos essenciais	26
2.5.1	Sinergia com a quitosana	26
2.6	Aceitação sensorial	26
2.7	Legislação brasileira sobre revestimentos comestíveis	28
2.8	Aplicações práticas e resultados recentes	30
2.9	Considerações finais do referencial teórico	32
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	Locais de condução do experimento	33
3.2	Cultivo do tomate	33
3.3	Colheita, transporte e higienização dos frutos	34
3.4	Óleos essenciais e caracterização química	36
3.5	Análises microbiológicas <i>in vitro</i>	37
3.5.1	Microrganismo, manutenção e padronização do inóculo	37
3.5.2	Determinação das concentrações mínimas bactericidas dos óleos essenciais sobre <i>Pectobacterium carotovorum</i>	37
3.5.3	Avaliação do sinergismo dos óleos essenciais (OE's)	38
3.5.4	Comparação da atividade antimicrobiana de quitosana e misturas de óleos essenciais sobre <i>Pectobacterium carotovorum</i>	39
3.6	Atividade antioxidante das misturas dos óleos essenciais de tomilho e orégano	40
3.7	Preparação dos revestimentos com quitosana	41
3.8	Aplicação do revestimento e inoculação de Pcc no tomate	42
3.9	Análise físico-química	42
3.9.1	Análise Física	43
3.9.1.1	Coloração	43
3.9.1.2	Perda de massa (%)	43
3.9.1.3	Firmeza	43
3.9.2	Análise Química	43
3.9.2.1	pH, Acidez titulável (AT) e sólidos solúveis (SS)	43
3.10	Compostos Bioativos	44
3.10.1	Quantificação de compostos fenólicos totais	44
3.10.1.1	Método de Folin-Ciocalteu	44
3.10.1.2	Método Fast Blue	44

3.10.1.3	Atividade Antioxidante	44
3.11	Delineamento experimental e análise estatística	45
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1	Caracterização química dos óleos essenciais	46
4.2	Concentração mínima bactericida dos óleos (CMB) e Concentração mínima inibitória (CMI)	58
4.2.1	Avaliação de sinergismo entre os óleos essenciais	59
4.2.2	Comparação da atividade antimicrobiana de misturas de óleos essenciais e quitosana	51
4.3	Atividade antimicrobiana do revestimento de quitosana adicionado de óleos essenciais sobre <i>Pectobacterium carotovora</i> inoculada em tomates	52
4.4	Caracterização físico-química	56
4.4.1	Perda de massa	56
4.4.2	Cor	58
4.4.3	Firmeza	59
4.4.4	pH, acidez titulável e sólidos solúveis	60
4.5	Fenólicos totais e capacidade antioxidante do material de revestimento	62
5	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

O processo de conservação pós-colheita é fundamental para prolongar a vida útil dos alimentos, garantindo a preservação de atributos sensoriais, nutricionais e de segurança, frequentemente comprometidos por fatores bióticos e abióticos. O tomate (*Solanum lycopersicum*) destaca-se dentre os frutos de maior relevância econômica e social, em virtude de sua ampla aceitação pelos consumidores, elevado valor nutricional e considerável teor de compostos bioativos como licopeno, carotenoides e vitamina C (FAO, 2023). A produção mundial ultrapassa 189 milhões de toneladas anuais, concentrando-se principalmente na China, Índia, Turquia, Estados Unidos e Brasil (ZHANG *et al.*, 2021). Contudo, a alta perecibilidade desse fruto resulta em perdas pós-colheita estimadas entre 25% e 40% da produção total, ocasionando impactos significativos sobre a segurança alimentar e a economia (SINGH *et al.*, 2020; KHAN *et al.*, 2022).

Entre os principais problemas fitossanitários do tomate no período pós-colheita destaca-se a podridão mole bacteriana, causada por *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc), bactéria Gram-negativa pertencente à família *Enterobacteriaceae* (WANG *et al.*, 2015). Esse fitopatógeno possui ampla gama de hospedeiros e elevada capacidade de degradação tecidual em razão da produção de enzimas pectinolíticas, como pectato-liases e poligalacturonases, que comprometem a integridade da parede celular vegetal (CHARKOWSKI, 2018; PANDEY *et al.*, 2021). Em condições inadequadas de transporte e armazenamento, a doença pode evoluir rapidamente, levando a perdas severas e até totais da produção (LI *et al.*, 2022).

Os métodos convencionais de controle, baseados no uso de desinfetantes químicos e na refrigeração, apresentam limitações quanto à eficácia, à segurança do consumidor e ao impacto ambiental (AHMED *et al.*, 2020). Nesse cenário, cresce o interesse por alternativas naturais e sustentáveis, dentre as quais se destacam os biopolímeros e os óleos essenciais com reconhecida atividade antimicrobiana. A quitosana, polissacarídeo catiônico obtido pela desacetilação da quitina, apresenta propriedades biodegradáveis, formadoras de filme e atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, atuando principalmente pelo rompimento da membrana celular (DUAN *et al.*, 2019; POPESCU *et al.*, 2022). De forma complementar, os óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) contêm compostos fenólicos, como carvacrol e timol, capazes de desestabilizar membranas e inibir enzimas essenciais, potencializando a ação antimicrobiana (BAYRAM *et al.*, 2020; GARCÍA *et al.*, 2023) de um revestimento a base de quitosana.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de revestimentos à base de quitosana, adicionados de óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*) e tomilho (*Thymus vulgaris*), sobre *Pectobacterium carotovorum* inoculado em tomates (*Solanum lycopersicum*).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O tomate (*Solanum lycopersicum*)

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é cultivado em todos os continentes, adaptando-se a diferentes condições edafoclimáticas, embora apresente maior produtividade em regiões com temperaturas moderadas e radiação solar adequada (FAO, 2023). No Brasil, o cultivo ocorre tanto em campo aberto quanto em ambiente protegido, com destaque para os estados de Goiás, São Paulo, Minas Gerais e Bahia, responsáveis por grande parte da produção nacional (IBGE, 2022).

A cultura do tomate apresenta grande importância econômica e social, não apenas pelo consumo *in natura*, mas também pelo processamento industrial, que inclui a produção de molhos, extratos, sucos e outros derivados (ZHANG *et al.*, 2021). Do ponto de vista nutricional, o tomate é fonte relevante de vitaminas A, C e E, minerais e fitoquímicos bioativos, como licopeno e β - caroteno, que apresentam propriedades antioxidantes associadas à prevenção de doenças crônicas (PINHEIRO *et al.*, 2020).

Apesar de sua relevância, o tomate é altamente perecível devido ao elevado teor de água e à intensa atividade metabólica no período pós-colheita (KHAN *et al.*, 2022). Fatores como danos mecânicos, variações de temperatura, umidade relativa elevada e ataques de patógenos contribuem para acelerar a deterioração e reduzir sua vida útil (SINGH *et al.*, 2020). Entre os patógenos, destacam-se fungos como *Alternaria alternata* e *Botrytis cinerea*, e bactérias como *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, causadora da podridão mole bacteriana (PANDEY *et al.*, 2021).

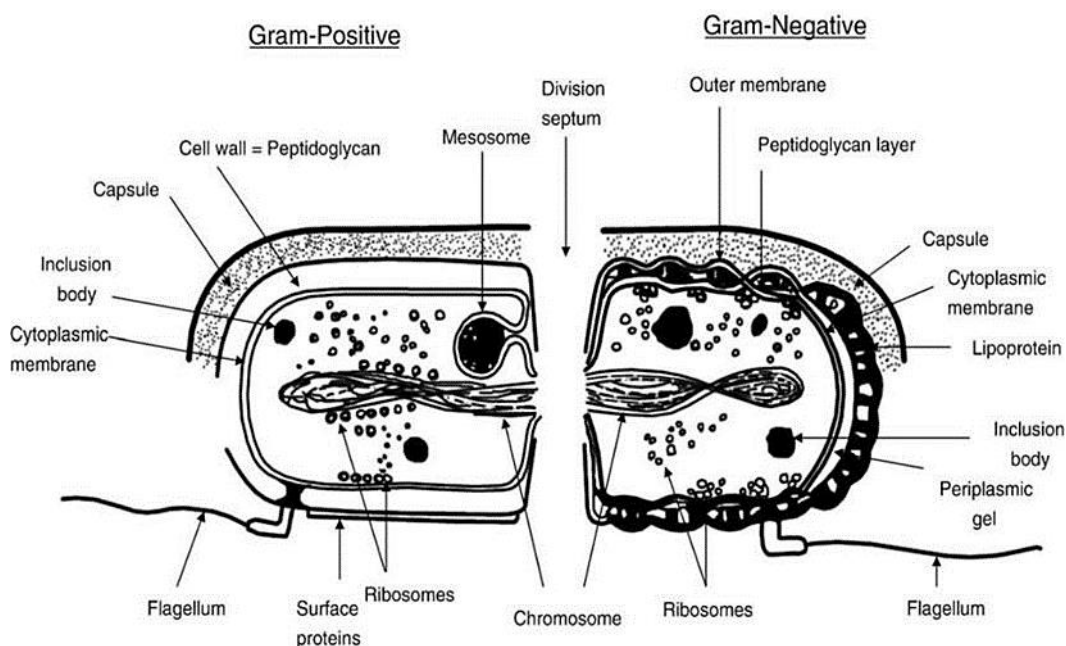
A qualidade e a durabilidade pós-colheita podem ser influenciadas por práticas de manejo desde a fase de cultivo até o armazenamento e comercialização. Técnicas como colheita no ponto de maturação fisiológica, uso de embalagens adequadas e aplicação de revestimentos comestíveis vêm sendo estudadas para reduzir as perdas e manter as características sensoriais e nutricionais do fruto (AHMED *et al.*, 2020; GARCÍA *et al.*, 2023).

Recentemente, pesquisas têm enfatizado a importância de métodos naturais e sustentáveis para prolongar a vida útil do tomate, destacando-se a aplicação de biopolímeros como a quitosana, em associação ou não com óleos essenciais, que além de formar uma barreira física contra a perda de água e entrada de patógenos, pode exercer ação antimicrobiana direta (EL-KHOLY *et al.*, 2021; BASTOS *et al.*, 2021).

2.2 *Pectobacterium carotovora*

As espécies de *Pectobacterium* são bactérias Gram-negativas (Figura 1), fitopatogênicas pertencentes à família *Pectobacteriaceae*. Juntamente com as espécies de *Dickeya*, essas bactérias formam os principais agentes patogênicos de doenças como canela preta, podridão aérea do caule e podridão mole na batata e outros vegetais como aipo, cenoura, tomate e várias culturas no campo e em armazenamento em todo o mundo (PEROMBELON *et al.*, 1980).

Figura 1 – Estrutura de Bactéria Gram positiva e Gram-negativa



Fonte: Adaptado de Vijayaraghavan (2010)

Esse fitopatógeno apresenta ampla gama de hospedeiros e elevada capacidade de degradação tecidual em razão da produção de enzimas pectinolíticas, como pectato-liases e poligalacturonases, que comprometem a integridade da parede celular vegetal (CHARKOWSKI, 2018; PANDEY *et al.*, 2021).

A podridão mole bacteriana é uma das principais doenças pós-colheita que acometem o tomate sendo responsável por perdas significativas durante o transporte, armazenamento e comercialização (CHARKOWSKI, 2018; PANDEY *et al.*, 2021). Essa doença é causada principalmente por bactérias do gênero *Pectobacterium* (Tabela 1), notadamente *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc), e por espécies de *Dickeya* em algumas regiões.

Tabela 1 – Taxonomia da *Pectobacterium carotovorum*.

Espécie e subespécie	Autor(s)
<i>Pectobacterium carotovorum</i>	Jonas e Bergey.D, (1923)
<i>Pectobacterim carotovorum</i> subsp. <i>atroseptica</i>	Dye, (1969)
<i>Pectobacterim carotovorum</i> subsp. <i>betavasculorum</i>	Thomson <i>et al.</i> , (1984)
<i>Pectobacterim carotovorum</i> subsp. <i>carotovora</i>	Jonas e Bergey.D, (1923)
<i>Pectobacterim carotovorum</i> subsp. <i>Wasabiae</i>	Goto e Matsumoto, (1987)

Fonte: Do autor (2025)

O patógeno apresenta ampla gama de hospedeiros (Tabela 2), incluindo vegetais como batata, cenoura, pepino e pimentão, além de ornamentais e outras plantas de interesse econômico (LI *et al.*, 2022). Sua capacidade de causar doença está associada à produção de um conjunto de enzimas pectinolíticas, como pectato-liases, poligalacturonases e pectina metilesterases, que degradam a lamela média e desorganizam as paredes celulares, levando à maceração dos tecidos vegetais (VAN GIJSEGEM *et al.*, 2021).

As condições ambientais exercem papel fundamental na severidade da doença. Temperaturas elevadas (25–30 °C), alta umidade relativa e presença de lesões mecânicas no fruto favorecem o desenvolvimento rápido do patógeno e a manifestação dos sintomas (ZHANG *et al.*, 2021). Os sintomas típicos incluem áreas encharcadas, odor desagradável e colapso dos tecidos, evoluindo para liquefação completa da polpa (BAYRAM *et al.*, 2020). O controle da podridão mole bacteriana é complexo, pois o patógeno pode estar presente de forma latente nos tecidos vegetais ou na superfície dos frutos, sendo ativado por estresses físicos ou fisiológicos (PANDEY *et al.*, 2021). Métodos convencionais incluem boas práticas agrícolas, desinfecção com agentes químicos e refrigeração, mas tais medidas nem sempre são eficazes ou economicamente viáveis em larga escala (AHMED *et al.*, 2020). Diante dessas limitações, estudos recentes têm focado no desenvolvimento de estratégias alternativas, como o uso de revestimentos comestíveis à base de quitosana, aplicação de óleos essenciais e combinações sinérgicas entre agentes naturais, que além de reduzir a incidência da doença, podem contribuir para a manutenção da qualidade sensorial e nutricional do tomate (EL-KHOLY *et al.*, 2021; GARCÍA *et al.*, 2023).

Tabela 2 – Ocorrência de espécies de bactérias fitopatogênicas pectinolíticas no Brasil

(Continua)

Hospedeiro	Nome científico	Espécie 1 /Subespécie
Abobrinha	<i>Curcubita pepo</i>	<i>Pa, Pcc</i>
Acelga	<i>Beta vulgaris</i> var. <i>cicla</i>	<i>Pa, Pcc</i>
Acelga chinesa	<i>Brassica campestris</i> var. <i>sinensis</i>	<i>Pectobacterium</i> spp.
Alcachofra	<i>Cynara scolymus</i>	<i>Pcc</i>
Alface	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Pa, Pcc</i>
Alho	<i>Allium sativum</i>	<i>Pcc</i>
Amaranto	<i>Amaranthus spinosus</i>	<i>Pcc</i>
Banana	<i>Musa spp</i>	<i>Pcc</i>
Batata	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Pa, Pcc, Dch</i>
Batata-doce	<i>Ipomoea batatas</i>	<i>Pcc</i>
Batata baroa	<i>Arracacia xanthorrhiza</i>	<i>Pa, Pcc, Dch</i>
Beterraba	<i>Beta vulgaris</i> var. <i>bortensis</i>	<i>Pcc</i>
Brócolos	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	<i>Pcc</i>
Cebola	<i>Allium cepa</i>	<i>Pcc</i>
Cebolinha	<i>Allium fistulosum</i>	<i>Pa, Pcc, Dch</i>
Cenoura	<i>Daucus carota</i>	<i>Pa, Pcc</i>
Chicória	<i>Cichorium endivia</i>	<i>Pa, Pcc</i>
Coentro	<i>Coriandrum sativum</i>	<i>Pcc</i>
Couve	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i>	<i>Pcc</i>
Couve-Flor	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	<i>Pa, Pcc</i>
Cravo	<i>Dianthus caryophyllus</i>	<i>Dch</i>
Crisântemo	<i>Chrysanthemum</i> spp.	<i>Dch</i>
Erva picão	<i>Bidens pilosa</i>	<i>Pa</i>
Ervilha	<i>Pisum sativum</i>	<i>Pectobacterium</i> spp.
Espinafre	<i>Spinacea oleraceae</i>	<i>Pcc</i>
Espinafre de Nova Zelândia	<i>Tetragonia expansa</i>	<i>Pectobacterium</i> spp.
Fumo	<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Pcc</i>
Girassol	<i>Helianthus annuus</i>	<i>Pa, Pcc, Dch</i>
Jiló	<i>Solanum gilo</i>	<i>Pectobacterium</i> spp.
Mamão	<i>Carica papaya</i>	<i>Pa</i>
Mandioca	<i>Manihot esculenta</i>	<i>Pa, Pcc</i>
Manga	<i>Mangifera indica</i>	<i>Pcc</i>
Maracujá	<i>Passiflora edulis</i>	<i>Pcc</i>
Melão	<i>Cucumis melo</i>	<i>Pcc</i>
Milho-doce	<i>Zea mays</i>	<i>Dch</i>
Mostarda	<i>Sinapsis arvensis</i>	<i>Pcc</i>
Nabo	<i>Brassica napus</i> var. <i>napobrassica</i>	<i>Pcc</i>
Orquídea	<i>Cattleya</i> spp.	<i>Pcc, Dch</i>
Palma forrageira	<i>Opuntia</i> sp.	<i>Pcc</i>
Pepino	<i>Cucumis sativus</i>	<i>Pca, Pcc</i>
Picão	<i>Bidens pilosa</i>	<i>Pectobacterium</i> spp.
Pimenta	<i>Capsicum frutescens</i>	<i>Pcc</i>

Tabela 2 – Ocorrência de espécies de bactérias fitopatogênicas pectinolíticas no Brasil
(Conclusão)

Hospedeiro	Nome científico	Espécie ¹ /Subespécie
Pimentão	<i>Capsicum annuum</i>	<i>Pa</i> , <i>Pcc</i> , <i>Dch</i>
Prímula	<i>Primula sp.</i>	<i>Pcc</i>
Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>Pcc</i>
Rabanete	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Pa</i> , <i>Pcc</i>
Repolho	<i>Brassica oleracea var. capitata</i>	<i>Pa</i> , <i>Pcc</i>
Rúcula	<i>Eruca sativa</i>	<i>Pcc</i> , <i>Dch</i>
Strapelia variegada	<i>Strapelia variegada</i>	<i>Pcc</i>
Salsa	<i>Petrselinum crispum</i>	<i>Pa</i>
Tomate	<i>Sollanum esculentum</i>	<i>Pa</i> , <i>Pcc</i> , <i>Dch</i>

Legenda: **Pa**= *Pectobacterium atrosepticum*, **Pcc**=*Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum*, **Dch**= *Dickeya chrysanthemi*

Fonte: Adaptado de Michereff; Mariano (1993); Takatsu (1993); Marques *et al.* (1994); Lopes; Quezado-Soares (1997)

2.3 Mecanismo de ação e virulência de *Pectobacterium carotovora*

A virulência e a patogenicidade dessas bactérias dependem de sua capacidade de produzir e secretar grandes quantidades de ampla gama de enzimas extracelulares que degradam a parede celular vegetal *Plant Cell Wall-Degrading Enzymes* (PCWDE), exoenzimas, incluindo pectato liases (Pel), poligalacturonases (Peh), proteases (Prt) e celulasas (Cel), que causam extensa maceração tecidual, apodrecimento e subsequente morte de toda a planta (BARRAS *et al.*, 1994). Essas enzimas são reguladas coordenadamente por mecanismos transcricionais e pós-transcricionais envolvendo complexa rede de proteínas reguladoras positivas e negativas. Essa regulação, por sua vez, é influenciada por fatores fisiológicos e ambientais, incluindo sinais químicos produzidos pelo patógeno e pelo hospedeiro (OLIVEIRA *et al.*, 1986).

Enzimas de maceração extracelular, como Peh, Pel, Cel, xilanase e Prt, são importantes fatores patogênicos da podridão mole. Durante a infecção, essas enzimas degradam estruturas vegetais compostas por fibras de pectina, celulose e hemiceluloses, levando à necrose das células vegetais e maceração tecidual (ABBOTT; BORASTON, 2008)

Vários fatores regulatórios que controlam essas enzimas também são importantes na patogênese da podridão mole. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* usa um sistema de comunicação célula a célula dependente da densidade celular chamado *quorum sensing* (QS) para regular muitos genes e a patogênese. No sistema QS de bactérias Gram-negativas, ExpI/ExpR é responsável pela síntese de acilhomoserina lactona (AHL), que regula a produção de enzimas extracelulares (HENKE & BASSLER, 2004; NASSER *et al.*, 1998; PIRHONEN *et al.*, 1993; WHITEHEAD *et al.*, 2002).

Além disso, *flhD*, *gacA* e *hexA* participam da via regulatória para a produção de PCWDE (CUI *et al.*, 2008). Vários outros genes, incluindo *cysQ*, *hel*, *yheL* e *trkA*, estão envolvidos na produção / secreção de PCWDE (LAASIK *et al.*, 2005).

Existem alguns relatos de que o metabolismo da purina e da pirimidina está relacionado a patogenicidade (CHATTERJEE & SONTI, 2005; KIM *et al.*, 2003) e o metabolismo do gluconato é necessário para a virulência do patógeno da podridão mole, *P. carotovorum subsp. carotovorum* (MOLE *et al.*, 2010).

2.4 Métodos de controle

2.4.1 Convencionais

O controle de Pcc representa um desafio significativo devido à sua alta adaptabilidade, ampla gama de hospedeiros e capacidade de sobreviver em diferentes ambientes, incluindo restos culturais, água e solo (LI *et al.*, 2022). Além disso, a doença apresenta rápida evolução sob condições favoráveis, tornando essencial a implementação de medidas preventivas e curativas integradas.

Historicamente, o controle da Pcc baseou-se em práticas de manejo preventivo, como seleção de sementes e mudas saudáveis, desinfecção de ferramentas e superfícies, colheita cuidadosa para evitar ferimentos e uso de armazenamento refrigerado para retardar o crescimento bacteriano (CHARKOWSKI, 2018). Produtos químicos desinfetantes, como hipoclorito de sódio e compostos à base de peróxido, também são empregados para reduzir a carga microbiana na superfície dos frutos, embora seu uso excessivo possa deixar resíduos indesejáveis e gerar resistência microbiana (BAYRAM *et al.*, 2020).

2.4.2 Biológicos

O controle biológico tem ganhado destaque como alternativa sustentável. Bactérias antagonistas, como *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*, produzem compostos antimicrobianos e enzimas hidrolíticas capazes de inibir o crescimento de Pcc (ZHANG *et al.*, 2021). Estudos recentes demonstram que a aplicação dessas bactérias em revestimentos protetores pode prolongar a vida útil dos frutos e reduzir significativamente a incidência de podridão mole (GARCÍA *et al.*, 2023).

2.4.3 Tecnologias emergentes

Nos últimos anos, têm-se explorado tecnologias físicas e químicas inovadoras, incluindo luz ultravioleta (UV-C), atmosferas modificadas, irradiação gama e nanopartículas metálicas com propriedades bactericidas (KHALIL *et al.*, 2022). Embora promissoras, essas abordagens exigem otimização para garantir eficácia sem comprometer a qualidade sensorial e nutricional do tomate.

2.4.4 Revestimentos comestíveis e óleos essenciais

O emprego de biopolímeros como a quitosana, em combinação com óleos essenciais, destaca-se como estratégia integrada de controle. A quitosana forma uma barreira física que limita a troca gasosa e a perda de água, além de apresentar atividade antimicrobiana direta por meio da interação com a membrana celular bacteriana (EL-KHOLY *et al.*, 2021).

Óleos essenciais de orégano e tomilho, ricos em compostos fenólicos como carvacrol e timol, demonstram potente ação bactericida contra Pcc, especialmente quando aplicados em sinergia com a quitosana (BASTOS *et al.*, 2021). Essas abordagens integradas alinham-se às demandas da indústria e do consumidor por alimentos seguros, com menos resíduos químicos e maior vida útil, ao mesmo tempo em que contribuem para reduzir perdas pós-colheita e impactos ambientais.

2.4.5 Estratégias combinadas

O uso de estratégias combinadas na conservação de frutas e hortaliças, também conhecido como tecnologia de barreiras (*hurdle technology*), consiste na aplicação simultânea de diferentes agentes antimicrobianos ou métodos de preservação, de forma a potencializar a eficácia do controle microbiano e reduzir a intensidade de cada tratamento individual (LEITE *et al.*, 2021).

No caso específico de tomates pós-colheita, a combinação de revestimentos comestíveis de quitosana e óleos essenciais, como orégano e tomilho, tem se mostrado uma alternativa promissora para o controle de Pcc (GARCÍA *et al.*, 2023). Essa abordagem une a barreira física e bioativa da quitosana com a potente atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais, resultando em efeito sinérgico capaz de prolongar a vida útil e preservar a qualidade sensorial dos frutos (BANDYOPADHYAY *et al.*, 2022).

A sinergia obtida permite o uso de concentrações mais baixas de óleos essenciais,

minimizando alterações indesejadas no aroma e sabor do produto. Além disso, a associação aumenta a estabilidade dos compostos voláteis e reduz a taxa respiratória, perda de peso e degradação de compostos bioativos, como vitamina C e carotenoides (MUÑOZ *et al.*, 2020).

2.4.5.1 Quitosana: fontes de obtenção, propriedades e aplicações

A quitosana é um polissacarídeo catiônico derivado da desacetilação da quitina, principal componente do exoesqueleto de crustáceos, insetos e paredes celulares de alguns fungos (Figura 2) (KUMAR *et al.*, 2020). Sua estrutura química, composta por unidades de D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina ligadas por ligações β -(1 $\rightarrow$ 4), confere propriedades funcionais únicas, incluindo biodegradabilidade, biocompatibilidade e atividade antimicrobiana (SINGH *et al.*, 2021). Tais características fazem da quitosana um dos biopolímeros mais promissores para aplicações na área de embalagens e revestimentos comestíveis, especialmente no contexto da conservação de frutas e hortaliças frescas.

Figura 2 – Desacetilação e fontes de quitina

(Continua)

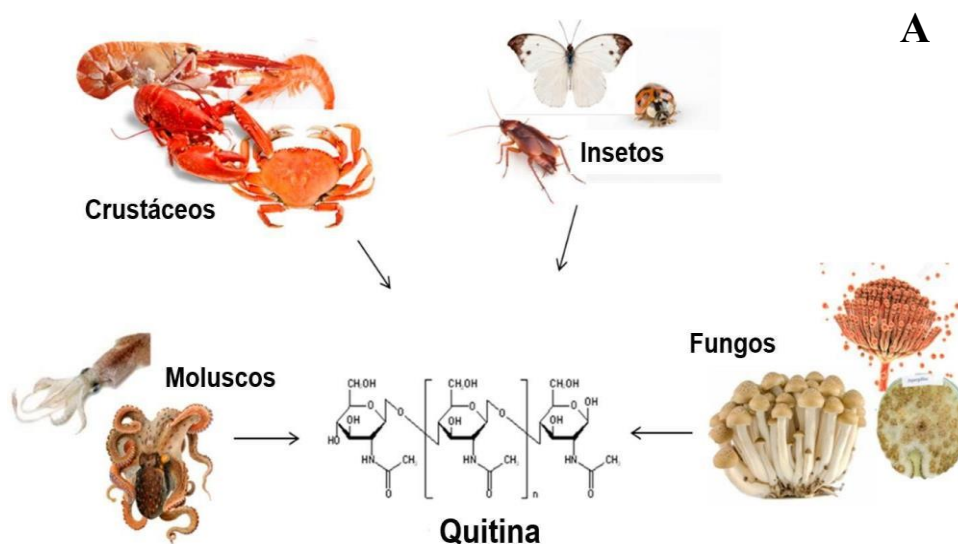
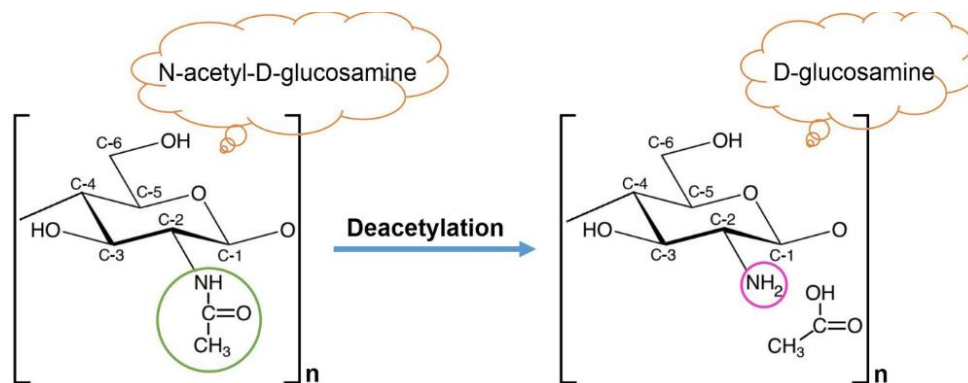


Figura 2 – Desacetilação e fontes de quitina

(Conclusão)

B

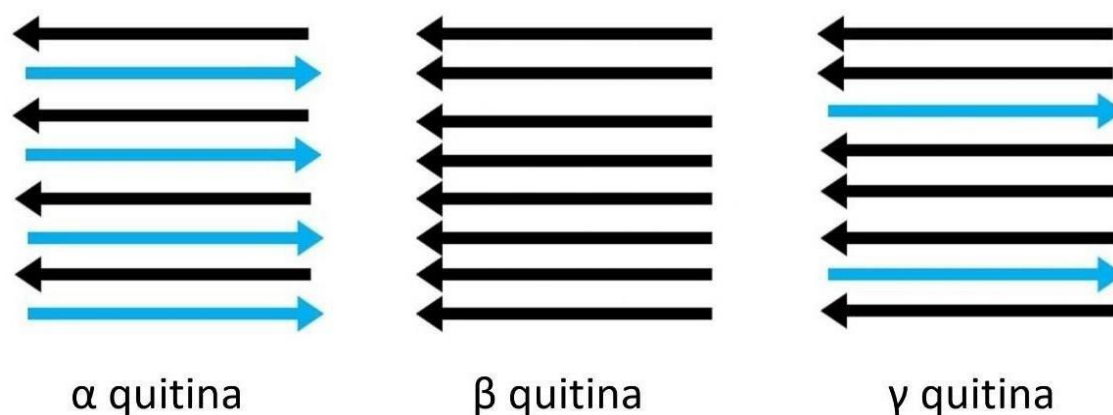
Legenda: A) Fontes de quitina; B) Desacetilação da quitina obtendo-se a quitosana



Fonte: Adaptado de Maddaloni; Vassalini; Alessandri (2020) e Pakizeh; Moradi; Ghassemi (2021)

A quitina é estruturalmente à celulose, ocorre naturalmente em três formas distintas: alfa (α), beta (β) e gama (γ), cada uma com diferentes orientações de microfibrilas as quais podem ser observadas de forma esquemática na Figura 3 (RUDALL, 1963). A forma alfa, composta por cadeias antiparalelas, é a mais comum na natureza e pode ser encontrada em exoesqueletos de crustáceos, conchas de moluscos e cutículas de insetos. Também está presente nas paredes celulares dos fungos (GARDNER; BLACKWELL, 1975; KAMEDA *et al.*, 2005). A forma beta é formada por cadeias paralelas e é menos comum. Pode ser encontrada nos gládios (conchas) das lulas e nas espinhas extracelulares das diatomáceas (microorganismos unicelulares que habitam ambientes úmidos e aquáticos) (HERTH; BARTHLOTT, 1979), assim como nos tubos dos pogonóforos (animais marinhos vermiformes e tubícolas) (BLACKWELL, 1969). A forma gama é composta tanto por cadeias paralelas quanto antiparalelas e está presente nos casulos dos insetos (RUDALL; KENCHINGTON, 1973). Na natureza, a quitina raramente é encontrada em sua forma pura; geralmente está associada às proteínas nas matrizes (KNORR, 1982).

Figura 3 – Formas cristálinas alomórficas da quitina.

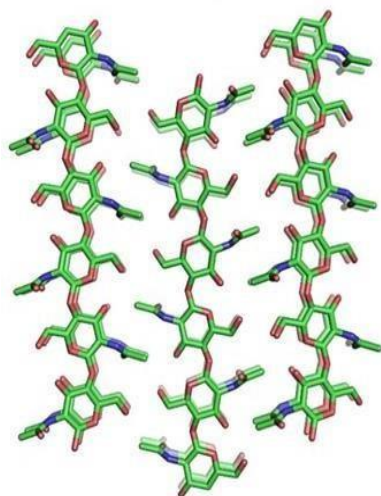
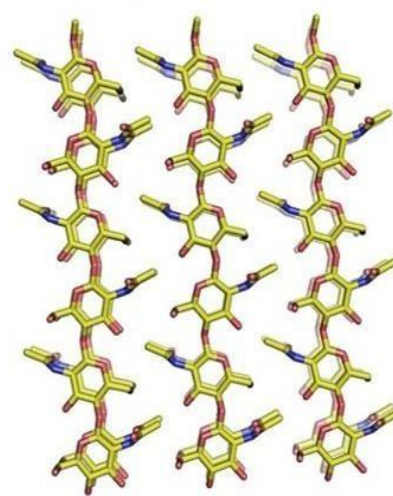


Fonte: Adaptado de Pakizeh; Moradi; Ghassemi (2021)

O interesse na utilização da quitosana na indústria alimentícia está relacionado à sua capacidade de formar filmes transparentes e resistentes que atuam como barreiras contra gases, vapor de água e microrganismos (SHAHRAJABIAN; SUN; CHENG, 2021). Esses filmes podem reduzir a taxa respiratória dos frutos e retardar processos de amadurecimento, preservando atributos sensoriais como cor, textura e sabor (GUO *et al.*, 2022). Devido à sua carga positiva, a quitosana interage eletrostaticamente com componentes aniônicos presentes na superfície de microrganismos, levando à desestabilização da membrana celular e, conseqüentemente, à inibição do crescimento microbiano (YIN *et al.*, 2021).

As três formas cristálinas alomórficas, denominadas alfa, beta e gama, identificadas por estudos de difração de raios X (ROBERTS, 1992; SUKSANGPANYA *et al.*, 2017), exibem características e propriedades variadas que influenciam a função da quitina em tecidos e funções fisiológicas dos seres vivos que contêm essa matéria em sua estrutura. Por exemplo, a estrutura rígida dos camarões mantis (Stomatopoda) é definida pela presença de fibras de quitina organizadas em estrutura espiral torcida da quitina, seguida por mineralização e ligação com proteínas (SUKSANGPANYA *et al.*, 2017). A variante alfa da quitina é a mais estável, com cadeias de polímeros organizadas de forma antiparalela, resultando em fortes ligações de hidrogênio, conforme ilustrado na Figura 4 (SIKORSKI; HORI; WADA, 2009).

Figura 4 – Estruturas polimórficas da quitina

Estrutura polimórfica de α quitinaEstrutura polimórfica de β quitina

Fonte: Adaptado de Hou; Aydemir; Dumanli (2021)

A aplicação da quitosana como revestimento pode ser realizada por diferentes métodos, como imersão, pulverização ou pincelamento, sendo a escolha do procedimento influenciada por fatores como tipo de alimento, concentração do polímero e presença de aditivos (MARTÍNEZ- CORTÉS *et al.*, 2020). Quando associada a compostos bioativos, como óleos essenciais, a quitosana atua não apenas como barreira física, mas também como veículo de liberação controlada de substâncias antimicrobianas (XUE *et al.*, 2021).

Estudos recentes reforçam a eficácia da quitosana na conservação de tomates (ZHANG *et al.*, 2023) demonstraram que revestimentos à base de quitosana reduziram significativamente a perda de massa e a incidência de podridão durante o armazenamento refrigerado. De forma semelhante, pesquisa conduzida por Ali *et al.* (2022) mostrou que a aplicação de quitosana associada ao óleo essencial de orégano inibiu o crescimento de *Pc*, prolongando a vida útil de tomates frescos por até 14 dias. A aplicação de revestimentos à base de quitosana em tomates reduziu significativamente a incidência de doenças pós-colheita, incluindo a podridão mole bacteriana, além de manter firmeza, acidez titulável e teor de sólidos solúveis durante o armazenamento (EL-KHOLY *et al.*, 2021; GARCÍA *et al.*, 2023).

Esses resultados evidenciam que a utilização de quitosana em revestimentos comestíveis representa alternativa sustentável e de baixo impacto ambiental para a preservação pós- colheita de frutas e hortaliças. Essa abordagem se alinha às demandas da indústria alimentícia por tecnologias limpas e eficazes, reduzindo a dependência de conservantes sintéticos e atendendo a regulamentações cada vez mais restritivas quanto ao uso de aditivos químicos. A transição para a discussão dos óleos essenciais reforça a importância da sinergia entre o biopolímero e

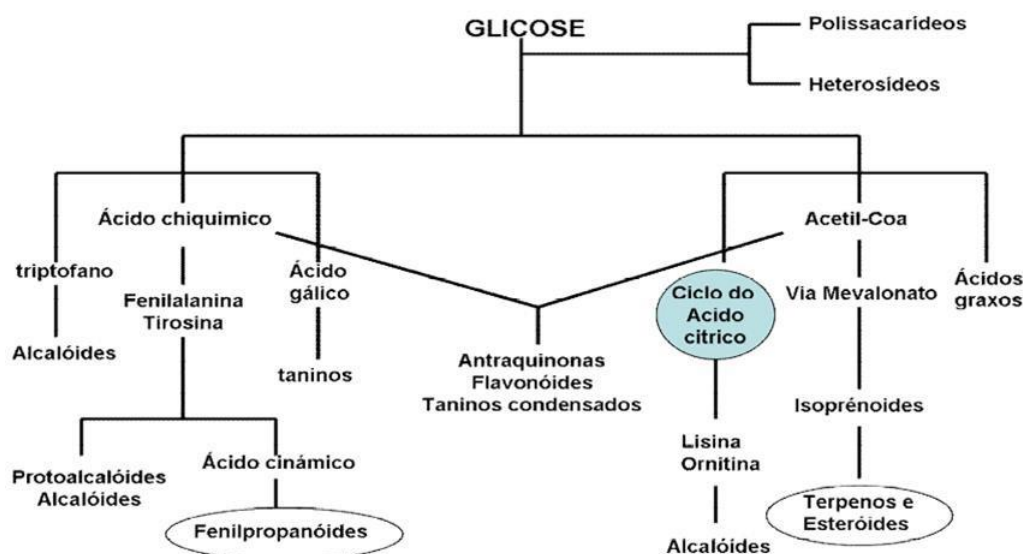
compostos naturais na maximização da ação antimicrobiana e antioxidante dos revestimentos. Além da ação antimicrobiana, a quitosana atua como barreira semipermeável quando aplicada sobre frutas e hortaliças, reduzindo a perda de água, a taxa respiratória e a oxidação de compostos bioativos (MUÑOZ *et al.*, 2020). Essa barreira também limita a difusão de oxigênio, o que contribui para atrasar processos oxidativos e enzimáticos relacionados à senescência.

A eficácia da quitosana depende de fatores como concentração, pH do meio, peso molecular e grau de desacetilação. Estudos mostram que soluções de quitosana com pH levemente ácido (4,0–5,5) apresentam maior solubilidade e potencial antimicrobiano devido à maior protonação dos grupos amino (SHARMA *et al.*, 2021). O peso molecular também interfere na formação de filmes: quitosana de baixo peso molecular tende a ter maior difusão e interação com células microbianas, enquanto a de alto peso molecular forma barreiras físicas mais espessas e resistentes (KUMAR *et al.*, 2020).

2.4.5.2 Óleos essenciais: agentes bioativos complementares

Os óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de compostos voláteis produzidos por plantas aromáticas, amplamente reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e repelentes (BANDYOPADHYAY *et al.*, 2022). São produzidas pelo metabolismo secundário das plantas a partir das vias do ácido chiquímico e ciclo ácido cítrico (Figura 6). Sua composição química é fortemente influenciada por fatores genéticos, condições edafoclimáticas, estágio de desenvolvimento da planta e método de extração (BHAVYA *et al.*, 2020). Entre os principais constituintes destacam-se os monoterpenos e fenóis, como o timol e o carvacrol, conhecidos por seu potente efeito contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (KUMAR *et al.*, 2021).

Figura 6 – Via Metabólica Secundaria ênfase para Terpenoides e Fenilpropanóides

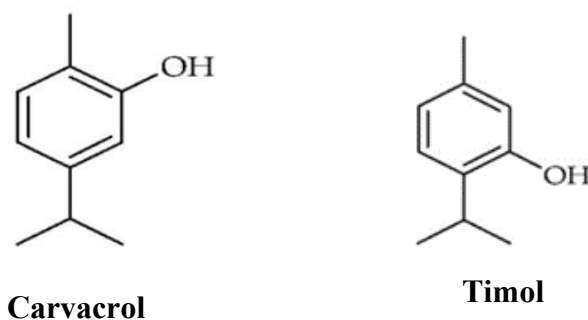


Fonte: SANTOS, 2004 *apud* OOTANI *et al.* (2013)

2.4.5.2.1 Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*)

O óleo essencial de orégano é rico em compostos fenólicos, principalmente carvacrol e timol (Figura 7), que atuam rompendo a integridade da membrana celular microbiana, causando extravasamento de íons e metabólitos essenciais (BANDYOPADHYAY *et al.*, 2022). Estudos recentes demonstram que o óleo de orégano apresenta alta eficácia contra Pcc, com inibição significativa do crescimento bacteriano em concentrações relativamente baixas, especialmente quando incorporado a matrizes poliméricas como a quitosana (BASTOS *et al.*, 2021).

Figura 7 – Estrutura química de Carvacrol e Timol



Fonte: Adaptado de GAMES *et al.* (2016)

2.4.5.2.2 Óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*)

O óleo essencial de tomilho apresenta composição semelhante à do orégano, com destaque para o timol como componente majoritário. Esse composto apresenta forte ação bactericida, afetando a permeabilidade da membrana e interferindo na síntese de proteínas e ácidos nucleicos (RAMIREZ *et al.*, 2022). Além disso, o óleo de tomilho possui ação antioxidante, capaz de retardar processos oxidativos em frutas e hortaliças (EL-KHOLY *et al.*, 2021).

2.5 Ação antimicrobiana dos óleos essenciais

O efeito antimicrobiano dos óleos essenciais está relacionado à sua lipofilicidade, que facilita a penetração através da bicamada lipídica da membrana citoplasmática, levando à desorganização estrutural, perda de homeostase iônica e, por fim, morte celular (BHAVYA *et al.*, 2020). A presença de compostos fenólicos, como o carvacrol e o timol, potencializa esse efeito por interações hidrofóbicas com proteínas e lipídios da membrana.

2.5.1 Sinergia com a quitosana

A combinação de óleos essenciais com quitosana resulta em efeito sinérgico devido à ação conjunta: enquanto a quitosana atua como barreira física e antimicrobiana, os óleos essenciais difundem-se lentamente a partir da matriz polimérica, promovendo liberação controlada e prolongada da atividade antimicrobiana (MUÑOZ *et al.*, 2020). Esse efeito tem sido associado à redução da dose necessária de cada composto, minimizando potenciais alterações sensoriais no produto.

2.6 Aceitação sensorial

A aplicação de óleos essenciais em revestimentos comestíveis para frutas e hortaliças tem despertado interesse crescente devido ao seu potencial antimicrobiano e antioxidante, aliado à demanda do consumidor por alimentos mais naturais e livres de conservantes sintéticos (PIMENTEL *et al.*, 2020). No entanto, a eficácia microbiológica precisa estar alinhada à aceitação sensorial, visto que compostos voláteis presentes em óleos como orégano (*Origanum vulgare*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) podem impactar aroma, sabor e aparência do produto final (XU *et al.*, 2021).

Os testes sensoriais visam avaliar atributos como aparência, cor, textura, aroma e sabor, utilizando metodologias descritivas, discriminativas e afetivas (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2016). Em estudos recentes, revestimentos à base de quitosana incorporados com óleo essencial de orégano em concentrações de 0,5 a 1,0% mostraram alta eficácia contra Pc, porém concentrações acima de 1,5% resultaram em rejeição sensorial devido à intensidade do sabor e aroma característicos (ZHANG *et al.*, 2022).

O equilíbrio entre concentração antimicrobiana e aceitação sensorial é, portanto, um desafio central. Segundo (BARROS *et al.*, 2023), técnicas como microencapsulação e uso de nanoemulsões têm se mostrado promissoras para minimizar alterações organolépticas, permitindo que óleos essenciais liberem gradualmente seus compostos ativos, reduzindo o impacto sensorial imediato. Além disso, combinações sinérgicas de óleos, como orégano e tomilho, podem permitir a redução da concentração individual de cada óleo, preservando o perfil sensorial (PEREIRA *et al.*, 2021).

As análises devem ser conduzidas em painéis sensoriais treinados e, preferencialmente, acompanhadas de testes com consumidores para avaliação de aceitação em condições reais de mercado. Tais testes são fundamentais para validar a viabilidade comercial da tecnologia, já que um revestimento sensorialmente aceitável tende a ter maior potencial de adoção pela indústria (MARTINS *et al.*, 2023).

Portanto, compreender a interação entre eficácia antimicrobiana e percepção sensorial é essencial para o desenvolvimento de revestimentos com óleos essenciais que atendam às expectativas tanto da indústria quanto do consumidor. Essa perspectiva se conecta diretamente ao próximo tópico, que aborda as tecnologias de liberação controlada de compostos, recurso cada vez mais utilizado para otimizar resultados microbiológicos sem comprometer as características sensoriais do alimento.

As análises sensoriais representam passo crucial nesse processo, permitindo avaliar atributos como aparência, cor, textura, aroma e sabor, por meio de metodologias descritivas, discriminativas e afetivas (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2016). Estudos indicam que revestimentos de quitosana com óleo essencial de orégano a 0,5–1,0% apresentam excelente efeito antimicrobiano contra *Pectobacterium carotovorum*, porém concentrações superiores a 1,5% tendem a comprometer a aceitação sensorial devido à intensidade do sabor e aroma (ZHANG *et al.*, 2022). Nesse contexto, técnicas como a microencapsulação e a utilização de nanoemulsões têm se mostrado promissoras para minimizar alterações sensoriais, permitindo a liberação gradual dos compostos ativos (BARROS *et al.*, 2023). Além disso, a combinação sinérgica de óleos, como orégano e tomilho, pode viabilizar a redução da concentração

individual de cada óleo, preservando tanto o efeito antimicrobiano quanto a aceitação sensorial.

Nesse sentido, as tecnologias de liberação controlada assumem papel estratégico. Métodos como encapsulação em ciclodextrinas, nanoemulsões lipídicas e filmes poliméricos inteligentes permitem que os compostos ativos sejam liberados gradualmente, prolongando o efeito antimicrobiano e reduzindo o impacto sensorial imediato (RASTOGI *et al.*, 2022). Essas tecnologias não apenas melhoram a estabilidade e a dispersão dos óleos essenciais, como também possibilitam a proteção dos compostos bioativos contra degradação por luz, oxigênio e temperatura. Pesquisas recentes apontam que revestimentos com liberação controlada apresentam maior eficiência na redução de carga microbiana e prolongam a vida útil de tomates, morangos e pimentões, quando comparados a formulações convencionais (SANTOS *et al.*, 2024). Além disso, a integração dessas tecnologias facilita a adequação das formulações aos processos industriais, uma vez que garante maior uniformidade e durabilidade da ação antimicrobiana.

A viabilidade industrial de tais revestimentos depende de uma série de fatores técnicos, econômicos e regulatórios. A produção em maior escala exige otimização da formulação para equilibrar custo e desempenho, além da adaptação das etapas de aplicação — como pulverização ou imersão — às linhas de processamento existentes (MARTINS *et al.*, 2023). Em testes simulando condições de distribuição, tomates revestidos com quitosana e óleo de orégano apresentaram redução de Pc superior a 90% por até 21 dias, sem alteração significativa na coloração ou firmeza (PEREIRA *et al.*, 2024). O custo-benefício é outro aspecto decisivo, já que o uso de tecnologias como microencapsulação, embora aumente o custo inicial, pode reduzir perdas pós-colheita e ampliar a vida útil, compensando o investimento (BARROS *et al.*, 2023).

Do ponto de vista regulatório, a utilização de quitosana e óleos essenciais em revestimentos comestíveis no Brasil deve seguir as diretrizes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), garantindo a segurança do consumidor e a conformidade com a rotulagem (BRASIL, 2021). Portanto, o avanço do uso desses revestimentos depende da integração entre resultados científicos, adaptação tecnológica e validação regulatória, permitindo que inovações de laboratório se convertam em soluções efetivas no mercado.

2.7 Legislação brasileira sobre revestimentos comestíveis

No Brasil, o uso de revestimentos comestíveis e aditivos naturais em alimentos está sujeito a regulamentações estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária

(ANVISA) e, em alguns casos, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A quitosana, por ser um polissacarídeo de origem natural obtido da desacetilação da quitina, é reconhecida como segura (*Generally Recognized as safe* – GRAS) pela *Food and Drug Administration* (FDA) nos Estados Unidos (FDA, 2022) e encontra respaldo em normativas nacionais que regulamentam embalagens e revestimentos com função de conservação (ANVISA, 2019).

De acordo com a Resolução RDC nº 23/2013 e atualizações posteriores, a quitosana pode ser utilizada como aditivo tecnológico, desde que respeitadas as boas práticas de fabricação e que seu uso esteja associado a funções tecnológicas previamente autorizadas, como barreira contra umidade, oxigênio e contaminação microbiana (BRASIL, 2013). Ainda, a aplicação em frutas e hortaliças pós-colheita deve seguir parâmetros específicos quanto à concentração e modo de aplicação, garantindo que não haja resíduos acima dos limites estabelecidos (SILVA *et al.*, 2021).

No que se refere aos óleos essenciais, a legislação brasileira os enquadra como aromatizantes naturais ou coadjuvantes de tecnologia, dependendo de sua finalidade. A RDC nº 272/2019 define critérios para o uso de óleos essenciais em alimentos, estabelecendo listas positivas de substâncias autorizadas e limites máximos de uso (ANVISA, 2019). Óleos como os de orégano e tomilho possuem componentes (carvacrol e timol) aprovados para uso alimentar, desde que observadas as concentrações que não causem alterações sensoriais indesejáveis ou riscos toxicológicos (OLIVEIRA *et al.*, 2020). A integração desses compostos em revestimentos comestíveis requer ainda a observância de regulamentos sobre rotulagem, que devem informar a presença de ingredientes alergênicos, origem do produto e eventuais advertências (RDC nº 429/2020). Essa transparência é fundamental para atender às exigências de rastreabilidade e proteção ao consumidor (COSTA *et al.*, 2022).

Além disso, a legislação brasileira busca alinhar-se a padrões internacionais, como os do *Codex Alimentarius*, facilitando a aceitação desses produtos em mercados externos e incentivando a adoção de tecnologias de conservação pós-colheita com menor impacto ambiental e melhor perfil de segurança (FAO, 2021). Tal contexto regulatório é decisivo para que pesquisas e aplicações comerciais de quitosana e óleos essenciais avancem no país.

Assim, compreendida a base legal para uso desses compostos, torna-se relevante aprofundar o conhecimento sobre as análises sensoriais aplicadas a revestimentos com óleos essenciais, uma vez que a viabilidade de uso em larga escala depende não apenas de eficácia antimicrobiana, mas também da aceitação do consumidor.

A regulamentação da utilização da quitosana em alimentos no Brasil está fundamentada

em normativas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e em legislações complementares que estabelecem critérios para o uso de aditivos e coadjuvantes de tecnologia. Em 2025, a Resolução RDC nº 780/2025 trouxe atualizações significativas, incluindo requisitos para a pureza da quitosana, limites de uso e exigências de rotulagem para produtos que contenham este polímero como revestimento ou filme comestível (BRASIL, 2025).

O marco regulatório brasileiro se alinha, em diversos aspectos, com recomendações internacionais, como as da *Food and Drug Administration* (FDA, 2022) e da *European Food Safety Authority* (EFSA, 2021), priorizando a segurança toxicológica e a comprovação da eficácia tecnológica antes da autorização de uso. Esses requisitos contemplam análises de migração de compostos, testes de estabilidade e avaliações de risco microbiológico, sendo obrigatória a apresentação de estudos que comprovem a inocuidade do produto (SILVA *et al.*, 2024).

O cumprimento dessas diretrizes não apenas garante a segurança dos consumidores, mas também reforça a credibilidade científica e comercial dos produtos desenvolvidos com base nesse biopolímero. Pesquisas recentes têm enfatizado a importância da padronização de métodos analíticos para avaliação da qualidade da quitosana destinada ao consumo humano (FERNANDES *et al.*, 2023).

2.8 Aplicações práticas e resultados recentes

Estudos recentes mostram que tomates tratados com filmes de quitosana contendo 0,5% de óleo essencial de orégano apresentaram redução de até 90% na incidência de podridão mole após 10 dias de armazenamento à 12 °C (GARCÍA *et al.*, 2023). De forma similar, a incorporação de óleo de tomilho em matrizes de quitosana demonstrou efeito inibitório prolongado contra *Pc*, aliado à manutenção de atributos sensoriais como firmeza e coloração (EL-KHOLY *et al.*, 2021).

A transição de revestimentos antimicrobianos e antioxidantes da escala laboratorial para a escala industrial envolve desafios técnicos, econômicos e regulatórios. Aspectos como a uniformidade da aplicação, compatibilidade com linhas de processamento existentes e custo-benefício determinam a viabilidade comercial (PACHECO *et al.*, 2022).

Estudos piloto e testes em plantas industriais têm indicado que revestimentos à base de quitosana incorporados com óleos essenciais podem ser aplicados com tecnologias de aspersão, imersão ou pulverização, mantendo eficácia antimicrobiana mesmo em operações contínuas (SILVA; COSTA; REZENDE, 2023). No entanto, a adaptação das formulações para resistirem

a condições mais severas de processamento, como variações de temperatura e umidade, ainda requer otimização (MENDES *et al.*, 2024). Pesquisas recentes também abordam a análise de ciclo de vida (ACV) desses revestimentos, destacando que sua adoção pode reduzir perdas pós-colheita e a necessidade de conservantes sintéticos, resultando em impactos ambientais e econômicos positivos (FERNANDES *et al.*, 2023). Além disso, parcerias entre universidades, empresas e órgãos reguladores têm acelerado o desenvolvimento de produtos prontos para o mercado.

A transição de revestimentos comestíveis de base experimental para aplicação em escala industrial exige a avaliação de múltiplos fatores técnicos, econômicos e regulatórios. Embora a eficácia microbiológica e a aceitação sensorial sejam determinantes, a viabilidade de produção em larga escala depende da adaptação dos processos aos padrões industriais e à conformidade com legislações vigentes (FERNANDES *et al.*, 2022).

No caso da quitosana e dos óleos essenciais de orégano e tomilho, a produção em maior escala requer otimização das formulações para reduzir custos sem comprometer sua eficácia. Estudos mostram que ajustes na proporção de polímero e óleo essencial, bem como o uso de técnicas como homogeneização de alta pressão e emulsificação ultrassônica, podem melhorar a estabilidade e facilitar a aplicação por pulverização ou imersão em linhas industriais (ZHANG *et al.*, 2022; MARTINS *et al.*, 2023).

Além disso, a integração da tecnologia em operações pós-colheita deve considerar variáveis como tempo de processamento, temperatura, umidade e compatibilidade com embalagens comerciais. Em estudo de validação industrial, Pereira *et al.* (2024) observaram que tomates revestidos com quitosana e óleo essencial de orégano promoveram redução de P_c superior a 90% por até 21 dias em condições simuladas de distribuição, sem alteração significativa de cor e firmeza.

Outro aspecto relevante é o custo-benefício. A adoção por parte da indústria depende da relação entre o custo dos insumos e a extensão da vida útil do produto, destacando-se que o uso de óleos essenciais microencapsulados, apesar do custo inicial mais elevado, reduz perdas pós-colheita e amplia o alcance geográfico de comercialização, compensando o investimento inicial (BARROS *et al.*, 2023).

Do ponto de vista regulatório, no Brasil, a aplicação de revestimentos com quitosana e óleos essenciais deve seguir normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), garantindo a segurança do consumidor e a conformidade com a rotulagem (BRASIL, 2021). Estudos de viabilidade industrial também precisam incluir a análise de retorno sobre investimento, o

impacto ambiental do processo e a escalabilidade das tecnologias de liberação controlada previamente mencionadas.

Portanto, o sucesso na implementação de revestimentos comestíveis antimicrobianos em escala industrial depende de planejamento que integre desenvolvimento científico, engenharia de processos, logística de distribuição e regulamentação, permitindo que avanços laboratoriais se transformem em soluções aplicáveis no mercado.

2.9 Considerações finais do referencial teórico

A pesquisa busca validar a aplicação de revestimentos comestíveis à base de quitosana combinada com óleos essenciais (orégano e tomilho) como uma estratégia sustentável para o controle do patógeno de pós-colheita em tomates Pcc, contribuindo para o avanço do manejo e a minimização de perdas no setor hortícola, visando reduzir a dependência de agroquímicos sintéticos e atender à demanda por soluções naturais. A quitosana atua como matriz ativa, promovendo a extensão da vida útil, segurança microbiológica e preservação dos atributos sensoriais de alimentos. A incorporação de óleos essenciais e outros compostos bioativos, via sistemas de liberação controlada, garante ação prolongada e eficaz, alinhando-se às exigências regulatórias, como a RDC nº 780/2025 da ANVISA, e às expectativas dos consumidores por produtos mais naturais. Adicionalmente, tecnologias emergentes, como a nanoencapsulação e a associação da quitosana com outros biopolímeros, prometem otimizar a estabilidade e funcionalidade desses revestimentos, facilitando sua aplicação industrial e reduzindo custos. A colaboração entre o meio acadêmico e o setor produtivo é crucial para expandir a aplicação desses sistemas para diversas cadeias produtivas.

Em síntese, o desenvolvimento e a aplicação desses revestimentos configuram um campo multidisciplinar e estratégico, integrando ciência de materiais, microbiologia, tecnologia de alimentos e políticas públicas, com significativo potencial para transformar as práticas de conservação e consumo no cenário nacional e internacional.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Locais de condução do experimento

Para a condução deste estudo e a obtenção de resultados consistentes, adotou-se metodologias criteriosas, iniciadas com o cultivo, seleção do material biológico e análises laboratoriais. As análises em laboratório foram organizadas em duas seções principais: (i) análise microbiológica, destinada a avaliar a eficácia dos revestimentos sobre *Pectobacterium carotovorum* (Pc) e (ii) análise físico-química, voltada à determinação do impacto dos tratamentos sobre as características de qualidade e a vida útil dos frutos, ambas conduzidas ao longo de 12 dias. Este intervalo permite uma avaliação consistente da eficácia dos tratamentos, da estabilidade microbiana e das alterações de qualidade, sendo essencial para determinar o potencial de extensão da vida útil dos frutos sob condições controladas.

Os experimentos foram realizados na Universidade Federal de Lavras no Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologias – Ijaci (CDTT), Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças e no Departamento de Química.

3.2 Cultivo do tomate

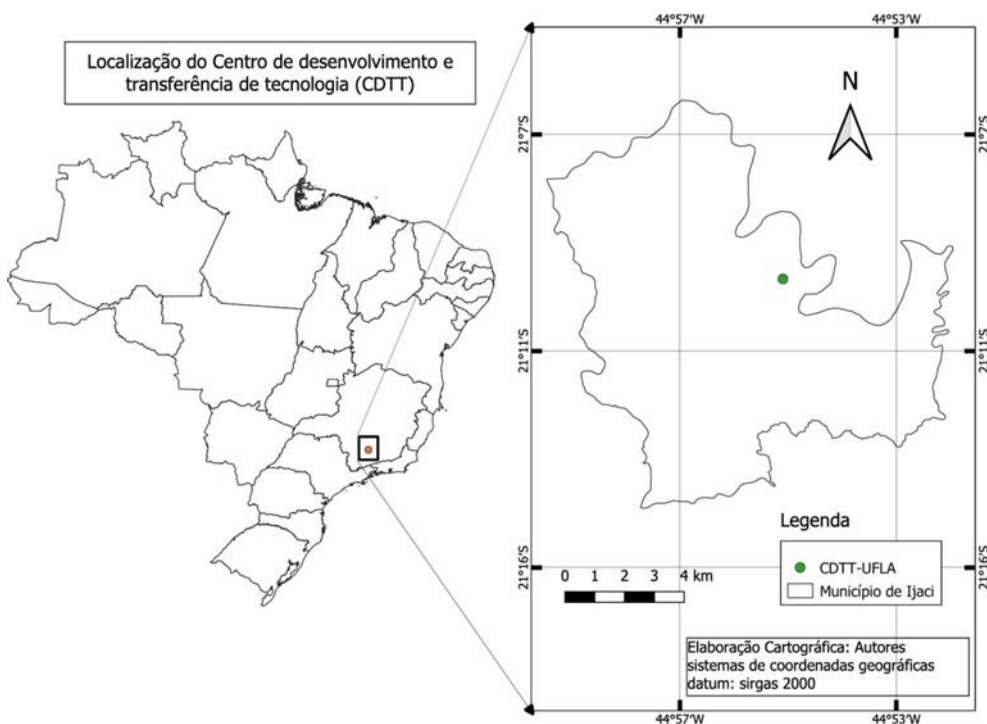
O cultivo do tomate foi realizado no Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologias – Ijaci (CDTT). Estabeleceu-se o ensaio de cultivo de tomate do segmento italiano cultivar híbrido *Gyotone*, conduzido desde a fase de produção de mudas até a colheita. A semeadura foi realizada em 07 de fevereiro de 2025, em bandejas de poliestireno, e o transplante ocorreu em 12 de março de 2025 no CDTT/UFLA, localizado no município de Ijaci – MG. A estação experimental está situada a 21°10' S de latitude, 44°55' W de longitude e a uma altitude de 832 m (Figura 8).

De acordo com a classificação climática de Köppen, a região de Ijaci apresenta clima dos tipos Cwb e Cwa, caracterizado como mesotérmico úmido, tropical de altitude, com verões brandos. A temperatura média anual é de 19,4 °C e a precipitação pluviométrica média corresponde a 1.530 mm, concentrada entre os meses de novembro e fevereiro (Ijaci, 2018). O manejo da cultura - incluindo preparo do solo, formação de canteiros, uso de mulching, desbrota, tutoramento, controle fitossanitário e fertirrigação - foi realizado de acordo com as exigências técnicas recomendadas para o tomateiro.

A inoculação, incubação e enumeração da Pcc foi realizada no Laboratório de

Microbiologia de Alimentos, a caracterização dos óleos essenciais no Departamento de Química, enquanto as análises físico-químicas foram conduzidas no Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças

Figura 8 – Localização do CDTT/UFLA



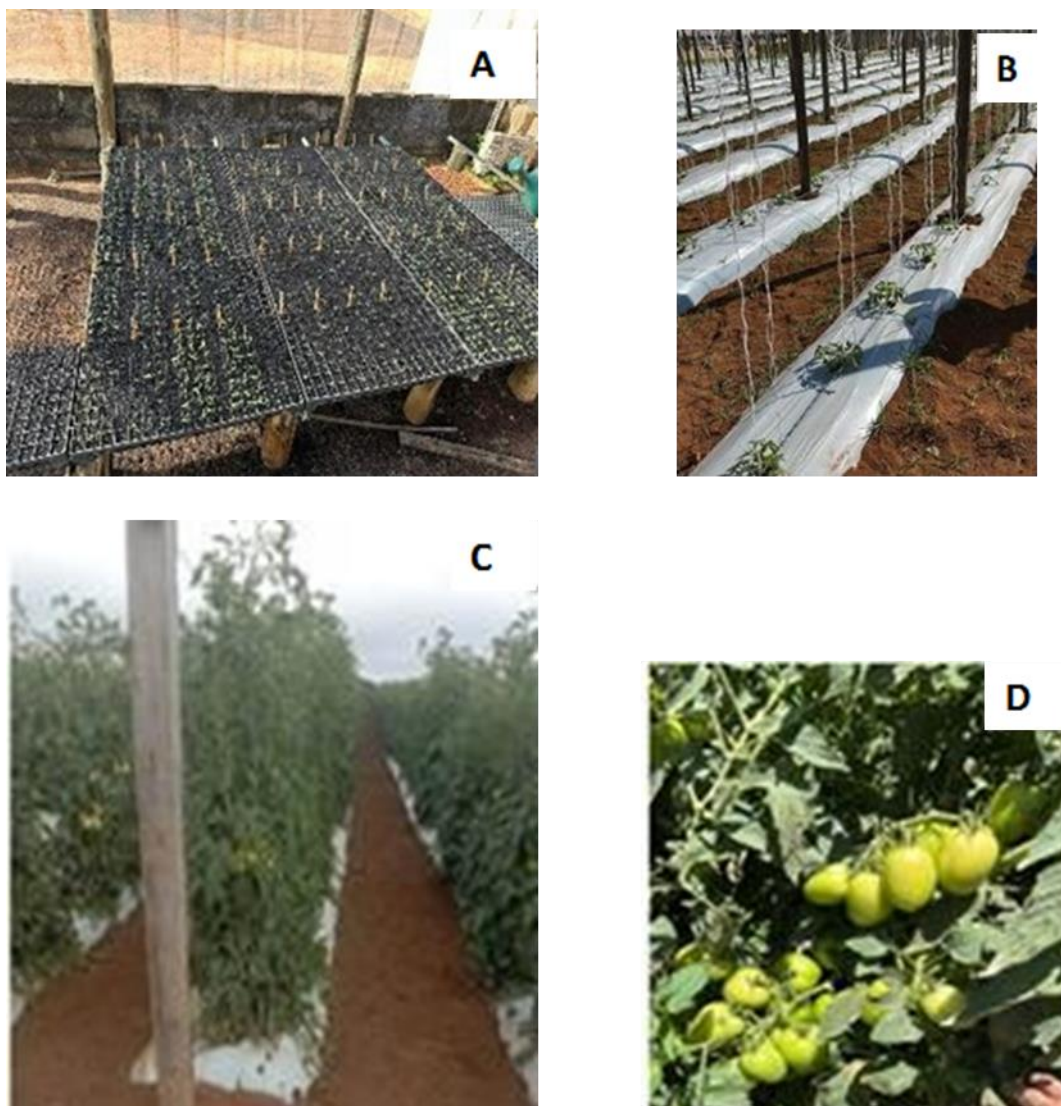
Fonte: Do autor (2025)

A figura 8 apresenta os locais da condução do ensaio, campo experimental do CDTT, no município de Ijaci, desde a sementeira até a frutificação dos frutos.

3.3 Colheita, transporte e higienização dos frutos

A colheita dos frutos foi realizada no estágio de maturação verde-maturo (Figura 10), correspondente ao estágio 2 da escala de cores do USDA (início da coloração avermelhada). Para garantir a uniformidade da amostra, foram selecionados frutos sadios, sem danos físicos ou fitossanitários, provenientes do segundo e terceiro cachos de cada planta. Os frutos foram cuidadosamente transportados do campo ao laboratório de Microbiologia de Alimentos do DCA-UFLA, em caixas de papel, minimizando danos por impacto e preservando sua integridade para realização das análises. Em seguida foram lavados com água destilada para remover qualquer material residual ou poeira da superfície e secos ao ar durante 3h. No total 216 frutos foram utilizados no experimento.

Figura 9 – Procedimentos realizados para obtenção dos tomates



Legenda: A) Produção de mudas de tomate (*Solanum lycopersicum* L., segmento Italiano indeterminado, híbrido Gyottone) em bandejas de poliestireno, conduzida em casa de vegetação; B) Transplante das mudas de tomateiro em campo experimental, com tutoramento das plantas e uso de cobertura plastica (mulching) no solo; C) Campo experimental do tomate na fase inicial de frutificação; D) Frutos de tomate no ponto de colheita (verde-maduro)

Fonte: Do autor (2025)

Para armazenamento dos frutos destinados as análises físico-químicas os frutos foram dispostos, após a aplicação dos tratamentos em prateleiras de madeira instaladas em ambiente arejado e com boa circulação de ar por 12 dias, sendo feito o registo de umidade relativa e temperatura, empregando-se um higrômetro digital modelo HTC-2 durante todo o período de armazenamento.

Figura 10 – Disposição dos tratamentos em função da inoculação e grau de maturação

Color classification requirements in U.S. standards for grades of fresh tomatoes						
Stage	(1) Green	(2) Breakers	(3) Turning	(4) Pink	(5) Light red	(6) Red
Picture (Round)						
Picture (Roma)						
Surface color	100% green	<10% yellow/pink	10~30% yellow/pink	31~60% pink/red	61~90% pinkish-red/red	>90% red

Fonte: USDA-AMS (2022)

Para utilização, as prateleiras de madeira foram devidamente higienizadas com hipoclorito a 3% (v/v) e em seguida foi borrifado álcool 70% (v/v) de modo a garantir a segurança microbiológica na superfície das prateleiras. Na sequência os frutos foram armazenados em estufa tipo BOD a $25,1 \pm 2^\circ\text{C}$, depois da análise microbiológica após serem inoculados, e feitos os registros de temperatura e umidade relativa ao longo dos 12 dias, em intervalos de 0, 4, 8 e 12 DAH (dias após a colheita) para registrar as alterações fisiológicas dos frutos.

3.4 Óleos essenciais e caracterização química

A aquisição dos óleos de Orégano e Tomilho, foi realizada na empresa FERQUIMA® Indústria e Comércio LTDA (Vargem Grande, São Paulo, Brasil).

A caracterização química dos OEs foi realizada por Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização por Chama (CG-DIC), utilizando um cromatógrafo *Agilent*® 7890A, acoplado ao sistema de processamento de dados *HP GC ChemStation Ver. A.01.14*. As amostras foram preparadas diluindo-se os OEs em acetato de etila (1% v/v) e injetadas em modo split (50:1), com volume de 1,0 μL . Foi utilizada uma coluna capilar HP-5MS (30 m $\times$ 250 μm $\times$ 0,25 μm), e hélio como gás de arraste (fluxo de 1,0 mL/min). As temperaturas do injetor e detector foram mantidas em 240°C . A programação do forno foi de 60°C a 200°C (a $3^\circ\text{C}/\text{min}$), seguida de um aumento até 270°C (a $10^\circ\text{C}/\text{min}$), mantendo-se nesta por 1 minuto. A quantificação dos compostos foi baseada na média das áreas relativas dos picos cromatográficos, obtidas em triplicata, com cálculo do desvio padrão.

A identificação qualitativa foi realizada com um cromatógrafo *Agilent*® 7890A acoplado ao espectrômetro de massas *Agilent*® MSD 5975C, operando por ionização de

impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura (1,0 scan/s; 40–400 m/z). Os compostos foram identificados comparando-se os índices de retenção obtidos com n-alcenos (C8–C20, Sigma-Aldrich®), os espectros de massas com o banco de dados NIST/EPA/NHI (2008) e a literatura (Adams, 2007). Os índices de retenção foram calculados utilizando a equação de Dool e Kratz (1963), e as identificações confirmadas com dados da literatura.

3.5 Análises microbiológicas *in vitro*

3.5.1 Microrganismo, manutenção e padronização do inóculo

A cepa da bactéria utilizada no estudo foi *Pectobacterium carotovorum* H23, cedida pelo Laboratório de Fitopatologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e mantida no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos. A cepa de Pcc foi reativada em caldo 523 de Kado. C & Heskett. M (1970), Kado & Heskett (1970), com incubação a 32°C por 24 horas, em estufa de incubação. A cultura estoque foi obtida pela transferência de alíquotas de 1 mL da cultura ativada para microtubos e centrifugação a 5.000 rpm por 3 minutos. O sobrenadante foi então descartado e a massa celular foi ressuspensa com a adição e homogeneização de 1 mL de meio de congelamento (glicerol: 15 mL; peptona bacteriológica: 0,5 g; extrato de levedura: 0,3 g; NaCl: 0,5 g; água destilada: 1000 mL). As culturas estoques foram mantidas a -18°C durante o período de execução do experimento.

A padronização do inóculo a 10⁸ UFC/mL foi realizada inicialmente mediante a Escala de McFarland empregando-se a escala 0,5. Após a observação da turbidez foram realizadas leituras das absorbâncias (D.O. 600 nm) em espectrofotômetro (BEL SP-2000) e plaqueamento de alíquotas da cultura em ágar 523 para melhor padronização. As placas foram incubadas a 32°C por 24 horas para posterior quantificação das colônias e padronização da cultura. O meio utilizado foi o ágar 523 de Kado. C & Heskett. M (1970), Kado & Heskett (1970).

Os inóculos foram obtidos pela transferência de alíquotas de 1 mL das culturas estoque para tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo 523 e incubadas a 32°C por 24 horas. Após esse período, alíquotas de 1 mL do meio de culturas foram transferidas para frascos contendo 100 mL do caldo 523 e incubados a 32°C pelo tempo necessário para se atingir 10⁸ UFC/mL.

3.5.2 Determinação das concentrações mínimas bactericidas dos óleos essenciais sobre *Pectobacterium carotovorum*

A determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB) dos óleos essenciais foi

realizada por meio da técnica de microdiluição em caldo, utilizando placas de microtitulação de poliestireno estéreis contendo 96 cavidades (*Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI*, 2019), com adaptações. Os óleos essenciais foram emulsificados em caldo 523, acrescido de 0,5% de Tween 80. A seguir, 150 µL dessas emulsões foram dispensadas nas cavidades das microplacas. Após esse procedimento, alíquotas de 10 µL de suspensão bacteriana padronizada foram inoculadas em cada cavidade. Foram avaliadas as concentrações de 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125 e 0,015625 (v/v). As placas foram vedadas e incubadas a 32 °C por 24 h. Para assegurar a validade do experimento, foram utilizados dois controles para cada óleo testado sendo um controle negativo contendo caldo 523 acrescido de 0,5% de Tween 80 (sem inóculo bacteriano) e, a fim de avaliar a esterilidade do meio e reagentes e um controle positivo contendo caldo 523 com 0,5% (v/v) de Tween 80 e a cultura bacteriana (sem adição de óleo essencial).

A CMB foi determinada como sendo a menor concentração de óleo essencial na qual não foi observada formação de colônias viáveis em meio sólido, após subcultivo. Essa avaliação foi realizada por meio da transferência de 10 µL de cada poço para placas contendo ágar 523, seguidas de incubação a 32 °C por 24 horas. A ausência total de crescimento indicou a ação bactericida dos óleos essenciais. Todos os ensaios foram realizados em triplicata com três repetições.

3.5.3 Avaliação do sinergismo dos óleos essenciais (OE's)

Basendo-se nas CMB dos óleos essenciais sobre a cepa de Pcc foram realizadas diferentes combinações com os óleos pensando em futura aplicação de revestimentos para indústria de alimentos em frutos. A Tabela 3, apresenta os ensaios realizados. A variável resposta foi a viabilidade de Pcc. Os diferentes ensaios foram gerados utilizando delineamento fatorial no programa *Chemoface versão 1.5*, utilizando “*Experimental design*”, com variáveis +1 e -1 calculadas de acordo com a CMB de cada óleo (Tabela 3).

Tabela 3 – Variáveis das concentrações mínimas bactericidas dos óleos

Variável real		Variável codificada	
A	B	A	B
CMBa	CMBb	0	0
1/2 CMBa	1/2CMBb	-1	-1
1/3 CMBa	1/3 CMBb	+1	+1

Fonte: Do autor (2025)

Na tabela 4 se encontram os valores reais e as combinações geradas e estudadas quanto sua atuação sobre a bactéria, bem como a concentração final de óleos utilizada em cada ensaio.

Tabela 4 – Quantidades de óleos essenciais de Orégano e Tomilho utilizado em cada ensaio e o volume total de óleo em cada ensaio

Ensaio	Orégano (μL)	Tomilho (μL)	Concentração final (μL)
1	5,5	3,9	9,4
2	5,5	5,5	11
3	10	3,9	13,9
4	10	5,5	15,5
5	4,5	4,7	9,2
6	11	4,7	15,7
7	7,8	3,6	11
8	7,8	5,8	13,6
9	7,8	4,7	12,5
10	7,8	4,7	12,5
11	7,8	4,7	12,5

Fonte: Do autor (2025)

Alíquotas de 150 μL das emulsões contendo as diferentes concentrações de óleos essenciais preparados em caldo 523 e 0,5% de Tween 80 foram dispensadas nas cavidades das microplacas de poliestireno e inoculadas com 10 μL da cultura padronizada de Pcc. Em seguida, as microplacas foram vedadas e incubadas a 32°C por 24 h. Após incubação, alíquotas de 10 μL de cada cavidade foram transferidas para placas contendo ágar 523 e incubadas a 32°C por 24 h.

O sinergismo antimicrobiano foi avaliado pela ausência de crescimento de colônias em placas. O experimento foi realizado em três repetições, com ensaios em triplicata.

3.5.4 Comparação da atividade antimicrobiana de quitosana e misturas de óleos essenciais sobre *Pectobacterium carotovorum*

A quitosana utilizada no estudo foi adquirida junto à Indústria de Rações Patense LTDA (CNPJ: 23.357.072/0014-00), localizada na Rua Manoel Teófilo da Guia, 1795, Fundos, Lagoa Seca, Itarema – CE.

A atividade antimicrobiana das soluções de quitosana a 0,5% (m/v), solubilizadas em

ácido acético 0,5 M, e das misturas de óleos essenciais dos ensaios 5, 6 e 9 (Tabela 4) sobre *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc) foi avaliada utilizando a técnica de disco-difusão em ágar 523, de acordo com as normas do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2000). Aliquotas de 5 µL de cada antimicrobiano foram aplicadas sobre discos de papel de filtro (3 mm de diâmetro), que foram dispostos sobre o ágar previamente inoculado com 0,1 mL de cultura padronizada de Pcc. As placas foram incubadas a 32°C por 24 h, após o que os halos de inibição foram mensurados. Os ensaios 5, 6 e 9 foram selecionados para avaliação aprofundada em razão do elevado potencial antimicrobiano demonstrado nos testes preliminares frente a *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc). Essas formulações, compostas por diferentes combinações de óleos essenciais, possibilitam a análise tanto dos efeitos individuais quanto das interações sinérgicas com a quitosana.

A seleção se considerou a variação nas proporções e concentrações dos óleos essenciais, bem como a presença de compostos fenólicos bioativos, reconhecidos por sua eficácia antimicrobiana. O ensaio 5 (9,2 µL) permite avaliar a eficácia de baixas concentrações, relevantes para o desenvolvimento de formulações seguras e economicamente viáveis. O ensaio 6 (15,7 µL) representa uma condição de maior carga de ativos, possibilitando estimar o efeito máximo esperado. Já o ensaio 9 (12,5 µL) corresponde a uma condição intermediária, adequada para a análise de possíveis sinergismos entre os óleos essenciais.

Dessa forma, a seleção desses ensaios abrange uma faixa representativa do espectro experimental, favorecendo a otimização das formulações para aplicação em revestimentos com potencial para a conservação pós-colheita de tomates.

3.6 Atividade antioxidante das misturas dos óleos essenciais de tomilho e orégano

A avaliação da atividade antioxidante das combinações de óleos essenciais foi realizada por meio de análise de superfície de resposta, utilizando um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) do tipo 2². Este delineamento inclui as concentrações de dois óleos como variáveis independentes, com 4 pontos fatoriais, 4 pontos axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 11 ensaios. Na Tabela 5 se encontram as variáveis reais e codificadas empregadas.

Tabela 5 – Variáveis independentes do DCCR para os óleos essenciais

Óleos Essenciais	CMB	+2	-2	PC	+1	-1
Orégano	0,50%	0,25	0,0625	0,15625	0,203125	0,109375
Tomilho	0,25%	0,125	0,0625	0,09375	0,109375	0,078125

Fonte: Do autor (2025)

O software Statístico 14.1.0.8 foi empregado para calcular os coeficientes de regressão, realizar a análise de variância (ANOVA), testar a falta de ajuste e gerar os gráficos de superfície de resposta. A qualidade do modelo foi avaliada pelo coeficiente de determinação R^2 , e as regressões foram apresentadas em forma codificada. A otimização simultânea das variáveis respostas foi realizada por meio da função Desirability.

3.7 Preparação dos revestimentos com quitosana

As soluções de revestimento foram preparadas em agitador magnético 200 rpm durante 24 horas. Adicionou-se em bequer 400 mL de solução de ácido acético 0,5M e 0,5% (m/v) de quitosana, a mistura ficou sob agitação por 24 horas para completa homogeneização, sendo os procedimentos conduzidos em temperatura ambiente (REGATTIERI *et al.*, 2016). Após esse período, foram adicionados 1,0 mL de Tween 80. Foi mantida sob agitação contínua por 6 horas até completa homogeneização, e pH estabilizado em 2. Posteriormente, foram incorporados lentamente os óleos de orégano e de tomilho (ensaio 6 – Tabela 4), mantendo a emulsão sob agitação *overnight*. A formação das nanopartículas foi conduzida pela adição gradual de 100 mL de solução de Tripolifosfato (TPP) (0,5% p/v) à emulsão em formação, seguida de agitação por 30 minutos e ajuste do pH final para 5,5 com NaOH 2 mol/L (Xiao, 2024). Na Figura 11 pode-se observar como foi realizada a preparação do revestimento.

Figura 11 – Elaboração dos revestimentos



Legenda: A) Solubilização da quitosana em agitador magnético; B) Aferição do pH do revestimento

Fonte: Do autor (2025)

3.8 Aplicação do revestimento e inoculação de Pcc no tomate

Dividiu-se aleatoriamente em dois grupos: um grupo com inóculo (análise microbiológica) e o outro sem inóculo (análise físico-química), para cada revestimento a ser utilizado. Os tomates foram lavados com a solução de hipoclorito de sódio 0,7% por 2 minutos, lavados três vezes com água destilada (ADE) e colocados em câmara de fluxo laminar (TROX®, modelo FLH) para secagem por três horas. Em seguida, os frutos foram mergulhados na solução de revestimento por 30 segundos, retirados e levados à câmara de fluxo laminar para secagem (Figura 12). Após a secagem, os frutos destinados ao tratamento com inoculação da bactéria foram marcados com dois círculos na superfície, dois em cada extremidade e efetuados dois ferimentos (2mm de profundidade) equidistantes em cada área, com auxílio de um alfinete entomológico. Em seguida foi depositada 10 µL da suspensão de Pcc, padronizada, em ADE contendo Tween 80 (0,5% m/m). Os frutos foram revestidos, inoculados e incubados em estufa tipo BOD, conforme metodologia descrita por Melo (1994) com modificação e mantidos a 25°C por 12 dias. Os controles foram tratados apenas com ADE e inoculados com o fitopatógeno.

Figura 12 – Imagens da aplicação do revestimento de quitosana nos frutos de tomate



Fonte: Do autor (2025)

3.9 Análise físico-química

Para as análises físico-química dos frutos, foram usados 144 frutos, sendo 48 para frutos controle, ou seja, sem revestimento, mais 48 frutos com revestimentos comestíveis apenas de quitosana e os restantes 48 frutos com revestimentos comestíveis de quitosana, adicionados a óleos essenciais de Orégano e Tomilho. Ambos foram sujeitos as análises durante doze (12) dias em intervalos de tempo de 0, 4, 8 e 12 respectivamente. Para análises físicas (Perda de massa, coloração e firmeza foi feita sem a destruição do fruto), enquanto que as análises químicas (Sólidos solúveis, Acidez titulavel e pH), foi antes triturado em um liquidificador

modelo Britânia Diamante 600W, para cada amostra e em seguida colocado em um saco plástico transparente devidamente identificado.

3.9.1 Análise Física

3.9.1.1 Coloração

Quanto à coloração da casca, foram feitas as leituras de cada fruto de acordo em sua região equatorial, usando o colorímetro Konica Minolta CR-400, no espaço de cores CIELAB da Comissão Internacional de l'Éclairage, utilizando o sistema de escala de cor L, a* e b*.

3.9.1.2 Perda de massa (%)

Obtida após tomada do peso da fruta no dia de aplicação do tratamento (Pi) e no dia da avaliação (Pf), pela seguinte fórmula: $\text{Perda de massa (\%)} = (Pi - Pf) / Pi * 100$. No entanto, a pesagem dos frutos foi feita através da balança eletrônica modelo GEHAKA BG400 para o controle da perda de massa durante os 12 dias.

3.9.1.3 Firmeza

Para a análise de firmeza, foi utilizada um penetrometro misto, Hardness Tester Instrumetherm (modelo ptr-300). Os resultados obtidos foram expressos em newton (N), com uso de uma proba de 11 mm, com a perfuração feita de forma longitudinal em relação a posição do fruto.

3.9.2 Análise Química

3.9.2.1 pH, Acidez titulável (AT) e sólidos solúveis (SS)

Amostras foram trituradas em água, na proporção de 1:3 (m/v), filtradas em organza, e o filtrado utilizado para as determinações de pH, AT e SS. O pH foi determinado utilizando um pH metro digital de bancada (modelo Q400RS-QUIMIS®), previamente calibrado por meio das soluções tampão (pH 4,0 e 7,0). A AT foi determinada por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,01 N, usando como indicador a fenolftaleína, de acordo com a AOAC (2019). Os resultados foram expressos em mg de ácido cítrico 100 g⁻¹ de amostra. Os SS foram determinados em refratômetro digital ATAGO PR-100 (Tóquio, Japão) com ajuste automático

de temperatura, e os resultados foram expressos em %, conforme descrito por AOAC (2019).

3.10 Compostos Bioativos

3.10.1 Quantificação de compostos fenólicos totais

3.10.1.1 Método de Folin-Ciocalteu

O teor de fenólicos totais foi determinado utilizando o ensaio de Folin-Ciocalteu (PARADISO *et al.*, 2018), com algumas alterações. Em resumo, em cada poço de uma microplaca de 96 poços, fundo chato, 30 µL do antimicrobiano foram misturados com 150 µL do reagente Folin-ciocalteau a 10% (v/v). Após quatro minutos, foram adicionados mais 120 µL de solução de carbonato de sódio a 4% (m/v). Essa mistura reacional foi incubada durante 2h ao abrigo da luz e o teor de fenólicos totais foi determinado a 720 nm utilizando um leitor de microplacas (EZ Read 2000, Biochrom®). O cálculo do teor de fenólicos foi realizado a partir da equação da reta obtida da curva padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (GAE) por cem gramas de amostra fresca.

3.10.1.2 Método Fast Blue

Realizado conforme descrito por Medina (2011), com algumas adaptações, duzentos microlitros do extrato foram misturados com 20 µL de reagente Fast Blue (0,1%, v/v) e 20 µL de hidróxido de sódio (5%, p/v), e a absorbância foi medida a 420 nm após 1,5 h de incubação no escuro. Todas as medições foram realizadas em triplicata, usando um leitor de microplacas de 96 poços (Biochrom EZ Read 2000). Os resultados foram relatados como equivalentes de ácido gálico em miligramas por 100 g de peso fresco da amostra (mg GAE/100 g FM).

3.10.1.3 Atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante pelo ensaio de captura de radicais DPPH • (2,2- difenil-1-picril-hidrazil), o qual fundamenta-se na redução do radical DPPH • por antioxidantes presentes nos extratos, foi realizada conforme descrito por Rufino *et al.* (2010) com adaptações. A mistura reacional foi constituída por 10 µL da solução de quitosana e 300 µL de solução etanólica de DPPH (6.10^{-2} mM). Após 30 minutos de repouso e sob o abrigo da luz, as leituras foram realizadas em um leitor de microplacas (EZ Read 2000) à 515 nm. Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em porcentagem de redução.

A determinação pelo ensaio do complexo de fosfomolibdênio foi realizada de acordo com (Oliveira *et al.*, 2023). Aliquotas dos extratos foram transferidos para microplacas com 96 poços, e após tempo reacional de ambos os ensaios as leituras foram realizadas no leitor de microplacas (EZ Read 2000, Biochrom®) a 695 nm.

3.11 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) fatorial, com 3 tratamentos (T1, T2 e T3), 3 repetições e 4 tempos de avaliação (0°, 4°, 8° e 12° dias). Sendo 36 unidades amostrais no total ao longo de todos os tempos e 9 unidades/tempo.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Para a variável tempo, procedeu-se à análise de regressão, ajustando-se modelos polinomiais e selecionando o melhor ajuste com base na significância dos coeficientes (teste F) e no R^2 ajustado, adotando-se como critério mínimo $R^2 \geq 70\%$ e coeficiente significativo ($p \leq 0,05$). As comparações múltiplas entre médias de tratamentos foram realizadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas no software Sisvar (FERREIRA, 2010)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização química dos óleos essenciais

A análise cromatográfica dos óleos essenciais de orégano e tomilho branco revelou o total de 27 constituintes químicos, com 12 compostos identificados no óleo de orégano e 15 no óleo de tomilho. Conforme detalhado na Tabela 6, o perfil químico de ambos os óleos é caracterizado pela predominância de monoterpenos fenólicos bioativos, que atuam como marcadores químicos na família *Lamiaceae* e são amplamente reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (Leyva-López *et al.*, 2017; Imran *et al.*, 2022).

Especificamente, o óleo essencial de orégano apresentou um quimiotipo majoritariamente carvacrol-rico, com este composto representando 69,53% da composição total. Os constituintes secundários mais abundantes foram o *p*-cimeno (15,8%) e o γ -terpineno (6,19%). A alta concentração de carvacrol, que está diretamente associada às atividades antibacteriana, antifúngica e antioxidante do óleo, corrobora estudos prévios na literatura (Rostro-Alanis *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2021). A presença de timol (3,06%) em menor proporção também foi identificada, sugerindo potencial efeito sinérgico entre os dois monoterpenos fenólicos, o que pode otimizar as propriedades biológicas do óleo (Marin-Tinoco *et al.*, 2023).

Em contrapartida, o óleo essencial de tomilho exibiu o quimiotipo timol-rico, com 47,82% de timol como composto majoritário. O perfil secundário incluiu *p*-cimeno (29,41%) e γ -terpineno (6,81%). A concentração de carvacrol (4,27%), embora presente, foi significativamente inferior à do óleo de orégano. A elevada concentração de timol é o principal fator que confere ao tomilho sua reconhecida potência antimicrobiana (Karaca Oner & Sonkaya, 2020), enquanto o *p*-cimeno e o γ -terpineno são amplamente descritos como precursores biossintéticos do timol (Almeida *et al.*, 2022).

Em suma, embora ambos os óleos compartilhem o mesmo tipo de compostos principais (fenóis monoterpênicos), a diferença quantitativa nas concentrações de carvacrol e timol define quimiotipos distintos. O orégano é caracterizado como carvacrol-rico, enquanto o tomilho é timol-rico. Essa distinção tem implicações significativas, tanto no âmbito farmacológico — determinando seu espectro de ação biológica — quanto tecnológico — orientando suas aplicações industriais na conservação de alimentos e na formulação de produtos fitoterápicos, inclusive como alternativas a conservantes sintéticos (Almeida *et al.*, 2022; Imran *et al.*, 2022).

Tabela 6 – Constituintes químicos encontrados nos OE's de Orégano e Tomilho

Óleo Essencial	Retenção de Tempo	Constituintes	Rica l	Índice de Kovats	Quantidade (%)
Orégano	6.211	α -Tujeno	924	924	0.48
	6.452	α -Pineno	932	932	1.41
	6.944	3-Careno	949	-	0.11
	7.791	β -Pineno	978	974	0.15
	8.047	Mirceno	986	988	0.70
	9.063	α -Terpineno	1016	1014	0.58
	9.334	ρ -Cimeno	1023	1020	15.8
	10.596	γ -Terpineno	1056	1054	6.19
	12.197	Linalol	1098	1095	1.48
	20.458	Timol	1289	1289	3.06
	20.890	Carvacrol	1298	1298	69.53
		(E)-			
	25.991	Cariofileno	1418	1417	0.51
Tomilho Branco	6.210	α -Tujeno	924	924	0.18
	6.452	α -Pineno	932	932	1.84
	6.944	Campeno	949	946	0.45
	8.045	Mirceno	986	988	0.95
	9.063	α -Terpineno	1016	1014	0.55
	9.348	ρ -Cimeno	1023	1020	29.41
	9.658	1,8-Cineol	1031	1026	0.32
	10.597	γ -Terpineno	1056	1054	6.81
	12.197	Linalol	1098	1095	3.90
	14.273	Campor	1146	1141	0.59
	15.337	Borneol	1171	1165	0.95
	15.689	4-Terpineol	1179	1186	0.71
	20.525	Timol	1290	1286	47.82
	20.824	Carvacrol	1297	1298	4.27
		(E)-			
	25.992	Cariofileno	1418	1417	1.25

Fonte: Do autor (2025)

Os resultados obtidos, portanto, não apenas corroboram com outros trabalhos anteriores da literatura, mas também confirmam a composição e a autenticidade dos óleos essenciais analisados, reforçando sua relevância como fontes naturais de compostos bioativos com considerável interesse biotecnológico e industrial. Embora os óleos essenciais de orégano e tomilho branco apresentem constituintes majoritariamente semelhantes, especialmente os monoterpenos fenólicos, as concentrações relativas de carvacrol e timol diferem significativamente entre eles. Essa variação quimiotípica é determinante para as propriedades biológicas de cada óleo, como atividade antimicrobiana e antioxidante, conforme evidenciado

na tabela 6.

Do ponto de vista comparativo, ambos os óleos compartilham o predomínio de fenóis monoterpênicos (carvacrol e timol), porém em proporções distintas. Essa variação quimiotípica é determinante para as propriedades biológicas de cada óleo e para suas aplicações tecnológicas, como conservantes de alimentos e em formulações fitoterápicas (ALMEIDA *et al.*, 2022; Imran *et al.*, 2022).

4.2 Concentração mínima bactericida dos óleos (CMB) e Concentração mínima inibitória (CMI)

A CMB do óleo essencia de orégano foi 0,5% e do óleo de tomilho de 0,25%. Essa diferença pode ser explicada pelo perfil químico distinto de cada óleo: O orégano apresentou carvacrol como constituinte majoritário (69,53%), um fenol monoterpênico de reconhecida atividade antimicrobiana. O tomilho, por sua vez, apresentou timol como composto predominante (47,82%), também um monoterpeno fenólico altamente ativo. Embora ambos sejam estruturalmente semelhantes, alguns estudos apontam que o timol pode apresentar maior atividade bactericida direta, enquanto o carvacrol é mais associado à atividade bacteriostática (LAMBERT *ET AL.*, 2001; NOSTRO *ET AL.*, 2004).

Esses achados estão em consonância com dados da literatura. JÍLKOVÁ *et al.* (2024/2025), avaliando o óleo de orégano contra *P. carotovorum* e *P. atrosepticum*, relataram CMI variando entre 0,25 e 0,5 % (v/v) e CMB de 0,5 %, valores que coincidem diretamente com os obtidos neste trabalho. De forma semelhante, KOSAKOWSKA *et al.* (2024), em estudo comparativo com diferentes quimiotipos de orégano, observaram para *Orégano vulgare* ssp. *vulgare* uma CMI de 0,4 % e CMB de 0,8 %, indicando que essa subespécie apresenta perfil antimicrobiano na mesma ordem de grandeza (0,4–0,8 %), corroborando os resultados aqui apresentados.

Entretanto, discrepâncias podem ser encontradas na literatura. ZHANG *et al.* (2023) reportaram valores significativamente mais baixos (CMI/ CMB≈ 0,02 %) do óleo de orégano frente à Pcc em ensaios pós-colheita em cebola. Essa diferença pode ser atribuída a fatores como: a composição química do óleo, uma vez que o teor de compostos majoritários, como carvacrol e timol, varia de acordo com o quimiotipo, origem geográfica e método de extração; o microambiente experimental (*in vitro* vs. pós-colheita *in vivo*), que pode potencializar ou reduzir a eficácia antimicrobiana; e a variabilidade entre cepas bacterianas, que afeta a suscetibilidade e a origem do vegetal na qual a bactéria foi isolada. De forma geral, a

concordância dos valores de CMB deste estudo com os obtidos por JÍLKOVÁ *et al.* (2024), JÍLKOVÁ *et al.* (2025) e KOSAKOWSKA *et al.* (2024), reforça a robustez dos resultados e evidencia o potencial do óleo de orégano como agente natural no controle de Pcc. Ainda assim, as divergências observadas em outros trabalhos, como o de ZHANG *et al.* (2023), ressaltam a necessidade de considerar as características químicas do óleo essencial utilizado e o contexto experimental em futuras aplicações biotecnológicas e agrícolas.

O óleo essencial de tomilho demonstrou duas vezes mais eficiência antimicrobiana em relação ao óleo de orégano. Portanto o estudo estabeleceu a CMB em 0,25%, destacando maior eficácia em comparação ao orégano. Trabalhos prévios confirmam essa tendência. ROJAS FERNÁNDEZ *et al.* (2019) relataram valores ainda mais baixos (CMI= CMB = 0,1%) para o óleo de *T. vulgaris*, atribuindo sua alta eficácia ao timol, componente majoritário, que apresentou valores de 0,2% quando testado isoladamente. Estudos comparativos também indicam que o tomilho possui atividade bactericida superior à do orégano, principalmente pela maior proporção de compostos fenólicos, como timol e carvacrol, que atuam na desestabilização da membrana celular bacteriana e aumento da permeabilidade (KOSAKOWSKA *et al.*, 2024; ROJAS FERNÁNDEZ *et al.*, 2019). Dessa forma, a concordância entre os valores encontrados neste trabalho e os relatados por JÍLKOVÁ *et al.* (2024/2025) E KOSAKOWSKA *et al.* (2024) reforça a confiabilidade dos resultados obtidos. Ao mesmo tempo, a evidência da maior potência do óleo de tomilho branco (CMB = 0,25%) em comparação ao orégano (CMB = 0,5%) corrobora com as literaturas, que aponta o tomilho, como um dos óleos essenciais de maior atividade antimicrobiana contra bactérias fitopatogênicas. Assim, pode-se concluir que tanto o orégano quanto o tomilho branco apresentam elevado potencial como agentes naturais no controle de Pcc sendo que o tomilho se destaca por sua eficácia superior, o que o torna candidato promissor para aplicação no manejo de doenças pós-colheita de origem bacteriana.

4.2.1 Avaliação de sinergismo entre os óleos essenciais

Todas as combinações geradas no DCCR descritas na Tabela 4 foram eficientes em impedir o crescimento de Pcc em placas (Tabela 7).

Tabela 7 – Sinergismo antibacteriano dos óleos essenciais sobre *Pectobacterium carotovorum*

Ensaio	Orégano (µL)	Tomilho(µL)	Total(µL)	Crescimento
1	5,5	3,9	9,4	-
2	5,5	5,5	11	-
3	10	3,9	13,9	-
4	10	5,5	16	-
5	4,5	4,7	9,2	-
6	11	4,7	16	-
7	7,8	3,6	11	-
8	7,8	5,8	14	-
9	7,8	4,7	12,5	-
10	7,8	4,7	12,5	-
11	7,8	4,7	12,5	-

Legenda: (-) ausência de crescimento em placas.

Fonte: Do autor (2025)

Apesar da ausência de crescimento microbiano em todos os ensaios, não foi possível caracterizar um efeito sinérgico entre os óleos, uma vez que a inibição ocorreu em concentrações iguais ou superiores às já observadas quando os óleos foram testados isoladamente. Do mesmo modo, não se verificou antagonismo, indicando que os compostos presentes nos dois óleos atuaram de maneira aditiva, mantendo a atividade antimicrobiana.

Esse comportamento é consistente com a literatura, que aponta que óleos ricos em fenólicos, como carvacrol e timol, exercem efeito antimicrobiano marcante por meio da desorganização da membrana celular, vazamento de constituintes intracelulares e inibição de enzimas metabólicas (Burt, 2004; Bassolé & Juliani, 2012). Estudos prévios sugerem que a combinação de óleos essenciais pode resultar em sinergismo, especialmente quando os perfis químicos são complementares (Falleh *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2023). No entanto, como observado neste estudo, nem sempre essa interação se manifesta, sendo frequente o registro de efeitos apenas aditivos (Wang *et al.*, 2025).

Assim, os resultados reforçam o potencial antimicrobiano tanto do orégano quanto do tomilho frente ao Pcc, confirmando que ambos podem ser empregados como alternativas naturais para o manejo de doenças pós-colheita. Contudo, a ausência de sinergismo evidencia que, neste caso, a associação não amplia a eficácia em relação ao uso individual, mas tampouco compromete a ação antibacteriana.

4.2.2 Comparação da atividade antimicrobiana de misturas de óleos essenciais e quitosana

Os tratamentos com quitosana e quitosana combinados com óleos essenciais em diferentes concentrações demonstraram eficácia com relação a inibição da *Pectobacterium carotovorum*, como ilustra a tabela-8, sobre as médias dos halos. No entanto a análise de variância mostrou que não houve diferenças estatisticamente significativas ($\alpha = 0,05$) entre os tratamentos.

A quitosana e quitosana com óleos essenciais, mostraram eficácia antimicrobiana e sinergia comprovada, mas diferenças estatísticas nem sempre são observadas. Embora estudos demonstrem halos de inibicao e potencial sinérgico, diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos nem sempre são detectadas, especialmente em análises de variância com $\alpha = 0,05$.

A incorporação de óleos essenciais a quitosana frequentemente resulta em efeito sinérgico, ampliando a atividade antimicrobiana, inclusive em sistemas alimentares e revestimentos, (Grande-Tovar *et al.*.2018). A eficácia depende do tipo e concentração do óleo, além do método de incorporação. Estudos recentes mostram que nanoparticulas e filmes de quitosana com oleos essenciais apresentam maior inibição microbiana e prolongam a vida útil de alimentos(JIN-YUAN *et al.*.2023).

Tabela 8 – Resultados de médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). ANOVA não significativa ($p = 0,1072$); CV = 9,79%.

Halo de inibição (mm)	
Trat	Média
H1	0.831a
H2	0.803a
H3	0.832a
H4	0.749a

Fonte: Do autor (2025)

Figura 13 – Observação e medição dos halos de Inibição da Pcc. Sendo os Halos (H1) quitosana; (H2): Quitosana + Combinação dos óleos (184 μ L); Halo (H3): quitosana + Combinação dos óleos (250 μ L); Halo (H4): quitosana + Combinação dos óleos (312 μ L)



Fonte: Do autor (2025)

4.3 Atividade antimicrobiana do revestimento de quitosana adicionado de óleos essenciais sobre *Pectobacterium carotovora* inoculada em tomates

Os resultados apresentados na Tabela 9 evidenciam diferenças estatisticamente significativas ($\alpha = 0,05$) entre os tratamentos: T1 (Controle), T2 (Quitosana) e T3 (Quitosana + Óleos). O controle (T1) apresentou as maiores contagens microbianas ao longo do armazenamento, a ausência de um revestimento ativo permite o crescimento natural da microbiota superficial do fruto. Esse comportamento é amplamente relatado em estudos com carnes, frutas e vegetais, nos quais o controle funciona como referência para avaliar a eficiência de tratamentos antimicrobianos (EDUARDO MONTAÑO-SÁNCHEZ *et al.*, 2020).

O revestimento com quitosana (T2) promoveu uma redução expressiva da população microbiana, resultado coerente com os mecanismos antimicrobianos clássicos desse biopolímero. A quitosana apresenta carga catiônica que interage eletrostaticamente com componentes aniônicos da membrana bacteriana, provocando alteração da permeabilidade, desestruturação celular e comprometimento de vias metabólicas essenciais (GAOFENG YUAN *et al.*, 2016). Essa ação multifatorial explica a acentuada diminuição microbiana observada no tratamento. E o tratamento T3 (Quitosana + Óleos Essenciais), observou-se uma leve redução adicional das contagens microbianas em comparação ao T2. Essa tendência sugere possível sinergia entre a quitosana e os compostos bioativos presentes nos óleos essenciais, como fenóis e monoterpenos, que possuem atividade antibacteriana reconhecida. Contudo, essa melhora nem sempre se traduz em diferenças estatísticas significativas, especialmente quando a quitosana isolada já exerce forte efeito inibitório (XINHUI ZHANG *et al.*, 2021).

Tabela 9 – Contagem total (Log UFC/g) de *Pectobacterium carotovorum* em tomates submetidos aos tratamentos T1 (Controle), T2 (Quitosana) e T3 (Quitosana + Óleos Essenciais) durante 12 dias de armazenamento

Contagem Total Log UFC/g	
Trat	Log (UFC/g)
T1	5,44b
T2	0,47a
T3	0.42a

Fonte: Do autor (2025)

No entanto, a Tabela-10 esclarece o comportamento temporal das médias de contagem microbiana (log UFC g⁻¹) dos frutos ao longo dos dias de armazenamento, permitindo avaliar a dinâmica de crescimento bacteriano sob cada tratamento. A análise das médias evidencia que não diferenças significativas ao longo dos 12 dias de armazenamento, o que espelha a eficácia inicial dos revestimentos, mas também sua capacidade de manter a estabilidade microbiológica ao longo do tempo.

Tabela 10 – Contagem microbiana (Log UFC/g) dos frutos ao longo dos dias de armazenamento

Contagem microbiológica ao longo dos dias	
Dias	Log(UFC/g)
0	1,85a
4	2,02a
8	2,13a
12	2,44a

Fonte: Do autor (2025)

Alguns estudos destacam a interpretação apresentada, indicando que, em condições controladas de armazenamento, pode haver uma tendência de aumento da contagem microbiana ao longo do tempo, mas nem sempre essa variação é estatisticamente significativa. (Souza *et al.*, 2020; Brixner *et al.*, 2022). Mesmo diante de incrementos numéricos na população microbiana durante o armazenamento, a análise estatística pode não apontar diferenças significativas entre os períodos avaliados, especialmente quando os tratamentos aplicados apresentam efeito antimicrobiano estável. Além disso segundo (FALLEH *et al.*, 2019 e KIM *et al.* 2023), a estabilidade dos revestimentos antimicrobianos pode limitar o crescimento microbiano ao longo do tempo, resultado em pequenas variações que não atingem significância estatística ($p > 0,05$). Isso reforça que a ausência de diferença estatística entre os dias não invalida a tendência de crescimento, mas indica que as condições experimentais e os tratamentos aplicados foram eficazes em manter o controle microbiano dentro de limites

estáveis.

No entanto tabela-11, apresenta o efeito de interação entre os tratamentos e os dias de contagem da *Pectobacteria carotovora*, ao longo do período de armazenamento de 12 dias, de acordo com a mesma tabela, os resultados demonstram claramente que não foi observada a interação significativa entre tratamentos e dias de armazenamento para a análise microbiológica ($p > 0,05$). O T1 manteve elevada contagem microbiana ao longo de 12 dias, sem efeito inibitório, enquanto T2 e T3, reduziram significativamente a população de *Pectobacterium carotovorum*, sendo que o T2 apresentou contagem baixa desde o início, atingindo ausência de crescimento no 12º dia, e T3 mostrou redução gradual, com inibição completa a partir do 4º dia. Esse padrão evidencia interação positiva entre o tratamento e o tempo de armazenamento, particularmente em T3, sugerindo efeito cumulativo e dependente da progressão temporal.

Tabela 11 – Efeitos da interação entre os tratamentos e o tempo de armazenamento da contagem de *Pectobacteria carotovora* dos tratamentos ao longo dos dias de avaliação dos frutos de tomate mantidas na BOD a 25,1 °C

Efeito de interação entre o tratamento/dias					
Tempos		0	4	8	12
trat	T1	5,22 c	5,54b	5,45b	5,56b
	T2	0,42a	0,86 a	0,62 a	0,00 a
	T3	1,69b	0,00 a	0,00 a	0,00 a

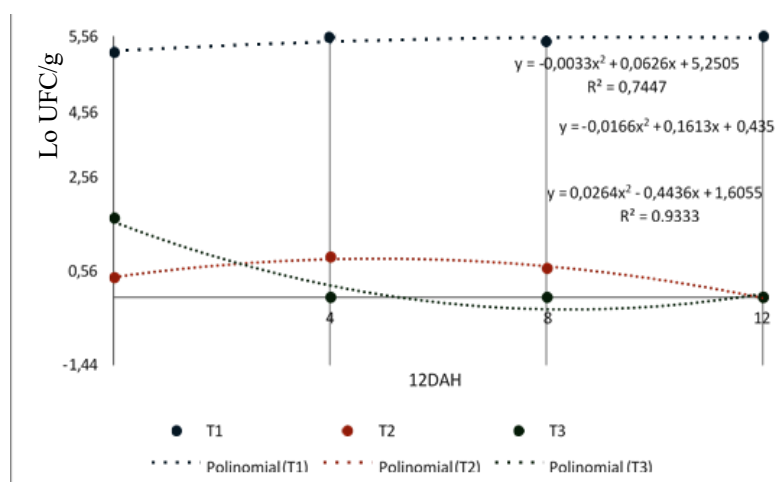
Fonte: Do autor (2025)

A sinergia entre quitosana e óleos essenciais ocorre devido à combinação de mecanismos, a quitosana desestabiliza a membrana bacteriana, enquanto os compostos fenólicos dos óleos essenciais promovem ruptura adicional da parede celular e inibição metabólica (RUIZ *et al.* 2020). Estudos com diferentes óleos tomilho, orégano, alecrim, manjerição, entre outros, demonstram que a escolha do óleo e sua concentração são determinantes para a eficácia antimicrobiana (ZHANG *et al.* 2021). A estabilidade e sustentação do efeito, dos resultados mostram a manutenção da inibição microbiana ao longo de 12 dias, são consistentes com pesquisas que estabilidade química e atividade prolongada dos óleos essenciais quando incorporados a quitosana. (PACHECO *et al.* 2020).

Na literatura, resultados semelhantes foram relatados por FALLEH *et al.* (2019), que observaram que óleos essenciais podem apresentar efeitos mais expressivos após alguns dias de exposição, devido à difusão gradual dos compostos ativos e ao acúmulo intracelular de fenóis como carvacrol e timol. Da mesma forma, (KIM *et al.* 2023) destacaram que o efeito inibitório de óleos de orégano e tomilho sobre bactérias fitopatogênicas foi intensificado após 72 horas

de incubação, evidenciando interação positiva entre tempo e tratamento. Por outro lado, (WANG *et al.*, 2025) demonstraram que, quando as concentrações são elevadas e próximas à CMB, o efeito antimicrobiano pode se manifestar de forma imediata e permanecer estável durante todo o armazenamento, o que explica a consistência observada em T2 desde o tempo inicial. Esse comportamento dinâmico (SHARMA *et al.*, 2020), que verificaram que a eficácia dos óleos essenciais contra *Erwinia spp.* depende não apenas da concentração, mas também da duração da exposição, reforçando a importância da análise da interação tratamento e tempo.

Figura 14 – Comportamento de *Pectobacterium carotovora*I inoculado em frutos de tomate durante os dias de armazenamento a 25,1°C dentro do tratamento



Fonte: Do autor (2025)

Os dados do gráfico demonstram a eficácia de diferentes estratégias de controle da bactéria *Pectobacterium carotovorum* (Pcc) em um período de 12 dias. A curva T1, que representa as condições ideais de crescimento sem intervenção, confirma o comportamento esperado para a Pcc em produtos hortícolas pós-colheita, com uma proliferação robusta e contínua, mantendo contagens bacterianas acima de 5 log UFC/g ao longo de todo o período. Esse resultado é consistente com a literatura, que descreve o crescimento rápido de Pcc sob condições favoráveis de temperatura e umidade (DUARTE *et al.*, 2021; HUSSAIN *et al.*, 2020).

Em contraste, as curvas T2 e T3 ilustram o impacto de tratamentos antimicrobianos. A curva T2, com um ajuste polinomial de alta precisão ($R^2 = 0,9887$), mostra um crescimento inicial limitado, seguido de uma pequena redução na população bacteriana, sugerindo um efeito moderado do tratamento. Já a curva T3, que também possui um ajuste de alta qualidade ($R^2 = 0,9333$), indica a maior eficácia entre os tratamentos testados. O padrão de T3, com uma queda acentuada na contagem bacteriana até níveis próximos de zero no oitavo dia, reflete a eficiência

do tratamento em inibir a proliferação de Pcc, um resultado em linha com estudos que utilizam compostos naturais ou nanopartículas para o controle de fitopatógenos (ZHANG *et al.*, 2022). A leve recuperação observada no final do período em T3 pode ser atribuída à sobrevivência de uma pequena fração de células viáveis, um fenômeno também reportado na literatura.

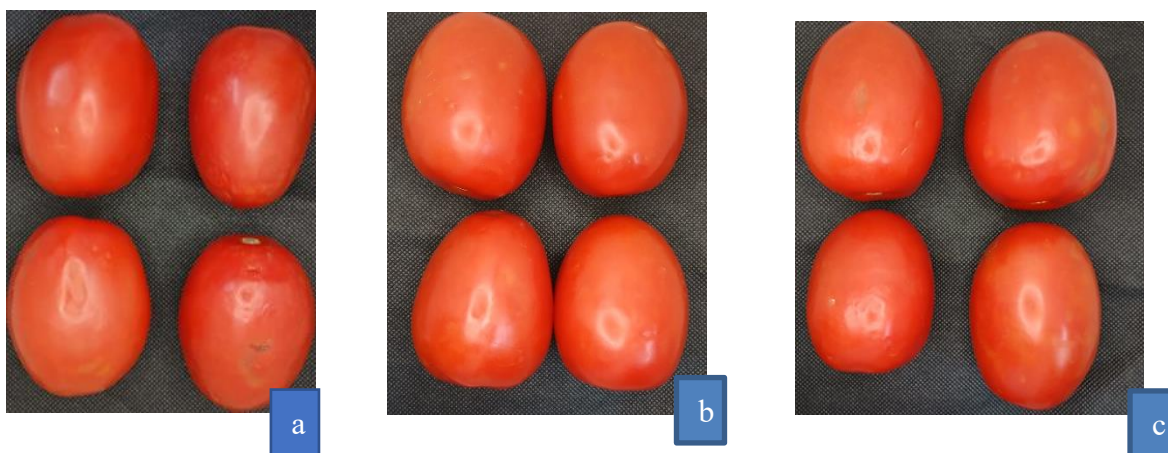
A análise do R^2 é crucial, pois os altos valores nas curvas T2 e T3 (acima de 0,9) indicam um comportamento previsível da redução bacteriana, o que facilita a modelagem do efeito dos tratamentos. A queda populacional de Pcc observada em T3 é particularmente relevante, pois demonstra que, mesmo em condições de armazenamento prolongado, é possível manter baixas contagens bacterianas com um tratamento eficaz. Este resultado reforça a importância do tempo de armazenamento como fator crítico na sobrevivência de fitopatógenos, conforme destacado por SMITH *et al.* (2019).

4.4 Caracterização físico-química

4.4.1 Perda de massa

A perda de massa é um parâmetro fundamental na avaliação do frescor de frutas e hortaliças, uma vez que, após a colheita, ocorre redução principalmente em decorrência da perda de água por transpiração e respiração. No presente estudo, os frutos foram armazenados em ambiente não controlado, sem controle ativo de temperatura e umidade e as condições ambientais foram monitoradas ao longo do período de armazenamento, registrando-se temperatura média de 22,7 °C (variando de 19 a 25,6 °C) e umidade relativa média de 63,6% (variando de 49 a 78%). No entanto a figura abaixo, apresenta o aspecto visual dos frutos apos 12 dias de armazenamento.

Figura 15 – Aspecto visual de tomates do segment italiano, híbrido *Gyotone*, após 12 dias de armazenamento in natura



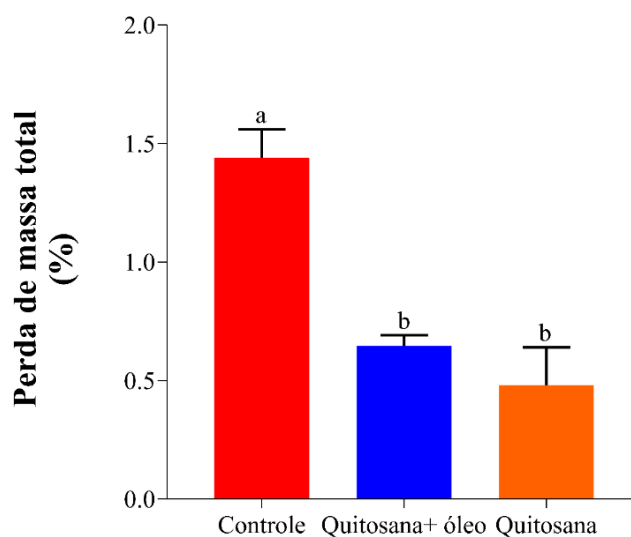
Legenda: a) Controle; b) Quitosana e c) Quitosana adicionados aos óleos

Fonte: Do autor (2025)

No presente estudo, observou-se diferença significativa entre frutos revestidos e não revestidos quanto a esse parâmetro (Figura 15; $p < 0,05$). Resultado semelhante foi relatado por BARRETO *et al.* (2016), ao utilizar quitosana e óleo essencial na conservação de tomates cereja. De forma consistente, XIAO *et al.* (2024) também verificaram menor perda de massa em tomates tratados com quitosana e óleo essencial, atribuindo esse efeito à formação de uma barreira quase hermética ao redor do fruto.

Adicionalmente, a redução da perda de peso ao longo do armazenamento está relacionada à maior resistência à difusão de vapor de água em frutos revestidos, decorrente da natureza hidrofóbica do revestimento, que forma uma matriz contínua em torno do produto. Essa barreira modifica a atmosfera interna do fruto por meio da permeabilidade seletiva a gases, reduzindo os níveis de O_2 e/ou aumentando os de CO_2 , além de inibir a biossíntese de etileno (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2011).

Figura 16 – Comportamento dos frutos em relação a perda de massa ao longo dos 12 dias de armazenamento



Fonte: Do autor (2025)

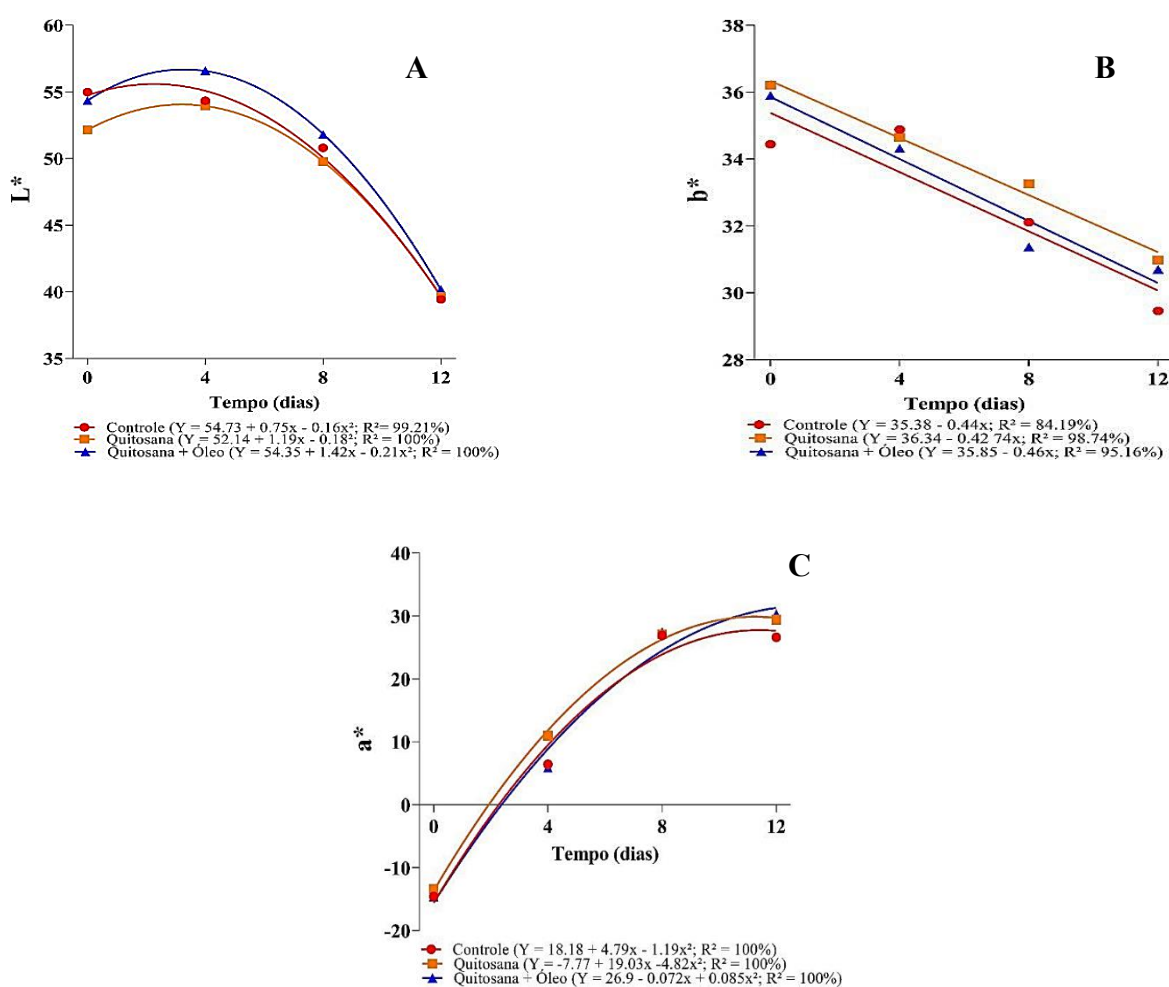
4.4.2 Cor

A coloração do fruto exerce influência direta sobre a aceitação comercial, uma vez que constitui um dos principais atributos visuais responsáveis por atrair o consumidor e estimular a decisão de compra. Alterações significativas na coloração dos tomates foram observadas durante o período de armazenamento (Figura 17). Verificou-se o comportamento quadrático para as variáveis L^* e a^* , e redução linear para a variável b^* .

A variável L^* não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Figura 17a; $p < 0,05$); no entanto, foram observadas alterações ao longo do tempo dentro de um mesmo tratamento. Esse resultado indica que, embora os tratamentos não tenham influenciado significativamente essa variável, o armazenamento provocou seu declínio, evidenciando o escurecimento dos frutos uma característica típica do processo de amadurecimento do tomate. A redução linear da variável b^* (Figura 17b; $p < 0,05$) indica uma diminuição da tonalidade amarela dos frutos ao longo do amadurecimento. Esse comportamento, contudo, não foi influenciado pelos tratamentos aplicados, mas sim pelo tempo de armazenamento. Para o parâmetro a^* (Figura 17c; $p < 0,05$), observou-se influência significativa tanto dos tratamentos quanto do tempo de armazenamento. Frutos tratados com quitosana e com quitosana, adicionados aos óleos de Orégano e Tomilho, apresentaram valores significativamente mais elevados dessa variável, sugerindo que os revestimentos contribuíram para coloração mais avermelhada dos tomates.

As modificações observadas na coloração dos frutos ao longo do armazenamento podem estar associadas ao acúmulo de compostos carotenoides, como o licopeno (relacionado à cor vermelha) e o β -caroteno (relacionado à cor alaranjada), os quais atingem suas concentrações máximas na fase de amadurecimento completo (LLAHY *et al.*, 2019). Já a redução nos valores de L^* observada é indicativa do escurecimento decorrente do aumento da intensidade da coloração vermelha (PERALTA-RUIZ *et al.*, 2020).

Figura 17 – Comportamento das componente L , b e a dos tomates durante o tempo de armazenamento a 25°C



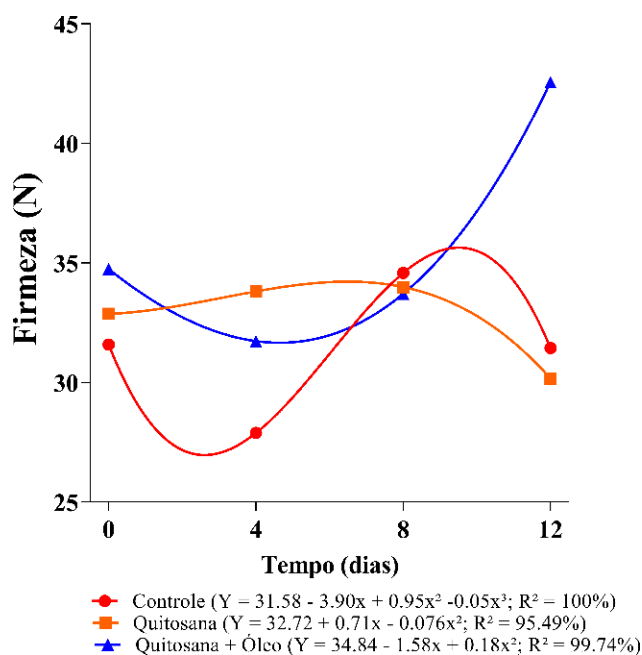
Fonte: Do autor (2025)

4.4.3 Firmeza

A firmeza dos tomates foi significativamente influenciada tanto pelos tratamentos aplicados quanto pelo tempo de armazenamento (Figura 18; $p < 0,05$). Dentre os tratamentos, os frutos submetidos à aplicação de quitosana, adicionados aos óleos essenciais, apresentaram

maior firmeza (42,56 N) ao final do período de armazenamento. Resultados semelhantes utilizando revestimentos à base de quitosana em tomates foram relatados por Xiao *et al.* (2024). Os achados do presente estudo também corroboram os de Venkatachalam *et al.* (2024), que observaram maior firmeza em tomates tratados com quitosana e óleo de canela.

Figura 18 – Comportamento dos frutos em relação a firmeza, ao longo dos 12 dias após o armazenamento



Fonte: Do autor (2025)

Segundo Venkatachalam *et al.* (2024), o aumento da firmeza em frutos revestidos com quitosana e óleo essencial está provavelmente relacionado à melhoria das propriedades de barreira do filme comestível, promovida pela adição dos óleos. Essa combinação favorece a criação de um microclima na superfície do fruto, reduzindo a perda de umidade e a taxa de respiração, além de inibir a produção de etileno fatores que contribuem para a manutenção da firmeza durante o armazenamento. Além disso, a maior firmeza observada nos frutos tratados com quitosana e Orégano e Tomilho, pode estar associada à capacidade do revestimento em modular a atividade de enzimas relacionadas ao amadurecimento, como hidrolases, pectina esterase e poligalacturonase, cuja ação é induzida pelo aumento da respiração (Venkatachalam *et al.*, 2024).

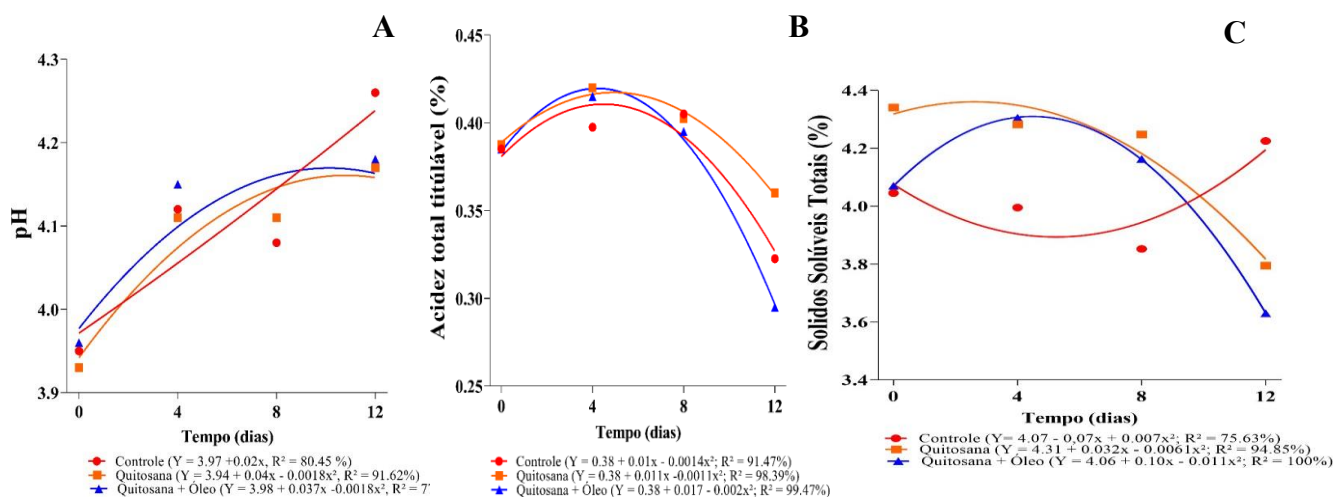
4.4.4 pH, acidez titulável e sólidos solúveis

O pH geralmente tende a aumentar durante a maturação de frutos climatéricos, em

decorrência do consumo de ácidos orgânicos utilizados nos processos metabólicos relacionados à respiração. Esse comportamento foi observado nos frutos analisados neste estudo. No entanto, alterações significativas nos valores de pH foram identificadas em função tanto dos tratamentos quanto do tempo de armazenamento (Figura 19; $p < 0,05$), sendo os maiores valores registrados nos frutos-controle. Esse resultado sugere que os revestimentos à base de quitosana e quitosana + óleo essencial foram eficazes em reduzir o consumo de ácidos orgânicos ao longo do amadurecimento.

Esses dados são corroborados pelos achados de PERALTA-RUIZ *et al.* (2020), que também observaram valores mais baixos de pH em tomates revestidos com quitosana e óleo essencial ao final do armazenamento. Segundo os autores, essa redução pode estar associada a alterações na atmosfera interna do fruto proporcionadas pelos revestimentos, o que leva a um menor consumo de ácidos orgânicos. Além disso, tais modificações frequentemente estão relacionadas com a acidez titulável, apresentando comportamentos correspondentes.

Figura 19 – Comportamento dos frutos em relação ao pH (A) e acidez titulável (B) e sólidos solúveis (C) durante o tempo de armazenamento



Fonte: Do autor (2025)

A acidez titulável (AT) está diretamente relacionada ao teor de ácidos orgânicos presentes nos tomates, especialmente o ácido cítrico e o ácido ascórbico. Para esse parâmetro, observou-se um comportamento quadrático em todos os tratamentos avaliados, com redução significativa da AT ao longo do tempo de armazenamento e também em função dos tratamentos aplicados (Figura 19B; $p < 0,05$). Os maiores valores de acidez foram registrados nos frutos-controle e naqueles revestidos apenas com quitosana. Por outro lado, frutos tratados com a

combinação de quitosana, adicionados aos óleos essenciais de Orégano e Tomilho, apresentaram os menores teores de acidez titulável em comparação aos demais tratamentos. Essa redução pode estar associada à ação dos compostos presentes nos óleos essenciais de Orégano e Tomilho, os quais possivelmente estimularam rotas metabólicas relacionadas à respiração e ao amadurecimento, resultando em maior consumo dos ácidos orgânicos. Além disso, esses compostos podem alterar a permeabilidade das membranas celulares, favorecendo reações bioquímicas que levam à degradação ou transformação dos ácidos, o que contribui para o menor teor final observado.

De modo geral, as atividades metabólicas continuam ocorrendo em frutas e hortaliças mesmo após a colheita. Os ácidos orgânicos não apenas constituem a principal fonte de ATP durante a respiração celular, mas também atuam como precursores de metabólitos intermediários em diversas reações bioquímicas. Como resultado, seus teores refletidos na acidez titulável tendem naturalmente a diminuir ao longo do armazenamento (WU, LU & WANG, 2016). Assim como observado para a acidez titulável (AT), os sólidos solúveis (SS) também apresentaram um comportamento quadrático, sendo influenciados tanto pelos tratamentos aplicados quanto pelo tempo de armazenamento (Figura 19C; $p < 0,05$). Observou-se uma redução nos teores de SS ao final do armazenamento nos frutos tratados com quitosana e com quitosana + combinação dos óleos essenciais (Orégano e Tomilho). Esse comportamento contrasta com o observado nos frutos-controle, nos quais houve um aumento dos SS ao final do período de armazenamento.

Os resultados obtidos neste estudo são consistentes com os descritos por XIAO *et al.* (2024) e por Tigist, Workneh e Woldetsadik (2013), que relataram uma tendência geral de aumento nos sólidos solúveis totais no início do armazenamento, seguida por uma posterior redução. Essa diminuição pode estar associada à redução dos carboidratos disponíveis e à quebra de glicosídeos em subunidades mais simples durante a respiração (KHALIQ, RAMZAN & BALOCH, 2019).

Sabe-se que uma menor taxa respiratória leva à redução no consumo de metabólitos. Assim, neste estudo, os revestimentos à base de quitosana e óleo essencial podem ter contribuído para a diminuição da taxa respiratória dos frutos tratados, o que resultou em menores teores de sólidos solúveis ao final do armazenamento.

4.5 Fenólicos totais e capacidade antioxidante do material de revestimento

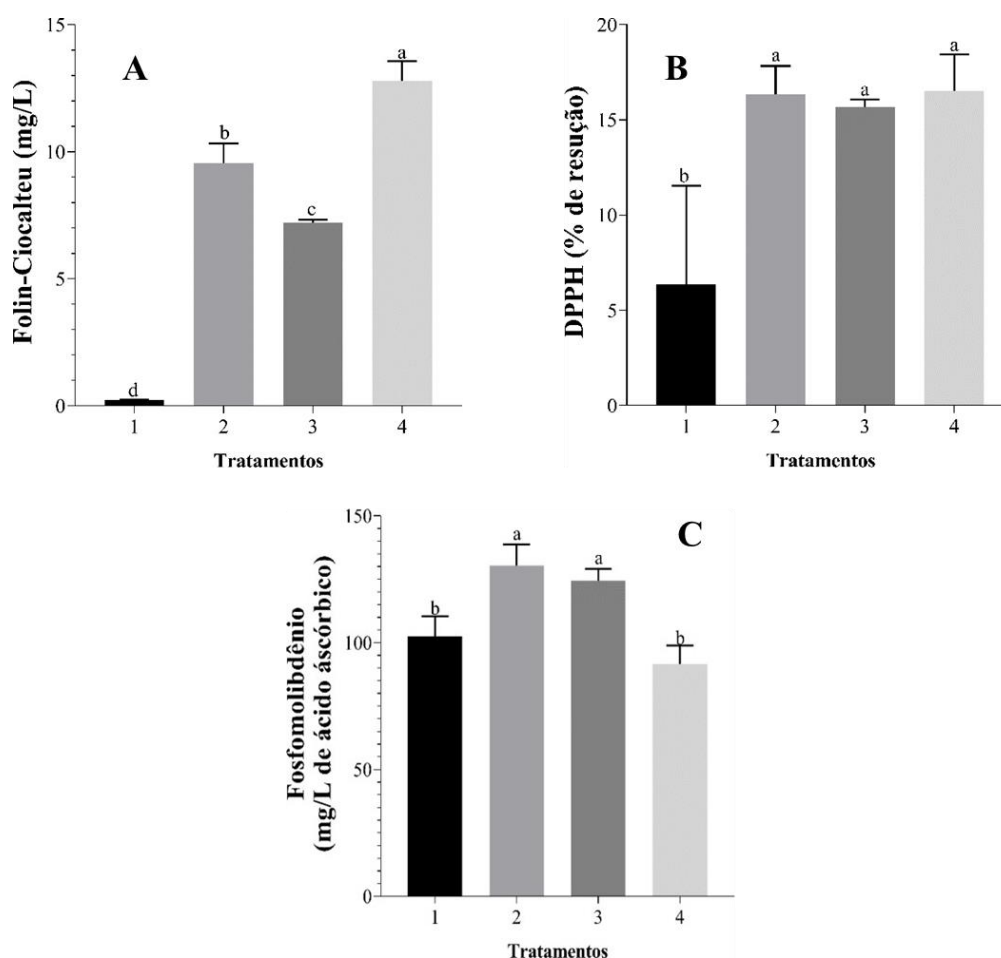
Ao se analisar o teor de compostos fenólicos nas formulações das películas comestíveis,

pelo método de Folin-Ciocalteu, observa-se uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre o tratamento com quitosana pura (Figura 20A) e aqueles com adição de óleos essenciais de orégano e tomilho. Verifica-se que o revestimento contendo maior proporção de óleo apresentou também o maior teor de fenólicos totais, de acordo com o método utilizado.

Essa diferença pode estar relacionada à presença dos óleos essenciais, que contribuíram diretamente para o aumento no conteúdo de fenólicos. Esse comportamento também foi observado por VIACAVA, CENCI e ANSORENA (2022), que ao aplicarem revestimentos de quitosana com óleo essencial de tomilho em cenouras fatiadas, verificaram que, ao longo do armazenamento, os tratamentos com quitosana e tomilho influenciaram significativamente o acúmulo de compostos fenólicos. Os autores atribuíram esse efeito à presença de monoterpenos fenólicos com propriedades antioxidantes, naturalmente presentes no óleo essencial de tomilho. A capacidade antioxidante dos revestimentos foi avaliada por dois métodos distintos: DPPH e fosfomolibdênio. Em ambos os testes, observou-se que a adição de óleo essencial, mesmo em menor concentração, contribuiu significativamente (Figura 20 B e 20C; $p < 0,05$) para o aumento da atividade antioxidante, quando comparada ao controle (revestimento com quitosana pura).

Além disso, a literatura mostra que a atividade antioxidante das películas é significativamente ampliada com a adição de óleos essenciais, mesmo em baixas concentrações, quando avaliada por métodos como DPPH e fosfomolibdênio (BALLESTER-COSTA *et al.*, 2016). O aumento da atividade antioxidante está diretamente relacionado ao maior conteúdo de fenólicos proporcionado pelos óleos essenciais (VIACAVA *et al.*, 2022).

Figura 20 – Avaliação dos Fenólicos Totais do Revestimento e atividade antioxidante



Legenda: Formulações 1: Quitosana; Formulações 2: Quitosana + óleos (184 μ L); Formulações 3: quitosana + óleos (250 μ L); Formulações 4: quitosana + óleos (312 μ L)

Fonte: Do autor (2025)

O maior potencial antioxidante nos tratamentos com óleo essencial pode estar relacionado a interações sinérgicas entre a quitosana e os compostos bioativos presentes nos óleos essenciais, que podem potencializar a capacidade de neutralização dos radicais livres. Além disso, destaca-se que os constituintes fenólicos e terpenoides dos óleos essenciais desempenham um papel fundamental na atividade antioxidante das formulações à base de quitosana enriquecidas com essas substâncias (NOORI & MARASHI, 2023).

5 CONCLUSÃO

Os revestimentos comestíveis a base de quitosana adicionados de óleos essenciais de orégano e tomilho, apresentaram ação de inibição sobre a *Pectobacterium carotovorum*, inoculadas no tomate.

Os revestimentos mantiveram os atributos sensoriais, durante o período de armazenamento, prolongando a vida útil, reforçando a importância do uso de biopolímeros e compostos naturais na conservação do tomate, como uma alternativa tecnológica viável para a indústria, contribuindo para a segurança microbiológica e para a redução de perdas econômicas pós- colheita.

REFERÊNCIAS

- ABD EL-HACK, A. M. E. *et al.*. Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 14, p. 5747–5762, 2021. DOI: 10.1002/jsfa.11372.
- ALMEIDA, P.; BLANCO-PASCUAL, N.; ROSOLEN, D.; CISILOTTO, J.; CRECZYNSKI-PASA, T.; LAURINDO, B.; BALLISTER-COSTA, C.; SENDRA, E.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; VIUDA-MARTOS, M. Evaluation of the antibacterial and antioxidant activities of chitosan edible films incorporated with organic essential oils obtained from four *Thymus* species. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 3374–3379, 2016. DOI: 10.1007/s13197-016-2312-y.
- ABBOTT, D. W.; BORASTON, A. B. Structural biology of pectin degradation by Enterobacteriaceae. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 72, p. 301–316, 2008.
- ATIVIDADE antimicrobiana do óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. e seu componente majoritário timol. **Revista de Produção e Sanidade Animal**, v. 7, n. 2, p. 45–52, 2019. Disponível em: <https://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/521>. Acesso em: 30 ago. 2025.
- BARRAS, F.; OLIVEIRA, F.; CHATTERJEE, A. K. Enzimas extracelulares e patogênese da podridão mole *Erwinia*. **Revista de Phytopathologia**, v. 32, p. 201–234, 1994.
- BARRETO, T. A.; ANDRADE, S. C. A.; MACIEL, J. F.; ARCANJO, N. M. O.; MADRUGA, M. S.; MEIRELES, B.; CORDEIRO, Â. M. T.; SOUZA, E. L.; MAGNANI, M. A chitosan coating containing essential oil from *Origanum vulgare* L. to control postharvest mold infections and keep the quality of cherry tomato fruit. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1–14, 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01724.
- BRITTO, D.; GOY, R.; FILHO, S.; ASSIS, O. Quaternary salts of chitosan: history, antimicrobial features, and prospects. **International Journal of Carbohydrate Chemistry**, p. 1–12, 2011. DOI: 10.1155/2011/312539.
- CAI, J.; YANG, D.; WANG, Q. Preparation and characterization of chitosan nanoparticles loaded with *Athyrium sinense* essential oil with antibacterial properties against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. **Industrial Crops and Products**, 2023. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.116382.
- CHATTERJEE, S.; SONTI, R. V. Virulence deficiency caused by a transposon insertion in the *purH* gene of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 51, p. 575–581, 2005.
- CORREA-PACHECO, Z.; CORONA-RANGEL, M.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VENTURA-AGUILAR, R. Application of natural-based nanocoatings for extending the shelf life of green bell pepper fruit. **Journal of Food Science**, 2020. DOI: 10.1111/1750-3841.15542.
- CUI, Y.; CHATTERJEE, A.; HASEGAWA, H.; CHATTERJEE, A. K. *Erwinia carotovora* subspecies produce duplicate variants of *ExpR*, *LuxR* homologs that activate *rsmA*

transcription but differ in their interactions with N-acylhomoserine lactone signals. **Journal of Bacteriology**, v. 188, p. 4715–4726, 2006.

CUI, Y.; CHATTERJEE, A.; HASEGAWA, H.; DIXIT, V.; LEIGH, N.; CHATTERJEE, A. K. ExpR, um homólogo LuxR de *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, ativa a transcrição de *rsmA*, que especifica uma proteína reguladora global de ligação ao RNA. **Journal of Bacteriology**, v. 187, p. 4792–4803, 2005.

DE J. ROSTRO-ALANIS, M.; BÁEZ-GONZÁLEZ, J.; TORRES-ALVAREZ, C.; OLIVEIRA, R.; RODRIGUES-RODRIGUES, J.; CASTILLO, S. Composição química e atividades biológicas do óleo essencial de orégano e suas frações obtidas por destilação a vácuo. **Moléculas**, v. 24, 1904, 2019.

DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DOS ESTADOS UNIDOS (USDA-AMS). Serviço de Marketing Agrícola. **Graus e padrões de tomate**. Disponível em: <https://www.ams.usda.gov/grades-standards/tomato-grades-and-standards>. Acesso em: 26 jul. 2022.

E., PROGULSKE-FOX, A. *et al.*. Characterization and pathogenic significance of *Vibrio vulnificus* antigens preferentially expressed in septicemic patients. **Infection and Immunity**, v. 71, p. 5461–5471, 2003.

FALLEH, H.; BEN JEMAA, M.; SAADA, M.; KSOURI, R. Essential oils: a promising eco-friendly food preservative. **Food Chemistry**, v. 330, p. 127268, 2020. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127268.

GAMES, E. *et al.*. Structurally related monoterpenes p-cymene, carvacrol and thymol isolated from essential oil from leaves of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) protect mice against elastase-induced emphysema. **Molecules**, v. 21, 1390, 2016.

GOY, R.; BRITTO, D.; ASSIS, O. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, p. 241–247, 2009. DOI: 10.1590/s0104-14282009000300013.

GOY, R.; MORAIS, S.; ASSIS, O. Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* growth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 122–127, 2016. DOI: 10.1016/j.bjp.2015.09.010.

GRANDE-TOVAR, C.; CHAVES-LÓPEZ, C.; SERIO, A.; ROSSI, C.; PAPARELLA, A. Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. **Trends in Food Science & Technology**, 2018. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.05.019.

HENKE, J. M.; BASSLER, B. L. Bacterial social engagements. **Trends in Cell Biology**, v. 14, p. 648–656, 2004.

IMRAN, M.; ASLAM, M.; ALSAGABY, S. A.; SAEED, F.; AHMAD, I.; AFZAAL, M.; ARSHAD, M. U.; ABDELGWAD, M. A.; EL-GHORAB, A. H.; KHAMES, A. *et al.*. Aplicação terapêutica do carvacrol: uma revisão abrangente. **Alimentos Science & Nutrition**, v. 10, p. 3544–3561, 2022.

JÍLKOVÁ, H.; KOCIOVÁ, S.; NOVÁKOVÁ, A.; BENEŠOVÁ, L. Essential oils of oregano and thyme as natural agents for controlling potato soft rot caused by *Pectobacterium* spp. **Potato Research**, 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11540-024-09651-8>

. Acesso em: 30 ago. 2025.

KADER, A. A. Postharvest Technology of Horticultural Crops - An Overview from Farm to Fork. *Ethiopian Journal of Applied Science and Technology*, Special Issue No. 1, p. 1-8, 2013

KARACA ONER, E.; SONKAYA, M. Identificação da variabilidade ontogenética e diurna em orégano (*Origanum onites* L.). **Notulae Horticulturae Agrobi**, v. 48, p. 1185–1193, 2020.

KATARZYNA, W.; WĘGLARZ, Z. Antimicrobial activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies *vulgare* and *hirtum* essential oils against phytopathogenic bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 2024. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1369275. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2024.1369275/full>

. Acesso em: 30 ago. 2025.

KE, C.; DENG, F.; CHUANG, C.; LIN, C. Antimicrobial actions and applications of chitosan. *Polymers*, v. 13, 2021. DOI: 10.3390/polym13060904.

KHALIQ, G.; RAMZAN, M.; BALOCH, A. H. Effect of Aloe vera gel coating enriched with *Fagonia indica* plant extract on physicochemical and antioxidante activity of sapodilla fruit during postharvest storage. **Food Chemistry**, v. 286, p. 346–353, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.01.135.

LEYVA-LÓPEZ, N.; GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E. P.; VAZQUEZ-OLIVO, G.; HEREDIA, J. B. Óleos essenciais de orégano: atividade biológica além de suas propriedades antimicrobianas. **Moléculas**, v. 22, 989, 2017.

LLAHY, R.; TLILI, I.; SIDDIQUI, M. W.; HDIDER, C.; LENUCCI, M. S. Inside and beyond color: comparative overview of functional quality of tomato and watermelon fruits. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 769, 2019. DOI: 10.3389/fpls.2019.00769.

MARIN-TINOCO, R. I.; ORTEGA-RAMÍREZ, A. T.; ESTEBAN-MENDEZ, M.; SILVA-MARRUFO, O.; BARRAGAN-LEDESMA, L. E.; VALENZUELA-NÚÑEZ, L. M.; BRICEÑO-CONTRERAS, E. A.; SARIÑANA-NAVARRETE, M. A.; CARVALHO, A.; NAVARRETE-MOLINA, C. Atividade antioxidante e antibacteriana do óleo essencial de orégano mexicano, extraído de plantas que ocorrem naturalmente em áreas semiáridas e cultivadas no campo e em estufa no norte do México. **Moléculas**, v. 28, 6547, 2023.

MOLE, B.; HABIBI, S.; DANGL, J. L.; GRANT, S. R. Gluconate metabolism is required for virulence of the soft-rot pathogen *Pectobacterium carotovorum*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 23, p. 1335–1344, 2010.

MONTAÑO-SÁNCHEZ, E.; DEL MAR TORRES-MARTÍNEZ, B.; VARGAS-SÁNCHEZ, R.; HUERTA-LEIDENZ, N.; SÁNCHEZ-ESCALANTE, A.; BERIÁN, M.; TORRESCANO-URRUTIA, G. Effects of chitosan coating with green tea aqueous extract on lipid oxidation

and microbial growth in pork chops during chilled storage. **Foods**, v. 9, 2020. DOI: 10.3390/foods9060766.

NASSER, W.; BOUILLANT, M. L.; SALMOND, G.; REVERCHON, S. Characterization of the *Erwinia chrysanthemi* *expI-expR* locus directing the synthesis of two N-acyl-homoserine lactone signal molecules. **Molecular Microbiology**, v. 29, p. 1391–1405, 1998.

NOORI, S. M. A.; MARASHI, S. M. H. Chitosan-based coating and films incorporated with essential oils: applications in food models. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 17, p. 4060–4070, 2023. DOI: 10.1007/s11694-023-01931-7.

OLIVEIRA, A.; AFIADO, N. T. O papel das enzimas pécnicas na patogênese das plantas. **Revista de Phytopathologia**, v. 24, p. 383–409, 1986.

OLIVEIRA, F.; PAPI, R.; PARASKEVOPOULOU, A. Caracterização de partículas de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*) produzidas pela nova técnica de nano spray drying. **Alimentos**, v. 10, 2923, 2021.

OOTANI, M. A. *et al.*. Use of essential oils in agriculture. **Journal of Agronomic Science**, v. 4.

PERALTA-RUIZ, Y.; TOVAR, C. D. G.; SINNING-MANGONEZ, A.; CORONELL, E. A.; MARINO, M. F.; CHAVES-LÓPEZ, C. Reduction of postharvest quality loss and microbiological decay of tomato “chonto” (*Solanum lycopersicum* L.) using chitosan-essential oil-based edible coatings under low-temperature storage. **Polymers**, v. 12, n. 8, 1822, 2020. DOI: 10.3390/polym12081822.