UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
***CAMPUS* DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

JESSICA CRISTINA URBANSKI LAURETH

REVESTIMENTO DE NANOCOMPÓSITOS BASEADOS EM NANOCELULOSE, ACRESCIDOS DE EXTRATO DE PELÍCULA DE AMENDOIM NA FISIOLOGIA E QUALIDADE DA LIMA ÁCIDA TAHITI ARMAZENADA

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ
2016

JESSICA CRISTINA URBANSKI LAURETH

REVESTIMENTO DE NANOCOMPÓSITOS BASEADOS EM NANOCELULOSE, ACRESCIDOS DE EXTRATO DE PELÍCULA DE AMENDOIM NA FISIOLOGIA E QUALIDADE DA LIMA ÁCIDA TAHITI ARMAZENADA

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

Orientador: Dr. Gilberto Costa Braga

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

L383r

Laureth, Jessica Cristina Urbanski

Revestimento de nanocompósitos baseados em nanocelulose, acrescidos de extrato de película de amendoim na fisiologia e qualidade da lima ácida Tahiti armazenada./Jessica Cristina Urbanski Laureth. Marechal Cândido Rondon, 2016.

81 p.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Costa Braga.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2016

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Agronomia

1. Respiração. 2. Etileno. 3. Polissacarídeos. 4. Nanocristais de celulose. 5. Antioxidantes. I. Braga, Gilberto Costa. II.Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título.

CDD 21.ed. 634.337
CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

JESSICA CRISTINA URBANSKI LAURETH

REVESTIMENTO DE NANO COMPÓSITOS BASEADOS EM NANO CELULOSE, ACRESCIDOS DE EXTRATO DE PELÍCULA DE AMENDOIM NA FISIOLOGIA E QUALIDADE DA LIMA ÁCIDA TAHITI ARMAZENADA

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

APROVADA: 25 de fevereiro de 2016

Profª. Drª. Eliane Colla
(UTFPR)

Prof. Dr. Odair José Kuhn
(UNIOESTE)

Prof. Dr. Gilberto Costa Braga
(Orientador)
(UNIOESTE)

À Deus.

Aos meus pais, Ari Urbanski e Noeli Maria Theves Urbanski.

Ao meu irmão, Lucas Matheus Urbanski.

Ao meu esposo, Jean Michel Laureth.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, que em sua infinita misericórdia e amor fez com que esse e tantos outros sonhos se tornassem possíveis.

Ao meu esposo, que esteve presente em todos os momentos, obrigada pela força, animo, compreensão e auxilio. Você sonhou esse sonho comigo, e serei sempre grata por isso.

Aos meus pais e irmão, obrigada pelo apoio, vocês são a minha base, e sempre mantiveram a confiança e o amor por mim, nunca terei como agradecer por tudo isso. Todas essas páginas não seriam suficientes para expressar meu profundo agradecimento por ser quem eu sou.

Ao professor e orientador, Gilberto Costa Braga, por compartilhar seu conhecimento e sua experiência profissional. Você me cativou e me fez encantada pela pós-colheita de frutas, obrigada.

Ao amigo, Omari Dangelo Forlin Dildey, que me auxilio e me acompanhou muito antes da minha entrada na Universidade.

A amiga Alice Jacobus de Moraes, que auxiliou e esteve presente durante todo o mestrado. Obrigada pelo recado de boas-vindas, antes mesmo de me conhecer pessoalmente, ele foi tranquilizante.

As colegas Daiane Luckmann, Cristiane Paulus, Vanessa Aline Egewarth, Maria Cristina Copello Rotili e colega Lucas Guilherme Bulegon. Obrigada por compartilhar dos seus ensinamentos comigo.

A Claudia de Andrade Moura que cedeu a maioria dos reagentes para a realização das análises antioxidantes, agradeço.

Aos demais colegas de mestrado e doutorado, que prosseguiram e prosseguem na mesma caminhada.

Ao colega pelo qual tive o prazer em conhecer, Wilson Flauzino Neto, que não mediu esforços para me auxiliar durante a busca pelo conhecimento, e ao professor Daniel Pasquini da Universidade Federal de Uberlândia, pela pro-atividade e disponibilização da estrutura e do saber, sem as quais este trabalho não seria possível.

Á Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa de estudos.

Aos professores e funcionários da Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon.

Enfim, aos que de alguma forma estiveram presentes e colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

LAURETH, Jessica Cristina Urbanski, M. S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, fevereiro – 2016. **Revestimento de nanocompósitos baseados em nanocelulose, acrescidos de extrato de película de amendoim na fisiologia e qualidade da lima ácida Tahiti armazenada.** Orientador: Gilberto Costa Braga.

Revestimentos comestíveis podem auxiliar na qualidade e conservação de frutos. Polímeros de polissacarídeos, como amido, pectina e celulose têm sido muito utilizados como base de formação de revestimentos, mas suas propriedades físicas não proporcionam barreira adequada à difusão de gases e vapor d´água. Nanocristais de celulose, quando incorporados a revestimentos comestíveis, podem melhorar suas propriedades de barreira. A adição de um antioxidante natural ao revestimento pode melhorar a capacidade de conservação do fruto. Antioxidantes naturais possuem relativa instabilidade que pode limitar suas propriedades redutoras. No entanto, a inclusão de nanocristais pode agregar maior estabilidade ao antioxidante adicionado. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de revestimentos poliméricos, adicionados com nanocristais de celulose e extrato vegetal na fisiologia e qualidade pós-colheita da lima ácida Tahiti. O trabalho foi dividido em dois experimentos. O primeiro consistiu na avaliação do efeito de polímeros de carboximetilcelulose (CMC), pectina (PEC) e amido (AM), adicionados de nanocristais de celulose (NC). O segundo diferiu do primeiro pela adição de extrato de película de amendoim, escolhido por possuir maiores valores de atividade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP em comparação aos extratos de casca de lima ácida Tahiti e semente de limão Cravo. Em ambos experimentos as avaliações ocorreram durante 9 dias de armazenamento a 23 °C ± 2 °C. Etileno, CO_2, perda de massa fresca, firmeza e clorofila foram avaliados nos dois experimentos. No segundo foram incluídas as análises de atividade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, compostos fenólicos totais e ácido ascórbico. No primeiro experimento, os revestimentos formados com os polímeros puros CMC, PEC e AM e com os seus respectivos nanocompósitos chamados NCMC, NPEC e NAM foram eficazes em reduzir a produção de etileno até os primeiros três dias de armazenamento. Entre os tratamentos testados, o nanocompósito NPEC (12,01 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) foi mais eficiente em inibir a difusão de CO_2 do que o

polímero puro PEC (14,93 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}). O polímero PEC quando reforçado com NC (NPEC) foi o único revestimento que pôde reduzir a perda de peso fresco de lima ácida Tahiti, e também foi mais eficiente na retenção de clorofila do que o polímero puro PEC. Todos os nanocompósitos ou polímeros puros testados foram similarmente eficientes em reter a firmeza dos frutos. No segundo experimento a mistura de pectina e carboximetilcelulose, nanocristais e extrato foi responsável por apresentar as menores taxas de produção de etileno e CO_2. Todos os revestimentos testados retardaram as perdas de massa fresca e de firmeza dos frutos, mas o nanocompósito ativo de pectina e carboximetilcelulose foi o revestimento capaz de influenciar a menor perda de massa fresca e reter a maior firmeza, mas a adição de extrato não influenciou esses resultados. O reforço com nanocristais de celulose foi capaz de reter atividade antioxidante dos revestimentos adicionados de extrato de película de amendoim. Este estudo mostrou que revestimentos de pectina, baseados em nanocristais e revestimentos da mistura polimérica de pectina e carboximetilcelulose, adicionais de extrato de película de amendoim e nanocristais, apresentaram melhores propriedades de barreira a gases e ao vapor de água, baseados nos indicadores fisiológicos e físico-químicos.

Palavras-chave: Respiração. Etileno. Polissacarídeos. Nanocristais de celulose. Antioxidantes.

ABSTRACT

LAURETH, Jessica Cristina Urbanski, M. S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, february – 2016. **Nanocomposite coating based on nanocelulose plus peanut skin extract on physiology and quality of acid lime Tahiti stored.** Advisor: Dr. Gilberto Costa Braga.

Edible coatings may assist improvement of quality and conservation of fruits. Polysaccharide polymers, such as starch, pectin and cellulose have been constantly used as base to form coatings, but their physical properties do not provide proper barrier to gas and water vapor diffusion. Cellulose nanocrystals, when incorporated to edible coatings may improve their barrier properties. The addition of a natural antioxidant to the coating may improve conservation capacity of fruit. Natural antioxidants have relative instability, which may limit its reducing properties. Nevertheless, including nanocrystals may aggregate higher stability to added antioxidant. Thus, the objective of this research was assessing the effect of polymeric coatings, along with cellulose nanocrystals and vegetable extract on the physiology of Persian lime. It consisted of two experiments, the first assessed the effect of pectin (PEC), starch (ST) and cellulose gum (CMC) polymers added to cellulose nanocrystals (CN). The second differed from the first due to the addition of peanut peel extract, chosen because it has higher rates of antioxidant activity by DPPH, ABTS and FRAP methods in comparison with extracts of Persian lime and Rangpur seeds. In both experiments the assessments occurred during nine storage days under 23 °C ± 2 °C. Ethylene, CO_2, fresh mass loss, firmness and chlorophyll were assessed. In the second were included DPPH, ABTS and FRAP antioxidant activity analyses, as well as total phenolic composites and ascorbic acid. In the first experiment, coatings formed by CMC, PEC and ST pure polymers with their respective nanocomposites called NCMC, NPEC and NST were efficient to reduce ethylene production until first three storage days. Among tested treatments, NPEC nanocomposite (12.01 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) was more efficient than PEC (14.93 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) to inhibit CO_2 diffusion. PEC polymer when reinforced by NC (NPEC) was the only coating to reduce fresh mass loss of Persian lime, and it was also more efficient than PEC pure polymer when it comes to retention of chlorophyll. All tested nanocomposites and pure polymers were similarly efficient to keep fruit's firmness. In the second experiment the combination of pectin, cellulose gum,

nanocrystals and extract was responsible to present lower ethylene and CO_2 production rates. All tested coatings slowed fresh mass and firmness loss of fruits, but pectin and cellulose gum active nanocomposite was the coating able to contribute to the lowest rate of fresh mass loss and to highest rate of fruit's firmness retention, but the addition of extract did not influence these results. The reinforcement with cellulose nanocrystals was able to retain antioxidant activity off added coatings, which consisted of peanut peel extract. This research showed that pectin coatings, based on nanocrystals and the coatings from polymeric combination of pectin and cellulose gum, along with peanut peel extract and nanocrystals, presented better barrier properties against gases and water vapor, based on physiologic and physicochemical indicators.

Keywords: Respiration. Ethylene. Polysaccharides. Cellulose nanocrystals. Antioxidants.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL 15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 17
2.1 LIMA ÁCIDA TAHITI 17
2.2 REVESTIMENTOS COMESTIVEIS APLICADOS EM FRUTOS 19
2.3 NANOCRISTAIS DE CELULOSE 22
2.4 REVESTIMENTOS ANTIOXIDANTES 24
2.4.1 Compostos fenólicos 24
2.4.2 Métodos de medida da atividade antioxidante 25
2.4.2.1 DPPH 25
2.4.2.2 ABTS 26
2.4.2.3 FRAP 26
2.5 FISIOLOGIA DE FRUTOS REVESTIDOS 26
2.5.1 Influência dos revestimentos na produção de etileno 26
2.5.2 Influência dos revestimentos no metabolismo respiratório 27
2.6 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E QUALIDADE NUTRICIONAL DE FRUTOS REVESTIDOS 28
2.6.1 Perda de massa 28
2.6.2 Teor de clorofila 29
2.6.3 Firmeza 29
2.6.4 Teor de ácido ascórbico 30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 30
3 FISIOLOGIA E QUALIDADE DA LIMA ÁCIDA TAHITI REVESTIDA COM NANOCOMPÓSITOS COMESTÍVEIS, BASEADOS EM NANOCRISTAIS DE CELULOSE 36
1 INTRODUÇÃO 37
2 MATERIAL E MÉTODOS 39
2.1 AMOSTRAS DE FRUTOS E MATERIAIS DE REVESTIMENTO 39
2.2 FORMAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE (NC) 40
2.3 PREPARAÇÃO DOS REVESTIMENTOS DE POLÍMEROS PUROS E NANOCOMPÓSITOS 40
2.4 APLICAÇÃO DOS REVESTIMENTOS E PLANO EXPERIMENTAL 41
2.5 ATIVIDADE RESPIRATÓRIA E PRODUÇÃO DE ETILENO 41

2.6 QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA....42
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA....42
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO....43
3.1 PRODUÇÃO DE ETILENO E RESPIRAÇÃO....43
3.2 PERDA DE MASSA, CLOROFILA E FIRMEZA....46
4 CONCLUSÕES....49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS....50
4 RESPOSTA FISIOLÓGICA E QUALIDADE PÓS-COLHEITA DA LIMA ÁCIDA TAHITI REVESTIDA COM NANOCOMPÓSITOS ATIVOS BASEADOS EM NANOCRISTAIS DE CELULOSE E EXTRATO DE PELÍCULA DE AMENDOIM....54
1 INTRODUÇÃO....55
2 MATERIAL E MÉTODOS....58
2.1 AMOSTRAS DE FRUTOS E MATERIAL DE REVESTIMENTO....58
2.2 EXTRATOS VEGETAIS....58
2.3 FORMAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE (NC)....58
2.4 PREPARAÇÃO DOS POLÍMEROS E REVESTIMENTOS DE NANOCOMPÓSITOS ATIVOS....59
2.5 APLICAÇÃO DOS REVESTIMENTOS E PLANO EXPERIMENTAL....60
2.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS....60
2.7 ATIVIDADE RESPIRATÓRIA E PRODUÇÃO DE ETILENO DAS LIMAS ÁCIDAS TAHITI....62
2.8 QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DAS LIMAS ÁCIDAS TAHITI....62
2.9 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS REVESTIMENTOS ADICIONADOS DE EXTRATO DE PELÍCULA DE AMENDOIM....63
2.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA....63
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO....64
3.1 PERFIL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS VEGETAIS....64
3.2 ATIVIDADE RESPIRATÓRIA E PRODUÇÃO DE ETILENO DAS LIMAS ÁCIDAS REVESTIDAS....65
3.3 QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA....67
3.4 ANÁLISE ANTIOXIDANTE DOS REVESTIMENTOS....71
4 CONCLUSÕES....73

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 73
5 CONCLUSÕES GERAIS 77
APÊNDICES 78

1 INTRODUÇÃO GERAL

A lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka) vem se destacando na citricultura, uma vez que o fruto satisfaz as exigências do mercado consumidor, quanto à qualidade do suco, sabor, tamanho e ausência de sementes (JOMORI et al., 2003). Porém, sua elevada predisposição a alterações físicas, como enrugamento da casca e perda de matéria úmida, se não inibidas durante o armazenamento, podem rapidamente comprometer sua qualidade comercial (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Técnicas de conservação podem ser utilizadas visando melhorar a qualidade de frutos e aumentar sua vida de prateleira. Entre as técnicas de conservação disponíveis, o emprego de revestimentos comestíveis vem se consolidando (ASSIS; BRITTO, 2014). Tais revestimentos são compostos principalmente de polissacarídeos, proteínas ou lipídeos, ou de vários compósitos destes (DHALL, 2013). Agem como barreira artificial à difusão de gases e vapor d'água em torno do produto, resultando na redução do metabolismo do fruto e na diminuição da perda de água da casca (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Entre os polissacarídeos utilizados em frutas, o amido de mandioca tem sido estudado. Apresenta vantagens como alta disponibilidade, baixo custo, incolor, sem sabor e boa barreira ao oxigênio, porém demostra limitação devido à sua característica higroscópica (ALMASI; GHANBARZADEH; ENTEZAMI, 2010). Outros polímeros como pectina (SCALON et al., 2012) e carboximetilcelulose (ARNON et al., 2015; GOL et al., 2013) também têm sido estudados. A pectina, disponível em percentuais elevados em resíduos agroindustriais, apresenta, em determinadas circunstâncias, capacidade de formar géis, demonstrando elevado potencial para ser utilizada como revestimento comestível de frutas (SERRANO et al., 2015). Carboximetilcelulose (CMC) tem sido utilizada como um aditivo estabilizador em alimentos. Por apresentar boa capacidade para formar revestimentos, a CMC tem sido usada em diversas formulações de revestimentos comestíveis (SU et al., 2010).

Porém, devido as reduzidas propriedades de barreira dos polissacarídeos, agentes de reforço podem ser utilizados visando melhorar essas propriedades. Nanocristais de celulose têm sido utilizados em revestimentos com as vantagens de aumentar a resistência mecânica e melhorar as propriedades de barreira ao vapor d'água e à gases (WANG; TIAN; ZHANG, 2010).

Revestimentos ativos podem ser produzidos adicionando antioxidantes na sua composição, agregando vantagens de proteção às reações oxidativas de degradação em vegetais (MACHADO et al., 2012). Estudos têm mostrado que resíduos vegetais apresentam grande potencial de bioatividade, como ação antioxidante, antimicrobiana, antialérgica e anti-inflamatória, impulsionando pesquisas que contribuam com a qualidade pós-colheita de frutas e proporcionem benefícios ao consumidor. Aliado a esses fatores, os compostos naturais também apresentam grande importância do ponto de vista industrial, já que os antioxidantes sintéticos mais utilizados têm despertado preocupação quanto às doses de segurança e toxidez (MOHDALY et al., 2010).

O amendoim apresenta alta concentração de compostos fenólicos, estando presente em sua maioria na película externa. Segundo Sobolev e Cole (1999) a película de amendoim corresponde a 2,6% da massa total deste vegetal, sendo que após o processamento do amendoim essa película geralmente é descartada. Assim, alternativas para sua utilização tem sido buscadas, visando melhorar o aproveitamento deste resíduo.

Extratos vegetais podem ser adicionados a revestimentos de frutos como fonte de compostos antioxidantes (ZENG et al., 2012; YANG et al., 2014). Entretanto, a estabilidade de compostos antioxidantes pode ser limitante à eficácia de sua bioatividade. Nanocristais de celulose, quando incorporados a revestimentos de polissacarídeos, além de melhorar suas propriedades, podem agregar maior estabilidade aos antioxidantes adicionados.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência de revestimentos comestíveis de nanocompósitos formados de amido, pectina e carboximetilcelulose, baseados em nanocristais de celulose, e adicionados de extrato de película de amendoim, na fisiologia e qualidade da lima ácida Tahiti durante o armazenamento. Ainda, avaliar a influência dos nanocristais de celulose na estabilização da atividade antioxidante do extrato de película de amendoim.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LIMA ÁCIDA TAHITI

A lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka), pertencente à família Rutaceae, é uma das espécies cítricas de maior valor comercial, apresentando grande popularidade devido ao seu sabor ácido, elevado valor nutricional, fonte de vitamina C e fácil disponibilidade (SERRANO et al., 2015). Além da vitamina C, apresenta 6% a 12% de glicídios, elevada quantidade de compostos nitrogenados e cálcio, ferro e outros sais minerais.

Popularmente conhecido como limão Tahiti, seu centro de origem exato ainda é desconhecido, admitindo-se que seja proveniente de sementes importadas do Tahiti (Polinésia Francesa) (MATTOS JUNIOR; NEGRI; FIGUEIREDO, 2003).

Dentre os citrinos, a lima ácida Tahiti é considerada uma das mais precoces, iniciando sua produção a partir do segundo ano de plantio. A limeira é uma planta de porte médio e quase sem espinhos. Sua folhagem é verde escura, com folhas lanceoladas e pecíolos alados. Sua floração ocorre praticamente todo o ano, principalmente de setembro a novembro. Seus frutos apresentam tamanho médio, casca fina, lisa e coloração esverdeada, sem sementes, pesando de 70 a 100 g, com polpa suculenta e ácida (representando 50% do seu peso). A ausência de sementes ocorre pelo fato da lima Tahiti ser um híbrido triploide, sendo o ovulo e o pólen não viáveis, formando assim frutos partenocárpicos (RAMOS et al., 2008).

Seu fruto é comercializado ainda verde, quando seu teor de acidez é mais elevado, sendo a coloração verde de sua casca o principal atributo comercial desejável, já que a cor amarela reduz a aceitação pelo consumidor. Assim, alterações físicas como mudança de coloração, perda de massa e consequente enrugamento da casca podem comprometer a qualidade comercial desse fruto (KAEWSUKSAENG et al., 2011).

O fruto apresenta três principais partes (Figura 1): Epicarpo (casca ou flavedo); Mesocarpo (albedo) e Endocarpo (camada interna, constituída pelos gomos).

Figura 1 - Partes do fruto da lima ácida Tahiti.

O cultivo de limões e limas ácidas abrange todo o território nacional, destacando-se as regiões Sudeste (79,49%) e Nordeste (12,40%), sendo São Paulo (33,50%) o Estado com a maior participação. Em 2013 a produção nacional foi de 1.169.370 toneladas, com área colhida correspondente a 45.690 hectares (IBGE, 2013).

Quanto a área cultivada de limões e limas, o Brasil ocupa a 4º colocação mundial (47.300 hectares), perdendo para Índia (219.000 hectares), México (151.00 hectares) e China (87.600 hectares). Porém, considerando apenas a lima ácida Tahiti, o Brasil é o maior produtor (FAO, 2011).

Embora a produção brasileira de lima ácida Tahiti seja a maior do mundo, sua exportação representa apenas 5%. Esse fato se deve principalmente pelas exigências em qualidade. Apesar disso, o Brasil é o segundo maior exportador mundial desta fruta e o maior exportador para a Europa, perdendo apenas para o México (FAO, 2011). A lima Tahiti está entre os quatro frutos mais exportados do país, ficando atrás apenas da manga, melão e uva (SECEX, 2011).

Do fruto, são utilizadas a polpa e a casca. Seu aproveitamento se dá na forma de sucos, bebidas à base de água ardente (conhecidas como “caipirinhas”) e no preparo de alimentos (carnes e doces), além da extração de óleo essencial da casca ou sua utilização para produção de bebidas, como cervejas (MATTOS JUNIOR; NEGRI; FIGUEIREDO, 2003).

Seu padrão respiratório não climatérico é caracterizado por uma atividade respiratória baixa e constante, com leve declínio após sua colheita. Porém, seus

frutos sofrem rápida degradação após esta etapa, necessitando métodos que, além de manter sua qualidade, aumentem sua vida de prateleira (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Para o armazenamento das limas, diversas técnicas têm sido empregadas, como a refrigeração convencional, o uso de atmosfera modificada e controlada, irradiação, tratamentos químicos, filmes de revestimento e biotecnologia. Os revestimentos comestíveis vêm sendo muito estudados pois apresentam benefícios que controlam danos, reduzindo a perda de umidade, prevenindo as desordens fisiológicas e aumentando o período de vida útil, além de poder ser consumido junto com o produto, ser produzido a partir de fontes renováveis agrícolas e pela possibilidade de redução de embalagens sintéticas (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

2.2 REVESTIMENTOS COMESTIVEIS APLICADOS EM FRUTOS

Os revestimentos comestíveis se baseiam na formação de uma fina camada polimérica sobre a superfície do fruto, geralmente aplicada por imersão (FALGUERA et al., 2011). Quando aplicados atuam principalmente como barreira a gases (O_2 e CO_2) e controle de umidade, preenchendo parcialmente os estômatos e lenticelas, reduzindo assim as trocas gasosas e a transpiração, além de inibirem aromas e lipídeos (LACROIX; VU, 2014).

Os polímeros mais utilizados para a formação de revestimentos comestíveis são os lipídeos (como as ceras e óleos), as proteínas (como a caseína e gelatina) e os polissacarídeos (como o amido, celulose e pectina) (DHALL, 2013).

Entre os polissacarídeos, o amido (MACHADO et al., 2012; SOUZA et al., 2009), a pectina (SCALON; OSHIRO; DRESCH, 2012) e a carboximetilcelulose (ARNON et al., 2015; GOL; PATEL; RAO, 2013) têm sido muito utilizados para compor revestimentos aplicados em frutos.

O amido de mandioca vem sendo bastante estudado por pesquisadores brasileiros devido a sua grande disponibilidade no país e seu baixo custo. O amido é um polissacarídeo de reserva e está armazenado sob a forma de grânulos, sendo formado por dois tipos de polímeros de glicose, a amilose (Figura 2) e a amilopectina (Figura 3) (LIU; HALLEY; GILBERT, 2010).

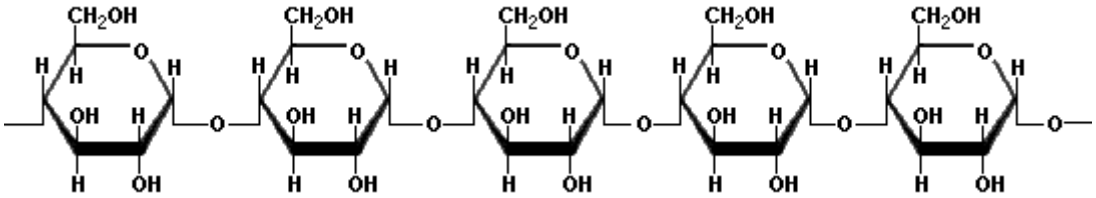


Figura 2 - Estrutura molecular da amilose.
Fonte: Zamora (2016).

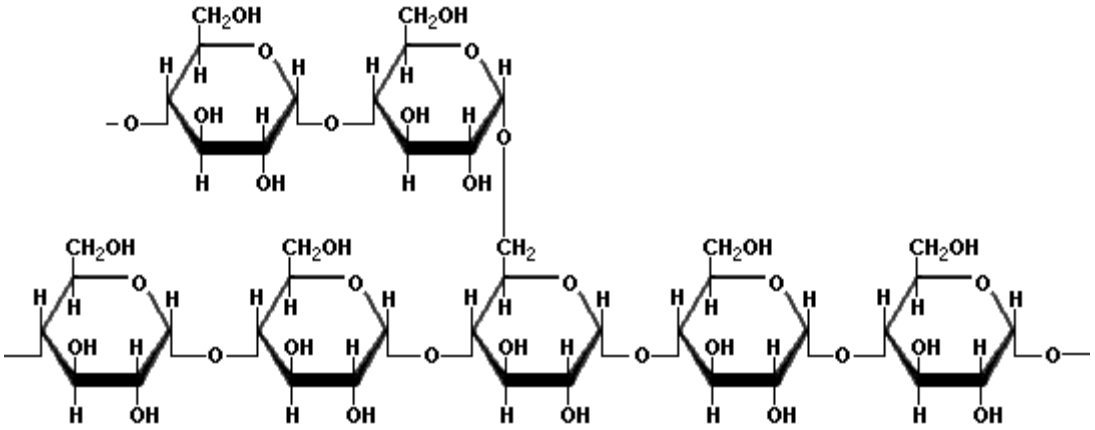


Figura 3 - Estrutura molecular da amilopectina.
Fonte: Zamora (2016).

A obtenção de revestimentos a partir do amido é baseada na sua capacidade de gelatinização, que ocorre com o aquecimento a 70 °C, formando após seu resfriamento um revestimento transparente, com alto brilho e sem sabor. Como filme, apresenta boa barreira ao oxigênio, porém demostra elevada capacidade de absorção de água (ALMASI; GHANBARZADEH; ENTEZAMI, 2010).

A pectina é obtida principalmente a partir da casca e polpa de frutas cítricas. Comumente utilizada como agente espessante em alimentos, promove o aumento da viscosidade quando submetida à hidratação. São compostas por uma cadeia linear de ácido galacturônico ligado por uma associação α (1,4) (Figura 4). Comercialmente há pectinas de alto e baixo teor de esterificação, propriedade determinante em sua capacidade de formação de géis. As de alto teor contem acima de 50% de seus grupos carboxílicos esterificados e as de baixo apresentam teor igual ou menor que 50% (SERRANO et al., 2015).

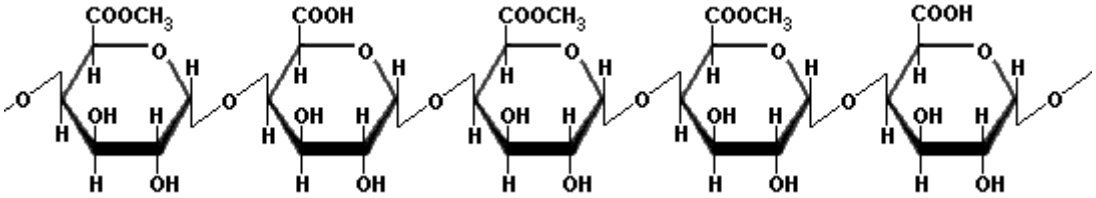


Figura 4 - Estrutura molecular da pectina.
Fonte: Zamora (2016).

A pectina é solúvel em água a 65 °C e produz uma solução viscosa, porém ao dispersar o pó é necessário certo cuidado para evitar que se formem grumos que são de difícil dissolução (SERRANO et al., 2015).

A carboximetilcelulose (CMC) é um polímero aniônico derivado da celulose e normalmente é comercializado na forma sódica, ou seja, como carboximetilcelulose de sódio (Figura 5) (SU et al., 2010).

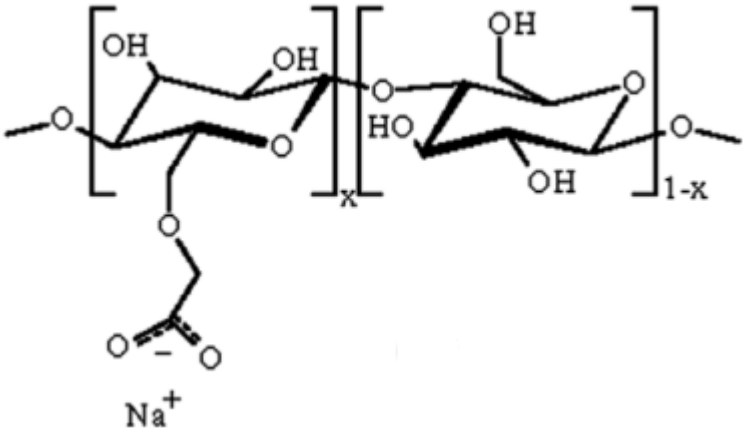


Figura 5 - Estrutura molecular carboximetilcelulose de sódio.
Fonte: Su et al. (2010).

A CMC é amplamente utilizada por indústrias alimentícias, agrícolas, farmacêuticas, construção civil, tintas, detergentes e cosméticos, sendo empregada como agente espessante, doador de viscosidade, estabilizante de fluidos, emulsificante, entre outros. Revestimentos feitos desse material apresentam baixa permeabilidade ao oxigênio, são transparentes, possuem boa estabilidade química, e são atóxicos, porém possuem fracas propriedades de barreira (FLAUZINO NETO et al., 2013).

A utilização de revestimentos de polissacarídeos está limitada às baixas propriedades mecânicas e de barreira que apresentam, tornando necessário

melhorar essas propriedades. Assim, nanocristais de celulose podem ser utilizados como agente de reforço.

2.3 NANOCRISTAIS DE CELULOSE

Independentemente da sua fonte, a celulose pode ser caracterizada como um biopolímero de alto peso molecular. A estrutura polimérica é formada por unidades de anidro-D-glicose unidos entre si por ligações do tipo β (1,4) glicosídicas formando uma unidade de repetição chamada celobiose, originando cadeias lineares (Figura 6) (HABIBI; LUCIA; ROJAS, 2009). A celulose consiste de regiões amorfas e cristalinas, sendo o intuito da extração isolar os domínios cristalinos para a obtenção de nanopartículas. Para sua produção, o principal tratamento utilizado é a hidrólise ácida (PENG et al., 2011).

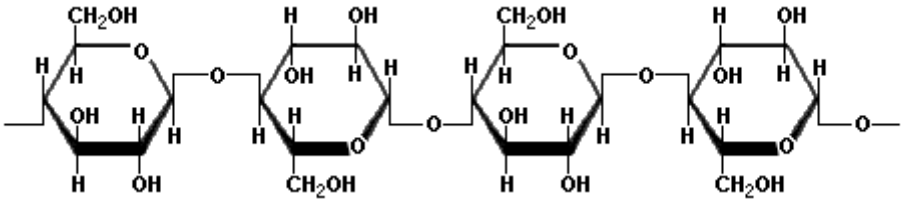


Figura 6 - Estrutura molecular da celulose.
Fonte: Zamora (2016).

O isolamento de cristais de celulose por hidrólise ácida foi reportado pela primeira vez por Ranby (1951). Essa extração geralmente é realizada em duas etapas. A primeira envolve o pré-tratamento (tratamento alcalino e branqueamento), devido à presença de outros materiais como lignina e hemicelulose, obtendo-se a fibra purificada. Posteriormente utiliza-se a hidrólise ácida. Durante a reação, as regiões amorfas da celulose são atacadas pelo ácido, liberando somente seus domínios cristalinos (Figura 7) (ALEMDAR; SAIN, 2008).

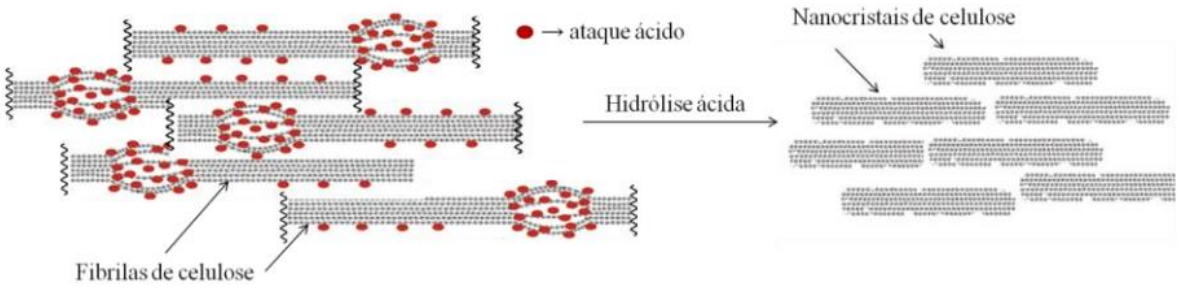


Figura 7 - Esquema mostrando como ocorre a hidrolise ácida no isolamento de nanocristais de celulose.
Fonte: Mesquita (2012).

Os nanocristais se apresentam em forma de agulha, suas dimensões são iguais ou inferiores a 100 nm apresentando cristais altamente cristalinos, quase livres de defeitos (FLAUZINO NETO et al., 2013). Sua morfologia e propriedades dependem da fonte de celulose original, além da espécie do ácido, concentração, tempo de reação e temperatura, fatores esses que influenciam no seu desempenho como agente de reforço (PENG et al., 2011).

Comparando com os polímeros puros e compósitos convencionais, os compósitos de polímeros reforçados com essas nanopartículas exibem excelentes propriedades mecânicas, térmicas e de barreira. Este comportamento se deve à formação de um rede rígida resultante da forte interação entre essas nanopartículas ligadas por ligações de hidrogênio (FLAUZINO NETO et al., 2013). A utilização desses materiais celulósicos para o processamento de novos compósitos tem atraído crescente interesse, devido sua natureza ecológica e renovável, principalmente por incentivar à utilização de resíduos agrícolas (CHERIAN et al., 2010).

Estudos com a utilização de nanocristais em pós-colheita de frutos tem se mostrado promissores, aumentando a vida de prateleira e melhorando características visuais e de qualidade de diferentes frutos. Azeredo et al. (2012) em estudo com acerolas utilizando revestimento de alginato e purê de acerola reforçados com nanocristais de celulose observaram redução da perda de massa fresca, diminuição na incidência de podridões, retenção de ácido ascórbico, além da manutenção da coloração vermelha do fruto e sua aceitação visual.

2.4 REVESTIMENTOS ANTIOXIDANTES

Os revestimentos comestíveis antioxidantes consistem na incorporação de uma molécula ativa no revestimento polimérico, a fim de melhorar a qualidade do produto final. É uma das alternativas mais promissoras às embalagens tradicionais, auxiliando na redução de aditivos e substâncias químicas (LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2012).

Sua interação com o alimento visa melhorar suas características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e nutricionais. Relatos da literatura utilizando extratos vegetais em pós-colheita de frutos sugerem que sua utilização pode prolongar a vida útil dos mesmos.

Yang et al. (2014) associaram extratos de folha de mirtileiro com o filme quitosana em mirtilo, concluindo que sua associação prolongou a vida de prateleira e manteve um elevado valor nutricional dos frutos.

Zeng et al. (2012) avaliaram os efeitos do extrato etanólico de cravo em laranjas umbigo sobre a sua qualidade e respostas fisiológicas, evidenciando ser uma alternativa viável para estender o período de armazenamento pós-colheita e manter a qualidade dos frutos.

A migração do antioxidante a partir da película do polímero para o fruto é um processo complexo, afetado principalmente pelas propriedades da matriz do polímero, da natureza da substância antioxidante e das características da superfície do fruto (LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2012).

Assim, se faz necessário quantificar a capacidade antioxidante do material a ser utilizado no revestimento ativo. Para isso, diferentes metodologias antioxidantes podem ser utilizadas.

2.4.1 Compostos fenólicos

Amplamente distribuídos, os compostos fenólicos são substâncias que apresentam anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupamentos funcionais (SOARES et al., 2008).

Na maioria dos vegetais, constituem-se nos antioxidantes mais abundantes, onde são formados a partir do metabolismo secundário e estão relacionados com a

proteção, principalmente a microrganismos e pragas. Nos alimentos, podem influenciar no valor e qualidade nutricional (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004).

2.4.2 Métodos de medida da atividade antioxidante

Devido a capacidade antioxidante sofrer influência de fatores como polaridade, solubilidade e atividade quelante de metais, a efetividade dos compostos antioxidantes deve ser estudada através de mais de uma metodologia. Assim, preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado isoladamente irá refletir na capacidade antioxidante total de uma amostra (ROCKENBACH et al., 2008).

2.4.2.1 DPPH

O radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) tem sido amplamente utilizado para avaliar a capacidade de antioxidantes naturais em sequestrar radicais livres. O DPPH• é um radical estável e orgânico de nitrogênio, sendo que sua coloração violeta possui absorção máxima na faixa de 515 a 520 nm. Sua redução é monitorada pelo decréscimo da absorbância durante a reação (BRAND-WILLIANS; CUVELIER; BERSET, 1995).

Nesse método, a presença de um doador de hidrogênio ou elétron faz com que o radical cromógeno purpura (DPPH•) seja reduzido à hidrazina de coloração amarela, portanto sua intensidade de absorção diminui e a solução com o radical perde cor, de acordo com o número de elétrons capturados (MOLYNEUX, 2004).

O método DPPH é considerado fácil e rápido na avaliação da atividade antirradical de antioxidantes. Assim, pela facilidade e rapidez é muito utilizado em diversos estudos.

2.4.2.2 ABTS

Outro método que é muito utilizado para medir o potencial antioxidante de uma amostra é o método ABTS (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico).

O método ABTS é um dos testes de atividade antioxidante mais rápidos e que oferece resultados reprodutíveis, além de outras vantagens como: oferecer vários máximos de absorção e uma boa solubilidade, permitindo analises tanto de natureza lipofílica como hidrofílica (KUSKOSKI et al., 2006).

O método baseia-se na geração do reagente ABTS, de cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio, que possui absorção máxima em 645, 734 e 815 nm. Com a adição de um antioxidante ocorre a redução do ABTS+ a ABTS promovendo a perda da coloração do meio reacional. Com a extensão da perda de cor, a inibição do ABTS+ é determinada em comparação ao Trolox, um antioxidante padrão submetido às mesmas condições de análise.

2.4.2.3 FRAP

O método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) também é utilizado para medir o potencial antioxidante em diversas amostras. Esse método se baseia na habilidade de compostos antioxidantes reduzirem o complexo férrico Fe^{+3}-2,4,6-tripiridil-s-triazina $[(Fe^{+3}\text{-}TPTZ)_2]^{+3}$ para um complexo ferroso $[(Fe^{+3}\text{-}TPTZ)_2]^{+2}$ intensamente azul (MAGALHÃES et al., 2008).

Sua quantificação é feita pela medida da absorbância a 595 nm e a partir de soluções de padrão de ferro ou com a solução de um antioxidante padrão (RUFINO et al., 2006).

2.5 FISIOLOGIA DE FRUTOS REVESTIDOS

2.5.1 Influência dos revestimentos na produção de etileno

O etileno é um hormônio gasoso que atua em diversas fases do fruto, como o crescimento, desenvolvimento, amadurecimento e senescência. Conhecido como

hormônio do amadurecimento é formado a partir do aminoácido metionina via SAM (S-adenosil L-metionina). O SAM é convertido à ACC (ácido 1-aminoacilciclopropano 1-carboxílico), sendo catalisado pela enzina ACC sintase. O ACC é então oxidado a etileno pela ação da enzima ACC oxidase (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A ação do etileno é dependente da sua ligação a um receptor, formando um complexo que desencadeia uma série de reações, levando à modificação da expressão gênica, com consequente respostas fisiológicas e bioquímicas (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Revestimentos comestíveis podem atuar como barreira à difusão do etileno, reduzindo sua síntese, o que reflete na redução de suas taxas de produção.

Menores taxas de produção de etileno foram encontradas em frutos de morangueiro revestidos com quitosana nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0%, apresentando produção de etileno de 0,24, 0,20 e 0,16 μg C_2H_4 kg^{-1}, respectivamente, enquanto o controle não revestido mostrou valor de 0,31 μg C_2H_4 kg^{-1} (MAZARO et al., 2008).

Tezotto-Uliana et al. (2014) também observaram menores taxas de produção de etileno em framboesas tratadas com quitosana nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0%, mostrando que o uso desse polímero foi eficaz em retardar as produções de etileno.

Ainda, Salvia-Trujillo et al. (2015) em estudo com o revestimento polimérico alginato reforçado com nano-emulsão em maçãs minimamente processadas, observaram menores taxas de produção de etileno durante os 14 dias de armazenamento refrigerado.

2.5.2 Influência dos revestimentos no metabolismo respiratório

A utilização de revestimentos comestíveis auxilia na redução da taxa respiratória, pois cria uma barreira semipermeável a gases. A utilização de hidroxipropilmetilcelulose e quitosana em uvas reduziu a taxa respiratória dos frutos, mostrando que esses revestimentos biodegradáveis podem controlar as taxas respiratórias durante o armazenamento (SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011).

Jomori et al. (2003) encontraram menores taxas respiratórias em limas ácidas Tahiti revestidas com cera (18,84 mL CO_2 kg^{-1} h^{-1}), quando comparadas com o controle (24,93 mL CO_2 kg^{-1} h^{-1}), após 30 dias de armazenamento.

Em trabalho com revestimento a base de hidroxipropilmetilcelulose, cera de abelha e benzoato de sódio em tomates-cereja, Fagundes et al. (2015) observaram menores taxas de respiração em amostras revestidas, relacionando essa eficácia à permeabilidade ao O_2 deste filme.

2.6 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E QUALIDADE NUTRICIONAL DE FRUTOS REVESTIDOS

2.6.1 Perda de massa

A perda de massa ocorre devido a diferença de pressão de vapor entre o fruto e a atmosfera, reduzindo o seu teor de água. Essa variável apresenta grande importância durante o armazenamento e comercialização de frutos, pois elevadas perdas podem acarretar no murchamento e consequente enrugamento da casca, resultando na perda da qualidade final do produto (FONSECA et al., 2010).

A aplicação de uma fina camada polimérica sobre o fruto pode retardar a perda de água (BOURTOOM, 2008). Arnon et al. (2015) observaram que a aplicação de vários revestimentos poliméricos em tangerinas auxiliaram na redução da perda de massa dos frutos, onde o revestimento de carboximetilcelulose foi mais eficiente em diminuir essa perda.

Gol, Patel e Rao (2013) relataram que morangos revestidos com carboximetilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose e quitosana mostraram menores perdas de massa que o controle, o que auxiliou na manutenção da qualidade desses frutos. No 8º dia de armazenamento (11 ± 1 ºC) os frutos controle apresentaram perda de massa de 14,34%, enquanto frutos revestidos apresentaram média de 5,46%.

Silva et al. (2015) também em trabalho com morangos mostraram que os frutos quando revestidos com pectina e nanocristais de celulose apresentaram perda de massa semelhante a frutos revestidos com filme plástico, concluindo que esta

alternativa é viável para a substituição do filme plástico e para a melhora da vida pós-colheita.

2.6.2 Teor de clorofila

A coloração das limas ácidas Tahiti interfere diretamente na escolha do consumidor em sua compra, se fazendo necessário manter por maior tempo possível, após sua colheita, sua cor verde característica (KAEWSUKSAENG et al., 2015). As mudanças na coloração deste fruto estão relacionadas principalmente com a degradação da clorofila, devido a ação das clorofilases (NATH et al., 2006).

Revestimentos comestíveis podem auxiliar como barreira ao O_2, que interfere diretamente na produção de etileno e na respiração dos frutos, com reflexos que podem levar a diminuição da expressão de enzimas relacionadas ao desverdecimento da lima ácida Tahiti (NATH et al., 2006).

Jomori et al. (2003) observaram que a cera aplicada em frutos de lima ácida Tahiti reduziram a perda de coloração em relação aos frutos sem tratamento.

2.6.3 Firmeza

Durante o amadurecimento de frutos ocorre a diminuição da firmeza, acarretando na perda da integridade da parede celular. A degradação dos constituintes da parede celular (celulose, hemicelulose e pectina) gera modificações estruturais, levando ao amolecimento do fruto (CHITARRA, CHITARRA, 2005).

Os revestimentos atuam sobre a retenção da firmeza na capacidade de controlar a perda de água por transpiração (FAGUNDES et al., 2015) ou inibindo a respiração que está relacionada com a expressão de enzimas que despolimerizam as substâncias pécticas da parede celular.

Arnon et al. (2015) verificaram em tangerinas que o polímero carboximetilcelulose na concentração de 1,5% foi responsável por manter maior valor de firmeza após conservação dos frutos por 10 dias, apresentando média de 10 N enquanto o controle mostrou 6,5 N.

Outros autores também verificaram em citros que os revestimentos comestíveis auxiliam na retenção da firmeza pós-colheita. Chien, Sheu e Lin (2007)

observaram em tangerinas revestidas com quitosana de alto e baixo peso molecular que os frutos tratados apresentaram maior firmeza em comparação ao controle após 56 dias de conservação.

2.6.4 Teor de ácido ascórbico

A vitamina C encontra-se nos tecidos vegetais na forma reduzida como o ácido ascórbico, ou na forma oxidada como o ácido deidroascórbico, ambos com atividade vitamínica.

O ácido ascórbico é um poderoso antioxidante, fazendo parte de um grupo de substâncias químicas complexas necessárias para o funcionamento adequado do organismo, é uma vitamina hidrossolúvel, portanto o organismo usa o que necessita e elimina o excesso.

Zeng et al. (2013) observaram, em laranjas revestidas com carboximetilcelulose e extrato vegetal, que os teores de ácido ascórbico foram maiores nos frutos revestidos, quando comparado aos frutos não revestidos.

Chien, Sheu e Lin (2007) mostraram que tangerinas revestidas com quitosana conseguiram manter sua qualidade nutricional por mais tempo, pois após 56 dias armazenadas à 15 °C os frutos tratados exibiram conteúdo de ácido ascórbico de 75 mg 100 mL^{-1}, enquanto o grupo controle não tratado apresentou valor de 52 mg 100 mL^{-1}.

Esse efeito pode estar relacionado com a redução da permeabilidade ao oxigênio, o que reduz as taxas respiratórias e, consequentemente, as reações oxidativas responsáveis pela degradação do ácido ascórbico (GOL; PATEL; RAO, 2013).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEMDAR, A.; SAIN, M. Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology, thermal and mechanical properties. **Composites Science and Technology**, v. 68, n. 2, p. 557–565, 2008.

ALMASI, H.; GHANBARZADEH, B.; ENTEZAMI, A. A. Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, n. 1, p. 1–5, 2010.

ARNON, H. et al. Development of polysaccharides-based edible coatings for citrus fruits: A layer-by-layer approach. **Food Chemistry**, v. 166, n. 1, p. 465–472, 2015.

ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Revisão : coberturas comestíveis protetoras em frutas : fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.

AZEREDO, H. M. C. et al. Nanoreinforced alginate-acerola puree coatings on acerola fruits. **Journal of Food Engineering**, v. 113, n. 4, p. 505–510, 2012.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L.K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 63-72, 2004.

BOURTOOM, T. Edible films and coatings: characteristics and properties. **International Food Research Journal**, v. 15, n. 3, p. 237–248, 2008.

BRAND-WILLIANS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-wissenschaft & Tecnologie**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

CHERIAN, B. M. et al. Isolation of nanocellulose from pineapple leaf fibres by steam explosion. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 3, p. 720–725, 2010.

CHIEN, P. J.; SHEU, F.; LIN, H. R. Coating citrus (Murcott tangor) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1160–1164, 2007.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças**: fisiologia e manuseio. Lavras, UFLA, 2005, p. 338-345.

DHALL, R. K. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. **Critical Reviews in Food Science Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 435-450, 2013.

FAGUNDES, C. et al. Hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible coatings formulated with antifungal food additives to reduce alternaria black spot and maintain postharvest quality of cold-stored cherry tomatoes. **Scientia Horticulturae**, v. 193, n. 3, p. 249–257, 2015.

FALGUERA, V. et al. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science and Technology**, v. 22, n. 6, p. 292–303, 2011.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Agricultural production**: primary crops. 2011. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acesso em: 12 dez. 2015.

FLAUZINO NETO, W. P. et al. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue – Soy hulls. **Industrial Crops and Products**, v. 42, n. 1, p. 480–488, 2013.

FONSECA, S. C. et al. Modelling O_2 and CO_2 exchange for development of perforation-mediated modifi ed atmosphere packaging. **Journal of Food Engineering**, v. 43, n. 1, p. 9-15, 2000.

GOL, N. B.; PATEL, P. R.; RAO, T. V. R. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. **Postharvest Biology and Technology**, v. 85, n. 1, p. 185–195, 2013.

HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-Assembly , and applications. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 6, p. 3479–3500, 2009.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e de Estatística. **Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA)**. 2013. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 11 dez. 2015.

JOMORI, M. L. L. et al. Conservação refrigerada de lima ácida “Tahiti”: uso de 1-metilciclopropeno, ácido giberélico e cera. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 406–409, 2003.

KAEWSUKSAENG, S. et al. Effect of UV-B irradiation on chlorophyll degradation and postharvest physiology in stored lime (citrus latifolia Tan.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 61, n. 1, p. 124–130, 2011.

KAEWSUKSAENG, S. et al. Postharvest Biology and Technology Postharvest heat treatment delays chlorophyll degradation and maintains quality in Thai lime (Citrus aurantifolia Swingle cv . Paan) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 100, n. 1, p. 1–7, 2015.

KUSKOSKI, E. M. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LACROIX, M.; VU, K. D. Edible coating and film materials: Proteins. In: TAYLOR, S. L. 2 ed. **Innovations in food packaging**. Lincoln, USA: University of Nebraska, 2014. p. 277-304.

LIU, W.; HALLEY, P. J.; GILBERT, R. G. Mechanism of Degradation of Starch, a Highly Branched Polymer, during Extrusion. **Macromolecules**, v. 43, n. 6, p. 2855–2864, 2010.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C. et al. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**, v. 131, n. 4, p. 1376-1384, 2012.

MACHADO, B. A. S. et al. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v. 42, n. 11, p. 2985–2091, 2012.

MAGALHÃES, L. M. et al. Methodological aspects about in vitro evaluantion of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, v. 613, n. 1, p. 1-19, 2008.

MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J. D.; FIGUEIREDO, J. O. **Lima ácida Tahiti**. Campinas: Instituto Agronômico, 2003, p. 162.

MAZARO, S. M. et al. Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro após a aplicação pré-colheita de quitosana e acibenzolar-S-metil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 185–190, 2008.

MESQUITA, J. P. **Nanocristais de celulose para preparação de bionanocompósitos com quitosana e carbonos nanoestruturados para aplicações tecnológicas e ambientais**. 2012. 189 p. Tese (Doutorado em Ciências Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

MOHDALY, A. A. A. et al. Antioxidant efficacy of potato peels and sugar beet pulp extracts in vegetable oils protection. **Food Chemistry**, v. 123, n. 4, p. 1019-1026, 2010.

MOLYNEUX, P. The use stable free radical diphnylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Journal of Food Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

NATH, P. et al. Role of ethylene in fruit ripening. In: KHAN, N. A. **Ethylene action in plants**. Netherlands, Europa: Springer-Verlag, 2006. p. 151-184.

PENG, B. L. et al. Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: a nanotechnology perspective. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 89, n. 5, p. 1191–1206, 2011.

RAMOS, J. D. et al. **Recomendações básicas para o cultivo da lima ácida Tahiti**. 2008. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/bolExtensaopdfBE/bol_81.pdf>. Acesso em: 15 de jan. 2016.

RANBY, B. G. Fibrous macromolecular systems. Cellulose and muscle. The colloidal properties of cellulose micelles. **Faraday Discuss**, v. 11, n. 1, p. 158, 1951.

ROCKENBACH, I. I. et al. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (Vitis vinifera) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 238–244, 2008.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Comunicado técnico**, v. 125, p. 1–4, 2006.

SALVIA-TRUJILLO, L. et al. Use of antimicrobial nanoemulsions as edible coatings: impact on safety and quality attributes of fresh-cut Fuji apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 105, n. 1, p. 8–16, 2015.

SANCHEZ-GONZALEZ, L. et al. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, n. 1, p. 57–63, 2011.

SCALON, S. DE P. Q.; OSHIRO, A. M.; DRESCH, D. M. Conservação pós-Colheita de Guavira (Campomanesia adamantium Camb.) sob diferentes revestimentos e temperaturas de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1022–1029, 2012.

SECEX – Secretaria de Comercio Exterior. **Relatório citros**. 2011. Disponível em: <http://www.desenvolvimento.gov.br/sitio/interna/interna.php?area=1&menu=1695>. Acesso em: 15 jan. 2016.

SERRANO, M. et al. **Advances in Postharvest Fruit and Vegetable Technology**. 1ed. Boca Raton: CRC Press, 2015, p. 147.

SILVA, I. S. V. et al. Mechanical, thermal and barrier properties of pectin/cellulose nanocrystal nanocomposite films and their effect on the storability of strawberries (*Fragaria ananassa*). **Polymers for advanced Technologies**, v. 51, n. 24, p. 7005-7011, 2015.

SOARES, M. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008.

SOBOLEV, V. S.; COLE, R. J. Trans-Resveratrol content in commercial peanuts and peanut products**. Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 4, p. 1435-1439, 1999.

SOUZA, P. A. DE et al. Conservação pós-colheita de berinjela com revestimentos de fécula de mandioca ou filme de PVC. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 235–239, 2009.

SU, J. F. et al. Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 1, p. 145–153, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Armed, 2013, p. 541.

TEZOTTO-ULIANA, J. V. et al. Chitosan applications pre- or postharvest prolong raspberry shelf-life quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 91, n. 2, p. 72–77, 2014.

WANG, Y.; TIAN, H.; ZHANG, L. Role of starch nanocrystals and cellulose whiskers in synergistic reinforcement of waterborne polyurethane. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 665-671, 2010.

YANG, G. et al. Blueberry leaf extracts incorporated chitosan coatings for preserving postharvest quality of fresh blueberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 92, n. 2, p. 46–53, 2014.

ZAMORA, A. **Carbohydrates** - Chemical Structure. 2016. Disponível em: <http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates.html>. Acesso em: 15 jan. 2016.

ZENG, R. et al. Impact of carboxymethyl cellulose coating enriched with extract of Impatiens balsamina stems on preservation of “Newhall” navel orange. **Scientia Horticulturae**, v. 160, n. 3, p. 44–48, 2013.

ZENG, R. et al. Postharvest quality and physiological responses of clove bud extract dip on ‘Newhall’ navel Orange. **Scientia Horticulture**, v. 138, n. 5, p. 253-258, 2012.

3 Fisiologia e qualidade da lima ácida Tahiti revestida com nanocompósitos comestíveis, baseados em nanocristais de celulose

RESUMO

Revestimentos comestíveis baseados em biopolímeros de carboidratos têm sido estudados na conservação pós-colheita de frutas. No entanto, as propriedades de barreira de biopolímeros podem ser melhoradas com a adição de nanocristais para formar revestimentos de nanocompósitos reforçados. O objetivo deste trabalho foi avaliar a reação do limão Tahiti provocada pela aplicação de revestimentos a base de carboximetilcelulose (CMC), pectina (PEC) e amido (AM), reforçados por nanocristais de celulose (NC), durante 9 dias de armazenamento. Respiração, produção de etileno, perda de massa fresca, clorofila e firmeza foram mensurados. De acordo com os resultados, os revestimentos formados com os polímeros puros CMC, PEC e AM e com os seus respectivos nanocompósitos chamados NCMC, NPEC e NAM foram eficazes em reduzir a produção de etileno até os primeiros três dias de armazenamento. Entre os tratamentos testados, o nanocompósito NPEC (12,01 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) foi mais eficiente em inibir a difusão de CO_2 do que o polímero puro PEC (14,93 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}). O polímero PEC quando reforçado com NC (NPEC) foi o único revestimento que pôde reduzir a perda de peso fresco da lima ácida Tahiti, e também foi mais eficiente na retenção de clorofila do que o polímero puro PEC. Todos os nanocompósitos ou polímeros puros testados foram similarmente eficientes em reter a firmeza dos frutos. Este trabalho mostrou que o revestimento de nanocompósito comestível NPEC, baseado em NC, pode ser uma alternativa útil e promissora no aumento da vida de prateleira de frutas cítricas como a lima ácida Tahiti.

Palavras-chave: *Citrus latifolia*, polímeros, respiração, etileno.

Physiology and quality of Tahiti acid lime fruit coated with edible nanocomposites, based on cellulose nanocrystals

ABSTRACT

Edible coatings based on carbohydrates biopolymers have been studied for fruit post-harvest conservation. However, the biopolymer barrier properties can be

improved with addition of nanocrystals to form reinforced nanocomposite coatings. The objective of this work was evaluate the reaction on Tahiti lime provoked by applying carboxymethylcellulose (CMC), pectin (PEC) and starch (ST) coatings reinforced by cellulose nanocrystals (CN), during 9-day-storage. Respiration, ethylene production, fresh mass loss, chlorophyll and firmness were measured. According to the results the CMC, PEC and ST pure polymer coatings, and their respective nanocomposites named NCMC, NPEC and NST were effective to reduce ethylene production of the Tahiti lime until the third day of storage. Among the treatments tested, NPEC nanocomposite (12.01 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) was the most efficient in inhibiting CO_2 diffusion than the PEC pure polymer (14.93 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}). The PEC polymer, when reinforced with CN (NPEC), was the only coating which could reduce the fresh weight loss of acid lime Tahiti, and they was also more efficient in chlorophyll retention than the PEC pure polymer. All nanocomposites or pure polymers tested were similarly efficient in retaining the firmness of the fruits. This work showed that the NPEC edible coating nanocomposite, based on CN, can be a useful and promising alternative in increasing the shelf life of citrus fruits such as acid lime Tahiti.

Keywords: *Citrus latifolia,* carbohydrate polymers, respiration, ethylene.

1 INTRODUÇÃO

As frutas cítricas, como a lima ácida Tahiti têm grande popularidade mundial devido ao seu sabor, valor nutricional e fácil disponibilidade, mas após a colheita estão propensas à rápida deterioração de ordem física, fisiológica e microbiológica. Estudos têm mostrado que a qualidade pós-colheita de frutos pode ser prolongada pela aplicação de uma fina camada de revestimento polimérico sobre a casca (SERRANO et al., 2015), para retardar a perda de água e o enrugamento e aumentar o seu brilho (PETRACEK; HAGENMAIER; DOU, 1999).

Para a comercialização, geralmente as limas ácidas são revestidas com polímeros sintéticos não comestíveis, mas atualmente tem sido muito valorizada a aplicação de materiais que apresentem benefícios para a saúde e para o meio ambiente (ARNON et al., 2015; DHALL, 2013). Por isso, o uso de revestimentos

comestíveis tem recebido muita atenção devido à vantagem de poder ser consumido junto com o produto alimentício, ser produzido a partir de fontes renováveis agrícolas e pela possibilidade de reduzir o uso de embalagens sintéticas (BOURTOOM, 2008). Entretanto, a sua aplicação tem limitações devido às suas reduzidas propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água (DOGAN; MCHUGH, 2007).

Uma recente técnica, baseada na adição de nanomateriais para formar revestimentos de nanocompósitos poliméricos reforçados (DUFRESNE, 2006) tem sido foco de diversas investigações (AZEREDO et al., 2012; CORTEZ-VEGA et al., 2014; PINTO et al., 2015; XIAOLING et al., 2008). Os revestimentos baseados em nanocompósitos geralmente apresentam melhores propriedades mecânicas, térmicas, ópticas e físico-químicas, quando comparados aos revestimentos de polímeros puros (PETERSSON; OKSMAN; MATHEW, 2006). Entre os nanomateriais conhecidos, os nanocristais de celulose têm sido utilizados para melhorar as propriedades de polímeros (EICHHORN et al., 2010), por apresentarem características como elevado índice de cristalinidade e alta resistência (UDDIN; ARAKI; GOTOH, 2011).

Nanocristais de celulose possuem forma de agulha, dimensão igual ou inferior a 100 nm, grande área superficial específica, alto módulo de elasticidade e grande razão de aspecto, e os processos para o seu isolamento são baseados na hidrólise ácida para quebrar os domínios amorfos das fibras celulósicas (FLAUZINO NETO et al., 2013).

Os revestimentos comestíveis são baseados em polímeros de polissacarídeos, proteínas ou lipídeos, ou de vários compósitos destes (DHALL, 2013), que normalmente são aplicados por imersão do vegetal na solução de revestimento, formando uma fina camada em sua superfície (FALGUERA et al., 2011). Funcionam como uma barreira parcial à passagem de O_2, CO_2 e vapor de água, retardando o metabolismo respiratório, degradação fisiológica e a perda de massa fresca de frutos (SERRANO et al., 2015). Seu sucesso depende, principalmente, da escolha do revestimento apropriado para conduzir a uma composição de gás interna desejável (CISNEROS-ZEVALLOS; KROCHTA, 2003).

Entre os polímeros de revestimento utilizados em frutas, os polissacarídeos de amido (MACHADO et al., 2012; SOUZA et al., 2009), pectina (SCALON; OSHIRO; DRESCH, 2012) e carboximetilcelulose (ARNON et al., 2015; GOL; PATEL; RAO, 2013) têm sido estudados. O amido de mandioca apresenta alta

disponibilidade, baixo custo, incolor, sem sabor e boa barreira ao oxigênio, porém demostra elevada capacidade de absorver água (ALMASI; GHANBARZADEH; ENTEZAMI, 2010). A pectina é obtida por extração aquosa de vegetais comestíveis, geralmente citros ou maçãs, e está disponível em porcentagens elevadas em resíduos agroindustriais. Em determinadas circunstâncias forma géis e, por isso, é muito utilizada como aditivo em geléias, compotas, marmeladas e confeitos, com elevado potencial para ser utilizada como revestimento comestível de frutas (SERRANO et al., 2015). Carboximetilcelulose é derivada da celulose e é utilizada como aditivo estabilizador em alimentos. Devido à sua não toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, hidrofilicidade, e boa capacidade de formação de película, tem sido usada em diversas formulações de revestimentos comestíveis (SU et al., 2010).

Muitos estudos se baseiam nas características estruturais, bioatividade e tendências de uso de nanocompósitos como revestimentos comestíveis (BALDWIN; HAGENMAIER; BAI, 2011; FALGUERA et al., 2011; SERRANO et al., 2015), mas a sua aplicabilidade como revestimento comestível, tendo como base as respostas físico-químicas e fisiológicas de frutos, precisa ser melhor investigada. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de revestimentos comestíveis formados de nanocompósitos de carboximetilcelulose, pectina e amido, reforçados com nanocristais de celulose, na fisiologia e qualidade da lima ácida Tahiti durante o armazenamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras de frutos e materiais de revestimento

As amostras de limas ácidas Tahiti foram obtidas em pomar comercial, localizado na cidade de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. Na colheita foram selecionados frutos de cor verde, tamanho homogêneo, sem defeitos e sadios. Os frutos foram lavados com água e sanitizados por imersão com solução de hipoclorito de sódio a 0,2 mL L^{-1}, em temperatura ambiente por um minuto, e secos ao ar. Carboximetilcelulose de sódio P.A. (PM 219.000, viscosidade 2240 cps, Synth, Diadema - SP, Brasil), pectina cítrica (esterificação 72%, CP Kelko, Limeira - SP,

Brasil), e amido de mandioca (pureza 99%, Fecularia Horizonte, Marechal Cândido Rondon - PR, Brasil) foram utilizados para formação dos revestimentos.

2.2 Formação de nanocristais de celulose (NC)

De acordo com Flauzino Neto et al. (2013), os NC foram extraídos de polpa celulósica Kraft de eucalipto (Companhia Conpacel, Limeira - SP, Brasil) por hidrólise ácida com ácido sulfúrico a 60% (m/m). A hidrolise foi realizada a 45 ºC durante 50 minutos, sob agitação constante. Para cada grama de polpa Kraft foi utilizado 20 mL de ácido sulfúrico. Imediatamente após a hidrolise, a suspensão foi diluída 10 vezes em água fria, e centrifugada duas vezes durante 8 minutos a 10.000 rpm. O precipitado foi então dialisado com água até o pH neutro ser alcançado. A suspensão resultante do processo de diálise (14,4 mg mL^{-1}) foi ultrasonificada durante 15 minutos, e armazenada a 4 °C com a adição de algumas gotas de clorofórmio para evitar qualquer crescimento bacteriano.

Os NC tinham as seguintes características: índice de cristalinidade = 89,1%, comprimento e diâmetro = 204 ± 50 nm, 4,44 ± 1,10 nm, respectivamente, e razão de aspecto = 47 ± 14, conforme determinado previamente. O índice de cristalinidade (APÊNDICE C) foi determinado pelo método de Segal et al. (1959) por meio de difratogramas de raio-X (Shimadzu LabX XRD-6000). As medições de comprimento, diâmetro e razão de aspecto foram realizadas por microscopia de força atômica - AFM (Shimadzu SPM-9600), selecionando trinta e cinco nanocristais para as medições (APÊNDICE A). Ainda, imagens antes e após a hidrólise ácida foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura, mostrando que a hidrólise foi eficiente (APÊNDICE B).

2.3 Preparação dos revestimentos de polímeros puros e nanocompósitos

Revestimentos comestíveis de carboximetilcelulose (CMC), pectina (PEC) e amido (AM) foram preparadas, dissolvendo-se os polímeros em água destilada nas concentrações de 1,0%, 1,5% e 1,5% (respectivamente), sob agitação constante. A CMC foi dissolvida em temperatura ambiente (25 ºC) por 2 horas e a pectina à 65 ºC por 40 minutos. O amido foi dissolvido à 70 ºC até a sua gelatinização. Em cada revestimento foi adicionado 1% (m/v) de glicerol (Tec-Lab, Indaiatuba - SP, Brasil)

como plastificante. As concentrações dos polímeros foram definidas através de testes preliminares, baseado nos melhores resultados de perda de massa de frutos.

A suspensão de NC (8% v/v) foi misturada com as soluções dos polímeros de CMC, PEC e AM para formar as soluções de revestimentos de nanocompósito, e adicionalmente foram agitadas com um agitador magnético durante 30 min para obtenção de uma emulsão por dispersão completa dos polímeros, glicerol e NC.

2.4 Aplicação dos revestimentos e plano experimental

As limas ácidas foram imersas nos revestimentos dos nanocompósitos (NCMC, NPEC e NAM), ou dos polímeros puros (CMC, PEC e AM), por 1 min e permaneceram em temperatura ambiente (25 ºC) por 3 horas, até a secagem completa dos revestimentos. Depois de tratados, os frutos foram acondicionados em bandejas de poliestireno expandido contendo um fruto cada, caracterizando a unidade experimental. Depois foram armazenados em câmara climatizada a 23 °C ± 2 °C e 75% UR por 9 dias. As avaliações ocorreram em intervalos de 3 dias. Um grupo controle de frutos não tratados foram armazenados sob as mesmas condições.

2.5 Atividade respiratória e produção de etileno

Para as determinações da atividade respiratória (mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) e produção de etileno (µg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}), três frutos foram colocados em frascos herméticos de plástico com volume de 800 mL e septo de silicone na tampa para amostragem dos gases. Amostras de 2,0 mL para CO_2 e 2,5 mL para etileno foram coletadas com seringa *gasthight* da atmosfera interna dos frascos. Essas coletas ocorreram depois de uma hora do fechamento dos frascos para a determinação do CO_2, e depois de 2 horas para a determinação do etileno. As amostras coletadas foram injetadas em cromatógrafo gasoso (Finnigan, 9001) calibrado para as temperaturas da coluna (capilar), injetor (splitless), detector (ionização de chama) e metanador de 80, 150, 250 e 350 ºC, respectivamente. O nitrogênio foi utilizado como gás de arraste.

2.6 Qualidade físico-química

Os parâmetros físico-químicos determinados foram a perda de massa, teor de clorofila total e firmeza. A perda de massa foi determinada por meio de pesagem em balança semi-analítica, considerando-se a massa inicial dos frutos e as massas de cada período de avaliação, e o resultado foi expresso em percentual (%). Para clorofila total, amostras de 1 g da casca da lima Tahiti foram maceradas e colocadas em 20 mL de solução extratora de acetona 80% (v/v). Os extratos ficaram em repouso no escuro e refrigeração, e depois de 48 horas foram centrifugados. O sobrenadante foi lido em espectroscopia (Shimadzu, UV-1800, Japão) a 663 nm (clorofila a) e 645 nm (clorofila b), conforme descrito por Arnon (1949). Os teores de clorofila total (CT) foram expressos em mg g^{-1} conforme a equação:

CT: 8,0 x (absorbância a 663nm) + 20,2 x (absorbância a 645nm)

A firmeza dos frutos foi mensurada utilizando um texturômetro digital de bancada (Brookfield, CT3, USA). Os frutos inteiros foram colocados sobre superfície plana e sua firmeza foi medida na região equatorial. Uma haste de aço inoxidável com diâmetro de 8 mm foi utilizada. A velocidade do ensaio foi ajustada para 2 mm s^{-1}, com profundidade de deslocamento de 10 mm. Os resultados foram expressos em Newton (N).

2.7 Análise estatística

Com base no delineamento inteiramente casualizado, os dados foram submetidos à análise de variância. Para as variáveis cujos valores F foram significativos foi aplicado o teste de Tukey para comparar as médias. O nível de 95% de confiabilidade foi utilizado. Três repetições foram utilizadas nas análises de respiração e produção de etileno, e cinco repetições para perda de massa, clorofila e firmeza. Foi utilizado o pacote estatístico SAEG (UFV, Viçosa - MG).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Produção de etileno e respiração

A produção de etileno (µg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}) e a respiração (mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) da lima ácida Tahiti (Figura 1) foram mensurados para avaliar a resposta fisiológica dos frutos depois de terem sido revestidos com os polímeros puros de CMC, PEC e AM, ou com os nanocompósitos de carboximetilcelulose (NCMC), pectina (NPEC) e amido de mandioca (NAM), reforçados com nanocristais de celulose (NC).

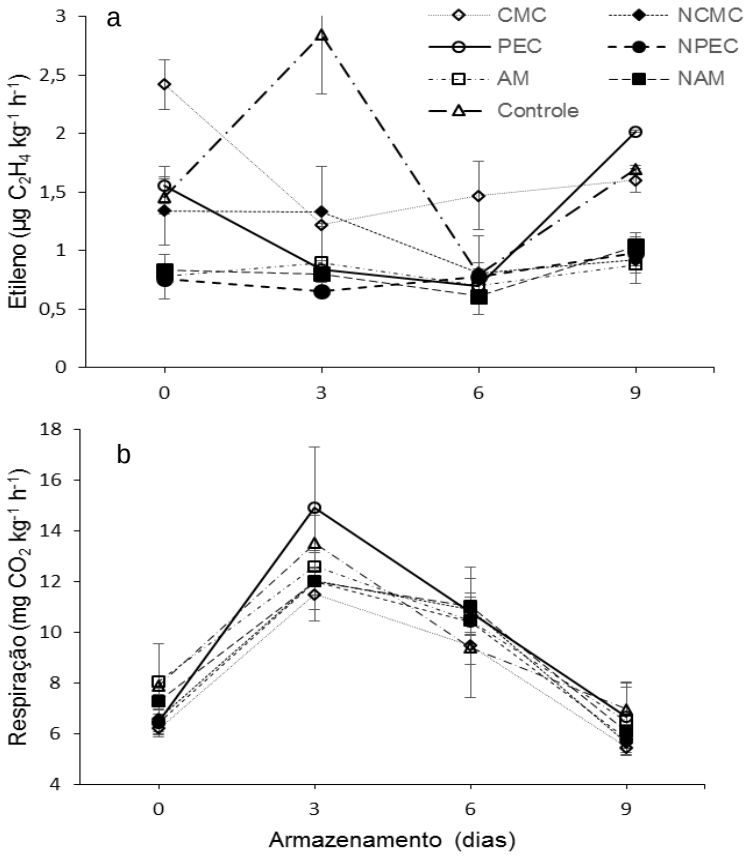


Figura 1 - Produção de etileno (a) e respiração (b) de limas ácidas Tahiti revestidas com nanocompósitos de carboximetilcelulose (NCMC), pectina (NPEC) e amido (NAM) ou com soluções puras de CMC, PEC e AM. Controle: frutos não revestidos. As barras indicam o desvio padrão (n= 3).

As respostas fisiológicas induzidas por estresses físicos impostos nas etapas de colheita e pós-colheita de frutos, como o transporte ou a manipulação pré-armazenamento, estão bem descritas na literatura (BASSAN et al., 2013; KADER, 2002) e elas tem uma relação direta com a elevação da produção de etileno

(ROJAS-GRAÜ et al., 2007), o que poderia explicar o aumento da produção de etileno dos frutos do controle (Figura 1a) e as taxas respiratórias (Figura 1b) até o terceiro dia de armazenamento. Todas as amostras de frutos revestidos com nanocompósitos ou polímeros puros de CMC, PEC e AM mostraram diminuição da taxa de produção de etileno no terceiro dia de armazenamento (Figura 1a), enquanto os frutos sem revestimento (controle) apresentaram aumento neste período. Essa inibição da produção de etileno pode ser atribuída ao efeito de barreira dos revestimentos à difusão desse gás, mas tanto os nanocompósitos quanto os polímeros puros foram igualmente efetivos, pois não mostraram diferenças significativas (p<0,05) na produção de etileno, ou seja, todos os polímeros, reforçados ou não com NC, contribuíram para a diminuição da difusão do gás etileno. Outros autores também encontraram menores taxas de produção de etileno em frutos não climatéricos revestidos com polímeros de polissacarídeo (MAZARO et al., 2008; TEZOTTO-ULIANA et al., 2014). Muitos autores atribuem esta redução principalmente ao efeito de barreira da camada de revestimento polimérico à difusão do etileno, mas secundariamente pode ser atribuída também à diminuição da difusão do O_2 pelo mesmo efeito de barreira, com consequente aumento nas concentrações de CO_2 intercelular, que são capazes de reduzir a síntese de etileno pela inibição da ACC oxidase (ALEXANDER; GRIERSON, 2002). De fato, etileno é um metabólito secundário, que está relacionado com o metabolismo aeróbico do tecido vegetal (SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2003).

Os níveis de etileno produzidos pelos frutos revestidos com NCMC no 6º e no 9º dias de armazenamento (0,81 e 0,92 µg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}, respectivamente) foram significativamente inferiores quando comparados aos frutos com CMC (1,47 e 1,60 µg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}, respectivamente nos mesmos períodos) (Figura 1a). Adicionalmente, frutos revestidos com NPEC mostraram produção de etileno no 9º dia de armazenamento (0,98 µg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}) inferior aos frutos com PEC (2,02 µg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}) no mesmo período. Esses resultados sugerem uma melhor condição de barreira quando CMC e PEC são reforçados com NC. Efeito similar foi encontrado por Salvia-Trujillo et al. (2015) quando testaram revestimento de alginato reforçado com nano-emulsão em maçãs minimamente processadas.

Com relação à respiração dos frutos, foi encontrado que de todos os tratamentos e o controle aumentaram a produção de CO_2 até o terceiro dia de armazenamento (Figura 1b). As taxas respiratórias dos frutos revestidos com os

nanocompósitos NCMC, NAM e NPEC (12,02, 12,01 e 12,01 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) ou com os polímeros puros CMC e AM (11,49 e 12,59 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) foram menores do que o controle (13,52 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}), o que sugere que a difusão do O_2 da atmosfera para o tecido dos frutos foi inibida pelo efeito de barreira do revestimento comestível ao O_2, tornando mais lento o metabolismo respiratório. Entretanto, eles foram estatisticamente similares (p<0,05), sugerindo que o reforço com NC não contribuiu para melhorar a propriedade de barreira ao O_2 nos nanocompósitos NCMC e NAM. A taxa respiratória dos frutos com PEC (14,93 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) foi maior do que o controle, mostrando que o revestimento com pectina possui propriedades de barreira inadequadas, mas quando reforçada com NC as propriedades de barreira (O_2) de NPEC (12,01 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) foram significativamente melhoradas, pois influenciou taxas respiratórias dos frutos menores do que o PEC. Conforme já mencionado aqui, os estresses fisiológicos que ocorrem nas etapas de colheita ou pós-colheita conduzem a um aumento da produção de etileno que, consequentemente, induz um aumento da respiração dos frutos (BASSAN et al., 2013). Entretanto, uma associação positiva entre etileno e CO_2 foi observada apenas para o controle (Figuras 1a e 1b).

Foi relatado que os níveis elevados de cristalinidade de NC, superiores a 60%, influenciam a diminuição dos níveis de permeabilidade de moléculas de oxigênio através dos revestimentos de nanocompósitos (SAXENA et al., 2011). Assim, supõe-se que o elevado índice de cristalinidade dos NC utilizados neste trabalho (89,1%) tenha permitido a formação de uma estrutura mais densa do nanocompósito NPEC, que conduziu a um revestimento com propriedade de difusão do O_2 mais reduzida. Estes efeitos tem sido atribuídos à formação de uma rígida rede de hidrogênio ligado aos NC (EICHHORN et al., 2010).

Depois do terceiro dia de armazenamento as taxas respiratórias dos frutos tratados e do controle diminuíram significativamente até o final do armazenamento (Figura 1b). Essas diminuições não tiveram relação com os tratamentos aplicados, e provavelmente ocorreram devido a redução do estresse fisiológico ambiental nos frutos, que responderam fisiologicamente com os seus baixos níveis naturais de intensidade respiratória (JOMORI et al., 2003).

3.2 Perda de massa, clorofila e firmeza

Os revestimentos de nanocompósitos (NCMC, NPEC e NAM) ou de polímeros puros (CMC, PEC e AM) não mostraram influência significativa (p<0,05) sobre a perda de massa das limas ácidas Tahiti até o terceiro dia de armazenamento (Figura 2a), mas nos 6º e 9º dias as perdas de massa fresca dos frutos revestidos com NPEC (3,26% e 4,33%, respectivamente) foram significativamente menores do que controle (4,38% e 5,68%, respectivamente), enquanto os frutos revestidos com PEC (4,06% e 5,07%, respectivamente) não mostraram efeito significativo quando comparados ao controle. Isso mostra que a formação de um nanocompósito de pectina (NPEC), baseado no reforço com NC, mostrou melhor propriedade de barreira ao vapor de água em comparação ao revestimento com o polímero puro (PEC). Resultados semelhantes com frutos tratados com revestimentos reforçados com nanopartículas também foram encontrados por Azeredo et al. (2012) e Shi et al. (2013). Adicionalmente, os resultados mostraram indícios de que todos os polímeros CMC, PEC e AM foram capazes de retardar a perda de massa fresca dos frutos no 6º e 9º dias de armazenamento, pois mostraram valores menores do que o controle. Arnon et al. (2015) em trabalho com tangerinas também observaram que diferentes revestimentos de polissacarídeos foram eficientes em diminuir a perda de massa fresca dos frutos.

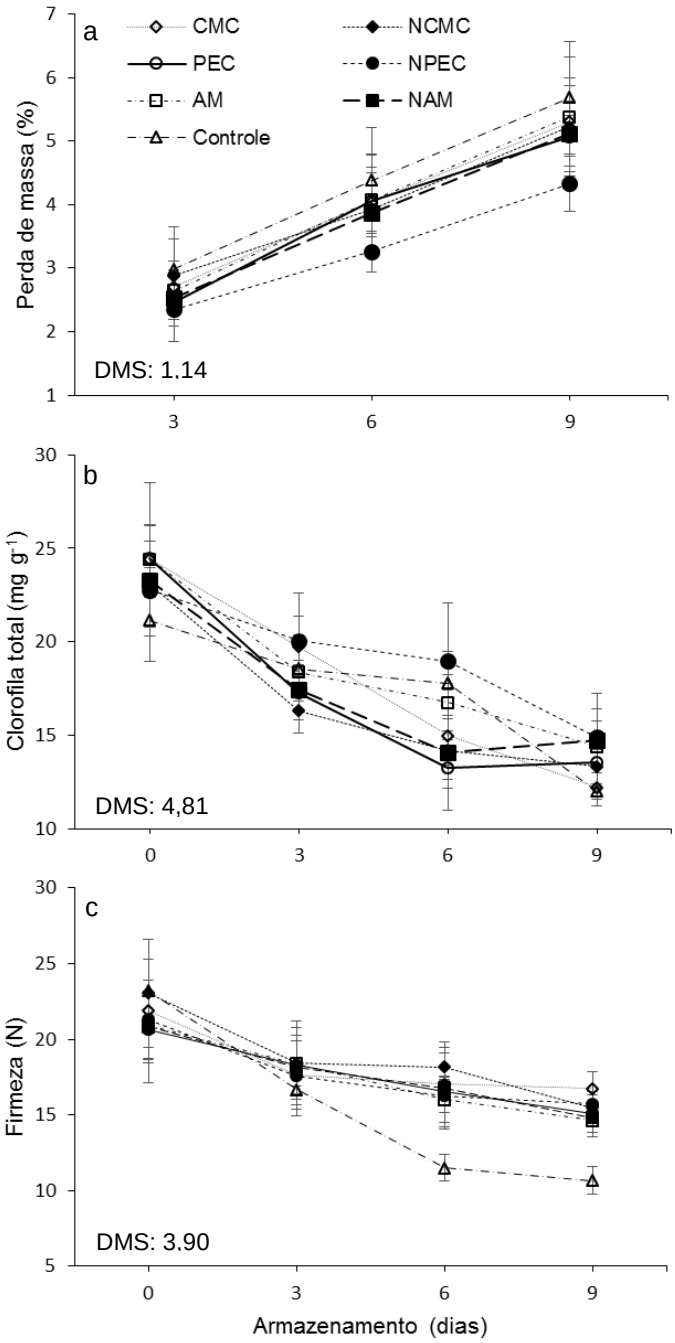


Figura 2 - Perda de massa (a), clorofila total (b) e firmeza (c) das limas ácidas Tahiti revestidas com nanocompósitos de carboximetilcelulose (NCMC), (NCMC), pectina (NPEC) e amido (NAM), ou com as soluções puras de CMC, PEC e AM. Controle: frutos não revestidos. As barras indicam desvio padrão das médias (n= 5).

Foi relatado que revestimentos poliméricos são capazes de diminuir o movimento de vapor de água pelos estômatos da casca de frutos, e isso reduz a sua transpiração mantendo a turgescência de paredes celulares (DUAN et al., 2011). Esse mecanismo de barreira física parcial do revestimento conduz a uma redução da difusão de água através dos estômatos do fruto, pois a pressão de vapor de água na

interface superfície do fruto/película de revestimento é reduzida, levando a uma redução da diferença de potencial de pressão de vapor de água que é a força motriz para o movimento de água. Por outro lado, aumentos de perda de massa fresca podem levar o fruto ao estresse hídrico e, consequentemente, ao aumento da respiração (HERNÁNDEZ-MUÑOZ et al., 2008), mas, essa relação não foi observada neste estudo.

Não foram observadas diferenças significativas do conteúdo de clorofila da casca entre os frutos revestidos e controle até o terceiro dia de armazenamento (Figura 2b), sugerindo que um possível efeito de barreira dos revestimentos era insuficiente para inibir a degradação de clorofila. A associação negativa entre a atividade respiratória (Figura 1b) e do teor clorofila (Figura 2b), encontrada até ao terceiro dia, sugere que as tensões fisiológicas de colheita e manipulação podem ter sido capazes de induzir uma expressão da clorofilase, que os revestimentos não foram capazes de inibir. Entretanto, no 6º dia o revestimento de nanocompósito NPEC influenciou significativamente (p<0,05) um maior nível de retenção de clorofila da casca (18,95 mg g^{-1}), quando comparado a PEC (13,25 mg g^{-1}). Adicionalmente, NPEC não mostrou diferenças significativas em relação ao controle e AM, mas ainda foi superior a NCMC, CMC e NAM. Frutos revestidos com NPEC exibiram a menor taxa de produção de CO_2 (Figura 1b) e essa associação de resultados evidencia que a formação de um nanocompósito de pectina, reforçada com NC, conduziu a um revestimento com a melhor resposta de barreira para inibir o metabolismo fisiológico relacionado ao desverdecimento da lima ácida Tahiti. É conhecido que uma maior barreira ao O_2 interfere na produção etileno e no metabolismo respiratório, com reflexos fisiológicos que podem levar a uma diminuição da expressão gênica de enzimas que degradam a clorofila (NATH et al., 2006). A manutenção da coloração verde da casca da lima ácida Tahiti é importante para aceitabilidade do consumidor, além de atrair bons preços (KAEWSUKSAENG et al., 2015).

Com relação à firmeza das limas ácidas Tahiti (Figura 2c), não foram encontradas diferenças significativas (p<0,05) entre os tratamentos com os revestimentos de nanocompósitos (NCMC, NPEC e NAM) e de polímeros puros (CMC, PEC e AM), durante todo o período de armazenamento. Os resultados mostraram também que durante o armazenamento houve diminuições da firmeza dos frutos, mas que no 6º e no 9º dias todos os tratamentos foram capazes de retardar significativamente a perda de firmeza, pois mostraram valores maiores

(médias de 16,8% e 15,41%, respectivamente) ao do controle (11,49% e 10,67%, respectivamente). O efeito dos revestimentos sobre a retenção da firmeza dos frutos invariavelmente tem uma relação direta com a sua capacidade de controlar a perda de massa fresca (FAGUNDES et al., 2015; XIAO et al., 2010) ou de inibir o metabolismo respiratório relacionado à expressão da atividade de enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase, responsáveis pela despolimerização da cadeia de substâncias pécticas na parede celular e degradação de protopectina da lamela média e da parede celular primária (RESENDE et al., 2004). Essa inibição enzimática é uma consequência da modificação da atmosfera interna do fruto ocasionada pelo efeito de barreira ao O_2 (AHMED et al., 2013; ALI et al., 2010). Neste estudo os frutos revestidos com CMC, PEC e AM, reforçados ou não com NC, que mostraram retenção da firmeza quando comparados ao controle, também sofreram menor perda de massa fresca (Figura 2a), mas nenhuma associação com a respiração dos frutos (Figura 1b) foi observada. Esses resultados mostram que as propriedades de barreira ao vapor de água dos revestimentos tiveram efeito positivo sobre a manutenção da firmeza dos frutos. Arnon et al. (2015) verificaram em mandarins tratadas com CMC retenção da firmeza, e também associaram esse efeito positivo à menor perda de massa fresca causada por esse polímero de revestimento.

4 CONCLUSÕES

Os revestimentos com os nanocompósitos NCMC, NPEC e NAM e os polímeros puros CMC, PEC e AM foram eficazes para reduzir a produção de etileno da lima ácida Tahiti até o terceiro dia de armazenamento. Entre os tratamentos testados, o nanocompósito de pectina (NPEC) foi o mais eficiente na inibição da difusão de CO_2 do que o polímero puro de pectina (PEC). O polímero de pectina, quando reforçado com NC (NPEC), reduziu a perda de massa fresca da lima ácida Tahiti e foi mais eficiente na retenção de clorofila do que o polímero puro PEC. Todos os revestimentos testados foram igualmente eficientes na retenção da firmeza dos frutos. Este trabalho mostrou que o revestimento comestível de nanocompósito NPEC, baseado em NC, pode ser uma alternativa útil e promissora no aumento da vida de prateleira de cítricos, tais como a lima ácida Tahiti.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, L. et al. Effect of delactosed whey permeate treatment on physico-chemical, sensorial, nutritional and microbial properties of whole tomatoes during postharvest storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 367–374, 2013.

ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 377, p. 2039–2055, 2002.

ALI, A. et al. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 58, n. 1, p. 42–47, 2010.

ALMASI, H.; GHANBARZADEH, B.; ENTEZAMI, A. A. Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, n. 1, p. 1–5, 2010.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta Vulgaris. **Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 1–15, 1949.

ARNON, H. et al. Development of polysaccharides-based edible coatings for citrus fruits: A layer-by-layer approach. **Food Chemistry**, v. 166, n. 1, p. 465–472, 2015.

AZEREDO, H. M. C. et al. Nanoreinforced alginate-acerola puree coatings on acerola fruits. **Journal of Food Engineering**, v. 113, n. 4, p. 505–510, 2012.

BALDWIN, E. A.; HAGENMAIER, R.; BAI, J. **Edible coatings and films to improve food quality**. Boca Raton: CRC Press, 2011.

BASSAN, M. M. et al. The harvesting system affects the quality and conservation of the “Tahiti” acid lime. **Scientia Horticulturae**, v. 155, n. 1, p. 72–77, 2013.

BOURTOOM, T. Edible films and coatings: characteristics and properties. **International Food Research Journal**, v. 15, n. 3, p. 237–248, 2008.

CISNEROS-ZEVALLOS, L.; KROCHTA, J. M. Whey protein coatings for fresh fruits and relative humidity effects. **JFS: Food Engineering and Physical Properties**, v. 68, n. 1, p. 176–181, 2003.

CORTEZ-VEGA, W. R. et al. Using edible coatings from Whitemouth croaker (Micropogonias furnieri) protein isolate and organo-clay nanocomposite for improve the conservation properties of fresh-cut “Formosa” papaya. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 22, n. 2, p. 197–202, 2014.

DHALL, R. K. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. **Critical Reviews in Food Science Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 435-450, 2013.

454 DOGAN, N.; MCHUGH, T. H. Effects of microcrystalline cellulose on functional
455 properties of hydroxy propyl methyl cellulose microcomposite films. **Journal of Food**
456 **Science**, v. 72, n. 1, p. 16-22, 2007.

457 DUAN, J. et al. Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and
458 Elliott) under commercial storage conditions. **Postharvest Biology and**
459 **Technology**, v. 59, n. 1, p. 71–79, 2011.

460 DUFRESNE, A. Comparing the mechanical properties of high performances polymer
461 nanocomposites from biological sources. **Journal of Nanoscience and**
462 **Nanotechnology**, v. 6, n. 3, p. 322-330, 2006.

463 EICHHORN, S. J. et al. **Review: Current international research into cellulose**
464 **nanofibres and nanocomposites**, 2010. (Nota técnica).

465 FAGUNDES, C. et al. Hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible coatings
466 formulated with antifungal food additives to reduce alternaria black spot and maintain
467 postharvest quality of cold-stored cherry tomatoes. **Scientia Horticulturae**, v. 193,
468 n. 3, p. 249–257, 2015.

469 FALGUERA, V. et al. Edible films and coatings: structures, active functions and
470 trends in their use. **Trends in Food Science and Technology**, v. 22, n. 6, p. 292-
471 303, 2011.

472 FLAUZINO NETO, W. P. et al. Extraction and characterization of cellulose
473 nanocrystals from agro-industrial residue – Soy hulls. **Industrial Crops and**
474 **Products**, v. 42, n. 1, p. 480–488, 2013.

475 GOL, N. B.; PATEL, P. R.; RAO, T. V. R. Improvement of quality and shelf-life of
476 strawberries with edible coatings enriched with chitosan. **Postharvest Biology and**
477 **Technology**, v. 85, n. 1, p. 185–195, 2013.

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

481 JOMORI, M. L. L. et al. Conservação refrigerada de lima ácida “Tahiti”: uso de 1-
482 metilciclopropeno, ácido giberélico e cera. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25,
483 n. 3, p. 406–409, 2003.

484 KADER, A. A. **Postharvest Technology of Horticultural Crops**. 3.ed. Oakland:
485 Division of Agricultural and Natural Resources, 2002.

486 KAEWSUKSAENG, S. et al. Postharvest Biology and Technology Postharvest heat
487 treatment delays chlorophyll degradation and maintains quality in Thai lime (Citrus
488 aurantifolia Swingle cv . Paan) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 100,
489 n. 1, p. 1–7, 2015.

LI, H. et al. Effect of nano-packing on preservation quality of Chinese jujube (Ziziphus jujuba Mill. var. inermis (Bunge) Rehd). **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 547–552, 2009.

MACHADO, B. A. S. et al. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v. 42, n. 11, p. 2985-2091, 2012.

MAZARO, S. M. et al. Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro após a aplicação pré-colheita de quitosana e acibenzolar-S-metil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 185–190, 2008.

NATH, P. et al. Role of ethylene in fruit ripening. In: KHAN, N. A. **Ethylene action in plants**. Netherlands: Springer-Verlag, 2006. p. 151-184.

PETERSSON, L.; OKSMAN, K.; MATHEW, A. P. Using maleic anhydride grafted poly(lactic acid) as a compatibilizer in poly(lactic acid)/layered-silicate nanocomposites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 102, n. 2, p. 1852–1862, 2006.

PETRACEK, P. D.; HAGENMAIER, R. D.; DOU, H. Waxing effects on citrus fruit psysiology. In: M. SCHIRRA. Ed. **Advances in postharvest and disorders control of citrus**. Trivandrum, Índia: Reserch Signpost, 1999. p. 71-92.

PINTO, A. M. B. et al. Starch-cashew tree gum nanocomposite films and their application for coating cashew nuts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 549–554, 2015.

RESENDE, J. M. et al. Atividade de enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase durante o amadurecimento de tomates do grupo multilocular. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 206–212, 2004.

ROJAS-GRAÜ, M. A. et al. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 45, n. 2, p. 254–264, 2007.

SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1. Viçosa: UFV, Fundação Arthur Bernardes, 2007.

SALVIA-TRUJILLO, L. et al. Use of antimicrobial nanoemulsions as edible coatings: impact on safety and quality attributes of fresh-cut Fuji apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 105, n. 1, p. 8–16, 2015.

SAXENA, A. et al. High oxygen nanocomposite barrier films based on xylan and nanocrystalline cellulose. **Nano-Micro Letters**, v. 2, n. 4, p. 235–241, 2011.

SCALON, S. DE P. Q.; OSHIRO, A. M.; DRESCH, D. M. Conservação pós-Colheita de Guavira (Campomanesia adamantium Camb.) sob diferentes revestimentos e

527 temperaturas de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4,
528 p. 1022–1029, 2012.

529 SEGAL, L. et al. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of
530 native cellulose using the X-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29,
531 n. 10, p. 786-794, 1959.

532 SERRANO, M. et al. **Advances in Postharvest Fruit and Vegetable Technology**.
533 1ed. Boca Raton: CRC Press, 2015, p. 147.

534 SHI, S. et al. Effect of chitosan/nano-silica coating on the physicochemical
535 characteristics of longan fruit under ambient temperature. **Journal of Food**
536 **Engineering**, v. 118, n. 1, p. 125–131, 2013.

537 SOLIVA-FORTUNY, R. C.; MARTÍN-BELLOSO, O. New advances in extending the
538 shelf-life of fresh-cut fruits: A review. **Trends in Food Science and**
539 **Technology**, v. 14, n. 9, p. 341–353, 2003.

540 SOUZA, P. A. DE et al. Conservação pós-colheita de berinjela com revestimentos de
541 fécula de mandioca ou filme de PVC. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 235-239,
542 2009.

543 SU, J. F. et al. Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate
544 blend edible films crosslinked by Maillard reactions. **Carbohydrate Polymers**, v. 79,
545 n. 1, p. 145–153, 2010.

546 TEZOTTO-ULIANA, J. V. et al. Chitosan applications pre- or postharvest prolong
547 raspberry shelf-life quality. **Postharvest Biology and**
548 **Technology**, v. 91, n. 2, p. 72–77, 2014.

549 UDDIN, A. J.; ARAKI, J.; GOTOH, Y. Toward “strong” green nanocomposites:
550 Polyvinyl alcohol reinforced with extremely oriented cellulose whiskers.
551 **Biomacromolecules**, v. 12, n. 3, p. 617–624, 2011.

552 XIAOLING, X. et al. Effect of chitosan coating with nano-$CaCO_3$ appendix on
553 postharvest quality and physiology of loquat fruits. **Food and Fermentation**
554 **Industries**, v. 4, n. 1, p. 142-145, 2008.

555 XIAO, C. et al. Combined action of pure oxygen pretreatment and chitosan coating
556 incorporated with rosemary extracts on the quality of fresh-cut pears. **Food**
557 **Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 1003–1009, 2010.

558

4 Resposta fisiológica e qualidade pós-colheita da lima ácida Tahiti revestida com nanocompósitos ativos baseados em nanocristais de celulose e extrato de película de amendoim

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de revestimentos ativos formados pela mistura de carboximetilcelulose (CMC), pectina (PEC) e amido (AM), reforçados com nanocristais de celulose (NC) e incorporados com extrato de película de amendoim (EX), na fisiologia e qualidade da lima ácida Tahiti durante 9 dias de armazenamento. Ainda, avaliar a influência dos NC na estabilidade antioxidante dos nanocompósitos ativos pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP. O extrato de película foi utilizado pois mostrou melhores valores de atividade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) em relação aos extratos de casca de lima ácida Tahiti e semente de limão Cravo. Os parâmetros determinados foram etileno, respiração, perda de massa fresca, clorofila, firmeza e ácido ascórbico. Os resultados mostraram que os compósitos ativos de PEC+AM+EX e PEC+CMC+EX e os nanocompósitos ativos PEC+AM+EX+NC e PEC+CMC+EX+NC apresentaram menores taxas de produção de etileno e CO_2. Todos os revestimentos retardaram a perda de massa fresca e a firmeza dos frutos. Porém, o nanocompósito ativo PEC+CMC+EX+NC apresentou menores valores de respiração, etileno e perda de massa, além da maior retenção de firmeza. Uma melhor estabilidade dos revestimentos foi possível devido ao acréscimo de NC, mantendo por 9 dias os maiores valores de atividade antioxidante. Este trabalho mostrou que o nanocompósito ativo da mistura de PEC e CMC, baseado em NC e EX, apresentou as melhores propriedades de barreira entre os revestimentos estudados.

Palavras-chave: *Citrus latifolia*, polímeros, estabilidade antioxidante.

Physiological response and acid lime postharvest quality Tahiti coated with nanocomposites based assets nanocrystals of cellulose and peanut skin extract

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the influence of active coatings formed by carboxymethylcellulose mixture (CMC), pectin (PEC) and starch (ST), reinforced with cellulose nanocrystals (CN) and incorporated with peanut film extract (EX) in physiology and quality of acid lime Tahiti during 9-day-storage. Still, evaluate the influence of NC antioxidant stability of active nanocomposites by DPPH methods, ABTS and FRAP. The film extract was used because it showed the best values of antioxidant activity (DPPH, ABTS and FRAP) in relation to acid lime peel Tahiti extracts and cravo lemon seed. The parameters determined were ethylene, respiration, fresh mass loss, chlorophyll, firmness and ascorbic acid. The results showed that the composite active PEC+ST+EX and PEC+CMC+EX and the active nanocomposites PEC+ST+EX+CN and PEC+CMC+EX+CN had lower ethylene and CO_2 production rates. All coatings delayed the fresh mass loss and fruit firmness. However, the active nanocomposite PEC+CMC+EX+CN showed lower values respiration, ethylene and loss of mass, and the largest firmness retention. Better stability of the coatings was possible due to the CN addition, keeping for 9 days the highest values of antioxidant activity. This work showed that the active nanocomposite mixture PEC and CMC, based on CN and EX presented the best barrier properties of the coatings studied.

Keywords: *Citrus latifolia,* carbohydrate polymers, antioxidant stability.

1 INTRODUÇÃO

As frutas cítricas possuem grande popularidade em todo o mundo, devido ao seu sabor, nutrientes benéficos e ampla disponibilidade, mas após a colheita, essas frutas são propensas a deterioração fisiológica e microbiológica. Entre os relatos científicos que abordam estudos e o uso de técnicas de conservação de cítricos, aqueles envolvidos com a aplicação de uma camada de revestimento transparente e uniforme sobre a superfície da casca do fruto tem sido bem aceitos (SIRIPATRAWAN; HARTE, 2010; SOUZA et al., 2011; ARNON et al., 2015; SERRANO et al., 2015). Os revestimentos têm sido úteis para retardar a perda de água e o enrugamento, e fornecer brilho ao fruto (ARNON et al., 2015), especialmente para a comercialização de frutos cítricos, que geralmente são

revestidos com material polimérico sintético não comestível. Atualmente, o uso de revestimentos comestíveis tem recebido muita atenção devido à vantagem de poder ser consumido junto com o produto alimentício, ser produzido a partir de fontes renováveis agrícolas e pela possibilidade de reduzir o uso de embalagens sintéticas (BOURTOOM, 2008).

Os revestimentos comestíveis são baseados em polímeros de polissacarídeos, proteínas ou lipídeos, ou de vários compósitos destes (DHALL, 2013), que normalmente são aplicados por imersão do vegetal na solução de revestimento, formando uma fina camada em sua superfície (FALGUERA et al., 2011). Funcionam como uma barreira parcial à passagem de O_2, CO_2 e vapor de água, retardando o metabolismo respiratório, degradação fisiológica e a perda de massa fresca de frutos (SERRANO et al., 2015). Seu sucesso depende, principalmente, da escolha do revestimento apropriado para conduzir a uma composição de gás interna desejável (CISNEROS-ZEVALLOS; KROCHTA, 2003).

Revestimentos ativos comestíveis têm sido pesquisados e utilizados na conservação pós-colheita de frutos, e seu uso se baseia na aplicação de uma fina camada polimérica que carrega um agente funcional, como um antioxidante e/ou um agente antimicrobiano (SIRIPATRAWAN; HARTE, 2010; SOUZA et al., 2011). Zeng et al. (2013) verificaram em laranjas revestidas com carboximetilcelulose e extrato de *Impatiens balsamina* uma redução na taxa de degradação e de perda de massa, e relataram que o revestimento ativo foi eficaz na conservação da laranja.

Aliado ao crescente interesse dos consumidores pela utilização de produtos naturais, o uso de revestimentos poliméricos adicionados de compostos bioativos pode também ser interessante do ponto de vista ambiental, pois resíduos agroindustriais que apresentam características funcionais podem agregar valor ao produto.

A película de amendoim é um resíduo agroindustrial que apresenta amplo espectro de atividade antimicrobiana (YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2010), é rico em compostos fenólicos e mostra elevada atividade antioxidante (YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2005) que pode auxiliar na capacidade de proteção dos revestimentos para a conservação de frutos, além de agregar valor nutricional, com benefícios ao consumidor. Suas propriedades farmacológicas incluem atividade antialérgica (WHITE et al., 2013) e anti-inflamatória (TATSUNO et al., 2012), tornando promissor seu uso como agente antioxidante em matrizes poliméricas.

Dentre os polímeros utilizados como revestimentos comestíveis estão o amido (MACHADO et al., 2012; SOUZA et al., 2009), a pectina (SCALON; OSHIRO; DRESCH, 2012) e a carboximetilcelulose (ARNON et al., 2015; GOL; PATEL; RAO, 2013). Embora esses materiais possuam a vantagem de serem biodegradáveis, suas propriedades mecânicas são consideradas inadequadas, pois possuem caráter hidrofílico acarretando alta permeabilidade ao vapor de água (DHALL, 2013). No entanto, essas propriedades podem ser melhoradas com a incorporação de nanomateriais.

A lima ácida Tahiti é uma fruta cítrica consumida mundialmente, e é muito apreciada devido ao seu caráter sensorial ácido e alto valor nutricional. Entretanto, trata-se de uma fruta que sofre rápida degradação pós-colheita, como perda de massa fresca, enrugamento e perda de brilho da casca e desverdecimento, necessitando passar por métodos de conservação. Embora os revestimentos poliméricos possam reduzir a perda de massa fresca e o enrugamento da casca de frutos, além de agregar brilho (ARNON et al., 2015; SERRANO et al., 2015), suas limitações mecânicas e de barreira precisam ser melhoradas. Nanopartículas têm sido incorporadas a biopolímeros para formar nanocompósitos de revestimentos comestíveis, tendo como objetivo melhorar as propriedades de barreira desses nanocompósitos quando aplicados na superfície de frutos. Nanomateriais, como nanocristais de celulose têm sido utilizados com esse intuito (FLAUZINO NETO et al., 2013).

Costa et al. (2014) em estudo com revestimentos de amido, reforçados com nanocristais de celulose e acrescidos de extrato alcoólico de própolis vermelha, verificaram que os nanocristais aumentaram a resistência mecânica dos revestimentos e reduziram a sua permeabilidade a água. Além da possibilidade de melhorar as propriedades das matrizes, há uma tendência dos nanocristais em reforçar os revestimentos mecanicamente com a manutenção da biodegradabilidade (COSTA et al., 2014; MACHADO et al., 2012). Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar as respostas fisiológicas e a qualidade pós-colheita da lima ácida Tahiti revestida com nanocompósitos ativos baseados em nanocristais de celulose e extrato de película de amendoim.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras de frutos e material de revestimento

As amostras de limas ácidas Tahiti foram obtidas em pomar comercial, localizado na cidade de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. Na colheita foram selecionados frutos de cor verde, tamanho homogêneo, sem defeitos e sadios. Os frutos foram lavados com água e sanitizados por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,2 mL L^{-1}, em temperatura ambiente por um minuto, e secos ao ar. Carboximetilcelulose de sódio P.A. (PM 219.000, viscosidade 2240 cps, Synth, Diadema - SP, Brasil), pectina cítrica (esterificação 72%, CP Kelko, Limeira - SP, Brasil), e amido de mandioca (pureza 99%, Fecularia Horizonte, Marechal Cândido Rondon - PR, Brasil) foram utilizados para a formação dos revestimentos.

2.2 Extratos vegetais

Amostras de película de amendoim, casca de lima ácida Tahiti e semente de limão cravo foram utilizadas para a obtenção dos extratos. 5 g de cada material vegetal foram moídos em nitrogênio líquido e colocadas em 50 mL de solvente etanol 80% (v/v). O extrato foi ultrasonificado por 5 minutos, depois centrifugado e filtrado. O filtrado foi evaporado a vácuo a 40 °C. Depois o extrato seco foi diluído em n-butanol, ultrasonificado por 5 minutos e particionado com água. A fração aquosa foi recolhida e descartada. A fração butílica foi evaporada, obtendo o extrato seco purificado (ESP). O ESP foi mantido a -18 ºC.

2.3 Formação de nanocristais de celulose (NC)

De acordo com Flauzino Neto et al. (2013), os NC foram extraídos de polpa celulósica Kraft de eucalipto (Companhia Conpacel, Limeira - SP, Brasil) por hidrólise ácida com ácido sulfúrico a 60% (m/m). A hidrolise foi realizada a 45 ºC durante 50 minutos, sob agitação constante. Para cada grama de polpa Kraft foi utilizado 20 mL de ácido sulfúrico. Imediatamente após a hidrolise, a suspensão foi diluída 10 vezes em água fria, e centrifugada duas vezes durante 8 minutos a 10.000 rpm. O precipitado foi então dialisado com água até o pH neutro ser alcançado. A

suspensão resultante do processo de diálise (14,4 mg mL^{-1}) foi ultrasonificada durante 15 minutos, e armazenada a 4 °C com a adição de algumas gotas de clorofórmio para evitar qualquer crescimento bacteriano.

Os NC tinham as seguintes características: índice de cristalinidade = 89,1%, comprimento e diâmetro = 204 ± 50 nm, 4,44 ± 1,10 nm, respectivamente, e razão de aspecto = 47 ± 14, conforme determinado previamente. O índice de cristalinidade (APÊNDICE C) foi determinado pelo método de Segal et al. (1959) por meio de difratogramas de raio-X (Shimadzu LabX XRD-6000). As medições de comprimento, diâmetro e razão de aspecto foram realizadas por microscopia de força atômica - AFM (Shimadzu SPM-9600), selecionando trinta e cinco nanocristais para as medições (APÊNDICE A). Ainda, imagens antes e após a hidrólise ácida foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura, mostrando que a hidrólise foi eficiente (APÊNDICE B).

2.4 Preparação dos polímeros e revestimentos de nanocompósitos ativos

Revestimentos comestíveis de carboximetilcelulose (CMC), pectina (PEC) e amido (AM) foram preparados, dissolvendo-se os polímeros em água destilada nas concentrações de 0,75%, 1,5% e 1,5% (respectivamente), sob agitação constante. A CMC foi dissolvida em temperatura ambiente (25 ºC) por 2 horas e a pectina à 65 ºC por 40 minutos. O amido foi dissolvido à 70 ºC até a sua gelatinização. Em cada revestimento foi adicionado 1% (m/v) de glicerol (Tec-Lab, Indaiatuba - SP, Brasil) como plastificante. As concentrações dos polímeros foram definidas através de testes preliminares, baseado nos melhores resultados de perda de massa de frutos.

A suspensão de NC (8% v/v) foi misturada com as soluções das misturas dos polímeros de CMC, PEC e AM para formar as soluções de revestimentos de nanocompósito. Os revestimentos ativos de nanocompósitos foram formados pela adição de extrato vegetal (EX) seco purificado diluído em água na concentração de 0,1 g mL^{-1}. Adicionalmente foram agitadas com um agitador magnético durante 30 min para obtenção de uma emulsão por dispersão completa dos polímeros, glicerol, NC e EX.

2.5 Aplicação dos revestimentos e plano experimental

As limas ácidas foram tratadas com revestimentos poliméricos de acordo com as seguintes formulações:

1. PEC + AM (50: 50, v/v)
2. PEC + CMC (50: 50, v/v)
3. PEC + AM + EX (45: 45: 10, v/v/v)
4. PEC + CMC + EX (45: 45: 10, v/v/v)
5. PEC + AM + EX + NC (42,3: 42,3: 7,4: 8, v/v/v/v)
6. PEC + CMC + EX + NC (42,3: 42,3: 7,4: 8, v/v/v/v)
7. Controle não tratado

As concentrações e misturas dos polímeros foram definidas através de testes preliminares, baseado nos melhores resultados de absorção de água dos revestimentos. Para isso, soluções filmogênicas de diferentes concentrações foram preparadas. Essas amostras foram depositadas em Placa de Petri (diâmetro de 10 cm) e em seguida submetidas à secagem em estufa com circulação de ar à temperatura de 35 °C ± 2 ºC por 48 horas. Depois foram armazenadas em dois ambientes com umidades diferentes (75% UR e 95% UR) à 20 °C ± 2 ºC. As amostras foram pesadas a cada 2 dias até massa constante (dados não apresentados).

Os revestimentos foram aplicados nos frutos por imersão nas soluções filmogênicas por 1 min, e depois foram secos em condições de bancada (aproximadamente 25 °C) por 3 horas. Depois, os frutos foram acondicionados em bandejas de poliestireno expandido contendo um fruto cada, caracterizando a unidade experimental, e então foram armazenados em câmara a 23 °C ± 2 °C e 75% de UR por 9 dias. As avaliações ocorreram após a aplicação dos tratamentos, nos intervalos de tempo 0, 3, 7 e 9 dias. Um grupo controle de frutos não tratados foram armazenados sob as mesmas condições.

2.6 Atividade antioxidante e compostos fenólicos totais dos extratos

A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP. O método DPPH mede a capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2-

difenil-1-picrilhidrazil), e foi determinado conforme De Ancos et al. (2002). Em 3 mL de etanol foram adicionados 0,5 mL de amostra e 0,3 mL da solução de DPPH (0,5 mmol L^{-1}) e deixado em repouso por 60 minutos no escuro. Após, a absorbância foi lida em espectroscopia (Shimadzu, UV-1800, Japão) a 517 nm. Os resultados foram expressos em mg g^{-1} de extrato seco, em equivalente Trolox (ET), por meio da curva de calibração para Trolox nas concentrações de 0,035, 0,03, 0,025, 0,02, 0,015, 0,01 e 0,005 mg (APÊNDICE D).

O método ABTS estima a capacidade da amostra em sequestrar o radical ABTS [2,2'azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)], e foi realizado conforme (RUFINO et al., 2007). Em 30 uL de amostra foi adicionado 3 mL do reagente ABTS (5 mL da solução estoque ABTS 7 mM acrescidos 88 µL da solução persulfato de potássio 140 mM, mantida por 16 horas no escuro e diluída em etanol até absorbância de 0,700±0,05 nm a 734 nm). Após 6 minutos em ambiente escuro as leituras foram feitas a 734 nm. Os resultados foram expressos em mg g^{-1} extrato seco, em equivalente Trolox (ET), por meio da curva de calibração para Trolox nas concentrações de 0,375, 0,325, 0,250, 0,175, 0,125, 0,075 e 0,025 mg (APÊNDICE E).

O método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) determina a redução dos íons ferro em uma amostra, e foi realizado conforme Rufino et al. (2006). Em 90 uL de amostra foram adicionados 270 uL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP (25 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM). Após 30 minutos em ambiente escuro e mantido à 37 ºC, as leituras foram feitas a 595 nm, utilizando o reagente FRAP como branco para calibração do espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em mg g^{-1} extrato seco, em equivalente sulfato ferroso (ESF), por meio da curva de calibração para sulfato ferroso nas concentrações 0,125, 0,250, 0,375 e 0,500 mg (APÊNDICE F).

Os compostos fenólicos totais foram determinados conforme Georgé et al. (2005). Uma alíquota de 0,5 mL de amostra foi adicionada a 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteau:água (1:9 v/v) e 2,0 mL da solução carbonato de sódio 7,5% (m/v). Após 15 minutos em ambiente escuro, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 760 nm. Os resultados foram expressos em mg g^{-1} extrato seco, em equivalente ácido gálico (EAG), por meio da curva de calibração para ácido gálico nas concentrações de 0,01 a 0,07 mg mL^{-1} (APÊNDICE G).

2.7 Atividade respiratória e produção de etileno das limas ácidas Tahiti

Para as determinações de respiração (mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}) e produção de etileno (µg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}), três frutos foram colocados em frascos herméticos de plástico com volume de 800 mL e septo de silicone na tampa para amostragem dos gases. Amostras de 2,0 mL para CO_2 e 2,5 mL para etileno foram coletadas com seringa *gasthight* da atmosfera interna dos frascos. Essas coletas ocorreram depois de uma hora do fechamento dos frascos para a determinação do CO_2, e depois de duas horas para a determinação do etileno. As amostras coletadas foram injetadas em cromatógrafo gasoso (Finnigan, 9001) equipado com coluna capilar e calibrado para as temperaturas da coluna, injetor (splitless), detector (ionização por chama) e metanador de 80, 150, 250 e 350 ºC, respectivamente. O nitrogênio foi utilizado como gás de arraste.

2.8 Qualidade físico-química das limas ácidas Tahiti

Os parâmetros físico-químicos realizados foram perda de massa, clorofila total, firmeza e ácido ascórbico. A perda de massa foi determinada por meio de pesagem em balança semi-analítica, considerando-se a massa inicial dos frutos e as massas de cada período de avaliação, e o resultado foi expresso em percentual %. Para clorofila total, amostras de 1 g das cascas das limas foram maceradas e colocadas em 20 mL de solução extratora de acetona 80% (v/v). Os extratos ficaram em repouso no escuro e refrigeração, e depois de 48 horas foram centrifugados. O sobrenadante foi lido em espectrofotômetro a 663 nm (clorofila a) e 645 nm (clorofila b), conforme descrito por ARNON (1949). Os teores de clorofila total (CT) foram expressos em mg g^{-1} conforme a seguinte equação:

CT: 8,0 x (absorbância a 663nm) + 20,2 x (absorbância a 645nm)

A firmeza dos frutos foi mensurada utilizando um texturômetro digital de bancada (Brookfield, CT3, USA). Os frutos inteiros foram colocados sobre superfície plana e sua firmeza foi medida na região equatorial. Uma haste de aço inoxidável com diâmetro de 8 mm foi utilizada. A velocidade do ensaio foi ajustada para 2 mm s^{-1}, com profundidade de deslocamento de 10 mm. Os resultados foram expressos em Newton (N). O teor de ácido ascórbico foi determinado por titulação com 2,6-

dicloro-fenol-indofenol (AOAC, 2005). Os resultados foram expressos em mg 100 mL^{-1} de suco.

2.9 Atividade antioxidante dos revestimentos adicionados de extrato de película de amendoim

A estabilidade da atividade antioxidante dos revestimentos ativos (adicionados com extrato de película de amendoim) foi determinada pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP (Item 2.5). Amostras de 50 g de cada revestimento, conforme os tratamentos com extrato de película de amendoim (Item 2.4), foram depositadas em Placa de Petri (diâmetro 10 cm) e em seguida foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar à temperatura de 35 °C ± 2 ºC por 48 horas, e depois armazenadas à temperatura ambiente. Para as análises, os revestimentos secos foram diluídos em etanol PA (12,0 mg mL^{-1}) por agitação constante em agitador magnético por 3 horas (adaptado MARTINS; CERQUEIRA; VICENTE, 2012). A primeira amostragem ocorreu logo após a secagem dos revestimentos e outra amostragem 9 dias depois.

2.10 Análise estatística

Com base no delineamento inteiramente casualizado, os dados foram submetidos à análise de variância. Para as variáveis cujos valores F foram significativos foi aplicado o teste de Tukey para comparar as médias. O nível de 95% de confiabilidade foi utilizado. Nove repetições foram utilizadas para as análises dos extratos, quatro repetições para as análises antioxidantes dos revestimentos ativos e três repetições para as análises restantes. Foi utilizado o pacote estatístico SAEG (UFV, Viçosa - MG).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Perfil antioxidante dos extratos vegetais

Extratos de película de amendoim, casca de lima ácida Tahiti e semente de limão cravo foram avaliados quanto ao conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP. Isto foi feito com o intuito de se escolher o material com o melhor perfil antioxidante para ser utilizado na formação e teste dos revestimentos ativos. Os resultados de atividade antioxidante dos extratos são mostrados na Tabela 1.

O extrato etanólico de película de amendoim mostrou atividade antioxidante significativamente superior (p<0,05) em todos os métodos testados, seguido pelo extrato de casca de lima ácida Tahiti. O status antioxidante de amostras vegetais depende muito de fatores, como suas propriedades coloidais, condições e etapas de oxidação, forma e estabilidade dos radicais reativos, assim como a localização dos antioxidantes na célula vegetal (ROCKENBACH et al., 2008).

Em estudo da composição fenólica de resíduos agroindustriais, Melo et al. (2011) encontraram valores de 3,41 mg AG g^{-1} em bagaço de goiaba, valor inferior ao observado para o extrato do resíduo de película de amendoim (4,94 mg AG g^{-1}).

Tabela 1 - Atividade antioxidante pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP e compostos fenólicos totais dos extratos de película de amendoim, casca de lima ácida Tahiti e semente de limão Cravo.

Extratos	DPPH mg ET g^{-1} (e.s.)	ABTS mg ET g^{-1} (e.s.)	FRAP mg ESF g^{-1} (e.s.)	Fenólicos totais mg AG g^{-1} (e.s.)
Película de amendoim	8,29±0,01 a	3,81±0,01 a	122,05±0,05 a	4,94±0,01 a
Casca de lima ácida Tahiti	1,21±0,01 b	1,36±0,01 b	14,78±0,05 b	0,57±0,03 b
Semente de limão Cravo	0,84±0,02 c	0,62±0,02 c	6,34±0,02 c	0,15±0,02 c
CV (%)	7,27	15,31	10,44	15,24

Médias seguidas pela mesma letra em minúsculo na coluna não diferem a p<0,05 pelo teste de Tukey. Médias ± desvio padrão (n=9). ET: equivalente Trolox; ES: extrato seco; ESF: equivalente sulfato ferroso; AG: equivalente ácido gálico; e.s.: extrato seco

3.2 Atividade respiratória e produção de etileno das limas ácidas revestidas

Para avaliar a resposta fisiológica das limas ácidas Tahiti revestidas com nanocompósitos ativos foram mensuradas sua produção de etileno (μg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}) e respiração (mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}), cujos resultados são mostrados na Figura 1. Todos os revestimentos ativos, com ou sem reforço com NC (PEC+AM+EX, PEC+CMC+EX, PEC+AM+EX+NC e PEC+CMC+EX+NC), não influenciaram aumentos significativos na produção de etileno até o terceiro dia de armazenamento, que foi um comportamento similar aos frutos do controle. Entretanto, frutos revestidos com os compósitos PEC+AM e PEC+CMC exibiram aumentos significativos de etileno no mesmo período. Isso sugere que a aplicação dos revestimentos de compósitos dos polímeros puros PEC+AM e PEC+CMC foram responsáveis por causar algum tipo de estresse nos frutos, mas que quando adicionados com extrato de película de amendoim ou reforçados com NC, foram capazes de inibir parcialmente a difusão do etileno (Figura 1a). Esta redução do etileno também pode estar associada à diminuição da difusão do O_2 pelo mesmo efeito, com consequente aumento nas concentrações de CO_2 intercelular. O metabolismo do etileno pode ser tanto influenciado por altas pressões de CO_2, como baixas pressões de O_2, que são capazes de reduzir a síntese de etileno pela inibição da ACC oxidase (ALEXANDER; GRIERSON, 2002), uma vez que o etileno é um metabólito secundário e está relacionado ao metabolismo aeróbico do tecido vegetal (SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2003).

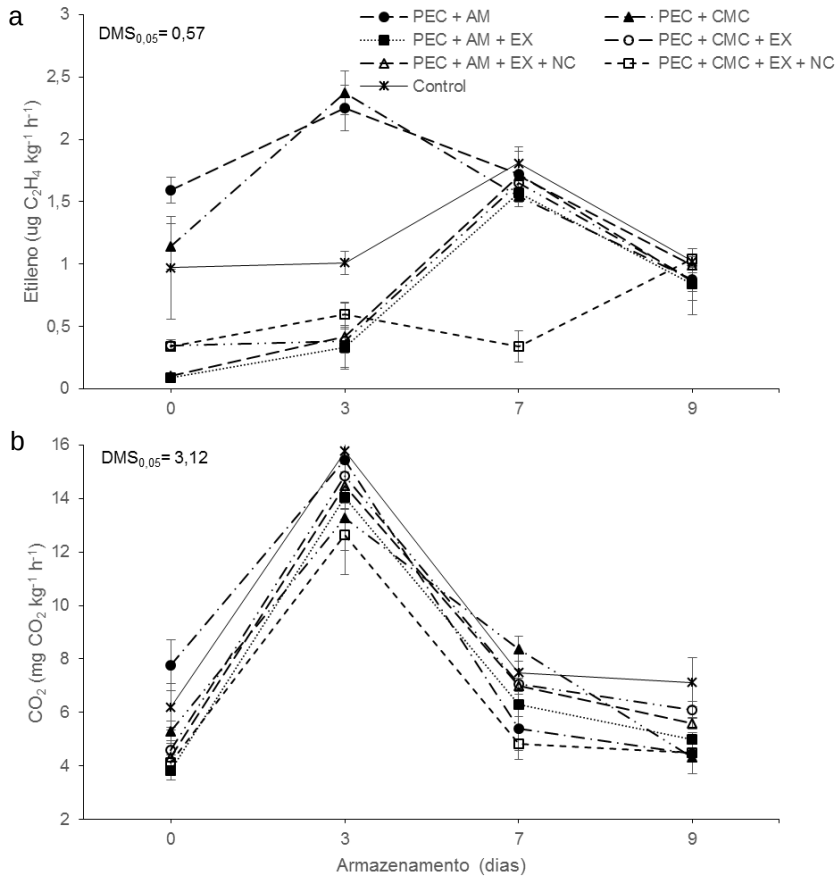


Figura 1 - Produção de etileno (a) e respiração (b) das limas ácidas Tahiti revestidas com nanocompósitos ativos de pectina e amido (PEC+AM+EX+NC) e pectina e carboximetilcelulose (PEC+CMC+EX+NC), compósitos ativos de PEC+AM+EX e PEC+CMC+EX ou misturas puras de PEC+AM e PEC+CMC. Controle: frutos não revestidos. As barras indicam o desvio padrão (n= 3).

Resultados similares para o etileno foram encontrados por Salvia-Trujillo et al. (2015) em estudo com maçãs minimamente processadas e revestidas com alginato de sódio e óleo essencial de capim limão, onde observaram que o nanocompósito ativo inibiu a produção de etileno durante os 14 dias de armazenamento.

Foi observado no 7º dia de armazenamento que a produção de etileno dos frutos revestidos com PEC+CMC+EX+NC (0,34 µg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}) foi significativamente menor quando comparadas aos frutos com PEC+CMC+EX (1,65 µg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}) e aos do controle (1,81 µg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}), sugerindo que o reforço com NC parece ter proporcionado uma barreira parcial à difusão do etileno quando combinado com PEC+CMC, e que isso não foi influenciado pela adição do extrato de película de amendoim. Após o 7° dia, todos os revestimentos e o controle reduziram sua produção de etileno, não mostrando diferenças significativas entre os mesmos.

Com relação à respiração dos frutos, foi encontrado que todos os tratamentos e o controle aumentaram a produção de CO_2 até o 3º dia de armazenamento (Figura 1b). Os estresses físicos após a colheita dos frutos têm uma relação direta com a elevação das taxas respiratórias (BASSAN et al., 2013; KADER, 2002), sugerindo que as etapas como transporte ou manipulação pré-armazenamento podem ter interferido nesse aumento.

No tempo inicial, os frutos revestidos com compósitos ativos PEC+AM+EX e PEC+CMC+EX e nanocompósitos ativos PEC+AM+EX+NC e PEC+CMC+EX+NC apresentaram menores taxas respiratórias que o controle, porém não apresentaram diferenças significativas ($p<0,05$). Sanchez-Gonzalez et al. (2011) também verificaram menores taxas respiratórias em uvas revestidas com hidroxipropilmetilcelulose ou quitosana com óleo essencial de bergamota, relatando que as fortes interações dos polímeros com o óleo essencial poderiam estar modificando as propriedades de barreira à gases.

No 3º e 7º dias de armazenamento o revestimento PEC+CMC+EX+NC apresentou as menores taxas de respiração (12,65 e 4,83 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}, respectivamente), quando comparado com PEC+CMC+EX (14,84 e 7,07 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}, respectivamente) e o controle (15,78 e 7,49 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}, respectivamente). Isso mostra que os nanocristais de celulose auxiliaram em um filme com melhor capacidade de barreira à gases.

Após o terceiro dia de armazenamento as taxas respiratórias dos frutos tratados e do controle diminuíram até o final do armazenamento. Essas diminuições provavelmente se devem a redução do estresse fisiológico ambiental nos frutos, sem relação com os tratamentos aplicados, respondendo fisiologicamente com seus baixos níveis naturais de respiração (JOMORI et al., 2003).

3.3 Qualidade físico-química

No 3º dia de armazenamento a perda de massa fresca dos frutos não foi influenciada pelos tratamentos, cujos resultados foram similares ao controle (Figura 2a). Aos 7º e 9º dias as perdas de massa fresca dos frutos revestidos com PEC+CMC+EX+NC (5,93% e 6,98%, respectivamente) foram significativamente menores do que os frutos do controle (8,26% e 9,52%, respectivamente), mas não mostraram diferença significativa quando comparado aos frutos revestidos com

PEC+CMC+EX (7,31% e 8,39%, respectivamente nos mesmos períodos). Isso sugere que o reforço com NC pode ter melhorado a propriedade de barreira ao vapor de água do revestimento ativo. Resultados semelhantes de frutos tratados com revestimentos reforçados com nanocristais de celulose também foram encontrados por Azeredo et al. (2012) e Shi et al. (2013). Não ocorreram diferenças significativas entre as misturas dos polímeros puros (PEC+AM e PEC+CMC) e os compósitos ativos (PEC+AM+EX e PEC+CMC+EX), durante os períodos testados.

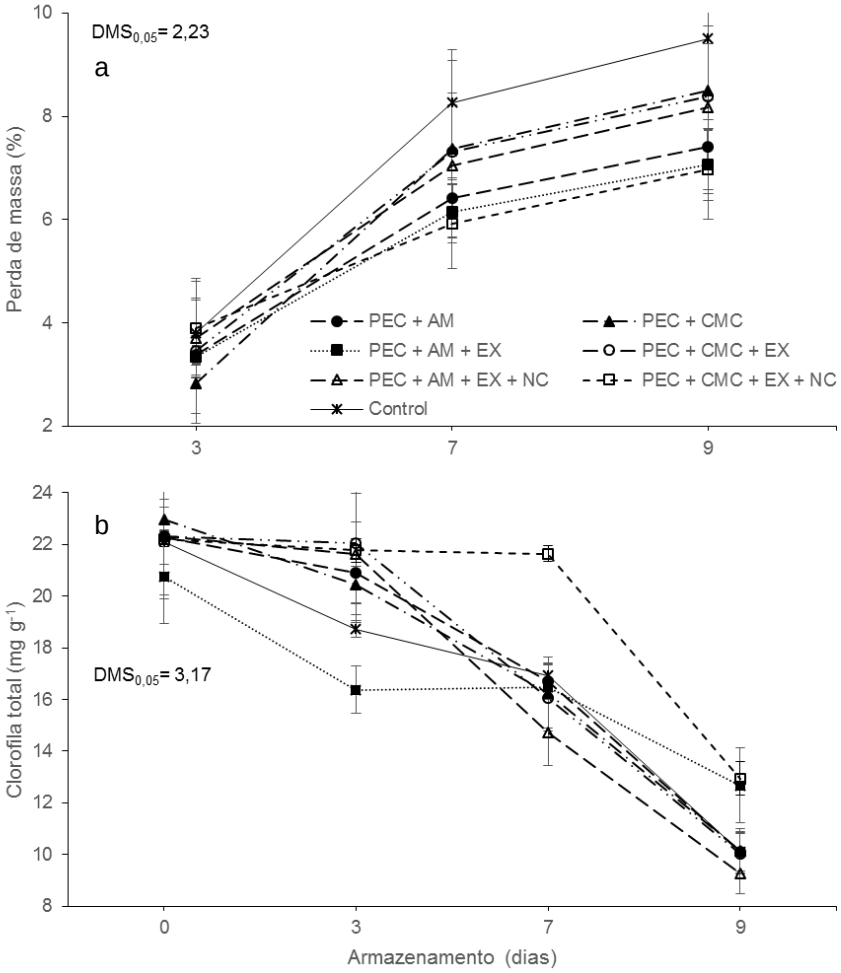


Figura 2 – Perda de massa (a) e clorofila total (b) das limas ácidas Tahiti revestidas com nanocompósitos ativos de pectina e amido (PEC+AM+EX+NC) e pectina e carboximetilcelulose (PEC+CMC+EX+NC), compósitos ativos de PEC+AM+EX e PEC+CMC+EX ou misturas puras de PEC+AM e PEC+CMC. Controle: frutos não revestidos. As barras indicam o desvio padrão (n= 3).

Costa et al. (2014) mostraram que revestimentos de amido de mandioca, glicerol, nanocristais de celulose e própolis vermelha reduziram a permeabilidade ao vapor de água. Os nanocristais agem como barreira, diminuindo os espaços livres na matriz polimérica, dificultando a passagem de vapor. Os compostos ativos dos

extratos podem ser capazes de estabelecer interações com a matriz polimérica, e ligações de hidrogênio e/ou covalentes com os grupos reativos da matriz. Assim, ao elevar as interações intermoleculares com a cadeia polimérica, diminui-se a taxa de permeação de água (SIRIPATRAWAN; HARTE, 2010). Zeng et al. (2013) observaram que laranjas revestidas com carboximetilcelulose e extrato de *Impatiens balsamina* reduziram a perda de massa dos frutos quando comparadas ao controle. A perda de massa fresca é decorrente da perda de água por transpiração e pelos processos de respiração celular (HERNÁNDEZ-MUÑOZ et al., 2008), influenciando a qualidade da lima ácida Tahiti.

No 3º período de armazenamento, os frutos revestidos com PEC+CMC+EX, PEC+CMC+EX+NC e PEC+AM+EX+NC mostraram conteúdos de clorofila total (22,06, 21,77 e 21,77 mg g^{-1}) significativamente maiores do que o controle (18,72 mg g^{-1}) (Figura 2b). Entretanto, apenas os frutos revestidos com PEC+CMC+EX+NC mostraram retenção significativa de clorofila total, cujo conteúdo no 7º dia foi de 21,65 mg g^{-1}, enquanto para o controle foi de 16,92 mg g^{-1}. Adicionalmente, ressalta-se que os frutos revestidos com PEC+CMC+EX+NC apresentaram a menor taxa de produção de etileno e CO_2 (Figura 1) e essa associação de resultados evidencia que a formação de um nanocompósito ativo de pectina e carboximetilcelulose, acrescida de extrato vegetal e reforçada com nanocristais de celulose, resultou em um revestimento com melhor barreira para inibir o metabolismo fisiológico relacionado a degradação de clorofila. A manutenção da coloração verde da casca da lima ácida Tahiti é um importante parâmetro para aceitabilidade do mercado consumidor, sendo importante sua avaliação quando um revestimento é aplicado ao fruto.

Os resultados da firmeza (N) e ácido ascórbico (mg 100 mL^{-1}) das limas Tahiti revestidas e não revestidas são mostrados na Figura 3. A perda de firmeza em frutos cítricos é um processo normal que ocorre devido após a colheita devido a processo físicos de evaporação de água na superfície do fruto, que é influenciado diretamente pelo metabolismo respiratório. Diminuições progressivas da firmeza das limas ácidas foram verificadas durante o armazenamento (Figura 3a), entretanto, no 7º dia todos os tratamentos mostraram frutos mais firmes do que o controle, enquanto no 9º dia a firmeza dos frutos tratados com PEC+CMC+EX+NC (16,43 N) foi significativamente superior ao controle (11,66 N), seguido do tratamento PEC+AM+EX+NC (15,13 N), mostrando que eles foram eficientes na retenção da firmeza. Outros autores também

verificaram em cítricos que o uso de revestimentos auxiliou na retenção de firmeza (ARNON et al., 2015; CHIEN; SHEU; LIN, 2007).

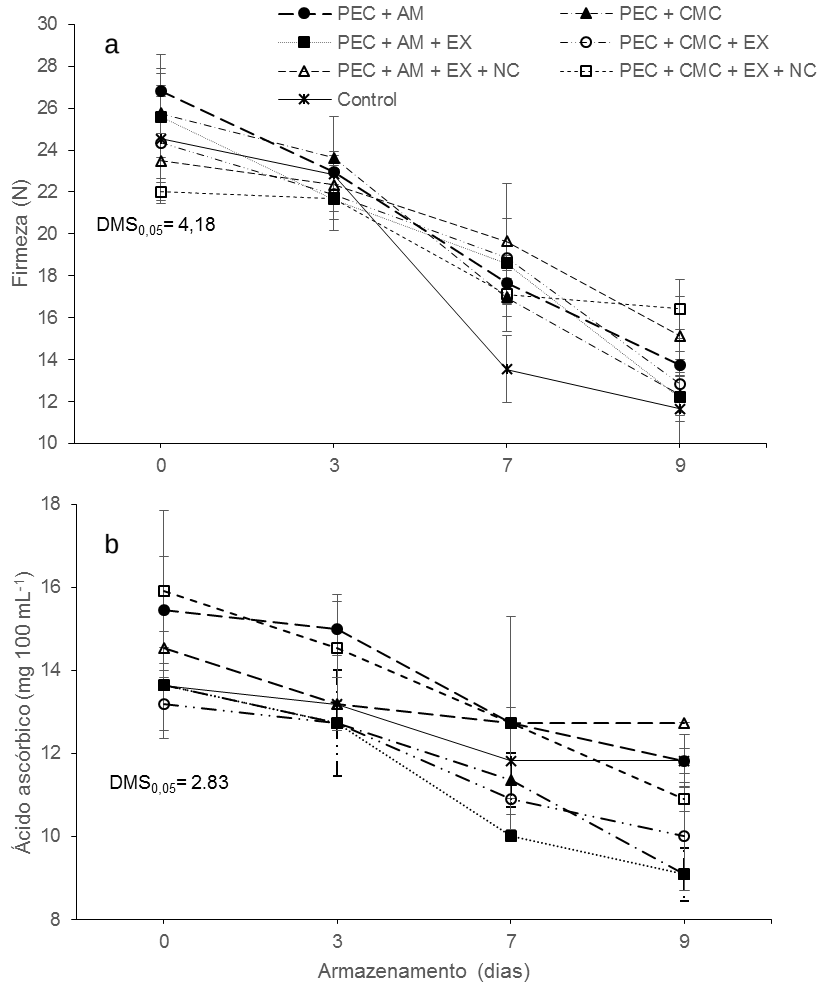


Figura 3 - Firmeza (a) e ácido ascórbico (b) das limas ácidas Tahiti revestidas com nanocompósitos ativos de pectina e amido (PEC+AM+EX+NC) e pectina e carboximetilcelulose (PEC+CMC+EX+NC), compósitos ativos de PEC+AM+EX e PEC+CMC+EX ou misturas puras de PEC+AM e PEC+CMC. Controle: frutos não revestidos. As barras indicam o desvio padrão (n= 3).

Os resultados evidenciam uma associação entre a retenção de firmeza dos frutos revestidos com suas menores perdas de massa fresca (Figura 2a) e menores taxas respiratórias (Figura 1b). Essa associação sugere uma relação direta com a capacidade do revestimento em controlar a perda de massa fresca (FAGUNDES et al., 2015) e inibir o metabolismo respiratório relacionado à expressão da atividade de enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase, que ocasionam o amolecimento de frutos (RESENDE et al., 2004). Esses resultados mostram que quando as propriedades de barreira do revestimento são melhoradas há um efeito positivo sobre a manutenção da firmeza dos frutos. A presença de nanocristais na matriz do

revestimento é responsável por reduzir a permeabilidade a gases e ao vapor de água (MACHADO et al., 2012), o que pode explicar os melhores resultados nos revestimentos acrescidos de nanocristais.

Os níveis de ácido ascórbico diminuíram gradualmente até o final do armazenamento (Figura 3b). Entretanto, as limas ácidas Tahiti revestidas e não revestidas apresentaram diferenças significativas (p<0,05) com relação aos teores de ácido ascórbico somente no 9º dia de armazenamento. Neste período, apenas os frutos revestidos com PEC+AM+EX+NC apresentaram teor de ácido ascórbico (12,73 mg 100 mL^{-1}) superior ao controle (11,82 mg 100 mL^{-1}), mas essas diferenças não foram significativas. Um possível efeito de barreira ao O_2 desse revestimento pode diminuir a taxa de oxidação do ácido ascórbico. Devido ao aumento do metabolismo oxidativo, espécies reativas de oxigênio podem impor danos biológicos as membranas. Para combater esses danos os vegetais ativam seus sistemas antioxidantes, que incluem o ciclo do ácido ascórbico (ascorbato) que atua junto a enzimas, como o ascorbato peroxidase do sistema enzimático antioxidante, para neutralizar espécies reativas de oxigênio (ZANDI et al., 2013). Zeng et al. (2013) observaram em laranjas revestidas com carboximetilcelulose e extrato vegetal, que os teores de ácido ascórbico foram maiores nos frutos revestidos, quando comparado aos frutos não revestidos.

Foram calculadas as variações (%) que ocorreram no conteúdo de ácido ascórbico entre o período inicial e final do armazenamento. O tratamento AM+PEC+EX+NC foi responsável por reter 87,55% de ácido ascórbico até os 9 dias de armazenamento, seguido pelo controle (86,66%). Foi observado ainda que o compósito ativo PEC+CMC+EX reteve maior percentual de ácido ascórbico (75,87%) que sua mistura pura de PEC+CMC (66,64%).

3.4 Análise antioxidante dos revestimentos

No tempo inicial (0 dias) os revestimentos se diferenciaram estatisticamente (p<0,05) nas três metodologias testadas (Tabela 2). Foi observado neste período que o filme PEC+CMC+EX apresentou os maiores valores de atividade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, mostrando médias de 2,88 mg Trolox g^{-1}, 3,44 mg Trolox g^{-1} e 29,74 mg sulfato ferroso g^{-1}, respectivamente.

Tabela 2- Atividade antioxidante dos revestimentos acrescidos de extrato de película de amendoim e nanocristais de celulose pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP.

	DPPH mg Trolox g^{-1}		ABTS mg Trolox g^{-1}		FRAP mg sulfato ferroso g^{-1}	
Revestimentos/Tempo	0 dias	9 dias	0 dias	9 dias	0 dias	9 dias
PEC+AM+EX	2,19±0,13 bA	1,59±0,12 bcB	3,01±0,07 bA	2,76±0,09 abB	16,19±0,54 cA	3,44±0,61 cB
PEC+AM+EX+NC	2,24±0,05 bA	2,07±0,07 aB	3,22±0,29 abA	2,83±0,06 aB	24,71±0,15 bA	11,15±0,24 aB
PEC+CMC+EX	2,88±0,10 aA	1,49±0,01 cB	3,44±0,18 aA	2,76±0,09 abB	29,74±0,19 aA	5,11±0,19 bB
PEC+CMC+EX+NC	2,21±0,17 bA	1,71±0,07 bB	3,17±0,16 abA	2,96±0,03 aB	24,30±0,32 bA	13,30±0,21 aB
CV (%)	5,01		4,75		14,15	

Médias seguidas pela mesma letra em minúsculo na coluna e maiúsculo na linha não diferem a $p<0,05$ pelo teste de Tukey. Médias ± desvio padrão (n=4).

Após 9 dias, os revestimentos de PEC+AM+EX+NC e PEC+CMC+EX+NC foram responsáveis por manter as maiores médias ($p<0,05$) de atividade antioxidante. Neste estudo foi observado que os revestimentos acrescidos de nanocristais auxiliaram na estabilidade dos revestimentos com propriedades antioxidantes, o que sugere a existência de fortes interações entre os constituintes destes.

Machado et al. (2012) monitoraram a estabilidade de nanocompósitos de amido, a base de nanocristais de celulose e extrato de erva-mate e também observaram redução da atividade antioxidante em função do tempo (0 a 40 dias), medida em total de compostos fenólicos. Os autores atribuíram esse efeito às fortes interações de hidrogênio entre os nanocristais, que possuem elevada cristalinidade, com a matriz polimérica, formando uma barreira eficiente e reduzindo os espaços livres da matriz, o que dificulta a saída de vapores.

Ainda, foram calculadas as retenções da atividade antioxidante dos revestimentos após os 9 dias (Tabela 3). Para o método DPPH o filme PEC+AM+EX+NC apresentou a maior retenção (92,41%). Para ABTS e FRAP o filme PEC+CMC+EX+NC mostrou as maiores retenções (93,38% e 54,73%).

Tabela 3 - Retenção (%) da atividade antioxidante dos revestimentos após 9 dias.

Revestimentos	DPPH	ABTS	FRAP
PEC+AM+EX	72,60	91,69	21,25
PEC+AM+EX+NC	92,41	87,89	45,12
PEC+CMC+EX	51,74	80,23	17,18
PEC+CMC+EX+NC	77,38	93,38	54,73

4 CONCLUSÕES

O revestimento PEC+CMC+EX, quando reforçado com NC, influenciou os menores níveis de produção de etileno e CO_2, e a maior retenção de massa fresca, clorofila e firmeza das limas ácidas Tahiti, mas a adição do extrato de película de amendoim não influenciou esses resultados. Todos os revestimentos testados retardaram as perdas de massa fresca e de firmeza dos frutos. O conteúdo de ácido ascórbico não foi influenciado pelos tratamentos testados. O reforço com nanocristais de celulose foi capaz de reter atividade antioxidante dos revestimentos adicionados de extrato de película de amendoim.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 377, p. 2039–2055, 2002.

AOAC. **Official methods of analysis**, 18 ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 2005.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta Vulgaris. **Plant physiology**, v. 24, n. 1, p. 1–15, 1949.

ARNON, H. et al. Development of polysaccharides-based edible coatings for citrus fruits: A layer-by-layer approach. **Food Chemistry**, v. 166, n. 1, p. 465–472, 2015.

AZEREDO, H. M. C. et al. Nanoreinforced alginate-acerola puree coatings on acerola fruits. **Journal of Food Engineering**, v. 113, n. 4, p. 505–510, 2012.

BASSAN, M. M. et al. The harvesting system affects the quality and conservation of the “Tahiti” acid lime. **Scientia Horticulturae**, v. 155, n. 1, p. 72–77, 2013.

CHIEN, P. J.; SHEU, F.; LIN, H. R. Coating citrus (Murcott tangor) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1160–1164, 2007.

COSTA, S. S. et al. Bi-Functional Biobased Packing of the Cassava Starch, Glycerol, Licuri Nanocellulose and Red Propolis. **PLOS ONE**, v. 9, n. 11, p. 1-10, 2014.

DE ANCOS, B. et al. Possible nutritional and health-related value promotion in orange juice preserved by high-pressure treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, n. 8, p. 790–796, 2002.

DHALL, R. K. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. **Critical Reviews in Food Science Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 435-450, 2013.

FAGUNDES, C. et al. Hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible coatings formulated with antifungal food additives to reduce alternaria black spot and maintain postharvest quality of cold-stored cherry tomatoes. **Scientia Horticulturae**, v. 193, n. 3, p. 249–257, 2015.

FLAUZINO NETO, W. P. et al. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue – Soy hulls. **Industrial Crops and Products**, v. 42, n. 1, p. 480–488, 2013.

GEORGÉ, S. et al. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1370–1373, 2005.

GOL, N. B.; PATEL, P. R.; RAO, T. V. R. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. **Postharvest Biology and Technology**, v. 85, n. 1, p. 185–195, 2013.

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

JOMORI, M. L. L. et al. Conservação refrigerada de lima ácida “Tahiti”: uso de 1-metilciclopropeno, ácido giberélico e cera. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 406–409, 2003.

MACHADO, B. A. S. et al. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v. 42, n. 11, p. 2985–2091, 2012.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A. Influence of α-tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 220–227, 2012.

MELO, P. S. et al. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6., p. 1088-1093, 2011.

RESENDE, J. M. et al. Atividade de enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase durante o amadurecimento de tomates do grupo multilocular. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 206–212, 2004.

ROCKENBACH, I. I. et al. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238–244, 2008.

631 RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade
632 Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. **Comunicado**
633 **Técnico on line**, v. 128, p. 1–4, 2007.

634 SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1. Viçosa: UFV, Fundação
635 Arthur Bernardes, 2007.

636 SALVIA-TRUJILLO, L. et al. Use of antimicrobial nanoemulsions as edible coatings:
637 impact on safety and quality attributes of fresh-cut Fuji apples. **Postharvest Biology**
638 **and Technology**, v. 105, n. 1, p. 8–16, 2015.

639 SANCHEZ-GONZALEZ, L. et al. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan
640 coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored
641 grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, n. 1, p. 57–63, 2011.

642 SCALON, S. DE P. Q.; OSHIRO, A. M.; DRESCH, D. M. Conservação pós-Colheita
643 de Guavira (Campomanesia adamantium Camb.) sob diferentes revestimentos e
644 temperaturas de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4,
645 p. 1022–1029, 2012.

646 SEGAL, L. et al. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of
647 Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29,
648 n. 10, p. 786–794, 1959.

649 SERRANO, M. et al. **Advances in Postharvest Fruit and Vegetable Technology**.
650 1ed. Boca Raton: CRC Press, 2015, p. 147.

651 SHI, S. et al. Effect of chitosan/nano-silica coating on the physicochemical
652 characteristics of longan fruit under ambient temperature. **Journal of Food**
653 **Engineering**, v. 118, n. 1, p. 125–131, 2013.

654 SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B. R. Physical properties and antioxidant activity of an
655 active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**,
656 v. 24, n. 8, p. 770–775, 2010.

657 SOLIVA-FORTUNY, R. C.; MARTÍN-BELLOSO, O. New advances in extending the
658 shelf-life of fresh-cut fruits: A review. **Trends in Food Science and Technology**,
659 v. 14, n. 9, p. 341–353, 2003.

660 SOUZA, C. O. et al. Mango and acerola pulps as antioxidant additives in cassava
661 starch bio-based film. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 6,
662 p. 2248–2254, 2011.

663 SOUZA, P. A. DE et al. Conservação pós-colheita de berinjela com revestimentos de
664 fécula de mandioca ou filme de PVC. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 235–
665 239, 2009.

666 TATSUNO, T. et al. Anti-inflammatory and anti-melanogenic proanthocyanidin
667 oligomers from peanut skin. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 35, n. 6,
668 p. 909-916, 2012.

669 WHITE, B. L. et al. Comparative proteomic analysis and IgE binding properties of
670 peanut seed and testa (skin). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61,
671 p. 3957-3968, 2013.

672 YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. Effects of processing methods and extraction
673 solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. **Food**
674 **Chemistry**, v. 90, p. 199-206, 2005.

675 YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. Potential of peanut skin phenolic extract as
676 antioxidative and antibacterial agent in cooked and raw ground beef. **International**
677 **Journal of Food Science & Technology**, v. 25, n. 7, p. 1337-1344, 2010.

678 ZAHID, N. et al. Efficacy of ethanolic extract of propolis in maintaining postharvest
679 quality of dragon fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 79,
680 p. 69–72, 2013.

681 ZANDI, K. et al. Effect of nanocomposite-based packaging on postharvest quality of
682 strawberry during storage. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life**
683 **Sciences**, v. 2, n. 5, p. 28–36, 2013.

684 ZENG, R. et al. Impact of carboxymethyl cellulose coating enriched with extract of
685 Impatiens balsamina stems on preservation of “Newhall” navel orange. **Scientia**
686 **Horticulturae**, v. 160, p. 44–48, 2013.

5 CONCLUSÕES GERAIS

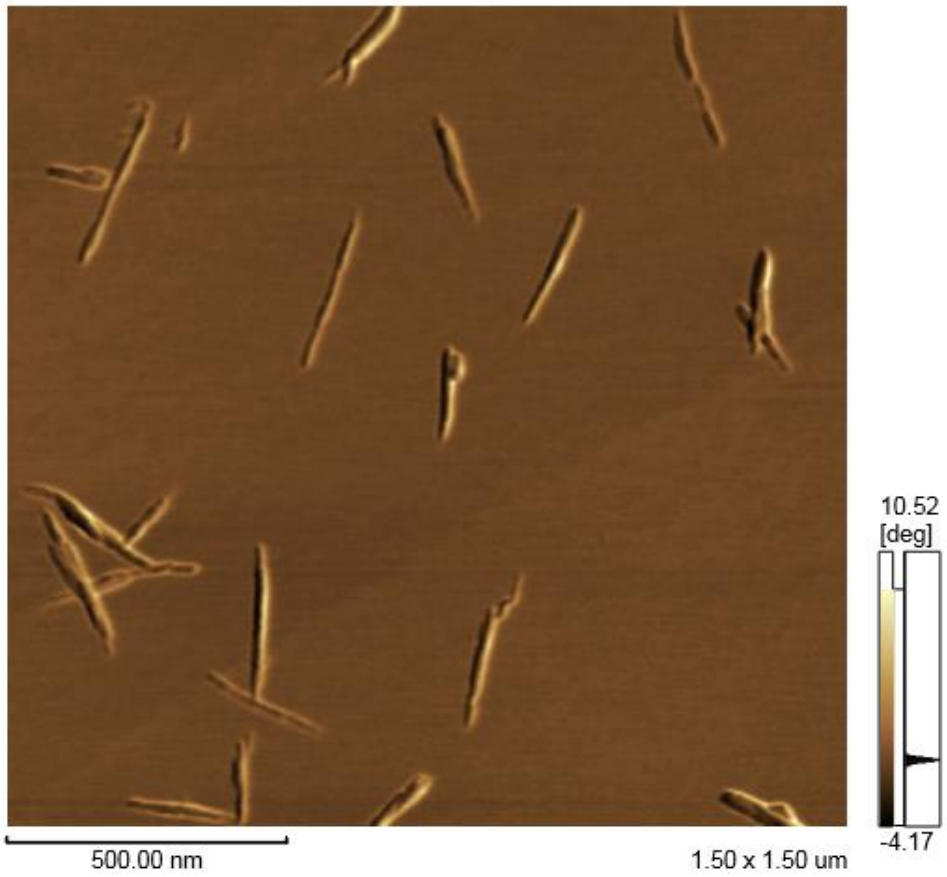
Os nanocompósitos e os nanocompósitos ativos foram efetivos em influenciar menores taxas de produção de etileno e CO_2 da lima ácida Tahiti. Porém, o nanocompósito de pectina e o nanocompósito ativo de pectina e carboximetilcelulose foram responsáveis por apresentar as menores taxas dessas produções.

Todos os revestimentos testados foram eficientes em reter menores perdas de massa e retardar a perda de firmeza dos frutos, mas o nanocompósito de pectina e o nanocompósito ativo de pectina e carboximetilcelulose foi capaz de influenciar as menores perdas de massa e reter maior firmeza.

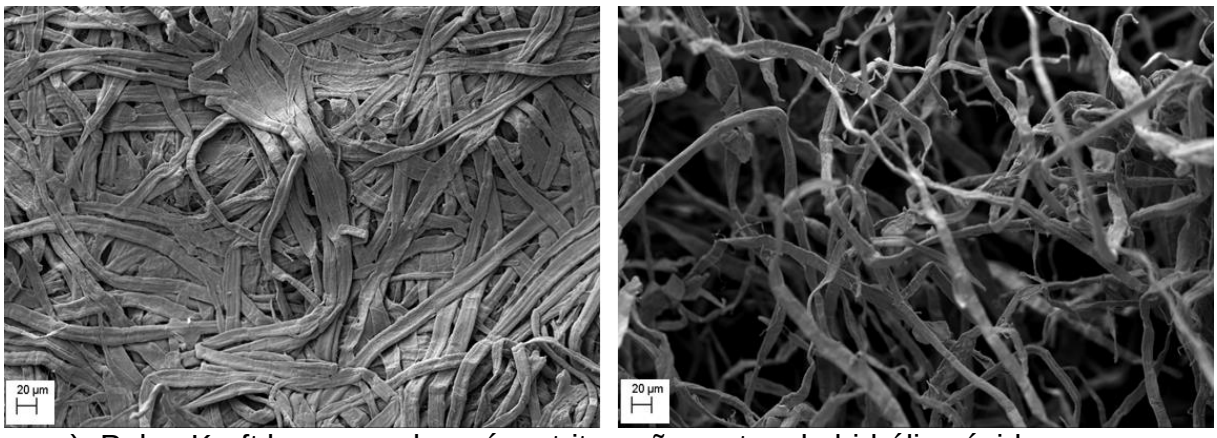
Os revestimentos de pectina e pectina + carboximetilcelulose quando reforçados com nanocristais apresentaram melhores propriedades de barreira a gases e a vapor de água, baseado nos indicadores fisiológicos e físico-químicos.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Imagem Microscopia Força Atômica dos nanocristais de celulose obtidos a partir da Polpa Kraft

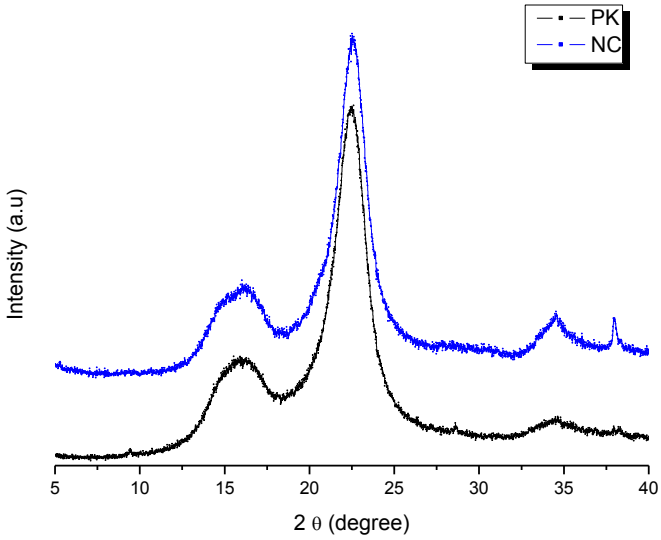


APÊNDICE B – Imagem Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da polpa Kraft antes e após hidrólise ácida

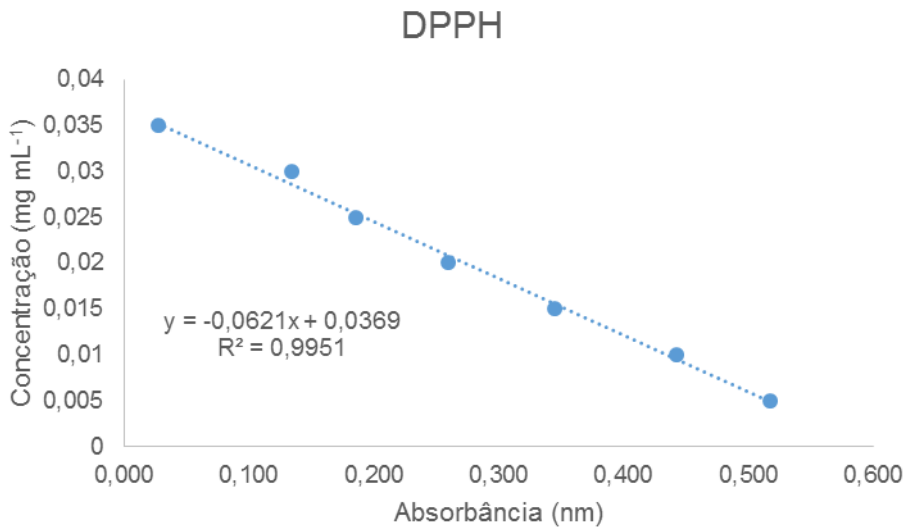


a) Polpa Kraft branqueada após a trituração, antes da hidrólise ácida.
b) Após hidrólise ácida Polpa Kraft branqueada, demonstrando a quebra dos domínios da celulose.

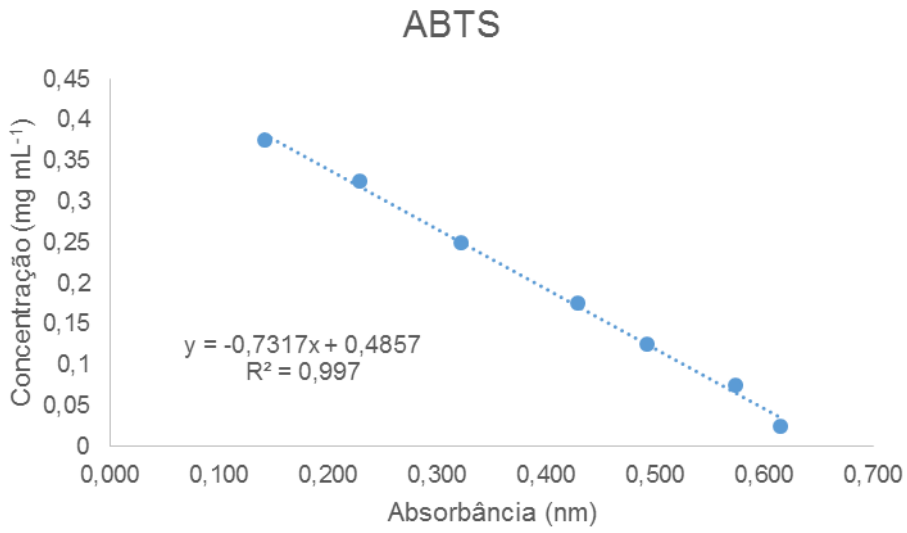
APÊNDICE C – Difratograma de raios-x da polpa Kraft (PK) e dos nanocristais de celulose obtidos a partir da polpa Kraft (NC)



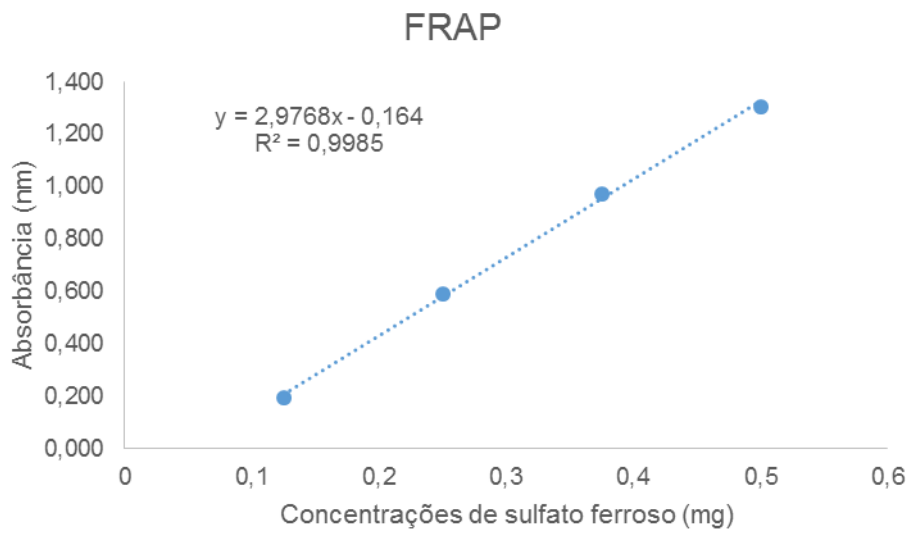
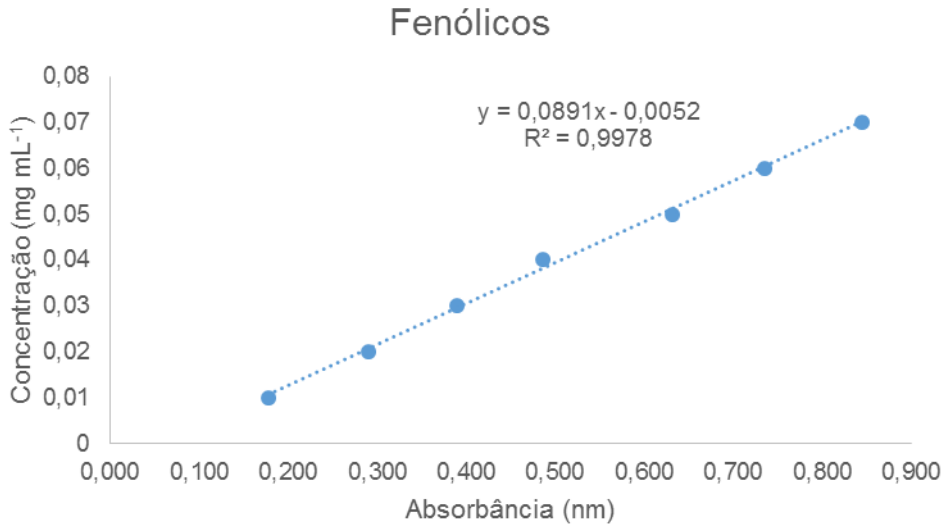
APÊNDICE D – Curva de calibração do Trolox para o cálculo da atividade antioxidante pelo método DPPH



APÊNDICE E – Curva de calibração do Trolox para o cálculo da atividade antioxidante pelo método ABTS



APÊNDICE F – Curva de calibração do sulfato ferroso para o cálculo da atividade antioxidante pelo método FRAP



APÊNDICE G – Curva de calibração do ácido gálico para o cálculo dos compostos fenólicos totais