

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DESENVOLVIMENTO DE RECOBRIMENTOS CONTENDO
MICOSPORINA TIPO AMINOÁCIDO (MAA) PARA O
CONTROLE DE ESCALDADURA EM FRUTOS DE
LARANJEIRA (*Citrus sinensis* L.)**

Vanessa Maria Dantas Pedrosa

Engenheira Agrônoma

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DESENVOLVIMENTO DE RECOBRIMENTOS CONTENDO
MICOSPORINA TIPO AMINOÁCIDO (MAA) PARA O
CONTROLE DE ESCALDADURA EM FRUTOS DE
LARANJEIRA (*Citrus sinensis* L.)**

Discente: Vanessa Maria Dantas Pedrosa

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique de Almeida Teixeira

Coorientadora: Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

P372d

Pedrosa, Vanessa Maria Dantas

Desenvolvimento de recobrimentos contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) para o controle de escaldadura em frutos de laranjeira (*Citrus sinensis* L.) / Vanessa Maria Dantas Pedrosa. -- Jaboticabal, 2021

90 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Gustavo Henrique de Almeida Teixeira

Coorientadora: Priscila Lupino Gratão

1. Caracterização. 2. Emulsão. 3. Estabilidade. 4. Helioguard™ 365. 5. *Porphyra umbilicalis*. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

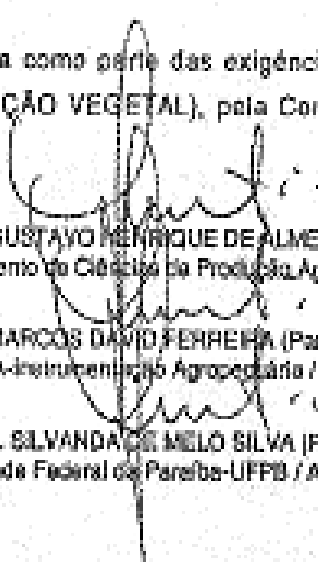
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DESENVOLVIMENTO DE RECOBRIMENTOS CONTENDO MICOSPORINA TIPO AMINOÁCIDO (MAA) PARA O CONTROLE DE ESCALDADURA EM FRUTOS DE LARANJEIRA (*Citrus sinensis* L.)

AUTORA: VANESSA MARIA DANTAS PEDROSA

ORIENTADOR: GUSTAVO HENRIQUE DE ALMEIDA TEIXEIRA

COORIENTADORA: PRISCILA LUPINO GRATÃO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. GUSTAVO HENRIQUE DE ALMEIDA TEIXEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Produção Vegetal) / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. MARCOS DAVID FERREIRA (Participação Virtual)
EMBRAPA-Instrumentação Agropecuária / São Carlos - SP

Profa. Dra. SILVANDA DE MELO SILVA (Participação Virtual)
Universidade Federal de Paraíba-UFPB / Areia/PB

Jaboticabal, 24 de fevereiro de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

VANESSA MARIA DANTAS PEDROSA - Nasceu em 09 de março de 1995 no município de Mamanguape, Paraíba. Ingressou no curso de Agronomia em 2014 na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus de Areia. Neste período iniciou seus estudos na área de tecnologia pós-colheita de frutos sob orientação da Profa. Dra. Silvanda de Melo e Silva enquanto bolsista PIBIC (2 anos). Após a obtenção do título de Engenheira Agrônoma, em 2018, ingressou no Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Campus de Jaboticabal, em março de 2019. Durante o Mestrado se dedicou ao desenvolvimento de recobrimentos visando ao controle da escaldadura em frutos de laranja, bem como, no entendimento do metabolismo oxidativo sob a orientação do Prof. Dr. Gustavo Henrique de Almeida Teixeira. Atualmente é aluna do curso de Doutorado do referido programa de pós-graduação.

DEDICO

Aos meus pais, Geraldo Pedrosa e Silva e Maria
Josinete Dantas; e a família por todo amor e apoio.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos meus pais Geraldo e Josinete, pelo apoio e compreensão ao longo de todos os anos que dediquei a minha formação, mas principalmente por todo amor a mim dispensado. A minha irmã Viviane e meus familiares, que assim com meus pais, me ofereceram apoio, amizade amor e compreensão.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo Henrique de Almeida Teixeira, pela oportunidade e por toda dedicação e conhecimentos compartilhados ao longo desses dois anos.

À minha coorientadora Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão, por todo auxílio e ensinamentos.

Aos colegas e professores da Pós-graduação, pelos conhecimentos transmitidos, conversas e parcerias ao longo do caminho.

Aos professores membros do Exame Geral de Qualificação: Rogério Falleiros Carvalho e Luciana Maria Saran, e aos professores membros da Banca de Defesa: Marcos David Ferreira e Silvanda de Melo Silva, pela disponibilidade e por todas as contribuições.

Aos companheiros do grupo FrutUnesp, sempre dispostos a ouvir e ajudar, auxiliando não só na condução do experimento, como também pelo compartilhamento de conhecimento.

As amigas de tantos anos, Gisele, Silvana e Cristiane, pela amizade.

Aos incríveis amigos que fiz ao longo destes anos de pós-graduação, Alex Sanches, Clebson Praxedes, Eduarda Reis, João Duarte, Kassia Ferreira, Klever Canteral, Lígia de Paula, Marcilene Sarah e Maryelle Barros, pela amizade, apoio, pelas palavras de conforto nos momentos de aflição e pelos momentos tão especiais que compartilhamos.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro (nº do processo: 2019/15083-5).

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a execução deste trabalho.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais	1
1. Introdução	1
2. Revisão de Literatura.....	4
2.1. Panorama da fruticultura brasileira	4
2.2. A laranjeira	5
2.3. Desordens fisiológicas - escaldadura.....	7
2.4. Estratégias de controle da escaldadura	10
2.5. Recobrimentos	12
2.5.1. Base lipídica	13
2.6. Radiação ultravioleta (UV) e micosporinas tipo aminoácidos (MAAs).....	14
2.6.1. Helioguard™ 365	16
3. Referências	17
CAPÍTULO 2 - Recobrimentos lipídicos e adição de micosporinas tipo aminoácido como barreira química a radiação UV para o controle de escaldadura na pré-colheita de produtos hortícolas	27
1. Introdução	28
2. Material e Métodos	30
2.1. Reagentes.....	30
2.2. Desenvolvimento dos recobrimentos	31
2.3. Caracterização dos recobrimentos	32
2.4. Estabilidade das emulsões	33
2.5. Análise estatística	34
3. Resultados e Discussão	35
3.1. Desenvolvimento dos recobrimentos	35
3.2. Estabilidade dos recobrimentos	40
3.3. Recobrimentos com MAA	44

3.4. Caracterização do recobrimento contendo MAA.....	45
3.5. Estabilidade do recobrimento contendo MAA	48
4. Conclusões.....	51
5. Referências	52
CAPÍTULO 3- Recobrimentos lipídicos adicionados de micosporinas tipo aminoácido (MAA) para o controle de escaldadura em frutos de laranjeiras (<i>Citrus sinensis</i> L)	58
1. Introdução	59
2. Material e Métodos.....	62
2.1. Reagentes	62
2.2. Material vegetal e condução do experimento	62
2.3. Incidência de escaldadura	63
2.4. Análises físico-químicas	64
2.5. Metabolismo oxidativo	65
2.6. Análise estatística.....	66
3. Resultados	67
3.1. Laranjas ‘Hamlin’	67
3.2. Laranjas ‘Pera-Rio’	71
3.3. Laranjas ‘Valência’	75
4. Discussão.....	78
5. Conclusões	80
6. Referências	80
Capítulo 4 – Considerações Finais	85
APÊNDICES.....	87
APÊNDICE A – Tratamentos da cultura ‘Pera-Rio’. Frutos dos grupos: controle positivo (hidróxido de cálcio – C+), controle negativo (sem cobertura – C-), 0% de Helioguard™ 365 (fonte dos MAAs) (0 MAA), 1% de Helioguard™ 365 (fonte dos MAAs) (1 MAA), 2% de Helioguard™ 365 (fonte dos MAAs) (2 MAA) e 4% de Helioguard™ 365 (fonte dos MAAs) (4 MAA).....	88
APÊNDICE B - (A e B) Laranjeiras com folhas secas e (C) frutos injuriados (escaldados, murcho e necrosados), apresentando sinais de deficiência hídrica.....	89
APÊNDICE C - Dados climatológicos referentes aos meses de janeiro a setembro de 2020 da área experimental da Fundação Coopercitrus, município de Bebedouro - SP.....	90

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE RECOBRIMENTOS CONTENDO MICOSPORINA TIPO AMINOÁCIDO (MAA) PARA O CONTROLE DE ESCALDADURA EM FRUTOS DE LARANJEIRA (*Citrus sinensis* L.)

RESUMO - A laranja é um fruto amplamente produzido no Brasil e este é bastante sensível à ocorrência de distúrbios fisiológicos, como a escaldadura causada pela exposição à radiação solar, sendo um problema que afeta sua qualidade. Tradicionalmente a ocorrência desta injúria é contornada com a pulverização dos frutos com hidróxido de cálcio, contudo esta prática nem sempre é eficiente. Sabendo-se da eficiência das micosporinas tipo aminoácido (MAA) como proteção contra as radiações ultravioleta (UV) em diversos organismos aquáticos e de sua adição em protetores solares destinados à seres humanos e não havendo aplicações visando ao controle da escaldadura de frutos, este trabalho teve por objetivo desenvolver e caracterizar emulsões de base lipídica adicionada de MAA para uso na pré-colheita dos frutos de laranja. Para o desenvolvimento e caracterização das emulsões foram utilizadas as bases lipídicas (BL) óleo de milho (OM) e de soja (OS) e as ceras de carnaúba (CC) e de abelha (CA) a 10% (m/v). A partir dos resultados de coloração, pH, condutividade, viscosidade, teor de matéria-seca (MS), solubilidade em água, bem como da estabilidade das emulsões nos testes de centrifugação, estresse térmico e ciclos de congelamento e descongelamento, foi escolhida a emulsão contendo CC e hidróxido de amônio para a adição de MAA. Para isso foi utilizado o produto comercial Helioguard™ 365 como fonte de MAA e este foi adicionado nas concentrações de 0%, 1%, 2% e 4% (v/v) à emulsão de base lipídica. A incorporação de MAA não afetou as características tecnológicas da emulsão, como também a estabilidade da mesma. Destaca-se que com a adição de MAA foram observados aumentos na absorbância na região do UV-B (280 a 300 nm), o que possibilita o uso desta emulsão como barreira química para o controle da escaldadura. Visando confirmar a eficiência dessa emulsão em condições de campo, emulsões contendo 0%, 1%, 2% e 4% (v/v) de Helioguard™ 365 foram aplicadas na pré-colheita de frutos de laranjeiras das cultivares 'Hamlin', 'Pera-rio' e 'Valência', em intervalos de 21 dias a partir da primeira aplicação. Foi utilizado como controle positivo a aplicação de hidróxido de cálcio a 5% e o como controle negativo os frutos não tratados. Apesar das emulsões terem apresentado aumentos de absorbância no UVB, a adição de MAA não resultou no controle da escaldadura. Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas para a maioria dos parâmetros físico-químicos analisados, bem como para os parâmetros referentes ao metabolismo oxidativo, com exceção da coloração e dos teores de sólidos solúveis e ácido ascórbico para as três cultivares. Desta forma, o uso de MAA nas concentrações testadas foram pouco eficientes no controle de escaldadura em frutos de laranja.

Palavras-chave: Caracterização, emulsão, estabilidade, Helioguard™ 365, *Porphyra umbilicalis*

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF COATINGS CONTAINING MYCOSPORIN-LIKE AMINO ACID (MAA) FOR THE CONTROL OF SUNSCALD IN ORANGE FRUIT (*Citrus sinensis* L.)

ABSTRACT - Orange is a fruit widely produced in Brazil and it is very sensitive to the occurrence of physiological disorders, such as sunscald caused by the exposure to solar radiation, being a problem that affects the quality of this fruit. Traditionally, the occurrence of this injury is controlled by spraying the fruits with calcium hydroxide, however this practice is not always efficient. Knowing the efficiency of the mycosporine-like amino acids (MAA) as a protection against ultraviolet (UV) radiation in several aquatic organisms and their incorporation into sunscreens intended for humans, and as there are no applications aimed at controlling fruit sunscald, the objective of this study was to develop and characterize lipid-based emulsions containing MAA for use in the pre-harvest of orange fruits. For the development and characterization of the emulsions, lipid bases (BL), corn oil (OM) and soybean oil (OS) and carnauba wax (CC) and beeswax (CA) were used at 10% (w/v). From the results of color, pH, conductivity, viscosity, dry matter (DM) content, water solubility, as well as the stability of the emulsions in the centrifugation tests, thermal stress and freezing and thawing cycles, the emulsion containing CC and ammonium hydroxide was elected for the addition of MAA. For this, the commercial product Helioguard™ 365 was used as a source of MAA and this was added in concentrations of 0%, 1%, 2% and 4% (v/v) to the base emulsion. The incorporation of MAA did not affect the technological characteristics of the emulsion, as well as its stability. It is noteworthy that with the addition of MAA, increased the absorbance in the UV-B region (280 to 300 nm), which makes it possible to use this emulsion as a chemical barrier to control sunscald. In order to confirm the efficiency of this emulsion under field conditions, emulsions containing 0%, 1%, 2% and 4% (v / v) of Helioguard™ 365 were applied in the pre-harvest of orange of the cultivars' Hamlin ', 'Pera-río 'and' Valencia ', at intervals of 21 days from the first application. The application of 5% calcium hydroxide was used as a positive control and the untreated fruits as a negative control. Although the emulsions showed increases in UV-B absorbance, the addition of MAA did not result in the sunscald control. Likewise, no significant differences were observed for most of the analyzed physical-chemical parameters, as well as for parameters related to oxidative metabolism, except for the color and content of soluble solids and ascorbic acid for the three cultivars. Thus, the use of MAA in the tested concentrations was not efficient in the control of sunscald in orange fruits.

Keywords: Characterization, emulsion, stability, Helioguard™ 365, *Porphyra umbilicalis*

LISTA DE ABREVIATURAS

AO - Ácido Oleico

APX – Ascorbato Peroxidase

AT – Acidez titulável

C- – Controle negativo (sem recobrimento)

C+ – Controle positivo (hidróxido de cálcio)

CA – Cera de Abelha

CC – Cera de Carnaúba CCC -

Cera de Carnaúba Comercial

cP – Centipoise

DBC – Delineamento em blocos casualizados

EDTA - Ácido etilenodiaminotetracético

EHL - Equilíbrio hidrofílico-lipofílico

ERO - Espécies Reativas de Oxigênio

FA - Fase Aquosa

FL – Fase Lipídica

HA – Hidróxido de Amônio

HLB - Greening, Huanglongbing, HLB ou Amarelão dos Citros

LB – Bases Lipídicas

LM C - ligeira modificação, cremação

LM S - ligeira modificação, separação de fases.

MAA – Aminoácido tipo micosporina

MDA – Malondialdeído

MS - Teor de matéria seca

N - Normal, sem modificação

NBT - Cloreto de nitrotetrazólio azul

nm - Nanômetros

OM – Óleo de Milho

OS – Óleo de Soja

pH – Potencial Hidrogeniônico

PSI - Massa seca

PSF - Massa seca final

PVPP - Polivinilpolipirrolidona

SOD – Superóxido dismutase

TBARS - Ácido tiobarbitúrico

TCA - Ácido tricloroacético

TSS – Teor de sólidos solúveis

TW - Tween

UV - Ultravioleta

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 - Recobrimentos lipídicos e adição de micosporina tipo aminoácido como barreira química à radiação UV para o controle de escaldadura na pré-colheita de produtos hortícolas

Tabela 1. Composição das emulsões preparadas com diferentes bases lipídicas... 31

Tabela 2. Significância dos fatores bases lipídicas (A), hidróxido de amônio (B), interação A x B e tratamento adicional nas análises de caracterização das emulsões..... 33

Tabela 3. Análise de regressão dos parâmetros de caracterização da emulsão base (cera de carnaúba + hidróxido de amônio) contendo 0%, 1%, 2% e 4% (v/v) de Helioguard™ 365, fonte das micosporinas tipo aminoácidos. Os resultados se referem a média de seis repetições independentes (n=6) 47

Tabela 4. Análises de estabilidade: centrifugação, teste de temperatura e ciclos de congelamento – descongelamento de emulsões (base de cera de carnaúba + hidróxido de amônio) contendo 0%, 1%, 2% e 4% (v/v) de Helioguard™ 365, fonte das micosporinas tipo aminoácidos (MAA) 50

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

Figura 1. Estrutura molecular e comprimento de onda de absorção máxima de MAAs 15

CAPÍTULO 2 - Recobrimentos lipídicos e adição de micosporina tipo aminoácido como barreira química a radiação UV para o controle de escaldadura na pré-colheita de produtos hortícolas

Figura 1. Caracterização das emulsões contendo cera de abelha (CA), de carnaúba (CC), óleo de milho (OM), de soja (OS) e a cera comercial (CCC) (□), contendo (○) ou não (Δ) hidróxido de amônio. (A) luminosidade; (B) cromaticidade; (C) ângulo hue; (D) pH; (E) solubilidade; (F) viscosidade; (G) condutividade e (H) matéria-seca. Médias com letras diferentes (a, b, c, d, e e f) são diferentes de acordo com a comparação múltipla utilizando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P \leq 0,05$) 36

Figura 2. Análise de correspondência para a estabilidade das emulsões contendo cera de abelha (CA), de carnaúba (CC), óleo de milho (OM), de soja (OS) e a cera comercial (CCC), contendo ou não hidróxido de amônio (HA) utilizando a centrifugação a 980 rpm (A), 1.800 rpm (B) e 3.000 rpm (C). N = normal, sem modificação; LM C = ligeira modificação, cremação; LM S – ligeira modificação, separação de fases 41

Figura 3. Análise de correspondência para a estabilidade das emulsões contendo cera de abelha (CA), de carnaúba (CC), óleo de milho (OM), de soja (OS) e a cera comercial (CCC), contendo ou não hidróxido de amônio (HA) utilizando o estresse térmico a 55°C (A), 60°C (B), 65°C (C), 70°C (D) e 75°C (E). N = normal, sem modificação; LM C = ligeira modificação, cremação; LM S – ligeira modificação, separação de fases. 42

Figura 4. Análise de correspondência para a estabilidade das emulsões contendo cera de abelha (CA), de carnaúba (CC), óleo de milho (OM), de soja (OS) e a cera comercial (CCC), contendo ou não hidróxido de amônio (HA) utilizando ciclos de congelamento e descongelamento; primeiro ciclo a 45°C (A), segundo ciclo a 4°C (B), segundo ciclo a 45°C (C), terceiro ciclo a 4°C (D), terceiro ciclo a 45°C (E), quarto ciclo a 4°C (F), quarto ciclo a 45°C (G), quinto ciclo a 4°C (H), quinto ciclo a 45°C (I), sexto ciclo a 4°C (J) e sexto ciclo a 45°C (K). N = normal, sem modificação; LM C = ligeira modificação, cremação; LM S – ligeira modificação, separação de fases 43

Figura 5. Absorbância na região do ultravioleta (UV) da emulsão base (cera de carnaúba + hidróxido de amônio) contendo 0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard™ 365,

fonte das micosporina tipo aminoácido (MAA). Os resultados se referem a média de três repetições independentes (n=3) 45

Figura 6. Análise de regressão dos parâmetros de caracterização da emulsão base (cera de carnaúba + hidróxido de amônio) contendo 0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard™ 365 (fonte dos MAAs). (A) luminosidade, (B) cromaticidade, (C) ângulo hue, (D) pH, (E) solubilidade, (F) viscosidade, (G) condutividade e (H) matéria-seca. Os resultados se referem a média de seis repetições independentes (n=6) 46

CAPÍTULO 3 - Recobrimentos lipídicos adicionados de micosporina tipo aminoácido (MAA) para o controle de escaldadura em frutos de laranjeiras (*Citrus sinensis* L)

Figura 1. Avaliação da incidência de escaldadura e coloração dos frutos de laranjeira 'Hamlin' tratados com emulsões contendo 0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard™ 365 (fonte de micosporina tipo aminoácido - MAA) e dos controles positivo (hidróxido de cálcio 5% m/v) e negativo (sem coberturas). (A) luminosidade - L*, (B) ângulo hue - °h e (C) cromaticidade – croma. Médias seguidas com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de comparações múltiplas usando o ajuste de multiplicidade de Tukey (P<0,05). As barras representam o desvio padrão de 6 repetições..... 68

Figura 2. Caracterização físico-química: (A) massa, (B) rendimento de suco, (C) pH, (D) acidez titulável (AT), (E) teor de sólidos solúveis (TSS), (F) ratio e (G) teor de ácido ascórbico dos frutos de laranjeira, cultivar 'Hamlin', tratados com: emulsão contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey (P<0,05) 69

Figura 3. Marcadores bioquímicos: (A) teor de malondialdeído (MDA), (B) proteína, (C) atividade da ascorbato peroxidase (APX) e (D) superóxido dismutase (SOD) dos frutos de laranjeira, cultivar 'Hamlin', tratados com: emulsão contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey (P<0,05) 70

Figura 4. Avaliação da incidência de escaldadura e coloração dos frutos de laranjeira 'Pera-Rio' tratados com emulsões contendo 0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard™ 365 (fonte de micosporina tipo aminoácido - MAA) e dos controles positivo (hidróxido de cálcio 5% m/v) e negativo (sem coberturas). (A) luminosidade - L*, (B) ângulo hue - °h e (C) cromaticidade – croma. Médias seguidas com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de comparações múltiplas usando o ajuste de

multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 repetições 72

Figura 5. Caracterização físico-química: (A) massa, (B) rendimento de suco, (C) pH, (D) acidez titulável (AT), (E) teor de sólidos solúveis (TSS), (F) ratio e (G) teor de ácido ascórbico dos frutos de laranja, cultivar 'Pera-Rio', tratados com: emulsão contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$) 73

Figura 6. Marcadores bioquímicos: (A) teor de malondialdeído (MDA), (B) proteína, (C) atividade da ascorbato peroxidase (APX) e (D) superóxido dismutase (SOD) dos frutos de laranja, cultivar 'Hamlin', tratados com: emulsão contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$) 74

Figura 7. Avaliação da incidência de escaldadura e coloração dos frutos de laranja 'Valência' tratados com emulsões contendo 0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard™ 365 (fonte de micosporina tipo aminoácido - MAA) e dos controles positivo (hidróxido de cálcio 5% m/v) e negativo (sem coberturas). (A) luminosidade - L^* , (B) ângulo hue - $^{\circ}h$ e (C) cromaticidade - croma. Médias seguidas com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de comparações múltiplas usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 repetições 75

Figura 8. Caracterização físico-química: (A) massa, (B) rendimento de suco, (C) pH, (D) acidez titulável (AT), (E) teor de sólidos solúveis (TSS), (F) ratio e (G) teor de ácido ascórbico dos frutos de laranja, cultivar 'Valência', tratados com: emulsão contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$) 76

Figura 9. Marcadores bioquímicos: (A) teor de malondialdeído (MDA), (B) proteína, (C) atividade da ascorbato peroxidase (APX) e (D) superóxido dismutase (SOD) dos frutos de laranja, cultivar 'Valência', tratados com: emulsão contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$) 77

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas, bem como o maior exportador de suco de laranja concentrado (Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos - CitrusBR, 2020, FAOSTAT, 2017). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2019 a produção brasileira de laranjas foi de 17 milhões de toneladas de frutos colhidos em uma área de aproximadamente 600 mil hectares, sendo o estado de São Paulo responsável pelo maior percentual produtivo dos frutos e de exportação de suco de laranjas doce, destacando-se as cultivares 'Hamlin', 'Pera-Rio' e 'Valência' (Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos - CitrusBR, 2020; IBGE, 2019; Fava Neves et al., 2011). Apesar da exportação de suco concentrado ser responsável pelo maior percentual de renda desta cadeia produtiva, em menor escala a exportação de frutos *in natura* vem contribuindo para a geração de renda para a cultura dos citros (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI, 2019; Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos - CitrusBR, 2020).

A laranjeira (*Citrus sinensis* L.) é uma espécie frutífera originária de regiões de climas tropical e subtropical, todavia a ocorrência de distúrbios fisiológicos que se desenvolvem devido à exposição ao excesso de radiação solar, associada à temperatura elevada, em qualquer estágio de desenvolvimento vegetal, pode resultar na queima de partes das plantas como troncos, galhos, folhas e frutos. Estas lesões são conhecidas como escaldaduras ou queimaduras (sunscald ou sunburn) e são distúrbios fisiológicos que resultam na descoloração da epiderme (branqueamento), amarelecimento, seguido de escurecimento e necrose do tecido vegetal. Desta forma, o excesso de radiação solar e de temperaturas elevadas nas superfícies dos frutos ocasiona alterações dos pigmentos presentes nas células, produzindo manchas e, em casos mais severos, a morte celular e necrose dos tecidos (Chabbal et al., 2014; Liu e Fan, 2015; Farag et al., 2019).

A alta incidência de radiação solar e de temperatura elevada durante a etapa de crescimento pode induzir a um estresse fotooxidativo dos pigmentos dos tecidos da

epiderme quando há uma absorção de energia luminosa em excesso pelas estruturas de captação de luz. Assim ocorre a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), resultando na fotoxidação, degradação de estrutura celulares e, conseqüentemente, desenvolvimento dos sintomas de escaldadura (Naschitz et al., 2015; Torres et al., 2016; Rodriguez et al., 2019). A escaldadura ocorre nas mais diversas espécies frutíferas e nos mais diferentes graus de intensidade, entretanto, independentemente da gravidade deste distúrbio, esta pode gerar grandes perdas econômicas, pois os frutos com sintomas de escaldadura não atendem aos padrões de qualidade dos frutos destinados ao mercado interno e externo, além de terem seu valor nutricional e funcional reduzidos (Tsai et al., 2013; Ambrózy et al., 2016; Torres et al., 2016).

Tradicionalmente o controle da escaldadura em frutos é realizado com a pulverização das plantas e frutos com soluções de hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 ou carbonato de cálcio (Glenn & Puterka, 2005). O princípio do uso destas soluções se relaciona à formação de um filme branco de partículas minerais sob os tecidos vegetais que bloqueia e reflete parte da radiação solar e reduz a temperatura na superfície dos frutos, o que reduz a probabilidade do desenvolvimento da escaldadura (DPI, 2006).

Todavia, o uso destas soluções é pouco eficiente, pois estas podem ser removidas por ocasião de chuvas e/ou aplicação de tratamentos fitossanitários, podem levar a danos ao meio ambiente e podem gerar danos aos frutos quando em concentrações elevadas (Lopes et al, 2014). Soma-se a isso, com o surgimento do *Greening*, também conhecido como *Huanglongbing* ou HLB, é necessário pulverizar os pomares periodicamente (10 – 15 dias) o que pode lavar a cobertura formada pelo caulim. Desta forma, é importante o desenvolvimento de alternativas visando ao controle da escaldadura causada pelo excesso de radiação solar. Dentre os métodos desenvolvidos, pode citar o ensacamento dos frutos (Hofman et al., 1997), uso de redes protetoras (Lal & Sahu, 2017) e pulverizações com ácido ascórbico (Andrews et al., 1999; Johnson et al., 1999), argilas (DPI, 2006) e produtos dissolvidos em ceras, tais como o Raynox® (Schrader, 2011), entre outros. Apesar de eficientes, todos estes métodos apresentam desvantagens e há a necessidade de se desenvolver substâncias protetoras que sejam menos onerosas, apresentem menor toxidez ao

meio ambiente e para as plantas, consumidores e que sejam quimicamente estáveis às condições a que os frutos ficam expostos no campo de produção.

Um composto orgânico que poderia ser utilizado visando ao controle da escaldadura seria os aminoácidos tipo micosporina (MAA). Segundo Fernandes et al. (2015), os MAA são substâncias protetoras naturais aos raios solares sintetizados por uma ampla variedade de organismos marinhos, por exemplo, microrganismos aquáticos e algas. Os MAA atuam no mecanismo de defesa e proteção contra os efeitos nocivos da radiação ultravioleta (UV). Quimicamente, os MMA são substâncias formadas por um anel de aminociclohexenimina conjugado com o radical nitrogênio de um aminoácido.

Estes apresentam a capacidade de absorver a radiação solar irradiada entre os comprimentos de onda 310 e 360 nm sob a forma de calor sem produzir ERO, o que ajuda a dissipar o excesso de energia interrompendo cadeia de transporte de elétrons, além de inibir a formação de fotoprodutos como o fotodímeros 6-4PPs (6-4 Pirimidina-Pirimidona) (Helbling et al. 2004; Libkind et al., 2005; Garinis et al., 2006).

Além de atuarem como “protetores solares” em organismos aquáticos devido a capacidade de absorção em diferentes regiões do espectro UV, que varia conforme as estruturas moleculares e consequente os tipos de MAAs (Singh et al., 2008), estes compostos dissipam a energia irradiada de modo eficiente sem comprometer as estruturas celulares. Assim, tem sido sugerido que os MAAs podem agir como antioxidantes, pois estes compostos proporcionam certa proteção contra o estresse fotooxidativo induzido pelas EROs (Dunlap & Yamamoto, 1995), o que pode contribuir para o controle da escaldadura em frutos. Os MMAs vêm sendo explorados comercialmente na forma de produtos para cuidados para a pele expostas ao sol e em outros materiais não biológicos (BandarAnayake, 1998). Desta forma, análogos sintéticos foram desenvolvidos para finalidades comerciais (Dunlap et al., 1998), tais como a micosporina-glicina e o 3-alquilamino2metoxiciclohex-2-enonas (Dunlap & Chalker, 1986). Todavia, não foram encontradas aplicações dos MAAs para o controle de escaldaduras em frutos.

Desta forma, o objetivo geral deste trabalho foi verificar a capacidade fotoprotetora de recobrimentos de base lipídica contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) para uso na pré-colheita dos frutos de laranjeira, sendo estes comparados com

a pulverizações com Ca(OH)_2 e, por objetivos específicos avaliar a qualidade e determinar os biomarcadores relacionados aos aspectos químicos e bioquímicos como indicadores de estresse dos frutos submetidos a estes tratamentos.

2. Revisão de Literatura

2.1. Panorama da fruticultura brasileira

A fruticultura brasileira gerou R\$ 36,34 bilhões de reais em 2018 (IBGE, 2019), com uma produção de frutos superior a 37,2 milhões de toneladas. Esta produção foi em sua maioria oriunda de espécies tropicais e subtropicais, como a laranja, banana, açaí, limão, manga, entre outros. Este alto potencial produtivo, seja pela boa adaptação das espécies vegetais ou pelas condições edafoclimáticas do país, fazem do Brasil o terceiro maior produtor mundial de frutíferas, estando abaixo apenas da China e Índia (FAOSTAT, 2018).

Com maior volume produzido, estando muito superior aos dos demais frutos, a elevada produção nacional coloca o Brasil como líder do ranking de produção mundial de laranjas (FAOSTAT, 2017). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2019 a produção brasileira de laranjas ultrapassou os 17 milhões de toneladas de frutos colhidos em uma área de produção de mais de 600 mil hectares, dos quais pouco mais 77% da produção nacional se originaram do estado de São Paulo (IBGE, 2019).

Referente a exportação brasileira de frutos, em 2018 esta foi de 848 mil toneladas de frutas frescas, secas e processadas, o que resultou em um valor arrecadado superior a US\$ 785 milhões. Deste volume, 26,07 mil toneladas resultaram em US\$ 11 milhões em exportação de frutos de laranjeiras frescos ou secos, corresponde a exportação, não estando incluído neste montante a principal fonte de exportação, o suco de laranja concentrado (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI, 2019).

Com tal potencial para produção, valorização e comercialização, seja pelos frutos *in natura* destinados ao consumo interno ou pelo processamento e exportação do suco concentrado, a laranja permanece a frente como um dos frutos de maior

interesse econômico visto as demandas de consumo, assim, se torna uma das culturas de maior interesse no setor agrário de frutíferas do país, o que leva a maior necessidade de investimento em tecnologias que auxiliem no fornecimento de frutos com qualidade diferenciada, de modo a atender as exigências, cada vez mais elevadas, do mercado consumidor.

2.2. A laranjeira

Dentre as muitas espécies cítricas de interesse econômico, as laranjeiras (*Citrus sinensis* L.) se destacam em importância no Brasil, devido ao seu potencial de geração de renda oriundo da comercialização dos frutos frescos para o mercado consumidor interno e da exportação do suco concentrado (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI, 2019; Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos - CitrusBR, 2020).

Acredita-se que a região de origem dos citros seja o Sudeste asiático, incluindo o oeste da Arábia ao leste das Filipinas e dos Himalaia até o Sul da Indonésia ou Austrália. Nesta vasta área, supõe-se que o Nordeste da Índia e Norte de Burma seja o centro de origem, mas recentemente algumas evidências sugerem que a província de Yunnan na China possa ser importante em função da diversidade de espécies encontradas e os sistemas de rios que podem ter propiciado a dispersão em direção ao Sul (Davies & Albrigo, 1994). Estes relatos corroboram com a classificação proposta por Vavilov (1950) para os centros de origem das plantas cultivadas, ou seja, que os citros são originários do segundo grande centro, o Indiano e do centro Chinês.

As laranjeiras foram introduzidas em outras regiões provavelmente seguindo as mesmas rotas de introdução da cidra (*Citrus medica* L.) na Europa durante o período Romano. Estes usavam estufas para cultivá-las e com o desaparecimento e queda do Império Romano, as laranjeiras foram reintroduzidas na Europa em 1425 por mercadores Genoveses (Davies & Albrigo, 1994). Da Europa a laranjeira, e outras espécies de frutos cítricos, foram distribuídas para diversas regiões tropicais e subtropicais do globo (Gmitter e Hu; 1990; Lopes et al., 2011; Liu et al., 2012).

No Brasil, as primeiras introduções de plantas cítricas ocorreram na Bahia pelos Portugueses e há relatos que em 1540 já existiam laranjais espalhados por todo

o litoral, de Norte a Sul deste estado. Similarmente no estado de São Paulo, na região de Cananéia, também existiam pomares em produção neste período. Posteriormente, em 1920, na região de Limeira, iniciaram-se os primeiros núcleos citrícolas, que entre 1930 a 1939, representaram a primeira fase áurea da citricultura (Moreira, 1981).

O fruto da laranjeira é uma baga, hesperídio, carnosas, com tamanho variado e formato globoso, além de possuírem características próprias muito atrativas como o aroma e sabor que variam entre notas de doçura e acidez, que se relacionam aos teores de ácidos tituláveis e sólidos solúveis (principalmente açúcares e ácidos orgânicos). Estes frutos apresentam ainda coloração atraente e são fontes de nutrientes importantes para a saúde humana, com teores elevados de vitaminas e compostos antioxidantes a exemplo da vitamina C e carotenoides, que os fazem ser amplamente apreciados tanto no mercado interno como externo, seja para consumo de forma *in natura* ou processada (Lemos et al., 2012; Flora Do Brasil, 2020).

Anatomicamente, estes os frutos apresentam casca pigmentada em função da presença de clorofilas e carotenoides, além de conter grande quantidade de compostos lipídicos voláteis como óleos essenciais, denominada flavedo que corresponde ao exocarpo do fruto da laranjeira. Internamente, se observa um tecido esbranquiçado de espessura que varia de acordo com as espécies, cultivares e condições climáticas, de aspecto esponjo denominado albedo, sendo composto por células do mesocarpo (Sadka et al., 2019; Oliveira et al., 2021). A presença de pigmentos na porção do flavedo dos frutos se deve não apenas ao seu caráter atrativo ou como indicador da maturação destes, mas também como atenuantes da radiação solar incidida que, na possível sua ausência destes compostos antioxidante de ação fotoprotetora, pode promover a ocorrência de danos celulares severos (Chitarra e Chitarra, 2005).

Com dezenas de tipos diferentes, as laranjeiras conhecidas como laranjeiras doces, cujos frutos são usados principalmente para o consumo *in natura* e para a indústria (suco), dado sua baixa acidez, além de sabor doce e agradável, são em sua maioria destinados ao comércio exterior e compreende cultivares precoces, como a 'Hamlin', de meia estação, como a 'Pera-Rio', e tardias como a 'Valência' (Lemos et al., 2012; Pereira et al., 2014; Bastos et al., 2014; Akusu et al., 2016; Akinde et al., 2017).

Apesar desta espécie ser originária de regiões de climas tropical e subtropical, e por consequência, se encontrarem bem adaptadas ao clima brasileiro, apresentando percentual produtivo significativo, a laranjeira pode ter a produção e qualidade de seus frutos afetada em função da influência de parâmetros climáticos, tais como: temperatura, umidade e radiação solar. Estes podem levar ao desenvolvimento de injúrias ou desordens fisiológicas que comprometem a comercialização destes frutos e, por conseguinte, levar a perdas pré e pós-colheita que afetam negativamente a oferta destes frutos (Kitinoja e Kader, 2015; Mari et al., 2014; De Moura Guerra et al., 2017; Farag et al., 2019).

Assim, além de reduzir os ciclos até a produção e proporcionar materiais de propagação de alta qualidade, também buscando aumentar a resistência das plantas aos fatores ambientais deletérios e reduzir a suscetibilidade ao desenvolvimento de injúrias ou a indução de estresses nos frutos, a produção de mudas de laranjeiras é realizada através de enxertias utilizando porta-enxertos compatíveis, de características desejáveis e resistentes a certas condições climáticas adversas, como no caso das cultivares 'Hamlin' (precoce), 'Pera Rio' (meia estação) e 'Valência' (tardia) e porta-enxertos de citrumelo 'Swingle' (*Citrus paradisi Macfad. x Poncirus trifoliata* (L.)), limão 'Cravo' (*Citrus limonia* Osb.) e citrumelo 'Swingle', entre outros, que apresentam de moderada a boa tolerância a seca e favorecem a produção de frutos de maior qualidade nas copas enxertadas (Emmanouilidou & Kyriacou, 2017; Donadio et al., 2019; Martins et al., 2020).

2.3. Desordens fisiológicas - escaldadura

As injúrias e/ou desordens que podem vir a se manifestar nos diferentes frutos, ocorrem de formas distintas quanto à sua natureza, ou seja, estas podem ser de ordem fisiológica, biológica e/ou física. Independentemente desta classificação, as ocorrências de tais danos podem se manifestar a qualquer momento ao longo do desenvolvimento dos frutos e/ou na cadeia produtiva, inviabilizando assim a comercialização destes frutos (Cenci et al., 1997; Chitarra e Chitarra, 2005; Fischer et al., 2007).

Dentre as injúrias existentes, a exposição ao excesso de radiação solar, associada à temperatura elevada, em qualquer estágio de desenvolvimento vegetal, pode resultar na queima de partes das plantas como troncos, galhos, folhas e frutos. Estas lesões são conhecidas como escaldaduras ou queimaduras (sunscauld ou sunburn), e são distúrbios fisiológicos que resultam na descoloração da epiderme (branqueamento), amarelecimento (fotooxidação dos pigmentos), seguido de escurecimento e necrose do tecido vegetal. Desta forma, o excesso de radiação solar e de temperaturas elevadas nas superfícies dos frutos ocasiona alterações dos pigmentos presentes nas células, produzindo manchas e, em casos mais severos, a morte celular e necrose dos tecidos vegetais (Chabbal et al., 2014; Lopes et al., 2014; Liu e Fan, 2015; Farag et al., 2019).

A alta incidência de radiação solar e de temperatura elevada durante a etapa de crescimento pode induzir a um estresse fotooxidativo dos pigmentos dos tecidos da epiderme, ou seja, quando há uma absorção de energia luminosa em excesso pelas estruturas de captação de luz ocorre a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), resultando na foto-oxidação além da degradação de estrutura celulares e, conseqüentemente, nos sintomas de queimaduras solares (Naschitz et al., 2015; Huan et al., 2016; Torres et al., 2016; Rodriguez et al., 2019).

Embora o flavedo dos frutos apresente componentes, pigmentos, que podem atenuar a energia oriunda da radiação solar incidida sobre este tecido, em alguns casos a desordem desencadeada pela ocorrência de um estresse severo pode levar ao desenvolvimento de distúrbios fisiológicos. Nos frutos que apresentam predominância de clorofilas na epiderme, a desordem mediante excesso de radiação promovendo foto-oxidação e/ou foto inibição, bem como o desenvolvimento de distúrbios secundários com o aumento da temperatura interna dos frutos que pode levar a desordens de processos metabólicos essenciais, induzir ou expor outros pigmentos de ação antioxidante, como os carotenoides, a processos fotooxidativos. Assim, ao não atuarem efetivamente com suas capacidades protetoras, os sintomas dos distúrbios são exteriorizados, surgindo assim a escaldadura (Chitarra e Chitarra, 2005).

As plantas e seus frutos quando submetidas à condições de estresse abióticos (excesso de radiação solar, levadas temperaturas, déficit hídrico, entre outros), de

modo geral são capazes de ativar sistemas de defesa mediante sinalizações decorrentes de modificações fisiológicas induzidas pela ocorrência de estresses secundários como a produção excessiva de EROs e de outros compostos oxidativos (Maurer et al., 2017; Wang et al., 2019).

Os sistemas de defesa antioxidante atuantes nos vegetais podem ser enzimáticos, que mediante a atuação combina de diferentes enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), entre outras, converter moléculas tóxicas de EROs em formas menos prejudiciais às células (Racchi, 2013; Maurer et al., 2017; Wang et al., 2019). Já o sistema de defesa não-enzimático, é formado de componentes de baixo peso molecular como as vitaminas C (ascorbato) e E (α -tocoferol) e pigmentos como os carotenoides, cuja função se relaciona, principalmente, a foto proteção das células, impedindo processos oxidativo como a geração de EROs e a peroxidação lipídica (Martí et al., 2009; Racchi, 2013). Contudo, quando o nível de estresse excede o limite de atuação do sistema antioxidante, tem-se então o desenvolvimento dos distúrbios fisiológicos.

Ao se desenvolver em diversas espécies frutíferas e nos mais diferentes graus de intensidade, a escaldadura, independentemente da gravidade de seu desenvolvimento, pode gerar grandes perdas econômicas, pois os frutos com sintomas de escaldadura não atendem aos padrões de qualidade dos frutos destinados ao mercado interno e externo, além de terem seu valor nutricional e funcional reduzidos (Tsai et al., 2013; Ambrózy et al., 2016; Torres et al., 2016).

Diferentemente de estruturas especializadas para realizar a atividade fotossintética como as folhas, que devido a composição celular de suas estruturas, são mais eficientes na captação, utilização e dissipação da radiação luminosa, os frutos em sua maioria, não apresentam mecanismos e estruturas de resistência eficientes e destinados a promover o controle da ocorrência de distúrbios induzidos pela radiação solar, levando assim a danos econômicos em culturas diversas como, maçã, manga, videira, citros (Schrader et al., 2003; Ennab et al., 2017; El-Tanany et al., 2019). Sendo então os frutos mais severamente afetados devido a uma maior suscetibilidade à ocorrência das queimaduras solares, se comparados a outros órgãos vegetais, se faz necessária a busca por alternativas que promovam o controle da escaldadura.

2.4. Estratégias de controle da escaldadura

Determinante de perdas econômicas no decorrer da cadeia produtiva, a escaldadura sendo um distúrbio induzido pela combinação de radiação solar e temperaturas elevadas que afeta as atividades fisiológicas dos vegetais, é tradicionalmente controlada pelo uso de barreiras físicas que tem por objetivo impedir, reduzir ou refletir a radiação solar incidente sobre a superfície dos produtos hortícolas, mas que em alguns casos podem apresentar eficiência reduzida ou serem onerosas do ponto de vista econômico (Weerakkody et al., 2010; Ennab et al., 2017).

Dentre as barreiras físicas, a eficiência de telas de sombreamento no controle da radiação solar as potencializam para serem utilizadas no controle de escaldadura, mas principalmente com os objetivos de controlar as condições micro ambientais de iluminação, permitindo uma maior ou menor passagem da luz solar, variando com as especificações de cada tela protetora e de acordo com as necessidades da espécie vegetal cultivada (Mahmood et al., 2018; Rodrigues et al., 2019).

Em especial para as plantas que exigem horas de luz distintas ou intensidade luminosa específica, a luminosidade com uso de telas deve ser monitorada e ajustada para atender as necessidades da espécie vegetal em cada estágio de desenvolvimento. O uso de tais cobertura pode ainda ter por objetivo, a proteção física contra a ação de agentes climáticos deletérios, como a exemplo do uso de redes foto seletivas antigranizo, que apesar de não terem como finalidade principal o controle do distúrbio fisiológico, podem ser adaptadas para uso em algumas culturas de modo a reduzir a ocorrência de escaldadura (Reig et al., 2020). Embora de eficiência comprovada, o uso de tal medida exige a implementação de uma estrutura diferenciada e particular, o que possivelmente eleva os custos de sua implementação utilização e conseqüentemente pode onerar a produção.

Semelhantemente às telas de sombreamento, os revestimentos podem apresentar finalidades diversas quando aplicados na pré-colheita de produtos hortícolas. Estes podem ser utilizados para o controle de patógenos e manutenção de qualidade, bem como no intuito de formar barreiras à passagem ou reflexão da radiação solar, como argilas, caulim e dióxido de titânio (TiO₂). Desta forma, os

revestimentos ou coberturas podem ser utilizados no controle do desenvolvimento da escaldadura (Zaky, 2018; Anaya-Esparza et al., 2020; Sarooghinia et al., 2020).

A ação dos revestimentos compostos por suspensão de materiais refletores como o caulim e óxido de titânio (TiO_2), se baseia na evaporação da parte líquida da suspensão, geralmente com base em água, que após aplicação na pré-colheita sobre os frutos, evapora, permanecendo sobre a superfície apenas a fração sólida, formando uma cobertura clara, que funciona bloqueando e/ou refletindo a luz solar irradiante, protegendo as células vegetais dos resultados mais nocivos da radiação (Hosseiniabad & Khadivi, 2019; Sarooghinia et al., 2020). Os usos das coberturas formadas a partir de suspensões, em geral devido a sua solubilidade em água, podem apresentar maior suscetibilidade a serem removidas na ocorrência de chuvas ou mediante realização de tratos culturais.

De uso recorrente nos sistemas de cultivo de países como China e Japão, que possuem tradição no que se refere a oferta de produtos com qualidade diferenciada, o ensacamento de frutos, principalmente os de maior sensibilidade como pêssago, maçã e uva, é uma barreira física de proteção não apenas para o controle do desenvolvimento de escaldadura, como também promove efeitos positivos no controle de pragas, além de reduzir danos mecânicos e potencialmente promover a manutenção da aparência e consequente qualidade do frutos, permitindo melhores valores de mercado (Islam et al., 2017; Hamedi et al., 2019).

Estas e outras estratégias e métodos físicos de controle da ocorrência das queimaduras solares podem ser utilizadas nos diferentes pomares cultivados, entretanto, assim como qualquer outro processo implementado, podem apresentar desvantagem como a redução da eficiência ou custos elevados, sendo a escolha e utilização dos métodos dependente da capacidade de sua implementação pelos produtores e relação custo/benefício de seu uso.

No que se refere ao estudo da utilização de barreiras químicas para o controle do desenvolvimento do distúrbio escaldadura, este ainda são limitados se comparado as pesquisas de utilização de barreiras físicas, não havendo avaliação do uso de compostos foto protetores como as micoporinas tipo aminoácidos (MAAs) que em oposição ao impedimento ou reflexão da radiação solar das coberturas de ação física,

possivelmente podem atuar reduzindo a energia da radiação irradiante e consequentemente, seus efeitos deletérios (Bhatia et al., 2011).

2.5. Recobrimentos

Face aos prejuízos gerados pelas manifestações das injúrias na pré e pós-colheita, fica evidente a necessidade de proteção dos frutos, não apenas com a implementação de métodos para a proteção, mas também como conservadores dos atributos da qualidade adquiridos durante a produção. Assim, ao longo das últimas décadas tem-se ampliado os estudos sobre a criação e utilização de recobrimentos no setor de produção agrícola, principalmente na fruticultura.

De modo geral, os recobrimentos quando utilizados nos setores alimentícios podem ser definidos como embalagens primárias, compostas em sua maioria por substâncias químicas e/ou naturais que quando aplicados sobre a superfície dos frutos formam uma camada, com o intuito de protegê-los contra danos, atuando como uma barreira a ação de agentes externos e auxiliar na manutenção de sua qualidade, sendo biodegradáveis e seguros para o consumo (Acevedo-Fani et al., 2015; Galus e Kadzinska, 2015; Yimenu et al., 2017; Zambrano-Zaragoza et al., 2018).

Elaborados a partir de matérias-primas diversas, os recobrimentos biodegradáveis são formulados ante a identificação e tentativa de solucionar os problemas de qualidade, sanidade e/ou tempo de prateleira que interferem na aceitação de produtos do gênero alimentício, principalmente produtos hortícolas como frutos e hortalças, pelos consumidores, além de buscarem atender a novas demandas de mercado, com o aumento da procura por produtos naturais (Chiumarelli e Hubinger, 2014; Motamedi et al., 2018; Zambrano-Zaragoza et al., 2018; Hasan et al., 2020; Wu et al., 2019).

Os recobrimentos são produzidos a partir de polissacarídeos (amidos, celulose, quitina, etc), lipídicos (óleos e ceras) e proteínas (colágeno, caseína, etc) que compõem as diferentes matrizes para a elaboração das formulações biodegradáveis. Em função de sua composição, estes podem conferir características como plasticidade, hidrofobicidade e resistência, além de funções específicas como a formação de barreiras para redução da perda de água e atividade respiratória, como

pontos principais de qualidade dos revestimentos (Singh et al., 2016; Oh et al., 2017; Minh et al., 2019). Além disso, essas matrizes possibilitam a incorporação de outros componentes que frente às necessidades, podem proporcionar qualidades adicionais como promotores de sanidade (atividade antimicrobiana e barreiras protetoras), ou ainda enriquecimento nutricional e/ou funcional do produto (adição componentes benéficos aos consumidores, processamento) (Oh et al., 2017; Minh et al., 2019; Sharma et al., 2019; Pellá et al., 2020).

2.5.1. Base lipídica

Utilizados como componentes na confecção de recobrimentos biodegradáveis, seja como base de formação ou aditivo, os lipídeos podem desempenhar funções diversas dentro da matriz emulsionada das misturas que darão origem aos recobrimentos. Oriundos de fontes e utilizados de formas diversas, os compostos lipídicos, como por exemplo as ceras de abelha (Oliveira et al., 2018; Baswal et al., 2020) e de carnaúba (Zhang et al., 2018; Motamedi et al., 2018) e dos óleos vegetais (Oh et al., 2017; Wu et al., 2019), têm sido empregados na produção de recobrimentos alimentícios comestíveis dada sua segurança para o consumo humano e para o meio ambiente.

Além de sua eficiência na formação de barreiras à passagem de gases, que podem reduzir a atividade respiratória, e umidade, graças às suas características hidrofóbicas, alguns tipos lipídicos como as ceras conferem maior resistência mecânica aos recobrimentos, bem como algumas variedades lipídicas podem apresentar propriedades antimicrobianas, tais como os óleos de coco (Nasrin et al., 2020), canela (Black-Solis et al., 2019) e gengibre, contribuindo para manutenção dos aspectos de qualidade exigidos pelos mercados (Ncama et al., 2018; Ju et al., 2019; Morais et al., 2019; Ban et al., 2020).

Dada a natureza hidrofóbica dos componentes lipídicos, no processo de formulação dos recobrimentos existe a necessidade de se adicionar outros compostos que funcionem como surfactantes, compostos de moléculas anfífilas, como a lecitina de soja (Dias et al., 2013), os polissorbatos (Deng et al., 2017) e o ácido oléico (Chauhan et al., 2015). O efeito emulsificante dos compostos surfactantes se

relacionam ao equilíbrio entre as partes hidrofílicas e lipofílicas, denominado equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL), e representa a afinidade maior que estes podem apresentar para lipídeos ou água, assim, quanto maior o valor do EHL, maior afinidade deste surfactante pela água, sendo assim mais utilizados e adequados para produzir emulsões óleo em água (Martin et al., 2018; Farooq et al., 2019; Lian et al., 2019). Entretanto, algumas vezes é necessário ajustar o EHL misturando-se mais de um surfactante, geralmente um com maior e outro com menor EHL, de modo a formar um equilíbrio suficiente para formar uma emulsão estável.

Estes componentes anfílicos favorecem a formação de uma mistura homogênea e estável entre estes e os demais componentes hidrofílicos que compõem a mistura. A diminuição do tamanho dos coloides lipídicos na fase aquosa propicia maior estabilidade e favorece positivamente outros parâmetros de qualidade dos recobrimentos produzidos, devendo-se levar em consideração a compatibilidade dos componentes e os métodos adequados para desenvolver as etapas de fundição, homogeneização e secagem necessárias para produção de um recobrimento eficiente pela utilização dos métodos de emulsificação dos componentes, em sua maioria operando através de diferentes técnicas como o uso de homogeneização com rotor-extrator, microfluidização e/ou sonificação (Deng et al., 2017; Hassan et al., 2018; Jahan et al., 2020; Norcino et al., 2020).

2.6. Radiação ultravioleta (UV) e micosporinas tipo aminoácidos (MAAs)

A radiação UV compreende aos comprimentos de onda de luz invisível do espectro eletromagnético, entre as faixas de 200 nm (raio X) e 400 nm (luz visível), podendo ser dividido em três classes: UV-A (400 – 320nm), UV-B (320 – 280nm) e UV – C (280 – 200nm), sendo a radiação UV-C retida na atmosfera ao ser absorvida pela camada de ozônio (Urban et al., 2016; Xie et al., 2016). De modo geral, a radiação UV, principalmente UV-B, exerce efeitos deletérios aos sistemas fisiológicos dos vegetais, seja induzindo a produção das ERO ou provocando danos aos fotossistemas (PSI e PSII) ao afetarem os centros de reações e de transportes de elétrons, o que resulta nos danos visíveis que inviabilizam a comercialização de produtos agrícolas (Glenn, 2018).

Utilizados na indústria de cosméticos como aditivo para compor produtos foto protetores, as micosporinas tipo aminoácido (MAAs) são compostos orgânicos extraídos de organismos marinhos, sendo constituídos por aminoácidos modificados que apresentam no centro de sua cadeia molecular um anel aromático, aminociclohexenimina, o que propicia uma maior facilidade para absorver as radiações na faixa ultravioleta (UV), sendo esta substância uma alternativa viável para compor formulações com finalidade de filtrar a luz solar, podendo desempenhar ainda uma função antioxidante, o que pode contribuir para controlar o desenvolvimento de escaldadura em frutos (Fernandes et al., 2015; D'agostino et al., 2016; Shukla et al., 2016; Chrapusta et al., 2017; Geraldles et al., 2020).

As MAAs são moléculas hidrofílicas pequenas de metabolitos secundários que apresentam a capacidade de absorver e dissipar a radiação solar irradiada, geralmente entre os comprimentos de onda 310 e 360 nm, ou em comprimentos menores ou maiores dentro do espectro UV, dependendo do tipo da micosporina (micosporina-glicina, porphyrina, etc) (Figura 1) (Dunlap & Yamamoto, 1995; Libkind et al., 2005; Singh et al., 2008).

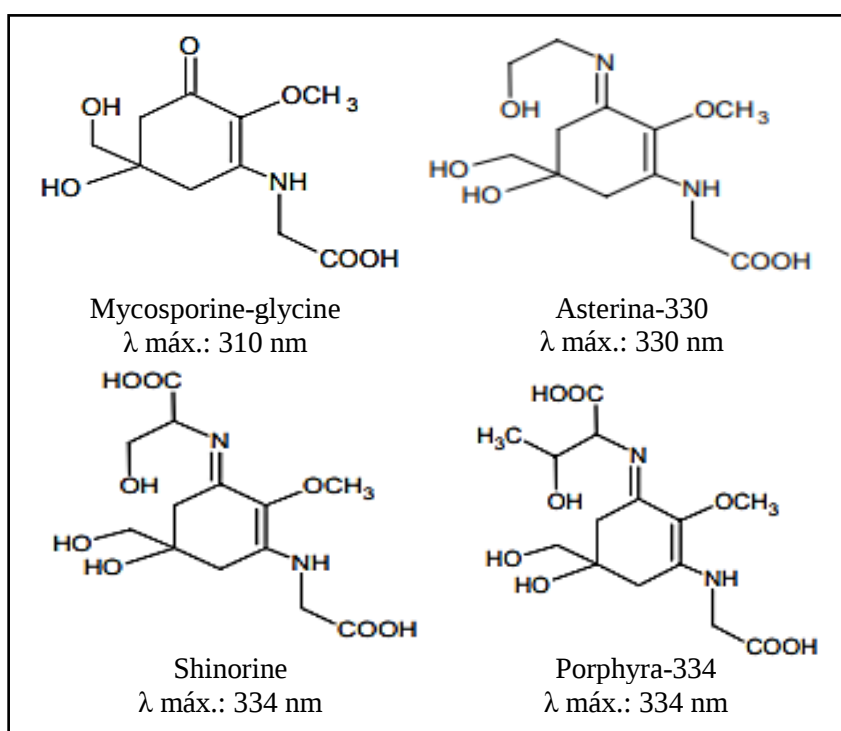


Figura 1. Estrutura molecular e comprimento de onda de absorção máxima de MAAs.
Fonte: Singh et al. (2008).

As MAAs atuam absorvendo a radiação de comprimento de onda mais curto e mais energético do espectro visível e a radiação UV, sendo o excesso energético absorvido e dissipado na forma de calor sem comprometer as estruturas celulares sensíveis aos efeitos deletérios da radiação. Além disso, as MAAs inibem a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), produzidas a partir da redução do oxigênio molecular (O₂) pelo escape de elétrons durante transporte em cadeia, sendo este convertido em moléculas altamente reativas como o ânion superóxido (O₂•⁻), radical hidroxila (•OH), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), entre outros (Sharma et al., 2012). Com isso os processos deletérios como a peroxidação de lipídeos e oxidação de estruturas essenciais são minimizados, além de se inibir a formação de fotodímeros como o 6-4PPs (6-4 Pirimidina-Pirimidona), agente deletério da estrutura da molécula de DNA (Dunlap & Yamamoto, 1995; Garinis et al., 2006; Fuentes-Tristan et al., 2019).

Conforme exposto anteriormente, as MMAs vêm sendo exploradas comercialmente na forma de produtos para cuidados para a pele expostas ao sol e em outros materiais não biológicos (Bandar-Anayake, 1998). Desta forma, novas técnicas de extração foram desenvolvidas com finalidade comercial para a exploração de compostos análogos, tais como a micosporina-glicina e o 3-alquilamino-2-metoxiciclohex-2-enonas (Bhatia et al., 2011; Richa et al., 2011; Hadagalli et al., 2020). Todavia, ainda não foram encontradas aplicações dos MAAs para o controle de escaldaduras em frutos.

2.6.1. Helioguard™ 365

O Helioguard™ 365 é um produto comercial produzido pelo grupo Mibelle Biochemistry na Suíça. Na indústria de cosméticos este produto é utilizado como aditivo de finalidade fotoprotetora em formulações destinadas à proteção da pele humana exposta à radiação solar. Sua ação protetora contra os efeitos da radiação UV se deve à presença de compostos conhecidos como MAAs em sua composição.

A ação fotoprotetora deste produto é atribuída a atuação das MAAs, principalmente da porfira-334 e shinorina. Estes compostos têm capacidade de absorção máxima de 335 nm (UV-B) e são sintetizados pela alga vermelha denominada porfira (*Porphyra umbilicalis*). No Helioguard™ 365 estes compostos

estão presentes na forma de extrato seco (1,25%). Além do extrato orgânico, o Helioguard™ 365 é formulado contendo água, emulsificante, estabilizante e conservante, lecitina de soja, lactato de sódio e fenoxietanol, respectivamente (SDS Ref.: 0830-XXX, 2016).

A recomendação para o uso deste produto é de no máximo 5% na forma de aditivo, pois há comprovação de sua ampliação na absorção da radiação na região do UV e este pode, possivelmente, atuar como um aditivo fotoprotetor fonte de MAAs a compostos outros de proteção solar destinados a organismos sensíveis, como os vegetais. Entretanto, sua incorporação a soluções deve respeitar alguns fatores de modo a garantir a atividade e estabilidade das MAAs, como o limite de temperatura máxima de 50°C e o pH tendendo à neutralidade (5 a 8) (SDS Ref.: 0830-XXX, 2016), sendo então necessária a avaliação de tais soluções para adição das MAAs.

Desta forma, este projeto tem por objetivo geral desenvolver recobrimentos contendo micosporina tipo aminoácido (MAA), mediante adição do produto comercial Helioguard™ 365 fonte de MAAs, para uso na pré-colheita dos frutos de laranja, sendo estes comparados com a pulverizações com Ca(OH)_2 e, por objetivos específicos: i. verificar as características fotoprotetoras deste recobrimento, ii. comparar a eficiência deste recobrimento em relação a de hidróxido de cálcio, iii. avaliar a qualidade e determinar os biomarcadores fisiológicos relacionados aos aspectos químicos e bioquímicos (metabolismo oxidativo) dos frutos submetidos a estes tratamentos.

3. Referências

Acevedo-Fani, A., Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M. A., & Martín-Belloso, O. (2015). Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. **Food Hydrocolloids**, 47, 168-177.

Akande, S. B., Adeniyi, M. A., Adebunmi, A. A., Oluwajide, O. O., & Ogunnaike, O. O. (2017). Comparative effectiveness of chemical biocides and *Acalypha wilkesiana* leaf extract against postharvest fungal deteriorogens of sweet orange (*Citrus sinensis*) fruits. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, 4(2), 143-152.

Akusu, O. M., Kiin-Kabari, D. B., & Ebere, C. O. (2016). Quality characteristics of orange/pineapple fruit juice blends. **American Journal of Food Science and Technology**, 4(2), 43-47.

Almeida, J. M. (2019). **Identificação e quantificação de compostos bioativos em diferentes variedades de laranjas.**

Ambrózy, Z. S., Daood, H., Nagy, Z. S., Ledó, H. D., & Helyes, L. (2016). Effect of net shading technology and harvest times on yield and fruit quality of sweet pepper. **Applied Ecology and Environmental Research**, 14(1), 99-109.

Anaya-Esparza, L. M., Villagrán-de la Mora, Z., Ruvalcaba-Gómez, J. M., RomeroToledo, R., Sandoval-Contreras, T., Aguilera-Aguirre, S., ... & Pérez-Larios, A. (2020). Use of Titanium Dioxide (TiO₂) Nanoparticles as Reinforcement Agent of Polysaccharide-Based Materials. **Processes**, 8(11), 1395.

Andrews, P. K., Johnson, J. R., Fahy, D., & Gish, N. (1999). Sunburn protection in apples with ascorbic acid. **Le Fruit Belge**, 481, 157–161.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2018 (2018). Santa Cruz do Sul: Editora gazeta, 2018. 88 p.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI 2019 (2018). Santa Cruz do Sul: Editora gazeta, 96 p.

Ban, Z. et al (2020). Ginger essential oil-based microencapsulation as an efficient delivery system for the improvement of Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit quality. **Food chemistry**, 306, 125628.

Bandaranayake, W. M. (1998). Traditional and medicinal uses of mangroves. **Mangroves and Salt Marshes**, 2, 133-148.

Bastos, D. C. et al. (2014). **Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira.** EMBRAPA Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE).

Baswal, A. K., Dhaliwal, H. S., Singh, Z., Mahajan, B. V. C., Kalia, A., & Gill, K. S. (2020). Influence of carboxy methylcellulose, chitosan and beeswax coatings on cold storage life and quality of Kinnow mandarin fruit. **Scientia Horticulturae**, 260, 108887.

Bhatia, S., Garg, A., Sharma, K., Kumar, S., Sharma, A., & Purohit, A. P. (2011). Mycosporine and mycosporine-like amino acids: A paramount tool against ultra violet irradiation. **Pharmacognosy Reviews**, 5(10), 138.

Black-Solis, J., Ventura-Aguilar, R. I., Correa-Pacheco, Z., Corona-Rangel, M. L., & Bautista-Baños, S. (2019). Preharvest use of biodegradable polyester nets added with cinnamon essential oil and the effect on the storage life of tomatoes and the development of *Alternaria alternata*. **Scientia Horticulturae**, 245, 65-73.

Cenci, Sérgio Agostinho; Soares, Antônio Gomes; Freire Junior, Murillo. **Manual de perdas pós-colheita em frutos e hortaliças.** Rio de Janeiro: EMBRAPACTAA, 1997. 29p. (EMBRAPA-CTAA. Documentos, 27).

Chabbal, M. D., Piccoli, A. B., Martínez, G. C., Avanza, M. M., Mazza, S. M., & Rodríguez, V. A. (2014). Aplicaciones de caolín para el control del golpe de sol en mandarino 'Okitsu'. **Cultivos Tropicales**, 35, 1, 50-56.

Chauhan, O. P., Nanjappa, C., Ashok, N., Ravi, N., Roopa, N., & Raju, P. S. (2015). Shellac and Aloe vera gel based surface coating for shelf life extension of tomatoes. **Journal of food science and technology**, 52(2), 1200-1205.

Chitarra, Maria Isabel Fernandes; Chitarra, Adimilson Bosco (2005). **Pós-colheita de Frutos e Hortaliças**. Fisiologia e Manuseio. 2 ed. Lavras: FAEPE, p. 785.

Chiumarelli, Marcela; Hubinger, Miriam D (2014). Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. **Food hydrocolloids**, 38, 20-27.

Chrapusta, E., Kaminski, A., Duchnik, K., Bober, B., Adamski, M., & Bialczyk, J. (2017). Mycosporine-like amino acids: Potential health and beauty ingredients. **Marine drugs**, 15(10), 326.

CitrusBR. Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos. **Mercado Externo: Estatísticas de Exportação**. Acesso em: 01 de junho de 2020. Disponível em: <<http://www.citrusbr.com/mercadoexterno/>>.

D'Agostino, P. M., Javalkote, V. S., Mazmouz, R., Pickford, R., Puranik, P. R., & Neilan, B. A. (2016). Comparative profiling and discovery of novel glycosylated mycosporinelike amino acids in two strains of the cyanobacterium *Scytonema cf. crispum*. **Applied and environmental microbiology**, 82(19), 5951-5959.

Davies, F. S., & Albrigo, L. G. (1994). **Rootstocks**. Athern, J., Rees. A.(Eds.), Citrus. CAB International, Wallingford, UK, 254p.

de Moura Guerra, A. M. N., Costa, A. C. M., Ferreira, J. B. A., Tavares, P. R. F., Vieira, T. S., & de Medeiros, A. C. (2017). Avaliação das principais causas de perdas póscolheita de hortaliças comercializadas em Santarém, Pará. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 12(1), 34-40.

Deng, Z., Jung, J., Simonsen, J., & Zhao, Y. (2017). Cellulose nanomaterials emulsion coatings for controlling physiological activity, modifying surface morphology, and enhancing storability of postharvest bananas (*Musa acuminata*). **Food chemistry**, 232, 359-368.

Dias, T. P., Grosso, C. R., Andreuccetti, C., Carvalho, R. A. D., Galicia-García, T., & Martinez-Bustos, F. (2013). Effect of the addition of soy lecithin and *Yucca schidigera* extract on the properties of gelatin and glycerol based biodegradable films. **Polímeros**, 23(3), 339-345.

Donadio, L. C., Lederman, I. E., Roberto, S. R., & Stucchi, E. S. (2019). Dwarfing canopy and rootstock cultivars for fruit trees. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 41(3).

DPI - DEPARTMENT OF PRIMARY INDUSTRIES. **Agriculture**, 2006. Disponível em: mcg.

Emmanouilidou, M. G., & Kyriacou, M. C. (2017). Rootstock-modulated yield performance, fruit maturation and phytochemical quality of 'Lane Late' and 'Delta' sweet orange. **Scientia horticulturae**, 225, 112-121.

Ennab, H. A., El-Sayed, S. A., & El-Enin, M. A. (2017). Effect of kaolin applications on fruit sunburn, yield and fruit quality of Balady mandarin (*Citrus reticulata*, Blanco). **Menoufia J. Plant Prod**, 2(4), 129-138.

FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **World Food Situation**, 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/worldfoodsituation/en/>. Acesso em: 24 de abril de 2020.

Farag, K. M., Elsabagh, A. S., Nagy, N. M., & Mekkawy, O. M. (2019). Field Applications for Color Enhancement of 'Valencia' Oranges while Reducing Leaf Abscission. **Middle East J**, 8, 4, 1253-1263.

Farooq, A., Shafaghat, H., Jae, J., Jung, S. C., & Park, Y. K. (2019). Enhanced stability of bio-oil and diesel fuel emulsion using Span 80 and Tween 60 emulsifiers. **Journal of environmental management**, 231, 694-700.

Fava Neves, M., Trombin, V., Milan, P., Lopes, F., Cressoni, F., & Kalaki, R. (2011). **O retrato da citricultura brasileira. FEA/USP**. Disponível em: http://issuu.com/CitrusBR/docs/retrato_citricultura_brasileira_marcos_fava_neves/1. Acesso em: 26 de fevereiro de 2021.

Fernandes, S. C., Alonso-Varona, A., Palomares, T., Zubillaga, V., Labidi, J., & Bulone, V. (2015). Exploiting Mycosporines as Natural Molecular Sunscreens for the Fabrication of UV-Absorbing Green Materials. **ACS Applied Materials and Interfaces**, 7, 30, 7.

Fischer, I. H., Toffano, L., Lourenço, S. A., & Amorim, L. (2007). Caracterização dos danos pós-colheita em citros procedentes de "packinghouse". **Fitopatologia Brasileira**, 32(4), 304-310.

Flora do Brasil 2020 em construção. Rutaceae. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB212>. Acesso em: 01 jun. 2020.

Fuentes-Tristan, S., Parra-Saldivar, R., Iqbal, H. M., & Carrillo-Nieves, D. (2019). Bioinspired biomolecules: Mycosporine-like amino acids and scytonemin from *Lyngbya* sp. with UV-protection potentialities. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 201, 111684.

Galus, Sabina; Kadzińska, Justyna (2015). Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science & Technology**, 45, 2, 273-283.

Garinis, G. A., Jans, J., & Van Der Horst, G. T. (2006). Photolyases: capturing the light to battle skin cancer. **Future oncology**, 2, 2, 191-199.

Geraldes, V., de Medeiros, L. S., Jacinavicius, F. R., Long, P. F., & Pinto, E. (2020). Development and validation of a rapid LC-MS/MS method for the quantification of mycosporines and mycosporine-like amino acids (MAAs) from cyanobacteria. **Algal Research**, 46, 101796.

Glenn, D. M. (2018). Effect of ultraviolet radiation environment on leaf quantum efficiencies and photosynthesis for tropical and temperate species. **International Journal of Fruit Science**, 18(1), 37-44.

Glenn, D. Michael & Puterka, Gary J (2005). Particle films: a new technology for agriculture. **Horticultural reviews**, 31, 1-44.

Gmitter, F. G., & Hu, X. (1990). The possible role of Yunnan, China, in the origin of contemporary Citrus species (Rutaceae). **Economic Botany**, 44(2), 267-277.

Hadagalli, K., Kumar, R., Mandal, S., & Basu, B. (2020). Structural, compositional and spectral investigation of prawn exoskeleton nanocomposite: UV protection from mycosporine-like amino acids. **Materials Chemistry and Physics**, 123002.

Hamed Sarkomi, F., Moradinezhad, F., & Khayyat, M. (2019). Pre-harvest bagging influences sunburn, cracking and quality of pomegranate fruits. **Journal of Horticulture and Postharvest Research**, 2(2), 131-142.

Hasan, S. K., Ferrentino, G., & Scampicchio, M. (2020). Nanoemulsion as advanced edible coatings to preserve the quality of fresh-cut fruits and vegetables: a review. **International Journal of Food Science & Technology**, 55(1), 1-10.

Hassan, B., Chatha, S. A. S., Hussain, A. I., Zia, K. M., & Akhtar, N. (2018). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, 109, 1095-1107.

Hofman, PJ, Smith, LG, Joyce, DC, Johnson, GI, & Meiburg, GF (1997). Bagging of mango (*Mangifera indica* cv. Keitt') fruit influences fruit quality and mineral composition. **Postharvest Biology and Technology**, 12, 1, 83-91.

Hosseinabad, A., & Khadivi, A. (2019). Foliar application of kaolin reduces the incidence of sunburn in 'Thompson Seedless' grapevine. **European Journal Of Horticultural Science**, 84(3), 171-176.

Huan, C., Jiang, L., An, X., Yu, M., Xu, Y., Ma, R., & Yu, Z. (2016). Potential role of reactive oxygen species and antioxidant genes in the regulation of peach fruit development and ripening. **Plant Physiology and Biochemistry**, 104, 294-303.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal, 2019**. Disponível: <https://loja.ibge.gov.br/>. Acesso em maio de 2020.

Islam, M. T., Rahman, M. S., Shamsuzzoha, M., & Chowdhury Akmmmb, A. R. (2017). Influence of pre-harvest bagging on fruit quality of Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Mishribhog. **International Journal of Biosciences**, 11(3), 59-68.

Jahan, R., Bodratti, A. M., Tsianou, M., & Alexandridis, P. (2020). Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: Physicochemical properties and applications. **Advances in colloid and interface science**, 275, 102061.

Ju, J., et al. (2019). Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, 92, 22-32.

Kitinoja, L., & Kader, A. A. (2015). Measuring postharvest losses of fresh fruits and vegetables in developing countries. **PEF White Paper**, 15-02.

Lal, Narayan & Sahu, Nisha (2017). Management Strategies of Sun Burn in Fruit Crops-A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 6, 6, 1126-1138.

Lemos, L. M. C., Siqueira, D. L. D., Salomão, L. C. C., Cecon, P. R., & Lemos, J. P. (2012). Características físico-químicas da Laranja-Pera em função da posição na copa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 34(4), 1091-1097.

Lian, H., Peng, Y., Shi, J., & Wang, Q. (2019). Effect of emulsifier hydrophilic-lipophilic balance (HLB) on the release of thyme essential oil from chitosan films. **Food Hydrocolloids**, 97, 105213.

Libkind, D., Sommaruga, R., Zagarese, H., & van Broock, M. (2005). Mycosporines in carotenogenic yeasts. **Systematic and applied microbiology**, 28, 8, 749-754.

Liu, Shiguang; Fan, Dongfang (2015). Computer Modeling and Simulation of Fruit Sunscald. **International Journal of Image and Graphics**, 15, 03, 13.

Liu, Yuqiu; Heying, Emily; Tanumihardjo, Sherry A (2012). History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. **Comprehensive reviews in Food Science and Food safety**, 11, 6, 530-545.

Lopes, J. M. S. et al. (2011). Importância econômica dos citros no Brasil. **Revista Científica de Agronomia**, Garça-SP, 2(2), 1-4.

Lopes, O. P., Maia, V. M., Santos, S. R. D., Mizobutsi, G. P., & Pegoraro, R. F. (2014). Proteções contra queima solar de frutos de abacaxizeiro submetido a diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 36, 3, 748-754. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-273/13>.

Mahmood, A., Hu, Y., Tanny, J., & Asante, E. A. (2018). Effects of shading and insectproof screens on crop microclimate and production: A review of recent advances. **Scientia Horticulturae**, 241, 241-251

Mari, Marta; Di Francesco, Alessandra; Bertolini, Paolo (2014). Control of fruit postharvest diseases: old issues and innovative approaches. **Stewart Postharvest Review**, 10, 1, 1-4.

Martin, M. J., Trujillo, L. A., Garcia, M. C., Alfaro, M. C., & Muñoz, J. (2018). Effect of emulsifier HLB and stabilizer addition on the physical stability of thyme essential oil emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, 39(11), 1627-1634.

Martins, C. R., de Carvalho, H. W. L., Teodoro, A. V., de Barros, I., de Carvalho, L. M., dos Santos Soares Filho, W., & Passos, O. S. (2020). Performance of the pineapple proxima eet orange on different rootstocks. **Bioscience Journal**, 36(2).

Maurer, L. H., Bersch, A. M., Santos, R. O., Trindade, S. C., Costa, E. L., Peres, M. M., ... & Emanuelli, T. (2017). Postharvest UV-C irradiation stimulates the non-enzymatic and enzymatic antioxidant system of 'Isabel' hybrid grapes (*Vitis labrusca* × *Vitis vinifera* L.). **Food research international**, 102, 738-747.

Minh, N. P., Vo, T. T., Trung, Q. V., Van Bay, N., & Loc, H. T. (2019). Application Of Cmc, Xanthan Gum As Biodegradable Coating On Storage Of Rambutan (*Nephelium Lappaceum*) Fruit. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 11(3), 10631067.

Morais, F. A. D. et al. (2020). Agar and pomegranate seed oil used in a biodegradable coating composition for Formosa papaya. **Food Science and Technology**, 40, 280286.

Motamedi, E., Nasiri, J., Malidarreh, T. R., Kalantari, S., Naghavi, M. R., & Safari, M. (2018). Performance of carnauba wax-nanoclay emulsion coatings on postharvest quality of 'Valencia' orange fruit. **Scientia Horticulturae**, 240, 170-178.

Naschitz, S., Naor, A., Sax, Y., Shahak, Y., & Rabinowitch, H. D. (2015). Photooxidative sunscald of apple: effects of temperature and light on fruit peel photoinhibition, bleaching and short-term tolerance acquisition. **Scientia Horticulturae**, 197, 5-16.

Nasrin, T. A. A., Rahman, M. A., Arfin, M. S., Islam, M. N., & Ullah, M. A. (2020). Effect of novel coconut oil and beeswax edible coating on postharvest quality of lemon at ambient storage. **Journal of Agriculture and Food Research**, 2, 100019.

Ncama, K., Magwaza, L. S., Mditshwa, A., & Tesfay, S. Z. (2018). Plant-based edible coatings for managing postharvest quality of fresh horticultural produce: A review. **Food packaging and shelf life**, 16, 157-167.

Norcino, L. B., Mendes, J. F., Natarelli, C. V. L., Manrich, A., Oliveira, J. E., & Mattoso, L. H. C. (2020). Pectin films loaded with copaiba oil nanoemulsions for potential use as bio-based active packaging. **Food Hydrocolloids**, 105862.

Oh, Y. A., Oh, Y. J., Song, A. Y., Won, J. S., Song, K. B., & Min, S. C. (2017). Comparison of effectiveness of edible coatings using emulsions containing lemongrass oil of different size droplets on grape berry safety and preservation. **LWT**, 75, 742-750.

Oliveira, N. A. de S., Winkelmann, D. O. V., & Tobal, T. M. (2019). Farinhas e subprodutos da laranja sanguínea-de-mombuca: caracterização química e aplicação em sorvete. **Brazilian Journal of Food Technology**, 22, e2018246. Epub June 13, 2019. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.24618>

Oliveira, V. R. L., Santos, F. K. G., Leite, R. H. L., Aroucha, E. M. M., & Silva, K. N. O. (2018). Use of biopolymeric coating hydrophobized with beeswax in post-harvest conservation of guavas. **Food chemistry**, 259, 55-64.

Pellá, M. C., Silva, O. A., Pellá, M. G., Beneton, A. G., Caetano, J., Simões, M. R., & Dragunski, D. C. (2020). Effect of gelatin and casein additions on starch edible biodegradable films for fruit surface coating. **Food chemistry**, 309, 125764.

Pereira, G. D. S., Machado, F. L. D. C., & Costa, J. M. C. D. (2014). Application of coating extends postharvest quality in the Valencia Delta orange during ambient storage. **Revista Ciência Agrônômica**, 45(3), 520-527.

Racchi, M. L. (2013). Antioxidant defenses in plants with attention to Prunus and Citrus spp. **Antioxidants**, 2(4), 340-369.

Reig, G., Donahue, D. J., & Jentsch, P. (2020). The Efficacy of Four Sunburn Mitigation Strategies and Their Effects on Yield, Fruit Quality, and Economic Performance of Honeycrisp Cv. Apples under Eastern New York (USA) Climatic Conditions. **International Journal of Fruit Science**, 20(3), 541-561

Richa, R. R., Kumari, S., Singh, K. L., Kannaujiya, V. K., Singh, G., Keshari, M., & Sinha, R. P. (2011). Biotechnological potential of mycosporine-like amino acids and phycobiliproteins of cyanobacterial origin. **Biotechnol Bioinform Bioeng**, 1, 159-171.

Rodrigues, N. S., da Silva Alves, M. A., Bofinger, J., & Freitag, R (2019). Influência da radiação solar modificada por túneis baixos de sombrite no cultivo da alface (*Lactuca Sativa* L.). **Tópicos em Ciências Agrárias**, 3, 29.

- Rodriguez, J., Anoruo, A., Jifon, J., & Simpson, C. (2019). Physiological Effects of Exogenously Applied Reflectants and Anti-Transpirants on Leaf Temperature and Fruit Sunburn in Citrus. **Plants**, 8, 12, 549.
- Sadka, A., Shlizerman, L., Kamara, I., & Blumwald, E. (2019). Primary metabolism in citrus fruit as affected by its unique structure. **Frontiers in plant science**, 10, 1167.
- Sarooghinia, F., Khadivi, A., Abbasifar, A., & Khaleghi, A. (2020). Foliar Application of Kaolin to Reduce Sunburn in 'Red Delicious' Apple. **Erwerbs-Obstbau**, 62(1), 83-87.
- Schrader, Larry E. (2011). Scientific Basis of a Unique Formulation for Reducing Sunburn of Fruits. **Horticultural Science**, 46, 1, 11.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, 2012, 26.
- Sharma, P., Shehin, V. P., Kaur, N., & Vyas, P. (2019). Application of edible coatings on fresh and minimally processed vegetables: a review. **International Journal of Vegetable Science**, 25(3), 295-314.
- Shukla, V., Kumari, R., Patel, D. K., & Upreti, D. K. (2016). Characterization of the diversity of mycosporine-like amino acids in lichens from high altitude region of Himalaya. **Amino acids**, 48(1), 129-136
- Singh, S. P., Kumari, S., Rastogi, R. P., Singh, K. L., & Sinha, R. P. (2008). Mycosporine-like amino acids (MAAs): chemical structure, biosynthesis and significance as UV-absorbing/screening compounds. **Indian Journal of Experimental Biology**, 46, 7-17.
- Singh, S., Khemariya, P., Rai, A., Rai, A. C., Koley, T. K., & Singh, B. (2016). Carnauba wax-based edible coating enhances shelf-life and retain quality of eggplant (*Solanum melongena*) fruits. **LWT**, 74, 420-426.
- Teixeira, G. H. D. A., Morelli, L., Ma, S., Stewart, A., & O'Keefe, S. F. (2019). Photoprotective effect of mycosporine-like aminoacids extracts on natamycin, saffron carotenoids and epigallocatechin gallate in acidified beverages exposed to different light sources. **International Journal of Food Science & Technology**, 54(2), 440-450.
- Torres, C. A., Sepúlveda, A., Leon, L., & Yuri, J. A. (2016). Early detection of sun injury on apples (*Malus domestica* Borkh.) through the use of crop water stress index and chlorophyll fluorescence. **Scientia horticulturae**, 211, 336-342.
- Tsai, MS, Lee, TC e Chang, PT (2013). Comparison of paper bags, calcium carbonate, and shade nets for sunscald protection in 'Murcott' tangor fruit. **HortTechnology**, 23, 5, 659-667.

Urban, L., Charles, F., de Miranda, M. R. A., & Aarrouf, J. (2016). Understanding the physiological effects of UV-C light and exploiting its agronomic potential before and after harvest. **Plant Physiology and Biochemistry**, 105, 1-11.

Vavilov, N. I. (1950). The phytogeographic basis of plant breeding. The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants. **Chronica Botanica**, 13, 1-6.

Wang, H., Wu, Y., Yu, R., Wu, C., Fan, G., & Li, T. (2019). Effects of postharvest application of methyl jasmonate on physicochemical characteristics and antioxidant system of the blueberry fruit. **Scientia Horticulturae**, 258, 108785.

Weerakkody, P., Jobling, J., Infante, M. M. V., & Rogers, G. (2010). The effect of maturity, sunburn and the application of sunscreens on the internal and external qualities of pomegranate fruit grown in Australia. **Scientia horticulturae**, 124(1), 5761.

Wu, D., Lu, J., Zhong, S., Schwarz, P., Chen, B., & Rao, J. (2019). Effect of chitosan coatings on physical stability, antifungal and mycotoxin inhibitory activities of lecithin stabilized cinnamon oil-in-water emulsions. **LWT**, 106, 98-104.

Xie, Z. et al. (2016). Preharvest ultraviolet-C irradiation: Influence on physicochemical parameters associated with strawberry fruit quality. **Plant Physiology and Biochemistry**, 108, 337-343.

Yimenu, Samuel Mezemir; Abera, Solomon; Solomon, W. K. (2017). Effect of bee wax and linseed oil coatings and frequency of dipping on the biochemical and organoleptic quality of fresh orange juice (*Citrus sinensis* cv. Valencia). **Journal of Postharvest Technology**, 5, 2, 17-28.

Zaky, M. A. (2018). Impact of spraying some chemical substances on controlling sunburn of Balady mandarin fruits. **Egyptian Journal of Horticulture**, 45(2), 229-236.

Zambrano-Zaragoza, M. L., González-Reza, R., Mendoza-Muñoz, N., MirandaLinares, V., Bernal-Couoh, T. F., Mendoza-Elvira, S., & Quintanar-Guerrero, D. (2018). Nanosystems in edible coatings: A novel strategy for food preservation. **International journal of molecular sciences**, 19(3), 705.

Zhang, Y., Simpson, B. K., & Dumont, M. J. (2018). Effect of beeswax and carnauba wax addition on properties of gelatin films: A comparative study. **Food bioscience**, 26, 88-95.

CAPÍTULO 2 - Recobrimentos lipídicos e adição de micosporinas tipo aminoácido como barreira química a radiação UV para o controle de escaldadura na pré-colheita de produtos hortícolas

RESUMO - A escaldadura é um distúrbio fisiológico que ocorre em muitos produtos hortícolas quando expostos à altas temperaturas e excesso de radiação solar. Tradicionalmente a escaldadura é contornada com uso de barreiras físicas que refletem a radiação, contudo esta prática nem sempre é eficiente. Uma possível alternativa seria o uso de barreiras químicas como as micosporinas tipo aminoácido (MAA) que protegem os organismos aquáticos contra as radiações ultravioleta (UV). Desta forma, este trabalho teve por objetivo desenvolver uma emulsão de base lipídica contendo MAA para uso na pré-colheita de produtos hortícolas. As emulsões foram desenvolvidas utilizando como base lipídica (BL) os óleos de milho (OM) e soja (OS) e as ceras de carnaúba (CC) e de abelha (CA) a 10% (m/v). Em função das características e estabilidade das formulações, a emulsão contendo CC e hidróxido de amônio foi a mais estável, assemelhando-se à cera comercial, sendo então utilizada como base para a adição do produto comercial Helioguard™ 365 como fonte de MAA nas concentrações de 0%, 1%, 2% e 4% (v/v). A adição do produto fonte de MAA pouco afetou a estabilidade da emulsão, proporcionando aumentos na absorbância, com picos definidos na faixa do UV-B (280 a 300 nm), o que possibilita o uso desta emulsão como barreira química em produtos hortícolas.

Palavras-chave: Caracterização, emulsão, estabilidade, Helioguard™ 365, *Porphyra umbilicalis*.

1. Introdução

As injúrias fisiológicas que potencialmente se manifestam nos produtos hortícolas e acarretam em perdas econômicas significativas, seja na pré ou pós-colheita, podem ser oriundas de diferentes naturezas ou de ordem distintas, fisiológicas, biológicas e/ou físicas, podendo ainda tais injúrias ocorrer em qualquer momento ao longo do desenvolvimento dos frutos e durante a cadeia de produção (Chitarra e Chitarra, 2005).

A escaldadura ou *sunscald* é um distúrbio fisiológico que ocorre nos órgãos vegetais expostos ao excesso de radiação solar, sendo este distúrbio exacerbado por altas temperaturas e déficit hídrico (Munné-Bosch & Vincent, 2019). Esta injúria causa sérios problemas econômicos em uma ampla variedade de produtos hortícolas ao redor do mundo, sendo particularmente importante em frutos cítricos (Rodriguez et al., 2019), mangas (Abd-Allah et al., 2013), maçãs (Naschitz et al., 2015), entre outros.

Este distúrbio se desenvolve pela indução do estresse decorrente da radiação solar e da absorção de energia luminosa em excesso pelas estruturas de captação de luz presentes nos tecidos vegetais. Este estresse leva à foto-oxidação dos pigmentos presentes nas células da epiderme o que expõe outros pigmentos, como os carotenoides presentes nos cloroplastos das células (Munné-Bosch & Vincent, 2019). O excesso de energia absorvida pelos fotossistemas (PSI e PSII) proporciona a geração exagerada de espécies reativas de oxigênio (ERO), que além de seu potencial tóxico aos tecidos vegetais, pode causar a degradação de estrutura celulares e, conseqüentemente, o desenvolvimento e expressão dos sintomas de queimaduras solares, com a alteração de pigmentos da epiderme (branqueamento e/ou amarelecimento), seguido de escurecimento e necrose do tecido vegetal (Naschitz et al., 2015; Munné-Bosch & Vincent, 2019; Rodriguez et al., 2019).

Buscando controlar o desenvolvimento da escaldadura, diferentes métodos vêm sendo utilizados, com destaque para a aplicação de barreiras de ação física que visam minimizar a incidência da radiação solar ou refleti-la (Rodriguez et al., 2019). Desta forma, o ensacamento dos frutos (Hamedi Sarkomi et al., 2019), o uso de redes protetoras (Lal & Sahu, 2017), a pulverização de hidróxido de cálcio (Glenn & Puterka, 2005), argilas (Schrader, 2011), e produtos dissolvidos na forma de recobrimentos

(Sharma et al., 2018) vêm sendo utilizados com bastante frequência. A pulverização dos produtos hortícolas com hidróxido de cálcio na pré-colheita é uma das formas mais baratas de se controlar a escaldadura, porém este produto é removido da superfície de frutos e hortaliças pela ocorrência de chuvas, em função de sua solubilidade. Entretanto, o ensacamento e uso de coberturas refletoras são alternativas eficientes, mas de custo elevado (mão-de-obra) e de baixa praticidade, visto o despendo necessário, mão de obra e estrutura, para poder cobrir todos os frutos. Visando explorar uma alternativa de melhor praticidade, Schrader (2011) desenvolveu um recobrimento contendo cera de carnaúba e argila Thixogel MP 100 que recebeu o nome comercial de Raynox→, sendo bastante eficiente em controlar o desenvolvimento da escaldadura em maçãs.

Por outro lado, a aplicação de barreiras químicas é bastante limitada para se controlar o desenvolvimento da escaldadura, sendo mais comumente empregado os recobrimentos biodegradáveis na pós-colheita de hortícolas de modo a atuarem como barreira à ação de determinadas atividades fisiológicas, a exemplo da redução de trocas gasosas, perda de massa fresca, bem como prolongar a vida e o tempo de armazenamento de frutos e hortaliças, além de manutenção de sua qualidade (Oliveira et al., 2018). Todavia, as formulações dos recobrimentos podem variar dependendo de sua finalidade, da origem dos componentes e, no caso de emulsões, da composição dos ácidos graxos da base lipídica.

As ceras, destacadamente as de abelha (Oliveira et al., 2018; Baswal et al., 2020) e de carnaúba (Motamedi et al., 2018; Zhang et al., 2018) são muito empregadas pela alta qualidade da barreira hidrofóbica que podem formar. Os óleos vegetais que podem apresentar características antioxidantes e/ou antimicrobianas dependendo das particularidades das espécies das quais são extraídos (Camargo, 2008; Raiser et al., 2018; Nasrin et al., 2020).

Tais recobrimentos podem ainda incorporar aditivos que funcionam como princípio ativo de atividades específicas, como a atividade antimicrobiana e/ou antioxidante de alguns óleos essenciais e vitaminas (Raiser et al., 2018; Nasrin et al., 2020). Neste contexto, as micosporinas tipo aminoácidos (MAA) são substâncias protetoras naturais sintetizadas por uma variedade de organismos marinhos, como microrganismos aquáticos e algas, que atuam no mecanismo de defesa e proteção

contra os efeitos nocivos da radiação ultravioleta (UV) dos raios solares (Geraldes et al., 2020). Estes compostos vêm sendo explorados comercialmente pela indústria cosmética na forma de aditivos para produtos de cuidados para a pele exposta ao sol (de la Coba et al., 2019), em outros materiais não biológicos como o óxido de zinco (Aguzzi et al., 2019) e em alimentos (Teixeira et al., 2019).

Como uma possível barreira química à radiação solar, as MAA são substâncias formadas por um anel de aminociclohexenimina conjugado com a um grupo substituinte de nitrogênio ou aminoálcool, nas quais as composições estruturais químicas dispares caracterizam diferentes espécies de MAA, sendo conhecidas mais de 20 tipos de MAAs, sintetizadas por diversos organismos aquáticos (Singh et al., 2008; Geraldes et al., 2020). Estas apresentam a capacidade de absorção máxima da radiação solar irradiada entre os comprimentos de onda 310 e 360 nm, sob a forma de calor sem produzir ERO, ou seja, ajudam a dissipar o excesso de energia interrompendo o “escape” de elétrons da cadeia transportadora e, conseqüentemente, inibindo a formação de fotoprodutos como o 6-4PPs (6-4 Pirimidina-Pirimidona) e de ERO, mantendo assim a integridade celular dos organismos onde são sintetizadas (Garinis et al., 2006; Fuentes-Tristan et al., 2019).

Desta forma, considerando a capacidade fotoprotetora das MAA (Geraldes et al., 2020), a necessidade de se utilizarem protetores químicos naturais visando o controle da escaldadura em produtos hortícolas, além da ausência de estudos com o uso das MAA em recobrimentos, este trabalho teve por objetivo caracterizar recobrimentos produzidos a partir de emulsões desenvolvidas com diferentes bases lipídicas, bem como, verificar se a incorporação das MAA nas matrizes poderia afetar características e estabilidade das emulsões para uma possível utilização como bloqueador da radiação solar e, conseqüentemente, para o controle da escaldadura em pré-colheita de produtos hortícolas.

2. Material e Métodos

2.1. Reagentes

Como matérias-primas para as bases lipídicas das emulsões foram utilizadas a cera de abelha bruta (Microcristal, Ribeirão Preto, Brasil), a cera de carnaúba tipo III (Microcristal, Ribeirão Preto, Brasil), o óleo de soja (Liza, Brasil) e o de milho (Mazola, Brasil). Como plastificante foi utilizado o glicerol p.a. (Dinâmica, Brasil) (plastificante) e como emulsificantes o Tween 80 (Êxodo Científica, Brasil), o ácido oléico p.a. (Êxodo Científica, Brasil) e o hidróxido de amônio 28-30% p.a (v/v) (Êxodo Científica, Brasil). Os reguladores de acidez e conservadores ácido cítrico p.a. (Synth, Brasil), ácido ortofosfórico p.a. (Êxodo Científica, Brasil) e bissulfito de sódio 58,5% (m/v) (Quimesp, Brasil) também foram utilizados. O Helioguard™ 365 (Mibelle Group Biochemistry, Buchs, Suíça) foi utilizado como fonte de MAAs.

2.2. Desenvolvimento dos recobrimentos

Desenvolvimento das emulsões: Os recobrimentos foram constituídos de emulsões de bases lipídicas (LB) produzidas segundo Forgiarini (2001) com algumas modificações. As emulsões foram preparadas, individualmente, utilizado como LB (10%) a cera de abelha bruta (CA), cera de carnaúba tipo III (CC), óleo de milho (OM) e de soja (OS), sendo adicionados os agentes emulsificantes Tween 80 (TW) (3%) e ácido oléico (AO) (2%), Tabela 1.

Tabela 1. Composição das emulsões preparadas com diferentes bases lipídicas.

Componentes	g ou mL / 100 mL
Bases lipídicas*	10 g
Helioguard™ 365	1 a 4 mL
Tween 80	3 mL
Ácido oléico	2 mL
Glicerol	1,5 mL
Hidróxido de amônio p.a.	1,5 mL
Bissulfito de sódio	0,17 g
Ácido cítrico	0,15 g
Ácido ortofosfórico p.a.	0,03 mL

*Óleo de milho (OM), óleo de soja (OS), cera de abelha (CA) e cera de carnaúba (CC).

As LB foram aquecidas a $75 \pm 2^\circ\text{C}$ sob agitação em chapa aquecedora com agitador magnético (Tecnal, modelo TE-0851, Brasil) visando a fusão das ceras, aquecimento dos óleos e a completa homogeneização das fases lipídicas (FL). A fase aquosa (FA) foi constituída por água destilada, o suficiente para completar 100 mL, adicionada do plastificante glicerol (1,5%), de ácido cítrico (0,15 g) e bissulfito de sódio (0,17 g), como conservantes e reguladores de acidez. A FA foi aquecida a $80 \pm 2^\circ\text{C}$ e vertida lentamente sob a FL sob agitação constante. A esta mistura foi possivelmente adicionado hidróxido de amônio (HA) (1,5%) e as emulsões foram mantidas sob agitação constante por 45 minutos até a redução da temperatura para $40 \pm 2^\circ\text{C}$, seguida da adição de ácido fosfórico (0,3%) e homogeneização utilizando ultraturax (Ika Works GmbH & Co, modelo T10 basic, China) a 24.000 rpm por 1 minuto. As emulsões sem adição de HA e a cera de carnaúba comercial (CCC) da empresa Aruá (Cera Aruá Tropical BR, Matão, Brasil) foram utilizadas como controle.

Desenvolvimento da emulsão com adição de MAA: Após o desenvolvimento das emulsões com diferentes LB, estas foram caracterizadas e a que apresentou as melhores características tecnológicas foi utilizada como base para a adição de diferentes concentrações de micosporina tipo aminoácidos (MAA). Para isso foi utilizado o produto comercial Helioguard™ 365 que contém lipossomas obtidos a partir da alga *Porphyra umbilicalis* (1,25% de extrato seco). Desta forma, foram adicionados 0 (controle), 1%, 2% e 4% (v/v) de Helioguard™ 365 à emulsão base contendo cera de carnaúba e hidróxido de amônio (HA).

2.3. Caracterização dos recobrimentos

Em ambos experimentos os recobrimentos foram caracterizados quanto aos seguintes parâmetros:

Coloração: As emulsões foram pulverizadas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro e estas foram secas ao ar por 72 horas. Após este período a coloração das emulsões foi determinada utilizando colorímetro (Minolta CR-400, Minolta Corp., Osaka, Japão), sendo expressa em L^* , a^* e b^* . A cromaticidade e o ângulo hue foram calculados segundo o descrito por (McGuire, 1992).

Potencial hidrogeniônico (pH): O pH das emulsões foi determinado utilizando o peagômetro da marca Thermo Scientific (modelo Orion 3 Star, EUA) imergindo o eletrodo diretamente nas emulsões (AOAC, 2016).

Condutividade: A condutividade das emulsões foi determinada utilizando um condutivímetro (Asko, modelo Ak51, Brasil) colocando a célula de condutividade diretamente nas emulsões a temperatura ambiente (~25°C). Os valores foram expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ (Camargo, 2008).

Viscosidade: A viscosidade foi determinada por meio de viscosímetro de rotação (Brookfield Viscometer DV-I Prime, EUA) segundo descrito por Isaac et al. (2008). A viscosidade foi expressa em cP (Isaac et al., 2008).

Teor de matéria seca (MS): O teor de MS foi determinado por meio da remoção da umidade das emulsões que foram secas em estufa de circulação de ar forçado (Lucadema, modelo LUCA-82/27, Brasil) a 105°C por 48 horas. O teor de MS foi expresso em porcentagem (%), conforme modificações a partir da metodologia descrita pela AOAC (2002).

Solubilidade em água: As amostras (2 g) foram secas em estufa de circulação de ar forçado (Lucadema, modelo LUCA-82/27, Brasil) a 65°C por 24 horas, sendo obtida a massa seca (PSI). Após resfriamento, foram adicionados 50 mL de água destilada às amostras e estas foram deixadas à temperatura ambiente (~25 °C) por 24 horas. Posteriormente a água foi drenada e os recipientes contendo os resíduos das amostras foram levados à estufa, seguido de pesagem para coleta da massa seca final (PSF), conforme adaptações do método descrito por Gontard et al. (1992). A solubilidade (%) foi calculada por meio da equação:

$$\text{Solubilidade (\%)} = ((\text{PSI}-\text{PSF})) \times 100/\text{PSI}$$

Onde: PSI = massa seca (g) e PSF = massa seca final (g).

2.4. Estabilidade das emulsões

Em ambos experimentos a estabilidade das emulsões foi avaliada a partir da realização dos ensaios descritos a seguir:

Centrifugação: As emulsões (10 g) foram submetidas à ciclos de centrifugação (980, 1.800 e 3.000 rpm) utilizando um centrífuga Eppendorf (Eppendorf AG, Centrifuge 5810 R, Hamburgo, Alemanha) e avaliadas macroscopicamente quanto ao aparecimento de modificações conforme o descrito por Isaac et al. (2008).

Estresse térmico: Uma massa de 10 g das emulsões foi colocada em tubos Falcon® de 50 mL mantidas em banho termostático (Tecnal, modelo TE-184, Brasil) e submetidas a temperaturas crescentes de 30°C a 75°C por 30 minutos para cada temperatura (Porto, 2015). Após cada ciclo de temperatura, foram realizadas as avaliações macroscópicas, visuais, para identificação de modificações nas emulsões.

Ciclo de congelamento e descongelamento: As emulsões foram submetidas às temperaturas de $4 \pm 1^\circ\text{C}$ e $45 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, correspondendo a um ciclo de avaliação de 48 horas, por seis ciclos (Isaac et al., 2008). Ao final do período de 24 horas, para cada temperatura, as formulações foram avaliadas quanto a modificações macroscópicas.

Após avaliação visual mediante realização dos ensaios descritos anteriormente, foram atribuídas as descrições: N = normal (sem modificações); LM = levemente modificada (cremação, sedimentação, floculação e/ou mudança de coloração); M = modificada (início de separação de fases); IM = intensa modificação (separação de fases), conforme o descrito por Porto (2015).

2.5. Análise estatística

Para o desenvolvimento das emulsões foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4 (bases lipídicas) x 2 (com e sem adição de hidróxido de amônio) com tratamento adicional (controle, cera comercial), sendo três repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando as funções *lm* e *anova* do pacote *stats* R (Fox and Weisberg, 2010) e as médias comparadas por meio de comparações múltiplas utilizando ajuste de multiplicidade de Tukey disponível na função *emmeans* do pacote *emmeans* (Lenth, 2019) do software R (R Core Team, 2020).

O experimento relacionado à adição do MAA à emulsão foi conduzido segundo um DIC com 4 tratamentos (0, 1, 2 e 4% de Helioguard™ 365) e 6 repetições, e os

dados foram submetidos à análise de regressão utilizando a função *lme* do pacote *nlme* (Pinheiro et al., 2020) do software R (R Core Team, 2020). Os dados relativos às análises de centrifugação, temperatura e ciclo de congelamento e descongelamento, foram submetidos à análise de correspondência utilizando as funções *CrossTable*, pacote *gmodels* (Warnes et al., 2018), e função *CA* do pacote *FactoMineR* (Le et al., 2008) do software R (R Core Team, 2020). Independente da análise, P-valor menor do que 0.05 foi considerado como significativo.

3. Resultados e Discussão

3.1. Desenvolvimento dos recobrimentos

Os parâmetros relativos à caracterização das emulsões podem ser observados na Figura 1. Em relação à luminosidade (Figura 1A) e cromaticidade (Figura 1B), foi observada interação significativa entre LBs e a adição de hidróxido de amônio (HA) (Tabela 2). Por outro lado, o ângulo hue (°h) variou apenas em relação ao controle cera de carnaúba comercial (CCC) e as LB das emulsões (Figura 1C) (Tabela 2). A luminosidade foi maior nas emulsões contendo OM e OS, porém menor nas que continham CA. A adição de HA afetou a L^* das emulsões desenvolvidas com as CA e CC, promovendo um aumento dos valores referentes a este parâmetro. A cera comercial (CCC) se assemelhou a CC com HA (Figura 1A). A adição de HA modificou apenas a cromaticidade da emulsão contendo OM (Figura 1B) e a adição de HA não afetou o ângulo hue (°h), sendo observado apenas diferenças significativas em relação as LB, ou seja, maiores valores de °h nas emulsões contendo OM e OS em relação as produzidas com CA, CC e a CCC (Figura 1C).

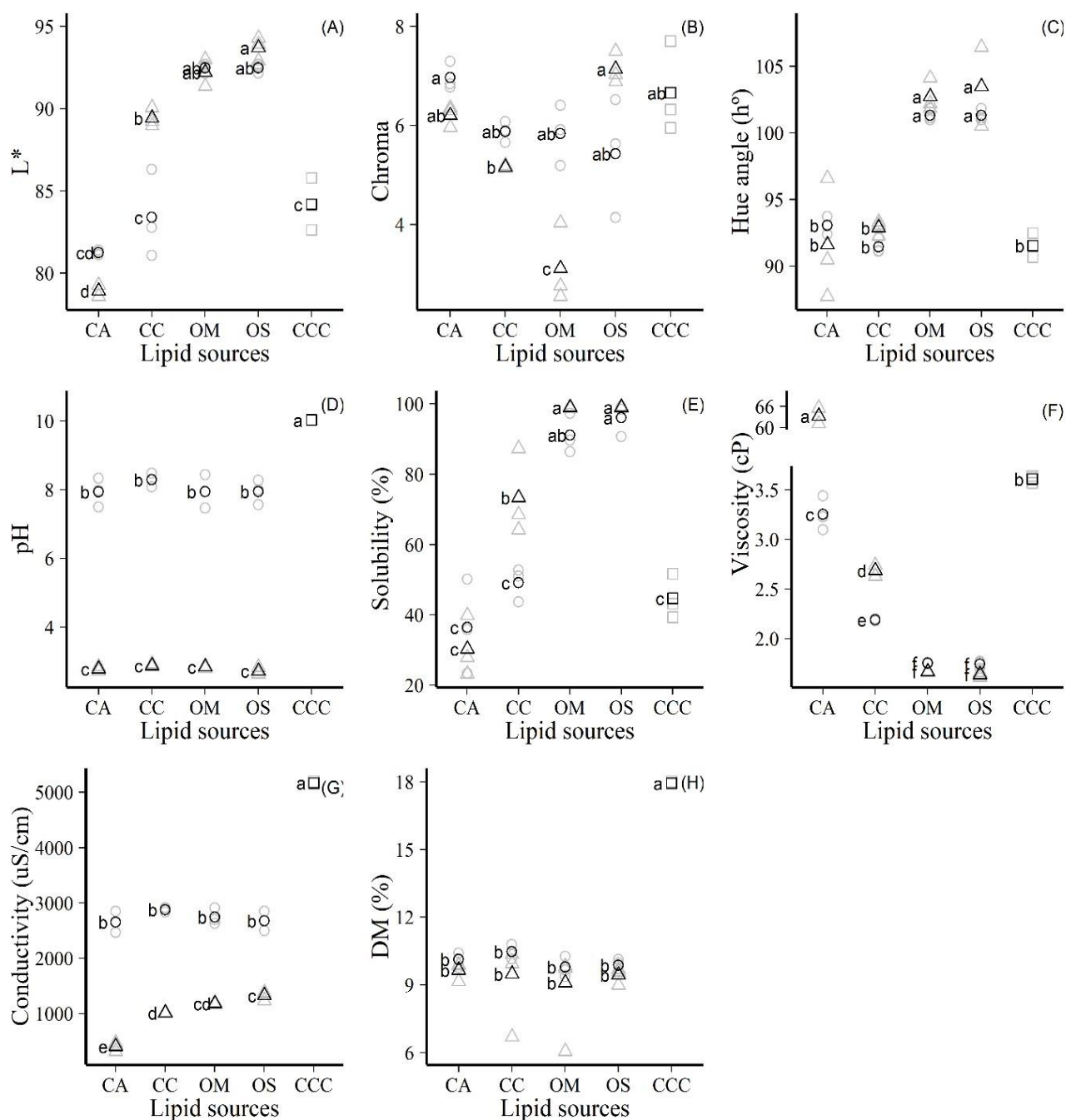


Figura 1. Caracterização das emulsões contendo cera de abelha (CA), de carnaúba (CC), óleo de milho (OM), de soja (OS) e a cera comercial (CCC) (□), contendo (○) ou não (△) hidróxido de amônio. (A) luminosidade; (B) cromaticidade; (C) ângulo hue; (D) pH; (E) solubilidade; (F) viscosidade; (G) condutividade e (H) matéria-seca. Médias com letras diferentes (a, b, c, d, e, f) são diferentes de acordo com a comparação múltipla utilizando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 2. Significância dos fatores bases lipídicas (A), hidróxido de amônio (B), interação A x B e tratamento adicional nas análises de caracterização das emulsões.

Fatores	L*	Croma	Ângulo Hue	pH	Solubilidade (%)	Viscosidade (cP)	Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}^1$)	Matéria Seca (%)
Bases Lipídicas (A)	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	0,3463NS	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	0,4907NS
Hidróxido de Amônio (B)	0,0212*	0,0260*	0,2750NS	<0,0001***	0,0327*	<0,0001***	<0,0001***	0,0263*
Interação AxB	<0,0001***	0,0001***	0,3941NS	0,7497NS	0,0201*	<0,0001***	<0,0001***	0,8152NS
Tratamento Adicional	<0,0001***	0,0255*	0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***
C.V (%)	6,28	22,01	5,61	49,28	41,06	214,98	61,85	27,17

C.V – Coeficiente de Variação.

A coloração das emulsões impactou diretamente na aparência dos recobrimentos e está variou em função da LB utilizada, pois o tamanho dos colóides formados no processo de emulsificação, bem como a taxa de homogeneidade do sistema emulsionado, pode ter influenciado negativamente ou positivamente os aspectos finais do recobrimento, levando-os a absorver mais ou menos luz (Hopkins et al., 2015; Zhang et al., 2018). De maneira geral, as emulsões se apresentaram esbranquiçadas, com altos valores de L^* (Figura 1C) e pouco saturadas, baixos valores de cromaticidade (Figura 1B), evidenciando uma cor pálida (Hirschler, 2009). Estas características são importantes para o controle da escaldadura, pois a cor branca reflete a radiação luminosa solar, além de absorver menos energia, contribuindo para a redução da temperatura da epiderme dos tecidos vegetais (Scarinci, & Marineli, 2014).

O pH das emulsões foi afetado pela adição do HA, sem que houvesse efeito significativo das LB (Figura 1D) (Tabela 2). Sendo o NH_4OH uma base fraca, ao adicioná-lo à matriz emulsionada foi observado um aumento do pH do meio, tornando-o alcalino através de uma reação de neutralização, além de seu papel como base ionizante de ácidos graxos e emulsificante (Tanada-Palmu & Grosso, 2005; Miranda, 2015). Desta forma, as emulsões sem HA apresentaram valores médios de pH de 2,81 enquanto nas que esta base foi adicionada o pH foi significativamente maior (8,04), porém ainda menor que a CCC (10,35). A determinação do pH das emulsões é de extrema importância para o objetivo deste trabalho, pois a estabilidade do Helioguard™ 365, produto que contém as MAAs porfira-334 e shinorine é afetada diretamente por este parâmetro, pois este é estável na faixa de pH entre 5 a 8 (SDS Ref.: 0830-XXX, 2016). Desta forma, a adição do HA foi fundamental para aumentar o pH das emulsões e deixá-las dentro da faixa adequada à estabilidade das MAAs.

A adição do HA também afetou a condutividade das emulsões, sendo observada interação significativa entre as LB (Tabela 2) e a presença ou não de NH_4OH (Figura 1E). As emulsões contendo HA apresentaram os maiores valores de condutividade ($2.659 - 2.882 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$) em relação as sem adição de HA ($409 - 1.330 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$), porém mesmo com a adição de HA a condutividade foi menor que a observada na CCC ($5.173,66 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$), o que sugere a presença de maior concentração de íons amoniacaais na emulsão comercial, o que facilita a condução de

carga no meio mesmo ante a barreira lipídica (Raiser et al., 2018). A condutividade das emulsões é dependente do tipo de emulsão formada quanto a fase externa, ou seja, óleo/água (O/A) ou água/óleo (A/O), pois os lipídeos têm caráter isolante, como demonstrado pela emulsão contendo CA (isolante elétrico natural). Além disso, sua determinação pode servir como parâmetro para o monitoramento da estabilidade das emulsões ante a separação e as mudanças de fase a longo prazo (Kumar et al., 2014; Freitas et al., 2018).

Apesar de ter sido observada interação significativa (Tabela 2) entre as LB e a presença ou não de HA para a viscosidade das emulsões (Figura 1F), o NH_4OH modificou apenas a viscosidade das formulações contendo CA, ou seja, sem a adição de HA a viscosidade desta emulsão foi de 63,27 cP e com a adição de HA este valor foi reduzido para 3,26 cP (Figura 1F). As demais emulsões apresentaram valores baixos e próximos à cera comercial (CCC = 3,16 cP), indicando maior fluidez das emulsões. Segundo Velderrain-Rodríguez et al. (2019), a viscosidade das emulsões é parâmetro importante para aplicação destas como recobrimentos, sendo o valor de viscosidade dependente do equilíbrio hidrofílico-lipofílico dos tensoativos formadores da matriz e dos diferentes componentes que formam a base lipídica, como os ésteres, ácidos de ceras, hidrocarbonetos e ácidos graxos livres (Holloway, 1969; Yang et al., 2019).

O teor de matéria-seca (MS) das emulsões se relacionou a quantidade de matéria-prima utilizada para a produção das mesmas, não sendo observadas diferenças significativas (Tabela 2) entre as LB e a adição de HA, porém a CCC apresentou teores significativamente maiores de MS (Figura 1G). Em média o teor de MS foi de 9,14 %, sendo inferior ao contido na cera comercial (CCC = 17,45 %). A MS corresponde aos sólidos residuais presentes nas emulsões após a remoção da água livre e o teor de sólidos de um recobrimento afeta sua qualidade e eficiência de aplicação, bem como a secagem do recobrimento propriamente dito, sua viscosidade e espessura, podendo provocar problemas no tocante à trocas gasosas e afetar a qualidade dos produtos hortícolas (Motamedi et al., 2018). Desta forma, os teores de MS ficaram dentro da faixa que não compromete a qualidade destes produtos, apresentando maior semelhança ao controle, CCC.

Por fim, foi observada interação significativa (Tabela 2) entre as LB e a adição ou não de HA na solubilidade das emulsões (Figura 1I). As emulsões contendo OS e OM apresentaram as maiores solubilidades, 97,60% e 95,09%, respectivamente. Por outro lado, as emulsões produzidas com as ceras apresentaram as menores solubilidades, ou seja, 33,43 % para a CA, 61,29 % para a CC e 44,78 % para a CCC (Figura 1I). A adição do HA afetou principalmente a solubilidade da emulsão produzida com CC, diminuiu-a e igualou-a à cera comercial que possui amônio em sua composição (Figura 1I). Estes resultados refletem a natureza das LB utilizadas, pois a presença de cadeias de ácidos graxos saturados, além de longas cadeias de alcanos, promovem uma maior resistência à difusão em água e à hidrofobicidade das ceras (Holloway, 1969; Zhang et al., 2018).

De forma geral, a emulsão produzida com CC com a adição de HA apresentou parâmetros tecnológicos que a qualificam para ser utilizada em recobrimentos de produtos hortícolas, não só por se assemelhar à cera comercial, mas pelas características adequadas à adição das MAAs.

3.2. Estabilidade dos recobrimentos

Ainda que apresentem características outras consideradas como adequadas, as emulsões devem ser também estáveis, ou seja, homogêneas, quando partimos do ponto que este parâmetro é representado pela separação de fases e do intervalo de tempo até que este processo se inicie, sendo assim uma representação de possível instabilidade (Franzol & Rezende, 2015).

Desta forma, as diferentes emulsões foram centrifugadas em ciclos de 980, 1.800 e 3.000 rpm, visando verificar a estabilidade das mesmas (Figura 2). No primeiro ciclo de centrifugação (980 rpm) foi observada modificação na emulsão contendo CA e HA (CA+HA), com o aparecimento de cremação, bem como na cera de carnaúba comercial (CCC), com a ocorrência de sedimentação, sendo as demais consideradas normais (Figura 2A). O mesmo ocorreu nos demais ciclos a 1.800 (Figura 2B) e 3.000 rpm (Figura 2C).

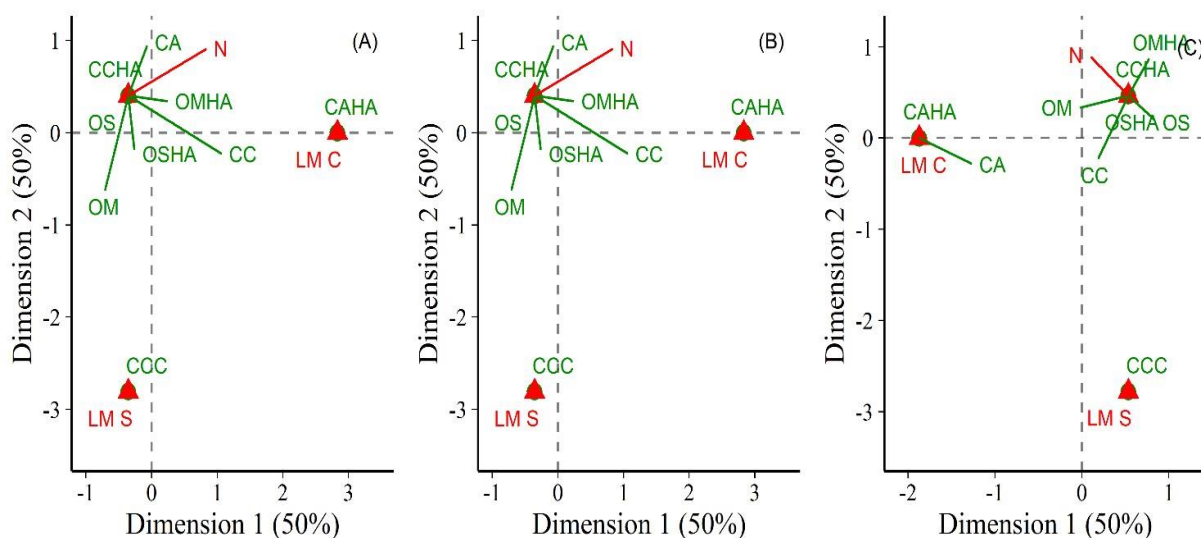


Figura 2. Análise de correspondência para a estabilidade das emulsões contendo cera de abelha (CA), de carnaúba (CC), óleo de milho (OM), de soja (OS) e a cera comercial (CCC), contendo ou não hidróxido de amônio (HA) utilizando a centrifugação a 980 rpm (A), 1.800 rpm (B) e 3.000 rpm (C). N = normal, sem modificação; LM C = ligeira modificação, cremação; LM S – ligeira modificação, separação de fases.

Não necessariamente é preciso ocorrer a separação de fases para uma emulsão ser considerada instável, sendo este processo identificado pela modificação geral da microestrutura formada que na ocorrência de coalescência, união das gotículas, promove a formação de outros aspectos como formação de sedimento e cremes (Goodarzi, & Zendehboudi, 2019). Assim apenas as emulsões CA+HA e CCC apresentaram-se instáveis (Figura 2).

Quando as emulsões foram submetidas ao teste de estresse térmico estas se mostraram estáveis e macroscopicamente homogêneas em temperatura ambiente, porém ao serem submetidas a temperatura de 55°C as emulsões com CA e OM adicionadas de HA passaram a apresentar modificações, ou seja, separação de fase na emulsão CA+HA e cremação na OM+HA (Figura 3A). O mesmo resultado se repetiu na temperatura de 60°C (Figura 3B) e 65°C (Figura 3C), contudo a 65°C a cera comercial (CCC) passou a apresentar modificação e a emulsão contendo CA uma ligeira modificação (Figura 3C). Por fim, nas temperaturas de 70°C (Figura 3D) e 75°C (Figura 3E) as únicas emulsões que não apresentaram modificações foram as que

continham em sua composição as LB cera de carnaúba (CC) e óleo de soja (OS) com e sem adição de HA, e óleo de milho (OM) sem a presença de HA.

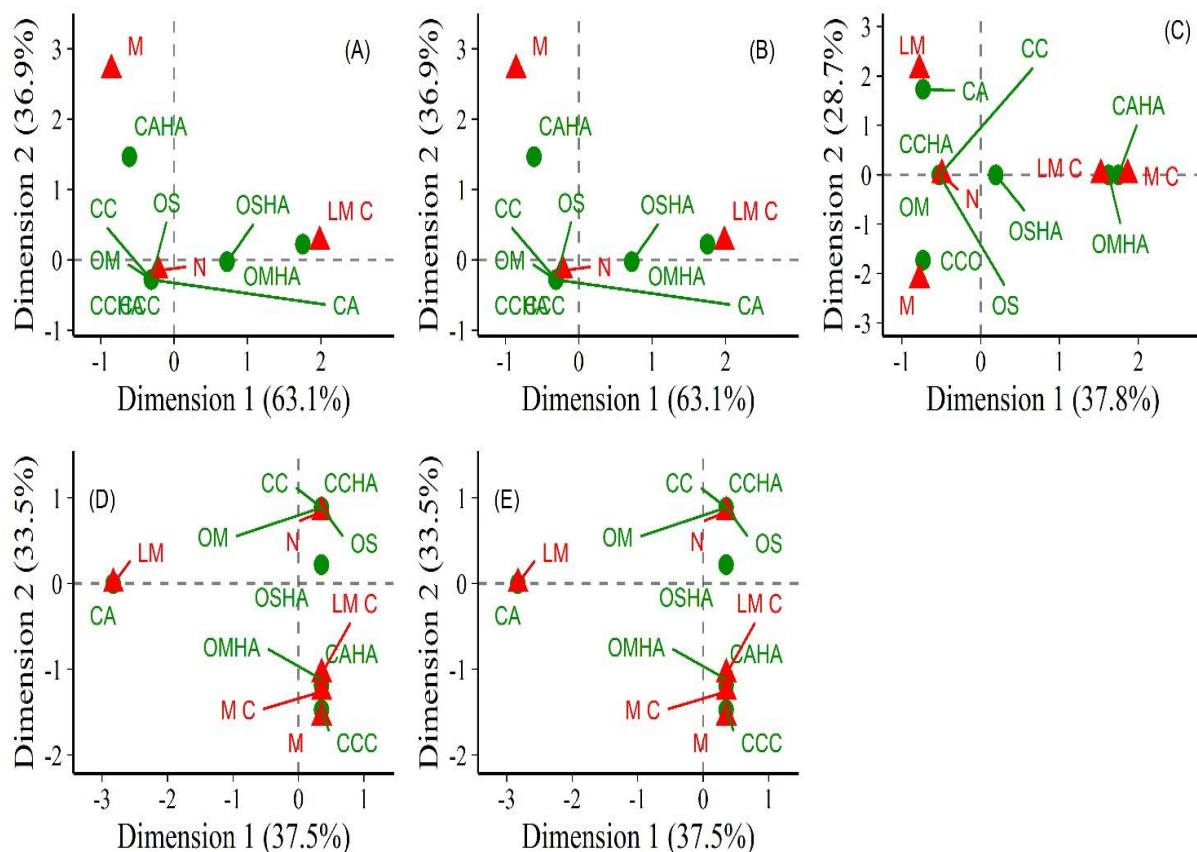


Figura 3. Análise de correspondência para a estabilidade das emulsões contendo cera de abelha (CA), de carnaúba (CC), óleo de milho (OM), de soja (OS) e a cera comercial (CCC), contendo ou não hidróxido de amônio (HA) utilizando o estresse térmico a 55°C (A), 60°C (B), 65°C (C), 70°C (D) e 75°C (E). N = normal, sem modificação; LM C = ligeira modificação, cremação; LM S – ligeira modificação, separação de fases.

As emulsões apresentaram maior sensibilidade às mudanças bruscas de variações das temperaturas nos diferentes ciclos de congelamento e descongelamento (Figura 4). Foi observada modificação total (separação de fases) na emulsão contendo CA com HA, já no primeiro ciclo (Figura 4A). Com exceção das emulsões contendo CC adicionada de HA, OS e OM, que se mostraram estáveis nos seis ciclos, as demais apresentaram algum tipo de modificação em algum momento dentro dos diferentes ciclos (Figura 4).

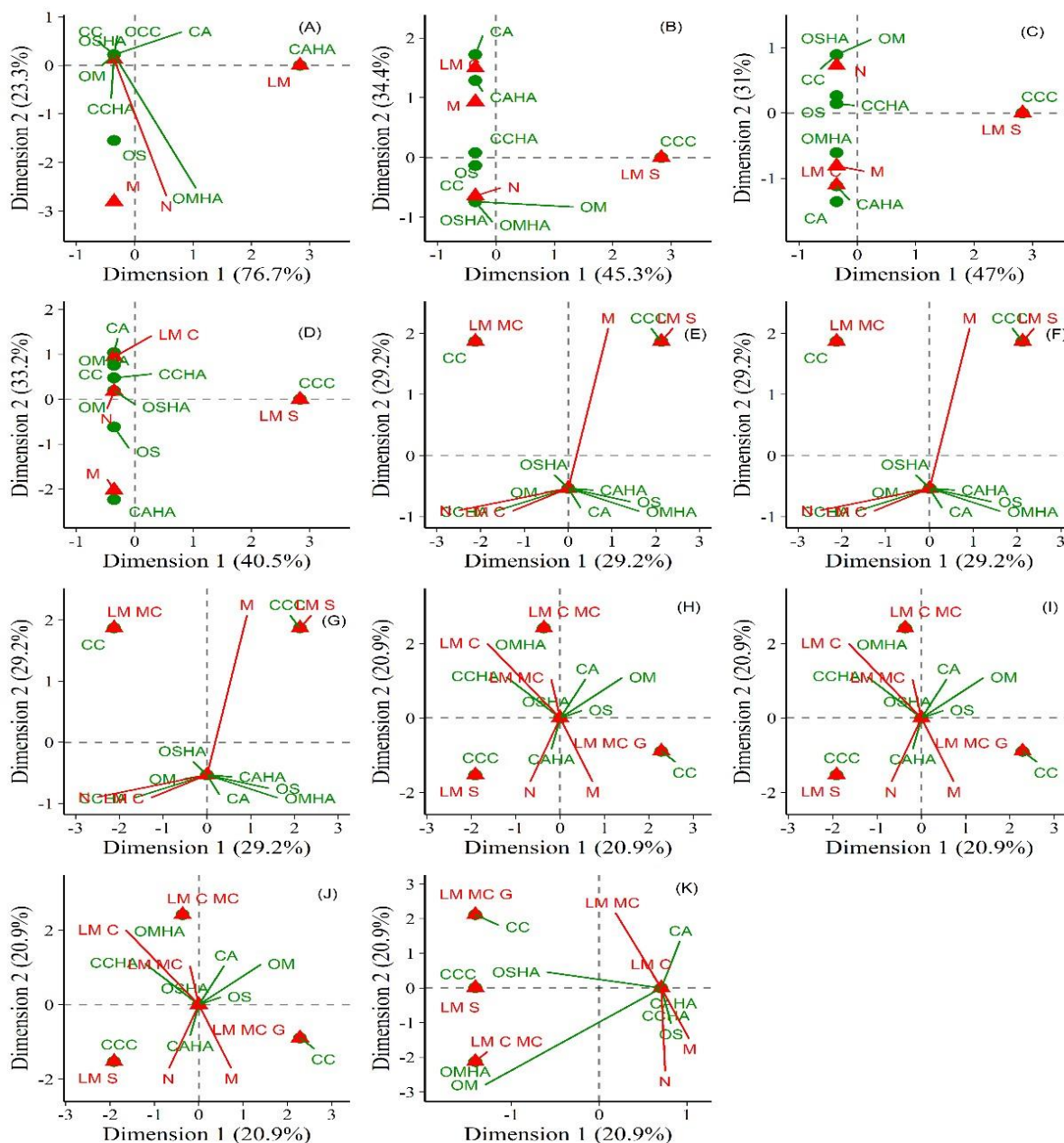


Figura 4. Análise de correspondência para a estabilidade das emulsões contendo cera de abelha (CA), de carnaúba (CC), óleo de milho (OM), de soja (OS) e a cera comercial (CCC), contendo ou não hidróxido de amônio (HA) utilizando ciclos de congelamento e descongelamento; primeiro ciclo a 45°C (A), segundo ciclo a 4°C (B), segundo ciclo a 45°C (C), terceiro ciclo a 4°C (D), terceiro ciclo a 45°C (E), quarto ciclo a 4°C (F), quarto ciclo a 45°C (G), quinto ciclo a 4°C (H), quinto ciclo a 45°C (I), sexto ciclo a 4°C (J) e sexto ciclo a 4°C (K). N = normal, sem modificação; LM C = ligeira modificação, cremação; LM S – ligeira modificação, separação de fases.

Como resultado de dispersão de diferentes fluido imiscíveis, as gotículas das emulsões tem sua estabilidade determinada pela coesão da interface óleo/água e pela

interação entre as partículas, bem como pela tensão superficial destas, que com o aumento da temperatura ou por sua inversão brusca, em uma correlação direta, acarreta na união e aumentos dos agregados, ou seja, ocorre a junção das micro gotículas que a medida que ficam maiores, modificam a homogeneidade da matriz emulsionada (Hempoonsert et al., 2010; Haghighat et al., 2020).

As alterações apresentadas por alguma das emulsões pode ser um indicativo de instabilidade das formulações, sendo causada pelo aumento da agregação e do tamanho das gotículas dentro da matriz, sugerindo baixa homogeneidades dos componentes emulsionados, ou motivada por condições extremas, limite da estabilidade (Isaac et al., 2008; Jurgelane et al., 2017). Desta forma, a emulsão contendo CC e HA, pelas características apresentadas e por sua estabilidade, se assemelhando à cera comercial (CCC), foi escolhida como base para a adição das MAAs.

3.3. Recobrimentos com MAA

Absorção da radiação UV

A incorporação de MAA à emulsão contendo CC+HA resultou no aumento de absorbância na faixa do UV-B (280-320 nm), conforme pode ser observado na Figura 5. O Helioguard™ 365 puro apresentou absorbâncias pequenas no intervalo de 290 a 350 nm. Por outro lado, ao se incorporar este produto à emulsão base foi possível observar um aumento da absorção do espectro na faixa do UV-B, sendo observados picos de absorção de 1,148 a 284 nm (1%), de 0,724 a 286 nm (2%) e dois picos de 1,387 e 1,469 em 288 e 282 nm na emulsão contendo 4%, respectivamente (Figura 5). Em relação aos picos nestes recobrimentos, estes ocorreram em comprimentos de onda diferentes dos relatados para a porphyra-334 (334 nm) e shinorina (332 nm), que são os MAAs presentes no Helioguard™ 365. Por outro lado, estes corresponderam às absorbâncias observadas para o Helioguard™ 365 (332 e 334 nm), Figura 5. Desta forma, possivelmente houve interações destes compostos com a matriz lipídica das emulsões, o que levou a mudança no pico de absorbância, além de um possível efeito sinérgico, pois os picos foram maiores quando o Helioguard™ 365 foi adicionado às emulsões (Figura 5).

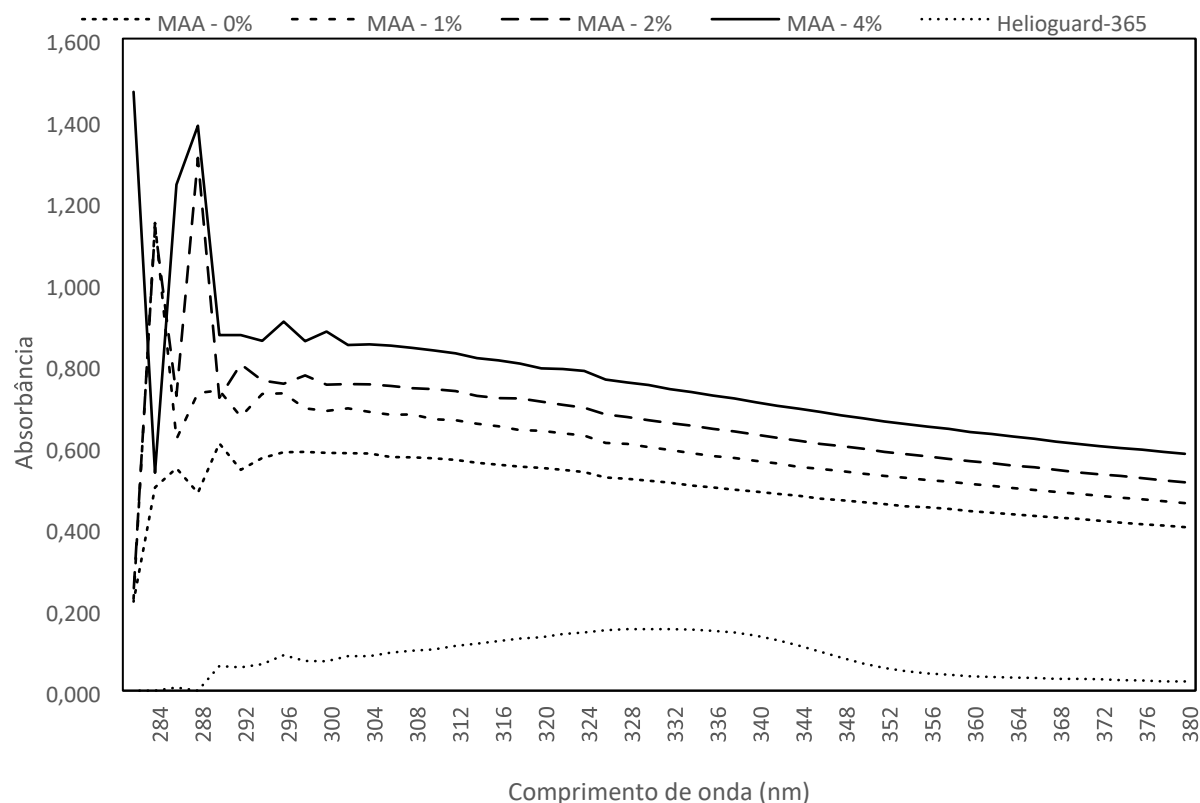


Figura 5. Absorbância na região do ultravioleta (UV) da emulsão base (cera de carnaúba + hidróxido de amônio) contendo 0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard™ 365, fonte das micospirina tipo aminoácido (MAA). Os resultados se referem a média de três repetições independentes (n=3).

Por conseguinte, a emulsão contendo MAAs poderia ser utilizada como uma cobertura na pré-colheita de produtos hortícolas, principalmente frutos, pois poderia promover a redução dos efeitos deletérios da radiação UV-B, principal causadora e indutora do estresse em vegetais (Fuentes-Tristan et al., 2019; Takshak e Agrawal, 2019), o que poderia limitar o desenvolvimento dos distúrbios fisiológicos, como a escaldadura em produtos hortícolas.

3.4. Caracterização do recobrimento contendo MAA

A coloração da emulsão base foi modificada ao se adicionar concentrações crescentes de MAA (Figura 6), destacadamente o ângulo hue (Figura 6C). Por outro lado, os demais parâmetros de coloração não apresentaram mudanças significativas, tanto a luminosidade (Figura 6A) quanto a cromaticidade (Figura 6B) (Tabela 3). A

emulsão contendo 4% de MAA se mostrou menos amarelada em relação às demais (Figura 6C), possivelmente pelo maior volume de Helioguard™ 365 (cor marrom) adicionado. Apesar desta modificação, este recobrimento ainda apresentou uma coloração esbranquiçada ideal à reflexão da radiação solar (Scarinci, e Marineli, 2014).

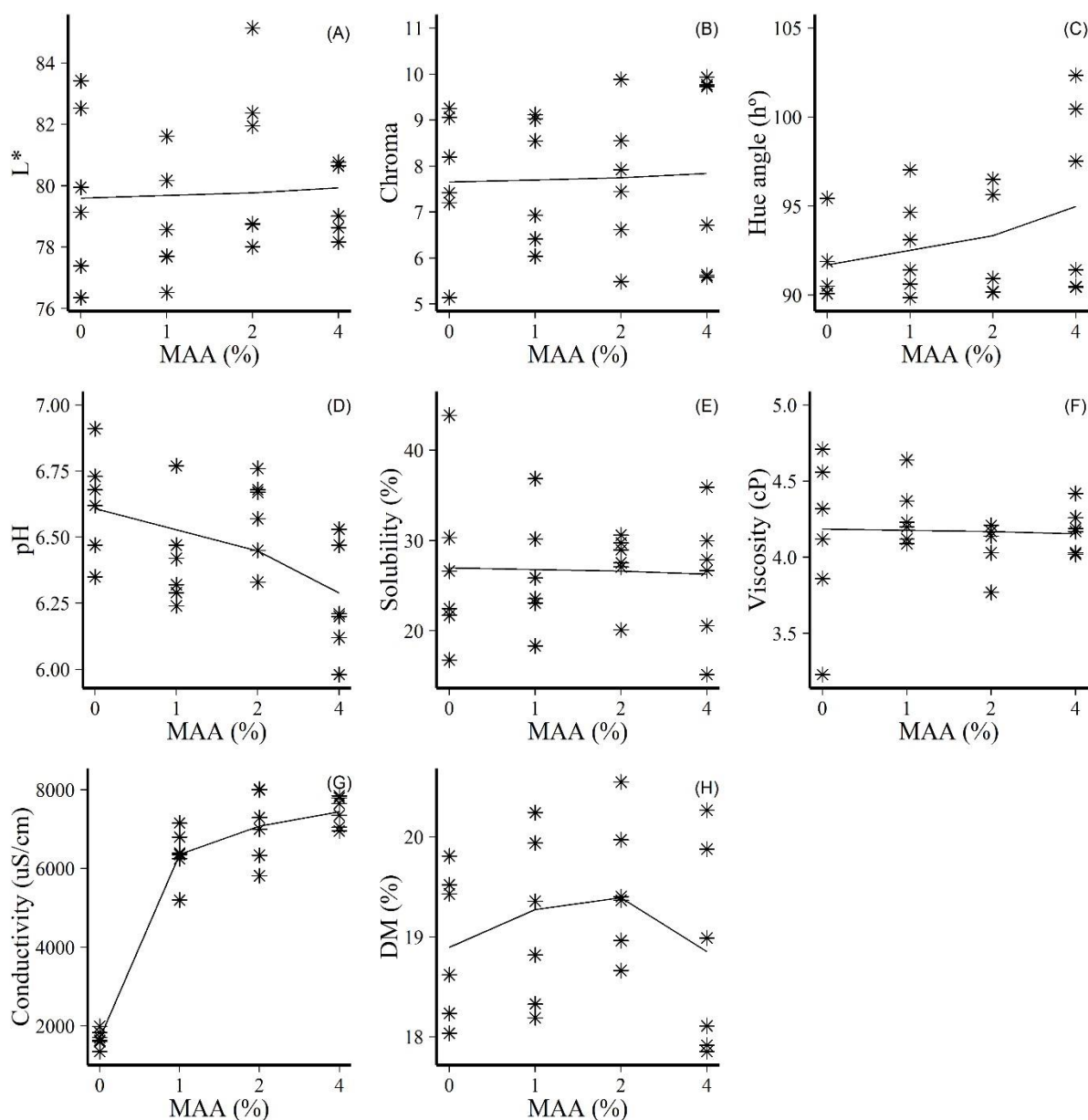


Figura 6. Análise de regressão dos parâmetros de caracterização da emulsão base (cera de carnaúba + hidróxido de amônio) contendo 0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard™ 365 (fonte dos MAAs). (A) luminosidade, (B) cromaticidade, (C) ângulo

hue, (D) pH, (E) solubilidade, (F) viscosidade, (G) condutividade e (H) matéria-seca. Os resultados se referem a média de seis repetições independentes (n=6).

Tabela 3. Análise de regressão dos parâmetros de caracterização da emulsão base (cera de carnaúba + hidróxido de amônio) contendo 0%, 1%, 2% e 4% (v/v) de Helioguard™ 365, fonte das micosporinas tipo aminoácidos. Os resultados se referem a média de seis repetições independentes (n=6).

Variáveis	Concentração				C.V. (%)	P-valor		
	0%	1%	2%	4%		Linear	Quadrático	Cúbico
pH	6,62	6,41	6,57	6,25	3,60	0,009**	-	-
Viscosidade (cP)	4,13	4,27	4,07	4,18	7,11	0,7861 NS	-	-
Solubilidade (%)	26,95	26,31	27,34	26,02	24,73	0,8534 NS	-	-
Matéria Seca (%)	18,94	19,15	19,49	17,76	4,32	0,0207*	0,0119*	-
Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}^1$)	1683,17	6359,83	7078,50	7444,83	43,12	<0,0001***	0,0002**	0,0024**
L *	79,80	78,71	80,83	79,65	2,81	0,7767 NS	-	-
Croma	7,75	7,80	7,65	7,89	20,10	0,6823 NS	-	-
Ângulo Hue	94,12	92,74	92,27	95,45	0,74	0,0192*	-	-

C.V. – Coeficiente de Variação.

A adição do Helioguard™ 365 levou à uma redução linear significativa do pH (Figura 6 D). Apesar disto e, da sabida sensibilidade das MAAs a mudanças de pH (de la Coba et al., 2019), os valores de pH se situaram na faixa que os MAAs deste produto (porfira-334 e shinorine) são mais estáveis, ou seja, entre 5 e 8 (SDS Ref.: 0830-XXX, 2016). Assim, nestas condições é mantida a atividade destas moléculas na absorção da radiação UV.

A solubilidade em água da emulsão base não foi afetada pela incorporação do MAA e o percentual de solubilidade ficou próximo de 26% (Figura 6 E). Assim, a adição do Helioguard™ 365, mesmo na maior concentração, não modificou o efeito

que a base lipídica exerce como fonte hidrofóbica da emulsão. Desta forma, a baixa solubilidade deste recobrimento poderia dificultar sua dissolução em água e impedir que este seja removido da superfície aplicada (Gontard et al., 1994; Oliveira et al., 2018). Estes aspectos são importantes para promover um melhor efeito da barreira química, além de diminuir o custo de aplicação do produto.

A incorporação do Helioguard™ 365 não modificou a viscosidade da emulsão base (Figura 6F) (Tabela 3). Foram observados valores pouco maiores a 4 cP (Figura 6F), indicando estabilidade desta característica mesmo com a incorporação da maior concentração deste produto. Como a viscosidade determina uma maior ou menor fluidez e escoamento superficial da emulsão (Velderrain-Rodríguez et al., 2019; Yang et al., 2019), valores muito elevados não são interessantes pois não permitem formar uma cobertura uniforme. Desta forma, é fundamental a realização de experimentos a campo visando verificar a fluidez da emulsão na superfície dos produtos hortícolas e determinar a necessidade de se incorporar novos ingredientes visando diminuir a tensão entre as interfaces (Zhu et al., 2018).

A condutividade foi significativamente afetada pela adição de MAA à emulsão (Figura 6G). Os valores aumentaram de $1.683,17 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ (0% MAA) para $7.444,833 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ na emulsão contendo 4% de MAA (Figura 6G). O aumento da condutividade das emulsões pode ser atribuído à composição do Helioguard™ 365, que além da água (79,79%), possui compostos outros como álcool (15%) e lactato de sódio (0,16%), levando a uma maior concentração de íons dispersos em sua formulação.

A incorporação do Helioguard™ 365 modificou significativamente o teor de matéria-seca da emulsão base (Figura 6H). Foi observado aumento significativo do teor de matéria seca (MS) com a adição deste produto, o que já era esperado, pois foi adicionado mais componentes à emulsão base e isto refletiu no aumento do teor de MS, podendo ainda este aspecto sofrer influência dos resíduos da própria cera e do processo de emulsificação, com a formação de cristais sólidos.

3.5. Estabilidade do recobrimento contendo MAA

Apesar da emulsão base de CC+HA ter se apresentado estável, a incorporação de MAA a esta poderia modificar a sua estrutura e levar a alterações

na mesma. Desta forma, as emulsões contendo MAA foram submetidas a ciclo de centrifugação de 980, 1.800 e 3.000 rpm, estresse térmico e ciclos de congelamento e descongelamento (Tabela 4), de modo a identificar sinais de possíveis modificações e consequente instabilidade. Ao longo dos ciclos de centrifugação não foram observadas ocorrências de alterações, em qualquer uma das formulações, que apontassem qualquer instabilidade da matriz emulsionada. Com total estabilidade mediante teste de centrifugação, pode-se concluir que a adição de MAA não comprometeu a estrutura da emulsão.

Tabela 4. Análises de estabilidade: centrifugação, teste de temperatura e ciclos de congelamento – descongelamento de emulsões (base de cera de carnaúba + hidróxido de amônio) contendo 0%, 1%, 2% e 4% (v/v) de Helioguard™ 365, fonte das micosporinas tipo aminoácidos (MAA).

(%)	Rep	Centrifugação			Temperatura										1º Ciclo		2º Ciclo		3º Ciclo		4º Ciclo		5º Ciclo		6º Ciclo	
		980	1800	3000	30°C	35°C	40°C	45°C	50°C	55°C	60°C	65°C	70°C	75°C	4°C	45°C	4°C	45°C	4°C	45°C	4°C	45°C	4°C	45°C	4°C	45°C
0MAA	1	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	4	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	6	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM
1MAA	1	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	4	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	6	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2MAA	1	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	M	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	4	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	6	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM
4MAA	1	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM
	2	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	M	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	4	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	5	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	LM
	6	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM

N = normal, sem modificação; LM = ligeira modificação; M = modificação, separação de fases

Entretanto, durante o teste de estresse térmico (Tabela 4), as emulsões contendo MAA apresentaram-se estáveis até serem submetidas a 55°C, quando passaram a apresentar ligeiras modificações, coalescência das emulsões, com posterior modificação e início de separação de fases a partir de 70°C. Por se tratar de um produto natural com características de aminoácidos, as MAA são sensíveis ao aumento da temperatura (desnaturação) e podem começar a apresentar instabilidade a partir dos 50°C (de la Coba et al., 2019; Geraldles et al., 2020), desta forma esta cobertura não deve ser exposta a temperatura igual ou superior a 50°C, pois isto poderia inativar o princípio ativo desta cobertura.

Por outro lado, as emulsões contendo MAA se mantiveram estáveis durante a maior parte do período de congelamento e descongelamento (Tabela 4) no primeiro, segundo, terceiro e quarto ciclos, porém a partir do quinto ciclo foram observadas modificações iniciais tais como cremação e geleificação em todas as formulações contendo MAA. Ao contrário da emulsão base que se mostrou completamente estável a este teste (Figura 4), a adição do Helioguard™ 365 modificou a estrutura desta emulsão, o que levou a mesma a apresentar ligeiras modificações. Todavia, estas ainda podem ser consideradas estáveis, pois segundo demonstrado por Jurgelane et al., (2017) é o conjunto das características apresentadas pelas emulsões, não apenas um dos testes, que determina a sua estabilidade. Assim, dentro dos parâmetros experimentais, as emulsões com a adição até concentração máxima de MMAs (4%) podem ser consideradas emulsões estáveis.

4. Conclusões

O recobrimento produzido com a base lipídica cera de carnaúba adicionado de hidróxido de amônio (CC+H.A) apresentou as melhores características tecnológicas e se assemelhou à cera comercial (CCC) em relação às demais combinações de bases lipídicas (cera de abelha, óleo de milho e de soja) adicionadas ou não de hidróxido de amônio. Da mesma forma, este recobrimento se mostrou mais estável e foi escolhido para ser a emulsão base para a incorporação de micosporinas tipo aminoácido (MAA).

A adição de MAA à emulsão base aumentou a absorbância na região do ultravioleta (UV-B) e levou a poucas modificações nas características tecnológicas desta emulsão. As emulsões se mostraram estáveis quando submetidas à centrifugação, porém modificações ligeiras foram observadas em temperaturas mais elevadas e nos últimos ciclos de congelamento e descongelamento.

O recobrimento desenvolvido pode ser utilizado como uma barreira química no controle da escaldadura na pré-colheita de produtos hortícolas.

5. Referências

Abd-Allah, A. S. E., El-Razek, E. A., & Saleh, M. M. S. (2013). Effect of sun-block materials on preventing sunburn injury of Keitt mango fruits. **Journal of Applied Sciences Research**, 9(1), 567-571.

Aguzzi, C., Donnadio, A., Quaglia, G., Latterini, L., Viseras, C., & Ambrogi, V. (2019). Halloysite-doped zinc oxide for enhanced sunscreens performance. **ACS Applied Nano Materials**, 2(10), 6575-6584.

AOAC (2002). International. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**. 17 ed., USA. Method number: 920.15.

AOAC (2016). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 20. ed. Washington D.C: Ed. George, W.; Latimer, Jr. p. 3172.

Baswal, A. K., Dhaliwal, H. S., Singh, Z., Mahajan, B. V. C., Kalia, A., & Gill, K. S. (2020). Influence of carboxy methylcellulose, chitosan and beeswax coatings on cold storage life and quality of Kinnow mandarin fruit. **Scientia Horticulturae**, 260, 108887.

Camargo, M. F. P. D. (2008). **Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de maracujá (*Passiflora edulis*) e óleo essencial de lavanda (*Lavandula officinalis*) e avaliação da atividade antiinflamatória tópica** (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Chitarra, Maria Isabel Fernandes; Chitarra, Adimilson Bosco. **Pós-colheita de Frutos e Hortaliças**. Fisiologia e Manuseio. 2 ed. Lavras: FAEPE, 2005.

de la Coba, F., Aguilera, J., Korbee, N., de Gálvez, M. V., Herrera-Ceballos, E., Álvarez-Gómez, F., & Figueroa, F. L. (2019). UVA and UVB photoprotective capabilities of topical formulations containing mycosporine-like amino acids (MAAs) through different biological effective protection factors (BEPFs). **Marine drugs**, 17(1), 55.

Forgiarini, A., Esquena, J., Gonzalez, C., & Solans, C. (2001). Formation of nanoemulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature. **Langmuir**, 17(7), 2076-2083. <https://doi.org/10.1021/la001362n>.

Franzol, A., & Rezende, M. C. (2015). Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. **Polímeros**, 25(SPE), 1-9.

Freitas, G. B., Duncke, A. C., Barbato, C. N., de Oliveira, M. C., Pinto, J. C., & Nele, M. (2018). Influence of wax chemical structure on W/O emulsion rheology and stability. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 558, 45-56. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.08.008>.

Fox J and Weisberg S 2010. **An R Companion to Applied Regression**. Sage Publications, Thousand Oaks.

Fuentes-Tristan, S., Parra-Saldivar, R., Iqbal, H. M., & Carrillo-Nieves, D. (2019). Bioinspired biomolecules: Mycosporine-like amino acids and scytonemin from *Lyngbya* sp. with UV-protection potentialities. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 201, 111684.

Garinis, G. A., Jans, J., & Van Der Horst, G. T. (2006). Photolyases: capturing the light to battle skin cancer. **Future oncology**, 2, 2, 191-199.

Geraldes, V., de Medeiros, L. S., Jacinavicius, F. R., Long, P. F., & Pinto, E. (2020). Development and validation of a rapid LC-MS/MS method for the quantification of mycosporines and mycosporine-like amino acids (MAAs) from cyanobacteria. **Algal Research**, 46, 101796.

Glenn, D. M., & Puterka, G. J. (2005). Particle films: a new technology for agriculture. **Horticultural reviews**, 31, 1-44.

Gontard, N., Guilbert, S., & CUQ, J. L. (1992). Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of food science**, 57(1), 190-195. <https://doi.org/10.1111/j.13652621.1992.tb05453.x>.

Gontard, N., Duchez, C., CUQ, J. L., & Guilbert, S. (1994). Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. **International journal of food science & technology**, 29(1), 39-50.

Goodarzi, F., & Zendejboudi, S. (2019). A comprehensive review on emulsions and emulsion stability in chemical and energy industries. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, 97(1), 281-309.

Hamed Sarkomi, F., Moradinezhad, F., & Khayyat, M. (2019). Pre-harvest bagging influences sunburn, cracking and quality of pomegranate fruits. **Journal of Horticulture and Postharvest Research**, 2(2), 131-142. <https://doi.org/10.22077/JHPR.2019.2247.1044>

Haghighat, A. K., Olsen, M. G., Vigil, R. D., & Sarkar, A. (2020). Droplet Coalescence and Phase Separation in a Topical Ointment: Effects of Fluid Shear and Temperature. **International Journal of Pharmaceutics**, 119872.

Hempoonsert, J., Tansel, B., & Laha, S. (2010). Effect of temperature and pH on droplet aggregation and phase separation characteristics of flocs formed in oil–water emulsions after coagulation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 353(1), 37-42.

Hirschler, R. (2009). **Controle metrológico da cor aplicado à estamperia digital de materiais têxteis** (Doctoral dissertation, PUC-Rio).

Holloway, P. J. (1969). **Chemistry of leaf waxes in relation to wetting**. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 20(2), 124-128. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740200214>.

Hopkins, E. J., Chang, C., Lam, R. S., & Nickerson, M. T. (2015). Effects of flaxseed oil concentration on the performance of a soy protein isolate-based emulsion-type film. **Food Research International**, 67, 418-425. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.040>.

Isaac, V. L. B., Cefali, L. C., Chiari, B. G., Oliveira, C. C. L. G., Salgado, H. R. N., & Correa, M. A. (2008). Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocósméticos. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, 29(1).

Jurgelane, I., Sevjakova, V., & Dzene, L. (2017). Influence on illitic clay addition on the stability of sunflower oil in water emulsion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 529, 178-184.

Kumar, A., Kushwaha, V., & Sharma, P. K. (2014). Pharmaceutical microemulsion: Formulation, characterization and drug deliveries across skin. **International Journal of Drug Development and Research**, 6(1), 1-21.

Lal, N., & Sahu, N. (2017). Management strategies of sun burn in fruit crops-A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 6, 6, 1126-1138. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.606.131>.

Le, S., Josse, J. & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **Journal of Statistical Software**. 25(1). 1-18. <http://www.jstatsoft.org/v25/i01/>

Lenth, R. (2019). **Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means**. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>

McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. **HortScience**, 27(12), 1254-1255.

Miranda, M. (2015). **Revestimento nanoestruturado de cera de carnaúba na manutenção da qualidade pós-colheita de tomates**. 105 f. Dissertação (Mestrado em Bioecnologia) – UFSC, São Carlos.

Motamedi, E., Nasiri, J., Malidarreh, T. R., Kalantari, S., Naghavi, M. R., & Safari, M. (2018). Performance of carnauba wax-nanoclay emulsion coatings on postharvest quality of 'Valencia'orange fruit. **Scientia Horticulturae**, 240, 170-178.

Munné-Bosch, S., & Vincent, C. (2019). Physiological Mechanisms Underlying Fruit Sunburn. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 38(2), 140-157.

Naschitz, S., Naor, A., Sax, Y., Shahak, Y., & Rabinowitch, H. D. (2015). Photooxidative sunscald of apple: effects of temperature and light on fruit peel photoinhibition, bleaching and short-term tolerance acquisition. **Scientia Horticulturae**, 197, 5-16. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.003>.

Nasrin, T. A. A., Rahman, M. A., Arfin, M. S., Islam, M. N., & Ullah, M. A. (2020). Effect of novel coconut oil and beeswax edible coating on postharvest quality of lemon at ambient storage. **Journal of Agriculture and Food Research**, 2, 100019. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2019.100019>.

Oliveira, V. R. L., Santos, F. K. G., Leite, R. H. L., Aroucha, E. M. M., & Silva, K. N. O. (2018). Use of biopolymeric coating hydrophobized with beeswax in post-harvest conservation of guavas. **Food chemistry**, 259, 55-64. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.101>.

Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, R Core Team (2020). nlme: **Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-150**, <https://CRAN.Rproject.org/package=nlme>.

Porto, A. S. (2015). **Desenvolvimento de nanoemulsão O/A a base de óleo de copaíba, incorporadas com nanopartículas magnéticas de Zinco**. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.

Raiser, A. L., de Sousa, A. M., Andrighetti, C. R., Ribeiro, E. B., & Valladao, D. (2018). Evaluation of stability and potential antioxidant activity of munguba (*Pachira aquática* Aublet) oil in cosmetic emulsions. **Latin American Journal of Pharmacy**, 37, 14911497.

Rodriguez, J., Anoruo, A., Jifon, J., & Simpson, C. (2019). Physiological Effects of Exogenously Applied Reflectants and Anti-Transpirants on Leaf Temperature and Fruit Sunburn in Citrus. **Plants**, 8(12), 549. <https://doi.org/10.3390/plants8120549>.

Scarinci, Anne L., & Marineli, Fábio. (2014). O modelo ondulatório da luz como ferramenta para explicar as causas da cor. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, 36(1), 1-14.

Schrader, L. E. (2011). Scientific basis of a unique formulation for reducing sunburn of fruits. **HortScience**, 46(1), 6-11

Sharma, R. R., Datta, S. C., & Varghese, E. (2018). Effect of Surround WP®, a kaolinbased particle film on sunburn, fruit cracking and postharvest quality of 'Kandhari' pomegranates. **Crop Protection**, 114, 18-22. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.08.009>.

Singh, S. P., Kumari, S., Rastogi, R. P., Singh, K. L., & Sinha, R. P. (2008). Mycosporine-like amino acids (MAAs): chemical structure, biosynthesis and significance as UV-absorbing/screening compounds. **Indian Journal of Experimental Biology**, 46, 7-17.

Tanada-Palmu, P. S., & Grosso, C. R. (2005). Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. **Postharvest biology and technology**, 36(2), 199-208. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.12.003>.

Takshak, S., & Agrawal, S. B. (2019). Defense potential of secondary metabolites in medicinal plants under UV-B stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 193, 51-88.

R Core Team (2020). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Teixeira, G. H. D. A., Morelli, L., Ma, S., Stewart, A., & O'Keefe, S. F. (2019). Photoprotective effect of mycosporine-like aminoacids extracts on natamycin, saffron carotenoids and epigallocatechin gallate in acidified beverages exposed to different light sources. **International Journal of Food Science & Technology**, 54(2), 440-450. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13956>.

Velderrain-Rodríguez, G. R., Acevedo-Fani, A., González-Aguilar, G. A., & MartínBelloso, O. (2019). Encapsulation and stability of a phenolic-rich extract from mango peel within water-in-oil-in-water emulsions. **Journal of functional foods**, 56, 65-73. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.045>

Yang, J., Lee, S., Choi, I., Shin, J., Han, W. H., Hong, M. H., ... & Kim, Y. W. (2019). Effect of fatty acid-based anionic surfactants on the emulsion properties of selfemulsifying poly (ethylene-co-acrylic acid) waxes. **Journal of industrial and engineering chemistry**, 71, 393-401. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.11.051>.

Zhang, Y., Simpson, B. K., & Dumont, M. J. (2018). Effect of beeswax and carnauba wax addition on properties of gelatin films: A comparative study. **Food bioscience**, 26, 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.09.011>.

Zhu, Z., Li, R., Zhang, C., & Gong, S. (2018). Preparation and properties of high solid content and low viscosity waterborne polyurethane—Acrylate emulsion with a reactive emulsifier. **Polymers**, 10(2), 154.

Warnes, G.R., Bolker, B., Lumley, T., Johnson, R.C. 2018. gmodels: **Various R Programming Tools for Model Fitting**.
<https://cran.rproject.org/web/packages/gmodels/index.html>

CAPÍTULO 3- Recobrimentos lipídicos adicionados de micosporinas tipo aminoácido (MAA) para o controle de escaldadura em frutos de laranjeiras (*Citrus sinensis* L)

RESUMO - O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas, porém mesmo sendo classificada como uma fruta tropical/subtropical, esta é sensível à ocorrência de distúrbios fisiológicos causados pela exposição à luz solar, escaldadura, o que afeta a qualidade desta fruta. A escaldadura é comumente controlada com a pulverização das frutas com hidróxido de cálcio e/ou caulim, contudo esta prática nem sempre é eficiente em função da ocorrência de chuvas e pela aplicação dos tratamentos fitossanitários. Como as micosporinas tipo aminoácido (MAA) existentes em vários organismos marinhos os protegem contra as radiações ultravioleta UV-A e UV-B, estes compostos poderiam ser incorporados a emulsões visando ao controle da escaldadura em frutos de laranjeiras. Assim, concentrações crescentes do produto comercial Helioguard™ 365, fonte de MAAs, foram adicionadas as emulsões de base lipídica (0%, 1%, 2% e 4% - v/v). As emulsões foram aplicadas, pulverizadas, manualmente após a fase de desenvolvimento II dos frutos de laranjeiras das cultivares 'Hamlin', 'Pera-rio' e 'Valência' em intervalos de 21 dias, considerando a precocidade das cultivares. O controle positivo constituiu a aplicação de hidróxido de cálcio a 5% e o controle negativo aos frutos sem nenhum tratamento. A adição de MAA às emulsões não resultou no controle da escaldadura em comparação aos controles. Similarmente, não foram observadas diferenças significativas para a maioria dos parâmetros físico-químicos analisados, bem como para os parâmetros referentes ao metabolismo oxidativo. Apenas as avaliações de coloração e dos teores de sólidos solúveis e ácido ascórbico diferiram em duas cultivares. Desta forma, o uso de MAA nas concentrações utilizadas foram pouco eficientes no controle de escaldadura em frutos de laranja.

Palavras chave: Ascorbato peroxidase, *Citrus sinensis* L., escaldadura, Helioguard™ 365, recobrimentos, superóxido dismutase.

1. Introdução

Durante o cultivo das diferentes espécies vegetais de interesse econômico estas estão sujeitas à ação deletéria de agentes abióticos, como os fatores climáticos, que embora sejam responsáveis por proporcionar as condições ideais para o pleno desenvolvimento dos vegetais e permitir que estes consigam produzir satisfatoriamente, estes nem sempre se encontram em níveis aceitáveis para a manutenção da sanidade ou qualidade das plantas e/ou dos produtos hortícolas produzidos, o que pode acarretar em perdas pré e pós-colheitas, além de prejuízos econômicos (Ferrante e Mariani, 2018; Asrey et al., 2020; Gullo et al., 2020).

A escaldadura (sunsald ou sunburn) é um distúrbio fisiológico que se desenvolve em diferentes órgãos vegetais em decorrência da alta incidência da radiação solar e de temperaturas ambientais elevadas. A combinação destes fatores pode induzir ao aumento da temperatura interna de frutos, ao estresse foto-oxidativo dos pigmentos e danos aos tecidos da epiderme (Ferrante e Mariani, 2018). Assim, a energia luminosa incidida em excesso sobre os componentes que integram os complexos de captação de luz, como as organelas contendo clorofila, carotenoides, antocianinas, que são responsáveis pela regulação da energia luminosa incidida e que deve seguir até os centros de reações dos fotossistemas e aos demais componentes responsáveis pelo transporte de elétrons (Horton, 2000; Torres et al., 2016), pode estimular a geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO). Estes passam então a atuar como sinalizadores de estresse, para agente deletérios, como a indução de foto-oxidação, degradação de estruturas celulares, foto-inibição dos fotossistemas e peroxidação de lipídeos da membrana plasmática (Naschitz et al., 2015; Torres et al., 2016; Rodriguez et al., 2019).

Nas frutas cítricas a região mais externa que caracteriza a epiderme dos frutos é denominada flavedo e este contém teores elevados de pigmentos como as clorofilas e carotenoides, que além de atuarem na proteção antioxidantes de tecido, contribuem como precursores de muitos compostos relacionados aos processos fisiológicos que afetam a qualidade dos frutos (Zacarías-García et al., 2020). Em condições normais, os pigmentos atuam amenizando a energia luminosa que chega a superfície dos frutos, entretanto, quando em excesso, estes pigmentos não são

capazes de impedir o estresse foto-oxidativo, além de serem fotodegradados (Horton, 2000; Torres et al., 2016).

Naturalmente, as ERO são produzidas como sinalizadores para induzir respostas metabólicas essenciais para as células, no entanto, assim como a fotodegradação dos pigmentos são sinais do efeito deletério da radiação solar, a produção excessiva de ERO pode ser consideradas como resultado do estresse as quais estão submetidos os vegetais, levando a uma maior atividade dos sistemas de defesa antioxidantes, que geralmente, atuam de forma eficiente na inibição dos processos foto-oxidativos e de fotoinibição (Munné-Bosch e Vincent, 2019; Rodriguez et al., 2019). Todavia, em condições extremas, pode ocorrer o desenvolvimento de diferentes injúrias e nos mais variados graus de intensidade, como a escaldadura. Esta injúria pode levar a prejuízos econômicos, visto que a ocorrência dos sintomas como enrugamento, branqueamento e necrose da epiderme dos frutos, faz com que estes não atinjam os padrões de qualidade exigidos pelo mercado consumidor (Ambrózy et al., 2016; Torres et al., 2016; Mupambi et al., 2018).

Apesar das laranjeiras (*Citrus sinensis* L.) serem uma espécie frutífera originária de regiões de climas tropical e subtropical (Gmitter e Hu, 1990; Akinde et al., 2017), estas são susceptíveis à ocorrência de injúrias fisiológicas que se desenvolvem em resposta à exposição excessiva à radiação solar, principalmente quando associada à temperaturas elevadas. A alta incidência de radiação solar pode induzir ao desenvolvimento de escaldadura em diferentes órgãos, tais como troncos, galhos, folhas e frutos (Torres et al., 2016; Ferrante e Mariani, 2018). No tocante aos frutos, destacadamente pela importância no mercado de frutas *in natura*, as cultivares ‘Hamlin’, ‘Pera-Rio’ e ‘Valência’ são susceptíveis à escaldadura. Assim, é necessário a utilização de métodos de proteção contra os efeitos nocivos da radiação solar de modo a se evitar danos econômicos oriunda do descarte dos frutos com escaldadura.

Tradicionalmente, o controle da escaldadura é realizado com a pulverização das plantas e frutos com soluções de hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 ou carbonato de cálcio (Glenn & Puterka, 2005) e caulim que contém o mineral caulinita ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) como principal constituinte. O uso de tais compostos se relaciona a formação

de barreiras refletivas ao se aplicar estas soluções, que em contato com o ar, tem sua fração líquida, geralmente a base de água, evaporada, restando um recobrimento sólido de partículas minerais de coloração branca, que promove o bloqueio e/ou reflexão de parte da radiação solar, reduzindo a temperatura na superfície dos frutos e assim, suprimir o desenvolvimento da escaldadura (DPI, 2006; Gullo et al., 2020).

Todavia, o uso destas soluções pode ser pouco eficiente, pois devido a sua solubilidade em água, estas podem ser removidas por ocasião de chuvas, podendo provocar danos ao meio ambiente e aos frutos quando em concentrações elevadas (Lopes et al, 2014). Soma-se a isso, com o surgimento do *greening*, também conhecido como *Huanglongbing* ou HLB, fazendo-se necessário pulverizar os pomares de laranjeiras periodicamente (10 – 15 dias), o que pode levar a remoção da cobertura formada por estes produtos.

Desta forma, várias alternativas vêm sendo desenvolvidas visando ao controle da escaldadura causada pelo excesso de radiação solar. Pode-se citar o ensacamento dos frutos (Hofman et al., 1997), o uso de redes protetoras (Lal e Sahu, 2017), a pulverizações com ácido ascórbico (Andrews et al., 1999; Johnson et al., 1999), argilas (DPI, 2006) e produtos dissolvidos em ceras, tais como o Raynox® (Schrader et al., 2011). Contudo, estas alternativas se caracterizam como métodos físicos de controle da escaldadura e há pouca informação disponível no tocante aos métodos químicos de controle desta injúria.

Uma possibilidade para o desenvolvimento de métodos químicos de controle da escaldadura seria o uso das micosporinas tipo aminoácidos (MAA). As MAA atuam no mecanismo de defesa e proteção contra os efeitos nocivos da radiação ultravioleta (UV) em organismos marinhos como microrganismos aquáticos e algas (Fernandes et al., 2015). No que se refere à estrutura química dos MAA, estes são compostos formados por um anel de aminociclohexenimina, cujas diferenças na estrutura central resultam nas diferentes MAAs existentes (Wada et al., 2015). As MAA têm a capacidade de absorver a radiação solar nos comprimentos de onda de 310 e 360 nm, promovendo a dissipação do excesso de energia sob a forma de calor, reduzindo ou minimizando a produção de produção elevada de ERO (Libkind et al., 2005).

Ao funcionarem como “proteção solar” nos organismos aquáticos (Dunlap & Yamamoto, 1995) e em produtos para os cuidados para a pele expostas ao sol e em outros materiais não biológicos (Bandarnayake, 1998), o uso de produtos fontes de MAAs, como o produto comercial Helioguard™ 365 (SDS Ref.: 0830-XXX, 2016) fonte das MAAs porfira-334 e shinorina, poderia ser uma alternativa para o controle de escaldaduras em frutos de laranjeiras. Estes produtos foram adicionados à recobrimentos emulsionados de base lipídica (Pedrosa et al., in press), porém há a necessidade de verificar a eficiência destas emulsões em condições de cultivo. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a capacidade fotoprotetora de recobrimentos de base lipídica contendo MAAs para uso na pré-colheita dos frutos de laranjeira, sendo estes comparados com a pulverizações com Ca(OH)_2 , avaliando a qualidade e determinando os biomarcadores fisiológicos relacionados aos aspectos químicos e bioquímicos dos frutos submetidos a estes tratamentos.

2. Material e Métodos

2.1. Reagentes

Os recobrimentos foram feitos utilizando cera de carnaúba tipo III (Microcrystal, Ribeirão Preto, Brasil), glicerol p.a. (Dinâmica, Brasil), Tween 80 (Êxodo Científica, Brasil), ácido oléico p.a. (Êxodo Científica, Brasil), hidróxido de amônio 28-30% p.a. (Êxodo Científica, Brasil), ácido cítrico p.a. (Synth, Brasil) e bissulfito de sódio 58,5% (Quimesp, Brasil) e ácido ortofosforico p.a. (Êxodo Científica, Brasil). A fonte de micosporina tipo aminoacido (MAA) foi o produto comercial Helioguard-365 (Mibelle Group Biochemistry, Buchs, Suíça) e hidróxido de cálcio (Linha, São Paulo, Brasil) foi utilizado para o tratamento controle.

2.2. Material vegetal e condução do experimento

O experimento foi instalado nos pomares da Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro (EECB), localizada no município de Bebedouro (20° 56' 59" Sul, 48° 28' 44" Oeste, 575 m de altitude), São Paulo, Brasil. Foram utilizados

pomares com laranjeiras (*Citrus sinensis* L.) das cultivares ‘Hamlin’ (7 anos), ‘Pera-Rio’ (9 anos) e ‘Valência’ (9 anos), que são cultivares precoces, de meia-estação e tardias, respectivamente. Estes pomares foram conduzidos de acordo com os tratamentos culturais e tratamentos fitossanitários recomendados para a cultura e não foram irrigados.

Para cada cultivar, foram aleatoriamente selecionadas 10 plantas e em cada uma destas plantas 6 frutos na fase III de maturação receberam os seguintes tratamentos: *i.* controle negativos (C-), sem aplicação de qualquer recobrimento; *ii.* controle positivo (C+), aplicação da solução aquosa contendo 5% hidróxido de cálcio (m/v), *iii.* recobrimento de base lipídica contendo 0% de Helioguard™ 365; *iv.* recobrimento de base lipídica contendo 1% de Helioguard™ 365, *v.* recobrimento de base lipídica contendo 2% de Helioguard™ 365, e *vi.* recobrimento de base lipídica contendo 4% de Helioguard™ 365. As aplicações dos recobrimentos foram realizadas a cada 21 dias, a partir da segunda quinzena de maio até o momento da colheita no início de setembro, com o auxílio de borrifadores manuais (Unilux, Brasil) até a maturação dos frutos.

Visando garantir a exposição dos frutos à radiação solar, foram realizadas podas nas faces das copas das plantas voltadas ao direcionamento da movimentação do sol. O número de aplicações se baseou na precocidade das cultivares, ou seja, duas na ‘Hamlin’ (precoce), quatro na ‘Pera-Rio’ (meia-estação) e cinco na ‘Valência’ (tardia). Desta forma, para cada cultivar, isoladamente, os experimentos foram conduzidos segundo um delineamento em blocos casualizados (DBC) com 6 tratamentos e 10 repetições de 1 fruto.

Quando os frutos destas cultivares atingiram a maturidade fisiológica, estes foram colhidos manualmente e analisados quanto:

2.3. Incidência de escaldadura

A incidência de escaldadura foi determinada segundo a escala de notas descrita por Amarante et al. (2010) com modificações, ou seja: 0 = nula (sem a presença de escaldadura); 1 = baixa (aparecimento de área amarelada); 2 = moderada (presença de área amarela); 3 = alta (área amarela com início de necrose);

e 4 = extremamente alta (área amarela com elevada necrose). Os resultados expressam o grau de ocorrência e severidade de escaudadura na epiderme (flavedo) dos frutos.

2.4. Análises físico-químicas

Coloração: A coloração da epiderme (flavedo) foi determinada nas áreas que receberam os recobrimentos. Para isso foi utilizado um colorímetro (Minolta, modelo CR-400, Osaka, Japão) segundo os parâmetros L^* , a^* e b^* da Commission internationale de l'éclairage (CIE). Estes valores foram transformados em cromaticidade e ângulo hue de acordo com o descrito por McGuire (1992).

Teor de sólidos solúveis (TSS): O teor de TSS do suco das laranjas foi determinado utilizando um refratômetro digital (Atago, modelo Alpha, Osaka, Japão) e os resultados expressos em °Brix (AOAC, 2016).

Acidez titulável (AT): A AT foi determinada por titulação utilizando uma amostra de 10 mL do suco que foi titulada com 0,1 N NaOH (m/v) usando 1,0% fenolftaleína (m/v) como indicador. Os resultados foram expressos como equivalentes mg de ácido cítrico g de suco (mg.g^{-1}) (AOAC, 2016).

Ratio: A relação TSS/AT foi obtida pela divisão dos valores encontrados para TSS e AT segundo o descrito pela AOAC (2016).

Potencial hidrogeniônico (pH): A determinação do pH foi realizada diretamente no suco das laranjas através do método potenciométrico usando um peagômetro (Thermo Scientific, modelo Orion 3 Star, EUA) segundo o descrito pela AOAC (2016).

Teor de ácido ascórbico: O teor de ácido ascórbico (AsA) no suco dos frutos foi determinado de acordo com o método descrito por Strohecker e Henning (1967). Desta forma, 10 mL de suco foi diluído em uma solução contendo 0,5% de ácido oxálico (m/v) e titulado com 0,02% de 2,6-dicloro-fenolindofenol. Os resultados foram expressos em mg de AsA por g de massa fresca (mg.g^{-1})

Massa dos frutos: A massa dos frutos foi determinada pesando-se as laranjas em uma balança semi-analítica (Shimadzu, modelo AUY, Japão) e os resultados foram expressos em gramas (g).

Rendimento de suco: O rendimento de suco foi quantificado através da pesagem direta do volume de suco extraído em relação à massa total dos frutos. Os resultados foram expressos em porcentagem (%), conforme o descrito por Pereira et al. (2018).

2.5. Metabolismo oxidativo

Preparo das amostras: Um total de 0,7g amostras de epiderme (flavado) foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas à -20 °C. Estas amostras foram moídas usando almofariz e pistilo de cerâmica até a obtenção de um pó fino para as análises relativas ao metabolismo oxidativo.

Peroxidação lipídica: O grau de peroxidação lipídica da epiderme (flavado) foi determinado com base na formação de malondialdeído (MDA) em função da reatividade desta substância ao ácido tiobarbitúrico (TBA). O extrato foi obtido através da homogeneização dos tecidos com ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% (m/v), 20% de polivinilpirrolidona (PVPP) e centrifugados (Thermo Scientific, ST16-R, EUA) a 15.000 g a 4 °C por 15 minutos, seguido de incubação em banho-maria a 95 °C por 30 min. O sobrenadante recolhido foi homogeneizado com solução de ácido tiobarbitúrico a 0,5% (v/v) dissolvido em ácido tricloroacético 20% (v/v). A concentração de equivalentes de malondialdeído (MDA) foi calculada usando um coeficiente de extinção de $1,55 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, com leituras entre 535 e 600 nm usando o espectrofotômetro e os resultados foram expressos em ηmol de MDA por g de massa fresca (Shimadzu, UV-1280, Japão) (Gratão et al., 2012).

Teor de proteínas: Para a quantificação do teor de proteína na epiderme (flavado) dos frutos, 0,7 mg de amostra foi macerada em almofariz com nitrogênio líquido e homogeneizadas com tampão fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e polivinilpolipirrolidona (PVPP) insolúvel. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 30 minutos a 4°C e o sobrenadante resultante armazenado a -80°C para uso nos ensaios enzimáticos (Azevedo et al., 1998). A quantificação de proteínas foi determinada pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina de soro bovino como padrão.

Atividade da ascorbato peroxidase (APX): Atividade da APX (APX, EC 1.11.1.1) foi determinada segundo o descrito por Gratão et al. (2012). Para isto o extrato enzimático foi homogeneizado com tampão fosfato de potássio 80 mM (pH 7,0) contendo 5 mM de ascorbato (m/v). A atividade da APX foi determinada monitorando a oxidação do ascorbato a 290 nm com um espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1280, Japão) durante 60 segundos. Os resultados foram expressos como APX ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ proteína).

Atividade da superóxido dismutase (SOD): A determinação da atividade da enzima SOD (EC 1.15.1.1) foi realizada seguindo o protocolo descrito por Giannopolitis e Ries (1977). O extrato enzimático (50 mL) foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio 100 mM a pH 7,8, 50 mM de metionina (m/v), 10 mM de EDTA (m/v), 1 mM de cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT) e 0,1 mM de riboflavina (m/v). A solução foi colocada para reagir sob uma lâmpada fluorescente a 25°C por 5 minutos e a absorbância foi medida no comprimento de onda de 560 nm usando o espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1280, Japão) e os resultados expressos em UAE. mg^{-1} de proteína.

2.6. Análise estatística

Os dados relativos a cada cultivar foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando as funções *gls* do pacote *nlme* (Pinheiro et al., 2020) e *anova* do pacote *stats* R (Fox and Weisberg, 2010) do software R (R Core Team, 2020). As médias foram comparadas por meio de comparações múltiplas utilizando ajuste de multiplicidade de Tukey disponível na função *emmeans* do pacote *emmeans* (Lenth, 2019) do software R (R Core Team, 2020). Valores de P menores que 0,05 foram considerados como significativos.

3. Resultados

3.1. Laranjas 'Hamlin'

Quanto ao desenvolvimento da escaldadura, foram observadas diferenças significativas entre os frutos tratados com o recobrimento contendo 2% de Helioguard™ 365 em relação aos demais tratamentos, sendo que estes não diferiram estatisticamente tanto do C+ quanto do C- (Figura 1A). O índice de escaldadura variou entre baixo (nota = 1) a moderado (nota = 2), sendo os frutos tratados com 2% de Helioguard™ 365 apresentando índice de 1,2 enquanto os controles apresentaram escaldadura de grau mais próximo à moderado, ou seja, 1,7 (Figura 1A).

A coloração da área com sintomas de escaldadura apresentou diferenças significativas para a luminosidade (L^*), ângulo hue ($^{\circ}h$) e cromaticidade (Figura 1). De modo geral, foi possível observar valores mais altos de L^* , h° e cromaticidade no flavedo dos frutos C+ e C- em relação aos frutos tratados com os recobrimentos (Figura 1B, 1C, 1D). O $^{\circ}h$ foi significativamente afetado pelo incremento da concentração de Helioguard™ 365, ou seja, quanto maior a concentração deste produto nos recobrimentos menores foram os valores de $^{\circ}h$ no flavedo dos frutos (Figura 1C), indicando modificação característica de tonalidade, mais amarelo-avermelhada, da epiderme dos frutos escaldados pela degradação dos pigmentos clorofilados.

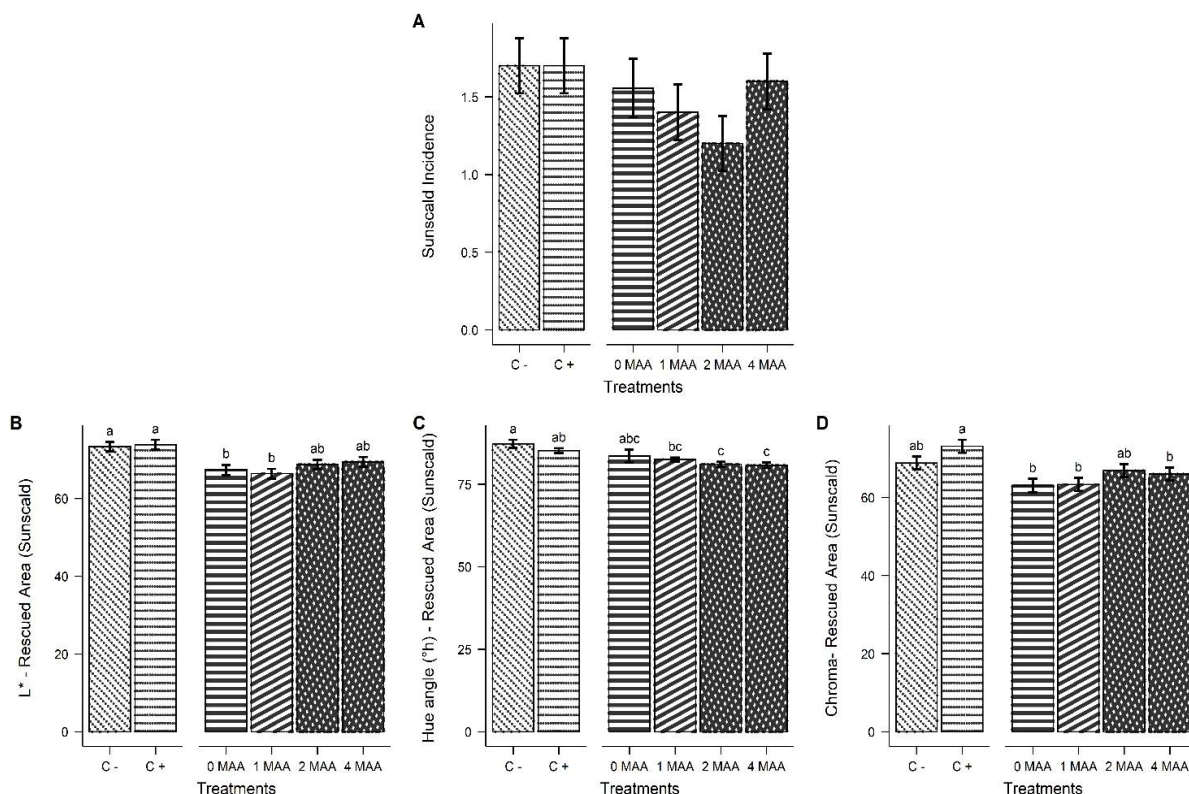


Figura 1. Avaliação da incidência de escaldadura e coloração dos frutos de laranja 'Hamlin' tratados com emulsões contendo 0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard™ 365 (fonte de micosporina tipo aminoácido - MAA) e dos controles positivo (hidróxido de cálcio 5% m/v) e negativo (sem coberturas). (A) luminosidade - L*, (B) ângulo hue - °h e (C) cromaticidade - crom. Médias seguidas com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de comparações múltiplas usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 repetições.

Quanto aos parâmetros de qualidade físico-químicos, a massa dos frutos variou de 93,73g nos tratados com 4% de Helioguard™ 365 a 105,36g com 1% de Helioguard™ 365, porém sem diferenças estatísticas entre os tratamentos (Figura 2A). Similarmente, não houve diferença quanto ao rendimento em suco que variou de 30 a 37% (Figura 2B). Os frutos colhidos eram pequenos e apresentavam polpa de aspecto endurecido e interior seco.

Para os demais parâmetros físico-químicos, foram observadas diferenças significativas dos tratamentos no pH, teor de sólidos solúveis (TSS) e de ácido ascórbico (Figura 2). Os valores de pH variaram apenas entre os frutos do tratamento 0% Helioguard™ 365 em relação aos tratados com 4% Helioguard™ 365 (Figura 3C). Os TSS foram maiores nos frutos controle, tanto C+ (Brix° 14,22) quanto C- (Brix°

13,98), em relação aos frutos que receberam os recobrimentos, que não diferiram entre si (Figura 3E). Por outro lado, os teores de ácido ascórbico foram maiores nos frutos tratados com os recobrimentos em relação aos controles (Figura 3G), podendo ser observado um aumento teores médios de ácido ascórbico de 43,77 mg.g no flavedo dos frutos recobertos com 0% MAA, para 54,53 mg.g com o uso de 4% MAA.

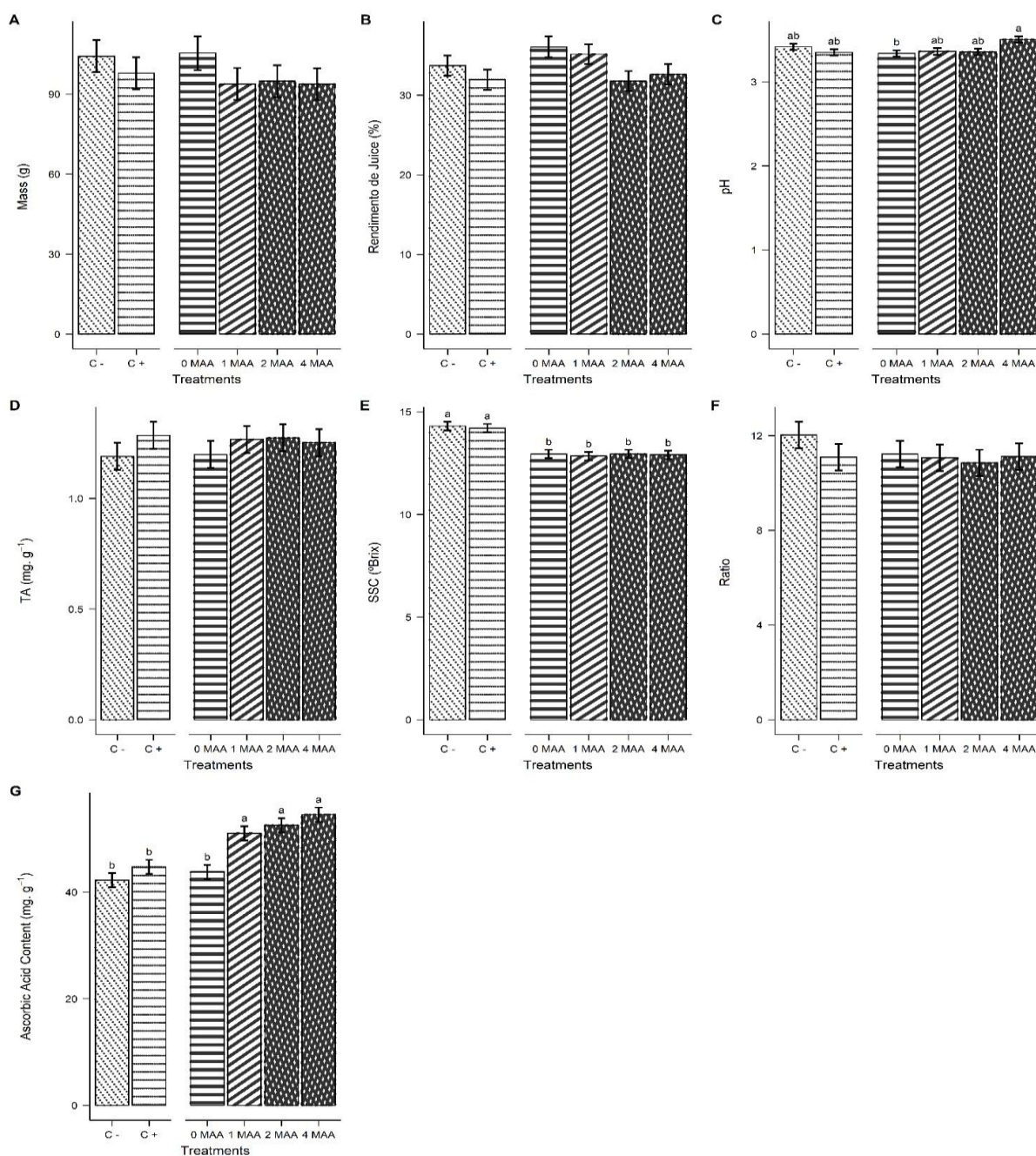


Figura 2. Caracterização físico-química: (A) massa, (B) rendimento de suco, (C) pH, (D) acidez titulável (AT), (E) teor de sólidos solúveis (TSS), (F) ratio e (G) teor de ácido ascórbico dos frutos de laranja, cultivar 'Hamlin', tratados com: emulsão contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles

positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$).

Em relação aos parâmetros referentes ao metabolismo oxidativo, não foi observado efeito significativo dos tratamentos para o teor de malondialdeído (MDA), correspondente a ocorrência de estresse, e de proteína, bem como para atividade das enzimas ascorbato peroxidase (APX) e superóxido desmutase (SOD) (Figura 3).

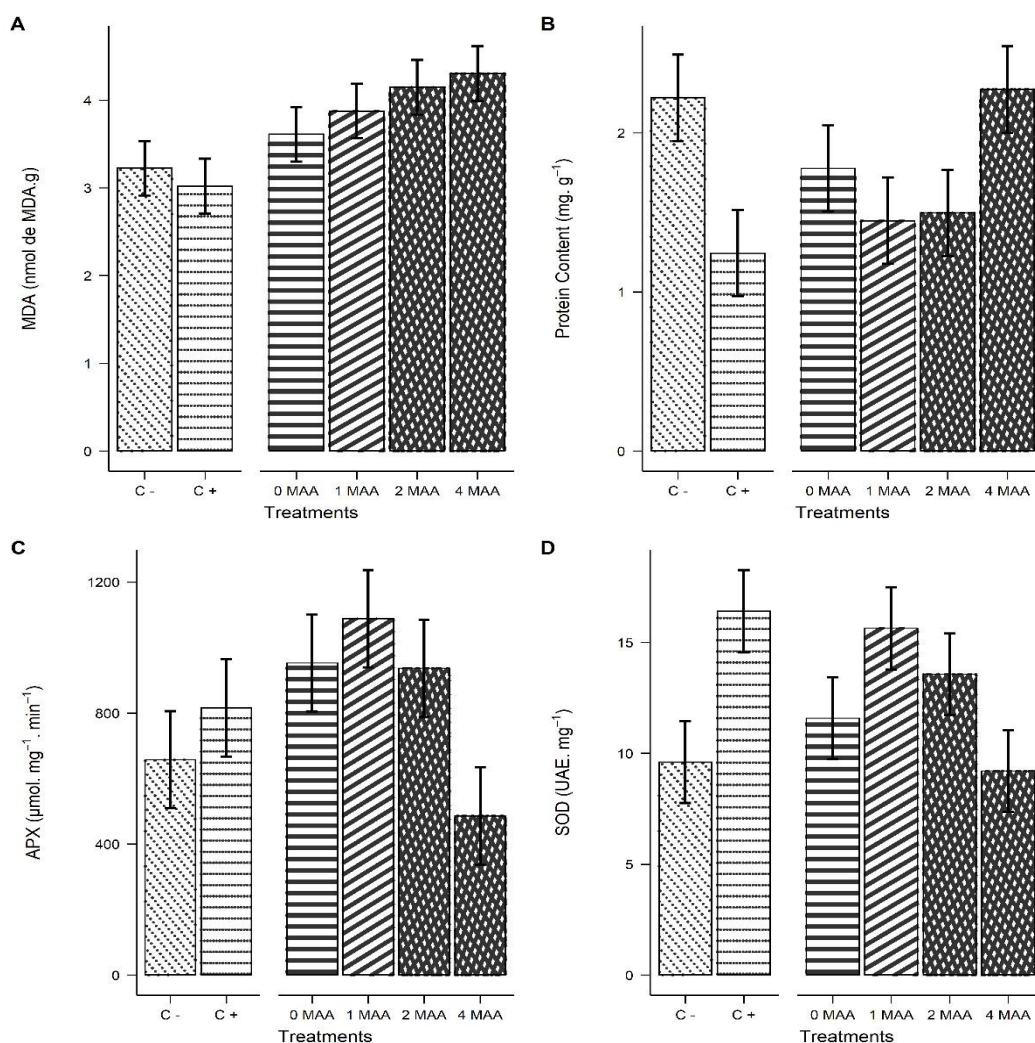


Figura 3. Marcadores bioquímicos: (A) teor de malondialdeído (MDA), (B) proteína, (C) atividade da ascorbato peroxidase (APX) e (D) superóxido desmutase (SOD) dos frutos de laranja, cultivar 'Hamlin', tratados com: emulsão contendo micospolina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$).

3.2. Laranjas ‘Pera-Rio’

O grau da ocorrência e severidade da escaldadura nestes frutos apresentou diferenças entre os tratamentos, sendo observados valores moderados a altos para os frutos tratados com as emulsões contendo MAA (2% de MAA = 2,30 e 4% de MAA = 2,80), enquanto os frutos dos tratamentos controle apresentaram valores variando entre baixo a moderado (Figura 4A).

Os frutos submetidos às aplicações das emulsões contendo MAA apresentaram mudanças nos parâmetros de coloração (Figura 4), sendo observada diferença significativa para luminosidade (L^*) e ângulo hue ($^{\circ}h$). Foi observado valores mais altos de L^* nos frutos tratados com as emulsões que continham MAA em relação aos frutos dos tratamentos controle ($C+ = 72,03$; $C- = 71,34$). Apesar da escaldadura levar ao branqueamento e clareamento da epiderme (Chabbal et al., 2014; Farag et al., 2019), a menor L^* no flavedo dos frutos tratados com as emulsões contendo MAA se relacionaram ao escurecimento das emulsões quando expostas à radiação solar em condições de campo.

Similarmente, com exceção dos frutos do tratamento 4% de MAA, os frutos dos tratamentos controle ($C+$ e $C-$) se mostraram mais amarelados que dos demais tratamentos (Figura 4C). No que se refere ao parâmetro croma, não foi identificada diferença significativa em seus valores observados (Figura 4D).

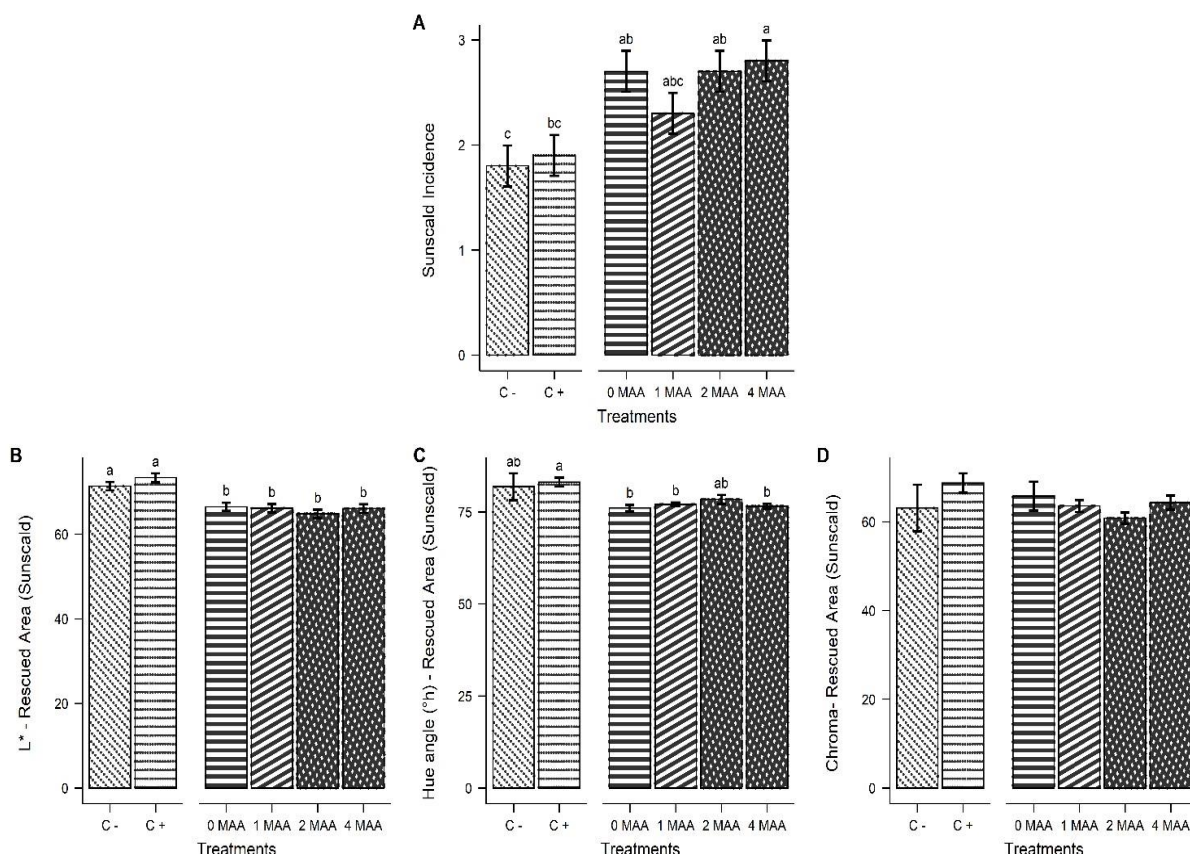


Figura 4. Avaliação da incidência de escaldadura e coloração dos frutos de laranja 'Pera-Rio' tratados com emulsões contendo 0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard™ 365 (fonte de micosporina tipo aminoácido - MAA) e dos controles positivo (hidróxido de cálcio 5% m/v) e negativo (sem coberturas). (A) luminosidade - L*, (B) ângulo hue - °h e (C) cromaticidade – croma. Médias seguidas com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de comparações múltiplas usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 repetições.

Não foram observadas diferenças significativas para a massa dos frutos e o rendimento em suco foi em média de 39% (Figura 5A e B). O mesmo pode ser observado para os resultados obtidos para os parâmetros de qualidade pH, acidez titulável (AT) e ratio, que não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 5). Por outro lado, os teores de TSS e ácido ascórbico (AsA) foram significativamente maiores nos frutos dos controles (C+ e C-) em relação aos tratados com as emulsões contendo MAA (Figura 7E e 7G).

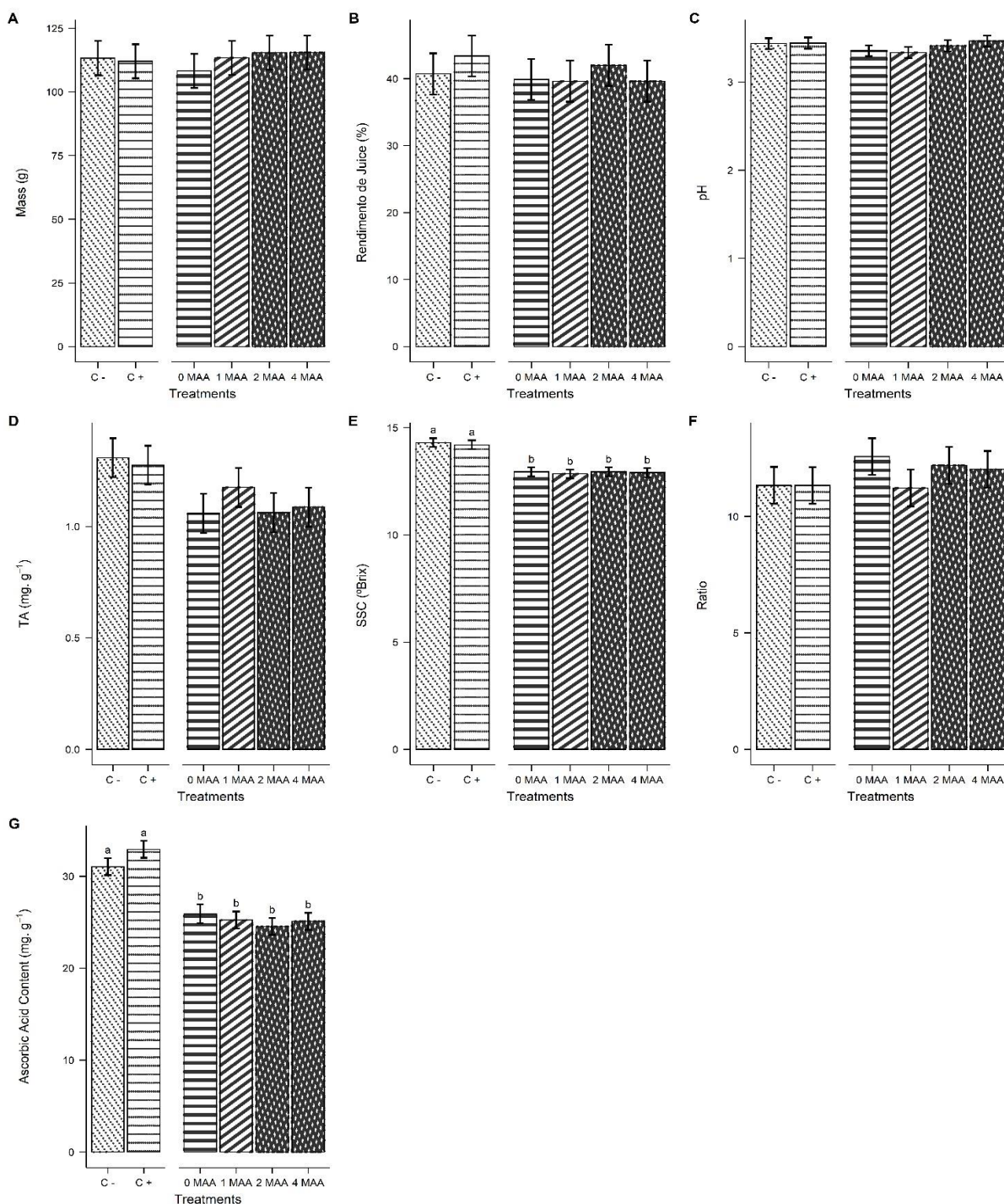


Figura 5. Caracterização físico-química: (A) massa, (B) rendimento de suco, (C) pH, (D) acidez titulável (AT), (E) teor de sólidos solúveis (TSS), (F) ratio e (G) teor de ácido ascórbico dos frutos de laranja, cultivar 'Pera-Rio', tratados com: emulsão contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados dos marcadores bioquímicos apresentaram variações entre as médias observadas para os diferentes tratamentos (Figura 6), porém estas diferenças não foram significativas para os teores de MDA (Figura 6A), proteína (Figura 6B), bem como para as atividades enzimáticas das enzimas APX (Figura 6C) e SOD (Figura 6D).

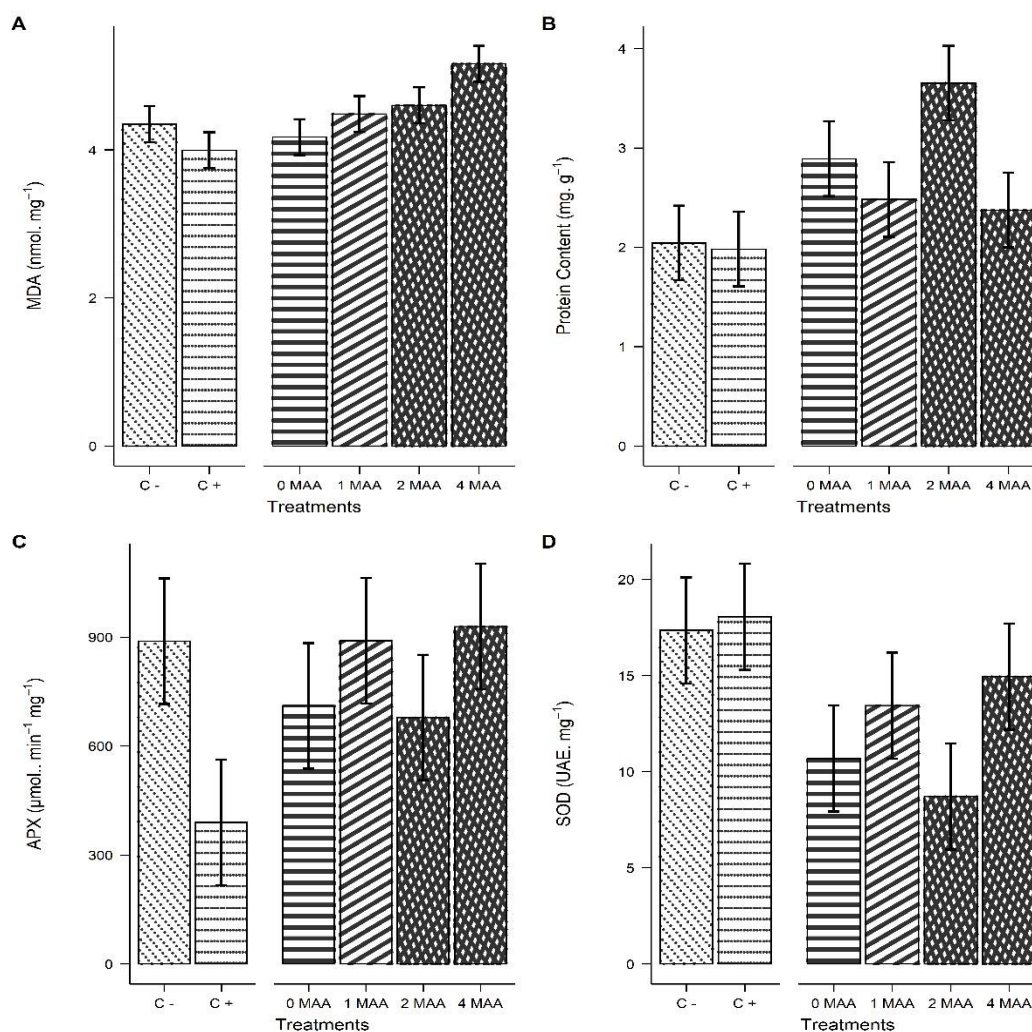


Figura 6. Marcadores bioquímicos: (A) teor de malondialdeído (MDA), (B) proteína, (C) atividade da ascorbato peroxidase (APX) e (D) superóxido desmutase (SOD) dos frutos de laranja, cultivar 'Hamlin', tratados com: emulsão contendo micospolina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$).

3.3. Laranjas ‘Valência’

A incidência de escaldadura nos frutos desta cultivar também não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, sendo os sintomas de severidade do desenvolvimento desta injúria considerados baixos a moderados (Figura 7A).

Com exceção da cromaticidade (croma), a coloração dos frutos apresentou diferenças entre os tratamentos (Figura 8). Para a luminosidade (L^*), a única diferença observada se deu entre os frutos do tratamento C- e os tratados com a emulsão contendo 1% de MAA (Figura 8B). Por outro lado, o ângulo hue ($^{\circ}h$) foi significativamente maior nos frutos dos tratamentos controle (C+ e C) em relação aos tratados com as emulsões, que se apresentaram mais escurecidos que os dos controles (Figura 8C).

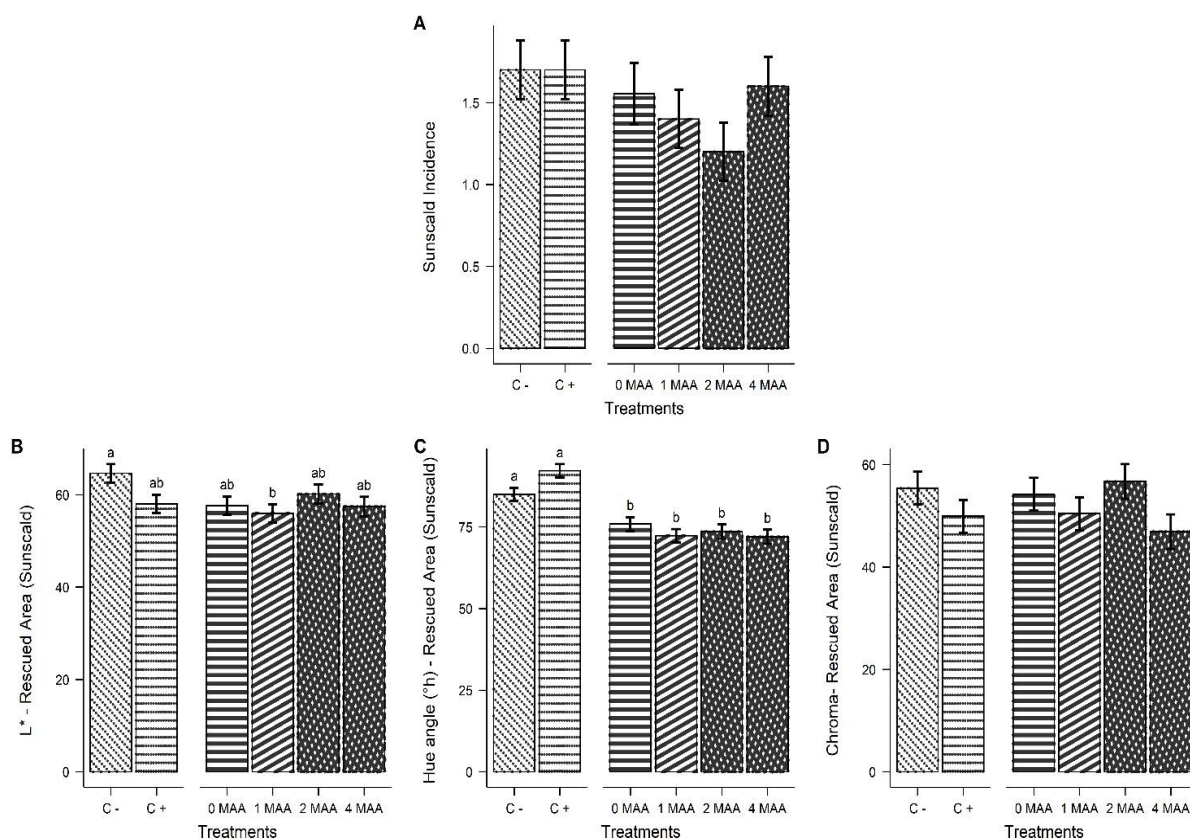


Figura 7. Avaliação da incidência de escaldadura e coloração dos frutos de laranja ‘Valência’ tratados com emulsões contendo 0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard™ 365 (fonte de micosporina tipo aminoácido - MAA) e dos controles positivo (hidróxido de cálcio 5% m/v) e negativo (sem coberturas). (A) luminosidade - L^* , (B) ângulo hue - $^{\circ}h$ e (C) cromaticidade – croma. Médias seguidas com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de comparações múltiplas usando o ajuste de

multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 repetições.

Não foram observadas diferenças significativas para todos os parâmetros físico-químicos avaliados (Figura 9). A massa fresca, rendimento de suco, pH, teor de sólidos solúveis (TSS), acidez titulável (AT), ratio e teor de ácido ascórbico (AsA) (Figura 8) não foram afetados pela aplicação dos tratamentos com as emulsões contendo MAA em relação aos controles (C+ e C-).

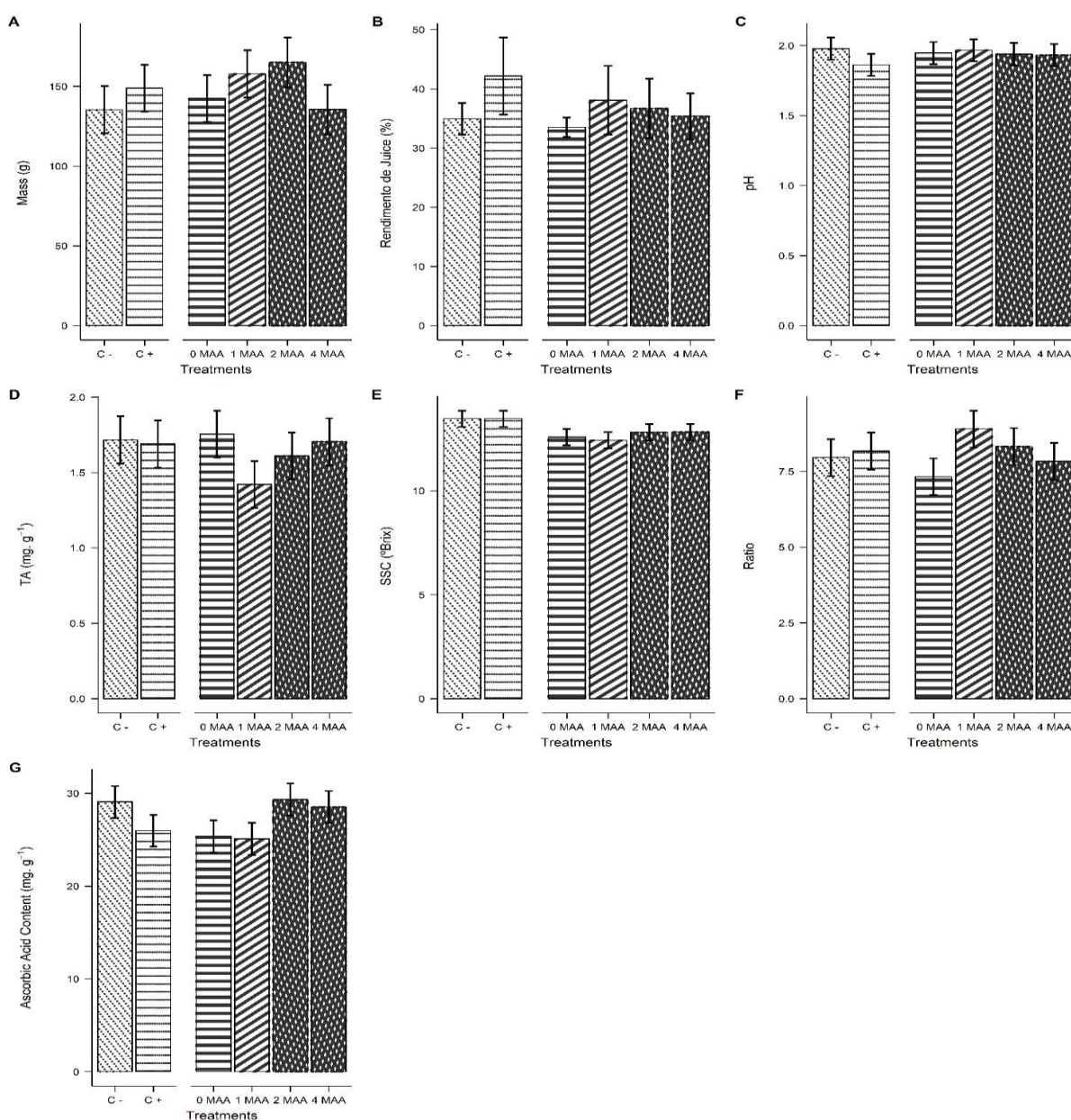


Figura 8. Caracterização físico-química: (A) massa, (B) rendimento de suco, (C) pH, (D) acidez titulável (AT), (E) teor de sólidos solúveis (TSS), (F) ratio e (G) teor de ácido

ascórbico dos frutos de laranja, cultivar 'Valência', tratados com: emulsão contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$).

Similarmente, não foram observadas diferenças significativas para a maioria dos parâmetros oxidativos (Figura 9). Todavia, os teores de proteína no flavedo dos frutos, principalmente ao se comparar as concentrações determinadas nos frutos do tratamento controle positivo (C+), $1,64 \text{ mg.g}^{-1}$, foram inferiores aos observados nos frutos tratados com a formulação contendo 0% de MAA, $4,26 \text{ mg.g}^{-1}$ (Figura 9B). As atividades das enzimas APX (Figura 9C) e SOD (Figura 9D), bem como os teores de MDA não foram afetadas pelos tratamentos (Figura 9 A).

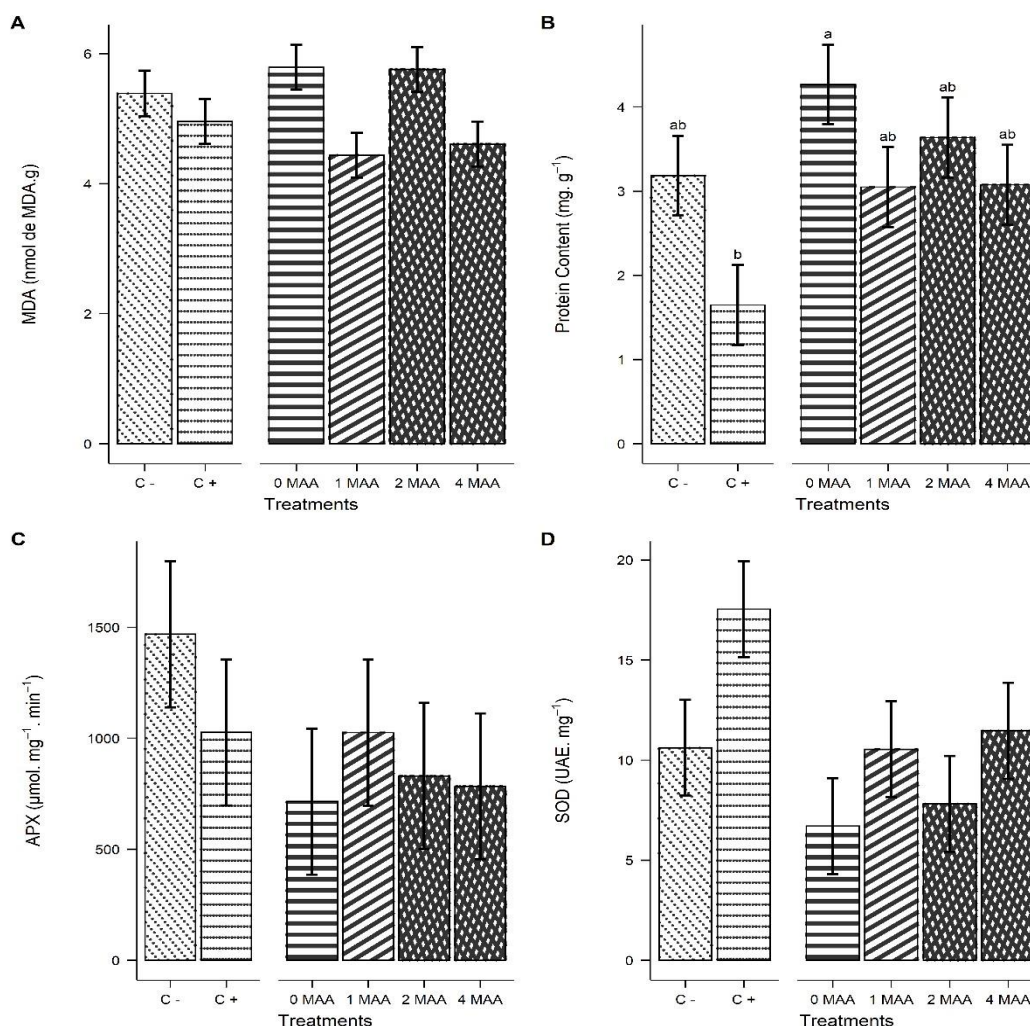


Figura 9. Marcadores bioquímicos: (A) teor de malondialdeído (MDA), (B) proteína, (C) atividade da ascorbato peroxidase (APX) e (D) superóxido desmutase (SOD) dos

frutos de laranjeira, cultivar 'Valência', tratados com: emulsão contendo micosporina tipo aminoácido (MAA) (0%, 1%, 2% e 4% de Helioguard 365) e controles positivo (hidróxido de cálcio 5%) e negativo (sem cobertura). Os meios com letras diferentes são estatisticamente de acordo com múltiplas comparações usando o ajuste de multiplicidade de Tukey ($P < 0,05$).

4. Discussão

Apesar dos recobrimentos de base lipídica com incorporação de MAA terem demonstrado aumento de absorbância na região do UV-B (Pedrosa et al., in press), estes demonstraram pouca eficiência no controle da escaldadura, principalmente quando comparados aos tratamentos sem cobertura (C-) e/ou tratados com hidróxido de cálcio (C+), Figura 1A, 4A e 7A. Foi observada alteração na coloração dos frutos tratados com os recobrimentos, o que se relacionaram aos efeitos deletérios do excesso de radiação solar, ou seja, degradação da clorofila e amarelecimento (Santos et al., 2010; Asrey et al., 2020), bem como do escurecimento das emulsões em contato com a radiação solar (Apêndice A). Em relação às cultivares de laranjeiras, os sintomas de escaldadura foram especificamente mais severos na 'Pera-Rio' (Apêndice A), cujos frutos apresentaram sintomas de moderado a alto grau de severidade, indicando que os recobrimentos foram ainda menos efetivos neste cultivar (Figura 4A).

Apesar de menos intensos, foram observados sintomas de escaldadura nos frutos do tratamento controle negativo (C-), dada a ausência de proteção. Todavia, o tratamento tradicional com hidróxido de cálcio 5% (C+) também se mostrou pouco efetivo no controle desta injúria, particularmente nas cultivares 'Hamlin' e 'Valência' (Figura 1A e 7A). A baixa eficiência do C+ se deve a sua solubilidade em água fazendo com que o hidróxido de cálcio seja removido da superfície dos frutos por ocasião de chuvas (Lopes et al, 2014), bem como do grande número de pulverizações (10 a 15 dias) realizadas para o controle do *Huanglongbing* (HLB). Desta forma, outras alternativas devem ser desenvolvidas visando ao controle da escaldadura causada pelo excesso de radiação solar em frutos de laranjeira.

Apesar da comprovada ação foto proteção dos MAA (Fuentes-Tristan et., 2019), bem como do aumento de absorbância na região do UV-B nos recobrimentos

contendo estes compostos (Pedrosa et al., in press), as condições climáticas de seca severa e de altas temperaturas e radiação solar observadas durante a condução do experimento, conjuntamente com as baixas condições em que as plantas produtoras se encontravam (Apêndice B), podem ter contribuído para a falta de eficiência dos recobrimentos no controle da escaldadura, assim como para a aparência dos recobrimentos, que em função da exposição à radiação solar, se tornaram escuros, não mais atuando como barreira química, mais possivelmente como fonte de um novo estresse, visto que sua coloração escura possivelmente favoreceu a absorção de energia sob a forma de calor.

Da mesma forma, as altas temperaturas e a radiação solar elevadas, bem como os baixos valores de umidade relativa do ar e precipitação nas áreas experimentais (Apêndice C) resultaram na produção de frutos pouco desenvolvidos, com polpa endurecida, acarretando em baixo rendimento de suco (Ferrante e Mariani, 2018), para os frutos de todos os tratamentos, principalmente nas cultivares 'Hamlin' e 'Valência' (Figuras 1A e 7A). Assim, tais fatores de influência não permitem determinar explicitamente se tais resultados podem estar relacionados às cultivares ou aos efeitos dos tratamentos aplicados.

A incidência da radiação solar quando em excesso pode promover o desenvolvimento de processos deletérios como a fotoinibição da fotossíntese e fotoxidação de pigmentos, que resultam em distúrbios fisiológicos como a escaldadura (Gullo et al., 2020). A produção excessiva de EROs pode indicar a ocorrência de estresse como em resposta à alta incidência de radiação solar (Ferrante e Mariani, 2018).

Refletindo a falta de efetividade no controle da escaldadura dos recobrimentos testados, todos os parâmetros do metabolismo oxidativo não diferiram em relação aos tratamentos controle. Assim, as concentrações de MDA, produzido em consequência da ocorrência do estresse, de proteína, bem como as atividades das enzimas SOD e da APX, exemplificaram as consequências e respostas do sistema, com a ativação do sistema antioxidante em função da exposição luminosa para controle dos processos oxidativos (Torres et al., 2016). Todavia, esta atividade não foi suficiente para impedir os danos fotooxidativos que progrediram em sintomas típicos de escaldadura em frutos de laranja.

Similarmente ao observado por Weerakkody et al., (2010), que relataram a ineficiência de filtros solares a base de caulim para o controle de escaldadura em romãs (*Punica granatum* L.), o tratamento com hidróxido de cálcio a 5% também foi pouco efetivo em ativar o metabolismo antioxidante e evitar a escaldadura em frutos de laranjeiras. Nesse contexto, os recobrimentos de base lipídica com a incorporação de MAA pouco contribuíram com a manutenção da qualidade e metabolismo oxidativos dos frutos de laranjeira.

5. Conclusões

O uso de recobrimentos de base lipídica nas concentrações de 0%, 1%, 2% e 4% (v/v) do produto Helioguard™ 365, fonte de micosporina tipo aminoácido (MAA), bem como a utilização do tratamento tradicional com pulverização com hidróxido de cálcio a 5%, não demonstraram eficiência para inibir o desenvolvimento da escaldadura nos frutos de três cultivares de laranjeira.

Os parâmetros físico-químicos e do metabolismo oxidativo não foram afetados pelos tratamentos, além de possivelmente terem sofrido influência das condições climáticas severas da área onde foi conduzido o experimento, o que revela a necessidade de se refazer o mesmo em outras condições climáticas, ou ainda, rever as formulações e fotoprotetores utilizados. Ainda pode-se buscar novas fontes de proteção física e química para o controle da escaldadura em frutos de laranjeira que seja eficiente em condições climáticas extremas.

6. Referências

- Akinde, S. B., Adeniyi, M. A., Adebunmi, A. A., Oluwajide, O. O., & Ogunnaike, O. O. (2017). Comparative effectiveness of chemical biocides and *Acalypha wilkesiana* leaf extract against postharvest fungal deteriorogens of sweet orange (*Citrus sinensis*) fruits. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, 4(2), 143-152.
- Amarante, C. V. T. D., Steffens, C. A., & Blum, L. E. B. (2010). Coloração do fruto, distúrbios fisiológicos e doenças em maçãs' Gala'e'Fuji'pulverizadas com aminoetoxivinilglicina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 32(1), 009-018.

Ambrózy, Z. S., Daood, H., Nagy, Z. S., Ledó, H. D., & Helyes, L. (2016). Effect of net shading technology and harvest times on yield and fruit quality of sweet pepper. **Applied Ecology and Environmental Research**, 14(1), 99-109.

Andrews, P. K., Johnson, J. R., Fahy, D., & Gish, N. (1999). Sunburn protection in apples with ascorbic acid. **Le Fruit Belge**, 481, 157–161.

AOAC (2016). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 20. ed. Washington D.C: Ed. George, W.; Latimer, Jr. p. 3172.

Asrey, R., Kumar, K., Sharma, R. R., & Meena, N. K. (2020). Fruit bagging and bag color affects physico-chemical, nutraceutical quality and consumer acceptability of pomegranate (*Punica granatum* L.) arils. **Journal of food science and technology**, 57(4), 1469-1476.

Azevedo, R., Alas, R. M., Smith, R. J., & Lea, P. J. (1998). Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, 104(2), 280-292.

Bandaranayake, W. M. (1998). Traditional and medicinal uses of mangroves. **Mangroves and Salt Marshes**, n.2, p. 133-148.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.** 722, 248-254. [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Chabbal, M. D., Piccoli, A. B., Martínez, G. C., Avanza, M. M., Mazza, S. M., & Rodríguez, V. A. (2014). Aplicaciones de caolín para el control del golpe de sol en mandarino 'Okitsu'. **Cultivos Tropicales**, 35, 1, 50-56.

de la Coba, F., Aguilera, J., Korbee, N., de Gálvez, M. V., Herrera-Ceballos, E., Álvarez-Gómez, F., & Figueroa, F. L. (2019). UVA and UVB photoprotective capabilities of topical formulations containing mycosporine-like amino acids (MAAs) through different biological effective protection factors (BEPFs). **Marine drugs**, 17(1), 55.

DPI - DEPARTMENT OF PRIMARY INDUSTRIES. **Agriculture, 2006**. Disponível em: <https://www.dpi.nsw.gov.au/>. Acesso em: 23 dezembro de 2019.

Dunlap, W. C. & Chalker, B. E. (1986). Identification and quantitation of near-UV absorbing compounds (S-320) in a hermatypic scleractinian. **Coral Reefs**, 5, 3, 155-159.

Dunlap, Walter C. & Yamamoto, Yorihiro (1995). Small-molecule antioxidants in marine organisms: antioxidant activity of mycosporine-glycine. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, 112, 1, 105-114.

Dunlap, WC, Chalker, BE, Bandaranayake, WM & Wu Won, JJ (1998). Nature's sunscreen from the Great Barrier Reef, Australia. **International Journal of Cosmetic Science**, 20, 1, 41-51.

Fava Neves, M., Trombin, V., Milan, P., Lopes, F., Cressoni, F., & Kalaki, R. (2011). **O retrato da citricultura brasileira. FEA/USP**. Disponível em <http://issuu.com/CitrusBR/docs/retrato_citricultura_brasileira_marcos_fava_neves/1>. Acesso em: 26 de fevereiro de 2021.

Farag, K. M., Elsabagh, A. S., Nagy, N. M., & Mekkawy, O. M. (2019). Field Applications for Color Enhancement of 'Valencia' Oranges while Reducing Leaf Abscission. **Middle East J**, 8, 4, 1253-1263.

Fernandes, S. C., Alonso-Varona, A., Palomares, T., Zubillaga, V., Labidi, J., & Bulone, V. (2015). Exploiting Mycosporines as Natural Molecular Sunscreens for the Fabrication of UV-Absorbing Green Materials. **ACS Applied Materials and Interfaces**, 7, 30, 7.

Ferrante, A., & Mariani, L. (2018). Agronomic management for enhancing plant tolerance to abiotic stresses: High and low values of temperature, light intensity, and relative humidity. **Horticulturae**, 4(3), 21.

Fuentes-Tristan, S., Parra-Saldivar, R., Iqbal, H. M., & Carrillo-Nieves, D. (2019). Bioinspired biomolecules: Mycosporine-like amino acids and scytonemin from *Lyngbya* sp. with UV-protection potentialities. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 201, 111684.

Glenn, D. Michael & Puterka, Gary J (2005). Particle films: a new technology for agriculture. **Horticultural reviews**, 31, 1-44.

Gmitter, F. G., & Hu, X. (1990). The possible role of Yunnan, China, in the origin of contemporary Citrus species (Rutaceae). **Economic Botany**, 44(2), 267-277.

Gratão, P.L., Monteiro, C.C., Carvalho, R.F., Teozotto, T., Piotto, F.A., Peres, L.E.P., Azevedo, R.A., 2012. Biochemical dissection of diageotropica and Never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiol. Biochem.** 56, 79-96. <http://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.04.009>

Gullo, G., Dattola, A., Vonella, V., & Zappia, R. (2020). Effects of two reflective materials on gas exchange, yield, and fruit quality of sweet orange tree *Citrus sinensis* (L.) Osb. **European Journal of Agronomy**, 118, 126071.

Hofman, PJ, Smith, LG, Joyce, DC, Johnson, GI, & Meiburg, GF (1997). Bagging of mango (*Mangifera indica* cv. Keitt') fruit influences fruit quality and mineral composition. **Postharvest Biology and Technology**, 12, 1, 83-91.

Horton, P. (2000). Prospects for crop improvement through the genetic manipulation of photosynthesis: morphological and biochemical aspects of light capture. **Journal of experimental botany**, 51, 475-485.

Lal, N., & Sahu, N. (2017). Management strategies of sun burn in fruit crops-A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 6, 6, 1126-1138. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.606.131>.

Lenth, R. (2019). **Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means**. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>.

Libkind, D., Sommaruga, R., Zagarese, H., & van Broock, M. (2005). Mycosporines in carotenogenic yeasts. **Systematic and applied microbiology**, 28, 8, 749-754.

Lopes, O. P., Maia, V. M., Santos, S. R. D., Mizobutsi, G. P., & Pegoraro, R. F. (2014). Proteções contra queima solar de frutos de abacaxizeiro submetido a diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 36, 3, 748-754. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-273/13>.

McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. **HortScience**, 27(12), 1254-1255.

Munné-Bosch, S., & Vincent, C. (2019). Physiological Mechanisms Underlying Fruit Sunburn. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 38(2), 140-157.

Mupambi, G., Anthony, B. M., Layne, D. R., Musacchi, S., Serra, S., Schmidt, T., & Kalcsits, L. A. (2018). The influence of protective netting on tree physiology and fruit quality of apple: A review. **Scientia Horticulturae**, 236, 60-72.

Naschitz, S., Naor, A., Sax, Y., Shahak, Y., & Rabinowitch, H. D. (2015). Photooxidative sunscald of apple: effects of temperature and light on fruit peel photoinhibition, bleaching and short-term tolerance acquisition. **Scientia Horticulturae**, 197, 5-16. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.003>.

Pereira, L. D., do Valle, K. D., de Souza, L. K. F., Paiva, E. F., de Castro Bolina, C., dos Reis, E. F., ... & da Silva, D. F. P. (2018). Caracterização de frutos de diferentes espécies de maracujazeiro. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, 8(2).

Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, R Core Team (2020). nlme: **Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-150**, <https://CRAN.Rproject.org/package=nlme>.

R Core Team., 2020. **R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL <https://www.Rproject.org/>.

Rodriguez, J., Anoruo, A., Jifon, J., & Simpson, C. (2019). Physiological Effects of Exogenously Applied Reflectants and Anti-Transpirants on Leaf Temperature and Fruit Sunburn in Citrus. **Plants**, 8(12), 549.

Santos, Dierlei dos, Matarazzo, Pedro Henrique Monteiro, Silva, Danieele Fabíola Pereira da, Siqueira, Dalmo Lopes de, Santos, Daiane Cristina Marques dos, & Lucena, Cícero Cartaxo de. (2010). Caracterização físico-química de frutos cítricos apirênicos produzidos em Viçosa, Minas Gerais. **Revista Ceres**, 57(3), 393-400

Sartori, I. A., Koller, O. C., Schwarz, S. F., Bender, R. J., & SCHÄFER, G. (2002). Maturação de frutos de seis cultivares de laranjas-doces na depressão central do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 24(2), 364-369.

Schrader, L. E. (2011). Scientific basis of a unique formulation for reducing sunburn of fruits. **HortScience**, 46(1), 6-11.

Strohecker, Rolf; Henining, Heinz Max. **Análisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid, p. 428, 1967.

Teixeira, G. H. D. A., Morelli, L., Ma, S., Stewart, A., & O'Keefe, S. F. (2019). Photoprotective effect of mycosporine-like aminoacids extracts on natamycin, saffron carotenoids and epigallocatechin gallate in acidified beverages exposed to different light sources. **International Journal of Food Science & Technology**, 54(2), 440-450.

Torres, C. A., Sepúlveda, A., Leon, L., & Yuri, J. A. (2016). Early detection of sun injury on apples (*Malus domestica* Borkh.) through the use of crop water stress index and chlorophyll fluorescence. **Scientia Horticulturae**, 211, 336-342.

Wada, N., Sakamoto, T., & Matsugo, S. (2015). Mycosporine-like amino acids and their derivatives as natural antioxidants. **Antioxidants**, 4(3), 603-646.

Weerakkody, P., Jobling, J., Infante, M. M. V., & Rogers, G. (2010). The effect of maturity, sunburn and the application of sunscreens on the internal and external qualities of pomegranate fruit grown in Australia. **Scientia horticulturae**, 124(1), 5761.

Zacarías-García, J., Rey, F., Gil, JV, Rodrigo, MJ, & Zacarías, L. (2020). Capacidade antioxidante em frutas de cultivares de citros com diferenças marcantes na coloração da polpa: Contribuição de carotenóides e vitamina C. **Food Science and Technology International**, 1082013220944018.

Capítulo 4 – Considerações Finais

Tendo em vista a problemática exemplificada no presente estudo pelo desenvolvimento do distúrbio fisiológico que resulta na escaldadura ou queimadura solar nos frutos e, conseqüentemente, em perdas ainda na pré-colheita de produtos hortícolas, explana a necessidade pela busca de métodos outros para a realização de um controle efetivo desta injúria. Sabendo-se do amplo uso de barreiras físicas para esta finalidade, sendo estas onerosas e/ou pouco eficientes, bem como a quantidade limitada de informações sobre a utilização de barreiras químicas para controle do desenvolvimento de escaldadura em produtos hortícolas, há a necessidade de estudos para o desenvolvimento de produtos químicos fotoprotetores para os vegetais.

Apesar do conhecimento sobre a eficácia de compostos como as micosporinas tipo aminoácidos (MAA) oriundos de organismos aquáticos como fotoprotetores naturais, sua extração é difícil e demorada. Isto levou a necessidade de se utilizar o produto comercial o Helioguard 365 como fonte de MAA para a produção das coberturas que atuassem como uma barreira química à radiação solar. O veículo para a aplicação das MAAs foi as emulsões lipídicas à base de cera de carnaúba, pois esta apresentou propriedades hidrofóbicas para aplicação do fotoprotetor. Ainda que as qualidades físico-químicas e de estabilidade das emulsões tenham sido adequadas e satisfatórias, bem como sua atividade fotoprotetora comprovada através de avaliação espectrofotométrica, esta não foi suficiente para impedir os efeitos deletérios do excesso de radiação solar ante sua aplicação pré-colheita nos três cultivares de laranjeiras, 'Hamlin', 'Pera-Rio' e 'Valência'.

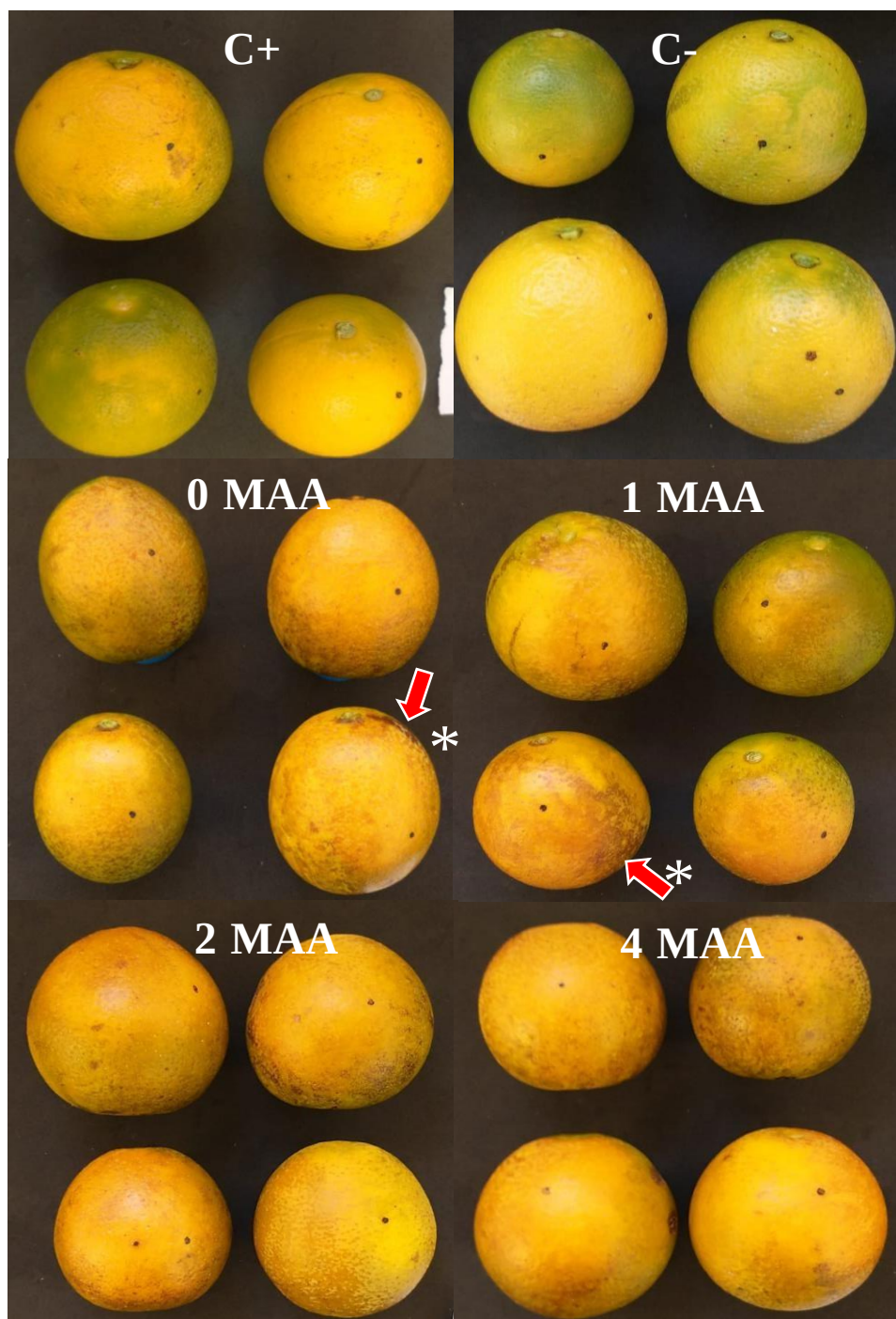
Com base nos resultados obtidos, o uso do produto fonte de MAA, assim como o hidróxido de cálcio, tratamento tradicional para o controle de escaldadura, foram pouco eficientes inibindo o desenvolvimento da injúria. Com o escurecimento dos recobrimentos ante exposição à radiação solar, presumidamente em função da oxidação dos lipídeos da base lipídica, que podem ter influenciado e favorecido a indução da escaldadura nos frutos.

Estes resultados indicam a necessidade de mais estudos e testes visando o controle deste distúrbio fisiológico, bem como do uso de novas formulações com

capacidade fotoprotetora, além de outros veículos de aplicação destes compostos, no sentido de possivelmente encontrar cobertura de maior eficiência para aplicação nos frutos sem prejudicar a qualidade dos mesmos.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Tratamentos da cultura ‘Pera-Rio’. Frutos dos grupos: controle positivo (hidróxido de cálcio – C+), controle negativo (sem cobertura – C-), 0% de Helioguard™ 365 (fonte dos MAAs) (0 MAA), 1% de Helioguard™ 365 (fonte dos MAAs) (1 MAA), 2% de Helioguard™ 365 (fonte dos MAAs) (2 MAA) e 4% de Helioguard™ 365 (fonte dos MAAs) (4 MAA).

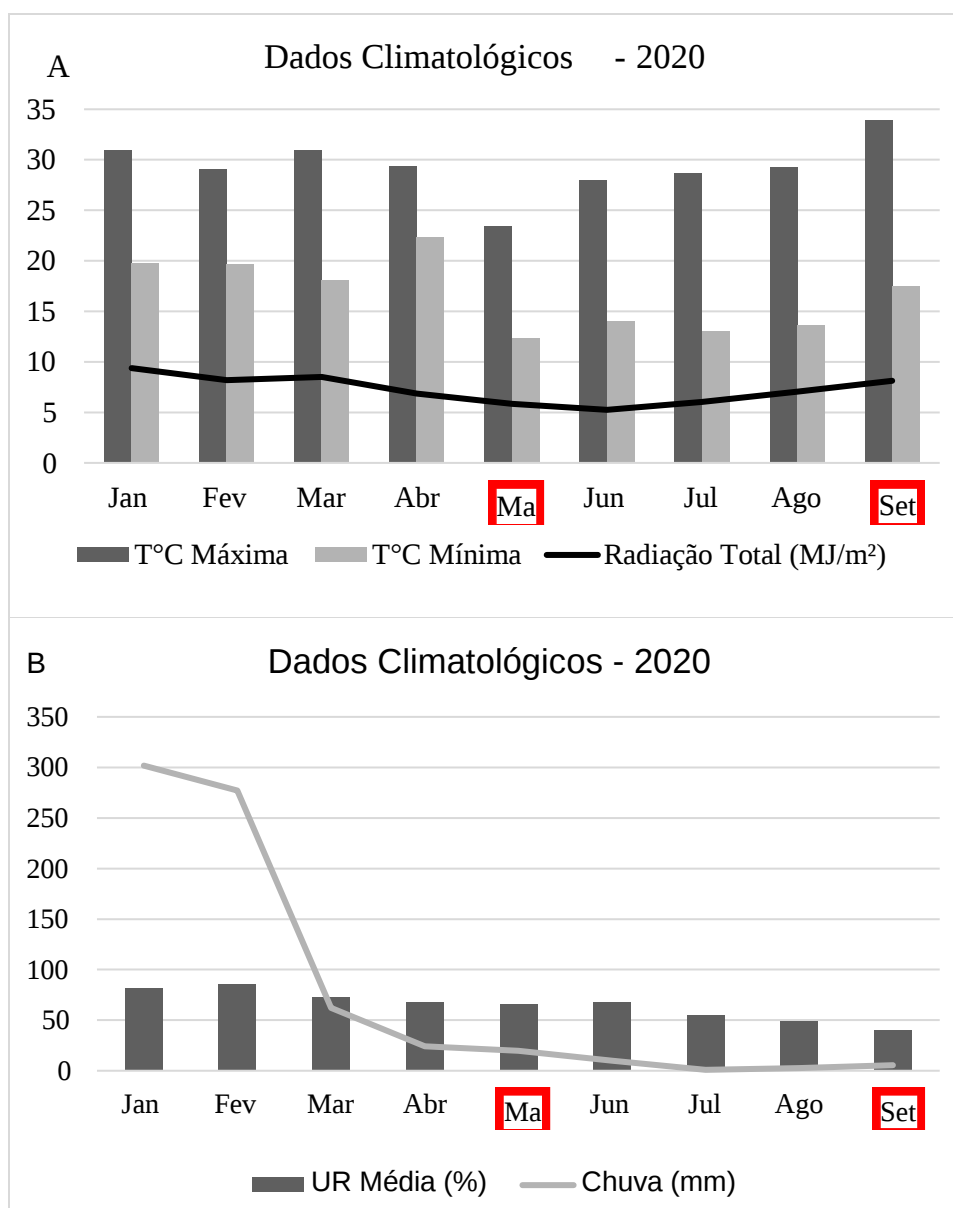


* Manchas escurecidas de recobrimento.

APÊNDICE B - (A e B) Laranjeiras com folhas secas e (C) frutos injuriados (escaldados, murcho e necrosados), apresentando sinais de deficiência hídrica.



APÊNDICE C - Dados climatológicos referentes aos meses de janeiro a setembro de 2020 da área experimental da Fundação Coopercitrus, município de Bebedouro -SP.



(A) Dados de temperatura (T°C) e radiação solar total; (B) Dados de umidade média do ar e pluviosidade. *Experimento instalado em maio com os últimos frutos colhidos em setembro.