



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA  
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



LUANA DE SOUZA CAVALCANTE CARNAVAL

**POTENCIAL APLICAÇÃO DO EXTRATO DE RESÍDUO DE SERIGUELA  
(*Spondias purpurea L.*)/nanoZnO EM FILMES ATIVOS À BASE DE RESÍDUO DE  
MANDIOCA**

**Recife/PE**

**2019**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA  
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



LUANA DE SOUZA CAVALCANTE CARNAVAL

**POTENCIAL APLICAÇÃO DO EXTRATO DE RESÍDUO DE SERIGUELA  
(*Spondias purpurea L.*)/nanoZnO EM FILMES ATIVOS À BASE DE RESÍDUO DE  
MANDIOCA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADORA: Dra. Andreлина Maria Pinheiro Santos

CO-ORIENTADORA: Dra. Enayde de Almeida Melo

CO-ORIENTADORA: Dra. Cristiana Maria Pedroso Yoshida

**Recife/PE**

**2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

C288p Carnaval, Luana de Souza Cavalcante  
Potencial aplicação do extrato de resíduo de seriguela (*Spondias purpurea L.*)/nanoZnO em filmes ativos à base de resíduo de mandioca / Luana de Souza Cavalcante Carnaval. – 2019.  
144 f. : il.

Orientadora: Andreлина Maria Pinheiro Santos.

Coorientador: Enayde de Almeida Melo ; Cristiana Maria Pedroso Yoshida.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Recife, BR-PE, 2019.

Inclui referências.

1. Resíduos agrícolas - Reaproveitamento 2. Embalagem ativa  
3. Atividade antimicrobiana 4. Amido - Aplicações industriais  
5. Antioxidantes I. Santos, Andreлина Maria Pinheiro, orient. II. Melo, Enayde de Almeida, coorient. III. Yoshida, Cristiana Maria Pedroso, coorient. IV. Título

CDD 664

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**POTENCIAL APLICAÇÃO DO EXTRATO DE RESÍDUO DE SERIGUELA  
(*Spondias purpurea L.*)/nanoZnO EM FILMES ATIVOS À BASE DE RESÍDUO DE  
MANDIOCA**

**Por Luana de Souza Cavalcante Carnaval**

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 02/07/2019 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos em sua forma final.

Banca Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Samara Alvachian Cardoso Andrade  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Silvana Magalhães Salgado  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Edleide Freitas Pires  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

*Dedico em especial à minha mãe, minha maior incentivadora, que por meio de sua luta mais árdua me ensinou a sorrir apesar das adversidades e a nunca desistir, e que apesar de não estar mais ao meu lado continua me dando forças para conquistar meus sonhos!*

## **AGRADECIMENTOS**

Este trabalho foi desenvolvido durante um dos momentos mais difíceis da minha vida, em que lutei por mais de um ano ao lado da minha mãe contra o câncer e vi o mesmo levá-la tão de repente e de forma tão dolorosa desta vida. É por isso que esse trabalho traz consigo um esforço imenso e a ajuda de muita gente durante toda caminhada, por isso venho com alegria fazer meus agradecimentos.

Em primeiro lugar tenho que agradecer a Deus, por estar sempre ao meu lado e por me dá forças para seguir em frente! Eu sei que Ele caminhou ao meu lado para que eu tivesse sabedoria para atravessar todos os momentos angustiantes pelos quais passei nesses dois anos, e para que eu pudesse orgulhar minha mãe que tanto sonhou junto comigo.

À minha mãe, que sempre me incentivou e acreditou em mim, minha companheira de vida, o maior e mais sincero amor do mundo. Não tenho palavras que possam agradecer o quanto ela foi primordial para que eu concluísse esse trabalho e o quanto sua luta me fortaleceu ao longo dessa jornada, por isso só posso dizer que seu amor me faz continuar “mainha”, seu amor é o maior bem que eu poderia um dia sonhar em conquistar! Foi e está sendo difícil aceitar sua partida, mas senti sua presença e seu abraço apertado todas as vezes em que pensei que não conseguiria chegar até aqui, e por isso, toda minha gratidão a VOCÊ minha mãe!

Ao meu pai, por sua companhia e paciência para lidar com meus momentos de estresse, sua compreensão quando eu não pude me fazer presente, por sua dedicação e amor à família, por seu apoio e carinho durante os momentos mais tristes desta jornada! Por sua preocupação comigo, mesmo quando era você quem precisava de cuidados!

À minha irmã, que me ajudou a conciliar os horários no hospital e o mestrado durante o tratamento da minha mãe. Obrigada por estar comigo!

À minha família, por sua união sem limites e por não medir esforços para me ver feliz e realizada, vocês (tios, tias, primos, primas, etc) são os melhores parceiros (as) que eu poderia ter!

Às minhas orientadoras, que me deram força para superar os desafios e acreditar em meu trabalho. Agradeço em especial à Lia por sua compreensão e humanidade nos

momentos mais difíceis em que precisei me dedicar à minha mãe, e logo depois ao meu pai!

À minha psicóloga, Emmir Daiane, que foi primordial para que eu atravessasse tantos processos, conquistas e sofrimentos, com mais calma, serenidade e compreensão.

As minhas amigas do mestrado, Ana, Amanda e Hákylla, pela amizade e companhia. Pelas horas que vocês dedicavam a mim quando eu precisava desabafar e aquelas intermináveis que dividíamos no laboratório, pelos choros e sorrisos que compartilhamos juntas! Em especial gostaria de agradecer à Ana, que se tornou parte da minha família e uma verdadeira irmã que tanto me amparou quando eu achei estar sozinha. Obrigada por ser essa pessoa simples e de sorriso fácil, você me fortaleceu!

Não poderia esquecer de Jaqueline, pela ajuda em muitas análises e pela humildade e disponibilidade em ajudar!

E agradecer também à equipe do Laboratório de Patologia Vegetal Molecular da Universidade de Florença (Matteo, Stefania e Silvia) pela oportunidade em adquirir novos e valiosos conhecimentos durante o período em que estive na Itália, pela carinhosa e atenciosa recepção, por nossos almoços e cafés juntos!

Assim minha gratidão a todos! Não pude escrever o nome de todos que merecem estar aqui, mas saibam que sou eternamente grata por ter vocês em minha vida, saibam que aquele simples abraço em silêncio me fez mais forte para continuar! Obrigada!

“ Não tente ser mais perfeita do que já é. Você só dá orgulho para os que te amam! Te amo  
do tamanho do infinito! ”

(Noemia de Souza Cavalcante Carnaval, minha mãe)



## RESUMO

As embalagens plásticas sintéticas para alimentos são grandes responsáveis pela geração e acúmulo de resíduos descartados na natureza. Além disso, quantidades expressivas de resíduos agroindustriais ricos em substâncias relevantes são desperdiçadas. Portanto, uma embalagem biodegradável baseada em polímeros naturais de fontes renováveis, como o amido presente no resíduo de mandioca, é uma alternativa como biomaterial. E, aditivos como nanoZnO e os resíduos agroindustriais da seriguela podem melhorar as propriedades de barreiras e mecânicas desses filmes, além de conferir um caráter bioativo devido as atividades antimicrobiana e antioxidante. Assim, esse trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar filmes à base da farinha dos resíduos provenientes do processamento industrial da mandioca (FRM), incorporados com nanoZnO e extrato do resíduo da seriguela, para aplicação como embalagens ativas. Na primeira etapa, o extrato dos resíduos de seriguela e o nanoZnO foram avaliados quanto à atividade inibitória contra os sistemas bacterianos de patogenicidade e virulência TTSS (Sistema de Secreção Tipo Três) e QS (Quorum Sensing) para *Pseudomonas savastanoi*, em que o extrato a 60% e o nanoZnO a 3% apresentaram os melhores resultados; à ação antibacteriana em que o extrato inibiu o crescimento de *Clavibacter michiganensis* pv *michiganensis* e *Xanthomonas phaseoli*, sendo esta última também inibida por nanoZnO; e à ação antifúngica contra *Botrytis cinerea*, confirmada para ambos. Na segunda etapa, os filmes foram produzidos sob três condições: controle (5% FRM e 2% glicerol), A (5% FRM, 10% extrato, 0,5% nanoZnO e 2% glicerol) e B (5% FRM, 20% extrato, 0,5% nanoZnO e 2% glicerol); e sua caracterização. Os filmes aditivados apresentaram uma baixa retenção dos fenólicos (< 3%). A solubilidade e a espessura não sofreram alterações significativas, mas todas as condições apresentaram barreira eficiente ao vapor de água (valores de 0,0004 a 0,004 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa). Os filmes aditivados obtiveram maior % de intumescimento (A:112,02% e B:129,61%) que o controle (101,36%), e se tornaram mais escuros e opacos, de cor amarelo-avermelhada. O uso dos aditivos levou a reduções que chegaram até 99% para transmissão de luz na região visível, e na região UV baixas porcentagens foram encontradas (0,095 a 0,176%), revelando o potencial para proteção de alimentos suscetíveis à degradação oxidativa. A microscopia eletrônica indicou uma boa uniformidade dos filmes nas condições aditivadas. Quanto à ação antimicrobiana, os filmes foram capazes de causar inibição contra *S. aureus* e *E. coli*, sendo mais efetivos contra *S. aureus*. Assim, os resultados indicaram o potencial uso do amido como biomaterial, e do extrato de resíduo de seriguela e nanoZnO como aditivos bioativos.

**Palavras-chave:** resíduo agroindustrial, amido, antioxidantes naturais, ação antimicrobiana, embalagem ativa.

## ABSTRACT

Synthetic plastic food packaging is largely responsible for the generation and accumulation of waste disposed of in nature. In addition, significant quantities of agroindustrial waste rich in relevant substances are wasted. Therefore, a biodegradable packaging based on natural polymers from renewable sources, such as the starch present in the cassava residue, is an alternative as biomaterial. And, additives such as nanoZnO and agroindustrial residues of seriguela may improve the barrier and mechanical properties of these films, as well as confer a bioactive characteristic due to antimicrobial and antioxidant activities. Thus, the aim of this work was to produce and characterize films based on flour of residues from the industrial processing of cassava (FRM), incorporated with nanoZnO and extract from the seriguela residues, for application as active packaging. In the first step, the extract obtained from seriguela residues and nanoZnO were evaluated for the inhibitory activity against bacterial pathogenicity and virulence systems TTSS (Type Three Secretion System) and QS (Quorum Sensing) for *Pseudomonas savastanoi*, in which 60% extract and 3% nanoZnO presented the best results; to the antibacterial action in which the extract inhibited the growth of *Clavibacter michiganensis* pv *michiganensis* and *Xanthomonas phaseoli*, the latter being also inhibited by nanoZnO; and to the antifungal action against *Botrytis cinerea*, confirmed for both. In the second step, the films were produced under three conditions: control (5% FRM and 2% glycerol), A (5% FRM, 10% extract, 0.5% nanoZnO and 2% glycerol) and B (5% FRM, 20% extract, 0.5% nanoZnO and 2% glycerol); and their characterization. The additivated films had a low phenolic retention (< 3%). Solubility and thickness did not have significant changes, but all conditions presented an efficient barrier to water vapor (values from 0.0004 to 0.004 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa). Additivated films obtained higher % of swelling (A: 112.02% and B: 129.61%) than control (101.36%), and became darker and more opaque, reddish-yellow in color. The use of the additives led to reductions that reached up to 99% for light transmission in the visible region, and in the UV region low percentages were found (0.095 to 0.176%), showing potential for protection of susceptible food to oxidative degradation. The scanning electron microscopy indicated good film uniformity under additivated conditions. Concerning the antimicrobial action, the films were able to cause inhibition against *S. aureus* and *E. coli*, being more effective against *S. aureus*. Thus, the results indicated the potential use of starch as biomaterial, and seriguela residue extract and nanoZnO as bioactive additives.

**Key words:** agroindustrial residue, starch, natural antioxidants, antimicrobial activity, active packaging.

**LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 1 - Ecotipos de *Spondias purpurea* coletados nos estados de Guerrero, Morelos e Chiapas, México.....34

FIGURA 2 - Estrutura geral dos flavonoides e estruturas básicas de alguns dos subgrupos mais comuns.....37

FIGURA 3 - Mecanismo de ação de nanopartículas e seus íons ( $Ag^+$  e  $Zn^{2+}$ ) .....45

**Artigo 1**

FIGURA 1 - Atividades antibiótica (absorbância a 600nm) (A) e antivirulenta (fluorescência – GFP) (B) do extrato de resíduo de seriguela relacionadas ao sistema QS da bactéria *Pseudomonas savastanoi*.....77

FIGURA 2 - Atividades antibiótica (absorbância a 600nm) (A) e antivirulenta (fluorescência – GFP) (B) do extrato de resíduo de seriguela relacionadas ao sistema TTSS (T3) da bactéria *Pseudomonas savastanoi*.....78

FIGURA 3 - Atividades antibiótica (absorbância a 600nm) (A) e antivirulenta (fluorescência – GFP) (B) do nanoZnO relacionadas ao sistema QS da bactéria *Pseudomonas savastanoi*.....79

FIGURA 4 - Atividades antibiótica (absorbância a 600nm) (A) e antivirulenta (fluorescência – GFP) (B) do nanoZnO relacionadas ao sistema TTSS (T3) da bactéria *Pseudomonas savastanoi*.....79

FIGURA 5 - Ação antibacteriana do extrato e do nanoZnO caracterizada pela formação do halo de inibição.....81

**Artigo 2**

FIGURA 1 - Imagens dos filmes à base de FRM produzidos nas condições controle, A e B.....120

FIGURA 2 - Imagens obtidas a partir da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da superfície dos filmes produzidos à base de FRM.....128

FIGURA 3 - Ação antimicrobiana dos filmes à base de FRM contra cepa de *E. coli* na concentração  $10^6$  e  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> após 48h de incubação.....130

FIGURA 4 - Ação antimicrobiana dos filmes à base de FRM contra cepa de *S. aureus* na concentração  $10^6$  e  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> após 48h de incubação.....131

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 - Estudos realizados com resíduos de frutas.....39

TABELA 2 - Etapas da oxidação lipídica.....40

### **Artigo 1**

TABELA 1 - Perfil fenólico obtido a partir da análise cromatográfica do extrato do resíduo de seriguela (matriz) .....75

### **Artigo 2**

TABELA 1 - Composição físico-química da farinha obtida dos resíduos de mandioca...105

TABELA 2 - Teor de fenólicos totais, atividade antioxidante (DPPH) e capacidade de retenção dos filmes à base de FRM (controle e condições A e B) .....108

TABELA 3 - Solubilidade dos filmes produzidos à base de resíduo de mandioca, nanoZnO e extrato dos resíduos de seriguela.....112

TABELA 4 - Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e intumescimento dos filmes à base de FRM.....115

TABELA 5 – Parâmetros de cor através pelo sistema CIELab para os filmes produzidos à base de FRM.....119

TABELA 6 - Diferença total de cor ( $\Delta E$ ) para os filmes produzidos à base de FRM.....122

TABELA 7 - Espessura e opacidade dos filmes produzidos à base de FRM.....123

TABELA 8 - Transmissão de luz (%) dos filmes produzidos à base de FRM.....125

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

**µg** – Micrograma

**µL** – Microlitro

**µm** – Micrômetro

**µM** – Micromol

**a\* e b\*** - parâmetros de cor no sistema CIELAB

**Abs** – Absorbância

**Ag<sup>+</sup>** - Íon prata

**AH** - Compostos antioxidante

**ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**AOAC** - *Association of Official Analytical Chemists*

**ASTM** – *American Society for Testing and Materials*

**ATCC** - *American Type Culture Collection*

**BHI** - Caldo infusão de cérebro e de coração

**C** - Concentração

**C\*** - Chroma

**CE** – Ceará

**cm** - centímetro

**CO<sub>2</sub>** – Gás carbônico

**CRF** - *Cassava residues flour*

**CTG** – Centro de Tecnologia e Geociências

**DNA** - Ácido Desoxirribonucleico

**DPPH** - radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina

**DTR** - Departamento de Tecnologia Rural

**EAG** - Equivalentes de ácido gálico

**EROs** - Espécies reativas de oxigênio

**EXT** - *extract of the seriguela residues*

**EXT** - Extrato dos resíduos da seriguela

**FDA** – *Food and Drug Administration*

**FRM** - Farinha dos resíduos da mandioca

**g** – Grama

**GFP** - *Green fluorescent protein*

**GRAS** – *Generally Recognized As Safe*

**h** – Hora

**H<sub>2</sub>O** – Água

**H°** – Ângulo de Hue

**HPLC** - *High performance liquid chromatography*

**ICMP** - *International Collection of Microorganisms from Plants*

**KB** - *King's B medium*

**Kcal** – Quilocalorias

**kg** – Kilograma

**kPa** – Quilo Pascal

**L** – Litro

**L\*** – Luminosidade (no sistema CIELAB para determinação da cor)

**LB** – Meio de cultura Luria Bertani

**LDN** - Laboratório de Dispositivos e Nanoestruturas

**M** – Peso do filme no cálculo de quantificação dos fenólicos no filme

**MEV** - Microscopia Eletrônica de Varredura

**mg** – Miligrama

**min** – Minuto (s)

**mL** – Mililitro

**mm** – Milímetro

**MM** - *minimal medium*

**nanoZnO** – Nanopartículas de óxido de zinco

**ND** – Não detectado

**nm** – Nanômetro

**NPs** – Nanopartículas

**°Brix** – Grau Brix

**°C** – Grau Celsius

**OD** - Densidade óptica

**OD600** - Densidade óptica em 600nm

**p/p** – Peso por peso

**PBAT** - poli butileno adipato-co-tereftalato

**PDA** - Potato Dextrose Agar

**PE** – Pernambuco

**PEBD** - Polietileno de baixa densidade

**PLA** - Ácido polilático

**PVA** - Permeabilidade ao vapor de água

**PVC** - *Polyvinyl chloride* ou policloreto de vinila

**QS** - Quorum Sensing

**R•** – Radical alquil

**RDC**- Resolução da Diretoria Colegiada

**RH** - Ácido graxo insaturado

**RN** – Rio Grande do Norte

**ROO•** – Radical peroxil

**ROOH** - Hidroperóxido de ácido graxo ou lipídico

**rpm** – Rotações por minuto

**RR, ROOR** – Espécies não radicais

**T** - Conteúdo total de fenólicos no cálculo para determinação deste no filme

**TACO** - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

**TSA** - Ágar triptona de soja

**TTSS ou T3** - Sistema de Secreção Tipo Três

**UFC** – Unidades formadoras de colônia

**UFPE** - Universidade Federal de Pernambuco

**UFRPE** - Universidade Federal Rural de Pernambuco

**UV** - Ultravioleta

**V** – Volume

**Zn<sup>2+</sup>** - Íon Zinco

**ZnO** – Óxido de zinco

**ΔE** – Diferença de cor



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUCAO</b> .....	18
<b>2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE</b> .....	22
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	23
3.1 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DO PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DA MANDIOCA .....	23
3.2 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS E RENOVÁVEIS .....	25
<b>3.2.1 Amido</b> .....	26
3.3 DESENVOLVIMENTO DE FILMES À BASE DE AMIDO E A TÉCNICA DE CASTING .....	27
3.4 DESENVOLVIMENTO DE REVESTIMENTOS COMO EMBALAGENS PARA ALIMENTOS .....	29
3.5 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE FRUTAS COMO FONTE DE ANTIOXIDANTES .....	32
<b>3.5.1 Seriguela</b> .....	33
<b>3.5.2 Compostos bioativos e antioxidantes</b> .....	35
<b>3.5.3 Atividade antioxidante</b> .....	39
3.6 EXTRATOS NATURAIS VEGETAIS COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS ..	41
3.7 NanoZnO COMO MATERIAL DE REFORÇO E AGENTE ANTIMICROBIANO ..	43
3.8 EMBALAGEM ATIVA .....	46
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	48
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	50
<b>ARTIGO 1</b> .....	64
RESUMO .....	65
ABSTRACT .....	66
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	67
<b>2. MATERIAL E MÉTODO</b> .....	71
2.1 OBTENÇÃO E PREPARO DAS MATÉRIAS-PRIMAS .....	71
2.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO FENÓLICO DE RESÍDUO DE SERIGUELA .....	71
<b>2.2.1 Delineamento do perfil fenólico</b> .....	72

2.3 ATIVIDADE INIBITÓRIA DO EXTRATO E NANOZnO SOBRE OS SISTEMAS TTSS E QS DA BACTÉRIA FITOPATOGÊNICA GRAM-NEGATIVA <i>Pseudomonas savastanoi</i> .....	72
2.4 AÇÃO ANTIBACTERIANA DO EXTRATO E NANOZnO .....	73
2.5 AÇÃO ANTIFÚNGICA DO EXTRATO E NANOZnO .....	74
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	74
3.1 PERFIL FENÓLICO DO EXTRATO DOS RESÍDUOS DA SERIGUELA .....	74
3.2 ATIVIDADE INIBITÓRIA DO EXTRATO E NANOZnO SOBRE OS SISTEMAS TTSS E QS DA BACTÉRIA FITOPATOGÊNICA GRAM-NEGATIVA <i>Pseudomonas savastanoi</i> .....	76
3.3 AÇÃO ANTIBACTERIANA DO EXTRATO E NANOZnO .....	80
3.4 AÇÃO ANTIFÚNGICA DO EXTRATO E NANOZnO.....	83
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	84
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	86
<b>ARTIGO 2</b> .....	92
RESUMO.....	93
ABSTRACT .....	94
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	95
<b>2. MATERIAL E MÉTODO</b> .....	98
2.1 OBTENÇÃO E PREPARO DAS MATÉRIAS-PRIMAS .....	98
2.2 ANÁLISE DA CAPACIDADE DE GELEIFICAÇÃO DOS RESÍDUOS DA MANDIOCA .....	98
2.3 CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA OBTIDA DOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DA MANDIOCA .....	99
2.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE RESÍDUO DE SERIGUELA .....	99
2.5 PREPARO DOS FILMES INCORPORADOS COM nanoZnO E EXTRATO DOS RESÍDUOS DE SERIGUELA .....	100
2.6 ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES .....	101
<b>2.6.1 Solubilidade em água</b> .....	101
<b>2.6.2 Permeabilidade ao vapor de água</b> .....	101
<b>2.6.3 Intumescimento</b> .....	101

<b>2.6.4 Cor</b> .....	102
<b>2.6.5 Espessura e opacidade</b> .....	102
<b>2.6.6 Transmissão de luz (propriedade de barreira à luz)</b> .....	102
<b>2.6.7 Uniformidade (Microscopia eletrônica)</b> .....	102
2.7 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NOS FILMES, TEOR DE FENÓLICOS E CAPACIDADE DE RETENÇÃO, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	103
2.8 ENSAIO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES .....	103
2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	104
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	104
3.1 ANÁLISE DA CAPACIDADE DE GELEIFICAÇÃO DOS RESÍDUOS DA MANDIOCA .....	104
3.2 CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA OBTIDA DOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DA MANDIOCA.....	105
3.3 EXTRATO DO RESÍDUO DA SERIGUELA: TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	106
3.4 TEOR DE FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FILMES E CAPACIDADE DE RETENÇÃO.....	107
3.5 ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES .....	112
<b>3.5.1 Solubilidade</b> .....	112
<b>3.5.2 Permeabilidade ao vapor de água e intumescimento</b> .....	114
<b>3.5.3 Cor</b> .....	118
<b>3.5.4 Espessura, opacidade e transmissão de luz</b> .....	122
<b>3.5.5 Uniformidade (microscopia eletrônica de varredura - MEV)</b> .....	127
3.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES.....	129
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	134
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	135

## 1. INTRODUCAO

Embalagens plásticas não biodegradáveis são amplamente utilizadas pela indústria alimentícia devido ao baixo custo de produção e alta resistência à umidade (MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2017). Nesse âmbito, estas embalagens são apontadas como grandes responsáveis pela geração de resíduos descartados na natureza (BÉNÉSET et al., 2012). Com a urbanização e o aumento no consumo de produtos industrializados, o acúmulo desses resíduos plásticos aumentou devido ao descarte inadequado, visto que a matéria-prima para as embalagens é constituída em sua maioria por polímeros sintéticos não biodegradáveis provenientes de fontes não renováveis que possuem lenta decomposição, associado às dificuldades para reciclagem em razão da composição heterogênea desses sistemas de embalagem (SCHEIBE; MORAES; LAURINDO, 2014). Dessa forma, a embalagem biodegradável surge como uma alternativa para as embalagens plásticas tradicionais, sendo os polímeros naturais, obtidos de fontes renováveis como o amido, uma opção para a substituição dos polímeros à base de petróleo e sintéticos (KAISANGSRI; KERDCHOECHUEN; LAOHAKUNJIT, 2012; KANMANI; RHIM, 2014).

O amido, por apresentar características como ser de fonte natural, renovável, biodegradável, não tóxico, abundante e de baixo custo, torna-se um material alternativo atraente para este setor (MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2017), além da boa propriedade de formação de filmes (KANMANI; RHIM, 2014). Nesse contexto, os materiais provenientes da agricultura estão emergindo como substitutos promissores dos plásticos convencionais (MALI et al., 2010), com grande destaque para o uso de resíduos agroindustriais (DEBIAGI et al., 2014; MELLO; MALI, 2014; MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2017).

Camargo, Leonel e Mischon (2008) destacam que o processamento industrial da mandioca (*Manihot esculenta* Cranz) acarreta sérios problemas ambientais, devido à geração de quantidades significativas de resíduos, destacando-se, conforme citado por Vilhalva et al. (2011), os resíduos sólidos como as cascas e a massa fibrosa ou bagaço. Segundo Fiorda et al. (2013), na produção brasileira anual de fécula de mandioca, por exemplo, são geradas em torno de 2 milhões de toneladas do bagaço e, no mundo, 28,6 milhões de toneladas. Os autores também explicam que para cada tonelada de raiz

processada são gerados aproximadamente 928,6kg de bagaço. Assim, conforme boletim do CEPEA/ESALQ (2019), levando-se em consideração apenas os quatro primeiros meses de 2019, a quantidade de raiz processada no Brasil foi de 659 mil toneladas, o que de acordo com o balanço apresentado por Fiorda et al. (2013) produziria em torno de 612 mil toneladas de bagaço. Ainda nesse boletim, entre abril/2018 e abril/2019 (período de 1 ano) foram processadas 2,24 milhões de toneladas, o que pode ter gerado uma quantidade em torno de 2,08 milhões de toneladas de bagaço nesse período.

Cereda (1994) *apud* Souza et al. (2013a) afirma que além da agressão ao meio ambiente, o despejo destes resíduos traz desperdícios de rendimentos ao produtor, se as quantidades geradas e a composição dos resíduos são consideradas, além do baixo custo em relação às matérias-primas tradicionais por serem produtos de descarte agroindustrial, conforme abordado por Vilhalva et al. (2011).

Apesar das vantagens quanto ao uso do amido em sistemas de embalagens, os materiais desenvolvidos exclusivamente à base deste não são viáveis devido a algumas limitações, visto que são frágeis e quebradiços, possuem baixa resistência mecânica, e são sensíveis à água (MARENGO; VERCELHEZE; MALI, 2013; MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2017). Dessa forma, são necessárias melhorias para ampliar as aplicações desse tipo de embalagem, e um dos métodos para superar essas limitações é a incorporação de nanomateriais, em particular, as nanopartículas inorgânicas vêm sendo estudadas (KANMANI; RHIM, 2014; RHIM et al., 2014; SHANKAR et al., 2015).

Nesse contexto, as nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) apresentam potencial para materiais de reforço nessas matrizes, devido a características como: excelentes propriedades mecânicas, forte atividade antimicrobiana, possibilidade de ser sintetizado por várias técnicas em larga escala com baixo custo em comparação com outras nanopartículas metálicas, não tóxicas (SHANKAR et al., 2015), estáveis ao calor (KANMANI; RHIM, 2014), e resistentes a condições severas de pressão (DE SOUZA, 2015). Além disso, as nanopartículas de óxido de zinco são registradas como substâncias seguras (GRAS) aprovadas pela Food and Drug Administration – FDA (KANMANI; RHIM, 2014; SHANKAR et al., 2015), não são tóxicas e já foram utilizadas em fármacos e materiais de enchimento médicos (NAFCHI et al., 2013; MIRHOSSEINI; FIROUZABADI, 2013) com potencial real em aplicações biomédicas e biotecnológicas

(RADHAKRISHNAN et al., 2016). Ademais, estão sendo empregadas na indústria de alimentos como aditivos (SWAIN et al., 2016). Assim, na aplicação em embalagens de alimentos, o uso de nanopartículas de ZnO pode resultar em novos materiais com propriedades mecânicas e de barreira melhoradas, além da atividade antimicrobiana (DE SOUZA, 2015).

Outro produto agrícola de destaque no Brasil são as frutas tropicais, cujo consumo vem aumentando nos mercados nacionais e internacionais devido ao crescente reconhecimento de seu valor nutricional e terapêutico, já que representam uma fonte valiosa de compostos ativos (ZERAİK et al., 2016), com destaque para os polifenóis, como flavonóides e ácidos fenólicos (CAN-CAUICH et al., 2017). Estes compostos, possuem forte atividade antioxidante associada com a proteção contra doenças crônicas degenerativas (DUTRA et al., 2017), mas também têm se destacado por sua ação antimicrobiana contra um vasto espectro de microrganismos (STEINER et al., 2017). Como exemplo, destaca-se a seriguela (*Spondias purpurea L.*), uma fruta nativa da América Central, que é encontrada em países da América do Sul principalmente na região nordeste do Brasil (AUGUSTO; CRISTIANINI; IBARZ, 2012) e que, do ponto de vista fitoquímico, os membros da família *Anacardiaceae*, a qual pertence esta fruta, são ricos particularmente em compostos fenólicos (ENGELS et al., 2012).

A partir da crescente demanda por frutas tropicais processadas, com especial interesse para as espécies de *Spondias*, estima-se que, após o processamento, cerca de 40% da produção desses frutos são considerados resíduos compostos de restos de polpa, cascas e sementes, que são comumente descartados. Contudo, as substâncias antioxidantes concentram-se principalmente na pele das frutas e nas sementes, evidenciando o valor desse material descartado (ALBUQUERQUE et al., 2016).

Dessa forma, diante do panorama apresentado e tendo em vista que o reaproveitamento dos resíduos agroindustriais se mostra uma necessidade urgente para o problema do acúmulo de resíduos sólidos, além do desperdício gerado se considerada a rica composição desses materiais, este trabalho teve como objetivo produzir filmes à base dos resíduos sólidos provenientes do processamento industrial da mandioca, incorporados com nanoZnO e extrato dos resíduos da seriguela, para potencial aplicação em embalagens ativas para alimentos. Para isso, na primeira fase desse estudo foi realizado o delineamento

do perfil fenólico do extrato; e em seguida o extrato e as nanopartículas de ZnO foram analisados quanto à atividade inibitória sobre sistemas de patogenicidade e virulência da bactéria Gram-negativa *Pseudomonas savastanoi*, à sua ação antibacteriana (espécies de *Curtobacterium*, *Clavibacter*, *E. coli*, *Xanthomonas*, *Serratia*) e antifúngica (*Botrytis cinerea*). Essa primeira fase foi de grande importância para analisar o potencial de aplicação desses compostos também na agricultura, de forma a evitar perdas econômicas em diversas culturas devido à ação de bactérias e fungos, como por exemplo no armazenamento de grãos, frutas e hortaliças. Na segunda fase, inicialmente foi determinado o teor de fenólicos total e a ação antioxidante do extrato a ser utilizado e, posteriormente, os filmes foram caracterizados quanto à solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, intumescimento, cor, espessura, opacidade, transmissão de luz, uniformidade, teor total de fenólicos, capacidade de retenção de fenólicos no filme, atividade antioxidante, e atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

## 2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE

Considerando que os resíduos sólidos resultantes do processamento da mandioca ainda contêm um conteúdo significativo de amido em sua composição, e que o descarte inadequado destes agrava o impacto ambiental causado pelo acúmulo de resíduos sólidos no meio ambiente, torna-se relevante a utilização de tecnologias para criar alternativas para seu aproveitamento. Uma alternativa que se mostra promissora é a produção de filmes para embalagens alimentícias, visto que estes, sendo biodegradáveis e provenientes de fontes naturais, ainda seriam capazes de minimizar o impacto causado pelas embalagens de polímeros sintéticos não biodegradáveis comumente utilizados nesse setor. E, por último, levando-se em conta que os resíduos de frutas, como a seriguela, possuem ainda teores expressivos de compostos ativos, e que o nanoZnO vem sendo estudado como um material de reforço em filmes para melhorar propriedades mecânicas, de barreira, solubilidade, além da atividade antimicrobiana, seria possível que a combinação desses materiais propiciasse a produção de filmes ativos e biodegradáveis para aplicação em embalagens para alimentos. Contudo, algumas questões precisam ser respondidas: Até que ponto os resíduos sólidos do processamento da mandioca e da seriguela podem ser reaproveitados (juntamente com o nanoZnO) na elaboração de filmes para embalagens ativas? Existe viabilidade quanto ao uso desses resíduos e do nanoZnO em filmes de forma a garantir propriedades ativas adequadas visando a conservação de alimentos? Quais as condições de processo que irão garantir a obtenção de um filme com características apropriadas (solubilidade, permeabilidade, características ópticas, ativas – antioxidante e antimicrobiana) que possibilitem seu emprego em embalagens para alimentos?

Hipótese: O filme desenvolvido, além de ser biodegradável, poderá ser utilizado em embalagens ativas com propriedades antioxidantes e antimicrobianas adequadas.



### 3. REVISÃO DE LITERATURA

Diante das atuais preocupações com o meio ambiente e questões de segurança alimentar devido ao uso de materiais à base de petroquímicos (WU et al., 2019), há um crescente interesse na pesquisa de materiais biodegradáveis à base de polímeros naturais (OLIVEIRA FILHO et al., 2019; SALVUCCI et al., 2019; WU et al., 2019). Portanto, torna-se urgente o desenvolvimento principalmente de embalagens à base de materiais provenientes de fontes renováveis (OLIVEIRA FILHO et al., 2019). Contudo, devido à fragilidade da maioria desses novos materiais, os bionanocompósitos (cujas matrizes são de biopolímero em conjunto com nanomateriais) vêm surgindo como uma opção de reforço (WU et al., 2019), além da atividade antimicrobiana de algumas nanopartículas como o óxido de zinco - ZnO (SOTHORNVIT, 2019). Além disso, a adição de extratos naturais vegetais nesse tipo de embalagem é uma nova tendência para a produção dos filmes ativos (WU et al., 2019) com propriedades antioxidantes (DOMÍNGUEZ et al., 2018) e também antimicrobianas (WU et al. 2019). Outro ponto importante nesse setor é que, atualmente, a atenção tem sido voltada principalmente para os subprodutos e resíduos das indústrias alimentícias objetivando a produção desses filmes, o que leva ao desenvolvimento de embalagens econômicas e eficazes cuja abordagem tem impacto sobre o fluxo de resíduos do setor industrial (RAMBABU et al., 2019). Nesse âmbito, portanto, a embalagem ativa surge atualmente como uma das tecnologias de maior dinamismo na preservação da qualidade dos alimentos (OLIVEIRA FILHO et al., 2019).

#### 3.1 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DO PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DA MANDIOCA

O cultivo da mandioca (*Manihot esculenta* Cranz) é uma das mais importantes culturas alimentares nos trópicos úmidos (FIORDA et al., 2013), sua produção mundial aumentou mais que o dobro entre 1980 e 2011 atingindo 252 milhões de toneladas (FAO, 2013) e 277,1 milhões em 2016 (CONAB, 2018), com grande destaque para o Brasil, um dos maiores produtores mundiais, com produção em 2016 estimada em 23 milhões de toneladas (SILVA et al., 2016; VEIGA et al., 2016) e 20,8 milhões em 2018 (CONAB, 2018). Os maiores estados produtores de raiz de mandioca no Brasil são Pará, Paraná e Bahia, respectivamente, sendo esses responsáveis por quase metade da produção brasileira,

mas é necessário citar também os estados de Pernambuco e Piauí que tendem a se destacar nesse setor com variação da produção positiva em 2017 (CONAB, 2017).

A mandioca é uma das mais importantes culturas alimentares do mundo com grande variedade de usos para indústria, dos quais a farinha e a fécula são as mais importantes. A fécula de mandioca é extraída nas fecularias onde processam as raízes, sendo usada na formulação de inúmeros produtos (SOUZA et al., 2013a, 2013b).

O processo de produção da fécula compreende as etapas de lavagem e descascamento das raízes, desintegração das células e liberação dos grânulos de amido, separação das fibras do amido, e, finalmente, secagem. Durante o processamento são gerados resíduos fibrosos como o bagaço e as cascas (LEONEL; CEREDA, 2000).

Além do bagaço, produzido em grande quantidade, a casca é considerada outro resíduo das fecularias e este é composto também pela entrecasca que fica aderida à ela, o que acarreta mais uma perda de amido (SOUZA et al., 2013a, 2013b). Assim, os resíduos sólidos gerados durante o processamento industrial da mandioca são as cascas mais entrecasca e o bagaço (SÁNCHEZ et al., 2017; SOUTO et al., 2017). O elevado teor de umidade (em torno de 80 a 85%), limita o reaproveitamento destes resíduos, pois torna-os rapidamente fermentescíveis por microrganismos, de modo que a secagem artificial pode representar uma alternativa para sua preservação e aproveitamento (SOUZA et al. 2013b; SILVA et al., 2016; VILHALVA et al., 2011). A elevada umidade dificulta o transporte e o armazenamento, o que torna estes resíduos um problema durante a safra, sendo vendidos a baixo custo ou doados para alimentação animal, ou ainda depositados no ambiente de forma inadequada (VILHALVA et al., 2011).

Os principais componentes desses resíduos secos são o amido, presente em teores variáveis sendo em média 75%, e as fibras 15% aproximadamente o qual poderia também ser aproveitado como fonte de fibras dietéticas (LEONEL; CEREDA, 2000; SOUTO et al., 2017). Sánchez et al. (2017) aponta que o bagaço ou material fibroso obtido como resíduo contém ainda cerca de 30 a 50% de amido em base de peso seco. Esta variação se deve a vários fatores como o cultivar e as condições de processamento nas fecularias (LEONEL; CEREDA, 2000).

### 3.2 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS E RENOVÁVEIS

Os materiais plásticos à base de petróleo são geralmente usados para embalagens alimentícias. No entanto, devido ao lento processo de degradação, seu acúmulo leva ao esgotamento dos aterros e à poluição ambiental (XIE; HUNG, 2018). Nas últimas décadas, a ascendente preocupação ambiental incentivou o desenvolvimento de materiais biodegradáveis a partir de recursos renováveis com a finalidade de substituir os materiais convencionais não biodegradáveis nas mais diversas aplicações (MENDES et al., 2016)

A biodegradação de um polímero é o processo pelo qual microrganismos (e suas enzimas), por meio de mecanismos bioquímicos, consomem o polímero como fonte de nutrientes, convertendo-o em compostos (como carbono e nitrogênio) que retornam ao meio ambiente através do ciclo natural. Os polímeros melhor adaptados à biodegradação completa são os naturais e os sintéticos que possuam estruturas próximas aos naturais (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). Assim, os polímeros biodegradáveis como os polissacarídeos naturais são usados na obtenção de materiais biodegradáveis e biocompatíveis (BILANOVIC; STAROSVETSKY; ARMON, 2016). Pode-se mencionar como exemplos desse tipo de polímero os compostos de amido, o polivinil álcool, polilactatos e polihidroxibutirato (DEBIAGI et al., 2014).

O termo “materiais biodegradáveis”, que descreve nada mais do que aqueles materiais que podem ser degradados pela ação enzimática de organismos vivos, tais como bactérias, leveduras, bolores, gerando como produtos finais  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  e biomassa sob condições aeróbicas, ou hidrocarbonetos, metano e biomassa sob condições anaeróbicas (JARAMILLO et al., 2016). Polissacarídeos, proteínas e lipídios são os compostos poliméricos normalmente usados para produzir materiais biodegradáveis para embalagem (AZIZ; SALAMA; SABAA, 2018).

Quanto à sua origem, os polímeros biodegradáveis renováveis podem ser derivados da biomassa, como amido, celulose e quitosana, ou obtidos por via microbiana, como os polihidroxialcanoatos (SCHEIBE; MORAES; LAURINDO, 2014). Ainda há os polímeros como produtos biotecnológicos, que envolvem a produção tecnológica do monômero, sendo necessário um processo de síntese ou polimerização convencional, como o ácido poliláctico - PLA (VERCELHEZE, 2011).

Os materiais biodegradáveis possuem um atributo muito importante que é o da compostabilidade, visto que o objetivo desses é imitar o ciclo de vida da biomassa, e a sua biodegradação vai depender da temperatura, umidade, quantidade e tipos de microrganismos presentes no ambiente. Assim para ser compostável um produto deve ser biodegradável e desintegrável em um curto espaço de tempo, não podendo liberar substâncias perigosas (SIRACUSA et al., 2008).

### 3.2.1 Amido

O amido constitui a mais importante reserva de energia dos vegetais, apresenta-se na forma de grânulos, diferentes entre si nas propriedades estruturais e químicas, no conteúdo de água, e na concentração de amilose e amilopectina dependendo de sua fonte, como milho (28% de amilose e 72% de amilopectina), mandioca (14-18% de amilose e 86-82% de amilopectina), batata (18-20% de amilose e 82-80% de amilopectina), entre outros. A proporção entre amilose e amilopectina, e sua organização dentro do grânulo estão diretamente relacionadas com a funcionalidade do amido (VERCELHEZE, 2011). O amido possui aplicação em vários segmentos, não apenas em alimentos, como em indústrias farmacêuticas, biomédicas e de polímeros, principalmente por ser biocompatível, biodegradável, não tóxico e ter fontes abundantes (YULIANA et al., 2012).

Naturalmente, o amido é uma substância semicristalina com vários níveis de cristalinidade, associada à amilopectina, enquanto as regiões amorfas caracterizam principalmente a amilose. O comportamento do amido em sistemas aquosos depende das características físicas e químicas dos seus grânulos, como tamanho médio, distribuição, relação amilose/amilopectina e conteúdo mineral (YULIANA et al., 2012).

A amilose é um carboidrato baseado principalmente em ligações ( $\alpha$ 1-4) com um peso molecular de  $10^5$  a  $10^6$  unidades de anidrogucose, enquanto a amilopectina é um polímero altamente ramificado com um alto peso molecular de  $10^7$  a  $10^9$  unidades de anidrogucose. Dependendo da fonte botânica, os grânulos de amido variam em tamanho de cerca de 2-150  $\mu$ m, o teor de amilose de 0% a 75% (sendo o típico de 20 –25% p/p). Nesse âmbito ainda pode-se citar o amido ceroso, que possui baixo teor ou nenhuma amilose, enquanto o amido com alto teor contém mais de 50% desse polímero (BASIAK; LENART; DEBEAUFORT, 2017).

Como a amilose é formada por uma estrutura de cadeia linear isso facilita a aproximação das moléculas, e maiores proporções de amilose geram estruturas mais rígidas, diferente da amilopectina com estrutura ramificada. Se o amido é aquecido na presença de água, as ligações entre as cadeias de amilose e amilopectina são rompidas proporcionando a absorção de água. Neste caso, ocorre o intumescimento dos grânulos e a viscosidade da solução aumenta, o que leva à formação de gel – gelatinização. Com a redução da temperatura, ocorre a retrogradação em que se verifica a recristalização das moléculas de amilose e amilopectina com aumento da firmeza do gel e a sinérese (expulsão da água ligada às moléculas) (ORDÓÑEZ, 2007; SERAVALLI; RIBEIRO, 2007; VERCELHEZE, 2011; THAKUR et al., 2019).

### 3.3 DESENVOLVIMENTO DE FILMES À BASE DE AMIDO E A TÉCNICA DE CASTING

As propriedades químicas, físicas e funcionais dos filmes e revestimentos comestíveis dependem da relação amilose e amilopectina (BASIAK; LENART; DEBEAUFORT, 2017). Joshi et al. (2013) fizeram um estudo comparativo das propriedades físico-químicas e funcionais do amido de lentilhas versus amidos de milho e batata, e verificaram que o amido de lentilha (30% de amilose) tinha maior teor de amilose comparado com as outras duas fontes e uma forte capacidade de formação de gel a uma concentração relativamente baixa. Além disso, as propriedades físico-químicas dos filmes de amido variam fortemente dependendo da origem botânica do amido, como já citado, mas também do teor e tipo do plastificante e das condições de processamento (PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017).

A capacidade do amido gelatinizado de formar filmes se associa ao rompimento de sua estrutura semicristalina, o que leva à formação de uma matriz polimérica homogênea e amorfa (SCHEIBE; MORAES; LAURINDO, 2014). Contudo, esses filmes têm certa limitação quanto à aplicação em embalagens devido ao fato de que as propriedades mecânicas e a permeabilidade ao vapor de água não são adequadas (BRANDELERO; ALMEIDA; ALFARO, 2015). Então, qualquer que seja a origem botânica, uma das principais desvantagens do uso do amido é seu caráter hidrofílico forte (sensibilidade à água), tornando-o insatisfatório para algumas aplicações (JOSHI et al., 2013).

Apesar da baixa resistência mecânica e alta sensibilidade à umidade, os filmes de amido têm excelentes barreiras ao oxigênio e gás carbônico, em razão do empacotamento

firme das moléculas e ligações de hidrogênio ordenadas em uma estrutura interligada (SCHEIBE; MORAES; LAURINDO, 2014). E, entre as diversas fontes, o amido de mandioca vem sendo amplamente utilizado na produção de filmes devido à sua disponibilidade e preço relativamente baixo (SANTACRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015).

O amido de mandioca é valorizado pela clareza e boa estabilidade de seu gel, assim como a baixa temperatura de gelatinização. Além disso, os filmes de amido de mandioca foram considerados inodoros, insípidos, incolores, não-tóxicos (PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017) e biodegradáveis (LÓPEZ; GARCÍA, 2012). Comparando-se alguns trabalhos recentes, é preciso citar também que o tempo de degradação de materiais à base de amido é mais curto do que o de outros materiais poliméricos (MEDINA-JARAMILLO et al., 2016), como por exemplo poli (ácido lático) (PLA) ou poli (butileno adipato-co-tereftalato; PBAT) do estudo de Weng et al. (2013) em que os filmes levaram entre três e quatro meses para se degradar; em contrapartida, a biodegradação dos filmes de amido ocorreu em torno de 12 dias como no trabalho de Medina-Jaramillo et al. (2016), e de um mês no estudo de Torres et al. (2011).

Dessa forma, a produção de filmes de amido baseada na técnica do tipo *casting* se dá através do seguinte: após a gelatinização térmica dos grânulos em excesso de água, amilose e amilopectina se dispersam na solução aquosa e, durante a secagem, se reorganizam, formando uma matriz contínua dando origem aos filmes (MALI; GROSSMANN; YAMASHIT, 2010). Assim, essa técnica consiste na solubilização da macromolécula em um solvente, a aplicação desta solução filmogênica sobre um suporte e posterior evaporação do solvente. Estas macromoléculas devem possuir a capacidade de formar uma matriz contínua e coesa, para que o filme possa ser formado (SCHEIBE; MORAES; LAURINDO, 2014).

Os filmes de amido (proveniente das mais diversas fontes) vêm despertando interesse dos pesquisadores quanto à sua aplicação na conservação e preservação de alimentos principalmente em filmes comestíveis e/ou ativos (SANTA CRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015; BASIAK; LENART; DEBEAUFORT, 2017; MEDINA-JARAMILLO et al., 2017; PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017) e biodegradáveis (MEDINA-JARAMILLO et al., 2016), sendo também estudados em

combinação com outros materiais como polímeros, por exemplo a quitosana (SANTA CRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015), ou extratos com capacidade antioxidante (PIÑEROS-HERNANDEZ et al, 2017). Além disso, nanopartículas também vêm sendo usadas na matriz de amido como material de reforço, visto que estes filmes apresentam certa fragilidade. No estudo de López-Córdoba et al. (2017) em que foram utilizadas nanopartículas do extrato de alecrim, além de conferir propriedade ativa, a adição destas aumentou a elasticidade e a resistência à tração dos filmes e reduziu a tensão na quebra.

### 3.4 DESENVOLVIMENTO DE REVESTIMENTOS COMO EMBALAGENS PARA ALIMENTOS

A aplicação de filmes e revestimentos comestíveis é uma abordagem que tem recebido grande interesse devido às suas características para prolongar a vida útil dos alimentos no setor industrial (HASSAN et al., 2018), assim como manter a qualidade nutricional destes, preservando suas características originais (BIERHALS; CHIUMARELLI; HUBINGER, 2011; ACEVEDO-FANI; SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2017).

Com o objetivo de garantir uma melhor qualidade e conservação dos alimentos, os revestimentos e filmes comestíveis surgem como uma alternativa em potencial, sendo os polissacarídeos, as proteínas, os lipídios e as combinações destes bastante explorados nesse setor. Em geral, os filmes e os revestimentos podem ser obtidos por meio da mesma formulação, o que difere é que os revestimentos são aplicados diretamente no alimento ou matriz biológica na forma líquida antes de formar a película, já os filmes são estruturas independentes pré-formadas produzidas primeiro como folhas/fitas sólidas e depois aplicados nos produtos alimentícios, envolvendo-os ou cobrindo-os (YOUSUF; QADRI; SRIVASTAVA, 2018; MATTA; TAVERA-QUIROZ; BERTOLA, 2019). No geral, um revestimento ou filme comestível define-se como uma embalagem primária produzida a partir de componentes comestíveis, sendo uma fina camada que pode ser aplicada diretamente nos alimentos (revestimento) ou formada anteriormente como um envoltório/invólucro (filme) (GALUS; KADZIŃSKA, 2015; HASSAN et al., 2018).

Uma das aplicações mais promissoras dos revestimentos comestíveis é em frutas minimamente processadas, visto que os processos de descascamento e corte aceleram os processos metabólicos e as tornam mais perecíveis. Contudo, sua utilização em frutas

inteiras também surge com forte potencial (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2014; YOUSUF; QADRI; SRIVASTAVA, 2018; SANTOS et al., 2019). Os revestimentos funcionam como barreiras à perda de água e à troca gasosa, regulando a transferência de umidade, oxigênio, dióxido de carbono, lipídios e aromatizantes, assemelhando-se ao efeito da atmosfera controlada ou modificada (BIERHALS; CHIUMARELLI; HUBINGER, 2011; CHIUMARELLI; HUBINGER, 2014; HASSAN et al., 2018), e também como forma de melhorar propriedades mecânicas, percepções sensoriais, conveniência, obter proteção microbiana e prolongar a vida de prateleira de vários produtos alimentícios (GALUS; KADZIŃSKA, 2015). Este último demonstra a importância dos revestimentos, que podem também ser utilizados como transportadores de componentes ou conservantes, como agentes antioxidantes e antimicrobianos (HASSAN et al., 2018).

Nos últimos anos, a maioria dos estudos vem dando atenção aos filmes e revestimentos compostos (multicomponentes), visto que um revestimento formado somente por um único material (polissacarídeo, proteína ou lipídeo) pode ter bom desempenho relacionado a um atributo particular, mas pode apresentar baixa eficiência em outras propriedades. Os polissacarídeos e as proteínas que são bons formadores de película proporcionam geralmente uma fraca barreira contra a umidade, que poderia ser reduzida com a utilização de componentes lipídicos que possuem excelente barreira à água. Dessa forma, os revestimentos compósitos/compostos permitem explorar as vantagens complementares de cada material, assim como minimizar suas desvantagens e limitações (GALUS; KADZIŃSKA, 2015; YOUSUF; QADRI; SRIVASTAVA, 2018). A maior parte dos revestimentos compósitos associam uma matriz hidrofílica e outra lipídica hidrofóbica. Assim, se obtém uma melhor funcionalidade, e por esta razão as estruturas emulsionadas, em que o lipídio é disperso na matriz do biopolímero, é um método bastante estudado (GALUS; KADZIŃSKA, 2015).

Particularmente, as nanoemulsões (óleo em água) vem surgindo como uma ferramenta potencial para revestimentos comestíveis por serem sistemas altamente estáveis capazes de fornecer vitaminas, flavor, componentes antioxidantes, antimicrobianos e nutracêuticos aos alimentos. Nanoemulsões são dispersões coloidais que combinam duas fases imiscíveis (estabilizadas por um surfactante) cujo diâmetro das gotículas varia entre 20-200 nm. O tamanho das gotículas em escala manométrica torna esses sistemas



cineticamente estáveis e ajudam no transporte desses compostos para superfície do alimento (aumentando a biodisponibilidade e os efeitos ativos de compostos com ação antimicrobiana ou antioxidante), além de proporcionar melhor transparência que as emulsões convencionais (ACEVEDO-FANI; SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2017).

Quanto aos métodos de aplicação dos revestimentos, o que ocorre diretamente a partir de soluções filmogênicas (na forma líquida) por meio de imersão ou pulverização do alimento é a maneira mais simples de conseguir produtos revestidos (GALUS; KADZIŃSKA, 2015). E, mais recentemente, vem surgindo a eletropulverização (HASSAN et al., 2018). No geral, durante a formação dos revestimentos, o material a ser revestido irá absorver uma certa quantidade de solução necessária para formação de uma película que ao secar (etapa de eliminação do solvente) forma uma camada protetora na superfície do alimento (GALUS; KADZIŃSKA, 2015).

Outro detalhe importante ao se aplicar diretamente compostos antimicrobianos e/ou antioxidantes na superfície dos alimentos é que pode haver uma acelerada neutralização ou difusão destes para o alimento, limitando seu efeito. Contudo, a incorporação desses agentes nos filmes e revestimentos é uma maneira de ajudar a manter as concentrações efetivas na superfície dos produtos e aumentar os efeitos inibitórios (YOUSUF; QADRI; SRIVASTAVA, 2018).

Em relação aos revestimentos tem-se que considerar seus componentes. Das proteínas, as mais comumente utilizadas são gelatina, colágeno, caseína, glúten de trigo e zeína de milho. Dentre os lipídeos o ácido esteárico, o ácido palmítico, ceras e alguns óleos vegetais, como os de soja e girassol, são os preferidos. Quanto aos polissacarídeos, tem-se quitosana, celulose, alginato e amido (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2014; GALUS; KADZIŃSKA, 2015), sendo este último um dos mais importantes na obtenção de revestimentos comestíveis, visto que os revestimentos à base desse polímero (de mandioca, por exemplo) são insípidos, inodoros e transparentes, não alterando o sabor, o aroma e a aparência do produto (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2014). Além disso, também possuem boa barreira ao CO<sub>2</sub> e baixa permeabilidade ao oxigênio fazendo com que os revestimentos à base de amido sejam largamente aplicados. Porém, devido ao seu caráter hidrofílico, estes revestimentos apresentam hidrossolubilidade e baixa barreira ao vapor de

água (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2012; HASSAN et al., 2018). Nesse caso, a adição de lipídios pode reduzir a permeabilidade ao vapor de água dos revestimentos ou filmes, mas também pode alterar as propriedades mecânicas e de transparência (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2012).

### 3.5 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE FRUTAS COMO FONTE DE ANTIOXIDANTES

Muitos estudos têm demonstrado o potencial das frutas, especialmente as tropicais, como ricas fontes de compostos antioxidantes (MELO et al., 2008; RUFINO et al., 2010; ALMEIDA et al., 2011; BABBAR et al., 2011; SOUSA et al., 2011; SILVA et al., 2012; SILVA et al., 2014; PAZ et al., 2015). O Brasil é responsável pela geração de 40,9 milhões de toneladas de frutas frescas por ano (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2017) sendo que com relação as frutas tropicais, o Brasil é considerado o maior produtor do mundo, com 47% de sua produção utilizada no mercado de frutas frescas e 53% no processamento (SILVA et al., 2014).

O mercado de polpas de frutas congeladas apresenta grande potencial mercadológico em função da variedade de frutas com sabores nativos, além de ser um meio favorável para o aproveitamento maior das frutas na época da safra por possibilitar o armazenamento e o reprocessamento fora da época destas (conforme a demanda do consumidor) reduzindo assim os problemas da sazonalidade (LIMA, 2009). Um exemplo é a disponibilidade sazonal dos frutos de seriguela e sua curta vida útil que limitam sua comercialização, contudo, congelar as polpas é uma alternativa ao consumo destas frutas pela praticidade e semelhança nas características nutricionais e sensoriais dos frutos (DUTRA et al., 2017).

Um exemplo de indústria em destaque no processamento de frutas é a de suco de frutas. Contudo, o aumento deste processamento gera resíduos (cascas, restos de polpa, sementes) que geram preocupação quanto à sua forma de descarte, uma vez que os mesmos são potenciais poluidores por apresentarem, em sua maioria, elevada composição orgânica, sendo, portanto, muito perecíveis. Na produção de suco de pitanga, abacaxi e maracujá, por exemplo, são gerados em torno de 70%, 30-40%, 65-70% de resíduos, respectivamente (AMORIM, 2016). Os resíduos do processamento de mamão e manga, por exemplo, representam aproximadamente 10-60% do peso dos frutos (SILVA et al., 2014). Os

principais resíduos gerados no processamento de frutas são casca, caroço ou sementes e bagaço, e esses resíduos possuem em sua composição vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes (SOUSA et al., 2011). Assim, a total utilização de frutas poderia resultar em menor desperdício para o agronegócio, e conseqüentemente maior lucratividade industrial, redução do impacto ao meio ambiente e maior diversidade de produtos (SILVA et al., 2014).

Uma alternativa de reaproveitamento que vêm sendo estudada é a elaboração de farinhas a partir de resíduos de frutas, para utilização como ingredientes no preparo de biscoitos, bolos, pães e doces (AMORIM, 2016). Essas substâncias antioxidantes (compostos fenólicos principalmente) com potencial funcional concentram-se principalmente nas cascas e sementes de frutas (ALBUQUERQUE et al., 2016; SILVA et al., 2012). Diante disso, uma outra aplicação para esses resíduos que vêm ganhando destaque é sua utilização como aditivos em produtos alimentares ou como fonte de antioxidantes naturais (SILVA; MELO, 2013, SILVA et al., 2012) como destacado no estudo de Silva et al. (2012), em que foi avaliado o potencial antioxidante do extrato obtido das cascas de umbu-cajá; em Silva et al. (2014) que quantificaram os compostos bioativos em resíduos de doze frutas provenientes do estado do Ceará incluindo acerola, manga e maracujá; e em Sousa et al. (2011) que caracterizaram os compostos antioxidantes em resíduos de polpas de seis frutas tropicais (acerola, goiaba, abacaxi, cupuaçu, bacuri e graviola). Quanto à aplicação, o uso desses compostos em sistemas de embalagem vem ganhando interesse, como por exemplo, no estudo realizado por Machado (2015), que utilizou o extrato dos resíduos de acerola para aplicação em filmes bioativos de quitosana para o setor de embalagens.

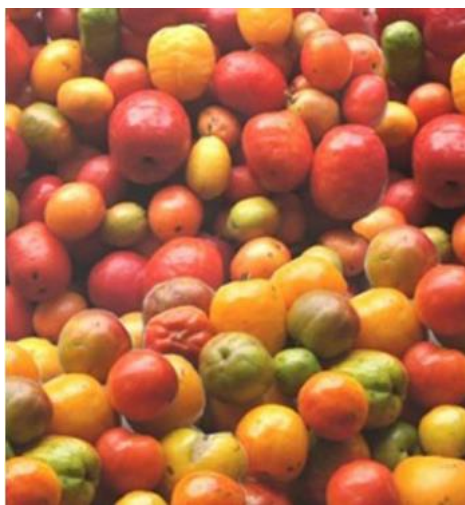
### 3.5.1 Seriguela

A família *Anacardiaceae* compreende mais de 70 gêneros e mais de 600 espécies, que são principalmente árvores e arbustos que crescem em zonas tropicais, subtropicais e temperadas. Esta é dividida em cinco subtipos: *Anacardieae*, *Spondiadeae*, *Rhoeae*, *Semecarpeae* e *Dobineae*. O subtipo *Spondiadeae* inclui 17 gêneros e 140 espécies, com cerca de 14 a 15 espécies pertencentes ao gênero *Spondias*, sendo que muitas espécies desta família têm sido usadas como plantas medicinais por, do ponto de vista fitoquímico, serem ricas em compostos ativos (ENGELS et al., 2012). Além da seriguela, a família *Anacardiaceae* compreende também outras frutas como manga (*Mangifera indica*), caju

(*Anacardium occidentale*), cajá (*Spondias mombin* L.) e umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) (AUGUSTO; CRISTIANINI; IBARZ, 2012).

A espécie *Spondias purpurea* L., comumente conhecida como seriguela, é originária da América Central e é distribuída do México ao norte do Peru e do Brasil, onde é abundante. São frutos pequenos e de forma ovóide com ampla variação na cor, percorrendo do verde ao amarelo (DUTRA et al., 2017), e até mesmo ao laranja, vermelho ou violeta (ENGELS et al., 2012) conforme se observa na Figura 1, com polpa aromática de sabor agridoce (ou doce acidulada) e uma casca bastante rica em compostos fenólicos (DUTRA et al., 2017) com espessura fina e de textura lisa (LIMA, 2009). Quanto ao tamanho, os frutos têm até 5,5 cm de comprimento e pesam 12–28 g. Em relação ao consumo, estes são consumidos maduros ou não maduros *in natura*, com ou sem a pele, em sobremesas, conservas, bebidas (ENGELS et al., 2012), ou outros produtos, como geléias e doces (AUGUSTO; CRISTIANINI; IBARZ, 2012). No nordeste brasileiro, a espécie *Spondias purpurea* L. é uma das mais cultivadas e de maior destaque (EMBRAPA, 1998; LIMA, 2009), especialmente nas regiões semiáridas do agreste e do sertão (SILVA; FIGUEIREDO; LIMA, 2016).

**Figura 1:** Ecotipos de *Spondias purpurea* coletados nos estados de Guerrero, Morelos e Chiapas, México



**Fonte:** Maldonado-Astudillo et al., 2014

Em função da região geográfica, a espécie *S. purpurea* L. é denominada de diferentes formas, como por exemplo: cajá vermelho, siriguela, seriguela, ceriguela,

ciriguela, jocote, ciruela, ciruela mexicana, jobillo e ameixa espanhola (AUGUSTO; CRISTIANINI; IBARZ, 2012). Quanto à composição centesimal desse fruto, de acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) de 2011, a seriguela crua apresenta possui uma umidade em torno de 78,7%; baixas quantidades de proteína (1,4%), gordura (0,4%) e cinzas (0,7%), teor moderado de calorias (76Kcal), além de 18,9% de carboidratos, 3,9% de fibras e presença de minerais como cálcio e magnésio (TACO, 2011).

Além disso, o pH do fruto varia entre 2,7 e 3,5 dependendo do estágio de maturação e da forma de cultivo, e o teor de sólidos solúveis totais de 7,0 a 15,8 °Brix (HERNÁNDEZ et al., 2008). Contudo, em estudo realizado por Silva, Figueiredo, Lima (2016), que avaliaram os frutos maduros de onze genótipos de cirigueleiras provenientes da Zona da Mata Norte do Estado de Pernambuco, o pH encontrado foi em média 3,3 e os sólidos solúveis variando de 15,8 a 17,7 °Brix. Segundo o mesmo estudo, as características físico-químicas dos frutos são afetadas por vários fatores, como condições climáticas, solo, localização, fertilização, estação do ano, cultivares, entre outros.

Seus frutos possuem um rendimento médio de 50% de sua polpa (SILVA; MELO, 2013), sendo que as seriguelas provenientes do nordeste brasileiro caracterizam-se por uma polpa que contribui em torno de 67-70% de seu peso total, a casca entre 12 a 15%, e a semente entre 15 e 18%, a depender do estágio de maturação da fruta (EMBRAPA, 2001; LIMA, 2009). Contudo o processamento destes para obtenção de novos produtos gera de 30 a 40% de resíduos (casca, caroço ou sementes e bagaço) que, muitas vezes, são classificados como custo operacional para as empresas ou fonte de degradação ambiental, apesar desses resíduos ainda possuírem compostos bioativos com propriedades antioxidantes. Assim, o potencial antioxidante desse material e sua aplicação como antioxidantes naturais têm se tornado cada vez mais relevante (SILVA; MELO, 2013).

### **3.5.2 Compostos bioativos e antioxidantes**

Os compostos produzidos por sistemas biológicos são geralmente divididos em dois grupos distintos: 1) metabólitos primários como por exemplo, carboidratos, aminoácidos, proteínas e lipídios, que são essenciais para a manutenção, crescimento e desenvolvimento das células e 2) metabólitos secundários - substâncias com baixo peso molecular como os ácidos fenólicos, alcalóides ou terpenos, necessários para sobrevivência e proteção

(SILVA; BARREIRA; OLIVEIRA, 2016). Os compostos bioativos são então produzidos como metabólitos secundários (LAGOS et al., 2015).

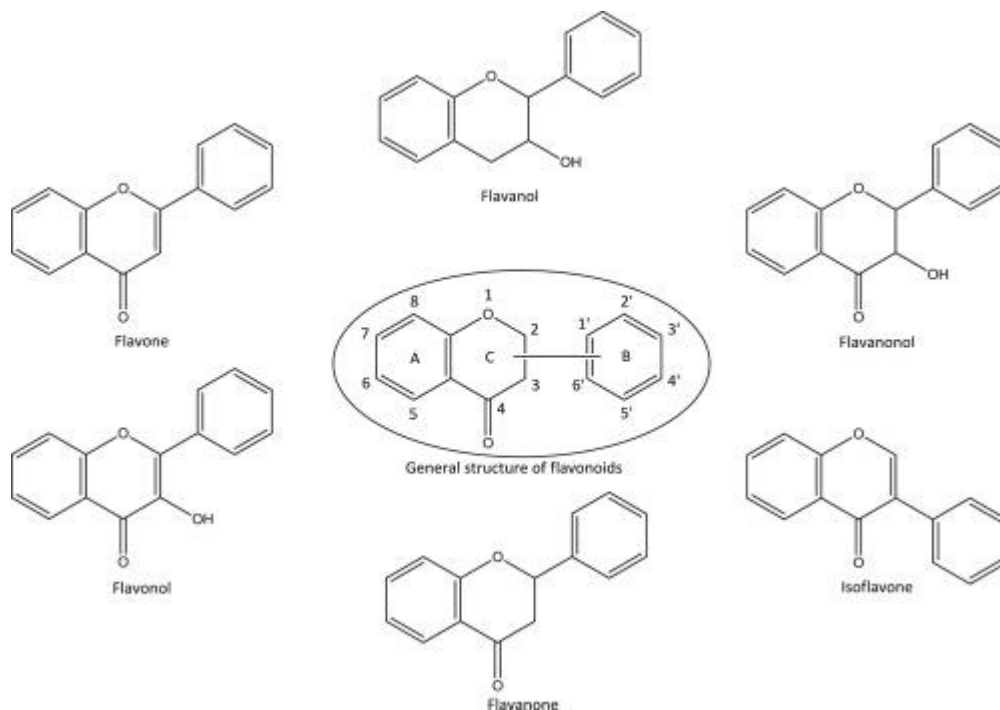
Um composto bioativo é simplesmente uma substância que possui atividade biológica, relacionada à sua capacidade de modular um ou mais processos metabólicos. Grande destaque tem sido dado para a recuperação de compostos bioativos de diferentes resíduos industriais de alimentos: folhas, cascas, sementes, restos de polpas, bagaço, entre outros (ANGIOLILLO; DEL NOBILE; CONTE, 2015). Entre estes compostos destacam-se as substâncias antioxidantes, que ajudam a proteger o organismo humano contra o estresse oxidativo, o qual gera excesso de radicais livres que podem causar envelhecimento precoce, doenças cardiovasculares, degenerativas e neurológicas. Entre os principais compostos bioativos presentes nas frutas e que apresentam essa atividade antioxidante pode-se citar o ácido ascórbico (vitamina C), os compostos fenólicos, os flavonoides e os carotenoides (SILVA; DUARTE; BARROZO, 2017).

Antioxidantes abrangem um importante grupo de compostos muito utilizados em alimentos para retardar a oxidação de lipídios ou outras moléculas, inibindo a iniciação ou propagação das reações em cadeia do processo oxidativo. Entre os mais ativos estão os polifenóis, como flavonoides e ácidos fenólicos, e sua ação antioxidante pode estar ligada às suas propriedades redox (agentes redutores, ou doadores de hidrogênio/elétrons), levando à eliminação dos radicais livres, terminação das reações em cadeia e ligação como quelantes de metais. A ação desses compostos também ajuda a reduzir riscos de câncer e prevenir os danos celulares causados por espécies reativas de oxigênio (EROs) (CANCAUICH et al., 2017).

Os compostos fenólicos podem ser definidos, quimicamente, como substâncias que possuem a presença de no mínimo um anel aromático o qual se encontra ligado por um ou mais substituintes hidroxílicos, ou como seus derivados funcionais (compostos ésteres, éteres ou heterosídeos/glicosídeos) - forma ligada (SILVA; MELO, 2013; AMORIM, 2016; SILVA; BARREIRA; OLIVEIRA, 2016). Os fenólicos são comumente classificados em fenóis simples, fenóis compostos e flavonoides. Dentre estes, os flavonoides abrangem a mais ampla família de compostos fenólicos, apresentam solubilidade em água e em solventes polares como álcoois (AMORIM, 2016). Os flavonoides são os mais frequentemente encontrados e bem distribuídos entre os fenólicos de plantas, e sua

estrutura geral (Figura 2) engloba um esqueleto de quinze carbonos com dois anéis de benzeno ligados por um anel de pirano heterocíclico. Eles podem ser distribuídos em classes tais como: flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas, antocianinas; estes com propriedades antioxidantes diversificadas, além de características hepatoprotetora, antibacteriana e anti-inflamatória (SILVA; BARREIRA; OLIVEIRA, 2016).

**Figura 2:** Estrutura geral dos flavonoides e estruturas básicas de alguns dos subgrupos mais comuns



**Fonte:** Silva; Barreira; Oliveira (2016).

O teor de fenólicos totais em frutas pode ser influenciado pela origem geográfica, cultivar, colheita e tempo de armazenamento, bem como pelos métodos de secagem e extração. Além disso, a capacidade desses compostos de agir como quelantes de metais, inibidores de lipoxigenase e sequestradores de radicais livres proporcionam uma bioatividade ligada a melhora nos aspectos relacionados à saúde (BABBAR et al., 2011).

Quanto aos demais antioxidantes com destaque em frutas, pode-se citar o ácido ascórbico, comumente conhecido como vitamina C, hidrossolúvel e muito importante na preservação de alimentos, evitando escurecimento e outras reações oxidativas (SILVA; DUARTE; BARROZO, 2017), mas é facilmente oxidado e degradado quando exposto a oxigênio, metais, luz ou calor (LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2012). Outro composto bioativo de grande relevância são os carotenóides, uma classe de pigmentos naturais e

lipossolúveis, largamente utilizados por séculos no setor alimentício para fins de coloração, mas que vêm ganhando forte interesse nos últimos anos por suas propriedades antioxidantes (HAMDI et al., 2018).

Além da forte atividade antioxidante, os compostos fenólicos estão presentes em grande quantidade em espécies frutíferas nativas e exóticas produzidas em grande parte nos países tropicais, aumentando assim o interesse da indústria de alimentos pelas frutas, como a espécie *Spondias purpurea* L. (DUTRA et al., 2017), principalmente pela função de antioxidante natural e prevenção de doenças crônicas (MALDONADO-ASTUDILLO et al., 2014).

As partes não comestíveis das frutas (casca, pele, sementes, etc.) podem ser mais ricas nutricionalmente do que sua respectiva porção comestível, e em geral contêm compostos bioativos com ação antioxidante maior do que na polpa, além de perfis fitoquímicos diferentes de outras partes da fruta. Para o reaproveitamento dessas porções não comestíveis, normalmente, é necessário seu processamento em pó/farinha para diminuir o volume, eliminando a água livre e reduzindo as reações químicas e microbiológicas, tornando-as mais seguras na manipulação e ao mesmo tempo aumentando a concentração de compostos bioativos, fibras alimentares e minerais (CAN-CAUICH et al., 2017).

Assim, compostos bioativos com ação antioxidante podem ser usados particularmente em embalagens para alimentos, produzindo-se assim filmes que podem ser usados para prevenção de danos por oxidação dos alimentos gordurosos. Nesse caso, a escolha por compostos naturais ao invés de aditivos sintéticos vem ganhando força devido à associação dos últimos com efeitos adversos à saúde humana (PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017). Além de suas propriedades antioxidantes, estes bioativos também podem melhorar as propriedades funcionais de filmes e revestimentos como efeitos paralelos (BENBETTAÏEB et al., 2018).

Sobre o resíduo agroindustrial de seriguela, este apresenta em sua composição compostos fenólicos em quantidades consideráveis, conforme apresentado no estudo de Silva e Melo (2013), no qual o resíduo de seriguela apresentou elevado teor de fenólicos totais (4.229,9 mg EAG.100g<sup>-1</sup>, extração sequencial com solução hidroacetônica, hidrometanólica e aquosa) se comparado aos estudos mostrados na Tabela 1 com diversas



frutas. Silva e Melo (2013) ainda destacaram que dentre os fenólicos, os flavonoides, mostraram-se presentes no resíduo de seriguela em quantidade relevante, com destaque para os taninos condensados e flavonóis. Outros fitoquímicos bioativos encontrados em quantidades significativas foram os carotenoides e o ácido ascórbico.

**Tabela 1** - Estudos realizados com resíduos de frutas.

	<b>Amorim (2016)</b>	<b>Costa (2015)</b>	<b>Silva et al. (2014)</b>
<b>Extração</b>	Solução hidroetanólica (80:20 v.v <sup>-1</sup> )	Extratos aquoso e hidroetanólico 55%	Sequencial com solução hidroetanólica 50% e hidroacetônica 70%
<b>Resíduos de frutas / Teor de fenólicos (mg EAG.100g<sup>-1</sup>)</b>	Abacaxi: 59,90; maracujá: 24,87; acerola: 298,30 e cajá: 307,20	Seriguela: 2016,86 e 2456,65 (respectivamente para cada extrato)	Mamão papaia:783,37; manga: 376,12 e maracujá: 451,06

Assim, a utilização eficiente, de baixo custo e sustentável dos resíduos da agroindústria é uma das opções mais eficazes para recuperação de constituintes de alimentos vegetais bioativos, com possíveis aplicações na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia (OLIVEIRA et al., 2009), por meio por exemplo do desenvolvimento de embalagens ativas que estendam a vida de prateleira e mantenham a qualidade nutricional e sensorial dos alimentos (MATTA; TAVERA-QUIROZ; BERTOLA, 2019).

### 3.5.3 Atividade antioxidante

A oxidação lipídica e o desenvolvimento de rancidez são grandes desafios para a indústria alimentícia, pois o processo oxidativo limita o prazo de validade e altera a qualidade e o valor nutricional dos alimentos (SENANAYAKE, 2013).

O mecanismo pelo qual ocorre a oxidação pode ser dividido em três etapas: iniciação, propagação e terminação. Na iniciação ocorre a perda de hidrogênio de um ácido graxo com posterior formação do radical alquil (R•). Em seguida, inicia-se a etapa da propagação, subdividida em duas etapas: a primeira envolve a adição de oxigênio ao

radical alquil para formação do radical peroxil ( $\text{ROO}^\bullet$ ), e a segunda envolve o ataque dos radicais peroxil aos ácidos graxos, portanto os radicais peroxil reagem com mais ácidos graxos insaturados e ocorre a adição de um hidrogênio ao radical peroxil resultando na formação de hidroperóxido de ácido graxo ou lipídico ( $\text{ROOH}$ ). Na última etapa, terminação, ocorre a combinação de dois radicais para formação de espécies não radicais ( $\text{RR}$ ,  $\text{ROOR}$ ). Todo processo pode ser resumido conforme demonstrado na Tabela 2 (PERUMALLA; HETTIARACHCHY, 2011):

**Tabela 2** - Etapas da oxidação lipídica

Iniciação	Propagação	Terminação
	$\text{R}^\bullet + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROO}^\bullet$	$\text{R}^\bullet + \text{R}^\bullet \rightarrow \text{RR}$
$\text{RH} \rightarrow \text{R}^\bullet + \text{H}^\bullet$	$\text{ROO}^\bullet + \text{RH} \rightarrow \text{ROOH}$ $+ \text{R}^\bullet$	$\text{R}^\bullet + \text{ROO}^\bullet \rightarrow \text{ROOR}$ $\text{ROO}^\bullet + \text{ROO}^\bullet \rightarrow \text{ROOR} + \text{O}_2$

Onde: RH- Ácido graxo insaturado;  $\text{R}^\bullet$ - Radical livres alquil;  $\text{ROO}^\bullet$ - Radical peroxil;  $\text{ROOH}$ - Hidroperóxido.

Vale destacar que a oxidação lipídica depende de fatores como presença de luz e oxigênio, composição química do alimento, temperatura de armazenamento, dos processos tecnológicos aplicados (HUGO; HUGO, 2015), da presença de metais de transição e metaloproteínas e de radiação ionizante (SENANAYAKE, 2013).

O retardo ou inibição das etapas de iniciação e propagação das reações oxidativas em cadeia por meio da formação de radicais estáveis não reativos define o que seria a ação antioxidante, conforme o seguinte esquema:  $\text{ROO}^\bullet + \text{AH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{A}^\bullet$ , onde AH é o composto antioxidante. Por exemplo, os grupos hidroxila ativos dos polifenóis podem interagir com os radicais livres, radicais superóxidos, peroxinitrito, ou agir como quelante ou complexante do cobre e do ferro, que são considerados metais pró-oxidantes ou catalisadores da oxidação de lipídeos (PERUMALLA e HETTIARACHCHY, 2011). Quanto aos mecanismos de ação dos antioxidantes, incluem-se: eliminação de radicais livres, decomposição de peróxidos (intermediários importantes de reações oxidantes), quebra de reações em cadeia, redução nas concentrações de oxigênio e de catalisadores na cadeia de iniciação (HUGO; HUGO, 2015).

Os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários (ou preventivos). Antioxidantes primários impedem a reação em cadeia do radical livre oxidativo ao doar elétrons ou átomos de hidrogênio dos grupos hidroxila fenólicos e, portanto, estabilizam os radicais livres. Os secundários desativam o oxigênio singleto, os íons de metal (ferro, cobre), absorvem a radiação ultravioleta, eliminam o oxigênio e ajudam a regenerar os antioxidantes primários (SENANAYAKE, 2013).

### 3.6 EXTRATOS NATURAIS VEGETAIS COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS

Apesar do progresso na indústria e comercialização de alimentos, as doenças transmitidas por este veículo continuam sendo um problema de saúde pública e causa de muitas mortes (CASTRO-ROSAS et al., 2017). Ademais, os conservantes ou aditivos sintéticos comumente utilizados como agentes inibidores do crescimento microbiano vêm sendo recusados por muitos consumidores que preferem alimentos produzidos da forma mais natural possível, o que justifica o alto potencial dos compostos naturais nesse setor (DANNENBERG et al., 2019; POVEDA et al., 2018). Outro setor, a agroindústria, sofre grandes prejuízos econômicos causados pela ação de bactérias fitopatogênicas na produção, levando à perda de rendimento e da qualidade (BIANCALANI et al., 2016; OMBIRO et al., 2018; GUTIÉRREZ-PACHECO et al., 2019). Isto vem levando à busca por alternativas sustentáveis que minimizem esses problemas (BIANCALANI et al., 2016).

Devido a esse novo panorama, a ação antimicrobiana dos extratos naturais vem sendo bastante investigada recentemente devido à sua eficácia e baixa toxicidade comparando-se com as substâncias utilizadas industrialmente (STEINER et al., 2017). Steiner et al. (2017), por exemplo, estudaram extratos naturais encapsulados em matrizes de sílica e verificaram que o extrato de tanino de casca de uva (antocianinas) demonstrou atividade contra um vasto espectro de microrganismos como fungos (*Aspergillus niger*), bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*).

Somado a isso, tem-se o fato de que grandes quantidades de resíduos são geradas pela indústria de processamento de alimentos (POVEDA et al., 2018). Os subprodutos agroindustriais de origem vegetal se apresentam como fonte potencial e de baixo custo desses compostos ativos (SILVA et al., 2018), os quais possuem grande potencial de aplicação tecnológica (HAAS et al., 2018). Compostos fenólicos (importantes fitoquímicos) remanescentes provenientes de muitos desses resíduos (bagaço, casca e

sementes) vêm recebendo maior atenção devido à sua atividade antioxidante e antimicrobiana (POVEDA et al., 2018). Por isso, nos últimos anos se constata um forte direcionamento na exploração de extratos bioativos a partir de matrizes naturais e residuais usando variados métodos de extração, visto que fatores, como tipo de solvente e metodologia aplicada, podem afetar a eficiência na extração dessas substâncias e assim sua disponibilidade (HAAS et al., 2018).

Nesse âmbito, alguns polifenóis vêm sendo relacionados com um forte potencial antimicrobiano contra uma ampla faixa de microrganismos. A atividade antimicrobiana desses compostos tem sido atribuída a alguns mecanismos, dentre os quais os mais aceitos são: desestabilização da membrana citoplasmática; danos à permeabilidade da membrana celular; deficiência de micronutrientes minerais essenciais (ferro e zinco, por exemplo) devido à quelação e inibição de enzimas microbianas extracelulares; e interferência direta no metabolismo microbiano. Nesse contexto, os flavan-3-ols (flavanóis, como a catequina), flavonóis e taninos destacam-se pelo poder de suprimir fatores de virulência microbiana (como inibição da geração de biofilme, diminuição da adesão do ligante ao hospedeiro e neutralização de toxinas bacterianas), além da sinergia com antibióticos (PINA-PÉREZ; PÉREZ, 2018). Silva et al. (2018) e Vaquero; Alberto; Nadra (2007) citam que também os compostos fenólicos não flavonoides, como ácido gálico e ácido vanílico, teriam efeito inibitório sobre o crescimento de microrganismos, como por exemplo *E. coli*.

Compostos bioativos presentes em fontes vegetais vêm demonstrando atividade inibitória que interfere nos sistemas bacterianos de virulência e patogenicidade, principalmente quando regulados pelo Quorum Sensing - QS e pela Sistema de Secreção Tipo Três - TTSS (BIANCALANI et al., 2016; ZHANG et al., 2018). O QS é um mecanismo de comunicação entre as células que depende da densidade populacional, de modo que a bactéria se torna capaz de controlar a expressão gênica relativa à virulência e patogenicidade, além de estar ligado ao crescimento de biofilme - fator que pode tornar a bactéria 10 a 1000 vezes mais resistente aos antibióticos comuns (GUTIÉRREZ-BARRANQUERO et al., 2015). Assim, o sistema QS está baseado na geração e identificação de moléculas sinalizadoras e na resposta das bactérias em nível populacional - sinalização e comunicação (LI; NAIR, 2012; ZHANG et al., 2018), além de fornecer a elas a capacidade de adaptação da expressão gênica as alterações de fatores bióticos e abióticos (BIANCALANI et al., 2016).

Em resumo, o processo de comunicação envolve a produção de moléculas sinalizadoras – os autoindutores. Em baixa densidade bacteriana, estas moléculas são sintetizadas em pequenas quantidades, insuficientes para causar efeitos. Porém, à medida que a densidade bacteriana e a quantidade de sinalizadoras aumentam, alcança-se um "quórum" e então quando um determinado limite para a ligação dos autoindutores aos seus receptores é excedido, desencadeia-se a expressão de vários fenótipos bacterianos, incluindo o desenvolvimento dos fatores de virulência e de biofilme (ALMOHAYWI et al., 2019).

Quanto ao Sistema de Secreção Tipo Três (TTSS), crucial na patogenicidade de bactérias Gram-negativas, este é um mecanismo nano-injetor de proteína virulenta especializado que transporta proteínas efetoras do citosol bacteriano para a célula hospedeira (GUO et al., 2016), o que promove patogenicidade e virulência, levando às infecções bacterianas (WANG et al., 2016). É um mecanismo similar ao da seringa o qual injeta toxinas (os efetores) do citosol da bactéria diretamente no citosol da célula hospedeira pela ação conjunta de um sistema de secreção (transportando efetores pelas membranas bacterianas) e outro que transloca as toxinas através da membrana da célula hospedeira (ANANTHARAJAH; MINGEOT-LECLERCQ; BAMBEKE, 2016).

Como esses sistemas não estão diretamente envolvidos nos processos essenciais da célula bacteriana/viabilidade, ou seja, não levam a mecanismos bactericidas, tornam-se uma poderosa estratégia para inibição de fatores patogênicos e virulentos, evitando assim o surgimento da resistência bacteriana (GUTIÉRREZ-BARRANQUERO et al., 2015; BIANCALANI et al., 2016; ALMOHAYWI et al., 2019). Estudos já comprovaram a ação de compostos provenientes de fontes vegetais na ação inibitória dos sistemas QS e TTSS de patógenos, podendo ser citados Zhang et al. (2018) que utilizaram cumarina afetando esses mecanismos em *Pseudomonas aeruginosa*; e o licoflavonol que se mostrou inibidor do sistema TTSS de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium no trabalho de Guo et al. (2016).

### 3.7 NanoZnO COMO MATERIAL DE REFORÇO E AGENTE ANTIMICROBIANO

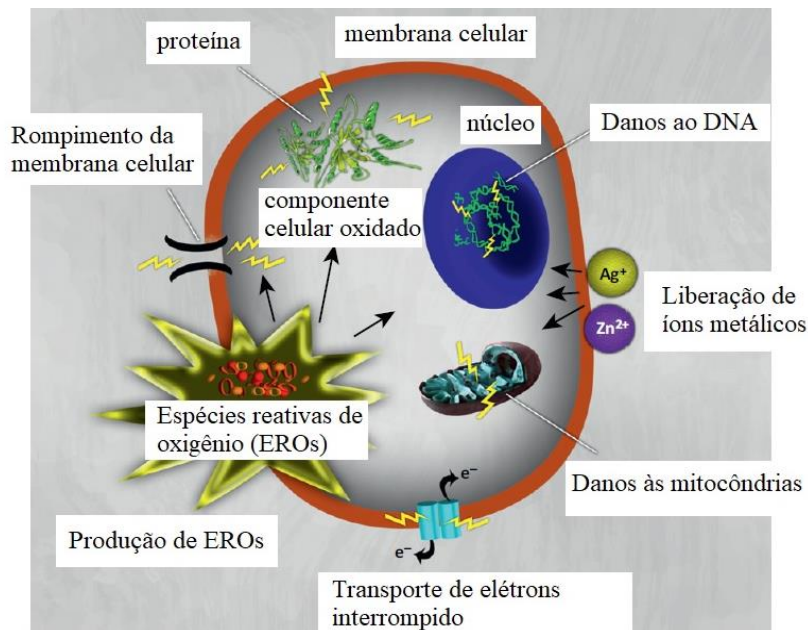
Muitas áreas da ciência de alimentos e da indústria estão sendo transformadas pelo rápido desenvolvimento da nanotecnologia (onde as dimensões percorrem uma faixa entre 1 e 100 nanômetros) (DUFFY et al., 2018). Nesse âmbito surgem as nanopartículas (NPs)

de óxidos metálicos, e dentre estas, as NPs de óxido de zinco (ZnO) vêm se tornando atrativas principalmente pelo amplo espectro de ação antimicrobiana. Essas nanopartículas apresentam grande relação ou razão superfície/volume, aumento na reatividade de superfície e propriedades térmicas, mecânicas e elétricas singulares (KANMANI; RHIM, 2014). Além disso, são classificadas como substâncias seguras (GRAS) aprovadas pela Food and Drug Administration – FDA (KANMANI; RHIM, 2014; SHANKAR *et al.*, 2015), o que as tornam viáveis para aplicação em sistemas de embalagens ativas para alimentos (AKBAR; ANAL, 2014). São também consideradas não tóxicas e já são aplicadas na área de medicamentos como transportadores (FIROUZABADI *et al.*, 2014), indústrias, cosméticos e dispositivos médicos (EMAMIFAR *et al.*, 2011).

O estudo das propriedades antimicrobianas e/ou antifúngicas do nanoZnO vem sendo realizado por vários pesquisadores, como Duffy *et al.*, (2018), em que os autores demonstraram a ação de nanopartículas de óxido de zinco contra cepas de *Salmonella* e *Campylobacter*. Pode-se destacar também a aplicação da ação antimicrobiana desta nanopartícula no desenvolvimento de filmes para embalagens ativas, como mostrado em estudos de Akbar & Anal (2014) em que foram produzidos filmes de alginato de cálcio com NPs de ZnO obtendo-se ação contra *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus*; Shankar *et al.* (2015) em que filmes à base de gelatina e nanoZnO inibiram o desenvolvimento de *L. monocytogenes* e *E. coli*; Esmailzadeh *et al.* (2016) em que foi identificada a ação antimicrobiana contra *Bacillus subtilis* e *Enterobacter aerogenese* das NPs de ZnO incorporadas em filmes de polietileno de baixa densidade.

Os mecanismos exatos das nanopartículas contra várias bactérias ainda não são compreendidos completamente, porém sabe-se que ele está baseado na indução de estresse oxidativo pela formação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs), assim como na capacidade de se unir à membrana de bactérias por interação eletrostática e provocar o rompimento da membrana. Além destes, as nanopartículas e seus íons, como o de zinco, podem agir pelos seguintes mecanismos: danos irreversíveis às membranas, DNA e mitocôndrias especialmente pelo estresse oxidativo, mudanças morfológicas, aumento da permeabilidade da membrana e acúmulo das nanopartículas no citoplasma, danos à parede celular, que levam à morte celular (HAJIPOUR *et al.*, 2012; DUFFY *et al.*, 2018). Os principais mecanismos de ação podem ser resumidos conforme apresentado na Figura 3.

**Figura 3:** Mecanismo de ação de nanopartículas e seus íons ( $\text{Ag}^+$  e  $\text{Zn}^{2+}$ )



**Fonte:** Adaptado de Hajipour et al. (2012)

É preciso destacar também que a incorporação do nanoZnO em filmes mostra-se promissora em relação: ao aprimoramento nas propriedades mecânicas desses materiais, conforme resultados do trabalho de Espitia et al. (2013); à redução da capacidade de absorção de água e da permeabilidade ao vapor de água em filmes à base de amido (NAFCHI et al., 2012, 2013); e ao potencial para utilização em matrizes poliméricas como os biopolímeros (KANMANI; RHIM, 2014).

As nanopartículas de ZnO podem ser sintetizadas através da precipitação a partir de uma solução com um sal de metal solúvel com íons hidróxido (SANTOS; SANTOS, 2012). Em geral, diversos métodos são utilizados para a preparação de nanopartículas de óxido de zinco, como precipitação aquosa, síntese por micro-ondas, atomização ultrassônica, deposição química a vapor, spray pirólise, sol-gel e métodos hidrotérmicos (TAMER et al., 2018). À medida que diferentes morfologias de nanoestruturas de ZnO possuem propriedades variadas, há muitos esforços para encontrar o melhor processo de fabricação de nanoestruturas de ZnO com ótimas propriedades para as múltiplas aplicações (HOU et al., 2009). Portanto, a temperatura é um fator relevante que influencia a morfologia das nanoestruturas de ZnO durante a sua fabricação (SANTOS; SANTOS, 2012).

A propriedade térmica única desse composto, suportando temperaturas muito altas, pode ser verificada nos diversos estudos já realizados sobre as rotas de síntese do mesmo, como por exemplo na pesquisa de Farzana et al. (2018). Neste estudo, nanopartículas de óxido de manganês e óxido de zinco (esféricas e de tamanho 50nm) foram sintetizadas simultaneamente a partir do pó da bateria de Zn-C, uma nova rota que utilizou uma temperatura de 900°C. Em outro estudo, realizado por Santos & Santos (2007), os autores produziram filmes finos de óxido de zinco por um processo sol-gel de baixo custo utilizando temperatura ideal de pré-aquecimento a 120°C e de recozimento a 350°C. Em outro trabalho, com objetivo de obter partículas homogêneas por vias de menor custo para aplicações em biosensores e embalagens, Santos & Santos (2012) produziram partículas nanoestruturadas de óxido de zinco a baixas temperaturas (40, 70 e 100°C) também utilizando a técnica sol-gel, com melhor resultado para temperatura de 100°C (além de outras variáveis). Por fim, no estudo de Hou et al. (2009) foram produzidas nanoestruturas de ZnO com temperaturas variando de 600 a 900°C.

### 3.8 EMBALAGEM ATIVA

Atualmente, o uso de embalagens para estender o prazo de validade de alimentos tornou-se um dos mais importantes desafios para a moderna indústria de alimentos (BENBETTAÏEB et al., 2018). Diante disso, novas tecnologias de embalagem foram desenvolvidas, com destaque para as embalagens ativas. Estas têm como base o conceito de incorporação de componentes ativos, que liberam ou absorvem substâncias a fim de prolongar a vida útil mantendo a qualidade e as características sensoriais dos alimentos (SERRANO-LEÓN et al., 2018).

A incorporação de antioxidantes em filmes se tornou um caminho promissor e popular na preparação de filmes ativos, já que a oxidação é um grande problema para qualidade dos alimentos e uma das principais causas de deterioração (LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2012; BENBETTAÏEB et al., 2018). Nesse ponto, os subprodutos industriais surgem como alternativa no desenvolvimento desse tipo de embalagem (BENBETTAÏEB et al., 2018). Além dos antioxidantes, compostos ativos antimicrobianos incorporados em filmes de polímeros biodegradáveis também surgem como uma nova estratégia aos problemas ambientais nas últimas décadas (FENG et al., 2018).



Uma das principais funções da embalagem de alimentos é proteger os alimentos de fatores externos, como temperatura, luz e umidade, assim como de outros fatores ambientais, tais como: odores, microrganismos, choques, poeira, vibrações e forças de compressão. Quanto à embalagem ativa, além do requisito de proteção convencional, esta interage com o produto e tem a função de prolongar a vida útil dos alimentos, mantendo ou melhorando as suas propriedades. Os componentes incorporados nesses sistemas de embalagem liberam ou absorvem substâncias nos/dos alimentos embalados responsáveis por sua deterioração (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014; RIBEIRO-SANTOS et al., 2017).

Na tecnologia de embalagem ativa, duas definições precisam ser destacadas: filmes e revestimentos. Os filmes são folhas finas formadas previamente e depois aplicadas sobre o produto como embalagem ou entre as suas camadas, enquanto os revestimentos são filmes formados no próprio alimento, cuja base é aplicada diretamente na sua superfície, na qual acontece a secagem e moldagem (RIBEIRO-SANTOS et al., 2017).

Um dos mecanismos de ação da embalagem ativa é a migração de componentes ativos para o alimento, contudo algumas variáveis podem interferir nesse processo, por exemplo, a composição como o teor de gordura; o alto nível de hidratação do filme que pode aumentar a taxa de difusão de compostos para o alimento; a temperatura que pode contribuir para uma maior mobilidade das moléculas dos agentes ativos em altas temperaturas; a afinidade/solubilidade do composto migrante e o alimento; e espessura do filme. Portanto, estudos de migração são relevantes no que diz respeito à qualidade das embalagens e segurança dos alimentos embalados (RIBEIRO-SANTOS et al., 2017). Além do mecanismo de liberação controlada de compostos para o alimento, os ativos também podem ser imobilizados na superfície polimérica do filme, exercendo sua atividade por contato direto com o produto alimentício sem transferência de massa, assim limitando sua ação à superfície de contato. E, há ainda outro modo de ação que é a eliminação ou retenção de compostos indesejáveis, tais como o oxigênio, espécies oxidativas, radicais ou íons de metal (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014).

A embalagem ativa tornou-se uma alternativa promissora em relação aos métodos tradicionais de preservação e um dos novos conceitos de grande interesse na indústria de alimentos devido às contínuas mudanças nas demandas atuais dos consumidores e tendências de mercado (BARBOSA-PEREIRA et al., 2013; DONG et al., 2018). Vale destacar o papel da embalagem ativa em ser capaz de interromper ou retardar a

deterioração microbiana, oxidativa e enzimática, minimizar contaminações, bem como garantir a textura e a cor dos produtos durante o armazenamento (DONG et al., 2018). Diversos autores vêm dedicando suas pesquisas no desenvolvimento desse tipo de embalagem, dentre eles pode-se citar o trabalho de Barbosa-Pereira (2013) em que os autores desenvolveram filmes ativos contendo componentes antioxidantes para conservação de peixes do tipo salmão. No estudo de Benbettaïeb et al. (2018), os autores estudaram o comportamento de filmes comestíveis de gelatina e quitosana, além de outros antioxidantes naturais. No trabalho de Feng et al. (2018), os pesquisadores desenvolveram filmes ativos de amido incorporados com polifenol de chá, em que estes apresentaram atividade antioxidante e antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli*.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Diante do exposto constata-se a importância de desenvolver filmes ativos utilizando resíduos agroindustriais (mandioca e seriguela) aditivados com nanoZnO, avaliando sua capacidade antimicrobiana, antioxidante e propriedades mecânicas, ópticas, de solubilidade, permeabilidade, uniformidade, intumescimento, espessura. Tendo em vista as grandes quantidades de resíduos sólidos provenientes do processamento da mandioca e da seriguela, e o conteúdo significativo de amido (no caso da mandioca) e compostos ativos (no caso da seriguela com grande potencial antioxidante e também antimicrobiano), respectivamente, ainda remanescentes em sua composição, torna-se urgente a busca por estratégias que visem reduzir o desperdício e minimizar o descarte inadequado desses materiais que gera um relevante impacto ambiental, além de criar alternativas para seu reaproveitamento como forma de agregar valor a estes resíduos e aos novos materiais produzidos a partir deles.

Nesse âmbito, a produção de filmes ativos para embalagens alimentícias a partir de fontes naturais renováveis, surge como uma alternativa promissora de grande relevância e impacto no desenvolvimento científico, tecnológico e socioeconômico, já que além de biodegradáveis, eles seriam capazes de reduzir também o acúmulo dos resíduos sólidos provenientes do descarte das embalagens de polímeros sintéticos não biodegradáveis normalmente utilizadas nesse setor. Outro ponto a destacar é o papel fundamental do nanoZnO como um material de reforço e de atividade antimicrobiana, visto que a combinação dele com os demais materiais usada na produção de filmes para embalagens alimentícias, busca garantir a preservação dos alimentos aumentando a vida de prateleira e

mantendo as propriedades do alimento embalado, de forma a beneficiar não só os consumidores, mas também as indústrias. Além dos filmes, outras alternativas de reaproveitamento podem surgir com grande potencial, como as propriedades ativas dos compostos da seriguela e das nanopartículas de nanoZnO que poderiam trazer benefícios também para a agroindústria, prevenindo por exemplo doenças fitopatogênicas em diversas culturas agrícolas por meio da ação antimicrobiana.

Por fim, a elaboração desses filmes ativos como proposta nesse trabalho traria contribuições para ciência e tecnologia de alimentos em diversos aspectos como: retirar milhões de toneladas de resíduos sólidos do meio ambiente proporcionando um destino viável de alto valor agregado; reduzir o impacto ambiental gerado pelos polímeros sintéticos por meio de sua substituição; oferecer à sociedade embalagens provenientes de matérias-primas atóxicas que não trariam riscos à saúde humana. Os resultados dessa pesquisa irão beneficiar tanto os estabelecimentos que processam a mandioca quanto as indústrias de embalagens estariam sendo beneficiadas, pelo fato do primeiro poder aproveitar ou vender seus resíduos, otimizando o processo e tornando-os rentáveis, e o segundo em poder desenvolver embalagens mais baratas provenientes de fontes de baixo custo. Assim, este estudo pode vir a contribuir no desenvolvimento de um processo viável e acessível economicamente para produção de filmes ativos à base dos resíduos da mandioca e seriguela e da incorporação do nanoZnO, com propriedades adequadas à embalagem alimentícia de forma a fornecer um suporte para futura aplicação industrial desse processo, como por exemplo, em embalagens de queijos, margarinas, preparações prontas para consumo, e produtos agrícolas como frutas e grãos.

## REFERÊNCIAS

- ACEVEDO-FANI, A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Nanoemulsions as edible coatings. **Current Opinion in Food Science**. v. 15, p. 43 – 59, 2017.
- AKBAR, A.; ANAL, A. K. Zinc oxide nanoparticles loaded active packaging, a challenge study against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat poultry meat. **Food Control**. v. 38, p. 88 – 95, 2014.
- ALBUQUERQUE, J. G. de; DUARTE, A. M.; CONCEIÇÃO, M. L. da; AQUINO, J. de S. Integral utilization of seriguela fruit (*Spondias purpurea* L.) in the production of cookies. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP. v. 38, n. 3: e-229, p. 1 – 7, 2016.
- ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A.; LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**. v. 44, p. 2155 – 2159, 2011.
- ALMOHAYWI, B.; YU, T. T.; ISKANDER, G.; CHAN, D. S. H.; HO, K. K. K.; RICE, S.; BLACK, D. S.; GRIFFITH, R.; KUMAR, N. Dihydropyrrolones as bacterial quorum sensing inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 29, p. 1054 – 1059, 2019.
- AMORIM, Quesia Santos. **Resíduos da indústria processadora de polpas de frutas: capacidade antioxidante e fatores antinutricionais**. Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais. Itapetinga, BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), 2016. 89p.
- ANANTHARAJAH, A.; MINGEOT-LECLERCQ, M-P.; BAMBEKE, F. V. Targeting the Type Three Secretion System in *Pseudomonas aeruginosa*. **Trends in Pharmacological Sciences**. v. 37, n. 9, p. 734 – 749, 2016.
- ANGIOLILLO, L.; DEL NOBILE, M. A.; CONTE, A. The extraction of bioactive compounds from food residues using microwaves. **Current Opinion in Food Science**. v. 5, p. 93 – 98, 2015.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2017. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2017. 88 p.: il.
- AUGUSTO, P. E. D.; CRISTIANINI, M.; IBARZ, A. Effect of temperature on dynamic and steady-state shear rheological properties of siriguela (*Spondias purpurea* L.) pulp. **Journal of Food Engineering**. v. 108, p. 283 – 289, 2012.

AZIZ, M. S. A.; SALAMA, H. E.; SABAA, M. W. Biobased alginate/castor oil edible films for active food packaging. **LWT - Food Science and Technology**. v. 96, p. 455 – 460, 2018.

BABBAR, N.; OBEROI, H. S.; UPPAL, D. S.; PATIL, R. T. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**. v. 44, p. 391 – 396, 2011.

BARBOSA-PEREIRA, L.; CRUZ, J. M.; SENDÓN, R.; QUIRÓS, A. R. B.; ARES, A.; CASTRO-LÓPEZ, M.; ABAD, M. J.; MAROTO, J.; PASEIRO-LOSADA, P. Development of antioxidant active films containing tocopherols to extend the shelf life of fish. **Food Control**. v. 31, p. 236 – 243, 2013.

BASIAK, E.; LENART, A.; DEBEAUFORT, F. Effect of starch type on the physico-chemical properties of edible films. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 98, p. 348 – 356, 2017.

BENBETTAÏEB, N.; TANNER, C.; CAYOT, P.; KARBOWIAK, T.; DEBEAUFORT, F. Impact of functional properties and release kinetics on antioxidant activity of biopolymer active films and coatings. **Food Chemistry**. v. 242, p. 369 – 377, 2018.

BÉNÉZET, J. C.; STANOJLOVIC-DAVIDOVIC, A.; BERGERET, A.; FERRY, L.; CRESPIY, A. Mechanical and physical properties of expanded starch, reinforced by natural fibres. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 435 – 440, 2012.

BIANCALANI, C.; CERBONESCHI, M.; TADINI-BUONINSEGNI, F.; CAMPO, M.; SCARDIGLI, A.; ROMANI, A.; TEGLI, S. Global Analysis of Type Three Secretion System and Quorum Sensing Inhibition of *Pseudomonas savastanoi* by Polyphenols Extracts from Vegetable Residues. **PLoS ONE**. 11 (9) e0163357. doi:10.1371/journal.pone.0163357, 2016.

BIERHALS, V. S.; CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Effect of cassava starch coating on quality and shelf life of fresh-cut pineapple (*Ananas Comosus* L. Merril cv “Pérola”). **Journal of Food Science**. v. 76, n. 1, p. 62 – 72, 2011.

BILANOVIC, D.; STAROSVETSKY, J.; ARMON, R. H. Preparation of biodegradable xanthan–glycerol hydrogel, foam, film, aerogel and xerogel at room temperature. **Carbohydrate Polymers**. v. 148, p. 243 – 250, 2016.

BRANDELERO, R. P. H.; ALMEIDA, F. M.; ALFARO, A. Microestrutura e propriedades de filmes de amido-álcool polivinílico-alginato adicionados de óleos essenciais de copaíba e capim limão. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 910 – 916, 2015.

CAMARGO, K. F.; LEONEL, M.; MISCHAN, M. M. Produção de biscoitos extrusados de polvilho azedo com fibras: efeito de parâmetros operacionais sobre as propriedades físicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 28, n. 3, p. 586-591, 2008.

CAN-CAUICH, C. A.; SAURI-DUCH, E.; BETANCUR-ANCONA, D.; CHEL-GERRERO, L.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; CUEVAS-GLORY, L. F.; PÉREZ-PACHECO, E.; MOO-HUCHIN, V. M. Tropical fruit peel powders as functional ingredients: Evaluation of their bioactive compounds and antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**. v. 37, p. 501 – 506, 2017.

CASTRO-ROSAS, J.; FERREIRA-GROSSO, C. R.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; RANGEL-VARGAS, E.; RODRÍGUEZ-MARÍN, M. L.; GUZMÁN-ORTIZ, F. A.; FALFAN-CORTES, R. N. Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food - A review. **Food Research International**. v. 102, p. 575 – 587, 2017.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA/ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA LUIZ DE QUEIROZ. **CEPEA/ESALQ**. Boletim da Mandioca – Análise Econômica Mensal sobre o setor de mandioca e derivados no Brasil. Projeto desenvolvido pelo CEPEA em parceria com a ABAM Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ/USP. São Paulo, abril de 2019.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. **Food Hydrocolloids**. v. 38, p. 20 – 27, 2014.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch e Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. **Food Hydrocolloids**. v. 28, p. 59 – 67, 2012.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (**CONAB**). Análise mensal - mandioca (2018). Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-mandioca>> Acesso em 03/06/2018.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (**CONAB**). Conjunturas da agropecuária – Mandioca: raiz, fécula e farinha (2017). Disponível em: <<http://conab.gov.br>> Acesso em 11/05/2018.

COSTA, Wallace Batista da. **Estabilidade oxidativa de hambúrguer bovino empregando compostos bioativos do resíduo agroindustrial de seriguela (*Spondias purpurea* L.)**. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Recife, PE: Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 2015. 95p.

DANNENBERG, G. S.; FUNCK, G. D.; SILVA, W. P.; FIORENTINI, A. M. Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. **Food Control**. v. 95, p. 115 – 120, 2019.

DE SOUZA, Roberta Cristina. **Ação antimicrobiana de filmes de polietileno de baixa densidade e polietileno de baixa densidade linear modificado com anidrido maleico**

**incorporados com nanopartículas de óxido de zinco.** Dissertação de mestrado em Engenharia de Alimentos. Florianópolis, SC: Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), 2015. 133 p.

DEBIAGI, F.; KOBAYASHI, R.K.T.; NAKAZATO, G.; PANAGIO, L.A.; MALI, S. Biodegradable active packaging based on cassava bagasse, polyvinyl alcohol and essential oils. **Industrial Crops and Products**. v. 52, p. 664–670, 2014.

DOMÍNGUEZ, R.; BARBA, F. J.; GÓMEZ, B.; PUTNIK, P.; KOVAČEVIĆ, D. B.; PATEIRO, M.; SANTOS, E. M.; LORENZO, J. M. Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food Research International**. v. 113, p. 93 – 101, 2018.

DONG, Z.; XU, F.; AHMED, I.; LI, Z.; LIN, H. Characterization and preservation performance of active polyethylene films containing rosemary and cinnamon essential oils for Pacific white shrimp packaging. **Food Control**. v. 92, p. 37 – 46, 2018.

DUFFY, L. L.; OSMOND-MCLEOD, M. J.; JUDY, J.; KING, T. Investigation into the antibacterial activity of silver, zinc oxide and copper oxide nanoparticles against poultry-relevant isolates of *Salmonella* and *Campylobacter*. **Food Control**. v. 92, p. 293 – 300, 2018.

DUTRA, R. L. T.; DANTAS, A. M.; MARQUES, D. A.; BATISTA, J. D. F.; MEIRELES, B. R. L. A.; CORDEIRO, A. M. T. M.; MAGNANI, M.; BORGES, G. S. C. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**. v. 100, p. 650 – 657, 2017.

EMAMIFAR, A.; KADIVAR, M.; SHAHEDI, M.; SOLEIMANIAN-ZAD, S. Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. **Food Control**. v. 22, p. 408 – 413, 2011.

EMBRAPA - AGROINDUSTRIA TROPICAL. **Geração de Técnicas de Conservação Pós- Colheita para Valorização do Cultivo de Cajá e Ciriguela no Estado do Ceará.** Relatório Técnico Final de Projeto. Fortaleza, Ceará, 2001.

EMBRAPA. **Spondias agroindustriais e os seus métodos de propagação.** Documentos, nº 27. Fortaleza: Embrapa-CNPAT / SEBRAE/CE, 1998. 26p.

ENGELS, C.; GRÄTER, D.; ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M.; GÄNZLE, M. G.; SCHIEBER, A. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Food Research International**. v. 46, p. 557 – 562, 2012.

ESMAILZADEH, H.; SANGPOUR, P.; SHAHRAZ, F.; HEJAZI, J.; KHAKSAR, R. Effect of nanocomposite packaging containing ZnO on growth of *Bacillus subtilis* and

*Enterobacter aerogenes*. **Materials Science and Engineering C**. v. 58, p. 1058 – 1063, 2016.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. F. F.; TEÓFILO, R. F.; COIMBRA, J. S. R.; VITOR, D. M.; BATISTA, R. A.; FERREIRA, S. O.; ANDRADE, N. J.; MEDEIROS, E. A. A. Physical–mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films with pediocin and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**. v. 94, p. 199 – 208, 2013.

FARZANA, R.; RAJARAO, R.; HASSAN, K.; BEHERA, P. R.; SAHAJWALLA, V. Thermal nanosizing: Novel route to synthesize manganese oxide and zinc oxide nanoparticles simultaneously from spent Zn-C battery. **Journal of Cleaner Production**. v. 196, p. 478 – 488, 2018.

FENG, M.; YU, L.; ZHU, P.; ZHOU, X.; LIU, H.; YANG, Y.; ZHOU, J.; GAO, C.; BAO, X.; CHEN, P. Development and preparation of active starch films carrying tea polyphenol. **Carbohydrate Polymers**. v. 196, p. 162 – 167, 2018.

FIORDA, F. A.; SOARES JÚNIOR, M. S.; DA SILVA, F. A.; SOUTO, L. R. F.; GROSSMANN, M. V. E. Farinha de bagaço de mandioca: aproveitamento de subproduto e comparação com fécula de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. v. 43, n. 4, p. 408-416, 2013.

FIROUZABADI, F. B.; NOORI, M.; EDALATPANAH, Y.; MIRHOSSEINI, M. ZnO nanoparticle suspensions containing citric acid as antimicrobial to control *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in mango juice. **Food Control**. v. 42, p. 310 – 314, 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Produzir mais com menos – Mandioca: um guia para intensificação sustentável da produção (2013). Disponível em: <<http://fao.org/3/a-i2929o.pdf>> Acesso em 10/05/2018.

GALUS, S.; KADZIŃSKA, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science & Technology**. v. 45, p. 273 – 283, 2015.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; CATALÁ, P.; GAVARA, R. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**. v. 35, p. 42 – 51, 2014.

GUO, Z.; LI, X.; LI, J.; YANG, X.; ZHOU, Y.; LU, C.; SHEN, Y. Licoflavonol is an inhibitor of the type three secretion system of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 477, p. 998 – 1004, 2016.

GUTIÉRREZ-BARRANQUERO, J. A.; REEN, F. J.; McCARTHY, R. R.; O’GARA, F. Deciphering the role of coumarin as a novel quorum sensing inhibitor suppressing virulence phenotypes in bacterial pathogens. **Appl Microbiol Biotechnol**. v. 99, p. 3303 – 3316, 2015.



GUTIÉRREZ-PACHECO, M. M.; BERNAL-MERCADO, A. T.; VÁZQUEZ-ARMENIA, F. J.; MARTÍNEZ-TELLEZ, M. A.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; LIZARDI-MENDOZA, J.; MADERA-SANTANA, T. J.; NAZZARO, F.; AYALA-ZAVALA, J. F. Quorum sensing interruption as a tool to control virulence of plant pathogenic bacteria. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 106, p. 281 – 291, 2019.

HAAS, I. C. S.; TOALDO, I. M.; BURIN, V. M.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Extraction optimization for polyphenolic profiling and bioactive enrichment of extractives of non-pomace residue from grape processing. **Industrial Crops & Products**. v. 112, p. 593 – 601, 2018.

HAIPOUR, M. J.; FROMM, K. M.; ASHKARRAN, A. A.; ABERASTURI, D. J.; LARRAMENDI, I. R.; ROJO, T.; SERPOOSHAN, V.; PARAK, W. J.; MAHMOUDI, M. Antibacterial properties of nanoparticles. **Trends in Biotechnology**. v. 30, n. 10, p. 499 – 511, 2012.

HAMDI, M.; NASRI, R.; DRIDI, N.; MOUSSA, H.; ASHOUR, L. Improvement of the quality and the shelf life of reduced-nitrites turkey meat sausages incorporated with carotenoproteins from blue crabs shells. **Food Control**. v. 91, p. 148 – 159, 2018.

HASSAN, B.; CHATHA, S. A. S.; HUSSAIN, A. I.; ZIA, K. M.; AKHTAR, N. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 109, p. 1095 – 1107, 2018.

HERNÁNDEZ, B. C. R.; EULOGIO, P. B.; RAMOS, J. Z. C.; URIAS, A. M.; HASBACH, G. P.; BARRIOS, E. P. Sistemas de producción de *Spondias purpurea* (Anacardiaceae) en el centro-occidente de México. **Revista de biología tropical**. v. 56, n. 2, p. 675 – 687, 2008.

HOU, K.; LI, C.; LEI, W.; ZHANG, X.; YANG, X.; QU, K.; WANG, B.; ZHAO, Z.; SUN, X. W. Influence of synthesis temperature on ZnO nanostructure morphologies and field emission properties. **Physica E**. v. 41, p. 470 – 473, 2009.

HUGO, C. J.; HUGO, A. Current trends in natural preservatives for fresh sausage products. **Trends in Food Science & Technology**. v. 45, p. 12 – 23, 2015.

JOSHI, M.; ALDRED, P.; MCKNIGHT, S.; PANOZZO, J. F.; KASAPIS, S.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Physicochemical and functional characteristics of lentil starch. **Carbohydrate Polymers**. v. 92, p. 1484 – 1496, 2013.

KAISANGSRI, N.; KERDCHOECHUEN, O.; LAOHAKUNJIT, N. Biodegradable foam tray from cassava starch blended with natural fiber and chitosan. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 542 – 546, 2012.

KANMANI, P.; RHIM, J-W. Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**. v. 106, p. 190 – 199, 2014.

LAGOS, J. B.; VARGAS, F. C.; OLIVEIRA, T. G.; MAKISHI, G. L. A.; SOBRAL, P. J. A. Recent patents on the application of bioactive compounds in food: a short review. **Current Opinion in Food Science**. v. 5, p. 1 – 7, 2015.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Extração da fécula retida no resíduo fibroso do processo de produção de fécula de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 20, n. 1, p. 122 – 127, 2000.

LI, Z.; NAIR, S. K. Quorum sensing: How bacteria can coordinate activity and synchronize their response to external signals?. **Protein Science**. v. 21 (10), p. 1403 – 1417, doi:10.1002/pro.2132, 2012.

LIMA, Isabel da Conceição Gama Silva e. **Seriguela (*Spondias purpurea* L.): propriedades físico-químicas e desenvolvimento de geléia de doce de corte e aceitabilidade desses produtos**. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Seropédica, RJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), 2009. 87p.

LÓPEZ, O. V.; GARCÍA, M. A. Starch films from a novel (*Pachyrhizus ahipa*) and conventional sources: Development and characterization. **Materials Science and Engineering C**. v. 32, p. 1931 – 1940, 2012.

LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; MEDINA-JARAMILLO, C.; PIÑEROS-HERNANDEZ, D.; GOYANES, S. Cassava starch films containing rosemary nanoparticles produced by solvent displacement method. **Food Hydrocolloids**. v. 71, p. 26 – 34, 2017.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; GÓMEZ-ESTACA, J.; CATALÁ, R.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**. v. 131, p. 1376 – 1384, 2012.

MACHADO, C. M.; BENELLI, P.; TESSARO, I. C. Sesame cake incorporation on cassava starch foams for packaging use. **Industrial Crops and Products**. v. 102, p. 115 – 121, 2017.

MACHADO, Sydia Darcila Oliveira. **Desenvolvimento e caracterização de filmes bioativos à base de quitosana aditivados com o extrato do resíduo de acerola**. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia dos alimentos. Recife, PE: Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 2015. 103p.

MALDONADO-ASTUDILLO, Y. I.; ALIA-TEJACAL, I. A.; NÚÑEZ-COLÍN, C. A.; JIMÉNEZ-HERNÁNDEZ, J.; PELAYO-ZALDÍVAR, C.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, V.; ANDRADE-RODRÍGUEZ, M.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VALLE-GUADARRAMA, S.

Postharvest physiology and technology of *Spondias purpurea* L. and *S. mombin* L. **Scientia Horticulturae**. v. 174, p. 193 – 206, 2014.

MALI, S. DEBIAGI, F.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Starch, sugarcane bagasse fibre, and polyvinyl alcohol effects on extruded foam properties: A mixture design approach. **Industrial Crops and Products**. v. 32, p. 353 – 359, 2010.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**. v. 31, n. 1, p. 137 – 156, 2010.

MARENGO, V. A.; VERCELHEZE, A. E. S.; MALI, S. Compósitos biodegradáveis de amido de mandioca e resíduos da agroindústria. **Química Nova**. v. 36, n. 5, p. 680 – 685, 2013.

MATTA, E.; TAVERA-QUIROZ, M. J.; BERTOLA, N. Active edible films of methylcellulose with extracts of green apple (Granny Smith) skin. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 124, p. 1292 – 1298, 2019.

MEDINA-JARAMILLO, C.; GUTIÉRREZ, T. J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**. v. 151, p. 150 – 159, 2016.

MEDINA-JARAMILLO, C.; OCHOA-YEPES, O.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. **Carbohydrate Polymers**. v. 176, p. 187 – 194, 2017.

MELLO, L. R. P. F.; MALI, S. Use of malt bagasse to produce biodegradable baked foams made from cassava starch. **Industrial Crops and Products**. v. 55, p. 187–193, 2014.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 2, p. 193 – 201, 2008.

MENDES, J. F.; PASCHOALIN, R. T.; CARMONA, V. B.; SENA NETO, A. R.; MARQUES, A. C. P.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C.; MEDEIROS, E. S.; OLIVEIRA, J. E. Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. **Carbohydrate Polymers**. v. 137, p. 452 – 458, 2016.

MIRHOSSEINI, M.; FIROUZABADI, F. Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticle suspensions on food-borne pathogens. **International Journal of Dairy Technology**, v. 66, n. 2, p. 291 – 295, 2013.

NAFCHI, A. M.; NASSIRI, R.; SHEIBANI, S.; ARIFFIN, F.; KARIM, A. A. Preparation and characterization of bionanocomposite films filled with nanorod-rich zinc oxide. **Carbohydrate Polymers**. v. 96, p. 233 – 239, 2013.

NAFCHI, A. M.; NASSIRI, R.; SHEIBANI, S.; ARIFFIN, F.; KARIM, A. A. Preparation and characterization of bionanocomposite films filled with nanorod-rich zinc oxide. **Carbohydrate Polymers**. v. 96, p. 233 – 239, 2013.

OLIVEIRA FILHO, J. G.; RODRIGUES, J. M.; VALADARES, A. C. F.; ALMEIDA, A. B.; LIMA, T. M.; TAKEUCHI, K. P.; ALVES, C. C. F.; SOUSA, H. A. F.; SILVA, E. R.; DYSZY, F. H.; EGEEA, M. B. Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. **Food Hydrocolloids**. v. 92, p. 267 – 275, 2019.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; BARROS, M. P.; MANO, C. M.; GOULART, M. O. F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**. v. 115, p. 469 – 475, 2009.

OMBIRO, G. S.; SAWAI, T.; NOUTOSHI, Y.; NISHINA, Y.; MATSUI, H.; YAMAMOTO, M.; TOYODA, K.; ICHINOSE, Y. Specific growth inhibitors of *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *X. campestris* pv. *campestris*, and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Microbiological Research**. v. 215, p. 29 – 35, 2018.

ORDÓÑEZ, Juan A. **Tecnología de Alimentos: componentes dos alimentos e processos**, vol. 1. Porto Alegre: Editora Artmed, 2007. 294p.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, M. F.; CARVALHO, A. P.; DOMINGUES, V. F.; GOMES, A. M.; BECKER, H.; LONGHINOTTI, E.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**. v. 172, p. 462 – 468, 2015.

PERUMALLA, A. V. S.; HETTIARACHCHY, N. S. Green tea and grape seed extracts — Potential applications in food safety and quality. **Food Research International**. v. 44, p. 827 – 839, 2011.

PINA-PÉREZ, M. C.; PÉREZ, M. A. F. Antimicrobial potential of legume extracts against foodborne pathogens: A review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 72, p. 114 – 124, 2018.

PIÑEROS-HERNANDEZ, D.; MEDINA-JARAMILLO, C.; LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; GOYANES, S. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food Hydrocolloids**. v.63, p. 488 – 495, 2017.

POVEDA, J. M; LOARCE, L.; ALARCÓN, M.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; ALAÑÓN, M. E. Revalorization of winery by-products as source of natural preservatives obtained by

means of green extraction techniques. **Industrial Crops & Products**. v. 112, p. 617 – 625, 2018.

RADHAKRISHNAN, A.; REJANI, P.; KHAN, J. S.; BEENA, B. Effect of annealing on the spectral and optical characteristics of nanoZnO: Evaluation of adsorption of toxic metal ions from industrial waste water. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 133, p. 457 – 465, 2016.

RAMBABU, K.; BHARATH, G.; BANAT, F.; SHOW, P. L.; COCOLETZI, H. H. Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 126, p. 1234 – 1243, 2019.

RHIM, J-W.; WANG, L-F.; LEE, Y.; HONG, S-I. Preparation and characterization of bio-nanocomposite films of agarand silver nanoparticles: Laser ablation method. **Carbohydrate Polymers**. v. 103, p. 456 – 465, 2014.

RIBEIRO-SANTOS, R.; ANDRADE, M.; MELO, N. R.; SANCHES-SILVA, A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in Food Science & Technology**. v. 61, p. 132 – 140, 2017.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**. v. 121, p. 996 – 1002, 2010.

SALVUCCI, E.; ROSSI, M.; COLOMBO, A.; PÉREZ, G.; BORNEO, R.; AGUIRRE, A. Triticale flour films added with bacteriocin-like substance (BLIS) for active food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**. v. 19, p. 193 – 199, 2019.

SÁNCHEZ, A. S.; SILVA, Y. L.; KALID, R. A.; COHIM, E.; TORRES, E. A. Waste bio-refineries for the cassava starch industry: New trends and review of alternatives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 73, p. 1265 – 1275, 2017.

SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**. v. 49, p. 89 – 94, 2015.

SANTOS, A. M. P.; SANTOS, E. J. P. High quality c-axis oriented thin ZnO film obtained at very low pre-heating temperature. **Materials Letters**. v. 61, p. 3432 – 3435, 2007.

SANTOS, A. M. P.; SANTOS, E. J. P. Optimization of nanostructured ZnO-particle fabrication route with different alcohols and varying sodium hydroxide concentration. In: 15<sup>th</sup> European Conference on Composite Materials (ECCM15). Venice, Italy, 2012.

SANTOS, Andreina Maria Pinheiro; DEMETRIO, Alinne Araujo; SANTOS, Márcia Monteiro dos; MELO, Enayde de Almeida. Chitosan/nanozno edible coatings: preparation and active food packing application. In: SILVA NETO, Benedito Rodrigues da. **A produção do conhecimento nas ciências da saúde, vol. 2** - (recurso eletrônico). Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. Capítulo 20, p. 168 – 177.

SCHEIBE, A. S.; MORAES, J. O.; LAURINDO, J. B. Production and Characterization of Bags from Biocomposite Films of Starch-Vegetal Fibers Prepared by Tape Casting. **Journal of Food Process Engineering**. v. 1, p. 01 – 11, 2014.

SENANAYAKE, S. P. J. N. Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review. **Journal of functional foods**. v. 5, p. 1529 – 1541, 2013.

SERAVALLI, Elisena A. G.; RIBEIRO, Eliana P. **Química de alimentos**. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2007. 184p.

SERRANO-LEÓN, J. S.; BERGAMASCHI, K. B.; YOSHIDA, C. M. P.; SALDAÑA, E.; SELANI, M. M.; RIOS-MERA, J. D.; ALENCAR, S. M.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J. Chitosan active films containing agro-industrial residue extracts for shelf life extension of chicken restructured product. **Food Research International**. v. 108, p. 93 – 100, 2018.

SHANKAR, S.; TENG, X.; LI, G.; RHIM, J-W. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films. **Food Hydrocolloids**. v. 45, p. 264 – 271, 2015.

SILVA, A. F. O.; GIRONDI, L. M.; PIMENTEL, T. C.; BARÃO, C. E.; KLOSOSKI, S. J. Barra de cereal adicionada de bagaço de mandioca: composição química e aceitação sensorial. **Brazilian Journal of Food Research**. v. 7, n. 2, p. 42-52, 2016.

SILVA, B. V.; BARREIRA, J. C. M.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. **Trends in Food Science & Technology**. v. 50, p. 144 – 158, 2016.

SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, E. A. T.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**. v. 143, p. 398 – 404, 2014.

SILVA, N. C.; DUARTE, C. R.; BARROZO, M. A. S. Effects of dehydration methods on quality characteristics of yellow passion fruit coproducts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 97, p. 4750 – 4759, 2017.

SILVA, Q. J.; FIGUEIREDO, F. J.; LIMA, V. L. A. G. Características físicas e químicas de cirigueleiras cultivadas na Zona da Mata Norte de Pernambuco. **Revista Ceres, Viçosa**. v. 63, n. 3, p. 285 – 290, 2016.

SILVA, R. C. O.; MOREIRA, A. C. C. G.; NASCIMENTO, J. D. M.; MACIEL, M. I. S.; MELO, E. A. Antioxidant Potential of Extracts of Cajá-Umbu Peels. **The Natural Products Journal**. v. 2, p. 149 - 154, 2012.

SILVA, T. M.; MELO, E. A. Resíduo de ciriguela (*Spondias Purpurea L.*): teor de fitoquímicos e potencial antioxidante. In: XIII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO (JEPEX). **Resumos**. Recife: UFRPE, 2013. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R0693-1.pdf>>. Acesso em: 23 jul. 2018.

SILVA, V.; IGREJAS, G.; FALCO, V.; SANTOS, T. P.; TORRES, C.; OLIVEIRA, A. M. P.; PEREIRA, J. E.; AMARAL, J. S.; POETA, P. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. **Food Control**. v. 92, p. 516 – 522, 2018.

SIRACUSA, V.; PIETRO, R.; ROMANI, S.; ROSA, M. D. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 19, p. 634 – 643, 2008.

SOTHORNVIT, R. Nanostructured materials for food packaging systems: New functional properties. **Current Opinion in Food Science**. 2019. Accepted Manuscript - DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.03.001>.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; SILVA, M. J. M.; LIMA, A. Nutritional characterization and antioxidant compounds in pulp residues of tropical fruits. **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**. v. 35, n. 3, p. 554 – 559, 2011.

SOUTO, L. R. F.; CALIARI, M.; SOARES JÚNIOR, M. S.; FIORDA, F. A.; GARCIA, M. C. Utilization of residue from cassava starch processing for production of fermentable sugar by enzymatic hydrolysis. **Food Science and Technology, Campinas**. v. 37, n. 1, p. 19 – 24, 2017.

SOUZA, T. A. C.; SOARES JÚNIOR, M. S.; CAMPOS, M. R. H.; SOUZA, T. S. C.; DIAS, T.; FIORDA, F. A. Gluten free cakes made with broken rice and cassava peel. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**. v. 34, n. 2, p. 717-728, 2013a.

SOUZA, T. A. C.; SOARES JÚNIOR, M. S.; CAMPOS, M. R. H.; SOUZA, T. S. C.; BANDEIRA, L. C. The effect of chemical treatments on the pH & microbial flora of cassava residues during storage. **Food Science and Technology, Campinas**. v. 33, n. 3, p. 457-462, 2013b.

STEINER, A. D.; VARGAS, A.; FRONZA, N.; BRANDELLI, A.; SANTOS, J. H. Z. Antimicrobial activity of some natural extracts encapsulated within silica matrices. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 160, p. 177 – 183, 2017.

SWAIN, P. S.; RAO, S. B. N.; RAJENDRAN, D.; DOMINIC, G.; SELVARAJU, S. Nano zinc, an alternative to conventional zinc as animal feed supplement: A review. **Animal Nutrition**, v. 2, p. 134 – 141, 2016.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (**TACO**). NEPA – UNICAMP. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. 161 p.

TAMER, T. M.; ABOU-TALEB, W. M.; ROSTON, G. D.; MOHYELDIN, M. S.; OMER, A. M.; KHALIFA, R. E.; HAFEZ, A. M. Formation of zinc oxide nanoparticles using alginate as a template for purification of wastewater. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**. v. 10, p. 112 – 121, 2018.

THAKUR, R.; PRISTIJONO, P.; SCARLETT, C. J.; BOWYER, M.; SINGH, S. P.; VUONG, Q. V. **International Journal of Biological Macromolecules**. Accepted Manuscript – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.190>, 2019.

TORRES, F. G.; TRONCOSO, O. P.; TORRES, C.; DÍAZ, D.A.; AMAYA, E. Biodegradability and mechanical properties of starch films from Andean crops. **International Journal of Biological Macromolecules**. v.48, p. 603 – 606, 2011.

VAQUERO, M. J. R.; ALBERTO, M. R.; NADRA, M. C. M. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. **Food Control**. v. 18, p. 93 – 101, 2007.

VEIGA, J. P. S.; VALLE, T. L.; FELTRAN, J. C.; BIZZO, W. A. Characterization and productivity of cassava waste and its use as an energy source. **Renewable Energy**. v. 93, p. 691 – 699, 2016.

VERCELHEZE, Ana Elisa Stefani. **Desenvolvimento de bandejas biodegradáveis de amido de mandioca, fibras do bagaço de cana-de-açúcar e nanoargilas pelo processo de termoformagem**. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia. Londrina, PR: Universidade Estadual de Londrina (UEL), 2011. 120p.

VILHALVA, D. A. A.; SOARES JÚNIOR, M. S.; MOURA, C. M. A.; CALIARI, M.; SOUZA, T. A. C.; SILVA, F. A. Aproveitamento da farinha de casca de mandioca na elaboração de pão de forma. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 70, n. 4, p. 514-521, 2011.

WANG, C.; LIU, X.; WANG, J.; ZHOU, J.; CUI, Z.; ZHANG, L-H. Design and characterization of a polyamine derivative inhibiting the expression of type III secretion system in *Pseudomonas aeruginosa*. **Scientific Reports**. 6:30949 - DOI: 10.1038/srep30949, 2016.

WENG, Y-X.; JIN, Y-J.; MENG, Q-Y.; WANG, L.; ZHANG, M.; WANG, Y-Z. Biodegradation behavior of poly(butylene adipate-coterephthalate) (PBAT), poly(lactic acid) (PLA), and their blend under soil conditions. **Polymer Testing**. v. 32, p. 918 – 926, 2013.



WU, C.; LI, Y.; DU, Y.; WANG, L.; TONG, C.; HU, Y.; PANG, J.; YAN, Z. Preparation and characterization of konjac glucomannan-based bionanocomposite film for active food packaging. **Food Hydrocolloids**. v. 89, p. 682 – 690, 2019.

XIE, J.; HUNG, Y-C. UV-A activated TiO<sub>2</sub> embedded biodegradable polymer film for antimicrobial food packaging application. **LWT - Food Science and Technology**. v.96, p. 307 – 314, 2018.

YOUSUF, B.; QADRI, O. S.; SRIVASTAVA, A. K. Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. **LWT - Food Science and Technology**. v. 89, p. 198 – 209, 2018.

YULIANA, M.; HUYNH, L-H.; HO, Q-P.; TRUONG, C-T.; JU, Y-H. Defatted cashew nut shell starch as renewable polymeric material: Isolation and characterization. **Carbohydrate Polymers**. v. 87, p. 2576 – 2581, 2012.

ZERAIK, M. L.; QUEIROZ, E. F.; MARCOURT, L.; CICLET, O.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; CUENDET, M.; BOLZANI, V. da S.; WOLFENDER, J-L. Antioxidants, quinone reductase inducers and acetylcholinesterase inhibitors from *Spondias tuberosa* fruits. **Journal of Functional Foods**. v. 21, p. 396 – 405, 2016.

ZHANG, Y.; SASS, A.; ACKER, H. V.; WILLE, J.; VERHASSELT, B.; NIEUWERBURGH, F. V.; KAEVER, V.; CRABBÉ, A.; COENYE, T. Coumarin Reduces Virulence and Biofilm Formation in *Pseudomonas aeruginosa* by Affecting Quorum Sensing, Type III Secretion and C-di-GMP Levels. **Frontiers in Microbiology**. vol. 9:1952, DOI: doi: 10.3389/fmicb.2018.01952, 2018.

# **ARTIGO 1**

## Atividade inibitória contra sistemas de patogenicidade bacteriana e ação antimicrobiana do extrato de resíduo de seriguela e nanoZnO

Luana de Souza Cavalcante Carnaval, Matteo Cerboneschi, Stefania Tegli, Cristiana Maria Pedroso Yoshida, Enayde de Almeida Melo, Andreлина Maria Pinheiro Santos

### RESUMO

Os extratos vegetais de resíduos agroindustriais têm se destacado por suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas. As nanopartículas como o nanoZnO também demonstram potencial antimicrobiano. Assim, inicialmente esse estudo identificou o perfil fenólico do extrato de resíduo de seriguela por HPLC. Então avaliou o extrato e o nanoZnO quanto à atividade inibitória contra os sistemas bacterianos de patogenicidade e virulência TTSS (Sistema de Secreção Tipo Três) e QS (Quorum Sensing) para *Pseudomonas savastanoi*, e à ação antibacteriana pelo método do halo de inibição contra espécies de *Curtobacterium*, *Clavibacter*, *E. coli*, *Xanthomonas* e *Serratia*, além da antifúngica contra *Botrytis cinerea* pela redução no tamanho da colônia. O extrato apresentou um perfil fenólico cujo composto predominante foi o ácido gálico, seguido de ácido p-cumárico, resveratrol (-*trans*), quercetina, ácido siríngico e felúrico. O extrato a 60% inibiu em 20,26% e 13,54% a ativação do sistema QS e TTSS, respectivamente; enquanto o nanoZnO a 3% reduziu 46,77% para QS e aumentou 302,88% para TTSS. O extrato sem diluição inibiu o crescimento de *Clavibacter michiganensis* pv *michiganensis* e *Xanthomonas phaseoli*, com zona inibitória de 94,25 mm<sup>2</sup> e 452,39 mm<sup>2</sup> respectivamente, sendo esta última também inibida por nanoZnO a 1 e 2% (138,23 mm<sup>2</sup>) e a 3% (275,67 mm<sup>2</sup>). O extrato puro inibiu em 17,38% o crescimento da colônia fúngica e o nanoZnO (1 e 3%) em 33,08%. Por fim, o extrato e o nanoZnO mostraram potencial viabilidade de aplicação na agroindústria na prevenção de doenças fitopatogênicas como também na elaboração de materiais ativos para embalagens.

**Palavras-chave:** antioxidante de fonte vegetal, nanopartículas, ação antimicrobiana, Sistema de Secreção Tipo Três, Quorum Sensing.

## **Inhibitory activity against bacterial pathogenicity systems and antimicrobial action of seriguela residue extract and nanoZnO**

Luana de Souza Cavalcante Carnaval, Matteo Cerboneschi, Stefania Tegli, Cristana Maria Pedroso Yoshida, Enayde de Almeida Melo, Andreлина Maria Pinheiro Santos

### **ABSTRACT**

The vegetal extracts of agroindustrial residues have been highlighted by its antioxidant and antimicrobial properties. Nanoparticles such as nanoZnO also demonstrate antimicrobial potential. Thus, initially this study identified the phenolic profile of the seriguela residue extract by HPLC. Then, it evaluated the extract and nanoZnO regarding the inhibitory activity against bacterial pathogenicity and virulence systems TTSS (Type Three Secretion System) and QS (Quorum Sensing) for *Pseudomonas savastanoi*, and regarding the antibacterial action by the inhibition halo method against species of *Curtobacterium*, *Clavibacter*, *E. coli*, *Xanthomonas* and *Serratia*, besides the antifungal against *Botrytis cinerea* by the reduction in the size of the colony. The extract showed a phenolic profile in which the predominant compound was gallic acid, followed by p-coumaric, resveratrol (-*trans*), quercetin, syringic and ferulic acid. The 60% extract inhibited the activation of the QS and TTSS system in 20.26% and 13.54%, respectively; while 3% nanoZnO reduced 46.77% for QS and increased 302.88% for TTSS. The extract without dilution inhibited the growth of *Clavibacter michiganensis* pv *michiganensis* and *Xanthomonas phaseoli*, with an inhibitory zone of 94.25 mm<sup>2</sup> and 452.39 mm<sup>2</sup> respectively, the latter being also inhibited by 1 and 2% nanoZnO (138.23 mm<sup>2</sup>) and to 3% (275.67 mm<sup>2</sup>). The pure extract inhibited 17.38% growth of fungal colony and nanoZnO (1 and 3%) in 33.08%. Finally, the extract and nanoZnO showed potential viability of application in agroindustry in the prevention of phytopathogenic diseases as well as in the production of active materials for packaging.

**Key words:** antioxidant of vegetable source, nanoparticles, antimicrobial action, Secretion System Type Three, Quorum Sensing.

## 1. INTRODUÇÃO

A agroindústria no mundo sofre grandes prejuízos econômicos causados pela ação de bactérias fitopatogênicas na produção, visto que as doenças bacterianas são responsáveis por perdas relevantes em diversas culturas, o que traz consequências para o seu rendimento e qualidade (BIANCALANI et al., 2016; OMBIRO et al., 2018; GUTIÉRREZ-PACHECO et al., 2019), e juntamente com outros fitopatógenos (fungos, vírus) e fatores abióticos (degradação ambiental e mudanças climáticas) representam uma ameaça no setor agroalimentar (MARTINS et al., 2018). No mundo, estas perdas são avaliadas em mais de 1 bilhão de dólares todos os anos e também traz consequências para toda a cadeia de produção de alimentos assim como para sua oferta e demanda (MARTINS et al., 2018), destacando-se que pelo menos 10% da produção global de alimentos é perdida por doenças fitopatogênicas (KANNAN; BASTAS; DEVI, 2015). Ademais, os custos reais das perdas e das doenças fitopatogênicas na agroindústria são refletidos multidirecionalmente para consumidores, saúde pública, meio ambiente, agricultores, economia e sociedade (SAVARY; FICKE; AUBERTOT, 2012).

Contudo, a aplicação de medidas efetivas (como quarentena e erradicação) geram forte impacto na economia e os métodos de combate convencionais, como o uso de produtos químicos à base de cobre e antibióticos, podem trazer problemas quanto à segurança, ecotoxicidade, e ao surgimento de bactérias resistentes. Assim, a busca por alternativas sustentáveis contra bactérias fitopatogênicas vem ganhando espaço nas pesquisas (BIANCALANI et al., 2016). Outro setor que vem buscando opções mais sustentáveis contra a ação de microrganismos patogênicos é o da indústria de alimentos, visando substituir os aditivos ou conservantes sintéticos comumente utilizados na preservação dos alimentos por compostos naturais (DANNENBERG et al., 2019; POVEDA et al., 2018).

Nesse sentido, extratos naturais provenientes de diversas fontes vegetais vêm recebendo grande atenção devido, não só à sua ação antioxidante (POVEDA et al., 2018), mas também à sua ação antimicrobiana contra um amplo espectro como fungos (*Aspergillus niger*), bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*) (STEINER et al., 2017). Diante desse panorama, compostos ativos, como os fenólicos, obtidos a partir de resíduos agroindustriais surgem com grande

potencial de aplicação tecnológica, especialmente devido ao baixo custo (HASS et al., 2018; SILVA et al., 2018).

Alguns mecanismos de ação vêm sendo atribuídos a esses compostos bioativos, como: desestabilização da membrana citoplasmática, alterações na permeabilidade da membrana celular e interferência no metabolismo microbiano. Os flavan-3-ols (flavanóis, como a catequina), flavonóis e taninos têm se destacado, por exemplo, pelo fato de eliminar fatores de virulência em microrganismos, além de atuarem em sinergia com antibióticos (PINA-PÉREZ; PÉREZ, 2018). Ademais, os compostos fenólicos não flavonoides, como ácido gálico e ácido vanílico, também apresentam ação antimicrobiana, por exemplo na inibição de *E. coli* (SILVA et al., 2018; VAQUERO; ALBERTO; NADRA, 2007). Assim, compostos fenólicos presentes em frutas tropicais e exóticas, como a seriguela (espécie *Spondias purpúrea L.*), tem despertado o interesse devido à sua rica composição em bioativos (DUTRA et al., 2017).

Diante dessa abordagem, a busca por inibidores, principalmente os obtidos de fontes naturais, que afetem os sistemas bacterianos de virulência e patogenicidade como aqueles regulados pelos sistemas Quorum Sensing (QS) e Secreção Tipo Três (TTSS), vem ganhando força (BIANCALANI et al., 2016). Os Sistemas de Secreção Tipo Três (TTSS) são os principais determinantes da virulência de várias bactérias patogênicas, como as espécies *Shigella*, *Salmonella*, *Chlamydia*, *Yersinia*, *Escherichia* e *Pseudomonas*, e esse sistema é mediador de um complexo processo de transporte através da membrana citoplasmática em que as bactérias introduzem proteínas do citosol bacteriano para a célula do hospedeiro capazes de causar patogenicidade e virulência, o que leva às infecções bacterianas (WANG et al., 2016).

Com relação ao Quorum Sensing (QS), este é um processo de comunicação e sinalização entre as células bacterianas que ocorre com base na geração e identificação de moléculas sinalizadoras e na resposta em nível de grupo (ZHANG et al., 2018). Esse sistema também fornece a esses microrganismos a capacidade de se adaptarem ou modularem sua expressão gênica de acordo com os estímulos bióticos e aos provenientes do ambiente – abióticos (BIANCALANI et al., 2016; JOSHI et al., 2016). Além disso, o QS interfere na resistência a antibióticos e na produção de biofilme, que seria mais um fator de proteção/resistência bacteriano (ZHANG et al., 2018). Esse tipo de controle,

através do QS e TTSS, mostra-se uma vantajosa estratégia também pelo fato de que, como não são mecanismos essenciais para viabilidade bacteriana, evitaria o risco de geração de bactérias resistentes (BIANCALANI et al., 2016).

Alguns compostos provenientes de fontes vegetais já demonstraram interferir no sistema QS e TTSS de patógenos, como no estudo de Zhang et al. (2018). Nesse trabalho, a cumarina, composto fenólico derivado de plantas, foi capaz de inibir o QS e a formação de biofilme, além de alterar a expressão dos genes relacionados ao Sistema de Secreção do Tipo Três (TTSS) de *Pseudomonas aeruginosa*. Gutiérrez-Barranquero et al. (2015) também identificaram a cumarina como um inibidor de QS com uma forte ação anti-virulência contra um vasto espectro de patógenos, principalmente bactérias Gram-negativas. Biancalani et al. (2016) identificaram que extratos de sementes de uva e de folhas de chá verde inibiram em 48 e 54% o sistema TTSS de *Pseudomonas savastanoi*, respectivamente. Estes autores também identificaram a inibição do sistema QS em 43, 32 e 21% utilizando extratos de folhas de alcachofra, folhas de oliveira e folhas de chá verde, respectivamente. Yin et al. (2015) demonstraram o alto potencial de inibição dos polifenóis do chá verde no sistema QS regulador da patogenicidade de *Pseudomonas aeruginosa*, incluindo uma inibição >80% na formação de biofilme.

Além dos extratos provenientes de fontes vegetais, as nanopartículas (NPs) de óxido de zinco (ZnO) classificadas como substâncias seguras (GRAS) pela Food and Drug Administration – FDA (KANMANI; RHIM, 2014; SHANKAR et al., 2015), também vem recebendo atenção devido à sua atividade antimicrobiana contra uma variedade de microrganismos (KANMANI; RHIM, 2014). Dentre estes pode-se citar *Salmonella* e *Campylobacter* (DUFFY et al., 2018); *Staphylococcus aureus* (AKBAR; ANAL, 2014); *L. monocytogenes* e *E. coli* (SHANKAR et al., 2015); *Bacillus subtilis* e *Enterobacter aerogenes* (ESMAILZADEH et al., 2016). As NPs de ZnO tem como principais mecanismos de ação: danos irreparáveis às membranas, DNA e mitocôndrias provocados pelo estresse oxidativo; mudanças na morfologia da célula; aumento da permeabilidade da membrana; alterações na parede celular, entre outros (HAJIPOUR et al., 2012; DUFFY et al., 2018).

Diante do exposto, verificou-se a necessidade de um estudo aprofundado quanto à ação dos extratos provenientes de resíduos agroindustriais de frutas, visto que estes vêm

sendo bastante explorados pelo Grupo de Pesquisa em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), e que nos últimos anos vem realizando pesquisas, especialmente com resíduos agroindustriais como no trabalho de Machado (2015), aplicando os extratos obtidos em filmes para embalagens alimentícias ou como microencapsulados. Além dos extratos e suas propriedades antioxidantes e mais recentemente antimicrobianas, as nanopartículas de óxido de zinco também vêm sendo estudadas pelo grupo com especial interesse em sua atividade contra um amplo espectro de microrganismos quando aplicado em filmes ativos. O emprego dessas substâncias de simples obtenção com baixo custo traz também a possibilidade de aplicação na agricultura e na agroindústria. Assim, esse trabalho inicialmente realizou o delineamento do perfil fenólico por HPLC do extrato de resíduo de seriguela. Então, o extrato e as nanopartículas de ZnO foram avaliados quanto à sua atividade inibitória sobre os sistemas TTSS (pT3) e QS da bactéria fitopatogênica Gram-negativa *Pseudomonas savastanoi*, e à sua ação antibacteriana (contra espécies de *Curtobacterium*, *Clavibacter*, *E. coli*, *Xanthomonas*, *Serratia*) - pelo método do halo de inibição - e antifúngica - pela redução no tamanho da colônia (contra *Botrytis cinerea*), em parceria com a Universidade de Florença na Itália.



## 2. MATERIAL E MÉTODO

Esse trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos, do Departamento de Ciências Domésticas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) em parceria com o Laboratório de Patologia Vegetal Molecular, pertencente ao Departamento de Ciência da Produção Agroalimentar e Ambiental da Universidade de Florença (Itália) e o Laboratório de Dispositivos e Nanoestruturas da Universidade Federal de Pernambuco (obtenção do nanoZnO – CTG/UFPE).

### 2.1 OBTENÇÃO E PREPARO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

O resíduo de seriguela (cascas, resíduos de polpa e pedaços das sementes) foi cedido pela indústria produtora de polpa de fruta congelada Fruta Pluss®, localizada na cidade de Recife/PE. O resíduo de seriguela foi coletado no próprio local de processamento e, imediatamente transportado em caixas de isopor para o Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos, onde foram mantidas sob congelamento (-18°C) até sua utilização. O resíduo foi submetido à secagem a 50°C, em estufa com circulação de ar (MA035/5 – MARCONI), até atingir uma umidade igual ou inferior 10%, e depois triturado em moinho multiuso TE 631/2 - TECNAL. A farinha obtida passou por peneiramento (100 Mesh) a fim de uniformizar os tamanhos de partículas, e mantida sob congelamento a -18°C em sacos de polietileno de alta densidade, cobertos com folhas de alumínio a fim de proteger da luz os compostos ativos.

Com relação às nanopartículas de óxido de zinco (nanoZnO), estas foram sintetizadas no Laboratório de Dispositivos e Nanoestruturas (LDN/CTG/UFPE) conforme metodologia descrita por Santos & Santos (2012).

### 2.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO FENÓLICO DE RESÍDUO DE SERIGUELA

Na extração dos compostos fenólicos do resíduo de seriguela utilizou-se o método proposto por Da Silva (2014) e Machado (2015) com modificações, em que 10g da farinha (item 2.1) foram misturadas a 50mL de solução de etanol a 60% e a mistura submetida à agitação (400 rpm) por 30 minutos, em agitador mecânico digital (TE – 039/1 – Tecnal) à temperatura de 23 ±2°C. Depois, esta foi centrifugada (centrífuga CT-6000 R-CIENTEC) a 4000 rpm, por 15 minutos e o precipitado foi ressuspensionado em 50mL de etanol a 60% e centrifugado novamente. Os sobrenadantes, obtidos das consecutivas centrifugações, foram coletados, e seu volume final aferido para 100mL. Posteriormente o extrato foi armazenado

sob congelamento a  $-18^{\circ}\text{C}$  em recipientes de vidro âmbar, para posterior delineamento do perfil dos compostos fenólicos.

### 2.2.1 Delineamento do perfil fenólico

O extrato hidroetanólico foi submetido ao delineamento do perfil fenólico por cromatografia líquida de alta eficiência. Uma alíquota do extrato ( $20\mu\text{L}$ ) foi injetada no HPLC *Ultimate 3000 Dionex*®, equipado com degasificador, bomba quaternária, amostrador automático, forno detector de absorção molecular UV/Vis, *software Chromeleon*, com temperatura da coluna a  $35^{\circ}\text{C}$ . A análise cromatográfica foi realizada utilizando coluna *Acclaim*®120 *Dionex* C18, 250 X 4,6mm X  $5\mu\text{m}$  (SHIMPACK CLC-ODS); como fase móvel a mistura ácido fórmico: acetonitrila: água ultra pura (0,5:12,5:87 v/v – solvente A) e a mistura ácido fórmico: acetonitrila: água ultra pura, (10:50:40 v/v – solvente B), em gradiente de concentração obtido variando a proporção do solvente B no solvente A, como segue: 0 – 10 min, 100 a 90% A; 10 a 30min, 90 a 60% A; 30 a 40 min, 60 a 40% A; 55min, 40% A, com taxa de fluxo de  $0,6\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  a 220nm, 280nm, 306nm e 368nm. Os compostos fenólicos foram identificados com base no seu tempo de retenção e propriedade espectral, e quantificados por curva padrão de cada composto (TOLUN; ALTINTAS; ARTIK, 2016). A faixa de linearidade das curvas de calibração foi a seguinte: ácido gálico ( $14,63 - 293,30\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), ácido vanílico ( $1,72 - 42,90\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), ácido siríngico ( $2,68 - 46,80\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), ácido p-cumárico ( $1,92 - 49,76\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), ácido caféico ( $1,07 - 56,80\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), ácido ferúlico ( $1,18 - 51,80\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), ácido elágico ( $1,73 - 17,28\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), rutina ( $2,56 - 32,24\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), Resveratrol (*trans-*) ( $1,29 - 32,88\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), miricetina ( $1,12 - 41,20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), quercetina ( $1,96 - 38,40\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), e caempferol ( $0,81 - 16,20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

### 2.3 ATIVIDADE INIBITÓRIA DO EXTRATO E NANOZnO SOBRE OS SISTEMAS TTSS E QS DA BACTÉRIA FITOPATOGÊNICA GRAM-NEGATIVA *Pseudomonas savastanoi*

A atividade relacionada aos sistemas TTSS (ou T3) e QS da bactéria *Pseudomonas savastanoi* (pertencente à coleção do Laboratório de Patologia Vegetal Molecular da Universidade de Florença) foi determinada com base no rastreamento transcricional (codificação genética) para a proteína verde fluorescente (green fluorescent protein – GFP), realizando-se medição simultânea da intensidade da GFP (fluorescência) e também

do crescimento bacteriano ou atividade antibiótica (absorbância a 600nm). O método proposto por Biancalani et al. (2016) serviu de base para esse ensaio, sendo realizadas algumas modificações. As células bacterianas carregando os promotores T3 e QS foram cultivadas durante toda noite em meio de cultura KB (King's B medium) a 26 °C, sendo o sedimento final lavado duas vezes em solução fisiológica estéril e inoculado em meio de cultura para *Pseudomonas* (minimal medium – MM) com concentração final da bactéria em OD600 (densidade óptica em 600nm) = 0,3; e posterior adição do extrato e do nanoZnO em diferentes concentrações. No caso do extrato, foram testados teores de 10, 20, 40 e 60% para análise com medição no tempo zero e após 24 horas. Quanto ao nanoZnO, foram testadas concentrações de 1, 2 e 3 % (amostras diluídas em água estéril). A bactéria contendo o vetor vazio (sem os promotores T3 e QS) foi usada como controle negativo. Os ensaios foram executados em placas de múltiplos poços (BIOFIL<sup>®</sup>, Guangzhou, China) durante 24 horas sendo a atividade medida quantitativamente de forma simultânea (fluorescência GFP e absorbância 600nm para T3 e QS) em leitor Infinite<sup>®</sup> M200PRO Quad4 Monochromators<sup>™</sup> (TECAN).

#### 2.4 AÇÃO ANTIBACTERIANA DO EXTRATO E NANOZnO

A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de difusão em ágar (técnica de poço), sendo testados o extrato dos resíduos de seriguela e o nanoZnO, conforme método proposto por Arulmozhi et al. (2019) e Dahech et al. (2013) com alterações. O meio de cultura LB (Luria Bertani) adicionado de ágar foi previamente preparado e distribuído em placas de Petri estéreis descartáveis, e após solidificado 100 µL da cultura bacteriana (com concentração de 0,5 OD – Escala McFarland) foi espalhada sobre o ágar utilizando alça de Drigalski descartável. Em seguida, poços de 7 mm de diâmetro foram produzidos perfurando o meio de cultura, e 50 µL do extrato (para cada concentração teste de 100% – puro, 10 e 5%) ou de nanoZnO disperso em água estéril (em concentrações de 1, 2 e 3%) foram injetados nos poços com auxílio de pipeta automática. As placas foram incubadas a 26 ±1 °C por 24 horas. A ação antibacteriana foi identificada pela presença do halo de inibição no entorno dos poços. A área da zona inteira (halo + poço) subtraída da área do poço forneceu a zona de inibição em mm<sup>2</sup>. As cepas bacterianas testadas foram: *Curtobacterium flaccumfaciens* pv *flaccumfaciens* (“International Collection of Microorganisms from Plants – ICMP” 2584); *Curtobacterium flaccumfaciens* pv *betae* (ICMP 2594); *Curtobacterium flaccumfaciens* pv *oortii* (ICMP 2632) e *Clavibacter*

*michiganensis* pv *michiganensis* (ICMP 2550) obtidas da Coleção Internacional de Microorganismos de Plantas - Auckland, Nova Zelândia; além de *Escherichia coli* linhagem DH5 $\alpha$ ; *Xanthomonas phaseoli*; *Serratia marcescens* obtidas da coleção do Laboratório de Patologia Vegetal Molecular da Universidade de Florença.

## 2.5 AÇÃO ANTIFÚNGICA DO EXTRATO E NANOZnO

A avaliação da atividade antifúngica foi realizada conforme metodologia proposta por El Khaldi et al. (2015), com modificações, para verificar o efeito do extrato e do nanoZnO no desenvolvimento do fungo fitopatogênico *Botrytis cinerea*. Um plug micelial de 7 mm de diâmetro deste fungo (que cresceu de forma ativa e era pertencente à coleção do Laboratório de Patologia Vegetal Molecular) foi colocado a 2 cm de distância de um poço contendo 50  $\mu$ L do extrato (sem diluição) ou nanoZnO (1 e 3% disperso em água estéril) no meio de cultura PDA (Potato Dextrose Agar) previamente preparado e solidificado em uma placa de Petri de 90 mm estéril e descartável. A placa controle consistiu do mesmo esquema, porém sem a presença de extrato ou nanoZnO no poço. Em seguida, as placas foram incubadas a 26°C por até 7 dias, para então avaliar a inibição do crescimento fúngico, medida pela porcentagem de redução no tamanho da colônia (área circular) em presença de nanoZnO e extrato com relação ao controle.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 PERFIL FENÓLICO DO EXTRATO DOS RESÍDUOS DA SERIGUELA

Os compostos identificados a partir da análise do perfil fenólico do extrato obtido do resíduo de seriguela são mostrados na Tabela 1, e a concentração encontrada foi expressa com relação à farinha deste resíduo. O ácido gálico foi o composto predominante quantitativamente, seguido por menores quantidades de ácido p-cumárico, resveratrol (-*trans*), quercetina, ácido siríngico e felúrico. É importante citar os parâmetros do processo de extração utilizados nos estudos relatados nessa discussão visto que fatores como tipo de solvente e metodologia podem afetar a eficiência da extração e, assim, a disponibilidade dessas substâncias (HAAS et al., 2018), podendo acarretar variações nos constituintes presentes e nas suas concentrações, sendo também relevante características como parte da fruta analisada e local de origem desta.

**Tabela 1** - Perfil fenólico obtido a partir da análise cromatográfica do extrato do resíduo de seriguela (matriz).

Compostos	Concentração em mg.100g <sup>-1</sup> de farinha dos resíduos de seriguela *
Ácido gálico	479,93
Ácido vanílico	ND
Ácido siríntrico	5,57
Ácido p-cumárico	50,26
Ácido cafeico	ND
Ácido ferúlico	4,04
Ácido elágico	ND
Rutina	ND
Resveratrol ( <i>trans</i> -)	29,50
Miricetina	ND
Quercetina	19,35
Caempferol	ND

\*Valores reportados para uma injeção da amostra; ND: não detectado.

Apesar das diferenças nos teores de cada composto fenólico identificado, observou-se um perfil fenólico relativamente semelhante ao encontrado na seriguela (fruta fresca) e em sua polpa congelada por Dutra et al. (2017) que detectaram e quantificaram (também por HPLC) os fenólicos livres (extratos acetônicos metanólicos) e os conjugados (extração com éter etílico). Estes autores identificaram a presença, na fruta e na polpa, de todos os compostos mostrados na Tabela 1, com exceção do ácido cafeico, resverastrol e do caempferol. Ainda que o composto predominante na fruta e polpa de fruta de seriguela tenha sido o ácido gentísico, não identificado nos resíduos de seriguela deste trabalho, deve-se levar em consideração os padrões utilizados para análise cromatográfica dos resíduos. Ainda sobre o estudo de Dutra et al. (2017), também foram encontradas semelhanças qualitativas no perfil fenólico do umbu-cajá (fruta e polpa), também pertencente ao gênero *Spondias*.

Ademais, Engels et al. (2012) relataram previamente a presença de compostos fenólicos como ácido gálico, quercetina, rutina e caempferol em cascas de seriguela

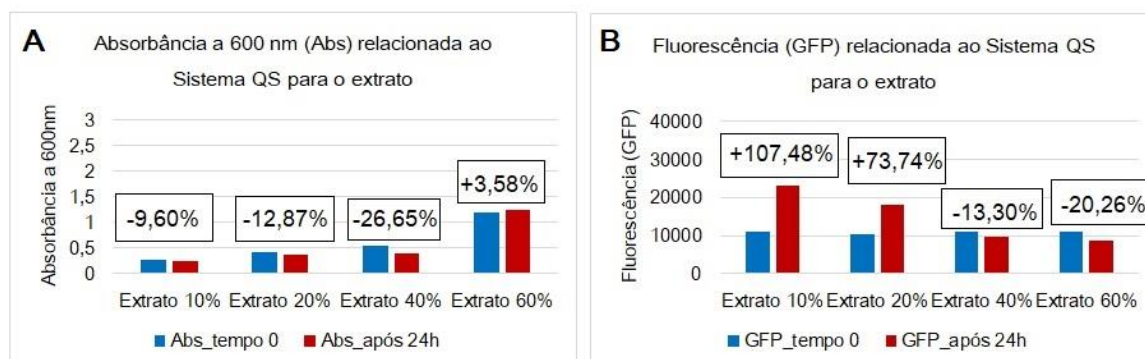
(extração via solução de acetona e ácido fórmico) por meio de cromatografia líquida de ultra-alta eficiência, sendo os dois primeiros também identificados no presente estudo (Tabela 1).

Silva et al. (2016) estudaram os compostos presentes na casca de seriguela (extração com metanol) por meio da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à análise por espectrometria de massas por ionização por eletropulverização (HPLC-ESI-MS<sup>n</sup>) e identificaram os flavonóis quercetina e rutina, previamente detectados por Engels et al. (2012) em cascas de *S. purpúrea L.*, mas também constituintes diferentes como o ácido cafeico. Este último não foi identificado nos resíduos de seriguela analisados no presente estudo. Por fim, vale salientar que alguns constituintes encontrados nos resíduos de seriguela como ácido gálico, ácido p-cumárico e quercetina também já foram identificados na polpa de cajá ou taperebá (*Spondias mombin L.*) como mostrado no estudo de Bataglioni et al. (2015) cuja extração realizou-se via metanol, com maior predominância para o ácido gálico segundo os resultados destes autores, o que demonstra certa afinidade com o perfil do resíduo de seriguela (Tabela 1).

### 3.2 ATIVIDADE INIBITÓRIA DO EXTRATO E NANOZnO SOBRE OS SISTEMAS TTSS E QS DA BACTÉRIA FITOPATOGÊNICA GRAM-NEGATIVA *Pseudomonas savastanoi*

As bactérias patogênicas possuem sistemas de patogenicidade e virulência dentre os quais se destacam o Sistema de Secreção Tipo Três (TTSS ou T3) que se refere ao transporte de proteínas para célula do hospedeiro capazes de produzir infecções e doenças bacterianas (WANG et al., 2016), e o Quorum Sensing (QS) que é basicamente a comunicação entre as células bacterianas (ZHANG et al., 2018). Diante disso, a atuação sobre esses sistemas torna-se uma nova estratégia para reduzir a patogenicidade ou virulência bacteriana evitando pragas na agricultura ou doenças transmitidas por alimentos contaminados, por exemplo. Assim, verificou-se a ação do extrato e do nanoZnO sobre esses dois sistemas baseados na fluorescência da proteína GFP, assim como a ação antibiótica em cada um deles baseada na medida da absorbância (600 nm) que se relaciona com o crescimento bacteriano. Os resultados obtidos para atividade inibitória do extrato podem ser verificados nas Figuras 1 e 2, para os sistemas QS e TTSS respectivamente.

**Fig. 1.** Atividades antibiótica (absorbância a 600nm) (A) e antivirulenta (fluorescência – GFP) (B) do extrato de resíduo de seriguela relacionadas ao sistema QS da bactéria *Pseudomonas savastanoi*

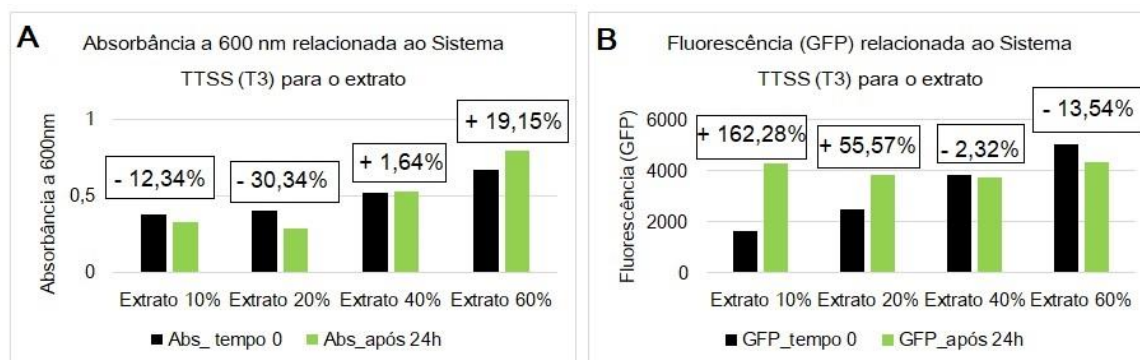


Fonte: Autora, 2019.

Observando a Figura 1A, verificou-se que apesar da redução no número de bactérias (efeito antibiótico) para o sistema QS, o extrato a 10 e 20% não foi capaz de reduzir a virulência relacionada ao Quorum Sensing assim como houve um aumento relevante na fluorescência da proteína GFP (Figura 1B). Isso indicou que a presença do extrato nessas concentrações leva ao aumento na comunicação entre as células bacterianas e a uma melhor adaptação da sua expressão genética a mudanças bióticas e abióticas que possam vir a ocorrer no ambiente. Quanto ao extrato a 40% houve uma redução maior do crescimento bacteriano (mais que o dobro) se comparado às concentrações 10 e 20% (Figura 1A), além de uma redução no sistema de virulência QS de 13,30% (Figura 1B). Comparando-se ao extrato a 60%, a redução relacionada ao Quorum Sensing foi ainda maior (20,26%) – Figura 1B, apesar do pequeno aumento no crescimento bacteriano – Figura 1A. Assim, apesar de ter aumentado o número de bactérias, o extrato a 60% foi o mais efetivo em evitar a atividade do sistema de virulência e patogenicidade referente ao QS. Enquanto isso, os extratos nas duas menores concentrações limitaram o crescimento no número de bactérias, mas as bactérias restantes foram capazes de se adaptar e aumentar sua virulência e patogenicidade nesse sistema. Outros autores também encontraram porcentagens de inibição desse sistema em torno de 20% para compostos provenientes de fontes vegetais. Zhang et al. (2018), estudando a ação da cumarina sobre o sistema QS de *Pseudomonas aeruginosa*, encontraram um efeito inibitório variando de 20 a 40% dependendo da concentração testada. Biancalani et al. (2016) identificou inibição de 21% para QS (*Pseudomonas savastanoi*) utilizando extrato de folhas de chá verde (catequinas).

Na Figura 2, relacionada ao sistema TTSS (T3), é possível identificar novamente que o extrato nas concentrações 10 e 20%, apesar de ser capaz de reduzir o crescimento bacteriano – Figura 2A - (de forma mais expressiva para o extrato a 20%), não é eficiente no combate à patogenicidade e virulência relacionada ao transporte de proteínas que podem causar infecções e doenças, visto que houve um aumento de 162,28 e 55,57%, respectivamente, na fluorescência da proteína GFP (Figura 2B). Na concentração a 40%, ocorreu um pequeno aumento no número de bactérias, assim como uma redução inexpressiva (2,32%) no sistema T3 (Figura 2 A e B, respectivamente). O extrato a 60% propiciou um aumento importante no número de bactérias (Figura 2A), mas apesar disso novamente reduziu o efeito virulento e patogênico em um percentual maior (13,54%) que o extrato a 40% (2,32%) (Figura 2B). Biancalani et al. (2016) identificaram percentuais de inibição no sistema T3 da bactéria *Pseudomonas savastanoi* maiores que os mencionados, 48 e 54% analisando o extrato de semente de uva e de folhas de chá verde (100 $\mu$ M) respectivamente.

**Fig. 2.** Atividades antibiótica (absorbância a 600nm) (A) e antivirulenta (fluorescência – GFP) (B) do extrato de resíduo de seriguela relacionadas ao sistema TTSS (T3) da bactéria *Pseudomonas savastanoi*



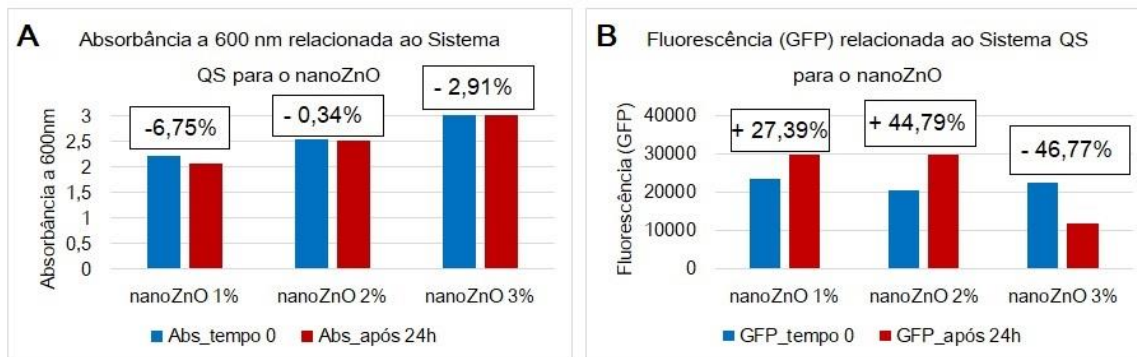
Fonte: Autora, 2019.

Os resultados relacionados à atividade inibitória do nanoZnO podem ser verificados nas Figura 3 e 4 para ambos os sistemas. Com relação ao sistema de comunicação bacteriana QS, todas as concentrações foram capazes de reduzir o crescimento bacteriano relacionado a esse sistema, mas a concentração de 1% foi a que obteve maior efeito antibiótico (Figura 3A). Contudo, o nanoZnO a 1 e 2% não foram capazes de reduzir a patogenicidade ou virulência por meio desse sistema (Figura 3B), pelo contrário, houve um aumento relevante na ação das bactérias pelo sistema Quorum Sensing. Quanto ao nanoZnO a 3%, este obteve grande destaque ao reduzir em quase 50% a ativação dessa



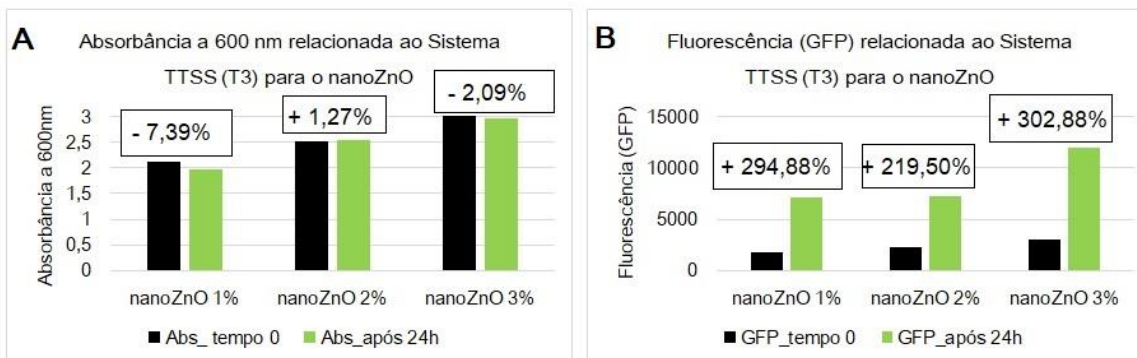
proteína promotora do sistema QS, o que demonstrou que apesar da baixa inibição do crescimento bacteriano, essa nanopartícula na concentração citada foi capaz de inibir pela metade a patogenicidade e virulência bacteriana relacionada ao QS (Figura 3B).

**Fig. 3.** Atividades antibiótica (absorbância a 600nm) (A) e antivirulenta (fluorescência – GFP) (B) do nanoZnO relacionadas ao sistema QS da bactéria *Pseudomonas savastanoi*



Fonte: Autora, 2019.

**Fig. 4.** Atividades antibiótica (absorbância a 600nm) (A) e antivirulenta (fluorescência – GFP) (B) do nanoZnO relacionadas ao sistema TTSS (T3) da bactéria *Pseudomonas savastanoi*



Fonte: Autora, 2019.

Analisando os resultados referentes ao sistema de secreção tipo III para o nanoZnO (Figura 4), observou-se que houve leve ação antibiótica relacionada as concentrações 1 e 3%, sendo a de 1% de maior intensidade, enquanto que para 2% ocorreu um incremento (Figura 4A). Tendo em vista a ação inibitória ao sistema TTSS (T3) apresentada na Figura 4B, identificou-se que a presença do nanoZnO em todas as concentrações testadas levou a um aumento bastante significativo (acima de 200%) na fluorescência da proteína GFP, indicando que a presença da nanopartícula fez com que a atividade relacionada ao transporte de material que causa patogenicidade e virulência ao hospedeiro foi estimulada. Por fim, o nanoZnO a 3% obteve resultados mais significativos, visto que conseguiu inibir 50% da atividade bacteriana relacionada ao

sistema QS, porém levou a um aumento de mais de 300% na atividade relacionada ao sistema TTSS (T3).

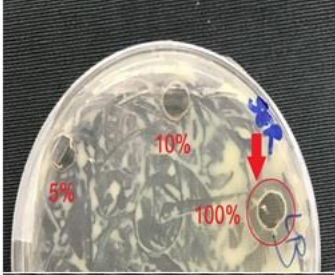
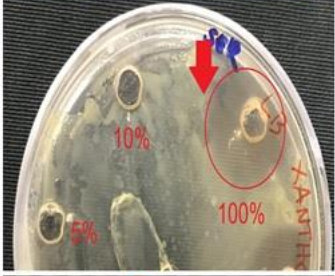
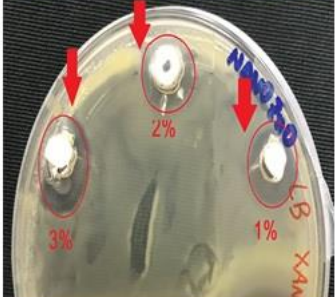
### 3.3 AÇÃO ANTIBACTERIANA DO EXTRATO E NANOZnO

A investigação da ação antibacteriana dos extratos naturais provenientes de fontes vegetais vem sendo intensificada nos últimos anos (STEINER et al., 2017) e muitos polifenóis mostraram atividade contra um vasto espectro de microrganismos (PINA-PÉREZ; PÉREZ, 2018). Além dos extratos, as nanopartículas de ZnO também demonstraram potencial uso como agente antimicrobiano (KANMANI; RHIM, 2014; DUFFY et al., 2018). A atividade antibacteriana do extrato de resíduo de seriguela e das nanopartículas de ZnO foi avaliada contra espécies de *Curtobacterium*, *Clavibacter*, *E. coli*, *Xanthomonas* e *Serratia*.

Os resultados demonstraram que tanto o extrato de resíduo de seriguela quanto o nanoZnO não apresentaram ação antimicrobiana (ausência do halo de inibição) frente as cepas de: *Curtobacterium flaccumfaciens* pv *flaccumfaciens* – bactéria Gram-positiva, fitopatógeno responsável pela murchidão bacteriana e por grandes perdas de produção na cultura do feijão em todo mundo (OSDAGHI et al., 2015; HUANG; ERICKSON; HSIEH, 2007); *Curtobacterium flaccumfaciens* pv *betae*; *Curtobacterium flaccumfaciens* pv *oortii* – Gram-positivas, também consideradas bactérias patogênicas para plantas, especificamente para a beterraba (CHEN et al., 2007); *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  - bactérias Gram-negativas que não apresentaram mecanismos patogênicos conhecidos segundo Chart et al. (2000) e são muito utilizadas para clonagem laboratorial (KOSTYLEV et al., 2015); *Serratia marcescens* - bactéria Gram-negativa pertencente à família Enterobacteriaceae e presente em solos e plantas (QUEIROZ et al., 2018).

Entretanto, o extrato apresentou atividade antimicrobiana contra as cepas de *Clavibacter michiganensis* pv *michiganensis* e *Xanthomonas phaseoli*, tendo também o nanoZnO efetividade de ação contra esta última. Os resultados positivos encontrados para a atividade antibacteriana do extrato e do nanoZnO, caracterizada pela formação do halo de inibição, podem ser observados na Figura 5.

**Fig. 5.** Ação antibacteriana do extrato e do nanoZnO caracterizada pela formação do halo de inibição.

	Imagens ação antimicrobiana	Amostra & concentração/área ou zona total de inibição
<i>Clavibacter michiganensis</i> pv <i>michiganensis</i>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extrato puro sem diluição (100%)</li> <li>• Área de inibição: 94,25 mm<sup>2</sup></li> </ul>
<i>Xanthomonas phaseoli</i>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extrato puro sem diluição (100%)</li> <li>• Área de inibição: 452,39 mm<sup>2</sup></li> </ul>
<i>Xanthomonas phaseoli</i>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• NanoZnO a 1% / Área de inibição: 138,23 mm<sup>2</sup></li> <li>• NanoZnO a 2% / Área de inibição: 138,23 mm<sup>2</sup></li> <li>• NanoZnO a 3% / Área de inibição: 275,67 mm<sup>2</sup></li> </ul>

Fonte: Autora, 2019.

Na Figura 5 é possível notar que o extrato puro (sem diluição) apresentou ação antimicrobiana contra a cepa de *Clavibacter michiganensis* pv *michiganensis*, contudo a ação desse extrato contra *Xanthomonas phaseoli* foi mais efetiva, visto que a área de inibição dessa última foi maior que quatro vezes a zona da primeira citada. A bactéria Gram-positiva *Clavibacter michiganensis* pv *michiganensis* é a responsável pela doença bacteriana chamada câncer bacteriano do tomateiro que causa perdas econômicas relevantes em muitos países (HIERY et al., 2013; LEÓN et al., 2008). Já a Gram-negativa *Xanthomonas phaseoli* é também um fitopatógeno que pode atacar especialmente as vagens de feijão lima (SHARMA; GAUTAM; WADHAWAN, 2014). Diante desses resultados notou-se que o extrato tem potencial de ação tanto contra bactérias fitopatogênicas Gram-positivas quanto Gram-negativas, com maior eficiência contra as Gram-negativas. Este foi um resultado importante visto que as Gram-negativas possuem

uma estrutura complexa de membrana celular (camada externa de lipopolissacarídeo) que pode dificultar a ação de compostos ativos presentes no extrato (DU et al., 2011), contudo, nesse estudo verificou-se que estes compostos foram capazes de penetrar essa barreira e impedir o crescimento dessas bactérias. Outros extratos vegetais também já mostraram efetiva atividade antibacteriana contra Gram-positivas e negativas, como por exemplo, o extrato da planta *Hypericum perforatum* no estudo de Del Monte et al. (2015) demonstraram ação contra *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Ou, na pesquisa de Alkan & Yemenicioglu (2016), em que compostos ativos extraídos de fontes naturais de plantas (orégano, cravo, alcachofra, nozes) foram capazes de agir em um diversificado espectro de bactérias fitopatogênicas, como por exemplo, *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora*, *Xanthomonas vesicatoria* e *Pseudomonas syringae*.

Na Figura 5 também é possível identificar que o nanoZnO, em todas as concentrações testadas (1, 2 e 3%), apresentou atividade antimicrobiana contra a bactéria *Xanthomonas phaseoli*, o que indica que apesar da estrutura complexa da membrana desses microrganismos, ele foi capaz possivelmente de penetrar e causar os danos necessários para evitar o crescimento dessa bactéria. A área de inibição nas concentrações 1 e 2% de nanoZnO foi a mesma, o que indicou que ambas provocaram a mesma efetividade na ação, enquanto o aumento da concentração para 3% praticamente dobrou a zona inibitória mostrando maior intensidade antimicrobiana do nanoZnO quando utilizado nessa condição.

O uso de nanopartículas no controle de doenças em plantas vem ganhando destaque à medida que as novas tecnologias permitiram uma produção mais econômica para aplicações agrícolas, e apesar de ser um campo recente, algumas pesquisas já demonstram o potencial uso de nanopartículas de prata e óxido de zinco contra fitopatógenos, especificamente fungos (NAYANTARA; KAUR, 2018). Contudo, para outros tipos de patógenos, a ação antimicrobiana do nanoZnO já foi comprovada contra um vasto grupo de microrganismos: *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogenese* e cepas de *Campylobacter* (AKBAR; ANAL, 2014; SHANKAR et al., 2015; ESMAILZADEH et al., 2016; DUFFY et al., 2018).

Apesar de não ter ocorrido ação antibacteriana contra *Serratia marcescens*, este pode ser considerado um resultado positivo do ponto de vista agrícola visto que, segundo Wang et al. (2018), essa bactéria geralmente já presente nos solos vem sendo utilizada com grandes perspectivas na biorremediação de solos contaminados com fungicidas e pesticidas, sendo ela capaz de degradar ou converter (em substâncias não tóxicas) muitas categorias desses produtos. Além disso, já foi demonstrado a importância e o grande potencial dessas bactérias na remoção de metais pesados do meio ambiente e do solo, com destaque para as cepas que produzem pigmento vermelho (como as utilizadas neste estudo), e que também possuem propriedades antibacterianas, antifúngicas e antiprotozoárias contra organismos que causem patogenicidade ao solo e as plantações (QUEIROZ et al., 2018). Essas bactérias são consideradas também endofíticas (já presentes em plantas) que podem contribuir para o desenvolvimento da planta, disponibilização de nutrientes, produção de fitohormônios e fixação do nitrogênio, além de indiretamente evitar a proliferação de microrganismos fitopatogênicos, sendo assim um controle biológico (DEVI; PANDEY; SHARMA, 2016), e agir como bioherbicidas (YANG et al., 2015).

### 3.4 AÇÃO ANTIFÚNGICA DO EXTRATO E NANOZnO

A atividade antifúngica do extrato e do nanoZnO na presente pesquisa foi analisada com relação ao fitopatógeno fúngico *Botrytis cinerea*. *Botrytis cinerea* é o fungo causador do mofo cinzento em mais de duzentas espécies vegetais ao redor do mundo, o que gera muitas perdas na produção de frutas e hortaliças (MA et al., 2019). Analisando o extrato obtido a partir do resíduo de seriguela e as nanopartículas de ZnO, verificou-se que ambos apresentaram ação antifúngica contra o microrganismo citado.

As nanopartículas de ZnO nas concentrações de 1 e 3% obtiveram a mesma intensidade de ação apresentando então o mesmo percentual de redução de 33,08% em relação à colônia controle. Este valor foi quase o dobro do percentual de redução apresentado pelo extrato dos resíduos de seriguela (puro, sem diluição) que foi de 17,38%, o que indica que o nanoZnO mostrou uma ação antifúngica mais efetiva contra *Botrytis cinerea*. Nayantara & Kaur (2018) citam que as nanopartículas de óxido de zinco foram estudadas como fungicidas eficazes para fitopatógenos, especialmente os fungos patogênicos de pós-colheita *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum* como documentado por He et al. (2011), que encontraram percentuais de inibição de 63 a 80% para *Botrytis*

*cinerea*, valor bastante superior ao encontrado no presente estudo (33,08%). Esta diferença possivelmente pode estar relacionada à metodologia aplicada nos dois estudos, visto que, apesar de aqui terem sido utilizadas concentrações superiores (1% ou 0,12 mol.L<sup>-1</sup> e 3% ou 0,37 mol.L<sup>-1</sup>) às aplicadas por He et al. (2011) – 0,02% (0,003 mol.L<sup>-1</sup>) até 0,1% (0,012 mol.L<sup>-1</sup>), a solução de nanoZnO disperso em água (do presente estudo) possivelmente não se difundiu bem no meio de cultura para que pudesse agir com mais eficiência na redução do tamanho da colônia fúngica (o que corrobora com o que foi observado durante os ensaios, em que durante a incubação a solução secou e o nanoZnO permaneceu sólido aprisionado dentro do poço). Já no trabalho de He et al. (2011) as nanopartículas foram dispersas diretamente no meio de cultura líquido, dessa forma obtendo maior distribuição ao longo de toda placa após a solidificação do meio, e então um disco ou plug do fungo foi posicionado no centro da placa.

Nayantara & Kaur (2018) relatam que o mecanismo de ação das nanopartículas está possivelmente ligado a danos na parede celular e ao colapso de hifas fúngicas. No estudo de Dimkpa et al. (2013), os autores também comprovaram a ação antifúngica do nanoZnO, dessa vez contra o fungo fitopatogênico *Fusarium graminearum*, com significativa inibição desse microrganismo na presença das nanopartículas.

#### 4. CONCLUSÃO

- Tanto o extrato quanto o nanoZnO mostraram, embora em extensões diferentes, inibição contra os promotores dos sistemas de patogenicidade e virulência bacterianos estudados. O extrato do resíduo de seriguela foi capaz de inibir parcialmente a atividade de ambos os sistemas (TTSS e QS) da bactéria fitopatogênica Gram-negativa *Pseudomonas savastanoi*, enquanto o nanoZnO obteve maior efetividade em reduzir a ativação do promotor para o sistema QS.
- Quanto à atividade antibacteriana, o extrato apresentou um espectro de ação contra bactérias fitopatogênicas tanto Gram-negativas quanto Gram-positivas, enquanto o nanoZnO contra o desenvolvimento das Gram-negativas.
- Com relação à ação antifúngica, ambos os compostos foram capazes de inibir o crescimento de fungo fitopatogênico, sendo as nanopartículas mais efetivas.

- Possivelmente as ações antibacterianas e antifúngicas do extrato fenólico de resíduo de seriguela foram promovidas devido a presença do ácido gálico, p-cumárico, resveratrol e quercetina.
- Diante do exposto é possível inferir que tanto o extrato obtido a partir dos resíduos de seriguela quanto o nanoZnO demonstraram ter grande potencial de aplicação na agroindústria a fim de evitar perdas econômicas decorrentes de doenças provocadas por bactérias e fungos, ou como agentes ativos em filmes e revestimentos para conservação de alimentos por exemplo, tanto pela conhecida ação antioxidante do extrato quanto pela antimicrobiana de ambos, que em conjunto (efeitos aditivos e sinérgicos) podem vir a melhorar a propriedade ativa desses materiais.

## REFERÊNCIAS

- AKBAR, A.; ANAL, A. K. Zinc oxide nanoparticles loaded active packaging, a challenge study against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat poultry meat. **Food Control**. v. 38, p. 88 – 95, 2014.
- ALKAN, D.; YEMENICIOGLU, A. Potential application of natural phenolic antimicrobials and edible film technology against bacterial plant pathogens. **Food Hydrocolloids**. v. 55, p. 1 – 10, 2016.
- ARULMOZHI, P.; VIJAYAKUMAR, S.; PRASEETHA, P. K.; JAYANTHI, S. Extraction methods and computational approaches for evaluation of antimicrobial compounds from *Capparis zeylanica* L. **Analytical Biochemistry**. v. 572, p. 33 – 44, 2019.
- BATAGLION, G. A.; SILVA, F. M. A.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. H. F. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC–MS/MS. **Food Chemistry**. v. 180, p. 280 – 287, 2015.
- BIANCALANI, C.; CERBONESCHI, M.; TADINI-BUONINSEGNI, F.; CAMPO, M.; SCARDIGLI, A.; ROMANI, A.; TEGLI, S. Global Analysis of Type Three Secretion System and Quorum Sensing Inhibition of *Pseudomonas savastanoi* by Polyphenols Extracts from Vegetable Residues. **PLoS ONE**. 11 (9) e0163357. doi:10.1371/journal.pone.0163357, 2016.
- CHART, H.; SMITH, H. R.; LA RAGIONE, R. M.; WOODWARD, M. J. An investigation into the pathogenic properties of *Escherichia coli* strains BLR, BL21, DH5 $\alpha$  and EQ1. **Journal of Applied Microbiology**. v. 89, p. 1048 – 1058, 2000.
- CHEN, Y-F.; YIN, Y-N.; ZHANG, X-M.; GUO, J-H. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *beticola*, A New Pathovar of Pathogens in Sugar Beet. **Plant Disease**. v. 91, p. 677 – 684, 2007.
- DA SILVA, Rita Cristina de Oliveira. **Resíduo agroindustrial de ciriguela: fitoquímicos bioativos e potencial antioxidante**. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos. Recife, PE: Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 2014. 101p.
- DAHECH, I.; FARAH, W.; TRIGUI, M.; HSSOUNA, A. B.; BELGHITH, H.; BELGHITH, K. S.; ABDALLAH, F. B. Antioxidant and antimicrobial activities of *Lycium shawii* fruits extract. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 60, p. 328 – 333, 2013.
- DANNENBERG, G. S.; FUNCK, G. D.; SILVA, W. P.; FIORENTINI, A. M. Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. **Food Control**. v. 95, p. 115 – 120, 2019.



DEL MONTE, D.; DE MARTINO, L.; MARANDINO, A.; FRATIANNI, F.; NAZZARO, F.; DE FEO, V. Phenolic content, antimicrobial and antioxidant activities of *Hypericum perforatum* L. **Industrial Crops and Products**. v. 74, p. 342 – 347, 2015.

DEVI, K. A.; PANDEY, P.; SHARMA, G. D. Plant Growth-Promoting Endophyte *Serratia marcescens* AL2-16 Enhances the Growth of *Achyranthes aspera* L., a Medicinal Plant. **HAYATI Journal of Biosciences**. v. 23, p. 173 – 180, 2016.

DIMKPA, C. O.; McLEAN, J. E.; BRITT, D. W.; ANDERSON, A. J. Antifungal activity of ZnO nanoparticles and their interactive effect with a biocontrol bacterium on growth antagonism of the plant pathogen *Fusarium graminearum*. **Biometals (Biology of Metals)**. v. 26, p. 913 – 924, DOI: 10.1007/s10534-013-9667-6, 2013.

DU, W. X.; OLSEN, C. W.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; FRIEDMAN, M.; McHUGH, T. H. Physical and Antibacterial Properties of Edible Films Formulated with Apple Skin Polyphenols. **Journal of Food Science**. v. 76, n. 2, p. 149 – 155, 2011.

DUFFY, L. L.; OSMOND-MCLEOD, M. J.; JUDY, J.; KING, T. Investigation into the antibacterial activity of silver, zinc oxide and copper oxide nanoparticles against poultry-relevant isolates of *Salmonella* and *Campylobacter*. **Food Control**. v. 92, p. 293 – 300, 2018.

DUTRA, R. L. T.; DANTAS, A. M.; MARQUES, D. A.; BATISTA, J. D. F.; MEIRELES, B. R. L. A.; CORDEIRO, A. M. T. M.; MAGNANI, M.; BORGES, G. S. C. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**. v. 100, p. 650 – 657, 2017.

EL KHADI, R.; DAAMI-REMADI, M.; HAMADA, W.; SOMAI, L.; CHERIF, M. The Potential of *Serratia marcescens*: An Indigenous Strain Isolated from Date Palm Compost as Biocontrol Agent of *Rhizoctonia solani* on Potato. **Journal Plant Pathology & Microbiology**. S3: 006. doi:10.4172/2157-7471.S3-006, 2015.

ENGELS, C.; GRÄTER, D.; ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M.; GÄNZLE, M. G.; SCHIEBER, A. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Food Research International**. v. 46, p. 557 – 562, 2012.

ESMAILZADEH, H.; SANGPOUR, P.; SHAHRAZ, F.; HEJAZI, J.; KHAKSAR, R. Effect of nanocomposite packaging containing ZnO on growth of *Bacillus subtilis* and *Enterobacter aerogenes*. **Materials Science and Engineering C**. v. 58, p. 1058 – 1063, 2016.

GUTIÉRREZ-BARRANQUERO, J. A.; REEN, F. J.; MCCARTHY, R. R.; O'GARA, F. Deciphering the role of coumarin as a novel quorum sensing inhibitor suppressing

virulence phenotypes in bacterial pathogens. **Appl Microbiol Biotechnol.** v. 99, p. 3303 – 3316, 2015.

GUTIÉRREZ-PACHECO, M. M.; BERNAL-MERCADO, A. T.; VÁZQUEZ-ARMENTA, F. J.; MARTÍNEZ-TELLEZ, M. A.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; LIZARDI-MENDOZA, J.; MADERA-SANTANA, T. J.; NAZZARO, F.; AYALA-ZAVALA, J. F. Quorum sensing interruption as a tool to control virulence of plant pathogenic bacteria. **Physiological and Molecular Plant Pathology.** v. 106, p. 281 – 291, 2019.

HAAS, I. C. S.; TOALDO, I. M.; BURIN, V. M.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Extraction optimization for polyphenolic profiling and bioactive enrichment of extractives of non-pomace residue from grape processing. **Industrial Crops & Products.** v. 112, p. 593 – 601, 2018.

HAJIPOUR, M. J.; FROMM, K. M.; ASHKARRAN, A. A.; ABERASTURI, D. J.; LARRAMENDI, I. R.; ROJO, T.; SERPOOSHAN, V.; PARAK, W. J.; MAHMOUDI, M. Antibacterial properties of nanoparticles. **Trends in Biotechnology.** v. 30, n. 10, p. 499 – 511, 2012.

HE, L.; LIU, Y.; MUSTAPHA, A.; LIN, M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. **Microbiological Research.** v. 166, p. 207–215, 2011.

HIERY, E.; ADAM, S.; REID, S.; HOFMANN, J.; SONNEWALD, S.; BURKOVSKI, A. Genome-wide transcriptome analysis of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* grown in xylem mimicking medium. **Journal of Biotechnology.** v. 168, p. 348 – 354, 2013.

HUANG, H. C.; ERICKSON, R. S.; HSIEH, T. F. Control of bacterial wilt of bean (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) by seed treatment with *Rhizobium leguminosarum*. **Crop Protection.** v. 26, p. 1055–1061, 2007.

JOSHI, J. R.; BURDMAN, S.; LIPSKY, A.; YARIV, S.; YEDIDIA, I. Plant phenolic acids affect the virulence of *Pectobacterium aroidearum* and *P. carotovorum* ssp. *brasiliense* via quorum sensing regulation. **Molecular Plant Pathology.** v. 17 (4), p. 487 – 500, 2016.

KANMANI, P.; RHIM, J-W. Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers.** v. 106, p. 190 – 199, 2014.

KANNAN, V. R.; BASTAS, K. K.; DEVI, R. S. Scientific and economic impact of plant pathogenic bacteria. In: **Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria**, Chapter: 20, Editors: Velu Rajesh Kannan, Kubilay Kurtulus Bastas, pp.369-392, 2015.

KOSTYLEV, M.; OTWELL, A. E.; RICHARDSON, R. E.; SUZUKI, Y. Cloning Should Be Simple: *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ -Mediated Assembly of Multiple DNA Fragments with Short End Homologies. **PLoS One**. 10(9): e0137466. DOI: 10.1371/journal.pone.0137466, 2015.

LEÓN, L.; SIVERIO, F.; LÓPEZ, M. M.; RODRÍGUEZ, A. Comparative efficiency of chemical compounds for in vitro and in vivo activity against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, the causal agent of tomato bacterial canker. **Crop Protection**. v. 27, p. 1277 – 1283, 2008.

MA, D.; JI, D.; ZHANG, Z.; LI, B.; QIN, G.; XU, Y.; CHEN, T.; TIAN, S. Efficacy of rapamycin in modulating autophagic activity of *Botrytis cinerea* for controlling gray mold. **Postharvest Biology and Technology**. v. 150, p. 158 – 165, 2019.

MACHADO, Sydia Darcila Oliveira. **Desenvolvimento e caracterização de filmes bioativos à base de quitosana aditivados com o extrato do resíduo de acerola**. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia dos alimentos. Recife, PE: Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 2015. 103p.

MARTINS, P. M. M.; MERFA, M. V.; TAKITA, M. A.; SOUZA, A. A. Persistence in phytopathogenic bacteria: Do we know enough?. **Frontiers in Microbiology**. vol. 9:1099, DOI: 10.3389/fmicb.2018.01099, 2018.

NAYANTARA; KAUR, P. Biosynthesis of nanoparticles using eco-friendly factories and their role in plant pathogenicity: a review. **Biotechnology Research and Innovation**. v. 2, p. 63 – 73, 2018.

OMBIRO, G. S.; SAWAI, T.; NOUTOSHI, Y.; NISHINA, Y.; MATSUI, H.; YAMAMOTO, M.; TOYODA, K.; ICHINOSE, Y. Specific growth inhibitors of *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *X. campestris* pv. *campestris*, and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Microbiological Research**. v. 215, p. 29 – 35, 2018.

OSDAGHI, E.; TAGHAVI, S. M.; FAZLIARAB, A.; ELAHIFARD, E.; LAMICHHANE, J. R. Characterization, geographic distribution and host range of *Curtobacterium flaccumfaciens*: An emerging bacterial pathogen in Iran. **Crop Protection**. v.78, p. 185 – 192, 2015.

PINA-PÉREZ, M. C.; PÉREZ, M. A. F. Antimicrobial potential of legume extracts against foodborne pathogens: A review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 72, p. 114 – 124, 2018.

POVEDA, J. M.; LOARCE, L.; ALARCÓN, M.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; ALAÑÓN, M. E. Revalorization of winery by-products as source of natural preservatives obtained by means of green extraction techniques. **Industrial Crops & Products**. v. 112, p. 617 – 625, 2018.

QUEIROZ, P. S.; BARBOZA, N. R.; CORDEIRO, M. M.; LEÃO, V. A.; GUERRA-SÁ, R. Rich growth medium promotes an increased on Mn(II) removal and manganese oxide production by *Serratia marcescens* strains isolates from wastewater. **Biochemical Engineering Journal**. v. 140, p. 148 – 156, 2018.

SANTOS, A. M. P.; SANTOS, E. J. P. Optimization of nanostructured ZnO-particle fabrication route with different alcohols and varying sodium hydroxide concentration. In: **15<sup>th</sup> European Conference on Composite Materials (ECCM15)**. Venice, Italy, 2012.

SAVARY, S.; FICKE, A.; AUBERTOT, J-N. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. **Food Security**. vol. 4 (4), DOI: 10.1007/s12571-012-0200-5, 2012.

SHANKAR, S.; TENG, X.; LI, G.; RHIM, J-W. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films. **Food Hydrocolloids**. v. 45, p. 264 – 271, 2015.

SHARMA, A.; GAUTAM, S.; WADHAWAN, S. Xanthomonas. **Encyclopedia of Food Microbiology**. v. 3, p. 811 – 817, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00359-1>, 2014.

SILVA, R. V.; COSTA, S. C. C.; BRANCO, C. R. C.; BRANCO, A. *In vitro* photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. **Industrial Crops and Products**. v. 83, p. 509 – 514, 2016.

SILVA, V.; IGREJAS, G.; FALCO, V.; SANTOS, T. P.; TORRES, C.; OLIVEIRA, A. M. P.; PEREIRA, J. E.; AMARAL, J. S.; POETA, P. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. **Food Control**. v. 92, p. 516 – 522, 2018.

STEINER, A. D.; VARGAS, A.; FRONZA, N.; BRANDELLI, A.; SANTOS, J. H. Z. Antimicrobial activity of some natural extracts encapsulated within silica matrices. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 160, p. 177 – 183, 2017.

TOLUN, A.; ALTINTAS, Z.; ARTIK, N. Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. **Journal of Biotechnology**. v. 239, p. 23 – 33, 2016.

VAQUERO, M. J. R.; ALBERTO, M. R.; NADRA, M. C. M. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. **Food Control**. v. 18, p. 93 – 101, 2007.

WANG, C.; LIU, X.; WANG, J.; ZHOU, J.; CUI, Z.; ZHANG, L-H. Design and characterization of a polyamine derivative inhibiting the expression of type III secretion system in *Pseudomonas aeruginosa*. **Scientific Reports**. 6:30949 - DOI: 10.1038/srep30949, 2016.

WANG, X.; HOU, X.; LIANG, S.; LU, Z.; HOU, Z.; ZHAO, X.; SUN, F.; ZHANG, H. Biodegradation of fungicide Tebuconazole by *Serratia marcescens* strain B1 and its application in bioremediation of contaminated soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 127, p. 185 – 191, 2018.

YANG, J.; WANG, W.; YANG, P.; TAO, B.; YANG, Z.; ZHANG, L-H.; DONG, J-G. Isolation and identification of *Serratia marcescens* Ha1 and herbicidal activity of Ha1 ‘pesta’ granular formulation. **Journal of Integrative Agriculture**. v. 14, n. 7, p. 1348–1355, 2015.

YIN, H.; DENG, Y.; WANG, H.; LIU, W.; ZHUANG, X.; CHU, W. Tea polyphenols as a antivirulence compound Disrupt Quorum-Sensing Regulated Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa*. **Scientific Reports**. v. 5: 16158, DOI: 10.1038/srep16158, 2015.

ZHANG, Y.; SASS, A.; ACKER, H. V.; WILLE, J.; VERHASSELT, B.; NIEUWERBURGH, F. V.; KAEVER, V.; CRABBÉ, A.; COENYE, T. Coumarin Reduces Virulence and Biofilm Formation in *Pseudomonas aeruginosa* by Affecting Quorum Sensing, Type III Secretion and C-di-GMP Levels. **Frontiers in Microbiology**. vol. 9:1952, DOI: 10.3389/fmicb.2018.01952, 2018.

## **ARTIGO 2**

## **Embalagens ativas para alimentos à base de resíduos de mandioca/extrato do resíduo de seriguela/nanoZnO**

Luana de Souza Cavalcante Carnaval, Amanda Rafaela Carneiro de Mesquita, Cristiana Maria Pedroso Yoshida, Enayde de Almeida Melo, Andreлина Maria Pinheiro Santos

### **RESUMO**

As embalagens plásticas convencionais se tornaram grandes responsáveis pelo acúmulo de resíduos sólidos na natureza. Diante disso, as embalagens biodegradáveis produzidas a partir de resíduos agroindustriais incorporadas com componentes ativos antioxidantes naturais e/ou antimicrobianos vêm ganhando destaque. Assim, esse estudo produziu e caracterizou filmes à base da farinha dos resíduos da mandioca (FRM), incorporados com nanoZnO e extrato dos resíduos da seriguela (EXT) para uso como embalagens ativas para alimentos. Os filmes foram produzidos em três condições: controle (5% FRM e 2% glicerol), A (5% FRM, 10% EXT, 0,5% nanoZnO e 2% glicerol) e B (5% FRM, 20% EXT, 0,5% nanoZnO e 2% glicerol). A caracterização da FRM indicou um teor de amido significativo ( $74,53 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) e do extrato um alto teor de fenólicos ( $1013,7 \mu\text{g EAG} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) e forte capacidade antioxidante ( $88,25 \pm 1,16\%$  de sequestro do DPPH). Os filmes aditivados não tiveram uma boa retenção dos ativos e apresentaram baixo nível de fenólicos ( $<1 \text{ mg EAG} \cdot \text{g}^{-1}$ ), e conseqüentemente fraca ação antioxidante, indicando o potencial uso de *blending* para melhorar essa propriedade. Não houve mudança significativa quanto à solubilidade dos três filmes (permanecendo  $>80\%$ ). Contudo, o valor extremamente baixo da permeabilidade para todas as condições indicou uma barreira eficiente ao vapor de água ( $0,0004$  a  $0,004 \text{ g} \cdot \text{mm} / \text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{kPa}$ ). Quanto ao intumescimento, os filmes aditivados obtiveram maior % de inchaço que o controle, e em relação as propriedades ópticas estes se tornaram mais escuros e opacos, de cor amarelo-avermelhada. A espessura dos filmes variou de  $0,290 \pm 0,007$  a  $0,316 \pm 0,003 \text{ mm}$ , e o uso dos aditivos proporcionou significativa redução da transmissão de luz na região visível, e na região UV baixas porcentagens foram notadas em todas as condições. O uso do nanoZnO e do EXT também melhorou a uniformidade e dispersão das partículas nos filmes. Houve inibição parcial no crescimento de *S. aureus* (maior efetividade) e *E. coli* nos filmes aditivados e no controle. Por fim, ambos (extrato e nanoZnO) demonstraram viabilidade para aplicação em embalagens ativas.

**Palavras-chave:** resíduo de mandioca, antioxidantes naturais, ação antimicrobiana, nanoZnO, embalagem ativa.

## Active food packaging based on cassava residues/seriguela residue extract/nanoZnO

Luana de Souza Cavalcante Carnaval, Amanda Rafaela Carneiro de Mesquita, Cristiana Maria Pedroso Yoshida, Enayde de Almeida Melo, Andreлина Maria Pinheiro Santos

### ABSTRACT

Conventional plastic packaging has become largely responsible for the accumulation of solid waste in nature. In view of this, biodegradable packages produced from agroindustrial residues incorporated with active components as natural antioxidants and/or antimicrobial components have been gaining prominence. Thus, this study produced and characterized films based on cassava residue flour (CRF), incorporated with nanoZnO and extracts of the seriguela residues (EXT) for use as active food packaging. The films were produced in three conditions: control (5% CRF and 2% glycerol), A (5% CRF, 10% EXT, 0.5% nanoZnO and 2% glycerol) and B (5% CRF, 20% EXT, 0.5% nanoZnO and 2% glycerol). The characterization of the CRF indicated a significant starch content ( $74.53 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) and the extract had a high phenolic content ( $1013.7 \mu\text{gEAG}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) and a strong antioxidant capacity ( $88,25 \pm 1,16\%$  DPPH scavenging). The additivated films did not have a good retention of the active substances and presented low phenolic levels ( $<1 \text{ mg EAG}\cdot\text{g}^{-1}$ ), and consequently weak antioxidant action, indicating the potential use of a blending to improve this property. There was no significant change in solubility of the three films (remaining  $> 80\%$ ). However, the extremely low permeability value for all conditions indicated an efficient water vapor barrier ( $0.0004$  to  $0.004 \text{ g}\cdot\text{mm}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}\cdot\text{kPa}$ ). Regarding as swelling, the additivated films obtained higher % swelling than the control, and about to the optical properties these films became darker and more opaque, with reddish yellow color. The thickness of the films ranged from  $0.290 \pm 0.007$  to  $0.316 \pm 0.003 \text{ mm}$ , and the use of the additives provided significant reduction of the light transmission in the visible region, and in the UV regions low percentages were observed under all conditions. The use of nanoZnO and EXT also improved the uniformity and dispersion of the particles in the films. There was partial inhibition in the growth of *S. aureus* (greater effectiveness) and *E. coli* in the additivated and control films. Finally, both (extract and nanoZnO) demonstrated viability for application in active packages.

**Key words:** cassava residue, natural antioxidants, antimicrobial activity, nanoZnO, active packaging.



## 1. INTRODUÇÃO

O grande impacto ambiental causado por materiais plásticos sintéticos derivados do petróleo utilizados em embalagens de alimentos, tem direcionado as pesquisas para o desenvolvimento de materiais biodegradáveis (MORENO et al., 2017). E nesse âmbito, o amido surge como um dos polímeros mais promissores devido à sua alta disponibilidade, baixo custo, compatibilidade com os alimentos e fonte renovável (MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2017; MORENO et al., 2017). Além disso, apresenta boa capacidade de formar filmes (KANMANI; RHIM, 2014). Diante das preocupações com a agressão ambiental e a demanda do consumidor por melhorias nas características gerais do produto, novos sistemas sustentáveis de embalagens alimentícias vêm recebendo atenção (FENG et al., 2018).

Materiais como os resíduos agroindustriais apresentam potencial de aproveitamento (DEBIAGE et al., 2014; MELO; MALI, 2014; MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2017). No processamento industrial da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), cultura agrícola de grande destaque no Brasil (SILVA, A. F. O. et al., 2016; VEIGA et al., 2016) e em continentes como Ásia e África (SOUZA et al. 2013b), são geradas quantidades significativas de resíduos sólidos: em torno de 2 milhões de toneladas de bagaço ao ano no Brasil e quase 29 milhões no mundo resultante da produção de fécula (FIORDA et al. 2013). Os principais resíduos sólidos gerados durante o processamento dessa raiz são as cascas (com entrecasas) e o bagaço (SOUZA et al., 2013a, 2013b; SÁNCHEZ et al., 2017). Além do impacto ambiental com o descarte inadequado desses resíduos, esses materiais de baixo custo gerados em grandes quantidades (VILHALVA et al., 2011) são ricos em amido como, por exemplo, o bagaço que ainda contém entre 30 a 50% deste polímero (SÁNCHEZ et al., 2017) e todo resíduo fibroso que pode alcançar em média 75% de acordo com Leonel & Cereda (2000).

É preciso destacar que a aplicação de filmes de amido é limitada devido à sua natureza altamente hidrofílica (MORENO et al., 2017; NI et al. 2018), fragilidade e baixa resistência mecânica (MARENGO; VERCELHEZE; MALI, 2013; MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2017). Diante disso, a incorporação de nanopartículas inorgânicas como material de reforço é objeto de estudo em diversos trabalhos (KANMANI; RHIM, 2014; RHIM et al., 2014; SHANKAR et al., 2015; NI et al. 2018). Dentre estas, destacam-se as nanopartículas de óxido de zinco (nanoZnO) que melhoram as propriedades

mecânicas, com produção a baixo custo em larga escala (SHANKAR et al., 2015), não tóxicas, com propriedades antimicrobianas (NI et al., 2018), resistentes à altas temperaturas (KANMANI; RHIM, 2014; FARZANA et al. 2018), e reconhecidas pela Food and Drug Administration (FDA) como substâncias seguras (GRAS) (KANMANI; RHIM, 2014; SHANKAR et al., 2015) sendo até mesmo estudadas na medicina e em fármacos (NAFCHI et al., 2013; MIRHOSSEINI; FIROUZABADI, 2013) e como aditivos alimentícios (SWAIN et al., 2016).

Além da mandioca, as frutas tropicais são outro produto agrícola que também têm recebido grande destaque no Brasil (ZERAIK et al., 2016; PAZ et al., 2015), devido ao fato dessas frutas serem ricas em compostos fitoquímicos que estão associados com a prevenção de doenças crônicas e degenerativas (SILVA et al., 2014), doenças cardiovasculares e câncer (PAZ et al., 2015), destacando-se fenólicos, flavonoides e ácidos fenólicos (CAN-CUICH et al., 2017) com forte ação antioxidante (DUTRA et al., 2017), além do forte potencial antimicrobiano que vem recebendo muita atenção nos últimos anos (PINA-PÉREZ; PÉREZ, 2018). A crescente demanda dessa agroindústria tem levado à geração e desperdício de quantidades relevantes de resíduos, visto que em muitas frutas a maior concentração de compostos bioativos está nas sementes e cascas (SILVA et al., 2012).

Entre os resíduos de frutas tropicais, a seriguela (*Spondias purpurea L.*) membro da família *Anacardiaceae* (ENGELS et al. 2012), uma fruta de grande relevância no nordeste brasileiro (AUGUSTO; CRISTIANINI; IBARZ, 2012), possui quantidades significativas de compostos fenólicos (ENGELS et al., 2012). Contudo, no processamento desta, 40% da produção é tratada como resíduos (ALBUQUERQUE et al., 2016), que poderiam ser utilizados como fonte natural de antioxidantes (BABBAR et al., 2011; SILVA et al., 2012; SILVA et al., 2014).

Por fim, o interesse em embalagens com propriedades ativas que visem reduzir os problemas ambientais, estender o prazo de validade e melhorar o armazenamento dos alimentos está despertando o interesse de muitos consumidores (WU et al., 2018). Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar filmes à base do resíduo do processamento industrial da mandioca, incorporados com nanoZnO e extrato dos resíduos da seriguela, com foco na obtenção de biomaterial ativo para aplicação em embalagens para alimentos. Inicialmente, foi realizada a caracterização da farinha dos

resíduos de mandioca e a determinação da ação antioxidante por meio da capacidade de sequestro do radical DPPH e do teor de fenólicos totais do extrato de resíduo de seriguela. Os filmes foram caracterizados quanto à solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, intumescimento, cor, espessura, opacidade, transmissão de luz, uniformidade, teor total e capacidade de retenção de fenólicos, atividade antioxidante e antimicrobiana.

## 2. MATERIAL E MÉTODO

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Bioprocessos (Universidade Federal de Pernambuco - UFPE) em parceria com o Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos do Departamento de Ciências Domésticas, o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia Rural (DTR) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), e o Laboratório de Dispositivos e Nanoestruturas (obtenção do nanoZnO e microscopia dos filmes – CTG/UFPE).

### 2.1 OBTENÇÃO E PREPARO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

O resíduo da mandioca foi cedido por duas unidades de processamento de mandioca diferentes: as casca e entrecasca pela empresa José C. da Silva – Farinha (Farinha Quatis®) localizada em Lagoa de Itaenga/PE, e o bagaço pela Prata Fina® localizada na cidade de Lagoa Salgada/RN. Os resíduos foram coletados em suas respectivas áreas de geração, acondicionados em sacos plásticos e transportados em caixas de isopor contendo gelo até a cidade de Recife, sendo então imediatamente transferidos para o Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos da UFRPE e armazenados sob congelamento (-18°C) até o uso. Os resíduos foram submetidos à secagem a 50°C, em estufa com circulação de ar (MA035/5 – MARCONI), até alcançar uma umidade igual ou inferior 10%, e depois triturados em moinho multiuso TE 631/2 - TECNAL. A farinha obtida foi peneirada (100 Mesh), para uniformizar os tamanhos de partículas, e armazenada sob congelamento a -18°C em sacos de polietileno de alta densidade.

Para elaboração dos filmes foram utilizados: glicerol (DINÂMICA®); nanoZnO adquirido do Laboratório de Dispositivos e Nanoestruturas – UFPE e preparado conforme metodologia proposta por Santos & Santos (2012); e o extrato hidroetanólico obtido a partir da farinha dos resíduos de seriguela preparado conforme descrito no Artigo 1.

### 2.2 ANÁLISE DA CAPACIDADE DE GELEIFICAÇÃO DOS RESÍDUOS DA MANDIOCA

As farinhas (100 mesh) obtidas a partir dos resíduos da mandioca foram utilizadas para elaboração de filmes como segue: (a) farinha das entrecasca sem a película marrom externa, (b) farinha do bagaço, (c) farinha da mistura 1:1 (p/p) das entrecasca (sem película marrom) e bagaço, e (d) farinha das entrecasca com a parte marrom da casca.

Com a finalidade de averiguar a capacidade de formar gel, quatro diferentes filmes (sem glicerol) foram elaborados utilizando concentração de 5% em peso, de cada respectiva farinha acima descrita. A metodologia utilizada no preparo dos filmes foi a proposta por Medina-Jaramillo et al. (2017) e Piñeros-Hernandez et al. (2017), com modificações: a mistura (farinha e água destilada, total de 100g) foi aquecida a 50°C sob agitação de 10.000 rpm em homogeneizador TE-102 TURRATEC TECNAL® durante 15 minutos, aumentando-se a temperatura em seguida para 75°C sob a mesma agitação por 20 minutos até a formação do gel, e posteriormente vertido sobre placa de Petri de vidro. A secagem foi feita a 50°C em estufa de secagem QUIMIS Q317M-32. Realizou-se a análise visual quanto ao gel formado (espalhamento na placa) e à capacidade de formação do filme e sua homogeneidade para que fosse definida o tipo de farinha a ser usada nas etapas seguintes.

### 2.3 CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA OBTIDA DOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DA MANDIOCA

A farinha dos resíduos de mandioca definida no item 2.2 foi caracterizada quanto aos teores de umidade (método por infravermelho), cinzas (método 923,03), proteína (método 988,05) e lipídios (método 960,39) conforme AOAC (2012). Quanto ao método por infravermelho, a umidade (%) foi obtida por leitura direta em equipamento (após 30 minutos), utilizando-se aproximadamente 2g de amostra em uma balança de infravermelho MARTE® modelo ID50 com fonte de radiação acoplada. Os carboidratos totais foram calculados como segue:  $100 \text{ g} - \Sigma$  (gramas de umidade total + proteína + extrato etéreo + resíduo mineral fixo) e os resultados expressos em  $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ . Todas as determinações foram realizadas em triplicata. O teor de amido foi determinado com base na metodologia de hidrólise ácida, descrita por Cereda, Daiuto & Vilpoux (2004) e Machado, Campos & Souza (2009), em que ocorre a hidrólise completa do amido à glicose cuja determinação é realizada pelo método titulométrico de Lane-Eynon (AOAC, 1995). O resultado foi convertido em g de amido por 100g de amostra, ao ser multiplicado pelo fator de conversão 0,9.

### 2.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE RESÍDUO DE SERIGUELA

O teor de fenólicos totais foi determinado por método espectrofotométrico (espectrofotômetro Shimadzu UV-1650PC), utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu

(Merck) e curva padrão do ácido gálico, com espectro de absorção registrado no comprimento de onda de 725nm, conforme metodologia descrita por Wettasinghe & Shahidi (1999). Os resultados foram expressos conforme segue:  $\mu\text{g}$  em equivalente de ácido gálico por mL do extrato ( $\mu\text{g EAG. mL}^{-1}$ ), e mg em equivalente de ácido gálico por 100g de farinha do resíduo de seriguela ( $\text{mg EAG.100g}^{-1}$ ).

O extrato hidroetanólico foi avaliado quanto à sua capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH) (atividade antioxidante), segundo o método descrito por Brand-Williams et al., (1995), modificado por Sánchez-Moreno, Larrauri e Sausa-Calixto (1998). O extrato (0,1 mL) foi adicionado à solução de DPPH• em metanol (100  $\mu\text{M}$ ), e a absorbância foi medida em espectrofotômetro (Shumadzu UV-1650PC) a 517nm até a reação atingir o platô. A capacidade de sequestrar o radical DPPH – expressa em percentual (%) – foi calculada em relação ao controle (sem antioxidante, ou seja, solução de DPPH sem a presença do extrato, utilizando-se etanol para substituí-lo), conforme a Equação 1:

$$\% \text{ sequestro} = \frac{\text{Absorbância do controle} - \text{Absorbância da amostra} \times 100}{\text{Absorbância do controle}} \quad (1)$$

## 2.5 PREPARO DOS FILMES INCORPORADOS COM nanoZnO E EXTRATO DOS RESÍDUOS DE SERIGUELA

Os filmes foram preparados obedecendo as seguintes condições (definidas a partir de ensaios preliminares): A (5,0% FRM; 10% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol), B (5,0% FRM; 20,0% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol) e o controle (5,0% FRM e 2,0% glicerol), utilizando a técnica de *casting* por meio do preparo de uma solução filmogênica à base da farinha dos resíduos da mandioca - FRM (definida de acordo com o item 2.2).

A metodologia foi baseada na utilizada por Medina-Jaramillo et al. (2017) e Piñeros-Hernandez et al. (2017), com modificações. Inicialmente, o nanoZnO em pó foi homogeneizado em água destilada por 2 minutos sob constante agitação a 10.000 rpm utilizando homogeneizador TE-102 TURRATEC TECNAL®. Em seguida adicionou-se a farinha dos resíduos de mandioca (FRM), aquecendo-se a mistura a 90°C sob agitação de 10.000 rpm durante 30 minutos, sendo que após os 10 minutos iniciais o glicerol era adicionado. Completando-se essa fase de geleificação, a temperatura foi reduzida e

mantida a 50 °C quando se adicionou o extrato hidroetanólico sob agitação de 14.000 rpm por 10 minutos para sua homogeneização. Em seguida, as soluções filmogênicas (25g) foram vertidas em placas de Petri de acrílico com 8,5 cm de diâmetro, espalhadas, e submetidas à secagem a  $45^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  em estufa de secagem (QUIMIS Q317M-32, Brasil) por 24 horas. No caso da condição controle, excluíram-se as etapas em que aparecem o nanoZnO e o extrato. Por fim, armazenaram-se os filmes embalados em papel alumínio (para proteger da luz) em dessecador, contendo sílica gel, para análises posteriores. Todas as condições (A, B e controle) foram preparadas em triplicata.

Os filmes obtidos foram submetidos aos ensaios de solubilidade, permeabilidade ao vapor de água, intumescimento, espessura, opacidade, cor, transmissão de luz, microscopia eletrônica, teor de fenólicos totais, atividades antioxidante e antimicrobiana, conforme descrito nos itens 2.6, 2.7 e 2.8 a seguir.

## 2.6 ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

### 2.6.1 Solubilidade em água

Os testes de solubilidade em água foram realizados em triplicata seguindo o método descrito em Zamudio-Flores et al. (2010), utilizando amostras de tamanho 1 x 2 cm e agitação constante a 200rpm por 1 h a 25°C.

### 2.6.2 Permeabilidade ao vapor de água

O ensaio de permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi realizado em triplicata pelo método gravimétrico baseado na ASTM método E96-95 (ASTM, 1995) descrito por Dick et al. (2015), com algumas modificações: o diâmetro da amostra de filme posicionada na abertura circular da célula de permeação foi de 20mm e após a primeira pesagem (após 2h) do sistema as demais ocorreram em intervalos de tempo regulares por um período de 72 horas.

### 2.6.3 Intumescimento

A capacidade dos filmes secos de absorver água foi analisada com base na metodologia descrita por Cao, Fu e He (2007), com alterações: os filmes foram recortados em círculos de 2,5 cm de diâmetro e armazenados por 24 horas em dessecador contendo sílica (para retirar a umidade das amostras – denominadas amostras secas “ $w_1$ ”).

### 2.6.4 Cor

A análise dos parâmetros de cor dos filmes foi realizada utilizando um colorímetro CHROMA METER® CR-400 (Konica Minolta®, Japão) no modo de refletância, calibrado com placa de porcelana branca, empregando iluminante C. Os resultados para cor foram expressos no sistema CIELab ( $L^*a^*b^*$ ). Para a determinação dos parâmetros da cor, os filmes foram sobrepostos em uma placa branca, e as leituras de  $L^*$ ;  $a^*$  e  $b^*$  efetuadas em 5 diferentes pontos dos filmes (em triplicata), e média aritmética foi o resultado final para cada parâmetro. Utilizaram-se os parâmetros de cor obtidos para o cálculo da tonalidade cromática ou ângulo de Hue ( $H^\circ = \arctan b^*/a^*$  ou  $H^\circ = \tan^{-1} b^*/a^*$ ) e croma ( $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ). E, por fim, foi calculado o  $\Delta E^*$  conforme Equação 2:

$$\Delta E^* = (\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 \quad (2)$$

### 2.6.5 Espessura e opacidade

A espessura do filme foi medida utilizando um micrômetro manual (Mitutoyo JIS B 7502, Japão) com 0,01mm de precisão, sendo realizadas cinco medições (quadrante e ponto central) e o valor médio como resultado final (MORADI et al., 2012), sendo utilizado para os cálculos da opacidade. Quanto à opacidade dos filmes, esta foi determinada de acordo com método proposto por Siripatrawan & Harte (2010) e Wang et al. (2013), utilizando amostras com dimensões de 4,7 cm de comprimento x 0,9 cm de largura posicionadas no local da cubeta de modo perpendicular ao feixe de luz, espectrofotômetro Shimadzu UV-1650PC e leitura realizada em triplicata.

### 2.6.6 Transmissão de luz (propriedade de barreira à luz)

A propriedade de barreira à luz dos filmes foi medida em comprimentos de onda selecionados (200, 280, 350, 400, 500, 600, 700 e 800nm), utilizando-se o espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650 PC), de acordo com o procedimento referido por Fang et al. (2002). As amostras dos filmes (4,7 cm de comprimento x 0,9 cm de largura) foram alocadas no local da cubeta de modo perpendicular ao feixe de luz para leitura, sendo a análise de realizada em triplicata.

### 2.6.7 Uniformidade (Microscopia eletrônica)

A uniformidade da superfície do filme foi observada por microscopia eletrônica (JEOL-6460) de acordo com metodologia descrita por Santos & Santos (2008).



## 2.7 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NOS FILMES, TEOR DE FENÓLICOS E CAPACIDADE DE RETENÇÃO, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A extração dos compostos fenólicos presentes nos filmes foi realizada utilizando-se como amostra o filme inteiro, sendo esta pesada e imersa em 50 mL de solução etanólica a 60%, agitando-se (14.000 rpm) por 5 minutos em homogeneizador TE-102 TURRATEC TECNAL®, sendo o sobrenadante utilizado para determinação dos fenólicos totais e da atividade antioxidante. Os extratos obtidos foram submetidos à quantificação dos fenólicos totais de acordo com a metodologia proposta por Wettasinghe e Shaihidi (1999) e curva padrão de ácido gálico, conforme descrito no item 2.4, com resultados expressos em mg EAG/g de filme seco. Para a determinação dos fenólicos presentes nos filmes, foi usada a

Equação 3: 
$$T = \frac{C \times V}{M}$$
 (3)

Onde T é o conteúdo total de fenólicos, em mg EAG/g de filme seco; C é a concentração de ácido gálico estabelecida a partir da curva de calibração em mg/mL; V é o volume do extrato do filme (mL) e M é o peso do filme seco (g) conforme descrito por Moradi et al. (2012).

A partir da quantificação de fenólicos presentes no filme, esta foi comparada com a quantidade de fenólicos que deveria estar presente (proveniente apenas do extrato adicionado) se a retenção fosse 100%, para assim determinar a capacidade de retenção do filme (em porcentagem). Por fim, a avaliação da atividade antioxidante do filme foi realizada conforme descrito no item 2.4, utilizando o extrato obtido a partir de cada filme.

## 2.8 ENSAIO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES

O ensaio da atividade antimicrobiana pelo método de difusão, conhecido como método de halo de inibição, foi baseado na metodologia proposta por Jouki et al. (2014), Peng & Li (2014) e Steiner et al. (2017) com modificações, contra cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), para os filmes produzidos. Cepas de *E. coli* e *S. aureus* foram inoculadas em caldo infusão de cérebro e de coração (BHI, HiMedia, Índia) e incubadas a 37°C durante 24 horas. Após esse período, 100 µL das suspensões bacterianas foram transferidos, separadamente, para tubos contendo solução salina esterilizada para diluições seriadas e contagem de UFC mL<sup>-1</sup> para calibração.

A densidade do inóculo de cada cepa foi, então, ajustada a um padrão na escala MacFarland 0.5 ( $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>) e também para  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>. Então, com auxílio de swabs estéreis as suspensões (inóculo) de cada concentração usada e de cada microrganismo foram espalhadas/semeadas por estriamento nas direções transversal e longitudinal na superfície de placas estéreis contendo ágar triptona de soja (TSA, Oxoid, Inglaterra). Os filmes elaborados foram cortados em círculos com 23 mm de diâmetro e acomodados na superfície das placas. Em seguida, estas foram incubadas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 48 horas, sendo feitas observações após 24h e após 48h. A identificação da ação antimicrobiana foi realizada pela presença do halo de inibição no entorno dos discos dos filmes. A área da zona inteira (halo de inibição + disco) subtraída da área do disco do filme forneceria uma diferença relatada como a zona de inibição (mm<sup>2</sup>).

## 2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados, posteriormente, por ANOVA e a análise estatística foi realizada utilizando o software Statistica Statsoft v5.0, sendo os resultados expressos em média (triplicata)  $\pm$  desvio padrão. O teste t de Student (para os resultados da capacidade de retenção) e teste de Duncan (para os demais ensaios) foram aplicados para comparação das médias, sendo diferenças significativas para  $p < 0,05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 ANÁLISE DA CAPACIDADE DE GELEIFICAÇÃO DOS RESÍDUOS DA MANDIOCA

Todas as farinhas testadas formaram gel de fluidez adequada para o espalhamento nas placas de vidro, produzindo filmes ao final da secagem. Estes eram quebradiços devido ao fato de não conter o agente plastificante (glicerol) em sua composição, sendo compostos apenas do resíduo (contendo amido) e água. Segundo Souza et al. (2012), geralmente o segundo componente principal de um filme à base de amido é o plastificante, que é usado para superar a fragilidade da película (característica quebradiça) causada por forças intermoleculares elevadas.

Dentre as quatro diferentes farinhas preparadas a partir dos resíduos da mandioca definiu-se como a melhor opção para trabalhar nesse estudo a farinha obtida da mistura 1:1 bagaço e entrecascas (sem a parte marrom da casca), nomeando-a como FRM (farinha dos resíduos da mandioca). Apesar de todas as farinhas terem sido capazes de gelificar e

formar filmes, a escolha por esta farinha especificamente foi determinada pelo fato dela oferecer o máximo aproveitamento dos resíduos de ambos os fornecedores, e não apenas de um. Além disso, deve-se destacar que a farinha das entrecascas com a película marrom não formou um filme homogêneo não havendo boa dispersão das partículas.

### 3.2 CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA OBTIDA DOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DA MANDIOCA

A farinha obtida dos resíduos agroindustriais de mandioca (1:1 entrecascas/bagaço) foi caracterizada quanto à sua composição físico-química e os resultados são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1** - Composição físico-química da farinha obtida dos resíduos de mandioca

PARÂMETROS AVALIADOS	RESULTADOS OBTIDOS
Umidade <sup>1</sup> (%)	7,39 ± 0,17
Cinzas <sup>1</sup> (%)	2,13 ± 0,08
Proteínas <sup>1,2</sup> (g.100g <sup>-1</sup> )	2,77 ± 0,22
Lipídeos <sup>1</sup> (%)	1,49 ± 0,40
Carboidratos totais <sup>3</sup> (g.100g <sup>-1</sup> )	86,22
Amido (g.100g <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	74,53 ± 4,34

<sup>1</sup>Média (n=3) ± desvio padrão, <sup>2</sup>Proteína: fator de conversão = 6,25; <sup>3</sup>Teor de carboidrato calculado por diferença

O teor de umidade da FRM apresentou-se de acordo com o preconizado pela legislação (Resolução RDC N° 263/2005 – ANVISA: Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos). O teor de amido da FRM foi similar a média reportada na literatura, aproximadamente 75% de amido (LEONEL; CEREDA, 2000), e superior ao citado por Sánchez et al. (2017) para o bagaço (30 – 50%). Em estudo de caracterização de material fibroso obtido do cultivar Branca de Santa Catarina processada comercialmente para a extração da fécula de mandioca na unidade industrial de Palmital-SP, feito por Leonel & Cereda (2000), os autores encontraram teores menores que os encontrados na FRM (Tabela 1): cinzas 1,31%, proteína 1,59% e lipídeos 0,47%. Contudo nessa mesma análise, o resíduo proveniente deste cultivar apresentou teor de amido de 83,08 ± 0,35%, resultado superior ao encontrado no presente estudo. Segundo os mesmos autores, a composição do resíduo fibroso varia principalmente quanto ao teor de amido,

que tem uma correlação direta com a eficiência do processo de extração. Ou seja, quanto menor o teor de amido no resíduo, mais eficiente foi o processo de extração.

### 3.3 EXTRATO DO RESÍDUO DA SERIGUELA: TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O teor de fenólicos totais determinado a partir do extrato hidroetanólico da farinha dos resíduos da seriguela foi de 1013,7  $\mu\text{g EAG.mL}^{-1}$  de extrato e 1013,7 mg EAG.100g<sup>-1</sup> da farinha (o que equivale a aproximadamente 10,137 mg EAG.g<sup>-1</sup> da farinha dos resíduos). Estes valores foram superiores ao teor de fenólicos, presente na seriguela e em outras frutas, relatado no estudo de Almeida et al. (2011) que utilizaram extração com solução metanólica a 60%/0,1% HCl, a saber: 55,0  $\pm$  2,1 mgEAG.100g<sup>-1</sup> na seriguela, 98,8  $\pm$  5,6 mgEAG.100g<sup>-1</sup> na mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), 83,8  $\pm$  6,1 mgEAG.100g<sup>-1</sup> no tamarindo (*Tamarindus indica* L.) e 44,6  $\pm$  2,7 mgEAG.100g<sup>-1</sup> no umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara).

Além das diferenças inerentes de cada fruta, os resultados divergentes comparando apenas a fruta seriguela podem ter sido influenciados pela parte da fruta estudada, local de origem e pelo método de extração aplicado que interfere diretamente na quantificação desses compostos. Ademais, Can-Cauich et al. (2017) comentam que em muitos casos as partes não comestíveis das frutas (casca, pele, sementes, etc.) podem ser mais ricas em compostos bioativos do que sua respectiva porção comestível e estes compostos podem ter ação antioxidante maior do que as da polpa. Paz et al. (2015) avaliaram os extratos hidroetanólicos (1:1 água/etanol) obtidos de polpas de frutas tropicais do Brasil e encontraram valores inferiores ao encontrado no resíduo de seriguela, quando analisado o cajá - *Spondias mombin* L. (744  $\pm$  84 mgEAG.100g<sup>-1</sup>), também pertencente ao gênero *Spondias*.

Entre os estudos relacionados com resíduos de frutas, pode-se citar o de Babbar et al. (2011), cuja extração dos fenólicos utilizou solução de metanol 70%. Os autores encontraram valores superiores aos determinados no resíduo de seriguela, se consideradas as sementes de uva (*Vitis vinífera*) com 37,4  $\pm$  0,15 mgEAG.g<sup>-1</sup> e as sementes de lichia (*Litchi chinensis* Sonn.) com 17,9  $\pm$  0,19 mgEAG.g<sup>-1</sup>. Em contrapartida, o resíduo de seriguela apresentou teor de fenólicos superior ao encontrado no estudo de Oliveira et al. (2009), que utilizou extração com metanol, e quantificaram 681,0  $\pm$  53,5 mgEAG.100g<sup>-1</sup>,

103,0  $\pm$ 10,4 mgEAG.100g<sup>-1</sup> e 275,0  $\pm$ 38,0 mgEAG.100g<sup>-1</sup>, respectivamente, para os resíduos de acerola (*Malpighia emarginata*), maracujá (*Passiflora alata*) e abacaxi (*Ananas comosus*).

Em relação à ação antioxidante do resíduo de seriguela, a capacidade de sequestrar o radical DPPH foi de 88,25  $\pm$ 1,16%. Melo et al. (2008) classificaram frutas cujos valores estão acima de 70% como tendo forte capacidade antioxidante, entre 50 e 70% capacidade moderada, e inferior a 50% uma fraca capacidade em sequestrar o radical DPPH. Portanto, o resíduo de seriguela estudado possui alta atividade antioxidante, inclusive superior à atividade antioxidante de extratos aquosos de frutas analisadas por Melo et al. (2008), como abacaxi (*Ananás comosus L. var. pérola*) e laranja cravo (*Citrus bergamia* Risso) que apresentaram resultados entre 60 e 70%. Nesse mesmo estudo, os extratos aquosos e acetônicos da acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) e do caju (*Anarcadium occidentale*) apresentaram forte capacidade antioxidante, cujo valor foi acima de 80%, assemelhando-se à atividade encontrada no resíduo de seriguela. Oliveira et al. (2009), utilizando resíduos de frutas tropicais, relataram que a capacidade antioxidante dos resíduos de abacaxi e maracujá (menor que 30%) foi considerada fraca e, portanto, bastante inferior ao encontrado para os resíduos da seriguela deste estudo.

#### 3.4 TEOR DE FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FILMES E CAPACIDADE DE RETENÇÃO

Antioxidantes constituem um grupo de compostos muito utilizados em alimentos para retardar o processo oxidativo, e entre os mais ativos estão os polifenóis, como flavonoides e ácidos fenólicos (CAN-CAUICH et al., 2017). A incorporação de antioxidantes em filmes poliméricos é uma alternativa sustentável na obtenção de embalagens ativas (LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2012; BENBETTAÏEB et al., 2018). A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos para o teor de fenólicos, atividade antioxidante e capacidade de retenção de fenólicos dos filmes ativos de amido.

**Tabela 2** - Teor de fenólicos totais, atividade antioxidante (DPPH) e capacidade de retenção dos filmes à base de FRM (controle e condições A e B).

<b>Filmes</b>	<b>Teor de fenólicos total no filme (mg EAG.g<sup>-1</sup> de filme)</b>	<b>Sequestro do radical DPPH (%)</b>	<b>Capacidade de retenção (%)</b>
<b>Controle</b>	0,181 ± 0,016 <sup>b</sup>	2,488 ± 0,244 <sup>b</sup>	--
<b>Condição A</b>	0,187 ± 0,023 <sup>b</sup>	2,304 ± 0,645 <sup>b</sup>	0,071 ± 0,001 <sup>b</sup>
<b>Condição B</b>	0,523 ± 0,122 <sup>a</sup>	5,116 ± 0,230 <sup>a</sup>	2,214 ± 0,023 <sup>a</sup>

\*Descrição das condições analisadas: controle (5,0% FRM e 2,0% glicerol); A (5,0% FRM; 10% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol), B (5,0% FRM; 20,0% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol).

\*\*Letras iguais na vertical não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan (para teor de fenólicos e sequestro do radical DPPH) e pelo teste t de Student (para capacidade de retenção).

Conforme classificado por Vasco; Ruales; Kamal-Eldin (2008), o teor de fenólicos pode apresentar-se em três grupos: nível baixo ( $< 1\text{mg EAG.g}^{-1}$ ), intermediário (1 a 10mg EAG.g<sup>-1</sup>) e alto ( $>10\text{mg EAG.g}^{-1}$ ). Assim, os filmes produzidos podem ser classificados no primeiro nível, com baixa concentração de constituintes fenólicos (Tabela 2). Os valores encontrados também foram inferiores aos encontrados por Piñeros-Hernandez et al. (2017), que produziram filmes à base de amido de mandioca e extrato de alecrim, e identificaram resultados variando de 4,4 mg EAG.g<sup>-1</sup> a 13,6 mg EAG.g<sup>-1</sup> de filme, dependendo da quantidade de extrato adicionado. Foi possível observar também que o teor de fenólicos no filme A e no controle não apresentou diferença significativa e, portanto, a retenção dos fenólicos no filme A (contendo 10% de extrato) pode ser considerada nula. E, mesmo o filme B que diferiu estatisticamente dos filmes A e controle, também apresentou uma quantidade de fenólicos baixa ( $<1\text{mg EAG.g}^{-1}$ ).

Os compostos fenólicos são sensíveis a diversos fatores, e dentre um dos mais importantes está a temperatura elevada conforme apresentado por Sharma et al. (2015). O aquecimento pode levar à degradação térmica desses compostos bioativos e diferentes condições de aquecimento (temperatura utilizada e tempo de exposição) provocam efeitos diversos nas propriedades antioxidantes dessas substâncias. Dessa forma, no processo de obtenção dos filmes à base de FRM, podem ter ocorrido perdas em etapas com uso de aquecimento, como por exemplo, na adição do extrato (50°C por 10 minutos) e no processo de secagem, onde os filmes foram submetidos à 45°C por 24 horas. Segundo Thakhiew; Devahastin; Soponronnarit (2014), as maiores perdas dos agentes ativos ocorrem geralmente durante a secagem (etapa relevante na formação do filme), e que o método

utilizado, assim como o tempo, são fatores que influenciam essa perda, que normalmente é maior com o aumento do tempo de secagem. Assim, uma alternativa seria o uso de condições de secagem com menor tempo de exposição e temperatura mais baixa. Além disso, os autores citam também que aumentar a espessura do filme é outra opção que ajudaria na retenção do extrato dentro da matriz polimérica.

É importante também destacar que o resíduo de mandioca usado como base para o filme não era composto somente por amido e possuía outros constituintes que podem ter interferido; e que a metodologia, a estrutura dos filmes/solução filmogênica e a proporção e interação de seus componentes podem não ter sido as ideais para uma boa retenção dos compostos ativos na matriz do filme. Na metodologia utilizada o extrato foi adicionado ao final do processo (quando a estrutura filmogênica já havia sido formada) - como tentativa de minimizar as perdas pelo calor -, sendo possível então que os compostos fenólicos não tenham sido totalmente agregados à esta e durante o processo de secagem estes podem ter sido facilmente levados ou “arrastados” juntamente com a água. Outro ponto importante é que, segundo Dai; Zhang; Cheng (2019), diferenças no tamanho de partícula, forma, relação amilopectina/amilose de amidos de diferentes fontes, afetam diretamente as propriedades dos filmes formados gerando diferentes estruturas, e estas podem ser ou não favoráveis à retenção das moléculas presentes nos compostos ativos.

O tipo e a quantidade do plastificante usado também interferem na estrutura dos filmes. Conforme citado por Chiumarelli; Hubinger (2014) o glicerol (hidrofílico e higroscópico) é utilizado para aumentar a flexibilidade dos filmes/revestimentos, mas em contrapartida pode interferir na matriz filmogênica, visto que devido ao seu baixo peso molecular, podem ocupar espaços intermoleculares entre as cadeias poliméricas, reduzindo as forças e interações entre elas e aumentando a mobilidade das cadeias de polímeros. Essas propriedades podem ser melhoradas adicionando constituintes hidrofóbicos, como lipídios (CAETANO et al., 2018). Outra alternativa para melhorar a retenção dos fenólicos no filme seria a combinação de diferentes polímeros para formação de compósitos, formando *blendings* (AL-HASSAN; NORZIAH, 2012). No estudo de Silva et al. (2019), foram produzidos filmes utilizando *blendings* de amido de mandioca, gelatina e quitosana que mostraram solubilidade extremamente baixa com diminuição da permeabilidade ao vapor de água.

É necessário um estudo mais aprofundado da formulação utilizada para estes filmes e das condições do processo, com destaque na etapa de adição do extrato e temperatura usada, interações presentes entre o extrato e a matriz de resíduos, utilização de extrato encapsulado para proteção dos compostos ativos, aplicação da solução filmogênica como revestimento com secagem à temperatura ambiente (ou reduzida em menor tempo), ou utilização de um *blending*. Outro ponto importante a ser explorado é o solvente utilizado para extração dos fenólicos dos filmes e a temperatura aplicada, visto que, segundo Haas et al. (2018), os parâmetros de um processo de extração podem afetar a eficiência da extração e assim a disponibilidade desses ativos no extrato.

Foi verificada também a presença de fenólicos no filme controle (Tabela 2), em cuja formulação não se utilizou extrato. Lima et al. (2017) estudaram os efeitos de três métodos de cozimento sob o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante da mandioca crua, após processamento. Os autores identificaram um teor de fenólicos de 0,1093 mg EAG.g<sup>-1</sup> de mandioca crua ( $10,93 \pm 0.00$  mg EAG.100g<sup>-1</sup>), o que corrobora com os resultados obtidos para o conteúdo total de fenólicos no filme controle (Tabela 2), e ainda identificaram que o teor de fenólicos aumentou após os tratamentos térmicos que contribuíram na liberação desses compostos aprisionados na estrutura de sua matriz (mandioca). E que a água fervente pode causar um amolecimento e a ruptura da estrutura dos vegetais, permitindo que esses compostos fenólicos solúveis sejam liberados de sua matriz e possam ser solubilizados em água (o que levou a uma menor retenção para os processos que utilizaram água do que os que não utilizaram, pois ao serem liberados esses compostos eram “lixiviados” da matriz).

Dessa forma, analisando os resultados obtidos para os filmes à base de FRM produzidos nesta pesquisa, é possível que durante a formação do gel, que utiliza água e aquecimento, os compostos fenólicos presentes na farinha de resíduo de mandioca tenham sido liberados e solubilizados na água presente na solução filmogênica, levando à quantificação dessas substâncias no filme controle. A capacidade de retenção dos filmes A e B diferiram de forma significativa ( $0,071 \pm 0,001$  e  $2,214 \pm 0,023$  %, respectivamente), com filme B apresentando maior retenção, porém ambas foram extremamente baixas (Tabela 2), sendo a do filme A praticamente nula.

A atividade antioxidante é geralmente relacionada à presença de compostos fenólicos (PAZ et al., 2015). A análise da ação antioxidante do extrato obtido a partir do



filme à base da FRM foi mensurada quanto à capacidade de sequestrar o radical DPPH, que na presença de antioxidantes é degradado levando à redução da absorvância (BABBAR et al., 2011; WANG et al., 2015). A porcentagem de sequestro para os filmes de amido de FRM (Tabela 2) se mostrou compatível com os resultados do teor de fenólicos e da capacidade de retenção. Entre o filme A ( $2,304 \pm 0,645\%$ ) e o controle ( $2,488 \pm 0,244\%$ ) não houve diferença significativa reafirmando que possivelmente a sutil ação apresentada no filme A foi devido aos fenólicos presentes no resíduo de mandioca e não do extrato adicionado, visto que a retenção foi quase nula. Já a porcentagem de sequestro do filme B ( $5,116 \pm 0,230\%$ ) diferiu estatisticamente dos demais.

Ainda em relação ao filme B, houve um incremento no teor de fenólicos, na capacidade de retenção e no percentual de sequestro do DPPH. O aumento na quantidade de extrato adicionado na formulação do filme (20%) indicou a tendência ao aumento da atividade antioxidante do filme ativo de amido. Isso também foi observado no estudo de Feng et al. (2018) no desenvolvimento e preparação de filmes ativos de amido contendo polifenol de chá, constatando que o aumento da ação antioxidante foi diretamente proporcional ao aumento da concentração de polifenol na formulação do filme.

O resultado da ação antioxidante do filme B é muito inferior se comparado com o encontrado em outros trabalhos. Piñeros-Hernandez et al. (2017) que avaliaram filmes de amido de mandioca comestíveis contendo extrato de alecrim, usando extrato aquoso e amido obtido da indústria, encontraram um percentual de sequestro do DPPH de 28,6% para filmes com 5% de extrato ( $4,4 \text{ mg EAG.g}^{-1}$  de filme), 54,4% para filmes com 10% de extrato ( $8,6 \text{ mg EAG.g}^{-1}$  de filme) e 81,9% para filmes contendo 20% de extrato ( $13,6 \text{ mg EAG.g}^{-1}$  de filme), podendo ser observado também o aumento da atividade à medida que se adicionou maior proporção de extrato, assim como um incremento no teor fenólicos totais. Caetano et al. (2018) caracterizaram filmes biodegradáveis ativos à base de fécula de mandioca e compostos naturais (óleo essencial de orégano e extrato resíduo de abóbora) e identificaram ação antioxidante superior variando de 17,91 a 60,49% o percentual de sequestro do radical DPPH.

### 3.5 ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

#### 3.5.1 Solubilidade

Solubilidade em água é descrita como um fator importante para seleção de filmes utilizados como embalagens para alimentos, visto que terá impacto direto nas propriedades de barreira e assim, a estrutura de filmes com alta solubilidade pode ser comprometida à medida que a água é transferida (SILVA et al., 2019). Portanto, quando se deseja obter resistência à água e manter a integridade do alimento é preciso obter filmes com baixa solubilidade (CAETANO et al., 2018). Este parâmetro se torna ainda mais relevante para os filmes e revestimentos à base de amido, tendo em vista o caráter hidrofílico desse polímero, que torna esses materiais bastante solúveis em água (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2012; HASSAN et al., 2018). Nesse sentido, outros componentes como as nanopartículas, vêm sendo usados como material de reforço (SHANKAR et al., 2015).

Os resultados obtidos para a solubilidade em água dos filmes à base de FRM são mostrados na Tabela 3, sendo que estes não diferiram estatisticamente entre si, e a solubilidade se mostrou alta se comparada à encontrada em outros estudos como os de Silva et al. (2019) e Medina-Jaramillo et al. (2017).

**Tabela 3** - Solubilidade dos filmes produzidos à base de resíduo de mandioca, nanoZnO e extrato dos resíduos de seriguela.

Filmes	Solubilidade (%)
Controle	85,225 ± 7,448 <sup>a</sup>
Condição A	80,245 ± 2,085 <sup>a</sup>
Condição B	81,335 ± 4,702 <sup>a</sup>

\*Descrição das condições analisadas: controle (5,0% FRM e 2,0% glicerol); A (5,0% FRM; 10% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol), B (5,0% FRM; 20,0% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol).

\*\*Letras iguais na vertical não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan.

Silva et al. (2019) sintetizaram e caracterizaram filmes comestíveis de baixa solubilidade a base de fécula de mandioca nativa com adição de quitosana e gelatina, criando assim um *blending*, e obtiveram resultados de solubilidade variando entre  $10 \pm 2\%$  e  $23 \pm 4\%$ . A solubilidade em água encontrada nos filmes à base de resíduo de mandioca (Tabela 3) apresentaram resultados superiores aos obtidos por esses autores, que

identificaram menor solubilidade em água nos filmes com menores concentrações de amido e gelatina, que tendem a formar filmes altamente hidrofílicos. Contudo a adição da quitosana, biopolímero com baixa solubilidade em água, possivelmente minimizou este efeito. Isso reforça a ideia do potencial uso de *blending* com quitosana nos filmes produzidos neste estudo à base do resíduo de mandioca, com a finalidade de reduzir a solubilidade e melhorar as propriedades de barreira à água.

Outro ponto importante a ser avaliado é o plastificante. Caetano et al. (2018) desenvolveram e caracterizaram filmes ativos à base de amido de mandioca, óleo essencial de orégano e extrato de resíduo de abóbora, e obtiveram percentuais de solubilidade entre 17,74 e 21,75%. Quanto ao plastificante, os autores destacaram que filmes produzidos com 1,7% de glicerol obtiveram maior porcentagem de solubilidade em água do que os formulados com 0,85%, e isto foi associado a concentrações maiores de glicerol que formaram filmes mais solúveis pois os grupos hidroxila os tornam mais higroscópicos, elevando a solubilidade. Assim, o uso de 2,0% de glicerol nos filmes deste trabalho pode ter influenciado na alta solubilidade em água dos mesmos. Conforme Thakur et al. (2019), os plastificantes são materiais essenciais na produção de filmes e revestimentos pois aumentam sua flexibilidade, especialmente os à base de amido. E, a maioria dos polióis foram relatados compatíveis com amido. Silva et al. (2019) citam que entre os mais utilizados, estão o glicerol e o sorbitol, este último segundo os autores mostra maior interação com as cadeias de amido (maior peso molecular com mais grupos hidroxila do que o glicerol), o que também segundo Al-Hassan; Norziah (2012) pode conferir menor efeito plastificante e afetar as propriedades mecânicas. Isto posto, uma alternativa para reduzir a solubilidade dos filmes produzidos neste estudo seria modificar a concentração de glicerol utilizada na produção dos filmes e/ou testar outros plastificantes, como o sorbitol.

Mesmo nos filmes produzidos sem *blending*, como no caso do estudo de Medina-Jaramillo et al. (2017) que produziram filmes à base de amido de mandioca (5% m/m), glicerol (1,5% m/m) e extratos de chá verde e manjeriço (5% m/m), a solubilidade variou de 28 a 30%, valor inferior ao encontrado nos filmes de resíduo de mandioca, nanoZnO e extrato de resíduo de seriguela (Tabela 3). Os autores citam que a incorporação de extratos na matriz de amido tem um papel significativo nas propriedades de barreira do filme. Assim o tipo de extrato, fonte do qual foi obtido, sua estrutura e constituintes e as interações com a matriz; assim como as proporções utilizadas na solução filmogênica podem ter

interferido na solubilidade dos filmes neste estudo. Por exemplo, Perazzo et al. (2014), que estudaram a elaboração de filmes de amido incorporados com extrato de chá verde e de óleo de palma, citam que os carotenoides presentes nos extratos podem ter interagido com as regiões hidrofóbicas da amilose ou com cadeias laterais da amilopectina (forças de Van der Waals), limitando a disponibilidade de grupos hidrogênio em formar ligações hidrofílicas com água, e assim reduzir a afinidade do filme de amido com água.

Características inerentes ao uso do amido como base para obtenção de filmes são outro fator que possivelmente interferiu nesta propriedade, por exemplo, as diferenças na estrutura, na fonte, e na relação amilose/amilopectina do amido utilizado. Thakur et al. (2019) citam que as propriedades dos grânulos de amido afetam as características finais dos filmes durante o aquecimento; a proporção de amido pode interferir na viscosidade afetando a retração na secagem do filme; diferentes fontes botânicas podem gerar diferentes temperaturas de gelatinização devido as interações entre amilose e amilopectina. Além disso, os autores também relatam que a reassociação das cadeias de amilose e amilopectina, durante a retrogradação, interfere na permeabilidade, na solubilidade e propriedades mecânicas dos filmes de amido.

Thakur et al. (2019) abordam que um alto teor de amilose torna o filme mais sensível à umidade, interferindo nas propriedades de barreira. Sendo assim, maiores concentrações de amilopectina reduzem a solubilidade do filme em água. Contudo, a alta solubilidade apresentada pelos filmes à base de FRM produzidos neste trabalho (Tabela 3) pode ser uma propriedade desejável em outras aplicações como, por exemplo, sistemas de liberação de ativos ou fármacos/medicamentos quando em contato com água, para tratamento médico como no estudo de Chan et al. (2019).

### **3.5.2 Permeabilidade ao vapor de água e intumescimento**

Em geral, a permeabilidade ao vapor de água está associada à taxa de transferência das moléculas de água contra uma força motriz de pressão de vapor, a área de permeação e a espessura do filme, e é um indicativo das propriedades de barreira do material (WANG et al., 2015). A barreira ao vapor de água é um aspecto relevante para manutenção e extensão da vida de prateleira dos alimentos embalados, visto que o teor de umidade tem estreita relação com a deterioração dos produtos alimentícios (XU et al., 2018). A Tabela 4 apresenta os resultados dessa propriedade para os filmes de amido à base de FRM.

**Tabela 4** - Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e intumescimento dos filmes à base de FRM.

<b>Filmes</b>	<b>PVA (g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa)</b>	<b>Intumescimento (%)</b>
<b>Controle (0% extrato)</b>	0,0029 ± 0,0001 <sup>b</sup>	101,360 ± 3,398 <sup>c</sup>
<b>Condição A (10% extrato)</b>	0,0031 ± 0,0000 <sup>b</sup>	112,020 ± 5,888 <sup>b</sup>
<b>Condição B (20% extrato)</b>	0,0034 ± 0,0001 <sup>a</sup>	129,610 ± 4,610 <sup>a</sup>

\*Descrição das condições analisadas: controle (5,0% FRM e 2,0% glicerol); A (5,0% FRM; 10% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol), B (5,0% FRM; 20,0% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol).

\*\*Letras iguais na vertical não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan

Os valores de PVA dos filmes A (10% de extrato) e Controle não diferiram estatisticamente entre si, entretanto o filme B apresentou maior PVA, demonstrando que a adição de 20% de extrato provocou uma alteração significativa na PVA destes.

Os filmes flexíveis, de acordo com Silva, M. F. et al. (2016) podem ser classificados segundo os valores obtidos para essa propriedade: de 0,4 a 4,2 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa para filmes de permeabilidade ineficiente/fraca; 0,004 a 0,4 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa para filmes de permeabilidade moderada; e para uma barreira ao vapor de água eficiente, são citados valores de permeabilidade entre 0,0004 e 0,004 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa. Tendo em vista essa classificação, os filmes à base de FRM com ou sem extrato podem ser considerados como barreira eficiente ao vapor de água. Conforme Souza et al. (2012), a permeabilidade ao vapor de água deve ser a mais baixa possível uma vez que uma das principais funções de uma embalagem de alimentos é evitar ou ao menos reduzir a transferência de umidade entre o alimento e ambiente externo.

Os resultados de PVA dos filmes à base de FRM mostraram-se promissores se comparados aos obtidos por outros autores para filmes à base de amido. Luchese; Spada; Tessaro (2017) produziram e caracterizaram filmes à base amido de milho e de mandioca (incluindo glicerol 0,9% e goma xantana 0,005% na formulação) comparando-os com filmes comerciais existentes no mercado (PVC e o polietileno de baixa densidade -PEBD), e identificaram permeabilidade moderada à fraca com valores variando de 0,15 a 0,42 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa. Além disso, no mesmo estudo foram analisadas a propriedade de barreira ao vapor de água para filmes de PVC e PEDB comerciais cujos valores foram 0,03 ± 0,003 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa (permeabilidade moderada) e 0,003 ± 0,0001 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa (permeabilidade eficiente, boa barreira ao vapor de água), respectivamente. Dessa forma,

os filmes de FRM (Tabela 4) apresentaram valores de PVA comparáveis ao PEDB comercial e melhores que os filmes de PVC.

Monteiro et al. (2018) encontraram valores de PVA entre 0,5141 e 0,8371 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa para filmes à base de amido de mandioca e glicerol (10 a 30% de glicerol em relação à massa seca de amido). Os teores de amido e de glicerol influenciaram significativamente nesta propriedade, visto que o aumento na concentração de amido provocou maior valor de PVA (para mesma concentração de glicerol), e o mesmo ocorreu com o glicerol (para a mesma concentração de amido). Isto foi associado ao fato do amido de mandioca possuir em sua estrutura uma extensa cadeia ramificada (amilopectina), dificultando a aproximação das moléculas. E, Souza et al. (2012) citam que o glicerol, molécula hidrofílica e pequena, pode ser aprisionada entre cadeias reduzindo as atrações intermoleculares e aumentando a mobilidade das moléculas, favorecendo a migração de vapor de água. Estes autores estudaram filmes à base de amido de mandioca, assim como a influência do glicerol (de 0,0 a 0,75%) e da adição de nanopartículas (NPs) de argila nas propriedades dos filmes, e identificaram o mesmo comportamento de aumento da permeabilidade com o aumento do teor de glicerol utilizado observado por Monteiro et al (2018).

Souza et al. (2012) também identificaram a influência positiva das nanopartículas de argila na PVA, havendo redução significativa ao aumentar a concentração de nanopartículas (considerando um mesmo teor de glicerol). E, concluíram que menores teores de glicerol e maiores concentrações de NPs de argila produziram filmes com menor PVA. Dessa forma, as nanopartículas de ZnO, utilizadas também como reforço neste trabalho, possivelmente contribuíram para reduzir a PVA, mais eficiente se comparada aos resultados dos demais estudos citados anteriormente.

Hu et al. (2019) observaram a redução da PVA com o aumento no teor de nanopartículas (neste caso NPs de ZnO-quitosana) em filmes de amido, e explicaram que quando as NPs estão bem dispersas na matriz (sem agregados que podem gerar lacunas na estrutura e produzir o efeito contrário) forma-se uma estrutura compacta com pouco espaço para as moléculas de água passarem. O mesmo efeito pode ter ocorrido com o filme controle, já que possui em sua base farinha de resíduo de mandioca (100 Mesh) que não contém apenas amido, assim, as partículas de outros componentes presentes podem ter

ocupado os espaços intermoleculares na estrutura do filme reduzindo os valores de PVA para os filmes à base de FRM, que foram inferiores aos do filme controle (amido puro sem NPs) de Hu et al. (2019):  $0,5 \text{ g.mm/m}^2.\text{h.kPa}$ .

A adição do extrato hidroetanólico na faixa de 20% (filme B) provocou uma elevação no valor de permeabilidade ao vapor de água (Tabela 4). Conforme Caetano et al. (2018), a permeabilidade ao vapor de água depende também da razão entre a porção de componentes hidrofílicos e hidrofóbicos presentes no filme, sendo os componentes hidrofóbicos que ajudam a reduzir a PVA. Os autores explicam que a transferência de vapor de água ocorre através da porção hidrofílica. Portanto, a afinidade/boa solubilidade do extrato com/em a água, devido à sua estrutura química, pode ter contribuído para esse aumento na PVA do filme B. Este resultado corrobora com o encontrado por Xu et al. (2018), que estudaram filmes à base de amido de tapioca, extrato de bagaço de uva, e nanocristais de celulose, e identificaram que a adição do extrato aumentou significativamente a PVA dos filmes e que a extensão desse incremento dependeu do tipo de extrato (variedade da uva). Os autores explicam que o extrato funcionou como agente plastificante reduzindo as interações intermoleculares e aumentando a mobilidade das macromoléculas, aumentando a PVA.

Quanto à análise de intumescimento para os filmes à base de FRM, a incorporação de extrato (Filmes A e B) levou a um grau maior de inchaço que o filme controle (Tabela 4). Os resultados foram estatisticamente diferentes, indicando que esta propriedade foi afetada pela quantidade de extrato adicionado. A capacidade de inchamento refere-se à capacidade de retenção de água do filme, e é influenciada pelos grupos hidrofílicos livres e pelo volume livre nos filmes (SURIYATEM; AURAS; RACHTANAPUM, 2018).

Desta maneira, é possível que a adição do extrato hidroetanólico dos resíduos de seriguela tenha contribuído para o aumento no grau de intumescimento dos filmes A e B (Tabela 4). Nouraddini; Esmaili; Mohtarami (2018), em estudo com filmes comestíveis à base de amido de milho e farinha de berinjela, identificaram que o filme controle (contendo apenas amido) apresentou o menor grau de inchamento (103,39%, resultado equivalente ao encontrado na Tabela 4) e que a adição de farinha de berinjela levou ao aumento desse valor. Isto foi associado à alta quantidade de grupos hidroxila livres dos

ácidos fenólicos presentes na farinha de berinjela, elevando a absorção de umidade do filme.

Apesar do reforço com a adição das nanopartículas de ZnO, possivelmente ainda existiam espaços livres na estrutura do filme de FRM que permitiram a entrada de moléculas de água e o conseqüente inchaço. Estes resultados coincidem com o aumento na PVA dos filmes à medida que o extrato foi adicionado.

Thakhiew; Devahastin; Soponronnarit (2014) explicam que, no caso de filmes ativos, um aumento (em pouco tempo, como no caso deste estudo – 2 minutos) no grau de intumescimento leva a liberação e perda mais rápidas dos constituintes ativos para o ambiente externo, e assim os filmes não mantêm uma concentração adequada durante o período de armazenamento, reduzindo os efeitos destes. No caso de embalagens ativas, é necessário que o aumento no grau de intumescimento ocorra em períodos mais longos, para uma liberação mais lenta e contínua desses compostos. A fim de contornar esse fato, Chan et al. (2019) consideram que a substituição do glicerol (de característica mais hidrofílica) pelo sorbitol, como plastificante em películas de amido, levaria à formação de filmes com menor capacidade de absorção de água e com absorção mais lenta. Vale salientar que, conforme López-Córdoba et al. (2017), o meio no qual o filme estará em contato (polaridade do meio – aquoso, etanólico, etc - e tipo de alimento) também interfere no perfil de liberação dos polifenóis dos filmes ativos.

Uma maior elevação do intumescimento ou alto grau de inchaço nesses materiais pode ser uma característica desejável para aplicação como filmes superabsorventes para agricultura, por exemplo. Segundo Liu; Luan; Li (2019), o uso no solo contribui para absorção de fertilizantes e prolongamento da retenção de água (o que reduz a quantidade de água necessária para irrigação). Milani et al. (2017) citam que especialmente em locais de clima seco e árido, a utilização desses materiais ajuda na manutenção da umidade do solo por longos períodos.

### **3.5.3 Cor**

Um dos parâmetros mais relevantes na escolha do produto alimentício pelo consumidor é a cor (NOURADDINI; ESMAILI; MOHTARAMI, 2018). Segundo Xu et al. (2018), esta propriedade e também a opacidade afetam diretamente a aparência e a



transparência do filme e, por consequência, a percepção do consumidor, visto que este geralmente associa o brilho e a cor à qualidade dos alimentos. Os valores dos parâmetros de cor dos filmes, determinado através do sistema CIELab, são representados por meio dos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  na Tabela 5, assim como ângulo de Hue ( $H^\circ$ ) e chroma ( $C^*$ ).

**Tabela 5** - Parâmetros de cor através pelo sistema CIELab para os filmes produzidos à base de FRM.

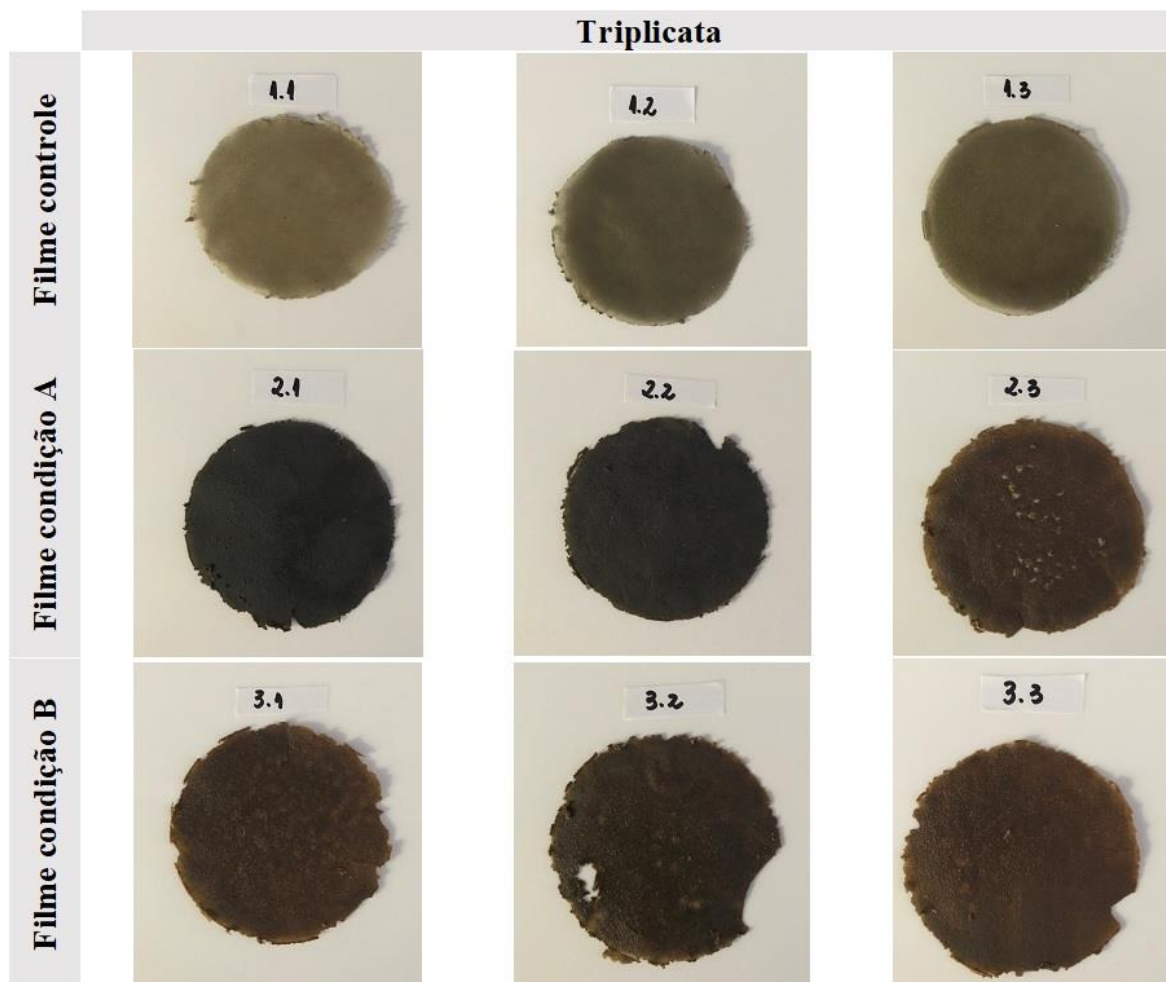
Filmes	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$H^\circ$	$C^*$
<b>Controle (0% extrato)</b>	52,453 ± 2,028 <sup>a</sup>	-1,670 ± 0,062 <sup>c</sup>	19,127 ± 3,170 <sup>a</sup>	85,501 ± 1,692 <sup>a</sup>	20,854 ± 1,177 <sup>a</sup>
<b>Condição A (10% extrato)</b>	35,460 ± 2,459 <sup>b</sup>	0,943 ± 0,121 <sup>b</sup>	6,100 ± 3,556 <sup>c</sup>	74,802 ± 4,232 <sup>b</sup>	4,355 ± 0,609 <sup>c</sup>
<b>Condição B (20% extrato)</b>	38,053 ± 1,363 <sup>b</sup>	3,040 ± 0,592 <sup>a</sup>	12,833 ± 2,318 <sup>b</sup>	74,371 ± 3,631 <sup>b</sup>	11,710 ± 1,111 <sup>b</sup>

\*Descrição das condições analisadas: controle (5,0% FRM e 2,0% glicerol); A (5,0% FRM; 10% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol), B (5,0% FRM; 20,0% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol).

\*\*Letras iguais na vertical não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan.

A adição do extrato exerceu influência sob a cor dos filmes de FRM. Foi possível identificar que houve redução significativa do parâmetro  $L^*$ , relativo à luminosidade, com a adição do extrato dos resíduos de seriguela aos filmes A e B quando ambos são comparados ao controle. Além disso, os filmes A e B apresentaram a mesma característica com relação à luminosidade visto que o  $L^*$  para ambos não diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ). Dessa forma, o  $L^*$  (variando de 0= preto/escuro a 100=branco/claro) revelou que os filmes A e B se tornaram mais escuros se comparados ao filme controle (sem adição de extrato nem de nanoZnO), o que coincide com o aspecto visual destes filmes (Figura 1). Com relação aos parâmetros  $a^*$  e  $b^*$ , ocorreu predominância do componente amarelo ( $b^+$ ) mas também houve variação com adição do extrato: o controle apresentou coloração amarelo-esverdeada, enquanto os filmes A e B apresentaram cor amarelo-avermelhada. Além de mais escuros, os filmes A e B se mostraram mais avermelhados (ou menos esverdeados) e menos amarelados que o filme controle, revelando uma cor intermediária próxima do marrom (Figura 1). O filme B, com maior quantidade de extrato adicionado (20%), obteve valores significativamente maiores para  $a^*$  e  $b^*$ , relativos às cores vermelha e amarela, se comparado ao filme A (com 10% de extrato). Tanto os valores de  $a^*$  quanto os de  $b^*$  diferiram significativamente se comparados os três filmes produzidos.

**Fig. 1.** Imagens dos filmes à base de FRM produzidos nas condições controle, A e B.



Fonte: Autora, 2019.

Nouraddini; Esmaili; Mohtarami (2018) obtiveram um alto valor de luminosidade ( $L^*$ :  $90,60 \pm 0,05$ ) para o filme controle à base de amido de milho. Esse valor se mostrou divergente ao encontrado neste estudo, o que pode estar relacionado ao fato que nesta pesquisa não foi utilizado amido puro e sim resíduo agroindustrial do processamento industrial da mandioca, que contém outros componentes além do amido. Estes autores identificaram também que a adição de farinha de berinjela acarretou o escurecimento dos filmes (redução do  $L^*$ ). A adição da farinha levou a uma maior tendência avermelhada e amarelada, decorrente da natureza da matéria-prima e da presença de compostos fenólicos, assim como das reações de escurecimento (OTONI et al., 2017), devido ao aquecimento nas etapas de produção e secagem dos filmes. Xu et al. (2018) identificaram a adição do extrato de bagaço de uva provocou alterações mais significativas nesses parâmetros que os nanocristais de celulose, com relação direta do tipo de extrato e reforçando que a inclusão

de compostos fenólicos escurece os filmes. Outros autores também observaram o mesmo fenômeno, como Du et al. (2011) que detectaram um escurecimento e um maior caráter amarelo avermelhado ao adicionar maiores concentrações de polifenóis da casca de maçã em filmes comestíveis. Já Ortega et al. (2017) obtiveram resultados com alterações significativas ao incorporar nanopartículas (NPs) de prata aos filmes de amido, observando redução no parâmetro  $L^*$  com o aumento da concentração das NPs, além do aumento do  $a^*$  e basicamente a permanência do valor  $b^*$ .

O ângulo Hue (Tabela 5) indicou que o filme controle apresentou uma tonalidade amarelada, mais próximo do ângulo de  $90^\circ$ , enquanto os filmes contendo extrato e nanopartículas tiveram esse valor reduzido, se aproximando da tonalidade amarelo laranja (ângulo de Hue para os filmes A e B não diferiram estatisticamente). Quanto ao chroma ( $C^*$ ), que indica intensidade ou saturação da cor, foi possível perceber que houve redução deste valor se comparado ao controle indicando que os aditivos incorporados aos filmes A e B (extrato e nanoZnO) tornaram as cores menos intensas. A adição de menor volume do extrato interferiu na intensidade da cor do filme A, enquanto que a incorporação de maior volume do extrato ao filme B promoveu significativamente maior vivacidade da cor.

No filme B, cuja única diferença para o A foi a adição de maior quantidade de extrato (20%), o tom amarelo aumentou assim como o avermelhado. Esse comportamento indicou que possivelmente houve interação das nanopartículas e do extrato a 10% com a matriz filmogênica no filme A (levando à redução de  $b^*$  e  $C^*$ , mas com aumento de  $a^*$ ). Contudo, ao adicionar apenas maior volume de extrato (Filme B) o tipo de interação mudou, e a quantidade extra de extrato foi capaz de levar ao aumento em  $b^*$  e  $C^*$ ), apesar de ambos os filmes A e B terem mostrado comportamentos semelhantes na redução de  $b^*$  (tom amarelo) e  $C^*$  quando comparados ao controle.

Quanto à diferença total de cor ( $\Delta E$ ) mostrada na Tabela 6, notou-se que a diferença de cor dos filmes A e B em relação ao controle não diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) e, no geral, a alteração na cor de ambos os filmes foi muito semelhante. Por fim, com relação à diferença de cor entre os filmes B para o A, evidencia-se que foi estatisticamente inferior à diferença de cor de cada filme comparado ao controle. Portanto, a alteração de cor do filme B comparado ao A foi sutil se comparada a diferença de ambos os filmes para o controle.

**Tabela 6** - Diferença total de cor ( $\Delta E$ ) para os filmes produzidos à base de FRM.

<b>Filmes</b>	<b><math>\Delta E</math></b>
<b>Filme A com relação ao controle</b>	21,682 $\pm$ 4,375 <sup>a</sup>
<b>Filmes B com relação ao controle</b>	16,511 $\pm$ 1,882 <sup>a</sup>
<b>Entre os filmes A e B</b>	7,931 $\pm$ 2,609 <sup>b</sup>

\*Descrição das condições analisadas: controle (5,0% FRM e 2,0% glicerol); A (5,0% FRM; 10% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol), B (5,0% FRM; 20,0% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol).

\*\*Letras iguais na vertical não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan.

### 3.5.4 Espessura, opacidade e transmissão de luz

O controle da espessura permite alcançar uma maior uniformidade dos filmes, assim como traz referências significativas para o estudo da resistência mecânica destes (SILVA et al., 2019), interferindo nas propriedades mecânicas e de barreira e consequentemente no desempenho da embalagem (PERAZZO et al., 2014). Revestimentos de maior espessura em frutas podem garantir maior resistência a tensões externas e maior proteção, como avaliado no estudo de Silva et al. (2019).

Os filmes à base de FRM, seriguela e nanopartículas de ZnO foram caracterizados quanto à espessura (Tabela 7), sendo que esta apresentou diferença significativa apenas entre os filmes B e Controle ( $p < 0,05$ ). No estudo de Nouraddini; Esmaili; Mohtarami (2018), que utilizaram na etapa de secagem aproximadamente a mesma quantidade de solução filmogênica e placas de diâmetro similar às utilizadas nesta pesquisa, os filmes produzidos apenas com amido (sem adição de farinha de berinjela) obtiveram espessuras semelhantes (0,244 mm) à encontrada para o filme controle deste trabalho (Tabela 7).

**Tabela 7** - Espessura e opacidade dos filmes produzidos à base de FRM.

<b>Filmes</b>	<b>Espessura (mm)</b>	<b>Opacidade (Abs 600nm/Espessura em mm)</b>
<b>Controle (0% extrato)</b>	0,290 ±0,007 <sup>b</sup>	3,919 ±0,295 <sup>c</sup>
<b>Condição A (10% extrato)</b>	0,300 ±0,012 <sup>ab</sup>	11,280 ±0,246 <sup>a</sup>
<b>Condição B (20% extrato)</b>	0,316 ±0,003 <sup>a</sup>	8,092 ±0,595 <sup>b</sup>

\*Descrição das condições analisadas: controle (5,0% FRM e 2,0% glicerol); A (5,0% FRM; 10% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol), B (5,0% FRM; 20,0% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol).

\*\*Letras iguais na vertical não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan.

No estudo de Perazzo et al. (2014) a incorporação de extrato de chá verde em filmes de amido de mandioca levou à uma significativa redução na espessura destes filmes com relação ao controle (contendo apenas amido), resultado diferente do encontrado neste trabalho (Tabela 7) em que a adição de 20% do extrato de resíduo de seriguela mais o nanoZnO a 0,5% (condição B) levou a um aumento significativo da espessura comparado com o filme controle, apesar da manutenção de praticamente a mesma espessura se observados o filme A e controle e os filmes A e B, o que demonstra que as nanopartículas interferiram nessa propriedade. Nouraddini; Esmaili; Mohtarami (2018) também identificaram que o aditivo utilizado (farinha de berinjela) reduziu a espessura dos filmes aditivados. Silva et al. (2019) explicam que o espaço entre as cadeias, que interfere na espessura final do filme, é alterado pelo tipo de composto adicionado e sua quantidade, que podem, por exemplo, favorecer a interação entre grupos hidrofílicos, reduzir as interações entre as cadeias de um mesmo polímero, alterar a viscosidade da solução.

A opacidade ou a transparência, assim como a cor, são propriedades importantes durante o desenvolvimento de embalagens para alimentos (ORTEGA et al., 2017), estando a opacidade diretamente interligada ao grau de homogeneidade do filme e assim dependente dos processos de formulação e fabricação deste material (FRIESEN; CHANG; NICKERSON, 2015). Quanto maior o valor da opacidade, menor o grau de transparência (SURIYATEM; AURAS; RACHTANAPUM, 2018; XU et al., 2018). Nos filmes à base de amido, a opacidade se manifesta por alterações de cor que ocorrem na etapa de

gelatinização de carboidratos por causa da ruptura do grânulo de amido cristalino, obtendo-se assim um gel opaco (SILVA et al., 2019). Os valores de opacidade para os filmes ativos produzidos neste trabalho são mostrados na Tabela 7.

A opacidade foi maior nos filmes contendo extrato de resíduo de seriguela e nanoZnO quando comparados ao filme controle, ou seja, os filmes contendo aditivos apresentaram menor transparência. Resultados semelhantes foram obtidos por Xu et al. (2018), em que a adição de extratos de bagaço de uva e nanocristais de celulose aos filmes à base de amido de tapioca aumentou significativamente a opacidade destes, revelando o efeito aditivo desses compostos à esta propriedade. Similarmente, Friesen; Chang; Nickerson (2015) identificaram que a adição de compostos fenólicos aumentava a opacidade dos filmes. Portanto, ambos os filmes (A e B) contendo extrato e nanoZnO tiveram o mesmo comportamento com relação ao controle e mostraram-se significativamente mais opacos que este (Tabela 7). Nouraddini; Esmaili; Mohtarami (2018) obtiveram uma maior opacidade com a incorporação de farinha de berinjela à filmes de amido de milho, e este resultado foi remetido à composição da matéria-prima e aos compostos fenólicos, proteínas, lipídeos e fibras presentes na farinha que possivelmente se agregaram à matriz do filme, reduzindo sua transparência.

Comparando-se o filme B e A, a redução significativa da opacidade possivelmente está ligada à perdas de compostos que levam ao escurecimento, durante a secagem, visto que os filmes produzidos na condição B tornavam-se visualmente mais fluidos devido à grande quantidade de extrato líquido adicionado após a formação da estrutura filmogênica, portanto mais compostos tinham possibilidade de serem perdidos ou arrastados junto com a água no aquecimento a 50°C (durante preparo da solução) ou secagem dos filmes.

Maiores valores de opacidade podem ser desejáveis no caso de filmes que visam aplicação como embalagens para alimentos com sensibilidade à luz, visto que uma menor transparência oferece melhor barreira à luz e ajuda na prevenção contra oxidação lipídica impulsionada por ela (XU et al., 2018).

Quanto à transmissão de luz, os resultados são mostrados na Tabela 8. A adição do extrato de resíduo de seriguela e do nanoZnO aos filmes A e B provocou uma significativa redução na transmissão de luz através dos filmes produzidos nestas condições em

comparação com o filme controle, para os comprimentos de onda de 800 a 350 nm. Isso pode conferir maior proteção em relação à luz visível para os alimentos embalados por esses materiais.

Com relação aos comprimentos de onda 280 e 200nm ocorreu um leve, mas significativo acréscimo nos valores dos filmes A e B comparados com o controle, contudo esse pode ser considerado um incremento não tão drástico quanto as reduções ocorridas nos comprimentos de onda superiores (comparando-se com o controle), por exemplo em 800nm a redução na transmissão de luz ocorrida do controle para o filme A foi em torno de 98% enquanto em 280nm o aumento foi de aproximadamente 41%. Possivelmente a estrutura formada nas condições dos filmes A e B (adicionados de extrato que pode aumentar a mobilidade das moléculas) comparando com a controle, foi suficiente para permitir um sutil aumento na passagem da luz com comprimentos de onda menores, mas não o bastante para os maiores. Além disso, os baixíssimos valores de transmissão de luz nessa região (200 a 280) encontrados para os três filmes podem conferir ao filme propriedade importante de proteção à luz ultravioleta – UV.

**Tabela 8** – Transmissão de luz (%) dos filmes produzidos à base de FRM.

Comprimento de onda (nm)	Transmissão de luz (%)		
	Filme controle	Filme condição A	Filme condição B
800	8,551 ±0,522 <sup>aA</sup>	0,158 ±0,021 <sup>cA</sup>	0,944 ±0,041 <sup>bA</sup>
700	7,931 ±0,337 <sup>aA</sup>	0,100 ±0,013 <sup>cC</sup>	0,646 ±0,012 <sup>bB</sup>
600	6,712 ±0,116 <sup>aB</sup>	0,048 ±0,011 <sup>cD</sup>	0,362 ±0,003 <sup>bC</sup>
500	5,729 ±1,021 <sup>aC</sup>	0,017 ±0,006 <sup>bE</sup>	0,125 ±0,011 <sup>bF</sup>
400	2,917 ±0,366 <sup>aD</sup>	0,038 ±0,003 <sup>bD</sup>	0,065 ±0,007 <sup>bG</sup>
350	0,660 ±0,241 <sup>aE</sup>	0,146 ±0,018 <sup>bBA</sup>	0,200 ±0,005 <sup>bD</sup>
280	0,095 ±0,009 <sup>cE</sup>	0,134 ±0,006 <sup>bB</sup>	0,169 ±0,007 <sup>aE</sup>
200	0,104 ±0,015 <sup>cE</sup>	0,147 ±0,006 <sup>bAB</sup>	0,176 ±0,008 <sup>aDE</sup>

\*Descrição das condições analisadas: controle (5,0% FRM e 2,0% glicerol); A (5,0% FRM; 10% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol), B (5,0% FRM; 20,0% extrato; 0,5% nanoZnO; 2,0% glicerol).

\*\*Letras minúsculas (abc) iguais na horizontal não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan, e letras maiúsculas (ABC) iguais na vertical não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan.

Resultados semelhantes foram identificados por Nouraddini; Esmaili; Mohtarami (2018), em cujo estudo a maior porcentagem de transmissão de luz ocorreu nos filmes de amido de milho puro e a adição de farinha de berinjela reduziu a transmissão de luz dos filmes. Isto foi associado à presença dos compostos de pigmentos naturais e ao conteúdo de farinha disponíveis (que podem ocupar espaços) para agir como barreira à luz, o que reforçaria a utilização desses filmes para prevenção da oxidação impulsionada por esta.

Nesse mesmo estudo, os autores também notaram que entre 200 e 400 nm (região UV) a transmissão de luz dos filmes aditivados com farinha de berinjela obteve valores insignificantes, e que o aumento no comprimento de onda acima dos 400nm (região da luz visível) foi acompanhado pelo aumento no percentual de transmissão. Este resultado também pôde ser notado no presente estudo, se comparados os valores obtidos separadamente para cada condição (direção vertical na Tabela 8), em que tanto para o controle quanto para os filmes A e B o percentual de transmissão de luz aumentou em geral significativamente à medida que aumentava o comprimento de onda (analisando de 500 a 800nm). Valores abaixo de 400 nm, observando uma mesma coluna (mesma condição), mostraram que as diferenças se tornavam menos significativas entre os resultados para diferentes comprimentos de onda.

Quanto as nanopartículas de ZnO, estas também podem ter influenciado na redução da porcentagem de transmissão de luz dos filmes A e B comparados ao controle (Tabela 8). Fazeli; Keley; Biazar (2018), por exemplo, observaram que a adição de nanofibras de celulose aos filmes à base de amido provocaram a redução da transmissão de luz tornando assim os filmes menos transparentes.

Comparando-se os filmes A e B é possível perceber que houve um significativo aumento da transmissão de luz no filme B com relação ao A nos comprimentos de onda localizados nos extremos – altos (800, 700 e 600nm) e baixos (280 e 200nm) – enquanto os intermediários permaneceram com diferenças não significativas, apesar dos valores para B terem sido maiores que A (Tabela 8). Isto possivelmente pode estar ligado a mais ou maiores espaços para passagem da luz na estrutura do filme produzido na condição B, devido à adição de maior quantidade de extrato hidroetanólico (20%) que pode ter interferido na organização ou disposição da matriz previamente formada (solução de B



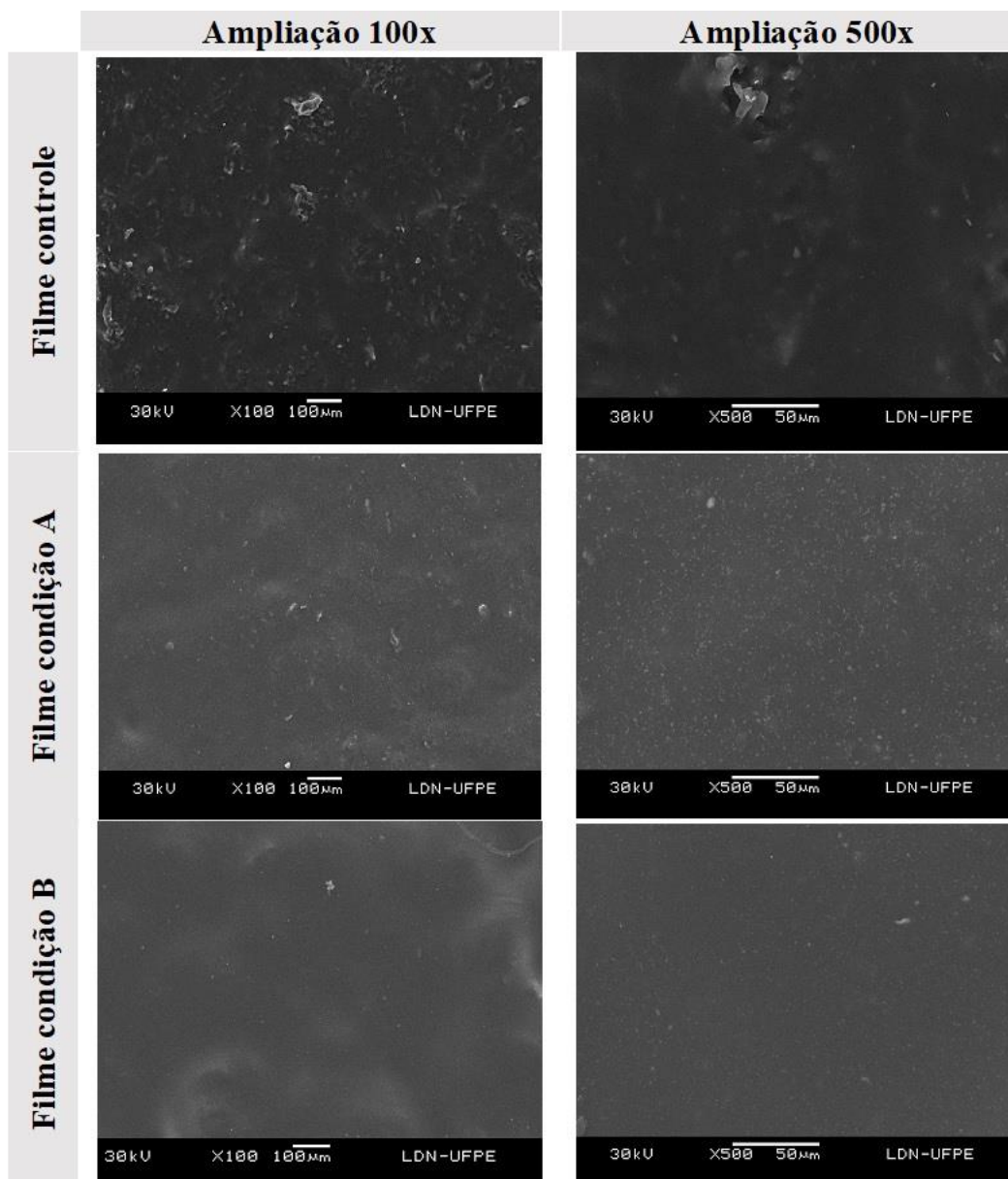
mais fluida que a solução do filme A). Xu et al. (2018) explicam que maiores quantidades de extrato podem aumentar a mobilidade das macromoléculas na estrutura filmogênica.

Uma pequena redução na opacidade (maior transparência) também foi notada para o filme B com relação ao A (Tabela 7), o que corrobora com os resultados para transmissão de luz. Apesar do incremento na transmissão de luz do filme B para o A, a redução da transmissão de luz sofrida do controle para os filmes aditivados (para valores iguais e acima de 350nm) foi o aspecto mais relevante observado nesses resultados. A capacidade de absorção de luz dos filmes, conseqüentemente menor transmissão de luz, é relevante para prolongar a vida de prateleira dos alimentos gordurosos que são suscetíveis à degradação oxidativa acelerada pela presença de luz (DICK et al., 2015). Assim, a baixa transmissão de luz dos filmes aditivados com extrato de resíduo de seriguela e nanoZnO mostram potencial aplicação na proteção desse tipo de alimento.

### **3.5.5 Uniformidade (microscopia eletrônica de varredura - MEV)**

A partir das imagens obtidas nas micrografias das superfícies dos filmes (Figura 2), observou-se a presença de aglomerados no filme controle, cuja superfície se mostrou heterogênea e com pouca uniformidade.

**Fig. 2.** Imagens obtidas a partir da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da superfície dos filmes produzidos à base de FRM.



Fonte: Laboratório de Dispositivos e Nanoestruturas – LDN, UFPE, 2019.

É possível que não tenha ocorrido a gelatinização completa de todos os grânulos de amido presentes, ocorrendo o agregamento destes; ou mesmo, que outras partículas não solúveis em água presentes no resíduo da mandioca tenham se aglomerado (por afinidade ou pelo peso molecular – precipitados ou sobrenadantes) durante o processo de elaboração e secagem dos filmes. Gutiérrez; Alvarez (2018) explicam que nem todas as condições de processo atingem a gelatinização total do amido.

Medina-Jaramillo et al. (2017), em estudo com filmes à base de amido, comentam que o extrato de manjeriço teve menor interação com a matriz e alguns sólidos presentes

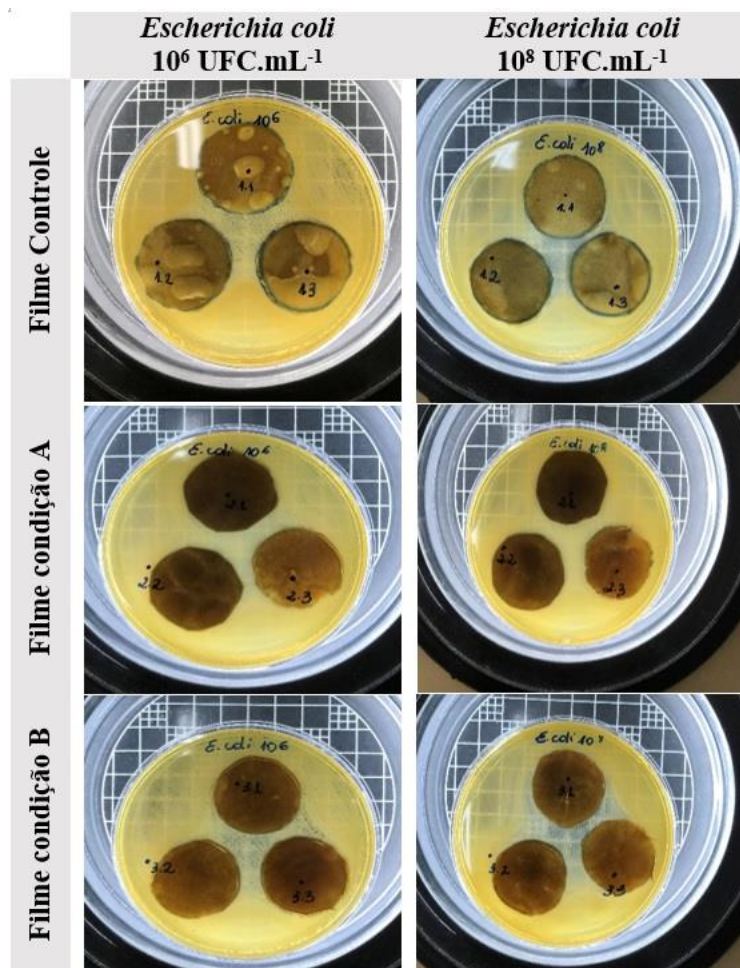
nesse extrato (não solúveis em água) provavelmente migraram para a superfície do filme (devido ao baixo peso molecular), fornecendo superfície rugosa ao material. Portanto, a migração de partículas (provenientes da farinha de resíduo de mandioca e do extrato de resíduos de seriguela) para superfície do filme, pode ter influenciado nas características táteis dos filmes (controle, A e B) que apresentaram superfícies rugosas e ásperas.

Quanto à estrutura da superfície dos filmes produzidos nas condições A e B (Figura 2), foi possível verificar que a adição do nanoZnO e do extrato hidroetanólico de resíduo de seriguela levou à formação de superfícies mais uniformes e homogêneas (se comparadas ao controle) sem a presença de grandes aglomerados, o que indica que os compostos fenólicos presentes no extrato estavam bem dispersos na matriz de amido por meio de ligações de hidrogênio. Este comportamento é semelhante as observações feitas por Feng et al. (2018), cuja microscopia (MEV) dos filmes de amido contendo polifenóis de chá revelou que houve uma boa dispersão destes compostos na estrutura filmogênica e que esse comportamento era esperado devido à sua natureza hidrofílica e hidrossolubilidade, o que levou a superfícies mais ordenadas. Observando a Figura 2 (em todas as ampliações) é possível notar que o filme B (com maior quantidade de extrato adicionado) gerou uma superfície ainda mais uniforme que o filme A, com redução de pequenos aglomerados e melhor distribuição das partículas presentes, como o nanoZnO. Outra característica importante dos filmes A e B mostrada na Figura 2 é que também foi possível notar uma boa dispersão/distribuição das nanopartículas ao longo da superfície de ambos os filmes, revelando que o nanoZnO teve uma boa incorporação à estrutura da matriz de amido.

### 3.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES

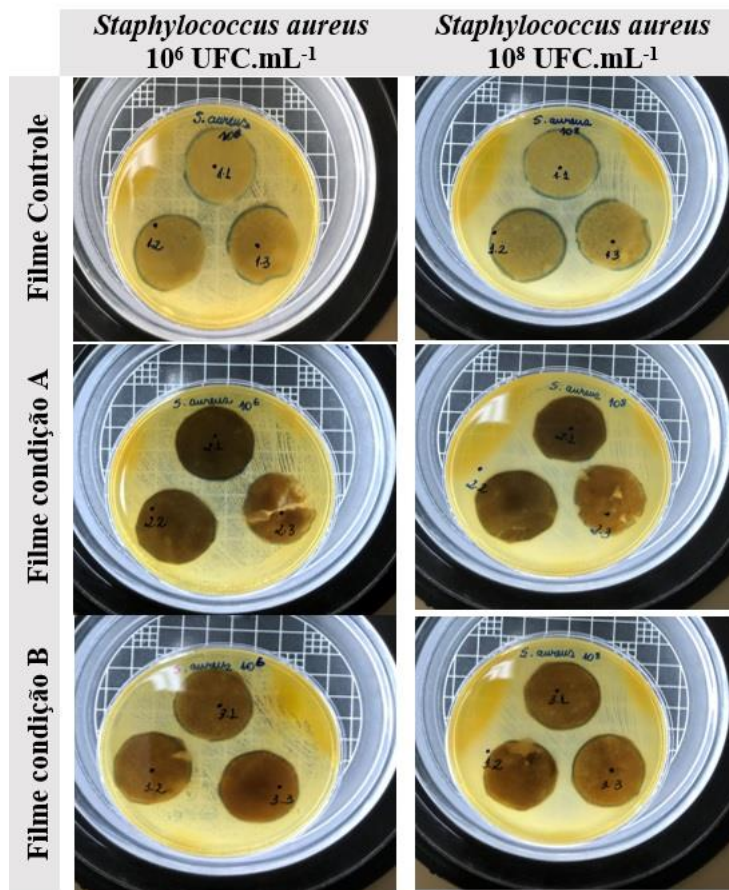
Muitos extratos naturais, obtidos a partir de fontes vegetais, vem sendo estudados devido à sua ação antimicrobiana (STEINER et al., 2017). Neste panorama, os compostos fenólicos provenientes de resíduos agroindustriais vêm recebendo grande atenção (POVEDA et al., 2018). Outro tipo de material que vem sendo incorporado em sistemas de embalagem nos últimos anos devido ao seu potencial antimicrobiano são as nanopartículas, como exemplo o nanoZnO com vasto espectro de ação (KANMANI; RHIM, 2014). Os resultados obtidos para ação antimicrobiana, contra cepas de *E.coli* e *S. aureus*, dos filmes produzidos neste estudo, incorporados com extrato de resíduo de seriguela e nanoZnO, podem ser observados nas Figuras 3 e 4.

**Fig. 3:** Ação antimicrobiana dos filmes à base de FRM contra cepa de *E. coli* na concentração  $10^6$  e  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> após 48h de incubação.



Fonte: Autora, 2019.

**Fig. 4:** Ação antimicrobiana dos filmes à base de FRM contra cepa de *S. aureus* na concentração  $10^6$  e  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> após 48h de incubação.



Fonte: Autora, 2019.

Por meio da metodologia utilizada, a ação antimicrobiana é identificada pela presença do halo de inibição ao redor dos discos dos filmes. Contudo, conforme pode-se observar nas Figuras 3 e 4, não houve a formação do halo de inibição em nenhuma das condições testadas (ausência do halo). Apesar de não ter ocorrido uma inibição total do crescimento microbiano nestas concentrações de extrato e nanoZnO, ainda foi possível identificar que houve uma inibição parcial com redução do crescimento microbiano, notada pelas zonas de cor mais clara no centro (entre os filmes) e no entorno dos discos, além de um menor aglomerado de células nessas mesmas regiões. Essa observação se aplica a ambas as cepas em ambas as concentrações e aos três filmes produzidos, porém, a ação mais efetiva ocorreu contra *S. aureus* – Figura 4 (bactéria Gram-positiva) comparando com *E. coli*- bactéria Gram-negativa - (Figura 3), visto que houve além de uma maior área de redução do crescimento, uma inibição do pigmento dourado característico produzido pelo

*S. aureus* no meio de cultura. Segundo Lan et al. (2010), o pigmento dourado, ou laranja amarelado, produzido por esse microrganismo tem sido associado à virulência. Esses resultados demonstram a efetividade dos filmes para retardar o desenvolvimento microbiano e assim o aumentar a vida útil dos alimentos.

Du et al. (2011) observaram em seus resultados que 1,5% de polifenóis da casca de maçã em filmes comestíveis foi suficiente para inativar o crescimento de *L. monocytogenes* (Gram-positiva), e que apesar de utilizar 10% de polifenóis nos testes contra *E. coli*, essa quantidade não foi suficiente para inibir seu crescimento. Os autores explicam que o efeito inibitório de compostos fenólicos de extratos obtidos a partir de plantas é mais efetivo em bactérias Gram-positivas do que em Gram-negativas como *E. coli*, devido ao fato das primeiras apresentarem membrana celular de estrutura simples que faz com que sejam mais sensíveis a estes compostos, enquanto o segundo grupo possui uma camada externa de lipopolissacarídeo que pode desfavorecer a ação. Feng et al. (2018), em estudo com filmes à base de amido adicionados de polifenóis do chá, apesar de terem detectado inibição para *E. coli*, os resultados indicaram que o *S. aureus* foi mais sensível aos polifenóis do chá mesmo em baixas concentrações, reforçando uma maior eficiência dos polifenóis para Gram-positivas.

Hu et al. (2019) demonstraram que filmes de amido incorporados com nanopartículas (NPs) de ZnO-quitosana apresentaram atividade antimicrobiana contra *E. coli* (inibição de 20 a 65%) e *S. aureus* (inibição de 25 a 100%) utilizando concentrações de 1 a 5% das nanopartículas e que a atividade antimicrobiana das NPs híbridas dependia principalmente do ZnO. Ortega et al. (2017) citam que a ausência de halo de inibição pode ser um indicativo que não houve adequada difusão da substância ativa para o meio de cultura, havendo um bom aprisionamento das NPs na matriz do filme, e que isso pode estar conectado ao uso de pequena quantidade de nanopartículas. É possível então que o aumento na concentração de nanoZnO nos filmes do presente estudo venha a melhorar sua atividade antimicrobiana.

Muitos autores já comprovaram a ação antimicrobiana do nanoZnO contra um amplo espectro de microrganismos, como *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogenese* e cepas de *Campylobacter* (AKBAR; ANAL, 2014; SHANKAR et al., 2015; ESMAILZADEH et al., 2016; DUFFY et al., 2018). Esses resultados demonstram, portanto, que há um potencial

antimicrobiano nos filmes aditivados com extrato de resíduo de seriguela e nanoZnO que justifiquem um estudo mais aprofundado das condições de produção dos filmes, e que a quantidade utilizada de extrato (ou melhor, a baixa retenção de fenólicos no filme) e especialmente a quantidade de nanoZnO não foi suficiente para inibição completa dos microrganismos testados. A ação dos filmes produzidos à base de FRM, portanto, pode ser considerada bacteriostática para os microrganismos testados.

Por fim, uma ação no filme controle (contendo apenas a farinha de resíduo de mandioca, glicerol e água) também foi notada, similarmente aos filmes A e B, que possivelmente pode estar interligada aos compostos fenólicos presentes no filme controle (detectados durante a análise de quantificação de fenólicos no filme realizada neste trabalho). A atividade apresentada pelo filme controle reforça que a quantidade adicionada de nanoZnO (e extrato) aos filmes A e B não foi suficiente para ocorrer diferenças relevantes/significativas na inibição provocada pelos filmes aditivados comparando-se com o filme controle. Outro ponto é que a quantidade adicional de extrato produziu uma inibição maior, porém discreta, no crescimento de *E. coli* se comparado o filme B com o filme A em ambas as concentrações.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resíduos agroindustriais de mandioca e de seriguela apresentaram grande potencial de aproveitamento, associado ao significativo teor de amido no resíduo de mandioca, e no extrato dos resíduos do processamento de seriguela obteve-se um alto teor de fenólicos e forte capacidade antioxidante (>70%), mostrando-se um promissor antioxidante natural para aplicação em filmes ativos..

Filmes de resíduos de mandioca caracterizaram-se pela fácil manuseabilidade, superfície uniforme com boa dispersão dos aditivos, obtidos a partir de uma metodologia simples e utilizando matérias-primas de baixo custo. Entretanto, a capacidade de retenção dos compostos fenólicos, presentes em alta concentração no extrato incorporado aos filmes, foi baixa, levando à fraca capacidade antioxidante dos filmes. Diante disso, a propriedade ativa referente à ação antioxidante desses materiais precisa ser melhor explorada. Além de ajustes na metodologia, o uso de *blending* aparece como uma das alternativas potencialmente promissoras para melhorar essa característica e também a solubilidade em água, que manteve-se alta mesmo com o reforço do nanoZnO.

A permeabilidade foi uma propriedade relevante nos filmes de amido à base de FRM visto que a barreira ao vapor de água foi eficiente. O extrato e o nanoZnO modificaram também as propriedades ópticas dos filmes, tornando-os mais escuros, opacos e amarronzados, além de promoverem maior proteção contra luz e assim contra deterioração oxidativa. Por fim, a inibição parcial no desenvolvimento (ação bacteriostática) dos microrganismos *S. aureus* e *E. coli* mostrou que há viabilidade e potencial de aplicação do nanoZnO e do extrato para uso em filmes com ação antimicrobiana. Portanto, diante dos resultados obtidos, os filmes demonstraram grande potencial de uso como embalagens ativas, que podem ser aplicadas, por exemplo, em alimentos gordurosos como manteigas, queijos e embutidos de carne, ou em preparações prontas para consumo, frutas, etc.



## REFERÊNCIAS

AKBAR, A.; ANAL, A. K. Zinc oxide nanoparticles loaded active packaging, a challenge study against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat poultry meat. **Food Control**. v. 38, p. 88 – 95, 2014.

ALBUQUERQUE, J. G. de; DUARTE, A. M.; CONCEIÇÃO, M. L. da; AQUINO, J. de S. Integral utilization of seriguela fruit (*Spondias purpurea L.*) in the production of cookies. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP. v. 38, n. 3: e-229, p. 1 – 7, 2016.

AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Starchegelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**. v. 26, p. 108 – 117, 2012.

ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A.; LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**. v. 44, p. 2155 – 2159, 2011.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, **ASTM**. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting: D882, Annual book of ASTM Standards. Philadelphia, USA: ASTM, 2001.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, **ASTM**. Standard test method for water vapor transmission of materials: E96-95, Annual book of ASTM Standards. Philadelphia, USA: ASTM, 1995.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução **RDC nº 263**, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. D.O.U. – Diário Oficial da União, Brasília – DF, de 23 de setembro de 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, **AOAC**. Official Methods of Analysis, 19th ed. Maryland: Association of Official Analytical Chemists, AOAC, 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, **AOAC**. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (method 920.39C). Arlington: A.O.A.C., 1995, chapter 33. p. 10 – 12.

AUGUSTO, P. E. D.; CRISTIANINI, M.; IBARZ, A. Effect of temperature on dynamic and steady-state shear rheological properties of siriguela (*Spondias purpurea L.*) pulp. **Journal of Food Engineering**. v. 108, p. 283 – 289, 2012.

BABBAR, N.; OBEROI, H. S.; UPPAL, D. S.; PATIL, R. T. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**. v. 44, p. 391 – 396, 2011.

BENBETTAÏEB, N.; TANNER, C.; CAYOT, P.; KARBOWIAK, T.; DEBEAUFORT, F. Impact of functional properties and release kinetics on antioxidant activity of biopolymer active films and coatings. **Food Chemistry**. v. 242, p. 369 – 377, 2018.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use os a Free Radical Method to Evaluate. **Lebensmittel Wissenschaft and Tchnologies**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CAETANO, K. S.; LOPES, N. A.; COSTA, T. M. H.; BRANDELLI, A.; RODRIGUES, E.; FLÔRES, S. H.; CLADERA-OLIVEIRA, F. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. **Food Packaging and Shelf Life**. v. 16, p. 138 – 147, 2018.

CAN-CAUICH, C. A.; SAURI-DUCH, E.; BETANCUR-ANCONA, D.; CHEL-GERRERO, L.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; CUEVAS-GLORY, L. F.; PÉREZ-PACHECO, E.; MOO-HUCHIN, V. M. Tropical fruit peel powders as functional ingredients: Evaluation of their bioactive compounds and antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**. v. 37, p. 501 – 506, 2017.

CAO, N.; FU, Y.; HE, J. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. **Food Hydrocolloids**. v.21, p. 575–584, 2007.

CEREDA, M. P.; DAIUTO, E. R.; VILPOUX, O. **Metodologia de determinação de amido digestão ácida em microondas**. ABAM: Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca, ano II, n.8, 2004.

CHAN, S. Y.; GOH, C. F.; LAU, J. Y.; TIEW, Y. C.; BALAKRISHNAN, T. Rice starch thin films as a potential buccal delivery system: Effect of plasticiser and drug loading on drug release profile. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 562, p. 203 – 211, 2019.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. **Food Hydrocolloids**. v. 38, p. 20 – 27, 2014.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch e Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. **Food Hydrocolloids**. v. 28, p. 59 – 67, 2012.

DAI, L.; ZHANG, J.; CHENG, F. Effects of starches from different botanical sources and modification methods on physicochemical properties of starchbased edible films. **International Journal of Biological Macromolecules**. Accepted manuscript, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.197>, 2019.

DEBIAGI, F.; KOBAYASHI, R.K.T.; NAKAZATO, G.; PANAGIO, L.A.; MALI, S. Biodegradable active packaging based on cassava bagasse, polyvinyl alcohol and essential oils. **Industrial Crops and Products**. v. 52, p. 664–670, 2014.

DICK, M.; COSTA, T. M. H. C.; GOMAA, A.; SUBIRADE, M.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 198-205, 2015.

DU, W. X.; OLSEN, C. W.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; FRIEDMAN, M.; McHUGH, T. H. Physical and Antibacterial Properties of Edible Films Formulated with Apple Skin Polyphenols. **Journal of Food Science**. v. 76, n. 2, p. 149 – 155, 2011.

DUFFY, L. L.; OSMOND-MCLEOD, M. J.; JUDY, J.; KING, T. Investigation into the antibacterial activity of silver, zinc oxide and copper oxide nanoparticles against poultry-relevant isolates of *Salmonella* and *Campylobacter*. **Food Control**. v. 92, p. 293 – 300, 2018.

DUTRA, R. L. T.; DANTAS, A. M.; MARQUES, D. de A.; BATISTA, J. D. F.; MEIRELES, B. R. L. de A.; CORDEIRO, A. M. T. de M.; MAGNANI, M.; BORGES, G. da S. C. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**. v. 100, p. 650 – 657, 2017.

ENGELS, C.; GRÄTER, D.; ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M.; GÄNZLE, M. G.; SCHIEBER, A. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea L.*) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Food Research International**. v. 46, p. 557 – 562, 2012.

ESMAILZADEH, H.; SANGPOUR, P.; SHAHRAZ, F.; HEJAZI, J.; KHAKSAR, R. Effect of nanocomposite packaging containing ZnO on growth of *Bacillus subtilis* and *Enterobacter aerogenes*. **Materials Science and Engineering C**. v. 58, p. 1058 – 1063, 2016.

FANG, Y., TUNG, M. A., BRITT, I. J., YADA, S., & DALGLEISH, D. G. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 1, p. 188-193, 2002.

FARZANA, R.; RAJARAO, R.; HASSAN, K.; BEHERA, P. R.; SAHAJWALLA, V. Thermal nanosizing: Novel route to synthesize manganese oxide and zinc oxide nanoparticles simultaneously from spent Zn-C battery. **Journal of Cleaner Production**. v. 196, p. 478 – 488, 2018.

FAZELI, M.; KELEY, M.; BIAZAR, E. Preparation and characterization of starch-based composite films reinforced by cellulose nanofibers. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 116, p. 272 – 280, 2018.

FENG, M.; YU, L.; ZHU, P.; ZHOU, X.; LIU, H.; YANG, Y.; ZHOU, J.; GAO, C.; BAO, X.; CHEN, P. Development and preparation of active starch films carrying tea polyphenol. **Carbohydrate Polymers**. v. 196, p. 162 – 167, 2018.

FIORDA, F. A.; SOARES JÚNIOR, M. S.; DA SILVA, F. A.; SOUTO, L. R. F.; GROSSMANN, M. V. E. Farinha de bagaço de mandioca: aproveitamento de subproduto e comparação com fécula de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. v. 43, n. 4, p. 408-416, 2013.

FRIESEN, K.; CHANG, C.; NICKERSON, M. Incorporation of phenolic compounds, rutin and epicatechin, into soy protein isolate films: Mechanical, barrier and cross-linking properties. **Food Chemistry**. v. 172, p. 18 – 23, 2015.

GUTIÉRREZ, T. J.; ALVAREZ, V. A. Bionanocomposite films developed from corn starch and natural and modified nano-clays with or without added blueberry extract. **Food Hydrocolloids**. v. 77, p. 407 – 420, 2018.

HAAS, I. C. S.; TOALDO, I. M.; BURIN, V. M.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Extraction optimization for polyphenolic profiling and bioactive enrichment of extractives of non-pomace residue from grape processing. **Industrial Crops & Products**. v. 112, p. 593 – 601, 2018.

HASSAN, B.; CHATHA, S. A. S.; HUSSAIN, A. I.; ZIA, K. M.; AKHTAR, N. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 109, p. 1095 – 1107, 2018.

HU, X.; JIA, X.; ZHI, C.; JIN, Z.; MIAO, M. Improving the properties of starch-based antimicrobial composite films using ZnO-chitosan nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**. v. 210, p. 204 – 209, 2019.

JOUKI, M.; YAZDI, F., T.; MORTAZAVI, S., A.; KOOCHEKI, A.; KHAZAEI, Z. Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets, **International Journal of Food microbiology**, v. 174, p. 88–97, 2014.

KANMANI, P.; RHIM, J-W. Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**. v. 106, p. 190 – 199, 2014.

LAN, L.; CHENG, A.; DUNMAN, P. M.; MISSIAKAS, D.; HE, C. Golden Pigment Production and Virulence Gene Expression Are Affected by Metabolisms in *Staphylococcus aureus*. **Journal of bacteriology**. v. 192, n. 12, p. 3068 – 3077, 2010.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Extração da fécula retida no resíduo fibroso do processo de produção de fécula de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**. v. 20, n.1, p.122-127, 2000.

LIMA, A. C. S.; VIANA, J. D. R.; SABINO, L. B. S.; SILVA, L. M. R.; SILVA, N. K. V.; SOUSA, P. H. M. Processing of three different cooking methods of cassava: Effects on *in vitro* bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**. v. 76, p. 253 – 258, 2017.

LIU, X.; LUAN, S.; LI, W. Utilization of waste hemicelluloses lye for superabsorbent hydrogel synthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 132, p. 954 – 962, 2019.

LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; MEDINA-JARAMILLO, C.; PIÑEROS-HERNANDEZ, D.; GOYANES, S. Cassava starch films containing rosemary nanoparticles produced by solvent displacement method. **Food Hydrocolloids**. v. 71, p. 26 – 34, 2017.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; GÓMEZ-ESTACA, J.; CATALÁ, R.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**. v. 131, p. 1376 – 1384, 2012.

LUCHESE, C. L.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. **Industrial Crops & Products**. v. 109, p. 619 – 626, 2017.

MACHADO, C. M.; BENELLI, P.; TESSARO, I. C. Sesame cake incorporation on cassava starch foams for packaging use. **Industrial Crops and Products**. v. 102, p. 115 – 121, 2017.

MACHADO, F. L. C.; CAMPOS, G.; SOUZA, M. T. G. Comparação entre os métodos de Lane-Eynon e polarimétrico para determinação de amido em farinha de mandioca. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 1, p. 155 – 159, 2009.

MARENGO, V. A.; VERCELHEZE, A. E. S.; MALI, S. Compósitos biodegradáveis de amido de mandioca e resíduos da agroindústria. **Química Nova**. v. 36, n. 5, p. 680 – 685, 2013.

MEDINA-JARAMILLO, C.; OCHOA-YEPES, O.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. **Carbohydrate Polymers**. v. 176, p. 187 – 194, 2017.

MELLO, L. R. P. F.; MALI, S. Use of malt bagasse to produce biodegradable bakedfoams made from cassava starch. **Industrial Crops and Products**. v. 55, 187–193, 2014.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 2, p. 193 – 201, 2008.

MILANI, P.; FRANÇA, D.; BALIEIRO, A. G.; FAEZ, R. Polymers and its applications in agriculture. **Polímeros**. v. 27, n. 3, p. 256 – 266, 2017.

MIRHOSSEINI, M.; FIROUZABADI, F. Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticle suspensions on food-borne pathogens. **International Journal of Dairy Technology**, v. 66, n. 2, p. 291 – 295, 2013.

MONTEIRO, M. K. S.; OLIVEIRA, V. L. R.; SANTOS, F. K. G.; NETO, E. L. B.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; SILVA, R. R.; SILVA, K. N. O. Incorporation of bentonite clay in cassava starch films for the reduction of water vapor permeability. **Food Research International**. v. 105, p. 637 – 644, 2018.

MORADI, M., TAJIK, H., ROHANI, S. M. R., OROMIEHIE, A. R., MALEKINEJAD, H., ALIAKBARLU, J., & HADIAN, M. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. **LWT-Food Science and Technology**, v. 46, p. 477-484, 2012.

MORENO, O.; GIL, À.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Active starch-gelatin films for shelf-life extension of marinated salmon. **LWT - Food Science and Technology**. v. 84, p. 189 – 195, 2017.

NAFCHI, A. M.; NASSIRI, R.; SHEIBANI, S.; ARIFFIN, F.; KARIM, A. A. Preparation and characterization of bionanocomposite films filled with nanorod-rich zinc oxide. **Carbohydrate Polymers**. v. 96, p. 233 – 239, 2013.

NI, S.; ZHANG, H.; GODWIN, P. M.; DAI, H.; XIAO, H. ZnO nanoparticles enhanced hydrophobicity for starch film and paper. **Materials Letters**. v. 230, p. 207 – 210, 2018.

NOURADDINI, M.; ESMAILI, M.; MOHTARAMI, F. Development and characterization of edible films based on eggplant flour and corn starch. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 120, p. 1639 – 1645, 2018.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; BARROS, M. P.; MANO, C. M.; GOULART, M. O. F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**. v. 115, p. 469 – 475, 2009.

ORTEGA, F.; GIANNUZZI, L.; ARCE, V. B.; GARCÍA, M. A. Active composite starch films containing green synthesized silver nanoparticles. **Food Hydrocolloids**. v. 70, p. 152 – 162, 2017.

OTONI, C. G.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; AZEREDO, H. M. C.; LOREVICE, M. V.; MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C.; MCHUGH, T. H. Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables—A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 16, p. 1151 – 1169, 2017.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, M. F.; CARVALHO, A. P.; DOMINGUES, V. F.; GOMES, A. M.; BECKER, H.; LONGHINOTTI, E.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**. v. 172, p. 462 – 468, 2015.

PENG, Y.; LI, Y. Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 287 – 293, 2014.

PERAZZO, K.K. N. C. L.; CONCEIÇÃO, A. C. V.; SANTOS, J. C. P.; ASSIS, D. J.; SOUZA, C. O.; DRUZIAN, J. I. Properties and Antioxidant Action of Actives Cassava Starch Films Incorporated with Green Tea and Palm Oil Extracts. **PLoS One**. v. 9, issue 9, p. 1 – 13, 2014.

PINA-PÉREZ, M. C.; PÉREZ, M. A. F. Antimicrobial potential of legume extracts against foodborne pathogens: A review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 72, p. 114 – 124, 2018.

PIÑEROS-HERNANDEZ, D.; MEDINA-JARAMILLO, C.; LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; GOYANES, S. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food Hydrocolloids**. v.63, p. 488 – 495, 2017.

POVEDA, J. M.; LOARCE, L.; ALARCÓN, M.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; ALAÑÓN, M. E. Revalorization of winery by-products as source of natural preservatives obtained by means of green extraction techniques. **Industrial Crops & Products**. v. 112, p. 617 – 625, 2018.

RHIM, J-W.; WANG, L-F.; LEE, Y.; HONG, S-I. Preparation and characterization of bio-nanocomposite films of agarand silver nanoparticles: Laser ablation method. **Carbohydrate Polymers**. v. 103, p. 456 – 465, 2014.

SÁNCHEZ, A. S.; SILVA, Y. L.; KALID, R. A.; COHIM, E.; TORRES, E. A. Waste bio-refineries for the cassava starch industry: New trends and review of alternatives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 73, p. 1265 – 1275, 2017.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998.

SANTOS, A. M. P.; SANTOS, E. J. P. Optimization of nanostructured ZnO-particle fabrication route with different alcohols and varying sodium hydroxide concentration. In: **15<sup>th</sup> European Conference on Composite Materials (ECCM15)**. Venice, Italy, 2012.

SANTOS, A. M. P.; SANTOS, E. J. P. Pre-heating temperature dependence of the c-axis orientation of ZnO thin films. **Thin Solid Films**, v. 516, p. 6210 – 6214, 2008.

SHANKAR, S.; TENG, X.; LI, G.; RHIM, J-W. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films. **Food Hydrocolloids**. v. 45, p. 264 – 271, 2015.

SHARMA, K.; KO, E. Y.; ASSEFA, A. D.; HA, S.; NILE, S. H.; LEE, E. T.; PARK, S. W. Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. **Journal of food and drug analysis**. v. 23, p. 243 – 252, 2015.

SILVA, A. F. O.; GIRONDI, L. M.; PIMENTEL, T. C.; BARÃO, C. E.; KLOSOSKI, S. J. Barra de cereal adicionada de bagaço de mandioca: composição química e aceitação sensorial. **Brazilian Journal of Food Research**. v. 7, n. 2, p. 42-52, 2016.

SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, E. A. T.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**. v. 143, p. 398 – 404, 2014.

SILVA, M. F.; LOPES, P. S.; SILVA, C. F.; YOSHIDA, C. M. P. Active packaging material based on buriti oil – *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae) incorporated into chitosan films. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 133, p. 1 – 9, DOI: 10.1002/APP.43210, 2016.

SILVA, O. A.; PELLÁ, M. G.; PELLÁ, M. G.; CAETANO, J.; SIMÕES, M. R.; BITTENCOURT, P. R. S.; DRAGUNSKI, D. C. Synthesis and characterization of a low solubility edible film based on native cassava starch. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 128, p. 290 – 296, 2019.

SILVA, R. C. O.; MOREIRA, A. C. C. G.; NASCIMENTO, J. D. M.; MACIEL, M. I. S.; MELO, E. A. Antioxidant Potential of Extracts of Cajá-Umbu Peels. **The Natural Products Journal**. v. 2, p. 149 - 154, 2012.

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

SOUZA, A. C.; BENZE, R.; FERRÃO, E. S.; DITCHFIELD, C.; COELHO, A. C. V.; TADINI, C. C. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT - Food Science and Technology**. v. 46, p. 110 – 117, 2012.

SOUZA, T. A. C.; SOARES JÚNIOR, M. S.; CAMPOS, M. R. H.; SOUZA, T. S. C.; DIAS, T.; FIORDA, F. A. Gluten free cakes made with broken rice and cassava peel. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**. v. 34, n. 2, p. 717-728, 2013a.



SOUZA, T. A. C.; SOARES JÚNIOR, M. S.; CAMPOS, M. R. H.; SOUZA, T. S. C.; BANDEIRA, L. C. The effect of chemical treatments on the pH & microbial flora of cassava residues during storage. **Food Science and Technology, Campinas**. v. 33, n. 3, p. 457-462, 2013b.

STEINER, A. D.; VARGAS, A.; FRONZA, N.; BRANDELLI, A.; SANTOS, J. H. Z. Antimicrobial activity of some natural extracts encapsulated within silica matrices. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 160, p. 177 – 183, 2017.

SURIYATEM, R.; AURAS, R. A.; RACHTANAPUM, P. Improvement of mechanical properties and thermal stability of biodegradable rice starch-based films blended with carboxymethyl chitosan. **Industrial Crops & Products**. v. 122, p. 37 – 48, 2018.

SWAIN, P. S.; RAO, S. B. N.; RAJENDRAN, D.; DOMINIC, G.; SELVARAJU, S. Nano zinc, an alternative to conventional zinc as animal feed supplement: A review. **Animal Nutrition**, v. 2, p. 134 – 141, 2016.

THAKHIEW, W.; DEVAHASTIN, S.; SOPONRONNARIT, S. Combined Effects of Drying Methods, Extract Concentration, and Film Thickness on Efficacy of Antimicrobial Chitosan Films. **Journal of Food Science**. v. 79, n. 6, p. 1150 – 1158, 2014.

THAKUR, R.; PRISTIJONO, P.; SCARLETT, C. J.; BOWYER, M.; SINGH, S. P.; VUONG, Q. V. **International Journal of Biological Macromolecules**. Accepted Manuscript – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.190>, 2019.

TOLUN, A.; ALTINTAS, Z.; ARTIK N. Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. **Journal of Biotechnology**, v. 239, p. 23-33, 2016.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**. v. 111, p. 816 – 823, 2008.

VEIGA, J. P. S.; VALLE, T. L.; FELTRAN, J. C.; BIZZO, W. A. Characterization and productivity of cassava waste and its use as an energy source. **Renewable Energy**. v. 93, p. 691 – 699, 2016.

VILHALVA, D. A. A.; SOARES JÚNIOR, M. S.; MOURA, C. M. A.; CALIARI, M.; SOUZA, T. A. C.; SILVA, F. A. Aproveitamento da farinha de casca de mandioca na elaboração de pão de forma. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 70, n. 4, p. 514-521, 2011.

WANG, L.; DONG, Y.; MEN, H.; TONG, J.; ZHOU, J. Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. **Food Hydrocolloids**, v. 32, p. 35 – 41, 2013.

WANG, Y.; LIU, A.; YE, R.; WANG, W.; LI, X. Transglutaminase-induced crosslinking of gelatin–calcium carbonate composite films. **Food Chemistry**. v. 166, p. 414 – 422, 2015.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1801-1812, 1999.

WU, Z.; HUANG, X.; LI, Y-C.; XIAO, H.; WANG, X. Novel chitosan films with laponite immobilized Ag nanoparticles for active food packaging. **Carbohydrate Polymers**. v. 199, p. 210 – 218, 2018.

XU, Y.; REHMANI, N.; ALSUBAIE, L.; KIM, C.; SISMOUR, E.; SCALES, A. Tapioca starch active nanocomposite films and their antimicrobial effectiveness on ready-to-eat chicken meat. **Food Packaging and Shelf Life**. v. 16, p. 86 – 91, 2018.

ZAMUDIO-FLORES, P. B.; TORRES, A. V.; SALGADO-DELGADO, R.; BELLO-PÉREZ, L. A. Influence of the oxidation and acetylation of banana starch on the mechanical and water barrier properties of modified starch and modified starch/chitosan blend films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 115, p. 991-998, 2010.

ZERAIK, M. L.; QUEIROZ, E. F.; MARCOURT, L.; CICLET, O.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; CUENDET, M.; BOLZANI, V. da S.; WOLFENDER, J-L. Antioxidants, quinone reductase inducers and acetylcholinesterase inhibitors from *Spondias tuberosa* fruits. **Journal of Functional Foods**. v. 21, p. 396 – 405, 2016.