

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Bianca Helena Kufner Mikolaiczik

**Filme bioativo de amido de mandioca com extrato de *Physalis
peruviana***

Passo Fundo

2020

Bianca Helena Kufner Mikolaiczik

Química

**Filme bioativo de amido de mandioca com extrato de *Physalis*
*peruviana***

Dissertação apresentada como um dos
requisitos para obtenção do título de Mestre
em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
Orientador: Prof Dr. Marcelo Hemkemeier.
Coorientadora: Dr^a Bárbara Biduski.
Linha de pesquisa: Qualidade e
propriedades funcionais de alimentos.

Passo Fundo

2020

CIP – Catalogação na Publicação

M636f Mikolaiczuk, Bianca Helena Kufner
Filme bioativo de amido de mandioca com extrato de
Phyzalis peruviana [recurso eletrônico] / Bianca Helena
Kufner Mikolaiczuk. – 2020.
1 MB ; PDF.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Hemkemeier.
Coorientadora: Profa. Dra. Bárbara Bíduski.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de
Alimentos) – Universidade de Passo Fundo, 2020.

1. Compostos bioativos das plantas. 2. *Phyzalis peruviana*.
3. Embalagens ativas. 4. Extratos de plantas. 5. Agentes
antifúngicos. I. Hemkemeier, Marcelo, orientador. II. Bíduski,
Bárbara, coorientadora. III. Título.

CDU: 632.4

Catalogação: Bibliotecária Jucelei Rodrigues Domingues - CRB 10/1569

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

Filme bioativo de amido de mandioca com extrato de *Physalis peruviana*

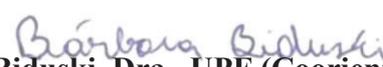
Elaborada por

Bianca Helena Kufner Mikolaiczik

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Comissão Examinadora


Marcelo Hemkemeier, Dr., UPF (Orientador/Presidente)


Bárbara Biduski, Dra., UPF (Coorientadora)


Christian Oliveira Reinehr, Dr., UPF


Vania Zanella Pinto, Dra., UFFS

Passo Fundo, RS, Brasil 2020

RESUMO

Extratos plantas têm sido estudados com a finalidade de desenvolver métodos de biocontrole de fungos e bactérias, sendo que, os metabólitos secundários extraídos destes materiais vegetais são os principais responsáveis pela atividade antifúngica. O fruto de *Physalis peruviana* Linnaeus é considerado um alimento funcional natural devido a presença de compostos bioativos, como ácidos fenólicos, flavonoides, e por apresentar capacidade antioxidante. O uso de compostos bioativos extraídos de plantas pode promover efeitos à saúde, bem como aumentar a vida útil de alimentos, visto que muitos destes compostos também atuam como antimicrobianos e antifúngicos. Desta forma, podem substituir os antifúngicos sintéticos e também incorporados em embalagens ativas. As embalagens ativas têm a capacidade de interagir com o alimento retardando a degradação e prolongando a sua vida útil. Desta forma, objetivou-se elaborar e caracterizar filmes de amido de mandioca incorporados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações (controle, 5%, 10%, 15% e 20%). A produção do extrato de *Physalis* foi realizada em um banho de ultrassom por 2 horas, com uma solução hidroalcolica (50% água:60% etanol), logo após, o etanol foi evaporado em um rotaevaporador. Testes antifúngicos utilizando o extrato de *Physalis* foram realizados e obteve-se a comprovação da atividade antifúngica do extrato frente ao *Botrytis cinérea*, a partir de uma concentração de 10% de extrato. A caracterização dos filmes ocorreu por meio da análise do teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante (FRAP e DPPH), espessura, cor e opacidade, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade, propriedades mecânicas (resistência à tração, percentual de alongação e módulo de Young), propriedades morfológicas (MEV), Espectroscopia no infravermelho com transformada por Fourier (FTIR-ATR) e termogravimetria. Verificou-se que a adição de extrato diminuiu a permeabilidade ao vapor d'água e a solubilidade. Os filmes apresentaram redução da resistência à tração e aumento no percentual de alongamento, determinando que o extrato promoveu um efeito plastificante aos filmes. A análise termogravimétrica comprovou a interação dos componentes do extrato com o material do filme de amido, alterando a temperatura de degradação dos compostos. Comprovou-se a atividade antifúngica do extrato de *Physalis peruviana* contra o fungo *Botrytis cinerea* e observou-se características positivas para a elaboração de filmes biodegradáveis ativos com aplicação do extrato de *Physalis peruviana*, como homogeneidade e maleabilidade.

Palavras-chave: Embalagens ativas; Filmes bioativos; Extratos de plantas; Atividade antifúngica.

ABSTRACT

Plant extracts have been studied in order to develop methods of biocontrol of fungi and bacteria, and the secondary metabolites extracted from these plant materials are mainly responsible for antifungal activity. The *Physalis peruviana* Linnaeus fruit is considered a natural functional food due to the presence of bioactive compounds, such as phenolic acids, flavonoids, and because of its antioxidant capacity. The use of bioactive compounds extracted from plants can promote health effects, as well as increase the shelf life of foods, since many of these compounds also act as antimicrobials and antifungals. In this way, they can replace synthetic antifungals and also incorporated in active packaging. Active packaging has the ability to interact with food, slowing degradation and extending its shelf life. In this way, the objective was to elaborate and characterize films of cassava starch incorporated from *Physalis peruviana* extract in different concentrations (control, 5%, 10%, 15% and 20%). The production of *Physalis* extract was carried out in an ultrasound bath for 2 hours, with a hydroalcoholic solution (50% water: 60% ethanol), soon after, the ethanol was evaporated in a rotary evaporator. Antifungal tests using the extract of *Physalis* were carried out and the extract's antifungal activity was verified against the *Botrytis cinerea*, from a concentration of 10% of extract. The characterization of the films occurred by analyzing the content of phenolic compounds, antioxidant activity (FRAP and DPPH), thickness, color and opacity, water vapor permeability, solubility, mechanical properties (tensile strength, elongation percentage and modulus Young), morphological properties (SEM), Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR-ATR) and thermogravimetry. It was found that the addition of extract decreased the water vapor permeability and solubility. The films showed a reduction in tensile strength and an increase in the elongation percentage, determining that the extract promoted a plasticizing effect on the films. Thermogravimetric analysis proved the interaction of the extract components with the starch film material, changing the degradation temperature of the compounds. The antifungal activity of the extract of *Physalis peruviana* against the fungus *Botrytis cinerea* was verified and positive characteristics were observed for the elaboration of active biodegradable films with the application of the extract of *Physalis peruviana*, such as homogeneity and malleability.

Keywords: Active packaging; Bioactive films; Plant extracts; Antifungal activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Estrutura básica do flavonoide.....	25
Figura 2: Plantação de <i>Physalis peruviana</i> L. em Machetá, Colombia.	27
Figura 3: Fruto de <i>Physalis peruviana</i> Linnaeus envolto pelo cálice.....	27
Figura 4: Estruturas químicas do tipo A (δ -lactona ou δ -lactol) e tipo B (γ -lactona ou γ -lactol), respectivamente.	30
Figura 5: Sintomas de mofo-cinzeno, causados por <i>Botrytis cinerea</i> , em fruto de morangueiro.....	31
Figura 6: Estrutura do <i>Botrytis cinerea</i> com conidióforos (A) e conídios (B).	32
Figura 7: Sensor Ripesense® incorporado na superfície da maçã.	36
Figura 8: Etapas do desenvolvimento da pesquisa.	39
Figura 9: Ação antifúngica do extrato de <i>Physalis peruviana</i> contra <i>Botrytis cinerea</i> em diferentes concentrações.....	50
Figura 10: Imagem dos filmes adicionados de extrato de <i>physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	54
Figura 11: Opacidade dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	56
Figura 12: Resistência à tração dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	57
Figura 13: Elongamento dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	58
Figura 14: Módulo de Young dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	59
Figura 15: Morfologia da seção transversal dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	61
Figura 16: Espectro FTIR dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	62
Figura 17: Análise termogravimétrica dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	64
Figura 18: Derivada da análise termogravimétrica dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	65
Figura 19: Análise termogravimétrica e derivada dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Compostos bioativos presentes em <i>Physalis peruviana</i> Linnaeus	28
Tabela 2: Teor de minerais em frutos de <i>Physalis peruviana</i> Linnaeus.....	29
Tabela 3: Tratamentos para avaliação antifúngica do extrato.	44
Tabela 4: Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato e filmes adicionados de extrato de <i>physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	51
Tabela 5: Perfil colorimétrico dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	54
Tabela 6: Diferença de cor e tonalidade dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	55
Tabela 7: Avaliação da espessura, permeabilidade ao vapor d'água (PVA) e solubilidade dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.....	60
Tabela 8: Espectros e ligações identificadas no FTIR dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.	63
Tabela 9: Temperaturas e compostos degradados na análise termogravimétrica dos filmes adicionados de extrato de <i>Physalis peruviana</i> em diferentes concentrações.	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS – Do inglês, Espectrofotômetro de absorção atômica.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

A* - Parâmetro de cor: cromaticidade verde/vermelho.

B* - Parâmetro de cor: cromaticidade azul/amarelo.

C* - Parâmetro de cor: chroma

DPPH - 1,2-difenil-1-picril-hidrazil.

DTG – Termogravimetria derivada.

FAO – Do inglês, Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura.

FRAP – Potencial antioxidante redutor férrico.

FTIR-ATR – Análise exploratória aplicada a espectros de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier.

LMR – Limite Máximo de Resíduo.

L* - Parâmetro de cor: luminosidade.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

PDA – Potato Dextrose Agar.

TGA – Análise termogravimétrica.

WHO – *World Health Organization*, do inglês, Organização Mundial da Saúde.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1	EXTRATOS DE PLANTAS	21
2.1.1	Métodos de extração	22
2.1.2	Compostos com atividade antifúngica.....	24
2.2	<i>PHYSALIS PERUVIANA</i> LINNAEUS	26
2.2.1.1	<i>Physalis peruviana</i> Linnaeus e seus compostos bioativos.....	28
2.3	<i>BOTRYTIS CINEREA</i>	30
2.3.1	Antifúngicos naturais.....	33
2.4	FILMES BIOATIVOS.....	35
3	MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1	MATERIAL.....	40
3.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA <i>PHYSALIS PERUVIANA</i>	40
3.2.1	Determinação de umidade por secagem direta a 105 °C.....	40
3.2.2	Determinação de sólidos solúveis por refratometria (°Brix).....	41
3.3	EXTRATO HIDROALCOÓLICO	42
3.3.1	Compostos fenólicos totais.....	42
3.3.2	Atividade antioxidante: método FRAP.....	42
3.3.3	Avaliação da atividade antioxidante: método DPPH	43
3.3.4	Teste da ação antifúngica do extrato	43
3.3.4.1	Repique do fungo	43
3.3.4.2	Avaliação antifúngica do extrato <i>in vitro</i>	44
3.4	FILMES BIOATIVOS.....	44
3.4.1	Elaboração dos filmes.....	44
3.4.2	Caracterização química dos filmes.....	45
3.4.3	Caracterização dos filmes.....	45
3.4.3.1	Espessura.....	45
3.4.3.2	Propriedades mecânicas	45
3.4.3.3	Avaliação da solubilidade em água	46
3.4.3.4	Permeabilidade ao vapor d'água	46
3.4.3.5	Cor e opacidade.....	47
3.4.3.6	Morfologia.....	48

3.4.3.7	Espectroscopia no infravermelho com transformada por Fourier (FTIR-ATR)	48
3.4.3.8	Análise termogravimétrica	48
3.5	Análise estatística	48
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1	Caracterização físico-química da <i>Physalis peruviana</i>	49
4.2	Teste da ação antifúngica do extrato	49
4.3	Avaliação da composição química do extrato e filmes de amido de mandioca incorporados de extrato	51
4.3.1	Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante	51
4.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	53
4.4.1	Avaliação macroscópica	53
4.4.2	Avaliação da cor	54
4.4.3	Propriedades mecânicas	56
4.4.4	Espessura, permeabilidade ao vapor d'água (PVA) e solubilidade	59
4.4.5	Propriedades morfológicas	61
4.4.6	Espectroscopia no infravermelho com transformada por Fourier (FTIR)	62
4.4.7	Análise termogravimétrica	63
5	CONCLUSÃO	69
	REFERÊNCIAS	71
	APÊNDICE A – Artigo científico	83

1 INTRODUÇÃO

Os polímeros baseados em matérias-primas petroquímicas são comumente utilizados em embalagens de alimentos devido ao baixo custo e à fácil fabricação. No entanto, esses materiais induziram alguns problemas ambientais como o acúmulo de resíduos plásticos, devido ao seu tempo de degradação muito longo na natureza (NGUYEN et al., 2020). Atualmente a população e as indústrias possuem um interesse considerável na utilização de polímeros naturais para embalagens de alimentos. Estes polímeros naturais aparecem como uma alternativa aos plásticos não biodegradáveis, mas também devido a possibilidade de obter materiais de embalagens bioativos.

Uma das funções das embalagens nos alimentos é proteger e reduzir a deterioração dos mesmos, que pode ocorrer a partir de fatores químicos ou biológicos. A embalagem ativa permite que a embalagem interaja com os alimentos e/ou seu ambiente para prolongar a vida útil dos alimentos. Estas embalagens podem ter diversos propósitos, como antibacterianas (NGUYEN et al., 2020), antifúngicas (XU et al., 2020), antioxidantes e indicadoras de pH (SUN et al., 2019). Os compostos bioativos utilizados nestas embalagens podem ser extraídos de muitas origens vegetais, tais como a erva-cidreira, poejo, lavanda, anis, noz-moscada, cravo, canela e hortelã (KHAYYAT; ROSELIN, 2018).

As formulações à base de plantas para intervenção do crescimento fúngico, vêm ganhando reconhecimento mundial, pois são biodegradáveis e reconhecidas como alternativas mais sustentáveis e ecologicamente corretas aos pesticidas sintéticos. Estudos realizados no Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos pela ANVISA sugerem que ainda são utilizados agrotóxicos acima da quantidade permitida (BRASIL, 2016), ressaltando a necessidade de novas tecnologias e/ou compostos não agressivos ao meio ambiente.

Um dos fungos mais problemáticos quanto a resistência a agrotóxicos é o *Botrytis cinerea*, fungo causador da podridão cinzenta, mundialmente conhecida como a doença mais devastadora do morango, pois ocorre em qualquer parte do mundo. Além do morango, ocorre em múltiplas hospedeiras, podendo atingir mais de 1.000 famílias de plantas, entre frutos e flores ornamentais. Hoje há 15 produtos indicados pelo MAPA para combate ao fungo *Botrytis cinerea*, mais conhecido como mofo cinzento. Apenas 2 podem ser utilizados em meio de cultivo orgânico, sendo um caracterizado como extrato

de planta, definido como óleo essencial de melaleuca, e o outro um agente biológico. Este agente é representado pela bactéria *Bacillus pumilus*, a qual não apresenta riscos para o meio ambiente (BRASIL, 2018).

Diversas plantas bioativas e seus extratos ou óleos essenciais são estudados no controle microbiano e antifúngico. Uma destas plantas é a *Physalis peruviana* Linnaeus, que já apresenta propriedade antioxidante, antimicrobiana e antifúngica comprovada em estudos na Colômbia, Peru, Chile e Brasil, que se aprofundaram desde 2010. A *Physalis peruviana* Linnaeus é uma planta nativa da região dos Andes na América do Sul, com alto potencial de crescimento e baixa exigência de adubação, considerada como alimento funcional natural devido aos seus componentes bioativos (PUENTE et al, 2011).

O propósito deste trabalho é qualificar o extrato de *Physalis peruviana* a fim de substituir antifúngicos sintéticos e o desenvolvimento de uma embalagem bioativa, ou seja, com propriedades funcionais, se enquadrando na Linha de Pesquisa: Qualidade e propriedades funcionais de alimentos do PPGCTA-UPF. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi comprovar a capacidade antifúngica do extrato hidroalcólico de *Physalis peruviana* frente ao fungo *Botrytis cinerea*; desenvolver um filme bioativo a base de amido de mandioca adicionando o extrato de *P. peruviana* e; avaliar quais as mudanças em relação a estrutura, resistência mecânica, permeabilidade, solubilidade, ligações químicas e cor com a adição do extrato nos filmes. Desta forma, contribuir para o desenvolvimento de embalagens bioativas para morangos e, talvez outros alimentos, através da inserção do extrato de *physalis* em filmes produzidos a partir de amido de mandioca.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 EXTRATOS DE PLANTAS

Os antigos egípcios usavam óleos essenciais na medicina, perfumaria e na arte de embalsamar e preparar corpos para enterro através de mumificação. Na Ásia antiga, os Vedas codificaram o uso de perfumes para ambas as partes litúrgicas e fins terapêuticos. De fato, ao longo da história, inúmeras civilizações usaram óleos essenciais e fragrâncias para várias finalidades, inclusive para cerimônias religiosas, na produção de perfumes, ou como agentes terapêuticos em doenças crônicas. Os fenícios, judeus, gregos, romanos e outras culturas situadas em torno da bacia do Mediterrâneo, bem como os maias e astecas nas Américas, todos possuíam uma cultura de fragrância de grande refinamento (SONWA, 2000). Após a queda do Império Romano e com o advento das civilizações cristãs e muçulmanas, a arte e a ciência de fragrância foram trazidos para o mundo árabe, onde alcançou um alto nível de sofisticação. Na Idade Média, esse conhecimento borda de fragrâncias foi trazida de volta para a Europa pelos cruzados retornando da Terra Santa e foi desenvolvido mais por alquimistas, bem como nos mosteiros (RÍOS, 2016).

Os óleos essenciais são compostos de substâncias lipofílicas, contendo os componentes voláteis do aroma da matéria vegetal, que estão envolvidos nos mecanismos de defesa das plantas. Em geral, o óleo essencial representa menos de 5% da matéria seca vegetal. Embora todas as partes da planta possam conter óleos essenciais, sua composição pode variar com a parte da planta empregada como matéria-prima. (FORNARI et al., 2012). Os óleos essenciais consistem de misturas de diferentes tipos de moléculas, em especial duas grandes classes: os terpenos e os fenilpropanóides. No entanto, a maioria dos óleos essenciais consiste principalmente de monoterpenos, encontrados como misturas de componentes odoríferos e podem ser obtidos por destilação a vapor ou extração por solvente (KHAYYAT; ROSELIN, 2018).

Os monoterpenos são os principais constituintes dos óleos voláteis, pois consistem principalmente em hidrocarbonetos ou derivados ou sesquiterpenos contendo fenilterpenoides (KHAYYAT; OSELIN, 2018). Os terpenos são considerados produtos da fusão de duas ou mais unidades de isopreno (C_5H_8), tendo a fórmula geral $(C_5H_8)_n$, com grupos funcionais como OH ou C=O e são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno, que variam entre 2 a 8. Os flavonoides também são encontrados

nos óleos essenciais e extratos de plantas, considerados a maior classe de compostos fenólicos presentes em frutas, vegetais e grãos (ARAÚJO, 2011).

As propriedades bioativas destas plantas são geralmente relacionadas ao seu conteúdo de metabólitos secundários, que são compostos de baixo peso molecular, tais como polifenóis, terpenos, fitoesteróides e alcalóides, que são produzidos em quantidades consideráveis e proporções que variam de acordo com a planta estudada (ARAÚJO, 2011; KHAYYAT; ROSELIN, 2018). Existem aproximadamente 4000 tipos de substâncias voláteis já identificadas oriundas de diferentes vias metabólicas, dos quais apenas alguns são conhecidos e a relação entre a estrutura química e a atividade desses compostos permanece desconhecida (ARAÚJO, 2011).

Os óleos essenciais são usados em uma ampla variedade de bens de consumo, como produtos alimentícios, além de seu uso generalizado como material aromatizante. Estes óleos são utilizados nos campos nutricional e agrícola por seus tratamentos antibacterianos, antifúngicos, antivirais, nematicidas, propriedades inseticidas e antioxidantes. Por causa disso, o uso de óleos como antioxidantes e conservantes em alimentos tem sido sugerido, seja incorporado na formulação, no material de embalagem dos alimentos ou ainda, como protetores de plantas durante seu cultivo (RÍOS, 2016).

Além disso, existem diferentes teorias sobre o possível papel como antioxidantes na medida em que doam hidrogênio em reações oxidativas, especialmente na presença de luz. Eles também podem desempenhar ação antifúngica e antibacteriana, protegendo a planta de possíveis ataques patogênicos (EVANS, 2009). Os óleos de erva-cidreira, óleo de poejo, óleo de lavanda, óleo de anis, óleo de noz-moscada, óleo de cravo, óleo de canela e óleo de hortelã possuem capacidade antimicrobiana (KHAYYAT; ROSELIN, 2018).

2.1.1 Métodos de extração

Os parâmetros recomendados para avaliar um processo de extração são: tipo de solventes utilizados, pela polaridade, tempo de extração, relação solvente-amostra, temperatura e pressão, eficiência de transferência de massa, e tamanho de partícula (LEDESMA; CASTRO, 2014; YANG et al., 2011). A escolha do solvente de extração, tais como água, acetona, acetato de etila, álcoois (metanol, etanol e propanol), e as suas misturas influenciam o rendimento dos compostos bioativos recuperados. Por exemplo, um alto rendimento de fenólicos pode ser extraído de morangos usando metanol,

enquanto a extração de fenólicos de maçãs e peras requer água e acetona, respectivamente (PESCHEL et al., 2006). Em outro estudo sobre o efeito de diferentes solventes na extração de compostos fenólicos de cerejas mostraram que uma proporção de 80:20 de metanol para água foi mais eficiente que a água pura (BASTOS et al., 2015).

De acordo com a literatura é difícil determinar qual solvente oferece o melhor rendimento de extração, já que a maioria dos parâmetros de operação para as extrações por solvente relatadas são diferentes (tempo, temperatura, pressão e ciclos de extração). Além disso, as propriedades dos compostos presentes nas folhas, caules e frutos também influenciam o conteúdo recuperado. No caso dos fenólicos, a sua solubilidade é regida pela natureza química da amostra, bem como pela polaridade dos solventes utilizados. Os frutos podem conter compostos fenólicos que variam do simples (por exemplo, ácidos fenólicos, antocianinas) a substâncias altamente polimerizadas (por exemplo, taninos) em quantidades diferentes. Além disso, esses compostos bioativos também podem estar associados a outros componentes da fruta, como carboidratos e proteínas. Portanto, não há procedimento de extração universal adequado para recuperação fenólica em todas as frutas (MOREIRA; MORAIS; MATOS, 2017).

O caráter lipofílico dos óleos essenciais requer solventes apolares, frações parafínicas como pentano e hexano, a fim de obter uma seletividade adequada da extração. Além disso, os solventes líquidos devem ter baixos pontos de ebulição, a fim de serem facilmente separados do extrato e, reutilizados. Nesse sentido, a principal desvantagem é a ocorrência de resíduos tóxicos orgânicos no produto extraído com estes solventes (FORNARI et al., 2012).

Além disso, tem sido amplamente relatado que o método de extração pode afetar o perfil fenólico dos extratos, onde as frações mais apolares extraem os compostos mais significativos para combate ao *Botrytis cinerea*. Os extratos utilizando solventes, com proporções não relatadas, de metanol:hexano extraem os compostos quercetina e kaempferol, enquanto que metanol:clorofórmio concentram ácido vanílico, ácido siríngico, quercetina, kaempferol e a extração com metanol:acetato de etilo concentra ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, ácido siríngico, ácido elágico, quercetina, miricetina e kaempferol. Mudando o solvente metanol por etanol, outros compostos fenólicos são encontrados, como o p- ácido acâmico e epicatequina (MENDOZA et al., 2013).

Em geral, terpenos e terpenóides são quimicamente instáveis devido às ligações duplas entre carbonos e, portanto, as moléculas apresentam diferentes reorganizações

químicas (isomerização). Além disso, substâncias que compreendem óleos essenciais têm pontos de ebulição semelhantes e são difíceis de isolar. O ponto de ebulição normal dos terpenos varia de 150 °C a 185 °C; enquanto o ponto de ebulição normal dos derivados oxigenados está na faixa de 200 a 230 °C. A extração e o fracionamento dessas substâncias devem ser realizados em temperaturas moderadas, a fim de evitar a decomposição térmica dos componentes do óleo essencial que podem sofrer alterações químicas como hidrólise, isomerização ou oxidação. Na verdade, essa é a principal desvantagem das extrações por destilação (KHAYYAT; ROSELIN, 2018; FORNARI et al., 2012).

Os métodos tradicionais de extração, como maceração, percolação, digestão e preparação de decocções e infusões, atualmente têm sido substituídos por métodos avançados de extração a fim de aumentar a eficiência da extração e a seletividade de compostos bioativos para atender à crescente demanda do mercado. As técnicas avançadas usam diferentes formas de extração, tais como processos assistidos por micro-ondas, ultrassom, emprego de fluidos supercríticos, enzimas, líquidos pressurizados, solventes eutéticos, líquidos iônicos e campo elétrico pulsado. Essas técnicas inovadoras de extração, fornecem extratos finais seletivamente ricos em compostos de interesse, além de atenderem a demanda sustentável (BELWAL et al., 2018).

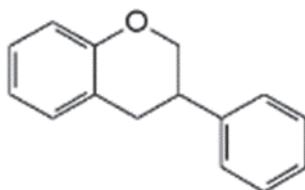
Estas técnicas inovadoras de extração atraíram atenção devido ao conceito e princípio de extração verde. As técnicas verdes têm mais vantagens sobre os métodos convencionais, como extratos de melhor qualidade em relação a quantidade de compostos fenólicos, redução do consumo de energia e unidades operacionais e, substituição de solventes derivados de petróleo por solventes alternativos (KHAYYAT; ROSELIN, 2018). A extração com fluido supercrítico é geralmente realizada usando dióxido de carbono (CO₂) por várias razões: o CO₂ tem pressão crítica moderadamente baixa (74 bar) e temperatura (32°C), não é tóxico, não inflamável, disponível em alta pureza a um custo relativamente baixo e é facilmente removida do extrato, além de ter uma polaridade semelhante ao pentano líquido e assim é adequado para a extração de compostos lipofílicos (FORNARI et al., 2012).

2.1.2 Compostos com atividade antifúngica

Os compostos fenólicos são um dos grupos mais numerosos e representativos de metabolitos secundários de plantas e a sua importância deve-se à sua participação no

metabolismo e fisiologia celular, tais como morfológica, crescimento, reprodução, defesa contra parasitas e predadores, e processos germinativos. (BERTHA et al., 2016). Alguns estudos apontam os compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides) como os principais agentes antifúngicos obtidos de óleos essenciais e extratos de plantas. Os ácidos fenólicos são compostos orgânicos formados a partir de ácido carboxílico e anel fenólico enquanto os flavonoides apresentam uma estrutura básica formada por estruturas cíclicas (Figura 1).

Figura 1: Estrutura básica do flavonoide



Fonte: Araújo, 2011.

Em frutos, os flavonoides atuam principalmente protegendo-os contra os danos provenientes da luz ultra-violeta, pela inibição da germinação precoce e infecção dos fungos fitopatogênicos, além de estarem relacionados à coloração, odor e sabor dos frutos (BOYER; LIU, 2004).

Os ácidos fenólicos identificados pela eficiência de 100% de inibição contra os fungos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus fumigatus* são: timol, carvacrol, isoeugenol, eugenol, 2-etilfenol, 4-etilfenol, salicilaldeído, 2 -metoxi-4-metilfenol, 4-etilguaiacol e ido salicico. Enquanto alguns compostos fenólicos como guaiacol, vanilina e ácido p-cumárico só obtiveram 100% de ação antifúngica sobre um ou dois dos fungos estudados. Substâncias como floroglucinol, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido gálico, ácido siríngico e ácido sinápico, apresentam baixa atividade antifúngica. Isoeugenol, eugenol, 2-etilfenol, 4-etilfenol, salicilaldeído e 4-etilguaiacol exercem um bom efeito em relação aos fungos citados acima, porém não resultam em 100% de eficiência (ZABKA; PAVELA, 2013). Os óleos de canela e capim-limão possuem atividade antifúngica comprovada, ação relacionada aos compostos de cinamaldeído e citral, presente nos óleos (KHAYYAT; ROSELIN, 2018).

O guaiacol, carvacrol, timol e isoeugenol foram as substâncias mais ativas na inibição de *Candida Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* e *Candida*

dublinskiensis, *Fusarium verticillioides* (GALLUCCI et al., 2014; DAMBOLENA et al., 2012). Os compostos fenólicos quercetina, resveratrol e ácido transférrico preparados em uma emulsão mostraram resultados promissores na inibição de nove cepas de *Botrytis cinerea* (PATZKE; SCHIEBER, 2018). O ácido clorogênico é um metabólito secundário fenólico que se acumula em diversos tecidos vegetais e pode ser encontrado em diversos subprodutos e resíduos agroindustriais. A análise microscópica mostrou a inibição completa da germinação de esporos ou redução decrescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani*, *Verticillium dahliae*, *Botrytis cinerea* e *Cercospora soja*. (MARTÍNEZ et al., 2017).

Pesquisas específicas no combate ao fungo *Botrytis cinerea* identificaram os ácidos gálico, protocatecuico, elágico e clorogênico como os principais compostos fenólicos com elevada inibição ao fungo. Estes compostos foram identificados em extratos de bagaço de uva, porém o ácido clorogênico e seus isômeros tem se mostrado como os compostos de maior ação sobre o fungo e aparece como composto majoritário em folhas de alcachofra, flores da madressilva, tubérculos de batata (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), maçã (*Malus domestica*) e grãos de café e erva-mate. (MENDOZA et al., 2013; MARTÍNEZ et al., 2017).

2.2 *PHYSALIS PERUVIANA* LINNAEUS

Physalis peruviana L. é uma planta nativa da região dos Andes, transcendendo a história dos períodos pré-inca e inca, em toda a América do Sul, porém é na Colômbia onde é cultivada para exportação. O país alcançou liderança como o maior produtor mundial produzindo cerca de 11.500 ton/ano (PUENTE et al., 2011).

P. peruviana, também conhecida como *uchuva* na Colômbia, *uvilla* no Equador, *aguaymanto* no Peru, *chuchuva* na Venezuela, *tepareey makowi* na Índia, *Groselha do Peru* em Portugal, *Kapstachelbeere* na Alemanha, *Fisalis* na Itália, *Lampion* na Holanda e *cabe gooseberry* e *goldenberry* nos países de língua inglesa são alguns dos vários nomes desta fruta em todo o mundo (PUENTE et al., 2011; FISCHER; ALMANZA-MERCHÁN; MIRANDA, 2014). É uma planta herbácea, semi-arbustiva, ereta e perene em zonas subtropicais, pode crescer até atingir 0,6 a 0,9 m e em alguns casos pode crescer até 1,8 m (Figura 2). A flor pode ser facilmente polinizada por insetos, pelo vento e também pela autopolinização. A fruta é uma suculenta com forma ovoide e um diâmetro entre 1,25 a 2,50 cm, 4 e 10 g peso, contendo dentro de cerca de 100 a 200 sementes

pequenas. A fruta é envolta pelo cálice ou cesta que cobre completamente a fruta ao longo de seu desenvolvimento e amadurecimento, protegendo-a contra insetos, pássaros, doenças e situações climáticas adversas (PUENTE et al., 2011).

Figura 2: Plantação de *Physalis peruviana* L. em Machetá, Colombia.



Fonte: Fischer, Almanza-Merchán e Miranda (2014).

O cálice protege a fruta (Figura 3) contra insetos, pássaros, doenças e condições climáticas extremas (radiação, mudanças súbitas de temperatura, chuva forte e granizo), serve como fonte de carboidratos durante os primeiros 20 dias de crescimento dos frutos e prolonga a vida pós-colheita (ÁVILA et al., 2006). Na Colombia o fruto da groselha-do-cabo é vendido em até três estágios diferentes de maturação, de acordo com a cor da casca: laranja claro, laranja e laranja profundo (NARVÁEZ-CUENCA; MATEUS-GÓMEZ; RESTREPO-SÁNCHEZ, 2014).

Figura 3: Fruto de *Physalis peruviana* Linnaeus envolto pelo cálice.



Fonte: Fischer, Almanza-Merchán e Miranda (2014).

A fruta e seu cálice são utilizados de diversas formas, que vão desde o consumo *in natura*, mistura em receitas e como ingrediente medicinal. Algumas das propriedades do fruto de *P. peruviana* L. estão associadas à capacidade antioxidante dos polifenóis presentes na fruta. Entre seus principais componentes estão as altas quantidades de ácidos graxos poliinsaturados, vitaminas A, B e C e fitoesteróis, bem como a presença de minerais essenciais, vitaminas E e K1 (PUENTE et al., 2011; TENORIO et al., 2016; TENORIO et al., 2017).

2.2.1.1 *Physalis peruviana* Linnaeus e seus compostos bioativos

A *Physalis peruviana* Linnaeus é considerada como alimento funcional natural, devido aos seus compostos bioativos, apresentados na Tabela 1 (PUENTE et al., 2011). É comercializada atualmente como fruta fresca ou seca, e é frequentemente usada como matéria-prima para a produção de sucos e geleias (TENORIO et al., 2017). Conhecendo as possíveis utilizações culinárias da fruta, estudos objetivaram avaliar as perdas de alguns compostos promotores de saúde e atividade antioxidante após o tratamento térmico chegaram a conclusões de que o ácido ascórbico e o β -caroteno são estáveis ao tratamento térmico, enquanto que os flavonoides são parcialmente degradados (TENORIO et al., 2017).

Tabela 1: Compostos bioativos presentes em *Physalis peruviana* Linnaeus

Composto	Conteúdo (mg/100 g)
Ácido ascórbico	20 a 35
β -caroteno	Máx. 2,0
Tocoferol	0,0015
Vitamina B ₃	26,6
Vitamina B ₆	24,8
Fenólicos totais	50 a 250
Flavonoides	Mín. 2,7

Fonte: Tenorio et al., (2016).

Sabe-se que o conteúdo de compostos fenólicos e de ácido ascórbico totais e a capacidade antioxidante aumentam de acordo com a maturação do fruto (NARVÁEZ-

CUENCA; MATEUS-GÓMEZ; RESTREPO-SÁNCHEZ, 2014), onde a cor dos frutos muda de verde para laranja devido à degradação da clorofila e ao acúmulo de carotenoides, principalmente β -caroteno (GUTIERREZ et al., 2008).

Dentre os flavonoides presentes na fruta estão a quercetina, rutina, miricetina, kaempferol, catequina e e picatequina, e dentre os ácidos fenólicos estão o ácido cafeico, gálico, clorogênico, ferúlico e p-cumárico, todos com propriedades antioxidantes, além dos sais minerais, apresentados na Tabela 2 (TENORIO et al., 2016).

Tabela 2: Teor de minerais em frutos de *Physalis peruviana* Linnaeus

Mineral	Conteúdo (mg/100g)
Ferro	0,1 a 3,9
Magnésio	34,7 a 120,1
Cálcio	7,0 a 37,7
Potássio	55,3 a 501,9
Fósforo	34,0 a 54,9
Sódio	52,7
Zinco	1,5
Cobre	0,7
Manganês	0,7

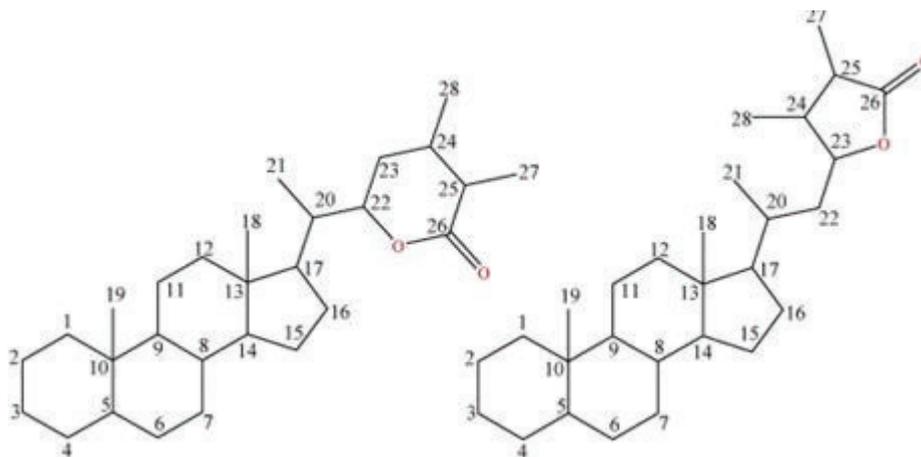
Fonte: Tenorio et al., (2016).

O conteúdo de ácido ascórbico varia de acordo com o grau de maturação da fruta, isto é, quanto mais madura estiver, maior será o conteúdo de ácido ascórbico, que permanece estável a partir do momento da colheita do fruto (GUTIERREZ et al., 2008). Porém, extratos coletados em locais e épocas diferentes apresentam uma composição bastante diferente, que mesmo aplicando o mesmo pré-tratamento da matéria-prima e as mesmas condições no processo de extração. (CELIK TAS, BEDIR e SUKAN, 2007).

Ainda nesta planta, estão presentes os Whitanolides, que são triterpenóides que foram descobertos pela primeira vez na planta *Withania somnifera* (família Solanaceae), então foram identificados no gênero *Physalis* e dentro dele em várias espécies como *P. virginiana*, *P. angulata*, *P. alkekengi* e *P. peruviana*. Eles estão frequentemente localizados nas folhas da planta, mas em algumas espécies como *P. peruviana* são bastante prevalentes nas raízes, no cálice e nos frutos silvestres (LLANO et al., 2018).

Estes compostos são uma família de esteróides do tipo C₂₈ ergostano com diversa oxigenação no esqueleto esteróide em que C₂₆ e C₂₂, ou C₂₆ e C₂₃, são oxidados para formar um δ - ou γ - lactona. De acordo com a diferença nos grupos substituídos da cadeia lateral C₁₇, os withanolides podem ser divididos em tipo A (δ -lactona ou δ -lactol) e tipo B (γ -lactona ou γ -lactol) (VIVAS et al., 2019) (Figura 4).

Figura 4: Estruturas químicas do tipo A (δ -lactona ou δ -lactol) e tipo B (γ -lactona ou γ -lactol), respectivamente.



Fonte: VIVAS et al., (2019).

Algumas atividades biológicas e farmacológicas interessantes deste grupo de esteróides naturais, incluem atividades anti-inflamatória, antitumoral, citotóxica, hepatotóxica e antimicrobiana (VIVAS et al., 2019).

Llano et al. (2018) relataram uma defesa química por withanolides durante o desenvolvimento de frutos em *Physalis peruviana* e foi observado que os mesmos atuam impedindo que insetos se alimentem dos frutos. Sabe-se que em frutos cultivados de forma orgânica a concentração de withanolides é maior, devido ao fato de que estes frutos não têm uma defesa química, dado que eles não contêm pesticidas, então necessitam de uma defesa maior por parte da planta.

2.3 *BOTRYTIS CINEREA*

Botrytis cinerea é um fungo fitopatogênico, necrotrófico, ascomiceto e de distribuição mundial. O mofo cinzento causado pelo *B. cinerea* é uma doença destrutiva e leva a sérias perdas de rendimento e qualidade em numerosas culturas, especialmente

frutas, verduras e flores ornamentais (DUAN et al., 2014). Este fungo coloniza as folhas e cálices como um organismo endofítico. O patógeno é polífago, apresentando uma fase de infecção quiescente nos frutos, o que faz com que frutos aparentemente saudáveis na colheita desenvolvam a podridão durante o período de pós-colheita (Figura 5) (REIS; COSTA, 2011). Ele ataca cerca de 1.000 espécies de plantas conhecidas e causa perdas pré e pós-colheita de frutas, vegetais e flores ornamentais cultivadas. É o principal representante do gênero *Botrytis*, que atualmente inclui cerca de 30 espécies descritas que são principalmente necrotróficas (RUPP et al., 2017).

Figura 5: Sintomas de mofo-cinzento, causados por *Botrytis cinerea*, em fruto de morangueiro.



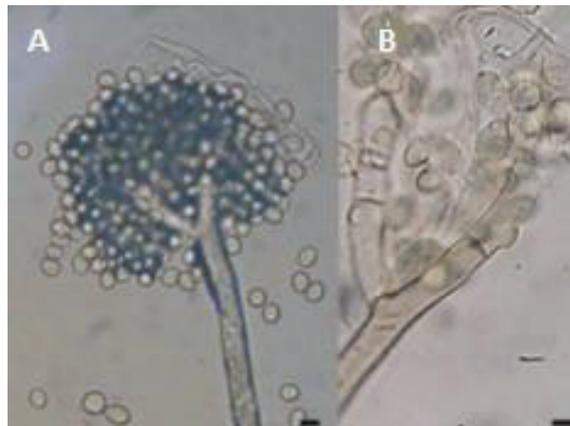
Fonte: Reis e Costa (2011).

Em morangos cultivados, o mofo cinzento é uma doença importante em todo o mundo. Os campos de morango são pulverizados semanalmente durante o período de floração, resultando em múltiplos tratamentos que frequentemente incluem o uso repetido dos mesmos fungicidas ou classes de fungicidas (LEROCH et al., 2013).

Os sintomas geralmente aparecem em qualquer parte dos frutos em amadurecimento ou maduros, porém, na maioria das vezes, a infecção começa no extremo peduncular, onde encontram-se os resíduos infectados das flores. Os tecidos infectados tornam-se marrom-claros a marrons. Nos frutos em estádios verde e branco, as lesões desenvolvem-se lentamente e não possuem uma borda perceptível, confundindo-se com os tecidos saudáveis; os frutos deformam-se à medida que aumentam de tamanho, e podem morrer antes do amadurecimento (BRASIL, 2018). Temperaturas moderadas entre 15 °C e 25 °C, além da alta umidade por longos períodos, são favoráveis ao desenvolvimento dos fungos. Em temperaturas próximas de 0 °C também é possível haver crescimento fúngico, bem como, em morangos embalados e armazenados sob refrigeração. A umidade é o principal fator regulatório para o desenvolvimento da doença e a germinação de

esporos, chamados de conídios (SANTOS et al., 2008). Os frutos apodrecidos são recobertos de uma massa acinzentada de micélio, conidióforos e conídios, representados na Figura 6. O fungo sobrevive como micélio e conídios nos frutos mumificados, nos resíduos da cultura infectados deixados no campo e nas numerosas plantas daninhas hospedeiras do fungo, e como escleródios na palha de cobertura. Os conídios são disseminados pelo vento e respingos da água da chuva ou da irrigação por aspersão (BRASIL, 2018).

Figura 6: Estrutura do *Botrytis cinerea* com conidióforos (A) e conídios (B).



Fonte: Santos et al., (2008).

O gerenciamento de fungos cinzentos é baseado em uma abordagem integrada, com práticas culturais que melhoram a aeração do plantio, limitam o fermento do fruto e do caule e proporcionam um vigor de planta, considerado como aspectos-chave. No entanto, o uso de fungicidas continua sendo o componente central no controle de doenças (KANETIS; CHRISTODOULOU; IACOVIDES, 2016).

Devido à sua enorme taxa de reprodução por conidiósporos e sua alta adaptabilidade genética, *B. cinerea* foi classificado como um patógeno de alto risco em relação à resistência a fungicidas. O mecanismo mais comumente observado de resistência a fungicidas específicos é a resistência do sítio-alvo, que é causada por mutações que alteram a proteína-alvo do fungicida. A fim de reduzir o risco de desenvolvimento de resistência ao mofo-cinzento, recomenda-se evitar o uso repetido do mesmo fungicida, mas usar misturas ou alternar entre fungicidas com diferentes modos de ação durante uma estação. Os campos de morangos geralmente recebem vários tratamentos fungicidas contra o *B. cinerea* por temporada e a resistência a fungicidas foi comumente observada em diversos estudos, com resistência a até seis dos fungicidas

frequentemente utilizados na Alemanha, como benomil, carbendazim, fludioxonil, fenexamida, iprodiona e ciprodinil, além dos compostos dicarboximida e benzimidazol utilizados no Brasil (LEROCH et al., 2013).

Nos últimos anos, altas frequências de resistência a fungicidas que ameaçam a eficácia do controle químico do mofo cinzento foram observadas em populações de *B. cinerea* de campos de morangos na Alemanha, Grécia, Itália e Estados Unidos, induzindo a mutações genéticas do fungo que resultam em alta resistência aos produtos antifúngicos do mercado (RUPP et al., 2017).

A avaliação toxicológica dos fungicidas é realizada na formulação completa do produto, seguida pela avaliação do ingrediente ativo. A toxicidade destes compostos ao ser humano pode ser classificada em pouco tóxicos (classe IV), medianamente tóxicos (classe III), altamente tóxicos (classe II) e extremamente tóxicos (classe I) enquanto que ao meio ambiente são classificados em pouco perigoso ao meio ambiente (classe IV), perigoso ao meio ambiente (classe III), muito perigoso ao meio ambiente (classe II) e altamente perigoso ao meio ambiente (classe I). O fato de ser altamente perigoso ao meio ambiente não necessariamente seja extremamente tóxico ao ser humano, estas variações ocorrem devido ao modo como são sintetizados ou combinados com outros produtos a fim de comercializá-los (BRASIL, 1992; BRASIL, 1996).

2.3.1 Antifúngicos naturais

Os agrotóxicos sempre estarão em primeiro lugar na lista de prevenção e eliminação de fitopatógenos. Para minimizar o mofo cinzento pós-colheita, os programas de controle baseiam-se principalmente em aplicações de fungicidas, no entanto há preocupações crescentes de consumidores e autoridades reguladoras sobre os riscos associados a resíduos químicos em alimentos levaram à imposição de regulamentações rígidas, à proibição do uso de certos grupos químicos e às preferências de atacadistas, varejistas e consumidores para evitar produtos tratados quimicamente (ROMANAZZI et al., 2016).

Nos últimos dez anos o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93% e o mercado brasileiro, cresceu 190%, colocando-o em destaque como o maior consumidor de agrotóxicos da América Latina (TRAPÉ, 2011). A pesquisa brasileira sobre o impacto do uso de agrotóxicos na saúde humana ainda é insuficiente no tocante à extensão da carga

química de exposição ocupacional e à dimensão dos danos à saúde decorrentes do uso intensivo desses herbicidas (CARNEIRO et al., 2015).

No Brasil, a permissão de uso de agrotóxicos está condicionada a vários fatores, entre eles a toxicidade avaliada pela determinação do limite máximo de resíduo (LMR) estabelecido pela ANVISA. O LMR é definido como “a quantidade máxima de resíduo de agrotóxico oficialmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em partes do agrotóxico, afim ou seus resíduos por milhão de partes de alimento (ppm ou mg/kg)”. Internacionalmente, os LMRs são estabelecidos por órgãos subordinados às Nações Unidas, como: *Food and Agricultural Organization* (FAO), *World Health Organization* (WHO) e o *CODEX Alimentarius Mundial* (CODEX, 2017).

Um terço dos alimentos consumidos cotidianamente pelos brasileiros está contaminado pelos agrotóxicos, segundo análise de amostras coletadas em todas os 26 estados do Brasil, realizada pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (BRASIL, 2013), além da água das bacias hidrográficas que abastecem a população brasileira também conter traços dos mais diversos agrotóxicos (CARNEIRO et al., 2015).

Entre os produtos indicados pelo MAPA para combate ao fungo *Botrytis cinerea*, mais conhecido como mofo cinzento, há 15 produtos indicados, apenas 2 podem ser utilizados em meio de cultivo orgânico, onde um é caracterizado como extrato de planta, definido como óleo essencial de melaleuca, e o outro é um agente biológico, representado pela bactéria *Bacillus pumilus*, que conseqüentemente não apresentam riscos para o meio ambiente. Embora muito se discuta sobre a importância de compostos naturais que atuem como inseticidas ou antifúngicos, é importante salientar a importância dos mesmos ao meio ambiente, pois classificam-se como pouco perigosos ao meio ambiente, classe IV de acordo com o Ministério do Meio Ambiente. Porém salienta-se que estes compostos podem apresentar a mesma toxicidade ao ser humano que outro produto químico sintético, de acordo com as classificações de toxicológicas do Ministério da Saúde, na Portaria n° 3, de 16 de janeiro de 1992.

Atualmente o tratamento pré ou pós-colheita com óleos essenciais e extratos de plantas surgiu como um método alternativo para prevenir a deterioração de frutos. Outro motivo para a busca de novas tecnologias de prevenção antifúngica está relacionado com o fato de os fungos adquirirem resistência aos tratamentos realizados com frequência ou excessivamente (BRASIL, 2018). Embora alguns autores (MAZZARRINO et al., 2015;

GRANDE-TOVAR et al., 2018) tenham sugerido que os efeitos antimicrobianos de óleos essencial e extratos de plantas poderiam ser atribuídos principalmente aos metabólitos secundários mais abundantes, existe a possibilidade de outros fenômenos, como sinergia ou antagonismo com componentes que se encontram em menor concentração.

Estudos *in vitro* apontam que, enquanto os terpenos são ineficientes como antimicrobianos quando aplicados como compostos únicos, os terpenóides são ativos contra um amplo espectro de microrganismos, com os mais ativos identificados até agora o carvacrol e timol (GRANDE-TOVAR et al., 2018). Mazzarrino et al. (2015) sugeriram que, enquanto a atividade antimicrobiana parece estar relacionada ao conteúdo fenólico total, a atividade sequestradora de radicais depende mais das características composicionais dos vários metabólitos secundários presentes em cada óleo ou extrato, além da disponibilidade de grupos hidroxila presentes nos anéis aromáticos destes compostos.

Os compostos bioativos produzidos constitutivamente pelas plantas, independente do ataque de fitopatógenos, variam quanto ao grau de seletividade antimicrobiana bem como seu modo de atuação nos microrganismos. Atuam na inibição da síntese da parede celular, na corrosão da parede celular, alterando a permeabilidade da membrana plasmática, causando corrosões na membrana plasmática, inibindo a síntese de ácidos nucleicos ou na síntese proteica, além de atuarem como antagonistas metabólicos (MAYER, 2011).

2.4 FILMES BIOATIVOS

Atualmente os filmes biodegradáveis vem tomando um espaço no universo científico, pois são os possíveis substitutos para as embalagens plásticas, as quais são materiais orgânicos poliméricos sintéticos, produzidos principalmente a base de petróleo. Piatti e Rodrigues (2005) relatam que em função do uso tão difundido desses materiais, como o polietileno, polipropileno, pet e policarbonato, a maior parte do lixo que produzimos diariamente é composta por plásticos. Além disso, são materiais que se decompõem muito lentamente (alguns tipos necessitam de 1 século para se degradar) e vêm acarretando sérios problemas ambientais. Têm sido necessários aterros sanitários cada vez maiores, e, portanto, mais distantes dos centros urbanos, para acolher o elevado volume de resíduos sólidos urbanos produzidos diariamente.

Os plásticos sintéticos têm boas propriedades físicas e têm a vantagem de produzir em massa a baixo custo. No entanto, após o uso como material de embalagem de alimentos, eles são processados principalmente por aterro ou incineração, causando poluição ambiental grave. Portanto, na indústria de alimentos, biopolímeros produzidos a base de amido, goma, proteína e cera, são ótimos materiais de embalagem ecológicos, pois biodegradam-se rapidamente durante o aterro e são inofensivos aos seres humanos (JU; SONG, 2019).

As embalagens inteligentes são embalagens bioativas, definidas como um sistema que pode tomar decisões para aumentar a vida útil, notificar informações, melhorar a qualidade e relatar deterioração pela utilização de várias técnicas inteligentes. Este tipo de embalagens já está disponível no mercado, um exemplo de embalagem inteligente é o Ripesense® (Figura 7), desenvolvido pela Plant & Food Research, Auckland, que foi o primeiro sensor inteligente de etiquetas do mundo que pode indicar a maturação das frutas devido a mudanças de cor no material da embalagem (KALPANA et al., 2019). Inicialmente a cor do rótulo é amarela e muda gradualmente para laranja durante o amadurecimento, ficando finalmente vermelha.

Figura 7: Sensor Ripesense® incorporado na superfície da maçã.



Fonte: KALPANA et al. (2019).

As embalagens ativas com potencial antifúngico auxiliam na redução da utilização de fungicidas sintéticos e no aumento da vida útil de frutas. De acordo com Long, Joly e Dantigny (2016), na indústria de frutas, as perdas pós-colheita são de 5 a 10% quando os fungicidas pós-colheita são usados, mas sem fungicidas ocorrem perdas de 50% ou mais. Pesquisas demonstraram que filmes de amido incorporados de extratos vegetais são eficientes no combate a alguns fungos: óleo essencial de orégano é eficaz contra *A. niger* (AVILA-SOSA et al., 2012) e *Penicillium spp* (AVILA-SOSA et al., 2010); Carvacrol e

cinamaldeído são eficazes contra *Botrytis cinerea* (ARFA et al., 2007) e orégano, canela e erva-cidreira são eficazes contra *P. digitatum* (AVILA-SOSA et al., 2012). A liberação gradual de um antimicrobiano ou antifúngico de uma embalagem bioativa para a superfície do alimento pode ter uma vantagem sobre imersão e pulverização, visto que nestas últimas opções a atividade antimicrobiana ou antifúngica pode ser rapidamente perdida devido à inativação dos compostos antifúngicos por componentes alimentares ou diluição abaixo da concentração ativa (LONG; JOLY; DANTIGNY, 2016).

Os filmes de amido são utilizados para o desenvolvimento de embalagens de base biológica, pois é inodoro, incolor e fácil de processar (JU; SONG, 2019). O amido é a principal fonte de carboidrato obtido das plantas. Caracteriza-se como um polissacarídeo, com amilose, com cadeia linear ou levemente ramificada e, amilopectina, uma molécula altamente ramificada com cadeias curtas. Geralmente constituído de 20 a 25% de amilose e 70 a 80% de amilopectina. As principais culturas usadas para a produção de amido são trigo, arroz, batata e milho (ROY et al., 2020). A aplicação do amido na produção de filmes se baseia principalmente nas propriedades físico-químicas da amilose em formar géis e filmes (SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007). Os filmes produzidos a base de amido resultam em produtos não tóxicos, biocompatíveis, biodegradáveis, renováveis e baratos. O amido é usado como um polímero natural atraente como material para embalagem com espessura e flexibilidade variadas. Estes podem ser usados diretamente como amido nativo ou como amido modificado, o que envolve modificações de propriedades específicas (ROY et al., 2020).

O amido é formado por dois tipos de polímeros de glicose: a amilose e a amilopectina, com estruturas e funcionalidade diferentes. A amilose é um polímero linear com unidades de D-glicose ligadas por ligações α -(1 \rightarrow 4), com grau de polimerização de 200 a 3000, dependendo da fonte de amido. A amilopectina é um polímero ramificado, com unidades de D-glicose ligadas através de ligações α -(1 \rightarrow 4) e as ramificações em α -(1 \rightarrow 6) (SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007). Ainda de acordo com Shimazu, Mali e Grossmann (2007), as moléculas de amilose, quando em solução, tendem a mudar sua orientação, formando ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes.

O amido de mandioca vem ganhando espaço, de acordo com Orzari et al. (2018), por ser uma matéria-prima de baixo custo e alto teor de amido (de 85 a 94%), além de ser amplamente produzida e utilizada no Brasil, para nutrição humana e animal.

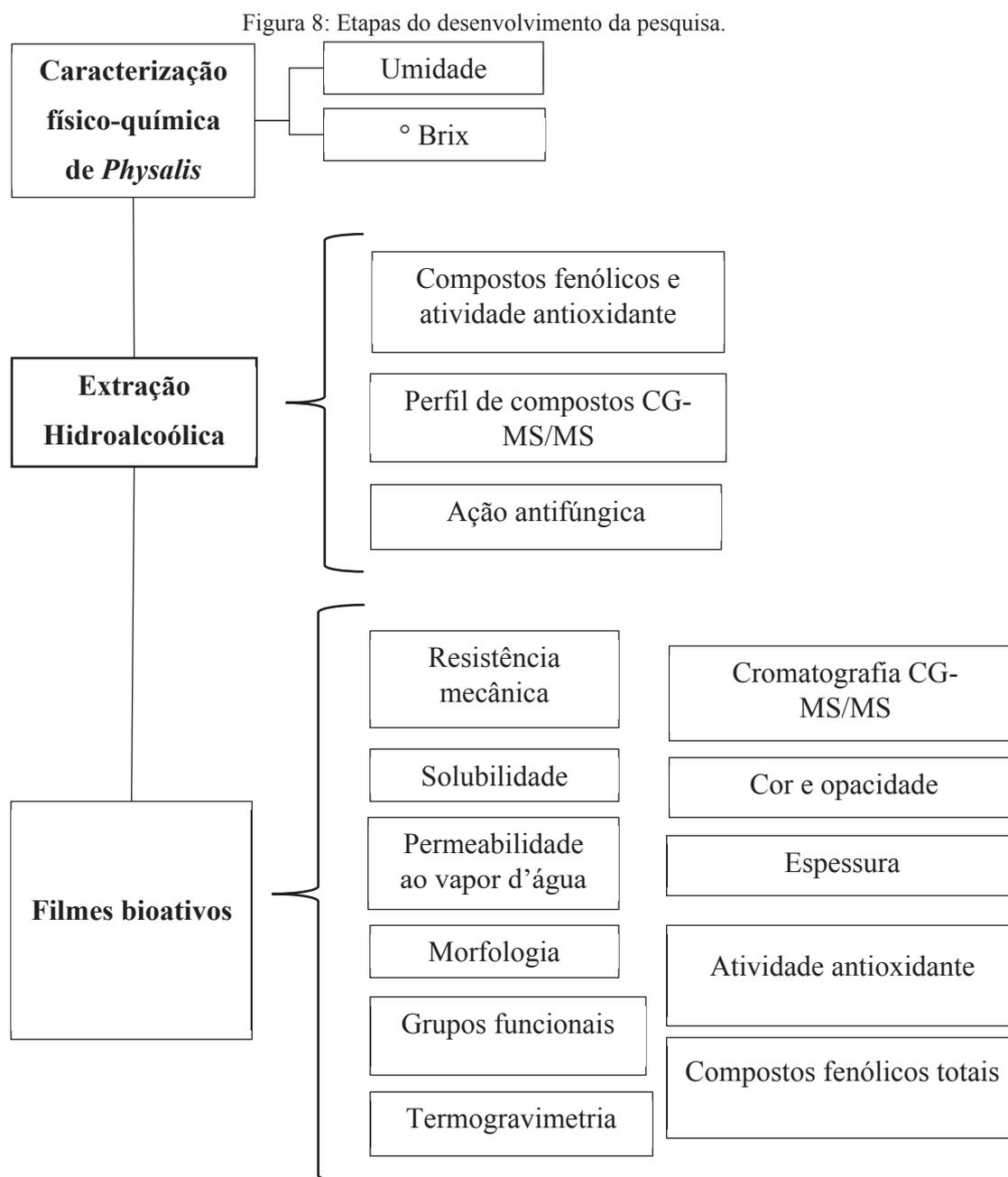
A mistura de polímeros biodegradáveis com aditivos é um dos métodos mais eficazes para obter um novo material com as propriedades desejadas. Além disso, eles

podem operar como transportadores para incorporar uma ampla variedade de aditivos, como agentes antioxidantes, antimicrobianos e antifúngicos, agindo não apenas como material de embalagem, mas como uma embalagem funcional (MIR et al., 2018). A adição de extratos vegetais a filmes de embalagem biodegradáveis não apenas atua como antimicrobianos, mas também modifica as propriedades do material de embalagem, aumentando a vida útil, a durabilidade e a aplicação geral.

Outra razão para a adição de extratos de plantas na produção de filmes bioativos é que filmes de amido são pouco flexíveis e quebradiços, sendo propriedades pouco atrativas para produção de embalagens de alimentos. A adição de extratos muda as características destes filmes (SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007). Pesquisas realizadas por Mir et al. (2018) comprovaram a modificação tecno-funcional do material de biopolímero com extratos vegetais, verificou-se que os filmes resultantes apresentavam melhores propriedades e potencial aplicação em embalagens de alimentos. O melhoramento destas propriedades com o auxílio da adição de extratos de plantas já é evidente através de pesquisas de alguns autores, Bajic et al. (2019) produziu filmes mais elásticos, Liu et al. (2019) melhorou suas propriedades de barreira, como permeabilidade ao vapor d'água, e Zhang et al. (2010) comprovou que a adição de alguns extratos forma ligações de hidrogênio, produzindo redes de amido mais compactas e densas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As etapas que contemplam esta dissertação estão apresentadas na Figura 8 e são descritos posteriormente.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2020).

O trabalho foi desenvolvido em 3 etapas: Inicialmente os frutos colhidos foram avaliados *in natura* quanto umidade e brix dos frutos e posteriormente liofilizados a fim

de aumentar a superfície de contato da amostra para facilitar a extração. Na segunda etapa, o extrato hidroalcoólico foi obtido da fruta liofilizada e o mesmo foi avaliado quanto ao seu perfil de compostos fenólicos por CG-MS/MS, compostos fenólicos e atividade antioxidante do extrato, além da ação antifúngica *in vitro*.

Por fim, na terceira etapa foi produzido filmes de amido de mandioca com diferentes concentrações de extrato. Os filmes foram avaliados quanto à espessura, resistência mecânica, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade, cor, opacidade, morfologia, e propriedades termogravimétricas.

3.1 MATERIAL

Frutos da espécie *Physalis peruviana* Linnaeus foram adquiridos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) – Campus Sertão, RS e da agroindústria Italbras – Vacaria, RS. Após a colheita manual, o acondicionamento e o transporte dos frutos foram realizados em caixas isotérmicas, onde as amostras encontravam-se congeladas no dia seguinte após a coleta. O amido de mandioca foi adquirido no comércio local. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA *PHYSALIS PERUVIANA*

Os frutos in natura de *Physalis peruviana* Linnaeus foram macerados com o auxílio de um almofariz e em seguida as determinações de umidade por secagem direta a 105 °C e sólidos solúveis por refratometria (°Brix) foram realizadas conforme Instituto Adolfo Lutz (1985).

3.2.1 Determinação de umidade por secagem direta a 105 °C

Para determinação de umidade por secagem direta a 105 °C será utilizada a metodologia descrita por Instituto Adolfo Lutz (1985).

Foram utilizados 3 g da amostra em cápsula de metal, previamente tarada. Aquecidas durante 3 horas em estufa 105 °C. As mesmas foram resfriadas em dessecador até a temperatura ambiente e pesadas. A operação de aquecimento e resfriamento foi repetida até peso constante.

Cálculo:

$$\frac{(100 \times N)}{P} = \text{Umidade ou substâncias voláteis a } 105 \text{ } ^\circ\text{C} (\% \text{ m/m}) \quad (\text{Eq.}) 1$$

Onde,

N= gramas de umidade (perda de massa em g).

P= massa de amostra.

3.2.2 Determinação de sólidos solúveis por refratometria (°Brix)

Para determinação de sólidos solúveis por refratometria foi utilizada a metodologia descrita por Instituto Adolfo Lutz (1985).

Quadro 1: Correção da leitura em relação à temperatura.

Temperatura (°C)	Subtraia da leitura obtida	Temperatura (°C)	Adicione a leitura obtida
-	-	21	0,08
-	-	22	0,16
13	0,54	23	0,24
14	0,46	24	0,32
15	0,39	25	0,40
16	0,31	26	0,48
17	0,23	27	0,56
18	0,16	28	0,64
19	0,08	29	0,73
20	0,00	30	0,81

Fonte: Instituto Adolfo Lutz (1985).

O refratômetro foi ajustado para a leitura em 1,3330 com água a 20 °C, de acordo com as instruções do fabricante. Uma pequena porção de amostra foi colocada no prisma do refratômetro. Após um minuto foi realizada a leitura diretamente na escala de ° Brix. Quando a leitura é realizada em temperatura diferente de 20°C, a mesma deve ser corrigida em relação à temperatura, de acordo com o Quadro 1.

3.3 EXTRATO HIDROALCOÓLICO

O procedimento de extração hidroalcoólica dos frutos de *Physalis peruviana* Linnaeus foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Filippi et al. (2018). Os frutos foram previamente liofilizados e moídos. A amostra foi adicionada à solução extratora água:etanol (40:60 v/v) na proporção 1:10 e transferidos para banho de ultrassom (Eco-Sonics, Q 5.9, Brasil, 40 kHz), sem aquecimento, por duas horas. O extrato foi filtrado (apenas para retirada dos sólidos) e rotaevaporador à 60 °C, por aproximadamente 1 hora. O extrato final foi armazenado em frasco âmbar e utilizado dentro de 24 °C.

3.3.1 Compostos fenólicos totais

Para determinação de compostos fenólicos foi utilizada a metodologia descrita por Sousa e Correia (2012) com modificações. O extrato hidroalcoólico foi analisado logo após sua preparação e após 7 dias. As análises foram realizadas em triplicata, onde os tubos de ensaio foram preparados na ordem descrita no quadro, com todas as diluições a cima citadas. O extrato foi diluído na proporção de 1:50.

Para a análise foram utilizados tubos de ensaio com 1 mL da amostra diluída, 5 mL de água destilada, 1 mL de etanol 95%, 0,5 mL de reagente de Folin 1N, agitou-se o tubo de ensaio por 10 s, adicionou-se 1 mL de NaCO₃ 5% e realiza-se a agotação por 3 s. Após a adição dos reagentes os tubos de ensaio permaneceram em repouso na ausência de luz por 60 minutos. O espectrofotômetro foi calibrado com água destilada e a leitura será realizada à 765 nm. O resultado final é expresso em mg de equivalente de ácido gálico por mL de amostra.

3.3.2 Atividade antioxidante: método FRAP

O potencial antioxidante redutor férrico (FRAP) foi realizado de acordo com o método proposto por Benzie e Strain (1996) com modificações de Arnous et al. (2002). O extrato hidroalcoólico foi analisado logo após sua preparação e após 7 dias. Para a realização deste ensaio adicionou-se 200 µL de amostra e 200 µL de solução de cloreto férrico 3 mM em tubos de ensaio. Esta mistura permaneceu em repouso durante 30 minutos em banho-maria, em temperatura de 37 °C. Após o repouso foi adicionado 3,6

mL de solução TPTZ e os tubos submetidos a um ambiente escuro durante 10 minutos. O extrato foi avaliado em diluição apropriada para sua concentração (1:50). O espectrofotômetro UV-Vis foi zerado em 620 nm com a amostra de branco, quando esta apresenta bons resultados na triplicata, caso contrário o equipamento foi zerado com água e o branco descontado posteriormente das amostras. Os resultados foram interpretados utilizando curva padrão de μmol equivalente de Trolox/L de amostra.

3.3.3 Avaliação da atividade antioxidante: método DPPH

Este método de atividade antioxidante visa o sequestro de radicais livres de DPPH (1,2-difenil-1-picril-hidrazil). O extrato hidroalcolico foi analisado logo após sua preparação e após 7 dias. Para realização dos testes de DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995), foi preparada uma solução 0,1 mM de DPPH com etanol absoluto e esta solução foi ajustada entre 0,500 e 0,600 de absorbância em 515 nm.

Em tubos de ensaio foi acrescentado 0,1 mL da amostra e uma alíquota de 2 mL da solução ajustada. Os tubos foram agitados por 3 segundos e acondicionados ao abrigo de luz por 30 minutos. A medida da absorbância em espectrofotômetro foi a 515 nm. A atividade antioxidante determinada pelo método DPPH foi expressa em mmol de Trolox/g de amostra de acordo com uma curva de calibração previamente construída.

3.3.4 Teste da ação antifúngica do extrato

A avaliação da ação antifúngica do extrato de *Physalis peruviana* Linnaeus foi realizada a partir de testes *in vitro* no fungo *Botrytis cinerea*.

3.3.4.1 Repique do fungo

O repique do *Botrytis cinerea* foi realizado através da adição de um disco de micélio de 7 mm no centro de cada placa contendo meio PDA. Após o período de incubação as placas foram armazenadas sob refrigeração. O repique do fungo foi realizado com 15 dias de antecedência a realização dos testes *in vitro*.

3.3.4.2 Avaliação antifúngica do extrato *in vitro*

Os testes foram realizados em quintuplicata. O experimento consiste de 5 tratamentos (Tabela 3), sendo tratamento 1: controle negativo; tratamentos 2, 3, 4 e 5: extrato de *Physalis peruviana* incorporado ao meio de cultura, de acordo com o método Poisoned Food relatado por Balouiri; Sadiki; Ibsouda (2016). As placas permaneceram em DBO por 15 dias em temperatura controlada de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas.

Tabela 3: Tratamentos para avaliação antifúngica do extrato.

Tratamento	Concentração de extrato (%)	Volume de extrato (mL)	Volume de meio (mL)
1	0	0,00	20
2	5	1,25	18
3	10	2,50	15
4	15	3,75	15
5	20	5,00	15

Fonte: Elaborado pelo Autor (2020).

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada como em Gasca et al. (2020), onde a menor concentração de extrato utilizada que inibiu totalmente o crescimento fúngico.

3.4 FILMES BIOATIVOS

3.4.1 Elaboração dos filmes

Para a produção dos filmes foram utilizados 3 g de amido de mandioca em 100 mL de água destilada e 30% de glicerol em relação a quantidade de amido. Esta mistura permaneceu sob agitação e em aquecimento em banho-maria a 90 °C por 15 min. Após o tempo determinado, a 20 g da solução formadora de filme foi dispersa em placas de petri de acrílico e secas em estufa a 40 °C, com circulação de ar, durante aproximadamente 24 h.

Para elaboração dos filmes bioativos o extrato hidroalcoólico foi adicionado em diferentes concentrações e em temperatura menos de 60 °C. Para isso, a quantidade de glicerol foi reduzida proporcional a quantidade de extrato adicionado. Assim, o extrato

foi adicionado nas concentrações de 0%, 5%, 10%, 15% e 20% (v/v), o glicerol foi reduzido em 0%, 25%, 50%, 75% e 100%, respectivamente. Em filmes com adição de 20% de extrato em relação ao volume total de solução de amido produzida não foi necessária a adição de glicerol. Para os próximos foi seguida a sequência em porcentagens de adição de glicerol: 75% da quantidade de glicerol total que deveria adicionado para 5% de extrato, 50% de glicerol para 10% de extrato e 25% de glicerol para 15% de extrato.

3.4.2 Caracterização química dos filmes

O extrato presente nos filmes foi extraído pela adição do filme em solução de água:etanol na proporção de 1:1, em agitação durante 24 h. Após, a solução de água:etanol foi filtrada e as análises de compostos fenólicos totais (item 3.2.1) e atividade antioxidante (itens 3.2.2 e 3.2.3) realizada do material filtrado.

3.4.3 Caracterização dos filmes

Para a avaliação das propriedades físicas dos filmes, os mesmos foram armazenados em dessecador com umidade relativa controlada em 53% e temperatura de 25 °C, por 48 h antes de cada análise.

3.4.3.1 Espessura

A espessura dos filmes foi avaliada com auxílio de um micrômetro externo digital (Digimess, 110.284 new) pela medição de diversos pontos em toda a área do filme.

3.4.3.2 Propriedades mecânicas

A resistência à tração e a porcentagem de alongação na ruptura foi determinada utilizando o texturômetro (modelo TA-XTplus, *Stable Micro Systems*, Reino Unido). A análise foi realizada em triplicata, sendo o equipamento operando com separação inicial de garras de 40 mm e velocidade do teste de 0,8 mm.s⁻¹. As amostras são cortadas em tamanho padronizado, de 80x25 mm de acordo com o método ATM D 882-18 (ASTM, 2018). A resistência à tração foi determinada pelo ponto de tensão máximo da curva tensão-deformação. O alongamento foi determinado pela diferença entre a distância

inicial até o filme se romper. O módulo de Young foi calculado a partir da inclinação da porção linear inicial da curva tensão-deformação.

3.4.3.3 Avaliação da solubilidade em água

As amostras foram cortadas com diâmetro de 20 mm e foram secas a 105 °C por 24 h para determinar o peso seco inicial. Após a pesagem, as amostras foram imersas em 50 mL de água destilada e mantidas sob agitação por 24 h a 25 °C. Decorrido este tempo, as amostras foram removidas do recipiente com água e secas a 105 °C durante 24 h para determinação de seu peso seco final (Cuq et al., 1997). A solubilidade foi calculada conforme a Equação 2:

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{(\text{massa}_{\text{inicial}} - \text{massa}_{\text{final}})}{\text{massa}_{\text{inicial}}} \times 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

3.4.3.4 Permeabilidade ao vapor d'água

As amostras foram colocadas sobre cápsulas de alumínio com diâmetro de 5 cm², de modo que a transferência de massa seja somente através do filme. As cápsulas contendo 20 g de carbonato de cálcio, previamente seco em estufa a 105 °C por 1 h, foram colocadas em dessecador com umidade relativa controlada de 75% através de solução saturada de cloreto de sódio. A quantidade de vapor de água que migra através do filme foi determinada indiretamente pelo ganho de peso do carbonato de cálcio, pesando a cápsula de alumínio após 48 h. A taxa de transmissão de vapor (TVA) foi determinada através de regressão linear, utilizando como dados o tempo e as pesagens que ocorreram no período especificado, de acordo com metodologia ASTM E96-00 (ASTM, 2016) com modificações, conforme as Equações 3 e 4:

$$Tva = \frac{G}{(T \times A)} \quad \text{Eq. (3)}$$

Sendo:

Tva: taxa de transmissão de vapor de água (g.d⁻¹.m⁻²);

G: variação de massa da célula de medida (g);

t: tempo transcorrido (dias - 1);

A: área superficial de transferência de massa do filme (m²).

Posteriormente foi determinada a permeabilidade ao vapor de água (PVA), de acordo com a Equação:

$$Pva = \frac{Tva \times X}{S(R1-R2)} \quad \text{Eq. (4)}$$

Sendo:

Pva: permeabilidade ao vapor de água do filme ($\text{g} \cdot \text{mm} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-1}$);

X: espessura do filme (mm);

S: pressão de vapor (kPa) a 20°C;

R1 e R2: umidades relativas da câmara de teste (75%) e do interior da célula de medição (0%), respectivamente.

3.4.3.5 Cor e opacidade

A análise da cor e opacidade dos filmes foi determinada usando o colorímetro (Colorquest II, Hunterlab). Os parâmetros de cor L^* (preto/branco) e as coordenadas de cromaticidade a^* (verde/vermelho) e b^* (azul/amarelo) foram determinados. Para determinação da opacidade dos filmes foi calculada a relação entre a opacidade do filme sobreposto ao padrão preto e ao padrão branco segundo metodologia proposta por Hunterlab (1997). Os valores de opacidade foram calculados de acordo com a seguinte Equação 5.

$$Opacidade = \frac{Op}{Ob} \times 100 \quad \text{Eq. (5)}$$

Onde:

Op: opacidade contra um fundo preto;

Ob: opacidade contra um fundo branco.

A diferença de cor (ΔE^*) foi calculada com a equação 6:

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{Eq. (6)}$$

A diferença de tonalidade (ΔH^*) entre os filmes foi medida através das seguintes equações 7 e 8:

$$Chroma C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Eq. (7)}$$

$$\Delta H^* = \sqrt{(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2} \quad \text{Eq. (8)}$$

3.4.3.6 *Morfologia*

As propriedades morfológicas do filme de amido de mandioca e incorporados de extrato de *Physalis peruviana* foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (modelo VEG3 LM, MARCA Shimadzu, Japão), amplificação de 1000 vezes. As amostras foram colocadas em stub e metalizadas com ouro.

3.4.3.7 *Espectroscopia no infravermelho com transformada por Fourier (FTIR-ATR)*

Os espectros de FTIR dos filmes foram estudados usando espectrômetro de infravermelho equipado com acessório de refletância total atenuada (ATR) (Modelo Cary 630, Argilent Technologies, EUA). As medições espectrais foram realizadas no modo de absorvância. Cada espectro foi registrado na faixa de 650 a 4000 cm^{-1} , com 48 varreduras completas com uma resolução de 4 cm^{-1} .

3.4.3.8 *Análise termogravimétrica*

As análises de perda de massa dos filmes foram realizadas em analisador termogravimétrico PerkinElmer (Modelo STA 6000, PerkinElmer, EUA). A temperatura programada foi de 50 °C até 700 °C, aumentando 10°C/min, nitrogênio 15 mL/min.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As determinações foram realizadas em triplicata, e a média e desvio padrão foi reportado. O software Statistica 7.0 (Stasoft, EUA) foi utilizado para calcular a análise de variância (ANOVA). O teste de Tukey foi utilizado para determinar as diferenças entre as propriedades dos filmes e do extrato em um nível de confiança de 95%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA *PHYSALIS PERUVIANA*

Os frutos de *Physalis peruviana* apresentaram umidade de 79%. Em geral, as frutas são conhecidas por terem um alto teor de umidade, acima de 60%. As frutas da família *Solanaceae*, a qual pertence a *Physalis peruviana*, possuem umidade acima de 75%, como a Berinjela com umidade de 90% (SILVA et al, 2012), o pepino com 85% (BRUNINI et al, 2011), a batata com 80% (QUADROS et al, 2009) e o tomate com 80% (FAGUNDES et al, 2005). Diversos estudos realizados caracterizam a *Physalis peruviana* com umidade aproximada de 78% (RAMADAN, 2011).

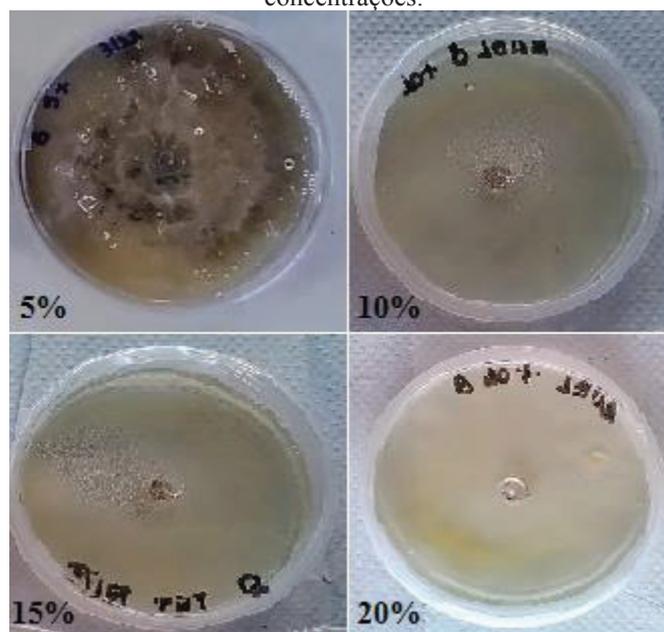
A quantidade de sólidos solúveis nos frutos de *Physalis peruviana* resultou em 13 °Brix. De acordo com pesquisas, esta fruta possui entre 12 °Brix a 15 °Brix (RAMADAN, 2011; LIMA et al, 2012). Esta quantidade de sólidos é devido a quantidade de açúcares, principalmente frutose (RAMADAN, 2011).

Na produção de filmes de amido com adição de extrato, os açúcares provenientes da fruta atuam como plastificantes, substituindo total ou parcialmente a adição de glicerol. Estudos de Amalini et al. (2018) sugerem que o glicerol pode ser totalmente substituído por ésteres de sacarose, porém as propriedades do filme sofrem alterações, como aumento da elasticidade e diminuição da resistência à tração.

4.2 TESTE DA AÇÃO ANTIFÚNGICA DO EXTRATO

O crescimento micelial foi inibido em 100% quando o volume de 2,5 mL do extrato foi incorporado ao meio de cultura (PDA), resultando em uma concentração final de 10% (v/v). Volumes superiores do extrato, nas concentrações de 15% e 20% também apresentaram capacidade de inibição de 100%. A concentração de 5% do extrato não teve capacidade de inibição suficiente (Figura 9).

Figura 9: Ação antifúngica do extrato de *Physalis peruviana* contra *Botrytis cinerea* em diferentes concentrações.



Fonte: Autor (2020).

A atividade antifúngica do extrato de *Physalis peruviana* se deve a presença dos compostos bioativos presentes na planta e transferidos para o extrato. Na maioria das vezes, a concentração dos diferentes compostos presentes não é suficiente para que um composto isoladamente exerça atividade antifúngica, porém a ação sinérgica destes compostos contém capacidade antifúngica (PIRES; OLIVEIRA, 2011; RAZZAGHI-ABYANEH; RAY, 2013).

De acordo com Filippi (2018), os principais compostos identificados por cromatografia líquida no extrato de *Physalis peruviana* são a quercetina, ácido clorogênico, ácido cafeico e o ácido ferúlico. Estes compostos já possuem atividade antifúngica comprovada por diversos autores e para diversos fungos. O ácido clorogênico possui atividade antifúngica comprovada para o *Botrytis cinérea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani*, *Verticillium dahlia* e *Cercospora sojina* (MARTÍNEZ et al., 2017). A quercetina, em conjunto com outros compostos fenólicos, apresentou resultados promissores na inibição de nove cepas de *Botrytis cinerea* (PATZKE; SCHIEBER, 2018). Ácido cafeico e ácido ferúlico estão presentes no extrato de *Marrubium vulgare* L., que possui atividade antifúngica comprovada para *B. cinérea*, *P. ultimum* e *E. floccosun* (REZGUI et al., 2020). Desta forma, sabe-se que os principais compostos fenólicos presentes no extrato possuem atividade antifúngica já anteriormente

comprovada para o *B. cinerea*. Pode-se presumir então, que o efeito sinérgico destes componentes causou a capacidade antifúngica do extrato.

Segundo Martínez et al. (2017), os ácidos fenólicos e flavonoides podem promover o rompimento da membrana celular e a disfunção das mitocôndrias fúngicas. Desta forma, os compostos presentes no extrato podem ter atuado principalmente sobre a membrana citoplasmática do fungo. Ainda segundo Zabka e Pavela (2013), a estrutura e as posições dos grupos funcionais dos compostos presentes no extrato, promovem o aumento da permeabilização da membrana do fungo, permitindo a dissolução e acúmulo no mesmo.

4.3 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO E FILMES DE AMIDO DE MANDIOCA INCORPORADOS DE EXTRATO

4.3.1 Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

Na Tabela 4 estão os resultados de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato e dos filmes. Os resultados de fenólicos totais e atividade antioxidante caracterizam e confirmam o potencial bioativo e funcional do extrato de *Physalis peruviana* e dos filmes complementados com o extrato. Os resultados indicam a presença de compostos bioativos antioxidantes.

Tabela 4: Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato e filmes adicionados de extrato de *physalis peruviana* em diferentes concentrações.

Amostra	Fenólicos totais (mg GAE/g)	FRAP ($\mu\text{mol Trolox /L}$)	DPPH ($\mu\text{mol Trolox /L}$)
Extrato (0 dias)	1,850 \pm 0,027	131,734 \pm 0,406	151,528 \pm 0,573
Extrato (1 semana)	0,555 \pm 0,018	28,963 \pm 0,204	18,555 \pm 0,373
Filme 5% de extrato	0,572 \pm 0,004 ^c	38,958 \pm 0,807 ^c	29,964 \pm 1,515 ^c
Filme 10% de extrato	0,890 \pm 0,008 ^b	39,294 \pm 0,598 ^c	25,737 \pm 0,346 ^c
Filme 15% de extrato	0,909 \pm 0,009 ^b	64,114 \pm 0,479 ^b	40,968 \pm 2,097 ^b
Filme 20% de extrato	1,074 \pm 0,001 ^a	79,476 \pm 0,212 ^a	87,474 \pm 1,313 ^a

Os resultados expressam a média \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autor (2020).

A concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante diminuiu de acordo com o envelhecimento do extrato (Tabela 4). Os possíveis fatores para esta degradação são o tempo e a forma de armazenamento, mesmo quando o extrato foi armazenado congelado. Gennaro et al. (2002) comprovam em sua pesquisa que o armazenamento caseiro, sendo em ele refrigerador ou congelador, pode reduzir entre 64% a 73% em compostos fenólicos e até 36% da atividade antioxidante. De acordo com Tenório et al. (2017), dentre os compostos presentes nos frutos de *Physalis peruviana* o ácido ascórbico e o β -caroteno são estáveis a tratamento térmico, enquanto os flavonoides são parcialmente degradados.

O teor de compostos fenólicos totais em *Physalis peruviana* Linnaeus e espécies semelhantes foram relatados mostrando uma ampla variação de 0,025 a 9,34 mg GAE/g de amostra (PUENTE et al., 2011; TENORIO et al., 2016; TENORIO et al., 2017; NARVÁEZ-CUENCA; MATEUS-GÓMEZ; RESTREPO-SÁNCHEZ, 2014). De acordo com Tenório et al. (2016) a grande variação do conteúdo destes compostos pode ser causada pelo uso de diferentes variedades, cultivares ou ecótipos. Esta quantidade de compostos fenólicos dos extratos de *Physalis peruviana* Linnaeus se mostram muito parecidos com o que é relatado para o abacaxi (0,56 a 1,93 mg GAE/g) e ameixa (1,74 a 3,75 mg GAE/g) (TENÓRIO et al, 2016).

Tenório et al. (2017) analisou a atividade antioxidante dos frutos de *Physalis peruviana*, pelo método DPPH e os resultados foram entre 547,6 μ mol Trolox /L e 380,3 μ mol Trolox /L. Analisando estes dados, sabe-se que a solução extratora escolhida não foi capaz de extrair todos os compostos antioxidantes do fruto, porém a solução extratora etanol/água foi escolhida com base nos dados de extração de compostos bioativos de erva-mate, onde a solução etanol/água resulta em extratos com o dobro de atividade antioxidante que apenas utilizando o etanol como extrator, e em 3,5 mais atividade antioxidante que utilizando a água como extratora (KNAPP et al., 2017).

A análise dos filmes com adição do extrato demonstrou que a atividade antioxidante e concentração de compostos fenólicos foi mantida pelo filme. Já que no filme com 20% de extrato a concentração de compostos fenólicos é equivalente a 58% da concentração do extrato puro. Isto remete que a incorporação do extrato em uma matriz como o amido, pode proteger os compostos bioativos do extrato, evitando a degradação. Este mesmo efeito foi observado por Areco et al. (2019) quando adicionou extrato de alecrim a filmes de amido, onde a concentração de polifenóis aumentou significativamente de 4,28 mg

GAE/g nos filmes com 2,5% de extrato para 16,43 mg GAE/g nos filmes com 10% de extrato, aumento de 26% da concentração de polifenóis.

A proteção destes compostos pelo filme de amido é um efeito positivo, pois desta forma, prova-se que o extrato tem ação por mais tempo quando adicionado a uma matriz como os filmes de amido, possibilitando a utilização destes como uma embalagem antifúngica e antioxidante em alimentos. A liberação de antioxidantes da embalagem ativa funciona melhor do que a adição direta de antioxidantes aos alimentos (Uranga et al., 2018). Areco et al. (2019) mostra que em um sistema parcialmente solúvel, como amido-glicerol, espera-se que os compostos ativos sejam liberados instantaneamente à medida que a matriz se dissolve ao entrar em contato com a umidade do ar.

Os compostos fenólicos e atividade antioxidante dos filmes deste trabalho foram analisados em menos de 24 h após ficarem prontos, um dos motivos para a alta concentração destes compostos bioativos. Porém Areco et al. (2019) afirma que filmes ativos de amido não podem ser usados como um sistema de liberação controlada de compostos fenólicos quando uma grande quantidade de água está disponível, já que os compostos tendem a ser liberados mais rapidamente. Esta característica deve ser levada em consideração na escolha do alimento em que se utilizará a embalagem, já que alguns requerem uma liberação mais rápida, enquanto em outros, deve ser mais lenta.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

4.4.1 Avaliação macroscópica

A Figura 10 mostra os filmes de amido de mandioca com adição de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações. Os filmes apresentaram-se homogêneos, maleáveis, com textura aderente, brilhosa com superfície lisa e sem rugas, sem formação de bolhas e rachaduras. A coloração tornou-se mais intensa conforme aumentou-se a concentração de extrato adicionado, tendendo a uma coloração amarela, característica do extrato de *physalis*.

A cor e aparência da embalagem pode influenciar na aceitação do consumidor. A cor amarela é característica do extrato, podendo dificultar a avaliação do consumidor no amadurecimento de algumas frutas, que podem ser avaliadas a partir da cor. Mas isto não influencia na transparência da embalagem, fator mais importante em embalagens de alimentos, preferida pelos consumidores para melhor visualização do produto que está

comprando, principalmente se forem alimentos de rápida degradação como frutas, legumes, verduras e produtos cárneos.

Figura 10: Imagem dos filmes adicionados de extrato de *physalis peruviana* em diferentes concentrações.



Fonte: Autor (2020).

4.4.2 Avaliação da cor

Visualmente todos os filmes ficaram transparentes, porém a coloração amarela, proveniente do extrato de *Physalis peruviana*, aumenta nos filmes com maior concentração de extrato. Mehdizadeh et al. (2020) demonstra que os aditivos podem alterar a cor original ligando-se à composição estrutural dos filmes e a cor é diretamente afetada pelo tipo e concentração de extratos. Este aumento na coloração amarela dos filmes pode ser visto pelo aumento de b^* , que indica esta coloração (Tabela 5).

Tabela 5: Perfil colorimétrico dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.

Extrato ¹	L*	a*	b*	C*
Controle	91,69±0,78 ^a	-0,93±0,01 ^a	0,30±0,09 ^d	0,98±0,03 ^d
5% de extrato	89,37±0,12 ^{ab}	-2,17±0,06 ^a	9,69±0,28 ^c	9,93±0,29 ^{cd}
10% de extrato	87,31±0,72 ^{abcd}	-2,36±0,09 ^a	21,70±2,23 ^{bc}	21,83±2,21 ^b
15% de extrato	82,09±2,95 ^{cd}	0,06±1,45 ^a	27,93±1,21 ^b	27,98±1,23 ^b
20% de extrato	83,73±1,48 ^{bcd}	-0,84±0,49 ^a	38,73±3,33 ^a	38,75±3,31 ^a

¹Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autor (2020).

A luminosidade (L^*) diminui com o aumento da concentração de extrato nas amostras, porém esta diferença não tem significância ($p > 0,05$) até a concentração de 15% de extrato nos filmes. Avaliando os valores de L^* e C^* pode-se definir que conforme o aumento da concentração de extrato os filmes têm uma coloração mais viva, mantendo a característica de tons claros. O parâmetro de cor a^* , que indica a coloração verde/vermelho, não teve variação significativa.

Realizando uma comparação entre a diferença de cor (ΔE^*ab) e tonalidade (ΔH) dos filmes com adição de extrato e o filme controle, nota-se que ambas são crescentes, de acordo com a concentração de extrato adicionada (Tabela 6).

Tabela 6: Diferença de cor e tonalidade dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.

Extrato	Diferença de cor (ΔE^*ab)	Diferença de tonalidade (ΔH)
5% de extrato	9,77±0,50 ^c	3,10±0,24 ^d
10% de extrato	21,90±2,08 ^{bc}	5,01±0,15 ^{cb}
15% de extrato	29,51±2,43 ^{bc}	6,17±0,56 ^{abc}
20% de extrato	39,29±3,76 ^a	7,15±0,70 ^{ab}

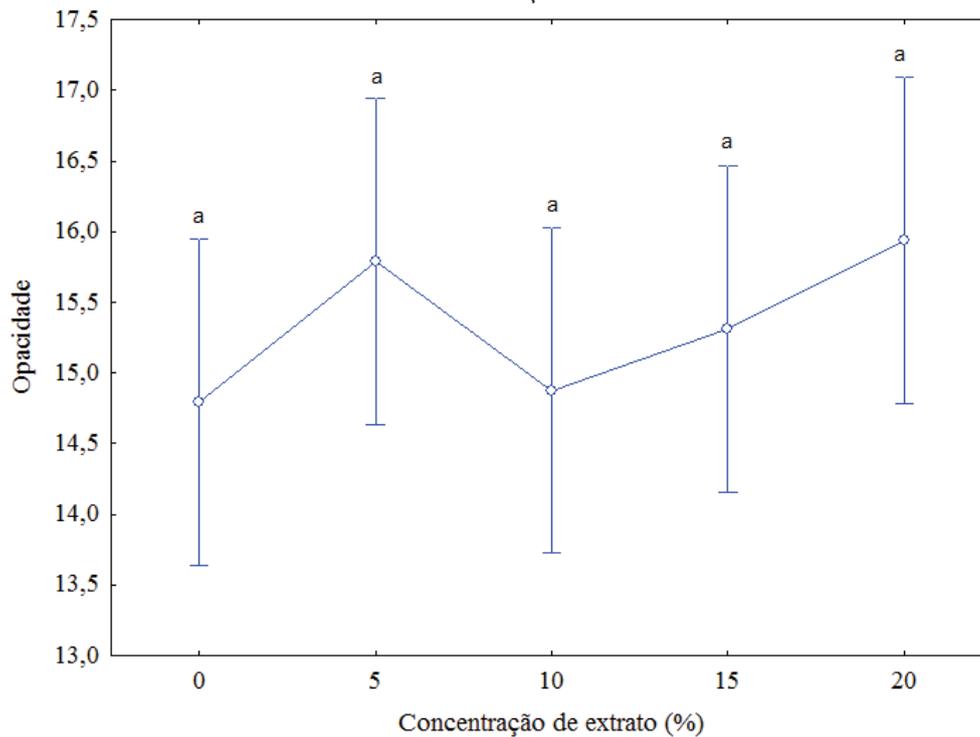
Os resultados expressam a média \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autor (2020).

A partir da análise do ΔE^*ab observa-se uma grande diferença de cor, porém para compreender a diferença entre as cores, pode-se analisar os valores de chroma (C^*), que quanto maiores, mais saturada será a coloração. Outra forma de compreender de que forma há uma grande diferença de cor é pela diferença de tonalidade (ΔH). O valor de ΔH aumenta com o aumento da concentração de extrato, isto indica que as amostras estão ficando mais próximas do eixo $+b^*$, ou seja, mais amarelas.

A opacidade dos filmes está demonstrada na Figura 11. Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre a opacidade do filme controle comparada aos filmes com adição de extrato. Para embalagens de alimentos a alta opacidade só é interessante para alguns tipos de alimentos, portanto estes filmes com baixa opacidade atendem os critérios de embalagens para frutas, por exemplo. Desta forma, apesar da embalagem apresentar coloração amarelada, isso não afetou sua transparência.

Figura 11: Opacidade dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.



Letras iguais são iguais estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autor (2020).

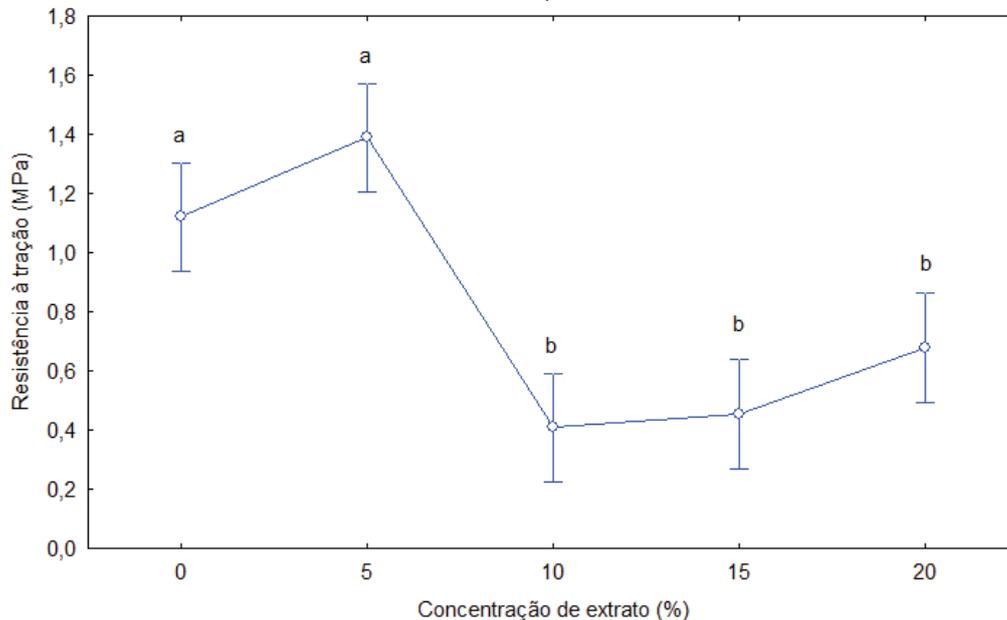
4.4.3 Propriedades mecânicas

As curvas de tensão x deformação dos filmes com adição de extrato de *Physalis peruviana* demonstraram uma diminuição da resistência à tração nos filmes com concentração de extrato superior a 10% (Figura 12). De acordo com Hernandez et al. (2017) a adição de extratos de plantas, como o extrato de alecrim, também diminuiu a resistência à tração dos filmes de amido de mandioca. Este comportamento pode ocorrer devido ao enfraquecimento das interações glicerol-amido na presença do extrato (HERNANDEZ et al., 2017), um fator que reforça esta explicação é que os filmes deste trabalho tiveram uma redução na quantidade de glicerol. Percebe-se então, que embora inicialmente o açúcar presente no extrato fosse suficiente como plastificante dos filmes, a resistência diminuiu.

Assim, a direção e o estágio das mudanças de resistência podem depender da origem dos extratos que contêm uma composição diversificada de compostos polifenólicos com capacidade diferente de interagir com polímeros, bem como de sua

concentração na solução formadora de filme. Guidi et al. (2020), também descreveu a diminuição da resistência de filmes de amido com adição de extrato naturais.

Figura 12: Resistência à tração dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.

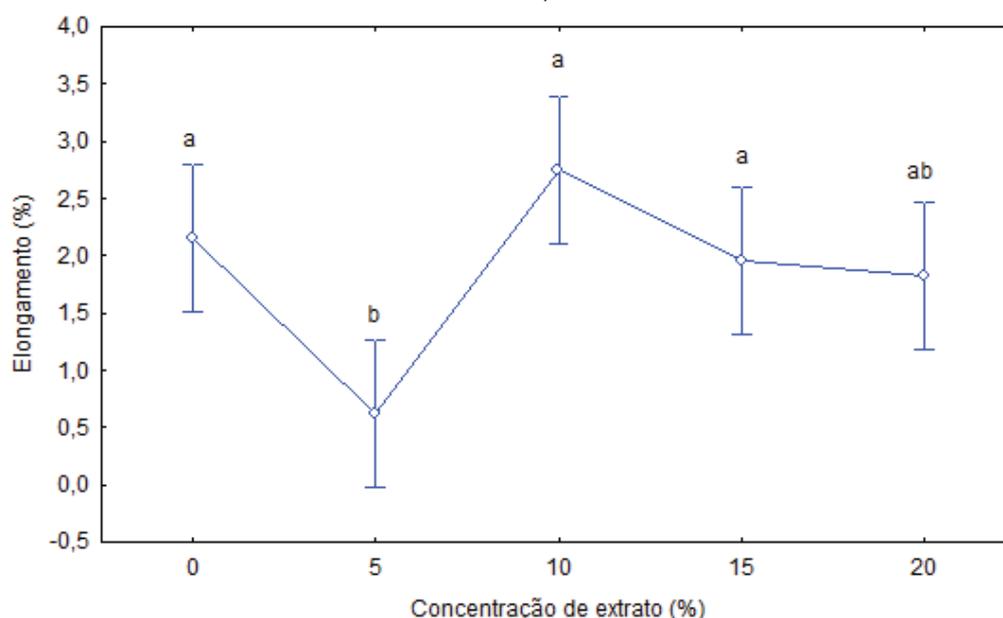


Letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Autor (2020).

O filme com adição de 5% de extrato se mostrou o menos elástico em comparação aos filmes com adição de extrato (Figura 13), enquanto que o filme controle e os com adição de 10%, 15% e 20% demonstraram a mesma elasticidade ($p > 0,05$). Comparando os resultados de resistência e alongação, pode-se perceber que os filmes com maior resistência são os menos elásticos, resultados também encontrados por Caetano et al. (2018), no estudo da incorporação do óleo essencial de orégano em filmes de amido de mandioca.

Figura 13: Elongamento dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.



Letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Autor (2020).

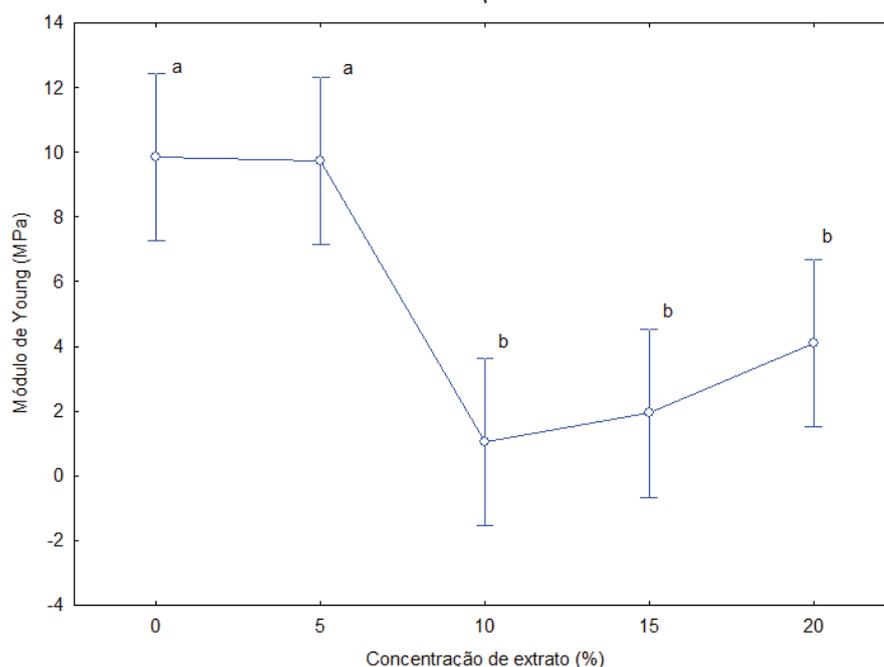
A alteração na quantidade de glicerol torna a matriz menos densa e, quando a tensão é aplicada, o movimento das cadeias poliméricas é facilitado devido às interações fracas entre as cadeias de amido na matriz do filme (CAETANO et al., 2018). A partir da concentração de 10%, o extrato parece atuar como plastificante mais eficiente, melhorando a mobilidade molecular das cadeias poliméricas.

Saberi et al. (2017) avaliou a substituição do glicerol por diversos produtos, inclusive frutose e glicose, e verificou que a mudança de substâncias plastificantes diminuiu a resistência à tração, aumentou a elasticidade e diminuiu o módulo de elasticidade, comprovando os eventos deste trabalho.

Quanto ao filme com 5% de extrato, sugere-se que nesta concentração, a maior resistência e menor flexibilidade são devidas à maior concentração de glicerol na amostra, sabendo que o glicerol é um forte plastificante. A presença de plastificantes como o açúcar, presente no extrato, torna os filmes mais flexíveis, sendo que a resistência à tração diminui e o alongamento até a ruptura aumenta (RIBBA et al., 2017). Este comportamento também pode ser resultado da presença de compostos fenólicos que atuam como plastificantes (JARAMILLO et al., 2015, 2016).

Quanto maior o módulo, maior será a rigidez dos filmes. De acordo com a Figura 14, o módulo de Young reduziu com o aumento da concentração de extrato.

Figura 14: Módulo de Young dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.



Letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Autor (2020).

Relata-se que a incorporação de polifenóis no filme de amido pode interromper a formação da grade de amido, enfraquecendo a ligação intermolecular do hidrogênio, dificultando as interações de cadeia polímero-polímero e fornecendo os domínios flexíveis dentro dos filmes (SUN et al., 2017), resultando propriedades mecânicas diminuídas, porém mais elástico.

4.4.4 Espessura, permeabilidade ao vapor d'água (PVA) e solubilidade

A adição de extrato de *physalis* não influenciou significativamente ($p > 0,05$) a espessura dos filmes (Tabela 7). Esta característica pode estar relacionada à quantidade de glicerol ter diminuído proporcionalmente ao aumento da concentração de extrato, não aumentando o teor de sólidos no final da formulação dos filmes. Liu et al. (2019) e Musso, Salgado e Mauri (2019) também relataram que a espessura dos filmes não é afetada pela adição de extratos de plantas.

Tabela 7: Avaliação da espessura, permeabilidade ao vapor d'água (PVA) e solubilidade dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.

Extrato (v/v) ¹	Espessura (mm)	PVA (g.mm.d ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹)	Solubilidade (%)
Controle	0,095±0,008 ^a	6,73±0,43 ^a	58,87±0,71 ^a
5% de extrato	0,149±0,046 ^a	5,95±0,15 ^a	33,43±0,97 ^d
10% de extrato	0,129±0,034 ^a	3,91±0,14 ^{bc}	36,30±0,38 ^c
15% de extrato	0,142±0,015 ^a	4,31±0,17 ^b	41,22±0,84 ^b
20% de extrato	0,158±0,025 ^a	3,37±0,13 ^c	41,84±0,38 ^b

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Autor (2020).

A permeabilidade ao vapor d'água e a solubilidade diminuíram significativamente (p<0,05) com a adição do extrato de *physalis*, porém a PVA ocorreu a partir da adição de 10% de extrato, resultando na diminuição da permeabilidade de acordo com o aumento da concentração de extrato. A solubilidade e a permeabilidade são características que geralmente influenciam uma a outra, pois tem relação com a interação dos filmes com a água.

Inicialmente os valores menores nestas características em relação ao filme controle, se devem a diminuição da concentração de glicerol. De acordo com Caetano et al. (2018), o glicerol é um composto altamente higroscópico e a substituição dele por extratos de plantas reduz a absorção de água pelos filmes, pois estas substâncias são misturas complexas e geralmente hidrofóbicas. Além disso, estudos realizados por Saberi et al. (2017) substituindo o glicerol por açúcares monossacarídeos e dissacarídeos, afirma que a formação de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e os grupos hidroxila expostos de amilose e amilopectina leva ao inchaço e a solubilidade dos grânulos. A solubilidade e o poder de inchamento do amido são um sinal do grau de interações das cadeias de amido nas áreas cristalina e amorfa. Os açúcares reduziram a solubilidade e a permeabilidade ao vapor d'água, formando ligações cruzadas (pontes de açúcar) entre cadeias de amido nas regiões amorfas dos grânulos de amido estabilizando essas regiões.

Estatisticamente (p<0,05) o filme com menor solubilidade é o com 5% de extrato, porém mesmo aqueles com maior concentração de extrato resultaram em uma diminuição de 30% na solubilidade do filme, em relação ao filme controle. Outra possível causa para a diminuição da permeabilidade e solubilidade dos filmes está relacionada aos polifenóis provenientes do extrato de *Physalis peruviana*, que podem interagir com a matriz de

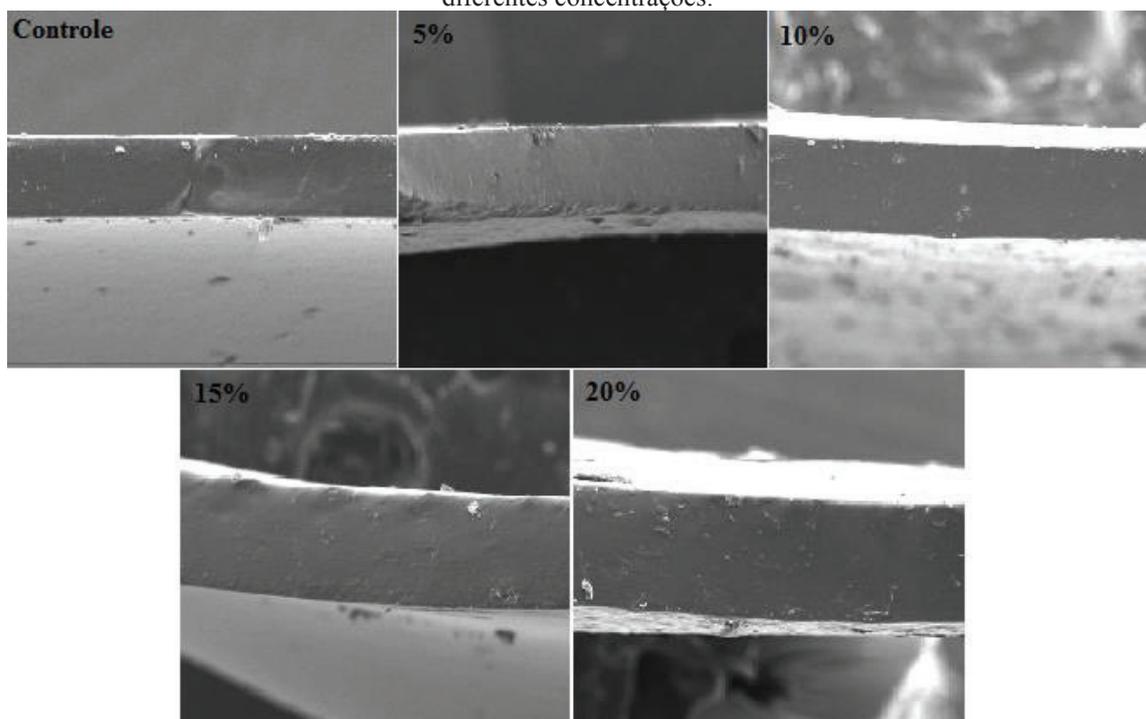
filmes à base de polissacarídeos por meio de ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, aumentando assim as propriedades mecânicas de elasticidade e de barreira dos filmes (LIU et al., 2019).

Khan et al. (2012) enfatizam que o vapor de água tem maior probabilidade de se difundir através das regiões amorfas da matriz do filme. Assim, a diminuição da permeabilidade e solubilidade dos filmes incorporados com extrato também foi relacionada à diminuição das regiões amorfas.

4.4.5 Propriedades morfológicas

As micrografias transversais dos filmes com diferentes concentrações de extrato são mostradas na Figura 15. As seções transversais dos filmes são lisas e uniformes, sem rachaduras ou poros visíveis, indicando que os componentes filmogênicos foram homogeneamente misturados e compatíveis entre si. Tem-se a hipótese de que os polifenóis do extrato de *physalis* poderiam interagir com o amido através de ligações de hidrogênio, produzindo uma rede compacta e densa (Zhang et al., 2010). As densas estruturas internas dos filmes foram benéficas para melhorar suas propriedades mecânicas e de barreira.

Figura 15: Morfologia da seção transversal dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.

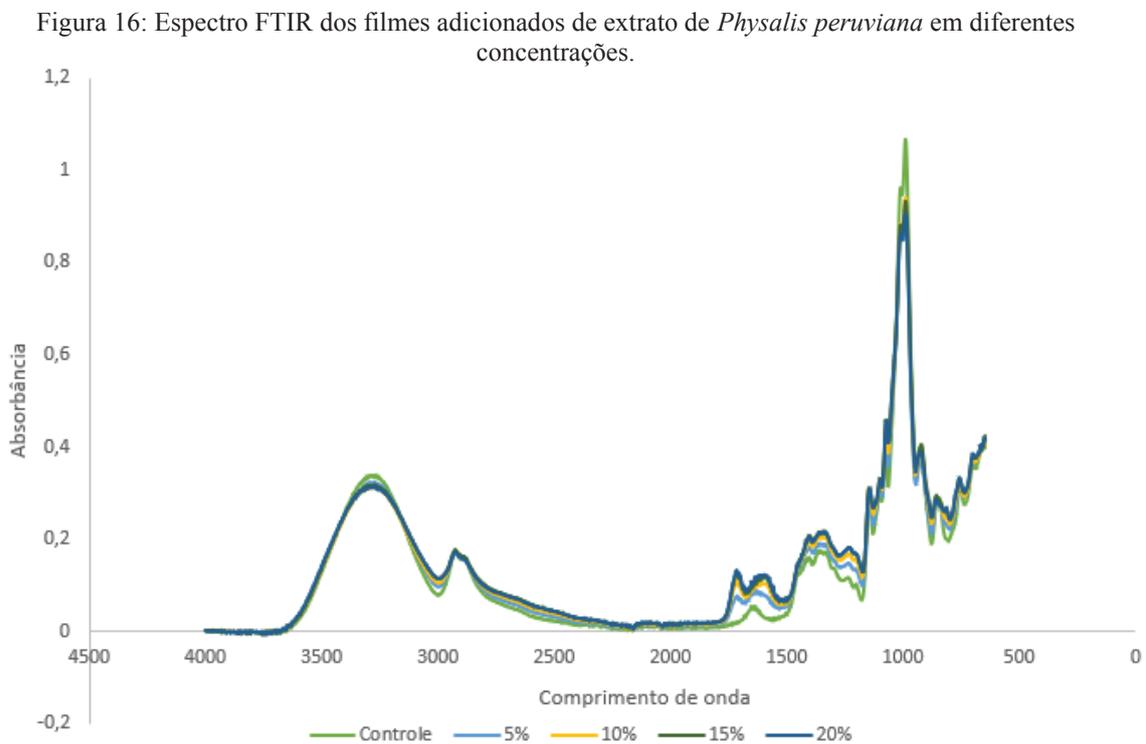


Fonte: Autor (2020).

Um filme com uma superfície homogênea é considerado um forte indicador de integridade estrutural, ressaltando as propriedades mecânicas e os mecanismos de barreira. De acordo com Córdoba et al. (2017), este resultado mostra que houve boa dispersão das partículas do extrato, formando uma estrutura homogênea.

4.4.6 Espectroscopia no infravermelho com transformada por Fourier (FTIR)

A fim de detectar a intensidade de absorção dos grupos funcionais dos filmes com adição de extrato de *P. peruviana*, foi realizada a análise FT-IR e os espectros resultantes podem ser vistos na Figura 16.



Fonte: Autor (2020).

Os espectros indicam que a adição do extrato resultou em duas novas bandas na região entre 1500 a 1750 cm^{-1} . As demais bandas identificadas são relatadas como típicas para filmes de amido de mandioca. Na Tabela 8 estão os dados relatados por Córdoba et al. (2017) e Hernandez et al. (2017) em seus estudos, para filmes de amido de mandioca com adição de extratos vegetais.

Tabela 8: Espectros e ligações identificadas no FTIR dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.

Espectro (cm ⁻¹)	Ligação
800-1000	C-O CH ₂
1000-1200	C-O-C C-O-H C-OH
1250	C-O
1400	C-H
1500-1600	Compostos fenólicos
1700-1750	C=O (ácidos carboxílicos)
2900	C-H
3330	O-H

Fonte: Córdoba et al. (2017); Hernandez et al. (2017); modificações do Autor (2020).

Pode-se perceber que todos os filmes mostraram as bandas características de amido a 3300 cm⁻¹ e 2900 cm⁻¹. Os espectros dos filmes com adição de extrato, mesmo naquele com apenas 5% de extrato, mostraram bandas correspondentes ao alongamento dos anéis aromáticos devido à presença de compostos fenólicos do extrato de *physalis* entre 1500 a 1600 cm⁻¹ e outros sinais entre 1700 a 1750 cm⁻¹ atribuídos à presença de ácidos carboxílicos (HERNANDEZ et al., 2017).

Desta forma, pode-se afirmar que houve interação entre o material do filme e o extrato adicionado, mesmo que em pequena quantidade. De acordo com Zhao et al. (2018) a evidência desta interação dos compostos bioativos do extrato com os filmes produzidos com amido de mandioca, faz com que possivelmente estes filmes atuem como transportadores de antioxidantes, conseqüentemente em substâncias antifúngicas.

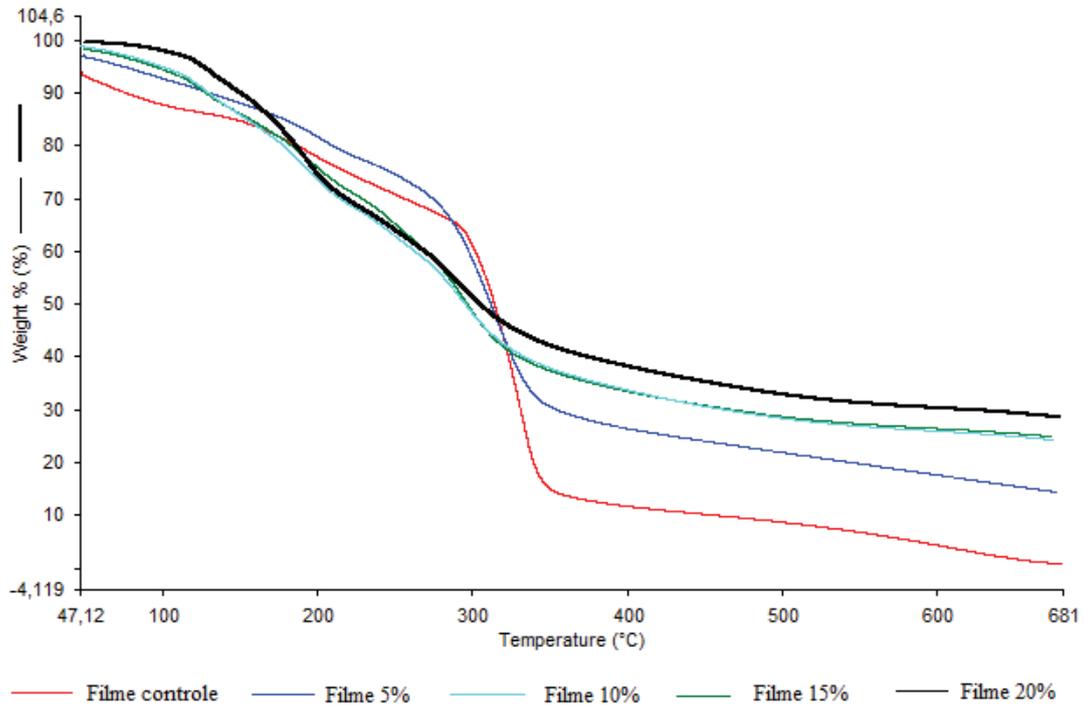
Quando há interação entre os materiais, pode-se sugerir que da mesma forma que o extrato possui atividade antifúngica, os filmes também podem apresentar, resultando em um filme bioativo que atua no combate ao *Botrytis cinerea*.

4.4.7 Análise termogravimétrica

As curvas da análise termogravimétrica (TGA) e derivada termogravimétrica (DTA) estão apresentados nas Figuras 17 e 18. A degradação térmica dos filmes de amido de mandioca controle seguiu o padrão descrito na literatura típica de filmes de amido plastificados com glicerol. Perda de massa inicial entre 50 e 150 °C, atribuído à perda de

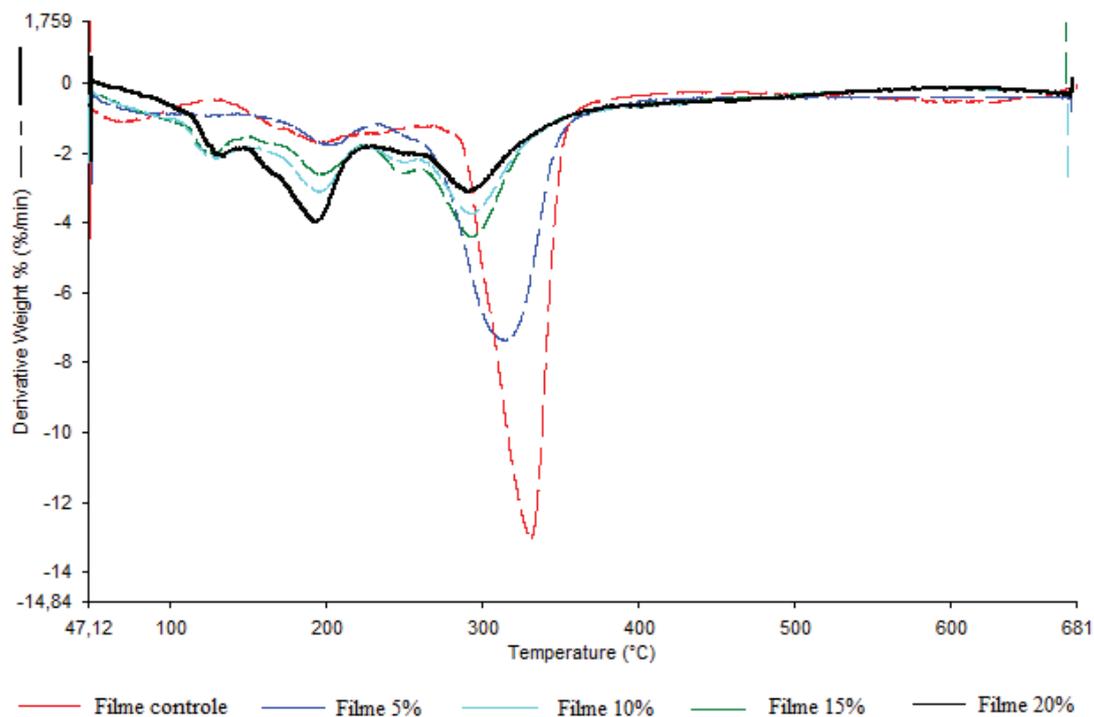
água. O evento de perda de massa entre 200 e 255 °C pode ser atribuído à decomposição da fase rica em glicerol. Nas temperaturas superiores a 255 °C ocorre a degradação do amido (Córdoba et al., 2017).

Figura 17: Análise termogravimétrica dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.



Fonte: Autor (2020).

Figura 18: Derivada da análise termogravimétrica dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.



Fonte: Autor (2020).

A degradação térmica do amido é a mais visível e aparece em todos os filmes, aproximadamente aos 300 °C. Porém conforme ocorre a adição de extrato aparecem outros eventos de degradação, que ficam mais visíveis conforme aumenta-se a concentração do extrato. Na Tabela 9 estão apresentadas as temperaturas de degradação térmica dos filmes.

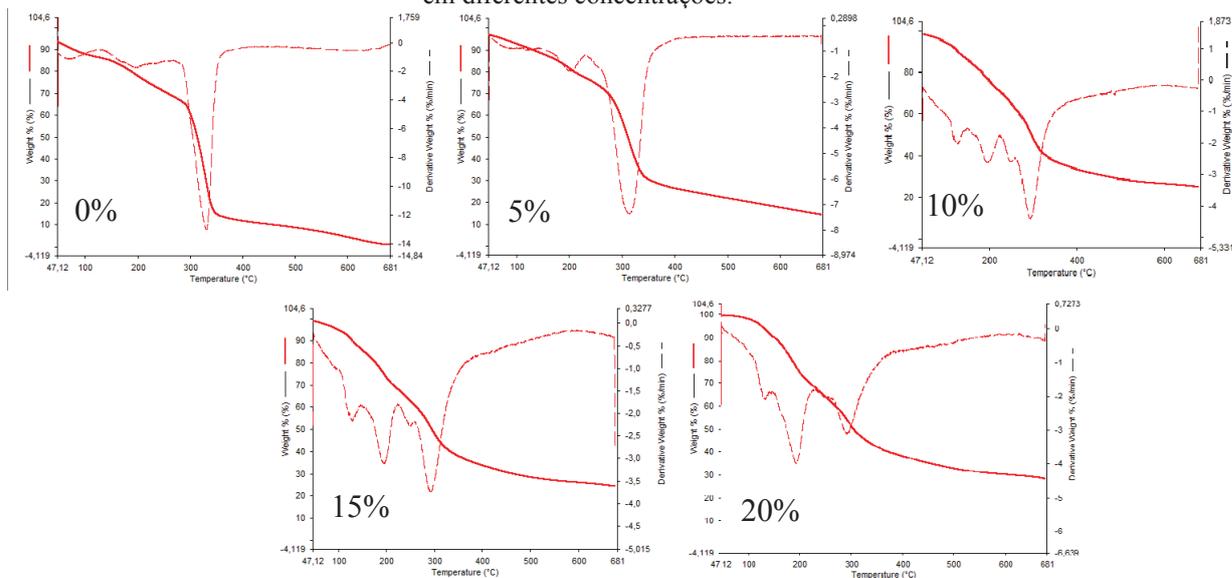
Tabela 9: Temperaturas e compostos degradados na análise termogravimétrica dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.

Filme	Temperatura (°C)	Degradação
Controle	47-110	Água
	170-220	Glicerol
	300-350	Amido
5% de extrato	47-110	Água
	200-280	Glicerol
	280-340	Amido
10% de extrato	120-140	Água
	170-210	Compostos do extrato
	210-260	Açúcares
	260-320	Amido
15% de extrato	110- 140	Água
	170-210	Compostos do extrato
	210-260	Açúcares
	265-320	Amido
20% de extrato	120-140	Água
	170-210	Compostos do extrato
	250-260	Açúcares
	270-320	Amido

Fonte: Guo et al. (2020); Autor (2020).

Analisando a Figura 19, pode-se perceber que nas amostras de filmes com a adição a partir de 10% de extrato a temperatura de início de degradação da água é mais elevada. Pode-se considerar que os compostos do extrato interagiram fortemente com o material do filme, alterando assim a temperatura de ebulição da água adsorvida. Isso ocorre pois há formação de ligações de hidrogênio entre substâncias fenólicas do extrato com o amido de mandioca (ZHANG; LI; JIANG, 2019).

Figura 19: Análise termogravimétrica e derivada dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.



Fonte: Autor (2020).

Entre 170°C e 210°C determina-se como sendo a degradação dos compostos do extrato, já que a concentração de glicerol é baixa nestas amostras. De acordo com Hernandez et al. (2017), esta temperatura de degradação de compostos fenólicos é alta, por isso, pode-se considerar que o extrato de *Physalis* é estável a altas temperaturas, quando incorporado a filmes de amido de mandioca.

Os filmes mostraram uma tendência de diminuição da temperatura inicial de degradação do amido. Assim, pode-se deduzir que a incorporação do extrato aos filmes tornou-os menos estáveis termicamente. Isso pode acontecer devido a interação dos compostos fenólicos do extrato com o material do filme (KONERU; DHARMALINGAN; ANANDALASKSMI, 2020), principalmente provocando alterações na conformação do polímero de amido (CÓRDOBA et al., 2017). A quantidade de açúcares presente no extrato de *Physalis* também pode ter interferido para a diminuição da estabilidade térmica do amido, pois de acordo com Gao et al. (2019), a glicose, frutose e sacarose, interagem diretamente com o amido, rompendo ligações de hidrogênio.

Embora a estabilidade térmica dos filmes tenha diminuído, ainda possui estabilidade térmica superior que filmes obtidos com outros polímeros naturais, tais como de gelatina e quitosana, com degradação aproximada em 250 °C (ANDRETTA et al., 2019), demonstrando que o amido incorporado de extrato de *physalis* ainda é uma boa opção para embalagens de alimentos.

5 CONCLUSÃO

O extrato de *Physalis peruviana* apresentou concentrações de compostos fenólicos e atividade antioxidante suficientes para uma inibição de 100% do fungo *Botrytis cinerea*, a partir de uma concentração mínima de 10% de extrato. Os resultados do teor de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante dos filmes demonstraram que eles mantêm os compostos presentes no extrato, possibilitando a sua utilização como embalagem ativa.

Os filmes elaborados com extrato de *Physalis peruviana* apresentaram boa homogeneidade e maleabilidade. O aumento da concentração de extrato modificou a cor, aumentou a elasticidade, diminuiu a resistência tração, a solubilidade, permeabilidade ao vapor d'água e a temperatura de degradação térmica. A atividade antioxidante, redução da solubilidade e da permeabilidade ao vapor d'água são características significativas para embalagens ativas, pois os filmes devem proteger os alimentos da oxidação e degradação.

A partir destes resultados é possível afirmar que os filmes de amido de mandioca com extrato de *Physalis peruviana* podem ser utilizados como uma embalagem ativa para morangos, pois o extrato presente nos filmes tem atividade antifúngica comprovada contra o *Botrytis cinerea*, principal fitopatógeno pré e pós-colheita do morango.

REFERÊNCIAS

- AMALINI, A. N.; NORZIAH, M. H.; KHAN, I.; HAAFIZ, M. K. M. Exploring the properties of modified fish gelatin films incorporated with different fatty acid sucrose esters. **Food Packaging and Shelf Life**. Malaysia. v. 15. p. 105-112. mar. 2018.
- ANDRETTA, R.; LUCHESE, C. L.; TESSARO, I. C.; SPADA, J. C. Development and characterization of pH-indicator films based on cassava starch and blueberry residue by thermocompression. **Food Hydrocolloids**. Brazil. v. 93. p. 317-324. ago. 2019.
- ANVISA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos. Relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2011 a 2012. Brasília: 29 out. 2013.
- ANVISA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos. Relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015. Brasília: 25 dez. 2016.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 5. Ed. Viçosa: MG: Editora UFV, 2011.
- ARECO, S. E.; GUZ, L.; FAMÍLIA, L.; CANDAL, R.; GOYANES, S. Bioactive starch nanocomposite films with antioxidant activity and enhanced mechanical properties obtained by extrusion followed by thermo-compression. **Food Hydrocolloids**. Argentina. v. 96. p. 518-528. nov. 2019.
- ARFA, A. B.; BELLOY, L. P.; CHARLIER, P.; GONTARD, N. Antimicrobial Paper Based on a Soy Protein Isolate or Modified Starch Coating Including Carvacrol and Cinnamaldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 55. p. 2155-2162. fev. 2007.
- ARNOUS, A.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**. n. 655-665. 2002.
- ASTM E96-00. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. ASTM International. West Conshohocken. PA. 2016.
- ASTM D882-18, Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2018, www.astm.org
- ÁVILA, J. A.; MORENO, P.; FISCHER, G.; MIRANDA, D. Influencia de la madurez del fruto y del secado del caliz en uchuva (*Physalis peruviana* L.), almacenada a 18°C. **Acta Agronomica**. Colombia. v. 55. p. 29-38. nov. 2006.
- AVILA-SOSA, R.; ZAMORAN, E. H.; MENDOZA, I. L.; PALOU, E.; MUNGUÍA, M. T. J.; MOORILLÓN, G. V. N.; MALO, A. L. Fungal Inactivation by Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) Essential Oil Added to Amaranth, Chitosan, or Starch Edible Films. **Journal of food science**. México. v. 75. n. 3. abr. 2010.
- AVILA-SOSA, R.; PALOU, E.; MUNGUÍA, M. T. J.; MOORILLÓN, G. V. N.; MALO, A. L.; CRUZ, A. R. N. Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. **International Journal of Food Microbiology**. México. v. 153. n. 1-2. p. 66-72. fev. 2012.

- BAJIC, M.; ROCNIK, T.; OBERLINTNER, A.; SCOGNAMIGLIO, F.; NOVAK, U.; LIKOZAR, B. Natural plant extracts as active components in chitosan-based films: A comparative study. **Food Packaging and Shelf Life**. Slovenia. v. 21. set. 2019.
- BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S.K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**. Morocco. p. 71-79. abr. 2016.
- BASTOS, C.; BARROS, L.; DUEÑAS, M.; CALHELHA, R. C.; QUEIROZ, M. J. R. P.; BUELGA, C. S.; FERREIRA, I. C. F. R. Chemical characterisation and bioactive properties of *Prunus avium* L.: The widely studied fruits and the unexplored stems. **Food Chemistry**. v. 173. p. 1045-1053. 2015.
- BENZIE, I.; STRAIN, J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**. 239:70-76. 1996.
- BERTHA, T. J.; ATATURIMA, I. M. A.; VILLARREAL, L. S. I.; LLICA, E. R.; PRESERVA, M. R. C.; MANRIQUE, P. E. H.; ALFARO, K. M. C. A. Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidade antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. **Revista Sociedade Química del Perú**. Perú. v. 82. n. 3. jul./set. 2016.
- BELWAL, T.; EZZAT, S. M.; RASTRELLI, L.; BHATT, I. D.; DAGLIA, M.; BALDI, A.; DEVKOTA, H. P.; ORHAN, I. E.; PATRA, J. K.; DAS, G.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; GOMEZ, L. G.; NABAVI, S. F.; NABAVI, S. M.; ATANASOV, A. G. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**. v. 100. p. 82-102. mar. 2018.
- BONALDO, S.; PASCHOLATI, S.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005.
- BOYER, J.; LIU, R. H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**, v. 3, p. 1 – 15, 2004.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**. v.28. n. 1. p. 25-30. 1. jan. 1995.
- BRASIL. Portaria nº 03, de 16 de janeiro de 1992. Diretrizes e orientações referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins – nº 1, de 9 de dezembro de 1991. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, jan. 1992.
- BRASIL, Portaria Ibama nº 84, de 15 de outubro de 1996. Procedimentos a serem adotados junto ao Instituto para efeito de registro e avaliação do potencial de periculosidade ambiental de agrotóxicos químicos, seus componentes e afins; Institui o Sistema Permanente de Avaliação e Controle dos Agrotóxicos e outros procedimentos incluindo diretrizes gerais para a condução da avaliação de risco ambiental. 14 de outubro de 1996. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, out. 1996.

- BRASIL. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT). Consulta de Praga: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2018. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 03 set. 2018.
- BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; PEREIRA, R. C.; GUERRA, L. F. G.; COELHO, C. V.; SIQUEIRA, G. F. Perda de massa fresca e umidade em pepinos minimamente processados. São Paulo: Fundação educacional de Ituverava, 2011.
- BUBALO, M. C.; VIDOVIC, S.; REDOVNIKOVIC, I. R.; JOKIC, S. New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. **Food and Bioproducts Processing**. Croácia. v. 109. p. 52-73. maio. 2018.
- CAETANO, K. S.; LOPES, N. A.; COSTA, T. M. H.; BRANDELLI, A.; RODRIGUES, E.; HICKMANN, S. F.; OLIVEIRA, F. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. **Foods Packaging and Shelf Life**. Brazil. v. 16. p. 138-147. jun. 2018.
- CELIK TAS, O. Y.; BEDIR, E.; SUKAN, F. V. In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. **Food Chemistry**. Turkey. v. 101. n. 4. p. 1457-1464. 2007.
- CODEX ALIMENTARIUS. Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods. Updated as at the 40th Session of the Codex Alimentarius Commission (July 2017). Disponível em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/maximum-residue-limits/en/>. Acesso em: 09 set. 2018.
- CÓRDOBA, A. L.; JARAMILLO, C. M.; HERNANDEZ, D. P.; GOYANES, S. Cassava starch films containing rosemary nanoparticles produced by solvent displacement method. **Food Hydrocolloids**. Argentina. v. 71. p. 26-34. out. 2017.
- CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington. v.45. n.3. p. 622-626. 1997.
- DAMBOLENA, J. S.; LÓPEZ, A. G.; MERILES, J. M.; RUBINSTEIN, H. R.; ZYGADLO, J. A. Inhibitory effect of 10 natural phenolic compounds on *Fusarium verticillioides*. A structure–property–activity relationship study. **Food Control**. Argentina. v. 28. n. 1. p. 163-170. 2012.
- DUAN, Y.; GE, C.; ZHANG, X.; WANG, J.; ZHOU, M. Development and Evaluation of a Novel and Rapid Detection Assay for *Botrytis cinerea* Based on Loop-Mediated Isothermal Amplification. **PLOS ONE**. China. v. 9. n. 10. p. 1-9. out. 2014.
- DWIVEDY, A. K.; KUMAR, M.; UPADHYAY, N.; PRAKASH, B.; DUBEY, N. K. Plant essential oils against food borne fungi and mycotoxins. **Current Opinion in Food Science**. India. v. 11. p. 16-21. out. 2016.
- FAGUNDES, A. F.; ONUKI, N. S.; RAUPP, D. S.; GARDINGO, J. R.; BORSATO, A. V. Influência do grau de umidade na textura de tomate seco refrigerado ou envasado em óleo. UEPG. Brasil: Ponta Grossa – PR. v. 11. p. 35-42. abr. 2005.

FILIPPI, D.; BILIBIO, D.; BENDER, J. P.; CARNIEL, N.; PRIAMO, W. L. Kinetic Extraction of Total Polyphenols from Pitanga (*Eugenia Uniflora* L.): Effect of Ultrasonic Treatment, Modeling and Antioxidant Potential. *Journal of Food Process Engineering*. Sertão-RS, p. 320-328. jan. 2015.

FILIPPI, D. Ação antifúngica do extrato de *Physalis peruviana* Linnaeus frente ao fungo *Botrytis cinerea*. Universidade de Passo Fundo: Passo Fundo, 2018.

FISCHER, G.; ALMANZA-MERCHÁN, P. J.; MIRANDA, D. Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. São Paulo. v. 36. n. 1. p. 001-015. mar. 2014.

FISCHER, I. H.; JÚNIOR, F. F.; KANO, C.; DONADELLI, A.; PALHARINI, M. C. A. Effect of nitrogen doses on the occurrence of postharvest diseases in strawberry. **Plant Pathology/ Scientific communication**. São Paulo. v. 82. p. 1-5. 2015.

FORNARI, T.; VICENTE, G.; VÁZQUEZ, E.; RISCO, M. R. G.; REGLERO, G. Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**. Spain. v. 1250. p. 34-48. ago. 2012.

GALLUCCI, M. N.; CAREZZANO, M. E.; OLIVA, M. M.; DEMO, M. S.; PIZZOLITTO, M. P.; ZUNINO, M. P.; ZYGADLO, J. A.; DAMBOLENA, J. S. In vitro activity of natural phenolic compounds against fluconazole-resistant *Candida* species: a quantitative structure-activity relationship analysis. **Journal of Applied Microbiology**. Argentina. n. 116. p. 795-804. 2014.

GAO, W.; LIU, P.; LI, X.; QIU, L.; HOU, H.; CUI, B. The co-plasticization effects of glycerol and small molecular sugars on starch-based nanocomposite films prepared by extrusion blowing. **International Journal of Biological Macromolecules**. China. v. 133. p. 1175-1181. jul. 2019.

GASCA, A. C.; DASSOLER, M.; BRAND, G. D.; NÓBREGA, Y. K. M.; GOMES, S. M.; JAMAL, C. M.; MAGALHÃES, P. O.; BAZZO, Y. M. F.; SILVEIRA, D. Chemical composition and antifungal effect of ethanol extract from *Sapindus saponaria* L. fruit against banana anthracnose. **Scientia Horticulturae**. Brazil. v. jan. 2020.

GENNARO, L.; LEONARDI, C.; ESPOSITO, F.; SALUCCI, M.; MAIANI, G.; QUAGLIA, G.; FOGLIANO, V. Flavonoid and carbohydrate contents in tropea red onions: Effects of homelike peeling and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Italia. v. 50. n. 7. p. 1904-1910. 2002.

GUIDI, A.; PAULA, M. N.; MOSELA, M.; DELANORA, L.; SOARES, G. C.; MORAIS, G. R.; MEDEIROS, D. C.; JUNIOR, A. G. O.; NOVELLO, C. R.; BAESSO, M. L.; MELLO, E. V. S.; MELLO, J. C. L. Stem bark extract of *Poincianella pluviosa* incorporated in polymer film: Evaluation of wound healing and anti-staphylococcal activities. **Injury**. Brasil. jan. 2020.

GUTIERREZ, M. S.; TRINCHERO, G. D.; CERRI, A. M.; VILELLA, F.; SOZZI, G. O. Different responses of goldenberry fruit treated at four maturity stages with the ethylene antagonist 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**. v. 48. n. 2. p. 199-205. maio 2008.

GRANDE-TOVAR, Carlos David; CHAVEZ-LOPEZ, Clemencia; SERIO, Annalisa; ROSSI, Chiara; PAPARELLA, Antonello. Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. **Trends in Food Science & Technology**. Colombia. p. 61-71. may 2018.

HERNANDEZ, D. P.; JARAMILLO, C. M.; CÓRDOBA, A. L.; GOYANES, S. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Foods Hydrocolloids**. Colombia. v. 63. p. 488-495. fev. 2017.

HILBIG, J.; ALVES, V. R.; MULLER, C. M. O.; MICKE, G. A.; VITALI, L.; PEDROSA, R. C.; BLOCH, J. M. Ultrasonic-assisted extraction combined with sample preparation and analysis using LC-ESI-MS/MS allowed the identification of 24 new phenolic compounds in pecan nut shell [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] extracts. **Food Research International**. Brazil. v. 106. p. 549-557. abr. 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. p. 49-50. São Paulo: IMESP, 1985.

JARAMILLO, C. M. et al. Biofilms based on cassava starch containing extract of yerba mate as antioxidant and plasticizer. **Starch/Staerke**, v. 67. n. 9–10. p. 780–789. 2015.

JARAMILLO, C. M. et al. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**. v. 151. p. 150–159. 2016.

JU, A.; SONG, K. B. Development of teff starch films containing camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) extract as an antioxidant packaging. **Industrial Crops and Products**. v. 141. p. 111-137. dez. 2019.

JUÁREZ, Z. N.; HERNÁNDEZ, L. R.; BACH, H.; ARREOLA, E. S.; BACH, H. Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache Mexicana* ssp. *xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens. **Industrial Crops and Products**. Canada. v. 74. p.178-182. nov. 2015.

KALPANA, S.; PRIYADARSHINI, S. R.; LEENA, M. M.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Intelligent packaging: Trends and applications in food systems. **Trends in Food Science & Technology**. India. v. 93. p. 145-157. nov. 2019.

KANETIS, L.; CHRISTODOULOU, S.; IACOVIDES, T. Fungicide resistance profile and genetic structure of *Botrytis cinerea* from greenhouse crops in Cyprus. **European Journal of Plant Pathology**. p. 527-540. ago. 2016.

KHAN, A.; KHAN, R. A.; SALMIERI, S.; TIEN, C. L.; RIEDL, B.; BOUCHARD, J.; CHAUVE, G.; TAN, V.; KAMAL, M. R.; LACROIX, M. Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**. Canada. v. 90. n. 4. p. 1601-1608. nov. 2012.

KHAYYAT, S. A.; ROSELIN, L. S. Recent progress in photochemical reaction on main components of some essential oils. **Journal of Saudi Chemical Society**. Arabia. 2018.

KNAPP, M. A. Caracterização de filmes biodegradáveis de amido com extrato de erva mate. Universidade Federal da Fronteira Sul: Laranjeiras do Sul, 2017.

KONERU, A.; DHARMALINGAM, K.; ANANDALAKSHMI, R. Cellulose based nanocomposite hydrogel films consisting of sodium carboxymethylcellulose–grapefruit seed extract nanoparticles for potential wound healing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**. India. v. 148. p. 833-842. 2020.

LLANO, S. M.; JIMÉNEZ, A. M. M.; CARTAGENA, C. J.; LONDOÑO, J. L.; MEDINA, S. Untargeted metabolomics reveals specific withanolides and fatty acyl glycoside as tentative metabolites to differentiate organic and conventional *Physalis peruviana* fruits. **Food Chemistry**. v. 244. p.120-127. abr. 2018.

LEROCH, M.; PLESKEN, C.; WEBER, R. W. S.; KAUFF, F.; SCALLIET, G.; HAHN, M. Gray Mold Populations in German Strawberry Fields Are Resistant to Multiple Fungicides and Dominated by a Novel Clade Closely Relate to *Botrytis cinerea*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 79. n. 1. p. 159-167. jan. 2013.

LICODIEDOFF, S.; KOSLOWSKI, A. D.; RIBANI, R. H. Flavonols and antioxidant activity of *Physalis peruviana* L. fruit at two maturity stages. **Acta Scientiarum Technology**. v. 35. n. 2. 2013.

LIMA, C. S. M.; GALARÇA, S. P.; BETEMPS, D. L.; RUFATO, A. R.; RUFATO, L. Avaliação física, química e fitoquímica de frutos de *Physalis* ao longo do período de colheita. **Revista brasileira de fruticultura**. São Paulo. v. 34. n. 4. p. 1004-1012. dez. 2012.

LIN, Q., LIANG, R., ZHONG, F., YE, A., SINGH, H. Physical properties and biological fate of OSA-modified-starch-stabilized emulsions containing β -carotene: Effect of calcium and pH. **Food Hydrocolloids**. v. 2. p. 1–8. 2017.

LIU, Y.; ZHANG, X.; LI, C.; QIN, Y.; XIAO, L.; LIU, J. Comparison of the structural, physical and functional properties of κ -carrageenan films incorporated with pomegranate flesh and peel extracts. **International Journal of Biological Macromolecules**. China. nov. 2019.

LIU, J.; YOUNG, H.; LIU, Y.; QIN, Y.; KAN, J.; LIU, J. Preparation and characterization of active and intelligent films based on fish gelatin and haskap berries (*Lonicera caerulea* L.) extract. **Food Packaging and Shelf Life**. China. v. 22. dec. 2019.

LONG, N. N. V.; JOLY, C.; DANTIGNY, P. Active packaging with antifungal activities. **International Journal of Food Microbiology**. France. v. 220. p. 73-90. mar. 2016.

MALTA, L. G. Conteúdo Teórico-Prático. Campinas-SP: 10 SLACA – **Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos**. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 2013.

MARTIN, L. Alcohol Density – Alcoholic beverage Sample Preparation: **Rudolph Research Analytical**. 2018. Disponível em: <<https://rudolphresearch.com/alcohol-density-samples/>>. Acesso em: 9 set. 2018.

- MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**. v.36 n.8. São Paulo. 2013.
- MARTÍNEZ, G.; REGENTE, M.; JACOBI, S.; RIO, M. D.; PINEDO, M.; CANAL, L. D. L. Chlorogenic acid is a fungicide active against phytopathogenic fungi. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. Argentina. v. 140. p. 30-35. 2017.
- MAYER, G. Antibiotics: protein synthesis, nucleic acids synthesis and metabolism. In: **Bacteriology**. South Carolina: Board of Trustees, 2011.
- MEHDIZADEH, T.; TAJIK, H.; LANDROODI, A. M.; MOLAEI, R.; MAHMOUDIAN, A. Chitosan-starch film containing pomegranate peel extract and *Thymus kotschyanus* essential oil can prolong the shelf life of beef. *Meat Science*. Iran. jan. 2020.
- MENDOZA, L.; YAÑEZ, K.; VIVANCO, M.; MELO, R.; COTORAS, M. Characterization of extracts from winery by-products with antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Industrial Crops and Products**. Chile. v. 43. p. 360-364. 2013.
- MIR, S. A.; DAR, B. N.; WANI, A. A.; SHAH, M. A. Effect of plant extracts on the techno-functional properties of biodegradable packaging films. **Trends in food science & technology**. v. 80. p. 141-154. India. out. 2018.
- MOREIRA, M. M.; MORAIS, S.; MATOS, C. D.; Environment-Friendly Techniques for Extraction of Bioactive Compounds From Fruits. In: **Soft Chemistry and Food Fermentation**. Portugal: Superior Institute of Engineering of the Polytechnic Institute of Porto, 2017. p. 21-47.
- MUSSO, Y. S.; SALGADO, P. R.; MAURI, A. N. Smart gelatin films prepared using red cabbage (*Brassica oleracea* L.) extracts as solvent. **Food Hydrocolloids**. Argentina. v. 89. p. 674-681. 2019.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**. Canada. v. 1054. n. 1-2. p. 95-111. 2004.
- NEGI, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. **International Journal of Food Microbiology**. India. v. 156. n. 1. p. 7-17. may. 2012.
- NGUYEN, T. T.; DAO, U. T.; BUI, Q. P. T.; BACH, G. L.; THUC, C. H.; THUC, H. H. Enhanced antimicrobial activities and physiochemical properties of edible film based on chitosan incorporated with *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl. leaf extract. **Progress in organic coatings**. Viet Nam. v. 140. mar. 2020.
- ORZARI, L. O.; SANTOS, F. A.; JANEGITZ, B. C. Manioc starch thin film as support of reduced graphene oxide: A novel architecture for electrochemical sensors. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. Brazil. v. 823. p. 350-358. ago. 2018.
- OSSANDÓN, M. J. T.; GÁLVEZ, A. V.; LÓPEZ, J.; STUCKEN, K.; ROMERO, J.; SCALA, K. Effects of high hydrostatic pressure processing and supercritical fluid extraction on bioactive compounds and antioxidant capacity of Cape gooseberry pulp (*Physalis peruviana* L.). **The Journal of Supercritical Fluids**. Chile. v. 138. p. 215-220. ago. 2018.

PATZKE, H.; SCHIEBER, A. Growth-inhibitory activity of phenolic compounds applied in an emulsifiable concentrate - ferulic acid as a natural pesticide against *Botrytis cinerea*. **Food Research International**. Germany. v. 113. p. 18-23. 2018.

PESCHEL, W.; RABANEDA, F. S.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZÍA, I.; JIMÉNEZ, D.; RAVENTÓS, R. L.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**. v. 97. n. 1. p. 137-150. 2006.

PIATTI, T. RODRIGUES, R. A. F. Plásticos: características, usos, produção e impactos ambientais. Série: Conversando sobre ciências em Alagoas. Maceió. 2005.

PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Aleopatia. In: OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba – PR: Omnipax, 2011. Cap. 5. p. 95-124.

PUENTE, L. A.; PINTO-MUÑOZ, C. A.; CASTRO, E. S.; CORTÉS, M. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. **Food Research International** São Paulo. v. 44. p. 1733-1740. ago. 2011.

QUADROS, D. A.; IUNG, M. C.; FERREIRA, S. M. R.; FREITAS, R. J. S. Composição química de tubérculos de batata para processamento, cultivados sob diferentes doses e fontes de potássio. **Ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo. v. 2. p. 316-323. abr. jun. 2009.

RAWSON, A.; PATRAS, A.; TIWARI, B. K.; NOCI, F.; KOUTCHMA, T.; BRUNTON, N. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. **Food Research International**. Canada. v. 44. n. 7. p. 1875-1887. ago. 2011.

RAZZAGHI-ABYANEH, M.; RAI, M. (Ed.). **Antifungal Metabolites from Plants**. Tehran – Iran: Springer, 2013.

REIS, A.; COSTA, H. Principais doenças do morangueiro no Brasil e seu controle. Brasília - DF: **Embrapa Hortaliças**, 2011.

REZGUI, M.; MAJDOUB, N.; MABROUK, B.; BALDISSEROTTO, A.; BINO, L. B.; KAAB, B.; MANFREDINI, S. Antioxidant and antifungal activities of marrubiin, extracts and essential oil from *Marrubium vulgare* L. against pathogenic dermatophyte strains. **Journal de Mycologie Médicale**. Italy. jan. 2020.

RIBBA, L. et al. Disadvantages of Starch-Based Materials, Feasible Alternatives in Order to Overcome These Limitations. **Starch-Based Materials in Food Packaging**. p. 37-76. 2018.

RÍOS, J. Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. Espanha: 2016.

ROY, K.; THORY, R.; SINHMAR, A.; PATHERA, A. K.; NAIN, V. Development and characterization of nano starch-based composite films from mung bean (*Vigna radiata*). **International Journal of Biological Macromolecules**. India. v. 144. p. 242-251. fev. 2020.

RUPP, S.; PLESKEN, C.; RUMSEY, S.; DOWLING, M.; SCHNABEL, G.; WEBER, R. W. S.; HAHN, M. *Botrytis fragariae*, a New Species Causing Gray Mold on Strawberries, Shows High Frequencies of Specific and Efflux-Base Fungicide Resistance. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 83. n. 9. may. 2017.

SABERI, B.; CHOCKCHAIASAWASDEE, S.; GOLDING, J. B.; SCARLETT, C. J.; STATHOPOULOS, C. E. Physical and mechanical properties of a new edible film made of pea starch and guar gum as affected by glycols, sugars and polyols. **International Journal of Biological Macromolecules**. Australia. v. 104. p. 345-359. nov. 2017.

SANTOS, A. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C.; NETO, O. G. R. Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório: Comunicado técnico. Belém-PA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2004.

SANTOS, A. F.; ALVES, S. A. R.; JÚNIOR, A. G.; TESSMANN, D. J. Ocorrência do mofo cinzento causado por *Botrytis cinérea* em grevilea. **Tropical Plant Pathology**. Brasil. v. 33. p. 386-387. 2008.

SHIMADZU Corporation. Flame Atomic Absorption Spectrometer's Parameter for Each Element (AA-7000). **Atomic Absorption Cook Book**. n. 3. 2018.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Plasticizing and antiplasticizing effects of glycerol and sorbitol on biodegradable cassava starch films. **Ciências Agrárias**. Londrina-PR. v. 28. n. 1. p. 79-88. jan./mar. 2007.

SILVA, A. B. J.; DIONÍSIO, C. F.; SILVA, R. N.; COSTA, J. C.; OLIVEIRA, F. L. N.; AZERÊDO, G. A. Teores de cinzas e umidade em cultivares de berinjela sob sistemas de cultivo orgânico e convencional. **VII Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação: Ações sustentáveis para o desenvolvimento regional**. Brasil: Tocantins, 2012.

SONWA, M. M. Isolation and Structure Elucidation of Essential Oil Constituents. Comparative Study of the Oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus*, and *Cyperus rotundus*. Germany: University of Hamburg, 2000.

SOUSA, B. A.; CORREIA, R. T. P. Phenolic content, antioxidant activity and anti-amylolytic activity of extracts obtained from bioprocessed pineapple and guava wastes. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. Brasil. v. 29. n. 01. p. 25-30. jan. 2012.

STAROSZCZYK, H.; KUSZNIEREWICZ, B.; MALINOWSKA, E.; SINKIEWICZ, I.; GOTTFRIED, I.; KOŁODZIEJSKA, I. Fish gelatin films containing aqueous extracts from phenolic-rich fruit pomace. **LWT**. Poland. v. 117. jan. 2020.

SUN, G.; CHI, W.; XU, S.; WANG, L. Developing a simultaneously antioxidant and pH-responsive κ -carrageenan/hydroxypropyl methylcellulose film blended with *Prunus maackii* extract. **International Journal of Biological Macromolecules**. China. nov. 2019.

SUN, L.; SUN, J.; CHEN, L.; NIU, P.; YANG, X.; GUO, Y. Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. **Carbohydrate Polymers**. China. v. 163. p. 81-91. may. 2017.

TENORIO, M. L. O.; VERKERK, R.; BOEKEL, M. A. J. S. V.; DEKKER, M. Health-promoting compounds in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.): Review from a supply chain perspective. **Trends in Food Science & Technology**. v. 57. p. 83-92. nov. 2016.

TENORIO, M. L. O.; VERKERK, R.; BOEKEL, M. A. J. S. V.; DEKKER, M. Thermal stability of phytochemicals, HMF and antioxidant activity in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). **Journal of Functional Foods**. v. 32. p. 46-57. maio, 2017.

UMAGILIYAGE, A. L.; MORA, N. B.; KOHLI, P.; FISHER, D. J.; CHOUDHARY, R. Antimicrobial efficacy of liposomes containing D-limonene and its effect on the storage life of blueberries. **Postharvest Biology and Technology**. United States. v.128. p. 130-137. jun. 2017.

URANGA, J.; ETXABIDE, A.; GUERRERO, P.; CABA, L. Development of active fish gelatin films with anthocyanins by compression molding. **Food Hydrocolloids**. Spain. v. 84. p. 313-320. nov. 2018.

VIROT, M.; TOMAO, V.; GINIES, C.; VISINONI, F.; CHEMAT, F. Green procedure with a green solvent for fats and oils' determination Microwave-integrated Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation. **Journal of Chromatography A**. p. 147-152. 2008.

VIVAS, D. B.; RIVERA, G. A.; CAMARGO, A. P. S.; IBÁÑEZ, E.; ALFONSO, F. P.; CIFUENTES, A. A multi-analytical platform based on pressurized-liquid extraction, in vitro assays and liquid chromatography/gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry for food by-products valorisation. Part 1: Withanolides-rich fractions from goldenberry (*Physalis peruviana* L.) calyces obtained after extraction optimization as case study. **Journal of Chromatography A**. Colombia. v. 1584. p. 155-164. jan. 2019.

VIVAS, D. B.; RIVERA, G. A.; CAMARGO, A. P. S.; IBÁÑEZ, E.; ALFONSO, F. P.; CIFUENTES, A. A multi-analytical platform based on pressurized-liquid extraction, in vitro assays and liquid chromatography/gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry for food by-products valorisation. Part 2: Characterization of bioactive compounds from goldenberry (*Physalis peruviana* L.) calyx extracts using hyphenated techniques. Colombia. v. 1584. p. 144-154. jan. 2019.

XU, L.; ZHANG, B.; QIN, Y.; LI, F.; YANG, S.; LU, P.; WANG, L.; FAN, J. Preparation and characterization of antifungal coating films composed of sodium alginate and cyclolipopeptides produced by *Bacillus subtilis*. **International journal of Biological Macromolecules**. China. v. 143. p. 602-609. jan. 2020.

WU, S. J.; TSAI, J. Y.; CHANG, S. P.; LIN, D. L.; WANG, S. S.; HUANG, S. N.; NG, L. T. Supercritical carbon dioxide extract exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of *Physalis peruviana*. **Journal of Ethnopharmacology**. Taiwan. v. 108. n. 3. p. 407-413. 2006.

YAHIA, N. A.; ATTAN, N.; WAHAB, R. A. An overview of cosmeceutically relevant plant extracts and strategies for extraction of plant-based bioactive compounds. **Food and Bioproducts Processing**. v. 112. p. 69-85. nov. 2018.

YANG, B.; JIANG, Y.; SHI, J.; CHEN, F.; ASHRAF, M. Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit — A review. **Food Research International**. v. 44. n. 7. p. 1837-1842. 2011.

YU, Z.; SHI, G.; SUN, Q.; JIN, H.; TENG, Y.; TAO, K.; ZHOU, G.; LIU, W.; WEN, F.; HOU, T. Design, synthesis and in vitro antibacterial/antifungal evaluation of novel 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7(1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylic acid derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 44. n. 11. p. 4726-4733. China. 2009.

ZABKA, M.; PAVELA, R. Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi. **Chemosphere**. Czech Republic. v. 93 n. 6. p. 1051-1056. out. 2013.

ZHANG, X.; DO, M. D.; CASEY, P.; SULISTIO, A.; QIAO, G. G.; LUNDIN, L.; LIKKFORD, P.; KOSARAJU, S. Chemical Modification of Gelatin by a Natural Phenolic Cross-linker, Tannic Acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n. 58. p. 6809-6815. 2010.

ZHANG, W.; LI, X.; JIANG, W. Development of antioxidant chitosan film with banana peels extract and its application as coating in maintaining the storage quality of apple. **International Journal of Biological Macromolecules**. China. nov. 2019.

APÊNDICE A – Artigo científico

Filme bioativo de amido de mandioca com extrato de *Physalis peruviana*

Bianca Helena Kufner Mikolaiczik^a, Bárbara Biduski^a, Marcelo Hemkemeier^a.

^aPrograma de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo. Campus I, BR 285, Bairro São José, Passo Fundo, Rio Grande do Sul. CEP: 99.052-900. Email: biancahkmikolaiczik@gmail.com, babi_biduski@hotmail.com, marceloh@upf.br.

RESUMO

A *Physalis peruviana* Linnaeus é considerada um alimento funcional natural devido aos seus compostos bioativos, como ácidos fenólicos, flavonoides, capacidade antioxidante e sais minerais. O uso de compostos bioativos extraídos de plantas pode promover efeitos à saúde, bem como aumentar a vida útil de alimentos, visto que muitos destes compostos também atuam como antimicrobianos e antifúngicos. Desta forma, podem ser substituídos aos antifúngicos sintéticos e também inseridos em embalagens bioativas, a fim de que estes compostos interajam com o alimento retardando a degradação e prolongando a vida útil do alimento. Desta forma, objetivou-se elaborar filmes de amido de mandioca aplicando extrato hidroalcolólico de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações e caracterizando-os. Testes antifúngicos utilizando o extrato de *Physalis* foram realizados e obteve-se a comprovação da atividade antifúngica do extrato frente ao *Botrytis cinerea*, a partir de uma concentração de 10% de extrato. Filmes de amido de mandioca foram preparados com adição de 5%, 10%, 15% e 20% de extrato de *Physalis*, com uma correção na concentração de glicerol (plastificante), conforme aumentava-se a concentração de extrato, diminuía-se a concentração de glicerol. A caracterização dos filmes ocorreu por meio da análise de espessura, cor e opacidade, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade, propriedades mecânicas (resistência à tração, percentual de alongação e módulo de Young), compostos fenólicos, atividade antioxidante (FRAP e DPPH), propriedades morfológicas (MEV), Espectroscopia no infravermelho com transformada por Fourier (FTIR) e termogravimetria. Verificou-se que a adição de extrato diminuiu a permeabilidade ao vapor d'água e a solubilidade. Os filmes apresentaram redução da resistência à tração e aumento no percentual de alongamento, determinando que o extrato promoveu um efeito plastificante aos filmes. A análise termogravimétrica comprovou a interação dos componentes do extrato com o material do filme de amido, alterando a temperatura de degradação dos compostos. Os objetivos para o desenvolvimento e caracterização dos filmes propostos foram atingidos, sendo observadas características positivas para a elaboração de filmes biodegradáveis ativos com aplicação do extrato de *Physalis peruviana*.

Palavras-chave: *Physalis peruviana*; Filmes bioativos; Extratos de plantas.

1. Introdução

Os polímeros baseados em petroquímicos são comumente utilizados em embalagens de alimentos devido ao baixo custo e à fácil fabricação. No entanto, esses materiais induziram graves problemas ambientais através de resíduos de plástico, devido ao seu tempo de degradação muito longo na natureza (NGUYEN et al., 2020). Atualmente a população e as indústrias possuem um interesse considerável na utilização de polímeros naturais para embalagens de alimentos. Estes polímeros naturais aparecem como uma alternativa aos plásticos não biodegradáveis, mas também devido a possibilidade de obter materiais de embalagens bioativos.

O papel da embalagem nos alimentos é proteger o alimento e reduzir a deterioração do mesmo, que pode ser a partir de fatores químicos ou biológicos. A embalagem ativa interage com o alimento e/ou seu ambiente para prolongar sua vida útil. Estas embalagens podem ter diversos propósitos, como antibacterianas (NGUYEN et al., 2020), antifúngicas (XU et al., 2020), antioxidantes e indicadoras de pH (SUN et al., 2019). Os compostos bioativos utilizados nestas embalagens podem ser extraídos de muitas origens vegetais como a erva-cidreira, poejo, lavanda, anis, noz-moscada, cravo, canela e hortelã (KHAYYAT; ROSELIN, 2018). Estas formulações à base de plantas para intervenção do crescimento fúngico, vêm ganhando reconhecimento mundial, pois são biodegradáveis e reconhecidas como alternativas mais sustentáveis e ecologicamente corretas aos pesticidas sintéticos. A utilização de agrotóxicos é cada vez mais criticada por diversos pesquisadores, o que reflete diretamente na escolha dos consumidores (DWIVEDY et al., 2016).

Um dos fungos mais problemáticos quanto a resistência a agrotóxicos é o *Botrytis cinerea*, fungo causador da podridão cinzenta, mundialmente conhecida como a doença mais devastadora do morango, pois ocorre em qualquer parte do mundo. Além do morango, ocorre em múltiplas hospedeiras, podendo atingir mais de 1.000 famílias de plantas, entre frutos e flores ornamentais.

Diversas plantas bioativas e seus extratos ou óleos essenciais são estudados no controle microbiano e antifúngico. Uma destas plantas é a *Physalis peruviana* Linnaeus, que já apresenta propriedade antioxidante, antimicrobiana e antifúngica comprovada em estudos na Colômbia, Peru, Chile e Brasil, que se aprofundaram desde 2010. A *Physalis peruviana* Linnaeus é uma planta nativa da região dos Andes na América do Sul, com alto potencial de crescimento e baixa exigência de adubação, considerada como alimento funcional natural devido aos seus componentes bioativos (PUENTE et al, 2011).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi comprovar a capacidade antifúngica do extrato de *Physalis peruviana* frente ao fungo *Botrytis cinerea*.; desenvolver um filme bioativo a base de amido de mandioca adicionando o extrato de *Physalis peruviana*, e; avaliar quais as mudanças em relação a estrutura, resistência, permeabilidade, solubilidade, ligações químicas e cor da adição do extrato nos filmes. Para contribuir no desenvolvimento de embalagens bioativas para morangos e, talvez outros alimentos, através da inserção do extrato de *Physalis* em filmes produzidos a partir de amido de mandioca.

2. Material e métodos

Os frutos da espécie *Physalis peruviana* Linnaeus foram adquiridos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) – Campus Sertão, RS e da agroindústria Italbras – Vacaria, RS. Após a colheita manual, o acondicionamento e o transporte dos frutos foram realizados em caixas isotérmicas, onde as amostras encontravam-se congeladas no dia seguinte após a coleta. O amido de

mandioca foi adquirido no comércio local. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

2.1 Extrato hidroalcoólico

Os frutos foram previamente liofilizados e moídos. A amostra foi adicionada à solução extratora água:etanol (40:60 v/v) na proporção 1:10 e transferidos para banho de ultrassom (Eco-Sonics, Q 5.9, Brasil, 40 kHz), sem aquecimento, por duas horas. O extrato foi filtrado e rotaevaporador à 60 °C, por aproximadamente 1 h (FILIPPI, 2018). O extrato final foi armazenado em frasco âmbar e utilizado dentro de 24 °C.

Foram realizadas determinações de compostos fenólicos totais, metodologia descrita por Sousa e Correia (2012), atividade antioxidante pelo potencial redutor férrico (FRAP) pela metodologia de Benzie e Strain (1996) com modificações de Arnous et al. (2002) e atividade antioxidante pela eliminação de radicais livres de DPPH (1,2-difenil-1-picril-hidrazil), método de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995).

2.2 Teste da ação antifúngica do extrato

A avaliação da ação antifúngica do extrato de *Physalis peruviana* Linnaeus foi realizada a partir de testes *in vitro* no fungo *Botrytis cinerea*.

O repique do *Botrytis cinerea* foi realizado através da adição de um disco de micélio de 7 mm no centro de cada placa. Após o período de incubação as placas são armazenadas sob refrigeração. O meio de cultura utilizado é PDA (do inglês Potato Dextrose Agar). O repique do fungo é realizado com 15 dias de antecedência a realização dos testes *in vitro*.

Os testes foram realizados em quintuplicata. O experimento consiste de 5 tratamentos, sendo tratamento 1: controle negativo; tratamentos 2: adição de 5% de extrato; tratamento 3: adição de 10% de extrato; tratamento 4: adição de 15% de extrato e tratamento 5: adição de 20% de extrato de *Physalis peruviana* incorporado ao meio de cultura, de acordo com o método Poisoned Food relatado por Balouiri; Sadiki; Ibsouda (2016). As placas permaneceram em DBO por 15 dias em temperatura controlada de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas.

A concentração inibitória mínima foi determinada como em Gasca et al. (2020), onde a menor concentração de extrato utilizada que inibiu totalmente o crescimento fúngico é a concentração inibitória mínima (CIM).

2.3 Filmes bioativos

Para a produção dos filmes foram utilizados 3 g de amido de mandioca em 100 mL de água destilada e 30% de glicerol em relação a quantidade de amido. Esta mistura deve ficar sob agitação e em aquecimento em banho-maria a 90 °C por 15 min. Após o tempo determinado, a 20 g da solução filmogênica foi dispersa em placas de petri de acrílico e secas em estufa a 40 °C, com circulação de ar, durante aproximadamente 24 h.

Para elaboração dos filmes bioativos o extrato foi adicionado em diferentes concentrações de em relação ao volume total de solução produzida. Para isso, a quantidade de glicerol foi reduzida proporcional a quantidade de extrato adicionado. Assim, o extrato foi adicionado nas concentrações de 0%, 5%, 10%, 15% e 20% (v/v), o glicerol foi reduzido em 0%, 25%, 50%, 75% e 100%, respectivamente. Em filmes com adição de 20% de extrato em relação ao volume total de solução de amido produzida não foi necessária a adição de glicerol, portanto 0% de glicerol adicionado. Para os próximos foi seguida a sequência em porcentagens de adição de glicerol: 75% da quantidade de glicerol total que deveria adicionado para 5% de extrato, 50% de glicerol para 10% de

extrato e 25% de glicerol para 15% de extrato. Os filmes foram armazenados em ambiente com umidade relativa controlada em 53% à 25 °C, por 48 h antes de cada análise.

2.4 Compostos fenólicos e atividade antioxidante dos filmes

O extrato presente nos filmes foi extraído pela adição do filme em solução de água:etanol na proporção de 1:1, em agitação durante 24 h. Após, a solução foi filtrada e realizada a determinação de compostos fenólicos totais, metodologia descrita por Sousa e Correia (2012), atividade antioxidante pelo potencial redutor férrico (FRAP) pela metodologia de Benzie e Strain (1996) com modificações de Arnous et al. (2002) e atividade antioxidante pela eliminação de radicais livres de DPPH (1,2-difenil-1-picril-hidrazil), método de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995).

2.5 Espessura e propriedades mecânicas dos filmes

A espessura dos filmes foi avaliada com auxílio de um micrômetro externo digital (Digimess, 110.284 new) pela medição de diversos pontos em toda a área do filme.

A resistência à tração e a porcentagem de alongação na ruptura foi determinada utilizando o texturômetro (TA.XT plus Texture Analyser). A análise foi realizada em triplicata, sendo o equipamento operando com separação inicial de garras de 40 mm e velocidade do teste de 0,8 mm.s⁻¹. As amostras são em tamanho padronizado, de 80x25 mm. A resistência à tração foi determinada pelo ponto de tensão máximo da curva tensão-deformação. O alongamento foi determinado pela diferença entre a distância inicial até o filme se romper. O módulo de Young foi calculado a partir da inclinação da porção linear inicial da curva tensão-deformação (BIDUSKI et al., 2017).

2.6 Solubilidade dos filmes

Amostras foram cortadas com diâmetro de 20 mm e foram secas a 105 °C por 24 h para determinar o peso seco inicial. Após a pesagem, as amostras foram imersas em 50 mL de água destilada e mantidas sob agitação por 24 h a 25 °C. Decorrido este tempo, as amostras foram removidas do recipiente com água e secas a 105 °C durante 24 h para determinação de seu peso seco final (Cuq et al., 1997). A solubilidade foi calculada conforme a Equação 1:

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{(\text{massa}_{\text{inicial}} - \text{massa}_{\text{final}})}{\text{massa}_{\text{inicial}}} \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

2.7 Permeabilidade ao vapor d'água dos filmes

A taxa de transmissão de vapor (TVA) foi determinada através de regressão linear, utilizando como dados o tempo e as pesagens que ocorreram no período especificado, de acordo com metodologia ASTM E96-00 com modificações, conforme as Equações 2 e 3:

$$Tva = \frac{G}{(T \times A)} \quad \text{Eq. (2)}$$

Sendo:

Tva: taxa de transmissão de vapor de água (g.d⁻¹.m⁻²);

G: variação de massa da célula de medida (g);

t: tempo transcorrido (dias - 1);

A: área superficial de transferência de massa do filme (m²).

Posteriormente foi determinada a permeabilidade ao vapor de água (PVA), de acordo com a Equação:

$$Pva = \frac{Tva \times X}{S(R1 - R2)} \quad \text{Eq. (3)}$$

Sendo:

Pva: permeabilidade ao vapor de água do filme ($\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{kPa}^{-1}$);

X: espessura do filme (mm);

S: pressão de vapor (kPa) a 20°C;

R1 e R2: umidades relativas da câmara de teste (75%) e do interior da célula de medição (0%), respectivamente.

2.8 Cor e opacidade dos filmes

A análise da cor e opacidade dos filmes foi determinada usando o colorímetro (Colorquest II, Hunterlab). Os parâmetros de cor L^* (preto/branco) e as coordenadas de cromaticidade a^* (verde/vermelho) e b^* (azul/amarelo) foram determinados. Para determinação da opacidade dos filmes foi calculada a relação entre a opacidade do filme sobreposto ao padrão preto e ao padrão branco segundo metodologia proposta por Hunterlab (1997). Os valores de opacidade foram calculados de acordo com a seguinte Equação 4.

$$\text{Opacidade} = \frac{Op}{Ob} \times 100 \quad \text{Eq. (4)}$$

Onde:

Op: opacidade contra um fundo preto;

Ob: opacidade contra um fundo branco.

A diferença de cor (ΔE^*) foi calculada com a equação 5:

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{Eq. (5)}$$

A diferença de tonalidade (ΔH^*) entre os filmes será medida através das seguintes equações 6 e 7:

$$\text{Chroma } C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Eq. (6)}$$

$$\Delta H^* = \sqrt{(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2} \quad \text{Eq. (7)}$$

2.9 Morfologia dos filmes

As propriedades morfológicas do filme de amido de mandioca e incorporados de extrato de *Physalis peruviana* foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (modelo VEG3 LM, marca Shimadzu, Japão). As amostras foram colocadas em stub e metalizadas com ouro.

2.10 Espectroscopia no infravermelho com transformada por Fourier (FTIR-ATR)

Os espectros de FTIR dos filmes foram estudados usando espectrômetro de infravermelho equipado com acessório de refletância total atenuada (ATR) (modelo Cary 630, Argilent Technologies, EUA). As medições espectrais foram realizadas no modo de absorbância. Cada espectro foi registrado na faixa de 650 a 4000 cm^{-1} , com 48 varreduras completas com uma resolução de 4 cm^{-1} .

2.11 Análise termogravimétrica dos filmes

As análises de TGA dos filmes foram realizadas em analisador termogravimétrico PerkinElmer (modelo STA 6000, PerkinElmer, EUA). A temperatura programada foi de 50°C até 700°C, aumentando 10°C/min, nitrogênio 15 mL/min.

2.12 Análise estatística

As determinações foram realizadas no mínimo em triplicata, e a média e desvio padrão foi reportado. O software Statistica 7.0 (Stasoft, EUA) foi utilizado para calcular a análise de variância (ANOVA). O teste de Tukey foi utilizado para determinar as

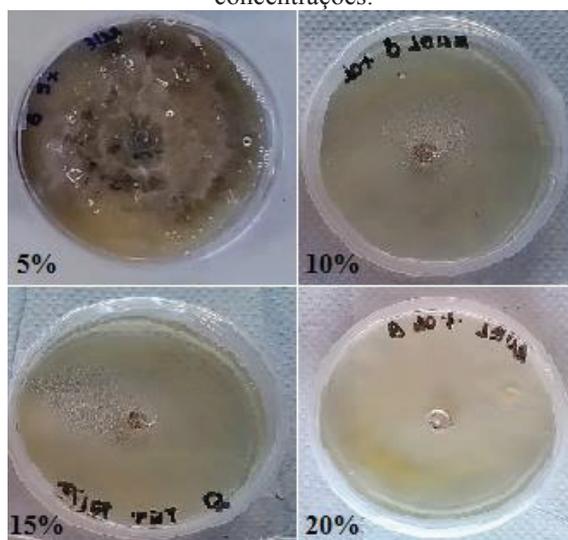
diferenças entre as propriedades dos filmes e do extrato em um nível de confiança de 95%.

3. Resultados e discussão

3.1 Ação antifúngica do extrato

O crescimento micelial foi inibido em 100% quando o volume de 2,5 mL do extrato foi incorporado ao meio de cultura (PDA), resultando em uma concentração final de 10% (v/v). Volumes superiores do extrato, nas concentrações de 15% e 20% também apresentaram capacidade de inibição de 100%. A concentração de 5% do extrato não teve capacidade de inibição suficiente (Figura 1).

Figura 1: Ação antifúngica do extrato de *Physalis peruviana* contra *Botrytis cinerea* em diferentes concentrações.



Fonte: Autor (2020).

A atividade antifúngica do extrato de *Physalis peruviana* se deve a presença dos compostos bioativos presentes na planta e transferidos para o extrato. Na maioria das vezes, a concentração dos diferentes compostos presentes não é suficiente para que um composto isoladamente exerça atividade antifúngica, porém a ação sinérgica destes compostos contém capacidade antifúngica (PIRES; OLIVEIRA, 2011; RAZZAGHI-ABYANEH; RAY, 2013).

Segundo Martínez et al. (2017), os ácidos fenólicos e flavonoides podem promover o rompimento da membrana celular e a disfunção das mitocôndrias fúngicas, desta forma os compostos identificados no extrato podem ter atuado principalmente sobre a membrana citoplasmática do fungo. Ainda segundo Zabka e Pavela (2013), a estrutura e as posições dos grupos funcionais dos compostos presentes no extrato, promovem o aumento da permeabilização da membrana do fungo, permitindo a dissolução e acúmulo no mesmo.

3.2 Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

Os resultados de fenólicos totais e atividade antioxidante caracterizam e confirmam o potencial bioativo e funcional do extrato de *Physalis peruviana* e dos filmes complementados com o extrato. Os resultados indicam a presença de compostos bioativos antioxidantes.

Tabela 1: Resultados de fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos e dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.

Amostra	Fenólicos totais (mg GAE/g)	FRAP (μ mol Trolox /L)	DPPH (μ mol Trolox /L)
Extrato (0 dias)	1,850 \pm 0,027	131,734 \pm 0,406	151,528 \pm 0,573
Extrato (1 semana)	0,555 \pm 0,018	28,963 \pm 0,204	18,555 \pm 0,373
Filme 5% de extrato	0,572 \pm 0,004 ^c	38,958 \pm 0,807 ^c	29,964 \pm 1,515 ^c
Filme 10% de extrato	0,890 \pm 0,008 ^b	39,294 \pm 0,598 ^c	25,737 \pm 0,346 ^c
Filme 15% de extrato	0,909 \pm 0,009 ^b	64,114 \pm 0,479 ^b	40,968 \pm 2,097 ^b
Filme 20% de extrato	1,074 \pm 0,0004 ^a	79,476 \pm 0,212 ^a	87,474 \pm 1,313 ^a

Os resultados expressam a média \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autor (2020).

A concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante diminuiu de acordo com o envelhecimento do extrato (Tabela 1). Os possíveis fatores para esta degradação é o tempo e forma de armazenamento, mesmo quando o extrato foi armazenado congelado. Gennaro et al. (2002) comprovam em sua pesquisa que o armazenamento caseiro, sendo em ele refrigerador ou congelador, pode reduzir entre 64% a 73% em compostos fenólicos e até 36% da atividade antioxidante.

A análise dos filmes com adição do extrato demonstrou que a atividade antioxidante e concentração de compostos fenólicos foi mantida pelo filme. Já que no filme com 20% de extrato a concentração de compostos fenólicos é equivalente a 58% da concentração do extrato puro. Isto remete que a incorporação do extrato em uma matriz como o amido, pode proteger os compostos bioativos do extrato, evitando a degradação. Este mesmo efeito foi observado por Areco et al. (2019) quando adicionou extrato de alecrim a filmes de amido. A proteção destes compostos pelo filme de amido é um efeito positivo, pois desta forma, prova-se que o extrato tem ação por mais tempo quando adicionado a uma matriz como os filmes de amido, possibilitando a utilização destes como uma embalagem antifúngica e antioxidante em alimentos.

3.3 Avaliação macroscópica dos filmes

Os mesmos apresentaram-se homogêneos, com textura aderente, maleáveis, brilhosa com superfície lisa e sem rugas, sem formação de bolhas e rachaduras. A coloração tornou-se mais intensa conforme aumentou-se a concentração de extrato adicionado (Figura 2), tendendo a uma coloração amarela, característica do extrato de *physalis*.

Figura 2: Imagem dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.



Fonte: Autor (2020).

3.4 Avaliação da cor

Houve aumento na coloração amarela dos filmes que pode ser visto pelo aumento de b^* , que indica esta coloração (Tabela 2).

Tabela 2: Perfil colorimétrico dos filmes adicionados de extrato de *physalis peruviana* em diferentes concentrações.

Filme ¹	L*	a*	b*	C*
Controle	91,69±0,78 ^a	-0,93±0,01 ^a	0,30±0,09 ^d	0,98±0,03 ^d
5% de extrato	89,37±0,12 ^{ab}	-2,17±0,06 ^a	9,69±0,28 ^c	9,93±0,29 ^{cd}
10% de extrato	87,31±0,72 ^{abcd}	-2,36±0,09 ^a	21,70±2,23 ^{bc}	21,83±2,21 ^b
15% de extrato	82,09±2,95 ^{cd}	0,06±1,45 ^a	27,93±1,21 ^b	27,98±1,23 ^b
20% de extrato	83,73±1,48 ^{bcd}	-0,84±0,49 ^a	38,73±3,33 ^a	38,75±3,31 ^a

¹. Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autor (2020).

Avaliando os valores de L^* e C^* pode-se definir que conforme o aumento da concentração de extrato os filmes têm uma coloração mais viva, mantendo a característica de tons claros. O parâmetro de cor a^* , que indica a coloração verde/vermelho, não teve variação significativa. Realizando uma comparação entre a diferença de cor (ΔE^*ab) e tonalidade (ΔH) dos filmes com adição de extrato e o filme controle, nota-se que ambas são crescentes, de acordo com a concentração de extrato adicionada (Tabela 3).

Tabela 3: Diferença de cor e tonalidade entre os filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.

Filme	Diferença de cor (ΔE^*ab)	Diferença de tonalidade (ΔH)
5% de extrato	9,77±0,50 ^c	3,10±0,24 ^d
10% de extrato	21,90±2,08 ^{bc}	5,01±0,15 ^{cb}
15% de extrato	29,51±2,43 ^{bc}	6,17±0,56 ^{abc}
20% de extrato	39,29±3,76 ^a	7,15±0,70 ^{ab}

Os resultados expressam a média \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autor (2020).

A partir da análise do ΔE^*ab observa-se uma grande diferença de cor, porém para compreender a diferença entre as cores, pode-se analisar os valores de chroma (C^*), que quanto maiores, mais saturada será a coloração. Outra forma de compreender de que

forma há uma grande diferença de cor é pela diferença de tonalidade (ΔH). O valor de ΔH aumenta com o aumento da concentração de extrato, isto indica que as amostras estão ficando mais próximas do eixo $+b^*$, ou seja, mais amarelas. Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) na opacidade e luminosidade.

3.5 Propriedades mecânicas

As curvas de tensão x deformação dos filmes com adição de extrato de *Physalis peruviana* demonstraram uma diminuição da resistência à tração nos filmes com concentração de extrato superior a 10%. De acordo com Hernandez et al. (2017) a adição de extratos de plantas, como o extrato de alecrim, também diminuiu a resistência à tração dos filmes de amido de mandioca. Este comportamento pode ocorrer devido ao enfraquecimento das interações glicerol-amido na presença do extrato (HERNANDEZ et al., 2017), um fator que reforça esta explicação é que os filmes deste trabalho tiveram uma redução na quantidade de glicerol. Percebe-se então, que embora inicialmente o açúcar presente no extrato fosse suficiente como plastificante dos filmes, a resistência diminuiu. O filme com adição de 5% de extrato se mostrou o menos elástico em comparação aos filmes com adição de extrato, enquanto que o filme controle e com adição de 10%, 15% e 20% demonstraram a mesma elasticidade do filme controle ($p > 0,05$). Comparando os resultados de resistência e alongação, pode-se perceber que os filmes com maior resistência são os menos elásticos, resultados também encontrados por Caetano et al. (2018).

O módulo de Young reduziu com o aumento da concentração de extrato, demonstrando que os filmes se tornaram menos rígidos com a adição do extrato. Relata-se que a incorporação de polifenóis no filme de amido pode interromper a formação da grade de amido, enfraquecendo a ligação intermolecular do hidrogênio, dificultando as interações de cadeia polímero-polímero e fornecendo os domínios flexíveis dentro dos filmes (SUN et al., 2017), resultando propriedades mecânicas diminuídas, porém mais elástico, preferível para o objetivo proposto para este trabalho.

3.6 Espessura, permeabilidade ao vapor d'água (PVA) e solubilidade

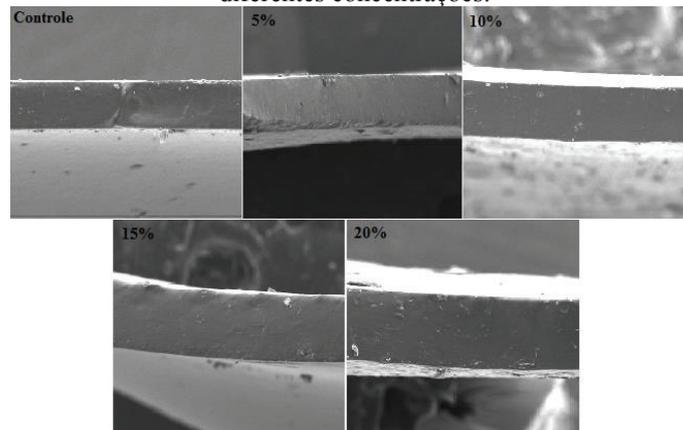
A adição de extrato de *physalis* não influenciou significativamente ($p > 0,05$) a espessura dos filmes. Esta característica pode estar relacionada ao fato da quantidade de glicerol ter diminuído proporcionalmente ao aumento da concentração de extrato, não aumentando o teor de sólidos no final da formulação dos filmes.

A permeabilidade ao vapor d'água e a solubilidade diminuíram significativamente ($p < 0,05$) com a adição do extrato de *physalis*, porém a PVA ocorreu a partir da adição de 10% de extrato, resultando na diminuição da permeabilidade de acordo com o aumento da concentração de extrato. De acordo com Caetano et al. (2018), o glicerol é um composto altamente higroscópico e a substituição dele por extrato reduz a absorção de água pelos filmes, pois estas substâncias são misturas complexas e geralmente hidrofóbicas. Outra possível causa para a diminuição da permeabilidade e solubilidade dos filmes está relacionada aos polifenóis provenientes do extrato de *Physalis peruviana*, que podem interagir com a matriz de filmes à base de polissacarídeos por meio de ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, aumentando assim as propriedades mecânicas de elasticidade e de barreira dos filmes (LIU et al., 2019).

3.7 Propriedades morfológicas

Imagens de microscópio eletrônico de varredura (MEV) fornecem informações sobre a homogeneidade dos filmes. As micrografias transversais dos filmes com diferentes concentrações de extrato são mostradas na Figura 3.

Figura 3: Morfologia da seção transversal dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.



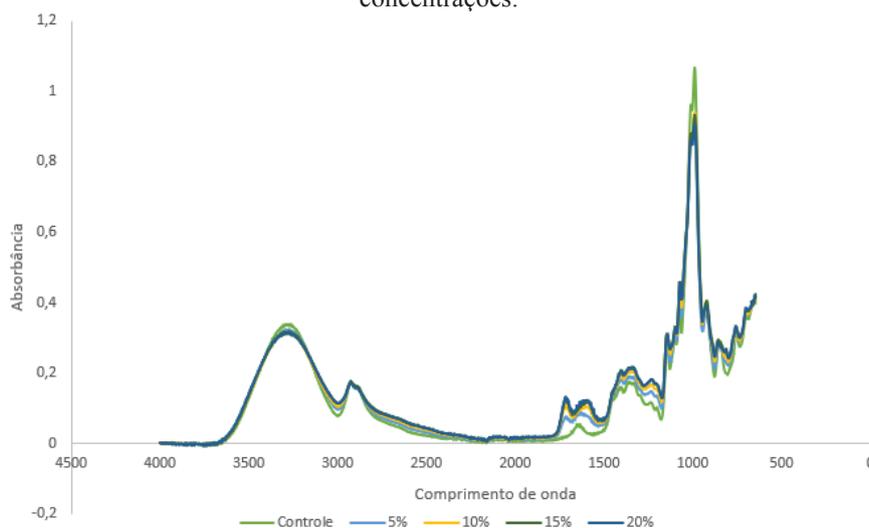
Fonte: Autor (2020).

As seções transversais dos filmes são lisas e uniformes, sem rachaduras ou poros visíveis, indicando que os componentes filmogênicos eram homogeneamente misturados e compatíveis entre si. Tem-se a hipótese de que os polifenóis do extrato poderiam interagir com o amido através de ligações de hidrogênio, produzindo uma rede compacta e densa (Zhang et al., 2010). As densas estruturas internas dos filmes foram benéficas para melhorar suas propriedades mecânicas e de barreira. Um filme com uma superfície homogênea é considerado um forte indicador de integridade estrutural, ressaltando as propriedades mecânicas e os mecanismos de barreira dos filmes.

3.8 Espectroscopia no infravermelho com transformada por Fourier (FT-IR)

Os espectros na Figura 4 indicam que a adição do extrato resultou em duas novas bandas na região entre 1500 a 1750 cm^{-1} . As demais bandas identificadas são relatadas como típicas para filmes de amido de mandioca.

Figura 4: Espectro FTIR dos filmes adicionados de extrato de *Physalis peruviana* em diferentes concentrações.



Fonte: Autor (2020).

Pode-se perceber que todos os filmes mostraram as bandas características de amido a 3300 cm^{-1} , 2900 cm^{-1} e 1150 cm^{-1} . Os espectros dos filmes com adição de extrato,

mesmo naquele com apenas 5% de extrato, mostraram bandas correspondentes ao alongamento dos anéis aromáticos devido à presença de compostos fenólicos do extrato de *physalis* entre 1500 a 1600 cm^{-1} e outros sinais entre 1700 a 1750 cm^{-1} atribuídos à presença de ácidos carboxílicos (HERNANDEZ et al., 2017).

Desta forma, pode-se afirmar que houve interação entre o material do filme e o extrato adicionado, mesmo que em pequena quantidade. De acordo com Zhao et al. (2018) a evidência desta interação dos compostos bioativos do extrato com os filmes produzidos com amido de mandioca, faz com que possivelmente estes filmes atuem como transportadores de antioxidantes, consequentemente em substâncias antifúngicas.

3.9 Análise termogravimétrica dos filmes

A degradação térmica dos filmes de amido de mandioca controle seguiu o padrão descrito na literatura típica de filmes de amido plastificados com glicerol. (Córdoba et al., 2017). A primeira fase de perda de massa em todas as amostras corresponde a água presente nos filmes. Pode-se perceber que nas amostras de filmes com a partir de 10% de extrato a temperatura de início de degradação da água é mais elevada, quando comparada às amostras controle e com 5% de extrato. Levando a consideração de que os compostos do extrato interagiram fortemente com o material do filme, alterando assim a temperatura de ebulição da água adsorvida. Isso ocorre pois há formação de ligações de hidrogênio entre substâncias fenólicas do extrato com o amido de mandioca (ZHANG; LI; JIANG, 2019). Os filmes mostraram uma tendência de diminuição da temperatura inicial de degradação do amido. Assim, pode-se deduzir que a incorporação do extrato aos filmes tornou-os menos estáveis termicamente. Isso pode acontecer devido a interação dos compostos fenólicos do extrato com o material do filme (KONERU; DHARMALINGAN; ANANDALASKSMI, 2020).

Embora a estabilidade térmica dos filmes tenha diminuído, ainda se mantém com maior estabilidade térmica que filmes de gelatina e quitosana (degradação aproximada em 250 °C) (ANDRETTA et al., 2019), demonstrando que ainda é uma opção para embalagens de alimentos.

4. Conclusão

O extrato de *Physalis peruviana* apresentou concentrações de compostos fenólicos e atividade antioxidante suficientes para uma inibição de 100% do fungo *Botrytis cinerea*, a partir de uma concentração mínima de 10% de extrato. Os resultados do teor de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante dos filmes demonstraram que eles mantêm os compostos presentes no extrato, possibilitando a sua utilização como embalagem ativa.

Os filmes elaborados com extrato de *Physalis peruviana* apresentaram boa homogeneidade e maleabilidade. O aumento da concentração de extrato modificou a cor, aumentou a elasticidade, diminuiu a resistência tração, a solubilidade, permeabilidade ao vapor d'água e a temperatura de degradação térmica. A atividade antioxidante, redução da solubilidade e da permeabilidade ao vapor d'água são características significativas para embalagens ativas, pois os filmes devem proteger os alimentos da oxidação e degradação.

A partir destes resultados é possível afirmar que os filmes de amido de mandioca com extrato de *Physalis peruviana* podem ser utilizados como uma embalagem ativa para morangos, pois o extrato presente nos filmes tem atividade antifúngica comprovada contra o *Botrytis cinerea*, principal fitopatógeno pré e pós-colheita do morango.

REFERÊNCIAS

- ANDRETTA, R.; LUCHESE, C. L.; TESSARO, I. C.; SPADA, J. C. Development and characterization of pH-indicator films based on cassava starch and blueberry residue by thermocompression. **Food Hydrocolloids**. Brazil. v. 93. p. 317-324. ago. 2019.
- ARNOUS, A.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**. n. 655–665. 2002.
- ASTM E96-00. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. ASTM International. West Conshohocken. PA. 2000.
- BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S.K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis. Morocco**. p. 71-79. abr. 2016.
- BENZIE, I.; STRAIN, J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**. 239:70-76. 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**. v.28. n. 1. p. 25-30. 1. jan. 1995.
- CAETANO, K. S.; LOPES, N. A.; COSTA, T. M. H.; BRANDELLI, A.; RODRIGUES, E.; HICKMANN, S. F.; OLIVEIRA, F. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. **Foods Packaging and Shelf Life**. Brazil. v. 16. p. 138-147. jun. 2018.
- CODEX ALIMENTARIUS. Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods. Updated as at the 40th Session of the Codex Alimentarius Commission (July 2017). Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/maximum-residue-limits/en/>>. Acesso em: 09 set. 2018.
- CÓRDOBA, A. L.; JARAMILLO, C. M.; HERNANDEZ, D. P.; GOYANES, S. Cassava starch films containing rosemary nanoparticles produced by solvent displacement method. **Food Hydrocolloids**. Argentina. v. 71. p. 26-34. out. 2017.
- CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington. v.45. n.3. p. 622-626. 1997.
- DWIVEDY, A. K.; KUMAR, M.; UPADHYAY, N.; PRAKASH, B.; DUBEY, N. K. Plant essential oils against food borne fungi and mycotoxins. **Current Opinion in Food Science**. India. v. 11. p. 16-21. out. 2016.
- FILIPPI, D. Ação antifúngica do extrato de *Physalis peruviana* Linnaeus frente ao fungo *Botrytis cinerea*. Universidade de Passo Fundo: Passo Fundo, 2018.

GENNARO, L.; LEONARDI, C.; ESPOSITO, F.; SALUCCI, M.; MAIANI, G.; QUAGLIA, G.; FOGLIANO, V. Flavonoid and carbohydrate contents in tropea red onions: Effects of homelike peeling and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Italia. v. 50. n. 7. p. 1904-1910. 2002.

HERNANDEZ, D. P.; JARAMILLO, C. M.; CÓRDOBA, A. L.; GOYANES, S. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Foods Hydrocolloids**. Colombia. v. 63. p. 488-495. fev. 2017.

JUÁREZ, Z. N.; HERNÁNDEZ, L. R.; BACH, H.; ARREOLA, E. S.; BACH, H. Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache Mexicana* ssp. *xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens. **Industrial Crops and Products**. Canada. v. 74. p.178-182. nov. 2015.

KHAYYAT, S. A.; ROSELIN, L. S. Recent progress in photochemical reaction on main components of some essential oils. **Journal of Saudi Chemical Society**. Arabia. 2018.

KONERU, A.; DHARMALINGAM, K.; ANANDALAKSHMI, R. Cellulose based nanocomposite hydrogel films consisting of sodium carboxymethylcellulose–grapefruit seed extract nanoparticles for potential wound healing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**. India. v. 148. p. 833-842. 2020.

LIU, Y.; ZHANG, X.; LI, C.; QIN, Y.; XIAO, L.; LIU, J. Comparison of the structural, physical and functional properties of κ -carrageenan films incorporated with pomegranate flesh and peel extracts. **International Journal of Biological Macromolecules**. China. nov. 2019.

LIU, J.; YOUNG, H.; LIU, Y.; QIN, Y.; KAN, J.; LIU, J. Preparation and characterization of active and intelligent films based on fish gelatin and haskap berries (*Lonicera caerulea* L.) extract. **Food Packaging and Shelf Life**. China. v. 22. dec. 2019.

MARTÍNEZ, G.; REGENTE, M.; JACOBI, S.; RIO, M. D.; PINEDO, M.; CANAL, L. D. L. Chlorogenic acid is a fungicide active against phytopathogenic fungi. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. Argentina. v. 140. p. 30-35. 2017.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**. Canada. v. 1054. n. 1–2. p. 95-111. 2004.

NGUYEN, T. T.; DAO, U. T.; BUI, Q. P. T.; BACH, G. L.; THUC, C. H.; THUC, H. H. Enhanced antimicrobial activities and physiochemical properties of edible film based on chitosan incorporated with *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl. leaf extract. **Progress in organic coatings**. Viet Nam. v. 140. mar. 2020.

PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Aleopatia. In: OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba – PR: Omnipax, 2011. Cap. 5. p. 95-124.

PUENTE, L. A.; PINTO-MUÑOZ, C. A.; CASTRO, E. S.; CORTÉS, M. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. **Food Research International** São Paulo. v. 44. p. 1733-1740. ago. 2011.

RAZZAGHI-ABYANEH, M.; RAI, M. (Ed.). **Antifungal Metabolites from Plants**. Tehran – Iran: Sprinter, 2013.

RÍOS, J. *Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined*. Espanha: 2016.

SOUSA, B. A.; CORREIA, R. T. P. Phenolic content, antioxidant activity and anti-amylolytic activity of extracts obtained from bioprocessed pineapple and guava wastes. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. Brasil. v. 29. n. 01. p. 25-30. jan. 2012.

SUN, G.; CHI, W.; XU, S.; WANG, L. Developing a simultaneously antioxidant and pH-responsive κ -carrageenan/hydroxypropyl methylcellulose film blended with *Prunus maackii* extract. **International Journal of Biological Macromolecules**. China. nov. 2019.

SUN, L.; SUN, J.; CHEN, L.; NIU, P.; YANG, X.; GUO, Y. Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. **Carbohydrate Polymers**. China. v. 163. p. 81-91. may. 2017.

VIVAS, D. B.; RIVERA, G. A.; CAMARGO, A. P. S.; IBÁÑEZ, E.; ALFONSO, F. P.; CIFUENTES, A. A multi-analytical platform based on pressurized-liquid extraction, in vitro assays and liquid chromatography/gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry for food by-products valorisation. Part 1: Withanolides-rich fractions from goldenberry (*Physalis peruviana* L.) calyces obtained after extraction optimization as a case study. **Journal of Chromatography A**. Colombia. v. 1584. p. 155-164. jan. 2019.

VIVAS, D. B.; RIVERA, G. A.; CAMARGO, A. P. S.; IBÁÑEZ, E.; ALFONSO, F. P.; CIFUENTES, A. A multi-analytical platform based on pressurized-liquid extraction, in vitro assays and liquid chromatography/gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry for food by-products valorisation. Part 2: Characterization of bioactive compounds from goldenberry (*Physalis peruviana* L.) calyx extracts using hyphenated techniques. **Journal of Chromatography A**. Colombia. v. 1584. p. 144-154. jan. 2019.

ZABKA, M.; PAVELA, R. Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi. **Chemosphere**. Czech Republic. v. 93 n. 6. p. 1051-1056. out. 2013.

ZHANG, X.; DO, M. D.; CASEY, P.; SULISTIO, A.; QIAO, G. G.; LUNDIN, L.; LIKKFORD, P.; KOSARAJU, S. Chemical Modification of Gelatin by a Natural Phenolic Cross-linker, Tannic Acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n. 58. p. 6809-6815. 2010.

ZHANG, W.; LI, X.; JIANG, W. Development of antioxidant chitosan film with banana peels extract and its application as coating in maintaining the storage quality of apple. **International Journal of Biological Macromolecules**. China. nov. 2019.