

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper aduncum*: ATIVIDADE
BIOLÓGICA E INCORPORAÇÃO EM FILMES
BIODEGRADÁVEIS DE FÉCULA DE ARARUTA

Autora: Anna Carolina Fernandes Valadares
Orientadora: Dr^a. Cassia Cristina Fernandes Alves

RIO VERDE – GO
Fevereiro – 2018

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper aduncum*: ATIVIDADE
BIOLÓGICA E INCORPORAÇÃO EM FILMES
BIODEGRADÁVEIS DE FÉCULA DE ARARUTA

Autora: Anna Carolina Fernandes Valadares
Orientadora: Dr^a. Cassia Cristina Fernandes Alves

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde - Área de concentração Agroquímica.

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

VV1366 Valadares, Anna Carolina Fernandes
Oleo essencial de Piper aduncum: Atividade
biológica e incorporação em filmes biodegradáveis de
fécula de araruta / Anna Carolina Fernandes
Valadares; orientadora Cassia Cristina Fernandes
Alves; co-orientadora Mariana Buranelo Egea. -- Rio
Verde, 2018.
81 p.

Dissertação (Mestrado em Agroquímica) -- Instituto
Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2018.

1. Atividade antimicrobiana. 2. fungos
patogênicos. 3. composição química. 4. embalagens
ativas. I. Alves, Cassia Cristina Fernandes,
orient. II. Egea, Mariana Buranelo, co-orient. III.
Título.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

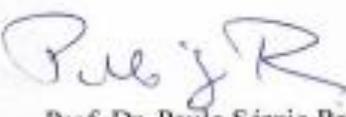
**ÓLEO ESSENCIAL DE *PIPER ADUNCUM*:
ATIVIDADE BIOLÓGICA E INCORPORAÇÃO EM
FILMES BIODEGRADÁVEIS DE FÉCULA DE
ARARUTA**

Autora: Anna Carolina Fernandes Valadares
Orientadora: Cassia Cristina Fernandes Alves

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica – Área de concentração
Agroquímica.

APROVADA em 19 de fevereiro de 2018.


Prof.ª Dr.ª Katiuchia Pereira
Takeuchi
Avaliadora externa
UFMT


Prof. Dr. Paulo Sérgio Pereira
Avaliador interno
IF Goiano/RV


Prof.ª Dr.ª Cassia Cristina Fernandes Alves
Presidente da banca
IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

A Deus, autor e princípio de todas as coisas, agradeço pela providência, cuidado e pelas lições que me permitiu aprender.

Meus sinceros agradecimentos a toda equipe do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, onde fiz minha graduação e agora concluo o mestrado, pelo trabalho árduo e consistente, na luta por uma educação pública, gratuita e de qualidade apesar dos duros golpes que temos levado. Ao PPGAq, pela oportunidade de cursar esse mestrado. Muito obrigada às secretárias Pâmela e Renata, que sempre tão gentilmente me atenderam, tiraram dúvidas e receberam toda documentação exigida pelo PPGAq, seu trabalho é de vital importância para esse programa.

Agradeço também à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de mestrado do Programa de Demanda Social.

Minha eterna gratidão ao Prof. Dr. Paulo Sérgio Pereira, coordenador deste programa de pós-graduação, por ter olhado com atenção por minha situação em um momento extremamente delicado durante esses dois anos, por ser sempre solícito e me permitir usar materiais de seu laboratório, e sempre apontar direções na resolução dos problemas!

À minha querida orientadora e amiga Prof.^a Dr.^a Cassia Cristina Fernandes Alves, não tenho palavras para expressar o quanto sou grata por ter ficado sob sua orientação. Obrigada por todo incentivo, toda paciência e todas as cobranças! Obrigada por se animar a cada ideia ou experimento que deu certo, e obrigada ainda mais por não me deixar desanimar quando dava tudo errado (e não foram poucas vezes kkkk). Obrigada por ter visto em mim um potencial que nem eu vejo! Obrigada por sua energia boa, por sua alegria, pelos ensinamentos e por compartilhar conosco tanta sabedoria!

Aos meus caros coorientadores Prof.^a Dr.^a Mariana Buranelo Egea e Prof. Dr. Mayker Dantas, por serem sempre solícitos e dispostos, não importando o momento. Reservo um momento para agradecer em especial ao Prof. Mayker, pelas análises que

ele intermediou e por esse primeiro capítulo e primeiro artigo submetido, não fosse o senhor, não seria possível...eterna gratidão!

Aos meus colegas de laboratório que tanto me ensinaram, em especial a aluna de I.C. mais prestativa da vida Isabella Pelosi, tive tanta sorte em ter “herdado” a Isabella, fizemos tantas descobertas juntas, é uma menina muito especial e vai muito longe!

Quem diria que no dia da entrevista eu iria conhecer aquele que seria meu melhor amigo e a pessoa com quem eu mais brigaria nesse mestrado?! E foi assim, esperando chamarem para a entrevista que eu conheci o Josemar Oliveira, o “Zeca”, com quem eu aprendi, trabalhei, ri, fofoquei, briguei, discuti, vivi momentos bons e ruins nesses dois anos e agora chegamos ao fim do jeito que teria que ser, juntos! Zeca foi um presente da vida, mais um irmão que acolhi, que me estressou mais do que pensei que alguém poderia me estressar, mas que sempre foi quem me apoiou, ensinou e ajudou em cada experimento, dificuldade e vitória. Muito obrigada Zeca!

Ainda falando de presentes que o mestrado deu, eu não poderia deixar de agradecer à minha grande amiga Joema Rodrigues, com quem eu aprendi o valor do altruísmo, da empatia e da perseverança. Que em um ano de convívio me ensinou o valor de uma verdadeira amizade, aquela que não espera nada em troca, aquela que sempre está para o que der e vier. Obrigada amiga!

Não poderia deixar de mencionar minhas “meninas superpoderosas” Daniela Macedo, Danielle Prado e Tainara Martins, químicas, mestras e mulheres empoderadas! Jamais vou esquecer nossos momentos juntas, os desabafos, a força que sempre me deram e todo carinho que sempre dispensaram por mim. Mesmo morando em cidades diferentes ainda tenho esse mesmo sentimento, de que tenho meu “grupinho” e que elas me amam! E, eu as amo também! Muito obrigada meninas!!

Dos amigos que fiz no IF, sem palavras para agradecer por cada momento, Elizabeth, Juliana, Wendel, Alline, Flávia, Antônio, Giovani, Andressa, Vanessa, Weber, Helen, Marcela, Silvânia, Taciane, Yasmin, Simonny...e tantos outros que cruzaram meu caminho e deixaram suas marcas! Muito obrigada!!

Não poderia deixar de agradecer ao meu esteio, às pessoas mais importantes da minha vida, a razão por todo esforço e todo trabalho: minha família! Aos meus pais Reginaldo e Mara Lúcia, todo meu amor e gratidão pela vida! Por me amparem e por nunca me permitirem desistir. Aos meus irmãos Gabriel e Matheus, que tanto me

orgulham pelos homens que são, por me amarem tanto e por sentirem orgulho de mim também. Louvado seja Deus pela minha família!

Ao meu amado noivo Pedro Henrique, por ser sempre meu companheiro, por escutar minhas lamúrias e por não me deixar desistir, por se orgulhar tanto e por toda paciência e amor. Te amo!

Aos meus avós queridos Iromes e Carmem, por se empolgarem e me ajudarem com as compras da semana (kkk), por me apoiarem e fazerem tudo que estava a seu alcance e mais! Essa vitória é por vocês!

Não posso deixar de agradecer também de maneira especial à prima e tia mais doidinhas que alguém pode ter! Camilla e tia Daise, obrigada por me acolherem no início dessa caminhada! Estendo assim, meu agradecimento a todos os Fernandes e todos os Valadares! Amor eterno!

As melhores companheiras de casa que alguém poderia querer: Estefânia, Aline e Dêmily, meus dias ficaram mais divertidos com vocês! Em especial quero agradecer à Demy, essa “mulé” que tanto me aturou, conversou e deu bons conselhos! Sua amizade fez minha estadia ai muito feliz! Obrigada!

Á minha ex-patroa, amiga e mãe de coração Saleth e a Victoria, minha irmã de coração, obrigada por tudo, nunca terei como agradecer ou retribuir tanto amor, tanta preocupação!

Por fim, agradeço a todos e a cada um que encontrei pelo caminho, que me disseram: “vai dar certo”, “você vai vencer” simples palavras que nos fazem ter vontade de dar um passo de cada vez.

Termino esse agradecimento recitando um trecho da letra da música “Era uma vez” de autoria de Kell Smith:

“Pra não perder a magia de acreditar

Na felicidade real

E entender que ela mora no caminho

E não no final”

Dá pra ser feliz na pós-graduação...eu sou prova disso.”

BIOGRAFIA DA AUTORA

Natural de Quirinópolis – GO, filha de Reginaldo Valadares de Vasconcelos e Mara Lucia Fernandes Telles Valadares, Anna Carolina Fernandes Valadares nasceu em 30 de dezembro de 1992.

Em 2010 iniciou sua graduação no curso de Licenciatura em Química, no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.

Em 2016 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, sob orientação da Professora Dr.^a Cassia Cristina Fernandes Alves.

Sumário

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	2
1.2 <i>Piper aduncum</i> var. <i>aduncum</i>	3
1.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS	4
1.4 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	4
1.5 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	5
1.6 <i>Rhizopus microsporus</i>	6
1.7 FILMES ATIVOS	7
1.8 ARARUTA (<i>Maranta arundinacea</i>)	8
2. OBJETIVOS	19
CAPÍTULO I - Óleos essenciais das inflorescências e folhas de <i>Piper aduncum</i> (Piperaceae): composição química e atividade antifúngica contra <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	20
RESUMO.....	20
CHAPTER I - Essential oils from <i>Piper aduncum</i> inflorescences and leaves (Piperaceae): chemical composition and antifungal activity against <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	21
ABSTRACT	21
1.1 INTRODUÇÃO	22

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
1.4 REFERÊNCIAS	33
CAPÍTULO 2 – Desenvolvimento de filmes biodegradáveis de fécula de araruta incorporados com óleo essencial de <i>Piper aduncum</i>	39
RESUMO.....	39
CHAPTER 2 - Development of biodegradable arrowroot starch films incorporated with <i>Piper aduncum</i> essential oil.....	40
ABSTRACT	40
2.1. INTRODUÇÃO.....	41
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
2.4 CONCLUSÃO.....	58
2.5 REFERÊNCIAS	59
CONCLUSÃO GERAL	64

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Capítulo 1	
Tabela I - Composição química dos óleos essenciais das inflorescências (PI-EO) e folhas (PL-EO) de <i>P. aduncum</i> coletadas em Rio Verde – Goiás	26
Capítulo 2	
Tabela 1: Pâmetros CIE Lab de cor L* (luminosidade), a* e b* (cromaticidade), e a diferença total de cor (Δe) dos filmes de fécula de araruta incorporado com OE das folhas (PL) e inflorescências (PI) de <i>P. aduncum</i>	51

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Introdução	
Figura 1: <i>Piper aduncum</i> var. <i>aduncum</i>	3
Capítulo 1	
Figura 1 - Estruturas químicas dos constituintes majoritários identificados nos óleos essenciais das inflorescências e folhas de <i>P. aduncum</i> : piperitona (1), terpinen-4-ol (2), β -cariophilleno (3), α -humuleno (4), miristicina (5), germacreno-D (6) e dilapiol (7).....	29
Capítulo 2	
Figura 1: Taxa de transmissão de luz UV-Vis de filmes de araruta incorporados com OE das folhas (A) e inflorescências (B) de <i>P. aduncum</i>	53
Figura 2: Atividade antifúngica de filmes de fécula de araruta incorporados com OE das folhas (OE PL) e das inflorescências (OE PI) de <i>P. aduncum</i> frente aos fungos <i>Rhizopus microsporus</i> e <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	56
Figura 3: Imagens de MEV (ampliação 1000x) dos filmes de fécula de araruta controle (A), e incorporados com 0,25% (B), 0,50% (C), 0,75% (D) e 1,0% (E) de OE – PL.....	56
Figura 4: Imagens de MEV (ampliação 1000x) dos filmes de fécula de araruta controle (A), e incorporados com 0,25% (B), 0,50% (C), 0,75% (D) e 1,0% (E) de OE – PI.....	57

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
Capítulo 1	
Gráfico 1 – Percentual de inibição micelial do crescimento de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em diferentes concentrações de óleo essencial das inflorescências de <i>P. aduncum</i>	30
Gráfico 2 – Percentual de inibição micelial do crescimento de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em diferentes concentrações de óleo essencial das folhas de <i>P. aduncum</i>	31
Capítulo 2	
Gráfico 1 – Espessura (mm) dos filmes à base de fécula de araruta incorporados com óleo essencial das folhas (OE – PL) e das inflorescências (OE – PI) de <i>Piper aduncum</i>	47
Gráfico 2 – Umidade (%) dos filmes à base de fécula de araruta incorporados com óleo essencial das folhas (OE – PL) e das inflorescências (OE – PI) de <i>Piper aduncum</i>	48
Gráfico 3 –Solubilidade (%) dos filmes à base de fécula de araruta incorporados com óleo essencial das folhas (OE – PL) e das inflorescências (OE – PI) de <i>Piper aduncum</i>	49
Gráfico 4 – Permeabilidade ao vapor de água ($\times 10^{-2}$ g mm/h m ² kPa) dos filmes à base de fécula de araruta incorporados com óleo essencial das folhas (OE – PL) e das inflorescências (OE – PI) de <i>Piper aduncum</i>	50

ÍNDICE DE SIGLAS E ABREVIações

CG – EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG – DIC	Cromatografia com detector por Ionização de Chama
OE	Óleo essencial
PI	Inflorescências de <i>Piper aduncum</i>
PL	Folhas de <i>Piper aduncum</i>
ICM	Inibição do Crescimento Micelial
EO	Essential oil

RESUMO

VALADARES, ANNA CAROLINA FERNANDES. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, fevereiro de 2018. **Óleo essencial de *Piper aduncum*: Atividade biológica e incorporação em filmes biodegradáveis de fécula de araruta.** Orientadora: Dr.^a Cassia Cristina Fernandes Alves. Coorientadores: Dr.^a Mariana Buranelo Egea e Dr. Mayker Lázaro Dantas Miranda.

Óleos essenciais (OEs) são substâncias extraídas de plantas que apresentam diversas atividades biológicas. O OE extraído de *Piper aduncum* têm descrito na literatura atividades inseticidas, antibacterianas, antioxidantes e antifúngicas, porém ainda pouco se sabe sobre possíveis aplicações do OE dessa planta. Alguns fungos patogênicos causam grandes prejuízos em pré e pós colheita de grãos, frutas e leguminosas, como é o caso dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletorichum gloeosporioides* e *Rhizopus microsporus*. O controle desses patógenos ainda é realizado utilizando de fungicidas sintéticos que tendem a causar contaminações no ambiente em que são aplicados, podem acabar selecionando cepas ainda mais resistentes, além do fato que os consumidores têm preferido alimentos mais orgânicos, cultivados com menos utilização de químicos sintéticos. Assim, surge a necessidade de buscar alternativas no controle de doenças e na manutenção dos alimentos no pré e pós colheita. Uma opção promissora para utilização das propriedades antifúngicas dos óleos essenciais no controle de doenças em pós-colheita de alimentos é a incorporação de OEs em filmes biopoliméricos. A fécula de araruta é um material que apresenta características bastante interessantes para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis e ativos para

embalagens de alimentos. Dessa forma, objetivou-se nesse estudo avaliar a composição química e atividade antifúngica *in vitro* dos OEs extraídos das folhas (PL) e inflorescências (PI) de *P. aduncum* frente ao fungo *S. sclerotiorum*, e desenvolver, caracterizar e avaliar a atividade antifúngica frente aos fungos *C. gloeosporioides* e *R. microsporus* de filmes biodegradáveis e ativos a base de fécula de araruta e incorporados com os OEs de *P. aduncum*. Para tanto, os OEs de PI e PL foram extraídos por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. A composição química foi analisada por CG-EM e CG-DIC, identificando a piperitona (23,4%), miristicina (12,4%), como constituintes majoritários nos OEs extraídos de PI e PL, respectivamente. Os resultados da composição química dos OEs diferem de alguns relatos da literatura que apontam o dilapiol como composto majoritário comumente encontrado no OE de *P. aduncum*. A atividade antifúngica *in vitro* dos OEs frente ao fungo *S. sclerotiorum* seguiu metodologia de difusão em disco e demonstrou que volumes de OE - PI acima de 30 μ L inibiram em 100% o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, enquanto que OE-PL com 50 μ L inibiu 98,74%. Para o desenvolvimento dos filmes à base de fécula de araruta foram realizados vários testes prévios envolvendo diversos parâmetros do processo. A obtenção e incorporação dos OEs de *P. aduncum* nos filmes a base de fécula de araruta foi então realizada pelo método de Casting. Os filmes foram caracterizados quanto a suas propriedades físicas (espessura, umidade e solubilidade), mecânica (permeabilidade ao vapor de água), biodegradabilidade, propriedades ópticas (cor e transmissão de luz UV-Vis) e atividade antimicrobiana frente aos fungos *R. microsporus* e *C. gloeosporioides*. Os resultados das análises demonstraram que os filmes de fécula de araruta apresentam boa propriedade de barreira, baixa permeabilidade ao vapor de água e baixa taxa de transmissão de luz UV-Vis, características importantes em filmes para alimentos. A incorporação dos OEs de *P. aduncum* melhoraram substancialmente a propriedade de barreira à luz UV-Vis, além de contribuírem na redução da permeabilidade ao vapor de água. Os filmes foram 100% biodegradados e apresentaram, nas concentrações de 0,75% e 1,0%, atividade antifúngica frente aos fungos avaliados.

PALAVRAS-CHAVE: Atividade antimicrobiana, fungos patogênicos, composição química, embalagens ativas.

ABSTRACT

VALADARES, ANNA CAROLINA FERNANDES. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, february of 2018. ***Piper aduncum* essential oil: Biological activity and incorporation into biodegradable arrowroot starch films.** Advisor: Dr^a Cassia Cristina Fernandes Alves. Co-advisors: Dr^a Mariana Buranelo Egea and Dr. Mayker Lázaro Dantas Miranda.

Essential oils (EOs) are substances extracted from plants that has shown various biological activities. The EO extracted from *Piper aduncum* has described in the literature with insecticidal, antibacterial, antioxidant and antifungal activities, but little is known about the possible applications of the EO of this plant. Some pathogenic fungi cause great damages in pre and post-harvest of grains, fruits and legumes, as is the case of the fungi *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletorichum gloeosporioides* and *Rhizopus microspores*. The control of these pathogens is still carried out using synthetic fungicides that tend to cause contamination in the environment in which they are applied, may end up selecting even more resistant strains, in addition to the fact that consumers have preferred more organic foods, cultivated with less use of synthetic chemicals. Thus, there is the need arises to seek alternative ways in disease control and maintenance of pre and post-harvest food. A promising option for the use of the antifungal properties of EOs in the control of post-harvest food diseases is its incorporation of EO into biopolymer films. Arrowroot starch is a material that presents very interesting characteristics for the development of biodegradable films and active for food packaging. The objective of this study was to evaluate the chemical

composition and in vitro antifungal activity of the EOs extracted from the leaves (PL) and inflorescences (PI) of *P. aduncum* against the *S. sclerotiorum* fungus, and to develop, characterize and evaluate the antifungal activity against fungi *C. gloeosporioides* and *R. microsporus* of biodegradable and active films based on arrowroot starch and incorporated with these EOs of *P. aduncum*. For this, the EOs of PI and PL were extracted by hydrodistillation in a Clevenger type apparatus. The chemical composition was analyzed by GC-MS and GC-FID, identifying piperitone (23.4%), myristicin (12.4%), as major constituents in EOs extracted from PI and PL, respectively. The results of the chemical composition analysis of the EOs differ from some reports in the literature that point the dillapiol as the major compound commonly found in the EO of *P. aduncum* EO. The in vitro antifungal activity of the EO against the *S. sclerotiorum* fungus followed disc diffusion methodology and demonstrated that EO - PI volumes above 30 μ L inhibited 100% mycelial growth of *S. sclerotiorum*, whereas EO - PL with 50 μ L inhibited 98.74%. For the development of films based on arrowroot starch, several previous tests involving several process parameters were performed. The obtainment and incorporation of the EOs of *P. aduncum* in the films based on arrowroot starch was then performed by the casting method. The films were characterized in terms of their physical properties (thickness, moisture and solubility), mechanical (water vapor permeability), biodegradability, optical properties (color and transmission of UV-Vis light) and antimicrobial activity against fungi *R. microsporus* and *C. gloeosporioides*. The results of the analyzes showed that the arrowroot starch films have good barrier properties, low water vapor permeability and low transmission rate of UV-Vis light, important characteristics in food films. The incorporation of *P. aduncum* EOs substantially improved the barrier property to UV-Vis light, in addition to contributing to the reduction of water vapor permeability. The films were 100% biodegraded and showed antifungal activity against the evaluated fungi at concentrations of 0.75% and 1.0%.

KEY WORDS: Antimicrobial activity, pathogenic fungi, chemical composition, active packaging.

1. INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são compostos voláteis e aromáticos extraídos de diversas partes de plantas como folhas, flores, raízes, sementes entre outros (Hyltdgaard, Mygind & Meyer, 2012). Atualmente, os óleos essenciais têm demonstrado uma ampla gama de atividades biológicas, entre elas anticâncer, antioxidante, antibacteriana e antifúngica (Zhang et al., 2108). As propriedades antifúngicas de vários tipos de óleos essenciais têm chamado atenção de pesquisadores, em diversas aplicações, tais como no controle a fungos pós-colheita (Zninini et al., 2013; El Ouadi et al., 2017; Tegang et al., 2017), fungos que degradam madeira (Xie et al., 2017), e em aplicações farmacológicas frente a fungos que causam doenças (Tolba et al., 2015).

Conhecida popularmente como falso-jaborandi ou pimenta-de-macaco, *Piper aduncum* é um arbusto muito utilizado na medicina popular (Oliveira et al., 2013). Guerrini et al. (2009) demonstraram o potencial antifúngico do óleo essencial extraído das partes aéreas de *P. aduncum* frente a seis diferentes fungos patogênicos, entre eles *Botrytis cinerea*, patógeno importante de frutas. Bastos e Albuquerque (2004) avaliaram a atividade antifúngica do óleo essencial das folhas secas de *P. aduncum* em *Colletotrichum musae* em testes *in vitro* e *in vivo* em bananas, e concluíram que com 100 µg/mL o óleo inibiu em 100% o crescimento micelial do fungo nos testes *in vitro*, e concentrações de 1% foram eficazes nos testes *in vivo*.

Sclerotinia sclerotiorum é um fungo filamentosos patogênico que atinge mais de 400 culturas de importância comercial como soja, alface, amendoim, batata, girassol entre outros (Na et al., 2017, Boland & Hall, 1994). Este patógeno pode sobreviver no solo por vários anos, formando estruturas chamadas escleródios, dificultando o controle da contaminação por esse fungo (Sun et al., 2017), que ainda é realizado

utilizando fungicidas, porém há relatos de estirpes resistentes aos fungicidas sintéticos utilizados (Lu et al., 2015).

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, é considerada uma das principais doenças pós-colheita de frutas, de ocorrência em todo o mundo, causando sérios prejuízos ao setor frutícola (Espanña et al., 2017). *Rhizopus microsporus* é uma estirpe fúngica que frequentemente contamina uma variedade de gêneros alimentícios, principalmente produtos fermentados, sendo altamente tóxico (Rabie et al., 1985). Cheng et al. (2009) relataram um surto de infecção intestinal causada por *R. microsporus* na unidade de oncologia de hospitais em Hong Kong. A fonte do surto foi associada à amido de milho contaminado, que era utilizado para fabricação de comprimidos de alopurinol e/ou alimentos pré-embalados e prontos para consumo (*ready-to-eat*).

Uma maneira que têm se mostrado eficaz na aplicação de óleos essenciais no controle dos patógenos de alimentos é a incorporação destas substâncias em filmes biodegradáveis (Irkin & Esmer, 2015). Dentre os materiais que podem ser utilizados como fonte para obtenção de biopolímeros, o amido é muito promissor por ser inodoro, incolor, não tóxico e biodegradável (Luchese et al., 2018). A Araruta (*Maranta arundinacea*) é um rizoma do qual é possível extrair alto teor de amido (>85%), e que apresenta grande potencial para obtenção de filmes (Gordillo et al., 2014; Madieni et al., 2012).

1.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais podem ser definidos como uma mistura de compostos voláteis extraídos das plantas por destilação a vapor de água, solventes apolares, fluido supercrítico ou prensagem do pericarpo de frutos cítricos (Raut & Karuppayil, 2014). Sua composição química é constituída de hidrocarbonetos terpênicos (principalmente monoterpenos e sesquiterpenos) e compostos oxigenados como álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e compostos fenólicos. Os terpenos são o maior grupo de compostos em produtos naturais de plantas, com mais de 15.000 compostos conhecidos (Jawdat et al., 2016).

São utilizados principalmente nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica (Zhang et al., 2018). São reconhecidos como GRAS (*Generally recognize as safe*) pela Food and Drug Administration (FDA), dos Estados Unidos, ou seja,

podem ter contato direto com o alimento aplicados diretamente sobre ele como soluções aquosas, vapores ou em embalagens e revestimentos (Palou et al., 2016).

1.2 *Piper aduncum* var. *aduncum*

Pertencente à família Piperaceae, o gênero *Piper* abrange mais de 2000 espécies de plantas distribuídas por regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (Gutiérrez et al., 2016). *Piper aduncum* caracteriza-se por ser um arbusto, com altura média entre 3 e 6 m, é considerada oportunista, pois rapidamente ocupa áreas devastadas, solos areno-argilosos, pastagens e bordas de florestas (Oliveira et al., 2014; Oliveira et al., 2013). É utilizada na medicina popular para tratamento de diversas doenças, como do trato digestivo, gripe, dor de estômago e úlceras crônicas (Parise-Filho et al., 2011; Potzernheim et al., 2012).



Figura 1: *Piper aduncum* var. *aduncum*. Foto: Anna Carolina F. Valadares

O óleo essencial extraído de *Piper aduncun* tem grande potencial de utilização por suas atividades anti-helmíntica (Gaínza et al., 2016), antiprotozoária (Monzote et al., 2017), inseticida (Misni et al., 2011), acaricida (Pino et al., 2011) antibacteriana (Gutiérrez et al., 2016) e antifúngica (Lobato et al., 2007; Guerrini et al., 2008).

1.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Para evitar ou tentar diminuir a incidência de doenças nos alimentos, muitos produtores fazem uso de fungicidas sintéticos. Esses produtos químicos sintéticos contribuem para diminuir os prejuízos em campo e estender o tempo de vida de prateleira das frutas e hortaliças em que são aplicados. Porém, ainda há a problemática dos danos que esses fungicidas sintéticos podem causar à saúde dos consumidores e ao meio ambiente. Outro aspecto negativo do uso indiscriminado de fungicidas sintéticos é que o manejo errado destes produtos tem levado à proliferação de biótipos resistentes de fungos patogênicos (Palou et al., 2015). Neste aspecto, a procura por antimicrobianos naturais e biopesticidas poderia ajudar a diminuir o impacto causado pelo mau uso ou uso excessivo de fungicidas sintéticos e sua acumulação em ecossistemas (Eshalfie et al., 2015).

A hidrofobicidade e a reatividade dos óleos essenciais e/ou seus compostos isolados resultam em modificações estruturais e alterações na morfologia das hifas, particionando a camada lipídica da membrana celular, prejudicando assim, as funções celulares dos microrganismos (Mari et. al., 2016). Essas propriedades dos óleos essenciais fazem com que esses compostos sejam interessantes em aplicações como antifúngico, tanto na agronomia quanto em alimentos (Solórzano-Santos & Miranda-Novales, 2012). Na natureza, essas propriedades químicas dos óleos essenciais são de vital importância para as plantas em processos de defesa contra patógenos e sinalização para polinizadores, ajudando em sua adaptação a diferentes ambientes (Perigo et al., 2016).

1.4 *Sclerotinia sclerotiorum*

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* pertence à família Sclerotiniaceae na ordem Helotiales no filo Ascomycota (Bolton et al. 2006). É um agente fitopatogênico do solo

que causa perdas em mais de 400 espécies de plantas em todo mundo, incluindo culturas de importância comercial como a soja, o feijão, o girassol, o pepino, o tomate, entre outras (Boland & Hall, 1994; Bolton et al., 2006; Ethur et al., 2004). Não produz esporos assexuados, sendo os escleródios que produzem seu inóculo e são as principais estruturas de sobrevivência do fungo a longo prazo (Bolton et al., 2006; Ma et al., 2015).

Por atingir uma ampla gama de hospedeiros, os sintomas de infecção por *Sclerotinia sclerotiorum* podem variar de acordo com a planta infectada. De uma maneira geral, a infecção por *Sclerotinia sclerotiorum* apresenta lesões encharcadas e tecido necrótico. Em seguida, há a formação de uma massa branca de micélios. Logo os micélios se transformam em uma massa negra, o escleródio, que são tipicamente formados no interior dos tecidos infectados, mas podem ocorrer também na superfície dos tecidos. Durante a colheita, esses escleródios podem cair no solo, e ali permanecer até a implantação de outra lavoura ou outra cultura, reiniciando o ciclo de contaminação do fungo (Bolton et al., 2006).

1.5 *Colletotrichum gloeosporioides*

O gênero *Colletotrichum* spp. possui cerca de 769 espécies de fungos ascomicetos validadas na literatura. Dentre elas destaca-se a espécie *C. gloeosporioides* por apresentar o maior número de variantes representadas por 12 *formae speciales* e 8 variedades pertencentes a espécie. A antracnose, doença causada por fungos do gênero *Colletotrichum* spp., tem ocorrência registrada em lavouras por todo o Brasil, principalmente quando predominam condições de elevada umidade, temperaturas moderadas e chuvas prolongadas. Além de provocar queda no rendimento da cultura, essa doença também pode afetar a qualidade dos alimentos produzidos. A antracnose atinge vários tipos de cultivos, entre as frutas atingidas estão a manga, mamão, frutas cítricas em geral, morango, banana e goiaba (Da Silva Lopes et al., 2015).

É uma doença quiescente, ou seja, a infecção ocorre ainda no campo e os primeiros sintomas surgem após certo tempo de maturação. Os sintomas característicos da antracnose são o aparecimento de manchas arredondadas e necróticas, de centro deprimido sobre a pele do alimento contaminado. Sobre as lesões são produzidas massas de conídeos de cor alaranjada. Também pode causar podridão da polpa de frutas

infectadas (Terao et al., 2013). A antracnose prejudica o metabolismo das plantas de diversas maneiras, como promover a diminuição das taxas fotossintéticas, interferir na dissipação de energia ou prejudicar o metabolismo do carbono e do nitrogênio (Wang et al., 2017). O fungo exibe dois modos principais de nutrição durante a colonização nas plantas hospedeiras: a biotrofia que consiste na obtenção dos nutrientes a partir das células vivas do hospedeiro, e a necrotrofia, em que os nutrientes são absorvidos das células que foram mortas pelo fungo (Perfect et al., 1999).

Luo et al. (2015) escrevem que, dos fatores que causam perdas pós-colheita de manga, a antracnose é responsável por cerca de 70% das perdas de frutos. Todos os órgãos da planta são atacados; flores, panículas, ramos, folhas e frutos. O controle da antracnose atualmente é realizado com a utilização de fungicidas sintéticos, porém vários fungicidas não podem ser utilizados no pós-colheita ou foram retirados do mercado pela resistência do patógeno ou possíveis riscos toxicológicos aos consumidores.

1.6 *Rhizopus microsporus*

Rhizopus microsporus é um grupo pertencente ao filo Zygomycota e ao subfilo *Mucorales*, da família Mucoraceae. Consiste em cinco espécies, em que *R. microsporus* apresenta seis variedades (Cheng et al., 2009; Jennessen et al., 2008).

Algumas estirpes de *R. microsporus* são utilizadas na indústria alimentícia realizando fermentação de certos tipos de alimentos, outros são degradadores no solo e material vegetal. Algumas estirpes também são patogênicas em humanos, causando infecções gastrointestinais, especialmente em pacientes imunodeficientes (Jennessen et al., 2008, Benedict et al., 2016). Espécies do gênero *Rhizopus* contaminam diversos alimentos como grãos de alta umidade, por exemplo. Também são importantes contaminadores de frutas como maçãs, peras, morangos uvas e em batatas, além de carnes e produtos cárneos (Rabie et al., 1985).

R. microsporus produz uma micotoxina chamada rhizonin A, extremamente tóxica em ratos afetando principalmente fígado e rins (Rabie et al., 1985).

A contaminação de alimentos por fungos patogênicos pode ocorrer em diversos momentos da cadeia produtiva, desde a produção, processamento, embalagem ou

armazenamento. A deterioração causada por fungos explica cerca de 5 a 10% das perdas de alimentos em todas as fases da produção (Benedict et al., 2016).

1.7 FILMES ATIVOS

Os filmes biopoliméricos têm grande impacto benéfico na qualidade dos produtos alimentícios, pois atuam como barreira para a troca gasosa entre o alimento e a atmosfera circundante, protegem o alimento de possíveis injúrias no manuseio do campo até o consumidor final, possibilitam um retardo na deterioração do alimento preservando suas propriedades organolépticas e carreando substâncias antimicrobianas e antioxidantes. A utilização de filmes biopoliméricos também é benéfica ao ambiente, pois diminui a necessidade da utilização de embalagens plásticas derivadas de petróleo, além de terem a característica de serem biodegradáveis e serem obtidos a partir de fontes renováveis (Gomes et al., 2015; Flores-López et al., 2015; Chaudhry & Castle, 2012; Gallocchio et al., 2016; Morsy et al., 2014).

As principais fontes utilizadas como matéria-prima para obtenção de filmes e revestimentos são os polissacarídeos, as proteínas e os lipídeos ou uma combinação deles. Normalmente, também são empregados plastificantes como o glicerol ou o sorbitol, com a finalidade de melhorar algumas características mecânicas dos filmes como a resistência, flexibilidade e força (De Mello Luvielmo & Vieira Lamas, 2013; Ghasemlou et al., 2013).

Os polissacarídeos mais utilizados na obtenção de filmes biodegradáveis e revestimentos são os alginatos, as pectinas, os derivados da celulose e os amidos. Os filmes de polissacarídeos são hidrofílicos pela predominante presença de grupos polares em sua estrutura (De Mello Luvielmo & Vieira Lamas, 2013; Silvestre et al., 2011).

Os amidos estão entre os materiais mais utilizados na obtenção de filmes biodegradáveis por suas propriedades de resistência a trocas gasosas, transparência, baixo custo e alta disponibilidade (De Mello Luvielmo & Vieira Lamas, 2013; Davoodi, Kavooosi & Shakeri, 2017). O amido é encontrado como reserva de carboidrato nas mais diversas espécies vegetais como tubérculos, cereais e leguminosas. É composto, principalmente, de dois polímeros de glicose: a amilose e amilopectina (Do Carmo & Paiva, 2015; Ellis et al., 1998). A amilose é um polímero linear constituída de ligações α -D-glicopirranose ligadas em α -(1,4). A amilopectina é

um polímero de cadeia ramificada. As ligações da amilopectina são formadas por resíduos de α -D-glicopiranosose em que suas ramificações se encontram nas posições α -(1,6) (Denardin & Silva, 2009). O teor de amido, assim como a porcentagem de amilose e amilopectina, variam de acordo com a fonte vegetal em que foi extraído o amido, bem como do estágio de maturação da fonte (Do Carmo & Paiva, 2015).

O processo de obtenção de filmes biodegradáveis de amido baseia-se na característica do amido de formar géis. Na presença de água e sob aquecimento, os grânulos de amido passam por um processo chamado gelatinização, e os grânulos incham de forma irreversível. Esse processo tem início nas regiões amorfas da estrutura cristalina do grânulo, causando desordem na organização estrutural, e, conseqüentemente, a fusão dos cristais. Com a expansão do grânulo e a desordem estrutural causada nesse processo, a amilose é lixiviada para o meio aquoso aumentando as propriedades reológicas do sistema. Quando ocorre o resfriamento do amido gelatinizado, as moléculas de amido vão perdendo energia e se reorganizando, as ligações de hidrogênio vão ficando mais fortes e formam-se zonas cristalinas, formando um gel opaco. A esse processo dá-se o nome retrogradação (Denardin & Silva, 2009; Luchese, Spada & Tessaro, 2017).

Em filmes de amido o uso de plastificantes é de extrema importância, pois estes atuam reduzindo as forças intermoleculares e aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas, obtendo um material mais flexível. Os principais plastificantes empregados em filmes à base de amido são os polióis, especialmente o sorbitol e o glicerol (Mali et al., 2010; Do Carmo & Paiva, 2015).

1.8 ARARUTA (*Maranta arundinacea*)

A araruta (*Maranta arundinacea* L.) é uma planta típica da América do Sul. Pertencente à família Marantaceae, é uma planta herbácea perene rizomatosa. É nos rizomas em que ocorre o acúmulo do amido, que atua como reserva de carboidratos, fornecendo energia para o crescimento da planta (Neves et al., 2005, Madieni et al., 2012). O tamanho dos rizomas varia entre 10 a 15 cm, e a produção de amido pode chegar a 3,6 toneladas por hectare de araruta plantado, sendo uma excelente fonte de amido (> 85%) (Leonel & Cereda, 2002; Madieni et al. 2012).

Segundo Leonel et al. (2002) a araruta apresenta composição físico-química adequada para obtenção de amido comercial, com grande capacidade de gelatinização.

Agostini et al. (2009) avaliaram a aplicação de revestimento à base de fécula de araruta associado a armazenagem com resfriamento em jaboticabas, e verificaram que as frutas revestidas com fécula de araruta tiveram redução na perda de massa, comparadas as frutas não revestidas, por causa das propriedades de barreira do revestimento utilizado. Gordillo et al. (2014) avaliaram as características físico-químicas da fécula de araruta e desenvolveram filmes biodegradáveis à base de fécula. A fécula de araruta apresentou alto teor de amido (> 99%), composto de mais de 40% de amilose, característica importante para a formação de matrizes poliméricas fortes. Também obteve sucesso na produção de uma película à base de amido de araruta utilizando glicerol como plastificante.

Apesar de apresentar características promissoras para o desenvolvimento de filmes, ainda são escassos na literatura, trabalhos utilizando a fécula de araruta, e nenhum trabalho foi encontrado incorporando algum agente antimicrobiano à matriz polimérica à base de fécula de araruta. Assim, no presente estudo, pretendeu-se avaliar a atividade antifúngica *in vitro* do óleo essencial das folhas e inflorescências de *P. aduncum* frente ao fungo *S. sclerotiorum* e desenvolver, caracterizar e avaliar a atividade antifúngica de filmes à base de fécula de araruta incorporados com óleo essencial das folhas e inflorescências de *P. aduncum* frente aos fungos *C. gloeosporioides* e *R. microsporus*.

1.9 REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, J. D. S., CÂNDIDO, A. C. D. S., TEODÓSIO, T. K. C., RODRIGUES, J. N., GARCETE, G. J., & SCALON, S. D. P. Q. 2009. Atmosfera modificada e condições de armazenamento nas características físico-químicas de jaboticabas da cultivar 'paulista'. *Ciência Rural*, 39(9).
- BASTOS, C. N., & ALBUQUERQUE, P. S. B. 2004. Efeito do óleo de Piper aduncum no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. *Fitopatologia brasileira*, 29(5), 555-557.

BENEDICT, K., CHILLER, T. M., & MODY, R. K. 2016. Invasive fungal infections acquired from contaminated food or nutritional supplements: a review of the literature. *Foodborne pathogens and disease*, 13(7), 343-349.

BOLAND, G. J., & HALL, R. 1994. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16(2), 93-108.

BOLTON, M. D., THOMMA, B. P., & NELSON, B. D. 2006. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular plant pathology*, 7(1), 1-16.

CHAUDHRY, Q., CASTLE, L., & WATKINS, R. 2010. Nanotechnologies in the Food Arena: New Opportunities, New Questions, New Concerns. *Nanotechnologies in food*.

CHENG, V. C., CHAN, J. F., NGAN, A. H., TO, K. K., LEUNG, S. Y., TSOI, H. W., YAM, W. C., TAI, J. W. M., WONG, S. S. Y., TSE, H., LI, I. W. S., LAU, S. K. P., WOO, P. C. Y., LEUNG, A. Y. H., LIE, A. K. W., LIANG, R. H. S., QUE, T. L., HO, P. L. & LI, I. W. 2009. Outbreak of intestinal infection due to *Rhizopus microsporus*. *Journal of clinical microbiology*, 47(9), 2834-2843.

DA SILVA LOPES, L. N., SILVA, A. S., DE OLIVEIRA PEREIRA, C. C., DE MENEZES, I. P. P., MALAFAIA, G., & DA PAZ-LIMA, M. L. 2015. Sensibilidade de Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a Fungicidas. *Multi-Science Journal*, 1(1), 106-114.

DAVOODI, M., KAVOOSI, G., & SHAKERI, R. 2017. Preparation and characterization of potato starch-thymol dispersion and film as potential antioxidant and antibacterial materials. *International journal of biological macromolecules*, 104, 173-179.

DE MELLO LUVIELMO, M., & VIEIRA LAMAS, S. 2012. Revestimentos comestíveis em frutas. *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, 8(1).

- DEBEAUFORT, F., QUEZADA-GALLO, J. A., & VOILLEY, A. 1998. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Reviews in Food Science*, 38(4), 299-313.
- DENARDIN, C. C., & DA SILVA, L. P. 2008. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. *Ciência Rural*, 39(3).
- DO CARMO, K. P., & DE PAIVA, J. M. F. 2015. Filmes Biodegradáveis de Amido e Composições com Outros Materiais. *Revista Virtual de Química*, 7(6), 2377-2386.
- EL OUADI, Y., MANSSOURI, M., BOUYANZER, A., MAJIDI, L., BENDAIF, H., ELMSELLEM, H., SHARIATI, M. A., MELHAOUI, A., HAMMOUTI, B. 2017. Essential oil composition and antifungal activity of *Melissa officinalis* originating from north-Est Morocco, against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *Microbial pathogenesis*, 107, 321-326.
- ELLIS, R. P., COCHRANE, M. P., DALE, M. F. B., DUFFUS, C. M., LYNN, A., MORRISON, I. M., PRENTICE, R. D. M., SWANSTON, J. S., & TILLER, S. A. 1998. Starch production and industrial use. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(3), 289-311.
- ELSHAFIE, H. S., MANCINI, E., SAKR, S., DE MARTINO, L., MATTIA, C. A., DE FEO, V., & CAMELE, I. 2015. Antifungal activity of some constituents of *Origanum vulgare* L. essential oil against postharvest disease of peach fruit. *Journal of medicinal food*, 18(8), 929-934.
- ESPAÑA, M. D., ARBOLEDA, J. W., RIBEIRO, J. A., ABDELNUR, P. V., & GUZMAN, J. D. 2017. Eucalyptus leaf byproduct inhibits the anthracnose-causing fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. *Industrial Crops and Products*, 108, 793-797.

ETHUR, L. Z., BLUME, E., MUNIZ, M., SILVA, A. D., STEFANELO, D. R., & ROCHA, E. D. 2005. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. *Fitopatologia Brasileira*, 30(2), 127-133.

FLORES-LÓPEZ, M. L., CERQUEIRA, M. A., DE RODRÍGUEZ, D. J., & VICENTE, A. A. 2016. Perspectives on utilization of edible coatings and nano-laminate coatings for extension of postharvest storage of fruits and vegetables. *Food Engineering Reviews*, 8(3), 292-305.

GAÍNZA, Y. A., FANTATTO, R. R., CHAVES, F. C. M., BIZZO, H. R., ESTEVES, S. N., & CHAGAS, A. C. D. S. 2016. *Piper aduncum* against *Haemonchus contortus* isolates: cross resistance and the research of natural bioactive compounds. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 25(4), 383-393.

GALLOCCCHIO, F., CIBIN, V., BIANCOTTO, G., ROCCATO, A., MUZZOLON, O., CARMEN, L., SIMONE, B., FABRIZI, A., PATUZZI, I., & RICCI, A. 2016. Testing nano-silver food packaging to evaluate silver migration and food spoilage bacteria on chicken meat. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33(6), 1063-1071.

GHASEMLOU, M., ALIHEIDARI, N., FAHMI, R., SHOJAEI-ALIABADI, S., KESHAVARZ, B., CRAN, M. J., & KHAKSAR, R. 2013. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. *Carbohydrate polymers*, 98(1), 1117-1126.

GOMES, R. C., PASTORE, V. A. A., MARTINS, O. A., & BIONDI, G. F. 2015. Aplicações da nanotecnologia na indústria de alimentos. Uma Revisão. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 9(1), 1-8.

GORDILLO, C. A. S., VALENCIA, G. A., ZAPATA, R. A. V., & HENAO, A. C. A. 2014. Physicochemical Characterization of Arrowroot Starch (*Maranta arundinacea*

Linn) and Glycerol/Arrowroot Starch Membranes. *International Journal of Food Engineering*, *10*(4), 727-735.

GUERRINI, A., SACCHETTI, G., ROSSI, D., PAGANETTO, G., MUZZOLI, M., ANDREOTTI, E., TOGNOLINI, M., MALDONADO, M. E., & BRUNI, R. 2009. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from eastern Ecuador. *Environmental toxicology and pharmacology*, *27*(1), 39-48.

GUTIÉRREZ, Y., MONTES, R., SCULL, R., SÁNCHEZ, A., COS, P., MONZOTE, L., & SETZER, W. N. 2016. Chemodiversity associated with cytotoxicity and antimicrobial activity of *Piper aduncum* var. *rossanum*. *Chemistry & biodiversity*, *13*(12), 1715-1719.

HYLDGAARD, M., MYGIND, T., & MEYER, R. L. 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, *3*, 12.

IRKIN, R., & ESMER, O. K. 2015. Novel food packaging systems with natural antimicrobial agents. *Journal of food science and technology*, *52*(10), 6095-6111.

JAWDAT, D., AL-FAOURY, H., ODEH, A., AL-RAYAN, R., & AL-SAFADI, B. 2016. Essential oil profiling in callus of some wild and cultivated *Daucus* genotypes. *Industrial crops and products*, *94*, 848-855.

JENNESSEN, J., SCHNÜRER, J., OLSSON, J., SAMSON, R. A., & DIJKSTERHUIS, J. 2008. Morphological characteristics of sporangiospores of the tempe fungus *Rhizopus oligosporus* differentiate it from other taxa of the *R. microsporus* group. *Mycological research*, *112*(5), 547-563.

- LEONEL, M., CEREDA, M. P., SARMENTO, S. B. S. 2002. Processamento de Araruta (*Maranta arundinacea*) para Extração e Caracterização da Fração Amilácea. *Brazilian Journal of Food Technology*, 5, 151-155.
- LOBATO, A. D. S., Santos, D. G. C., Oliveira, F. C., Gouvêa, D. D. S., Torres, G. I. O. S., LIMA JUNIOR, J. A., Neto, C. F. O., & Silva, M. H. L. 2007. Ação do óleo essencial de *Piper aduncum* L. utilizado como fungicida natural no tratamento de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(supl 2), 915-917.
- LU, X. M., ZHU, Z. Q., DI, Y. L., & ZHU, F. X. 2015. Baseline sensitivity and toxic action of flusilazole to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Crop Protection*, 78, 92-98.
- LUCHESE, C. L., GARRIDO, T., SPADA, J. C., TESSARO, I. C., & DE LA CABA, K. 2018. Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace. *International journal of biological macromolecules*, 106, 834-839.
- LUCHESE, C. L., SPADA, J. C., & TESSARO, I. C. 2017. Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. *Industrial Crops and Products*, 109, 619-626.
- LUO, S., WAN, B., FENG, S., & SHAO, Y. 2015. Biocontrol of postharvest anthracnose of mango fruit with *Debaryomyces nepalensis* and effects on storage quality and postharvest physiology. *Journal of food science*, 80(11).
- MA, B., BAN, X., HUANG, B., HE, J., TIAN, J., ZENG, H., CHEN, Y. & WANG, Y. 2015. Interference and mechanism of dill seed essential oil and contribution of carvone and limonene in preventing *Sclerotinia* rot of rapeseed. *PloS one*, 10(7), e0131733.
- MADINENI, M. N., FAIZA, S., SUREKHA, R. S., RAVI, R., & GUHA, M. 2012. Morphological, structural, and functional properties of maranta (*Maranta arundinacea* L) starch. *Food Science and Biotechnology*, 21(3), 747-752.

- MALI, S., GROSSMANN, M. V. E., & YAMASHITA, F. 2010. Starch films: production, properties and potential of utilization. *Semina: Ciências Agrárias*, 31(1), 137-156.
- MARI, M., BAUTISTA-BAÑOS, S., & SIVAKUMAR, D. 2016. Decay control in the postharvest system: Role of microbial and plant volatile organic compounds. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 70-81.
- MISNI, N., OTHMAN, H., & SULAIMAN, S. 2011. The effect of *Piper aduncum* Linn.(Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. *Trop Biomed*, 28(2), 249-258.
- MONZOTE, L., SCULL, R., COS, P., & SETZER, W. N. 2017. Essential oil from *Piper aduncum*: Chemical analysis, antimicrobial assessment, and literature review. *Medicines*, 4(3), 49.
- MORSY, M. K., KHALAF, H. H., SHAROBA, A. M., EL- TANAH, H. H., & CUTTER, C. N. 2014. Incorporation of essential oils and nanoparticles in pullulan films to control foodborne pathogens on meat and poultry products. *Journal of food science*, 79(4).
- NA, R., LUO, Y., BO, H., JIA, R., MENG, Q., ZHOU, H., HAO, J. & ZHAO, J. 2017. Responses of sunflower induced by *Sclerotinia sclerotiorum* infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology*.
- NEVES, M. C. P., COELHO, I. D. S., & DE ALMEIDA, D. L. 2005. Araruta: Resgate de um cultivo tradicional. Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico.
- OLIVEIRA, G. L., MOREIRA, D. D. L., MENDES, A. D. R., GUIMARÃES, E. F., FIGUEIREDO, L. S., KAPLAN, M. A. C., & MARTINS, E. R. 2013. Growth study and essential oil analysis of *Piper aduncum* from two sites of Cerrado biome of Minas Gerais State, Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(5), 743-753.

OLIVEIRA, G. L., VIEIRA, T. M., NUNES, V. F., DE OLIVERIA RUAS, M., DUARTE, E. R., DE LIMA MOREIRA, D., KAPLAN, M. A. C. & MARTINS, E. R. 2014. Chemical composition and efficacy in the egg-hatching inhibition of essential oil of *Piper aduncum* against *Haemonchus contortus* from sheep. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(3), 288-292.

PALOU, L., ALI, A., FALLIK, E., & ROMANAZZI, G. 2016. GRAS, plant-and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 41-52.

PARISE-FILHO, R., PASTRELLO, M., PEREIRA CAMERLINGO, C. E., SILVA, G. J., AGOSTINHO, L. A., DE SOUZA, T., MAGRI, F. M. M., RIBEIRO, R. R., BRANDT, C. A. & POLLI, M. C. 2011. The anti-inflammatory activity of dillapiole and some semisynthetic analogues. *Pharmaceutical biology*, 49(11), 1173-1179.

PERFECT, S. E., HUGHES, H. B., O'CONNELL, R. J., & GREEN, J. R. 1999. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. *Fungal genetics and Biology*, 27(2-3), 186-198.

PERIGO, C. V., TORRES, R. B., BERNACCI, L. C., GUIMARÃES, E. F., HABER, L. L., FACANALI, R., VIEIRA, M. A. R., QUECINI V. & MARQUES, M. O. M. 2016. The chemical composition and antibacterial activity of eleven *Piper* species from distinct rainforest areas in Southeastern Brazil. *Industrial crops and products*, 94, 528-539.

PINO, O., SÁNCHEZ, Y., RODRÍGUEZ, H., CORREA, T. M., DEMEDIO, J., & SANABRIA, J. L. 2011. Caracterización química y actividad acaricida del aceite esencial de *Piper aduncum* subsp. *ossanum* frente a *Varroa destructor*. *Revista de Protección Vegetal*, 26(1), 52-61.

- POTZERNHEIM, M. C., BIZZO, H. R., SILVA, J. P., & VIEIRA, R. F. 2012. Chemical characterization of essential oil constituents of four populations of *Piper aduncum* L. from Distrito Federal, Brazil. *Biochemical systematics and ecology*, *42*, 25-31.
- RAUT, J. S., & KARUPPAYIL, S. M. 2014. Bioprospecting of plant essential oils for medicinal uses. In *Environment and Sustainable Development* (pp. 59-76). Springer, New Delhi.
- RABIE, C. J., LÜBBEN, A., SCHIPPER, M. A. A., VAN HEERDEN, F. R., & FINCHAM, J. E. 1985. Toxigenicity of *Rhizopus* species. *International Journal of Food Microbiology*, *1*(5), 263-270.
- SILVESTRE, C., DURACCIO, D., & CIMMINO, S. 2011. Food packaging based on polymer nanomaterials. *Progress in polymer science*, *36*(12), 1766-1782.
- SOLÓRZANO-SANTOS, F., & MIRANDA-NOVALES, M. G. 2012. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, *23*(2), 136-141.
- SUN, Y., WANG, Y., XIE, Z., GUO, E., HAN, L., ZHANG, X., & FENG, J. 2017. Activity and biochemical characteristics of plant extract cuminic acid against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Crop Protection*, *101*, 76-83.
- TEGANG, A. S., BEUMO, T. M. N., DONGMO, P. M. J., & NGOUNE, L. T. 2017. Essential oil of *Xylopiya aethiopica* from Cameroon: Chemical composition, antiradical and in vitro antifungal activity against some mycotoxigenic fungi. *Journal of King Saud University-Science*.
- TERAO, D., BATISTA, D. D. C., & BARBOSA, M. A. G. 2013. Doenças em pós-colheita de manga. (Embrapa Semiárido - Circular Técnica, 105). Petrolina: Embrapa Semiárido.

TOLBA, H., MOGHRANI, H., BENELMOUFFOK, A., KELLOU, D., & MAACHI, R. 2015. Essential oil of Algerian *Eucalyptus citriodora*: Chemical composition, antifungal activity. *Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology*, 25(4), e128-e133.

WANG, H., CHEN, Z., LIU, G., BAI, C., QIU, H., JIA, Y., & LUO, L. 2017. Alterations of growth, antioxidant system and gene expression in *Stylosanthes guianensis* during *Colletotrichum gloeosporioides* infection. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 256-266.

XIE, Y., WANG, Z., HUANG, Q., & ZHANG, D. 2017. Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. *Industrial Crops and Products*, 108, 278-285.

ZHANG, J., HUANG, R. Z., CAO, H. J., CHENG, A. W., JIANG, C. S., LIAO, Z. X., LIU, C., SUN, J. Y. 2018. Chemical composition, in vitro anti-tumor activities and related mechanisms of the essential oil from the roots of *Potentilla discolor*. *Industrial Crops and Products*, 113, 19-27.

ZNINI, M., CRISTOFARI, G., MAJIDI, L., PAOLINI, J., DESJOBERT, J. M., & COSTA, J. 2013. Essential oil composition and antifungal activity of *Pulicaria mauritanica* Coss., against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *LWT-Food Science and Technology*, 54(2), 564-569.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Extrair e caracterizar os óleos essenciais das folhas e inflorescências de *Piper aduncum* var. *aduncum* e avaliar sua atividade antifúngica frente ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. Desenvolver filmes biodegradáveis à base de fécula de araruta, incorporar óleos essenciais das folhas e inflorescências de *P. aduncum*. Caracterizar os filmes ativos produzidos e avaliar a atividade antifúngica dos mesmos frente a *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Extrair e caracterizar por CG-EM e CG-DIC os óleos essenciais das folhas e inflorescências de *P. aduncum*;
- Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais extraídos das folhas e inflorescências de *P. aduncum* frente ao fungo patogênico *S. sclerotiorum*;
- Desenvolver filmes biodegradáveis e ativos à base de fécula de araruta (*Maranta arundinacea* L.) incorporados com óleo essencial das folhas e inflorescências de *P. aduncum*;
- Caracterizar os filmes biodegradáveis e ativos produzidos quanto às suas propriedades físicas (espessura, umidade e solubilidade em água), mecânica (permeabilidade ao vapor de água), propriedades ópticas (cor e taxa de permeação à luz UV-Vis) e biodegradabilidade;
- Avaliar a atividade antifúngica dos filmes biodegradáveis frente aos fungos patogênicos *C. gloeosporioides* e *R. microsporus*.

CAPÍTULO I - Óleos essenciais das inflorescências e folhas de *Piper aduncum* (Piperaceae): composição química e atividade antifúngica contra *Sclerotinia sclerotiorum*

(Normas de acordo com a Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências – Artigo submetido)

RESUMO

Embora os óleos essenciais de *Piper aduncum* (Piperaceae) tenham atividades biológicas diferentes, pouco se sabe sobre sua aplicação em áreas agrícolas. O mofo branco é uma doença de plantas causada pelo fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, que precisa ser controlado por medidas alternativas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos óleos essenciais das folhas (PL-EO) e inflorescências (PI-EO) de *P. aduncum* sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Os óleos essenciais de *P. aduncum* foram obtidos por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. A composição química foi analisada por CG-EM e CG-DIC. A piperitona (23,4%), miristicina (12,4%), terpinen-4-ol (12,3%), β -cariofileno (7,2%), α -humuleno (6,9%), germacreno-D (6,9%) e o dilapiol (6,3%) foram os constituintes majoritários nos óleos de *P. aduncum*. A atividade antifúngica *in vitro* demonstrou que volumes acima de 30 μ L de PI-EO inibiram em 100% o crescimento micelial, enquanto PL-EO com 50 μ L inibiu 98,74%. Este é o primeiro relato da composição química de PI-EO e os resultados sugerem que os óleos essenciais avaliados têm elevado potencial no controle do fungo patogênico *S. sclerotiorum*.

Palavras-chave: *Piper aduncum*, óleo essencial, atividade antifúngica, *Sclerotinia sclerotiorum*.

CHAPTER I - Essential oils from *Piper aduncum* inflorescences and leaves (Piperaceae): chemical composition and antifungal activity against *Sclerotinia sclerotiorum*

(Standards according to the journal Annals of the Brazilian Academy of Sciences - Submitted article)

ABSTRACT

Even though essential oils from *Piper aduncum* (Piperaceae) have different biological activities, little is known about their application to agricultural areas. White mold is a plant disease caused by the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum*, which needs to be controlled by alternative measures. This study aimed evaluate the effect of essential oils from *P. aduncum* leaves (PL-EO) and inflorescences (PI-EO) on the mycelial growth of *S. sclerotiorum*. Essential oils from *P. aduncum* were obtained by hydrodistillation by a Clevenger-type apparatus while their chemical composition was analyzed by GC-MS and GC-FID. Piperitone (23.4 %), myristicin (12.4 %), terpinen-4-ol (12.3 %), β -caryophyllene (7.2 %), α -humulene (6.9 %), germacrene-D (6.9 %) and dillapiol (6.3 %) were the main constituents found in oils from *P. aduncum*. The *in vitro* antifungal activity showed that PI-EO volume above 30 μ L inhibited mycelial growth in 100 %, whereas PL-EO at 50 μ L inhibited it in 98.74 %. This is the first report of the chemical composition of PI-EO and results suggest that the essential oils under evaluation have high potential to control the phytopathogenic fungus *S. sclerotiorum*.

Key words: *Piper aduncum*, essential oil, antifungal activity, *Sclerotinia sclerotiorum*.

1.1 INTRODUÇÃO

O controle de doenças em plantas é frequentemente realizado com fungicidas sintéticos. Entretanto, o uso de fungicidas é proibido nos processos orgânicos de produção, conforme as instituições certificadoras, devendo ser substituídos por produtos alternativos (Fonseca et al. 2015). O uso indiscriminado de defensivos agrícolas no controle de pragas e doenças pode causar sérios riscos à saúde humana e contaminação do meio ambiente, além dos possíveis problemas com agentes patogênicos resistentes (Fonseca et al. 2015).

Sclerotinia sclerotiorum é um fungo fitopatogênico habitante de solos e que causa danos em muitas plantas de interesse econômico. Este fungo é conhecido como mofo branco pelos sintomas causados por ele como a podridão úmida de raízes que são cobertas por um micélio de cor branca na superfície do solo e/ou tecido hospedeiro, produzindo eventualmente estruturas de resistência denominadas escleródios (Dildey et al. 2014).

Pesquisas que visam ao controle alternativo de *S. sclerotiorum* através do emprego de óleos essenciais extraídos de diferentes espécies de plantas têm aumentado nos últimos anos, revelando um potencial promissor de aplicação (Soylu et al. 2007; Chutia et al. 2009; Pansera et al. 2013). Fonseca et al. (2015) reforça a importância de estudos envolvendo óleos essenciais, pois muitos apresentam potenciais fungicida e fungistático e menciona ainda que futuramente estes recursos naturais poderão ser utilizados pelo produtor rural.

Piper aduncum, popularmente conhecido como falso-jaborandi, jaborandi do mato e pimenta-de-macaco, é uma espécie amplamente distribuída em regiões tropicais. Pertencente à família Piperaceae, algumas espécies do gênero *Piper* como *P. aduncum*,

P. brachystachyum, *P. falconeri*, *P. guineense* e *P. hispidum* são ricas em óleos essenciais que exibem importantes atividades biológicas (Oliveira et al. 2013a).

Dando continuidade a esta linha de pesquisa que visa conhecer a composição química e as atividades biológicas de óleos essenciais (Oliveira et al. 2016; Lemes et al. 2017; Oliveira et al. 2017), o presente trabalho aborda a composição química e a atividade antifúngica *in vitro* contra *S. sclerotiorum* do óleo essencial das folhas e inflorescências de *P. aduncum*.

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

1.2.1 MATERIAL VEGETAL

As inflorescências e folhas de *Piper aduncum* foram coletadas no mês de agosto de 2016 às 8h, no município de Rio Verde, Goiás, no Campus da Universidade de Rio Verde (UniRV) (17°47'22.776"S e 50°57'56,894"W). A planta foi identificada pela botânica Luzia Francisca de Souza e a amostra foi depositada no Herbário Jataiense Professor Germano Guarim Neto com a excicata número HJ 7872.

1.2.2 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Amostras de folhas e inflorescências de *P. aduncum* foram submetidas a hidrodestilação por 2 horas em aparelho tipo Clevenger (Carneiro et al. 2017). Para fins de análise, 300 g de material vegetal foi dividido em três amostras de 100 g cada, e foram adicionados 500 mL de água destilada em cada amostra. Após a coleta manual das amostras de óleo essencial (EO), os vestígios de água restante nos óleos foram removidos com sulfato de sódio anidro, seguido de filtração. O procedimento de extração foi feito em triplicata. Os óleos isolados foram armazenados sob refrigeração até serem analisados e testados. Os rendimentos (p / p) foram calculados a partir do peso das folhas frescas e expressos como a média da análise triplicata.

1.2.3 IDENTIFICAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

As análises de cromatografia gasosa (CG) foram realizadas em cromatógrafo a gás da Shimadzu GC2010 Plus equipado com autoamplificador AOC-20s e equipado com DIC e processador de tratamento de dados. Foi utilizada uma coluna de capilar de sílica fundida Rtx-5 (Restek Co., Bellefonte, PA, EUA) (30-m x 0,25 mm i.d., 0,25 μ m de espessura do filme). As condições de operação foram as seguintes: temperatura da coluna programada em uma rampa de 60 a 240 °C a 3 °C/min e depois mantida a 240 °C durante 5 min; gás de arraste utilizado foi o He (99,999%), a 1,0 mL/min; modo de injeção; volume de injeção foi de 0,1 μ L (proporção dividida de 1:10); e temperaturas do injetor e do detector entre 240 e 280 °C, respectivamente. As concentrações relativas dos componentes foram obtidas pela normalização da área do pico (%). As áreas relativas foram determinadas pela média das análises em triplicatas realizadas por CG-DIC.

As análises por CG-EM foram realizadas em equipamento da Shimadzu QP2010 Plus (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) equipado com autoamostrador AOC-20i. Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida RTX-5MS (Restek Co., Bellefonte, PA, EUA) (espessura de película de 30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 μ m). O modo de ionização foi por impacto de elétrons a 70 eV, utilizou-se Hélio (99,999%) como gás de arraste a um fluxo constante de 1,0 mL/min. O volume de injeção foi de 0,1 μ L (proporção dividida de 1:10). As temperaturas do injetor e a temperatura da fonte de íons foram ajustadas entre 240 e 280 °C, respectivamente. O programa de temperatura do forno foi o mesmo que o programa usado para CG. Os espectros de massas foram obtidos com um intervalo de varredura de 0,5 s, na faixa de massa de 40 a 600 Da.

A identificação dos componentes voláteis das folhas e inflorescências de *P. aduncum* (Tabela I) baseou-se em seus índices de retenção em uma coluna capilar Rtx-5MS nas mesmas condições operacionais que a utilizada no caso do CG em relação a uma série homóloga de n-alcenos (C8-C20); os espectros das estruturas foram comparados com os das bibliotecas Wiley 7, NIST 08 e FFNSC 1.2, e seus padrões de fragmentação foram comparados com os dados da literatura (Adams, 2007).

1.2.4. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *P. aduncum* CONTRA O FITOPATÓGENO *S. sclerotiorum*

O isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* Ss12 (BRM 29673) foi cedido pela Embrapa Arroz e Feijão, com sede em Santo Antônio de Goiás - GO. Os ensaios foram realizados no laboratório de microbiologia agrícola do IF Goiano - Campus Rio Verde e a atividade antifúngica dos óleos essenciais das folhas e inflorescências de *P. aduncum* foi avaliada seguindo a metodologia de difusão em disco descrita por Xavier et al. (2016), utilizando volumes de óleo essencial de 10 – 50 µL para PI-EO e PL-EO. Como controle negativo foram utilizadas placas sem adição de óleo essencial (testemunha), e como controle positivo foi utilizado o fungicida *frownicide* 500 SC, na concentração de 10 µg/mL do ingrediente ativo. Placas de Petri foram previamente esterilizadas e preparadas com meio de cultura BDA. Após a solidificação do meio, o óleo essencial nos volumes citados foi adicionado e espalhado com auxílio de uma alça de Drigalski na superfície de toda a placa. Posteriormente, foram depositados discos de 5 mm de diâmetro de meio BDA contendo micélio de 10 dias de idade no centro da placa. As placas foram incubadas à temperatura de 28 ± 2 °C, e as medidas de crescimento micelial foram tomadas diariamente até o completo crescimento do fungo nas placas controle. O tratamento foi realizado em quadruplicada e o delineamento experimental

utilizado foi inteiramente ao acaso, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram avaliadas por meio do teste de Scott-Knott a 5 % de significância pelo software ASSISTAT.

O percentual de inibição de crescimento micelial (PIC) foi calculado usando a seguinte fórmula:

$$PIC (\%) = \frac{(\text{crescimento do controle} - \text{crescimento do tratamento})}{\text{crescimento do controle}} \times 100$$

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da análise por GC-EM e GC-DIC foram identificados quarenta e cinco compostos para o óleo essencial das inflorescências de *P. aduncum* e quarenta e um compostos para o óleo essencial das folhas, correspondendo a 99.4 % e 99.1 % do total de compostos, respectivamente (Tabela I).

Tabela I – Composição química dos óleos essenciais das inflorescências (PI-EO) e folhas (PL-EO) de *P. aduncum* coletadas em Rio Verde - Goiás.

<i>RT</i> (<i>min</i>)	<i>Compostos</i>	<i>RI_{exp}</i>	<i>RI_{lit}</i>	<i>RA %</i>		<i>Identificação</i>
				<i>PI-EO</i>	<i>PL-EO</i>	
11.54	Mirceno	993	991		0.2	RL MS
12.17	α-Felandreno	1007	1005		0.3	RL MS
12.73	α-Terpineno	1019	1018	0.1	0.3	RL MS
13.12	p-Cimeno	1028	1026	0.3	1.0	RL MS
13.32	β-Felandreno	1032	1031	0.7	1.2	RL MS
13.74	<i>cis</i> -β-Ocimeno	1041	1040	0.1	1.9	RL MS
14.27	<i>trans</i> -β-Ocimeno	1053	1050	0.5	4.1	RL MS
14.75	γ-Terpineno	1063	1059	1.5	1.9	RL MS
15.17	<i>trans</i> -Hidrato de sabineno	1073	1068	2.0	0.4	RL MS
16.16	α-Terpinoleno	1094	1084	1.0	0.9	RL MS
16.67	<i>cis</i> -Hidrato de sabineno	1105	1097	2.8	0.2	RL MS
17.79	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1127	1129	3.2	0.9	RL MS
18.12	Alocimeno	1134	1140		0.2	RL MS
18.67	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1145	1142	2.5	0.9	RL MS
19.98	α-Borneol	1171	1165	0.4	0.1	RL MS
20.57	Terpinen-4-ol	1183	1179	12.3	6.3	RL MS

21.14	α -Terpineol	1194	1189	1.1	0.3	RL MS
21.95	<i>p</i> -Ment-1-en-3-ol	1211	1203	1.0	0.8	RL MS
24.31	Piperitona	1262	1254	23.4	11.8	RL MS
25.67	Safrol	1292	1285	0.9	1.8	RL MS
27.74	Bicicloelemeno	1339	1345	0.6	2.5	RL MS
28.27	α -Cubebeno	1351	1351	0.3		RL MS
29.08	Ciclosativeno	1370	1367	0.8		RL MS
29.25	α -Ilangeno	1373	1373	0.1		RL MS
29.44	α -Copaeno	1378	1376	3.8	1.7	RL MS
30.05	β -Cubebeno	1392	1389	1.8		RL MS
30.13	β -Elemeno	1394	1391		1.4	RL MS
30.90	α -Gurjuneno	1412	1409	0.2		RL MS
31.37	β-Cariofileno	1423	1418	7.2	5.4	RL MS
31.71	Desconhecido	1432		0.5	0.8	RL MS
31.87	γ -Elemeno	1436	1433	0.4		RL MS
32.13	Aromadendreno	1442	1439	0.5		RL MS
32.77	α-Humuleno	1458	1456	6.9	3.9	RL MS
32.97	β -Santaleno	1463	1461	0.8		RL MS
33.70	Desconhecido	1481		0.3		RL MS
33.96	Germacreno-D	1487	1480	3.3	6.9	RL MS
34.11	β -Selineno	1491	1485	1.4	0.8	RL MS
34.57	Biciclogermacreno	1502	1494	0.3	3.1	RL MS
34.89	(<i>E,E</i>)- α -Farneseno	1510	1508	1.0	1.0	RL MS
35.20	γ -Cadineno	1519	1512	0.6		RL MS
35.37	Hidrato de sesquisabieno	1523	1530		2.4	RL MS
35.79	Miristicina	1534	1520	6.5	12.4	RL MS
35.92	Cadina-1.4-dieno	1538	1531	0.5		RL MS
36.90	Elemicina	1563	1556	0.4	1.8	RL MS
37.64	Germacreno D-4-ol	1582	1574		1.1	RL MS
37.79	Espatulenol	1586	1576		1.5	RL MS
37.99	Óxido de cariofileno	1591	1581	1.0	2.1	RL MS
38.37	Viridiflorol	1601	1590	1.0	4.4	RL MS
38.98	1.2-Epoxido-humuleno	1618	1607	1.4	2.1	RL MS
39.62	Dilapiol	1635	1644	2.2	6.3	RL MS
40.32	τ -Cadinol	1644	1644	0.9	0.7	RL MS
40.63	α -Cadinol	1663	1653	0.9	1.3	RL MS
Hidrocarbonetos Monoterpênicos				9.0	12.6	
Monoterpenos Oxigenados				43.9	21.1	
Hidrocarbonetos Sesquiterpênicos				30.5	29.1	
Sesquiterpenos Oxigenados				5.2	13.2	
Fenilpropanoides				10.0	22.3	
Não identificados				0.8	0.8	
Total				99.4	99.1	

RT: Tempo de retenção; **RI_{exp}:** Índice de retenção determinado em relação aos *n*-alcanos (C₈–C₂₀) na coluna Rtx-5MS; **RI_{lit}:** Índice de retenção da literatura (Adams, 2007); **RA %:** área relativa (área do pico relativa a área total do pico no cromatograma CG-FID), média de três repetições; **RL:** comparação do RL_{exp} com a literatura (Adams, 2007); **MS:** comparação dos espectros de massa com os das bibliotecas Wiley 7, NIST 08, e FFNSC 12 bem como com as da literatura (Adams, 2007).

O rendimento dos óleos essenciais das inflorescências (PI-EO) e folhas (PL-EO) de *P. aduncum* após as extrações foi de 0,42 % e 0,34 %, respectivamente. De maneira geral, o rendimento obtido foi bastante inferior ao teor anteriormente descrito na literatura para óleos essenciais de *P. aduncum* que é de 2,5 a 4,0 % (Silva et al. 2013).

O óleo essencial das inflorescências de *P. aduncum* (PI-EO) foi composto predominantemente por monoterpenos oxigenados (43.9 %), seguido de hidrocarbonetos sesquiterpênicos (30.5 %) e fenilpropanoides (10.0 %). Já o óleo essencial das folhas (PL-EO) exibiu composição majoritária de hidrocarbonetos sesquiterpênicos (29.1 %), seguido de fenilpropanoides (22.3 %) e monoterpenos oxigenados (21.1 %) (Tabela I). Os constituintes majoritários identificados no óleo essencial das inflorescências foram: piperitona (23.4 %, **1**), terpinen-4-ol (12.3 %, **2**), β-cariofileno (7.2 %, **3**), α-humuleno (6.9 %, **4**) e miristicina (6.5 %, **5**) (Figura 1). No óleo essencial das folhas de *P. aduncum* foram identificados os seguintes constituintes majoritários: miristicina (12.4 %), piperitona (11.8 %), germacreno-D (6.9 %, **6**), terpinen-4-ol (6.3 %) e dilapiol (6.3 %, **7**) (Figura 1). A composição química do óleo essencial das inflorescências de *P. aduncum* foi descrita pela primeira vez por este estudo.

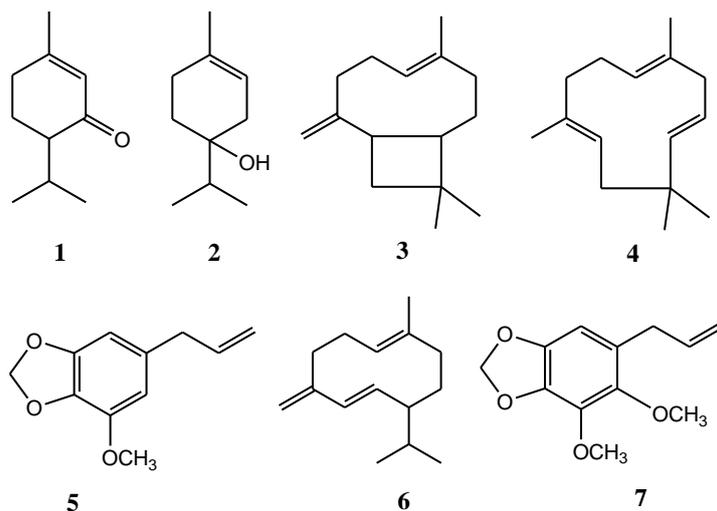


Figura 1 - Estruturas químicas dos constituintes majoritários identificados nos óleos essenciais das inflorescências e folhas de *P. aduncum*: piperitona (1), terpinen-4-ol (2), β -cariofileno (3), α -humuleno (4), miristicina (5), germacreno-D (6) e dilapiol (7).

Especificamente, a composição química do óleo essencial das folhas (PL-EO) mostrou-se semelhante a outras composições químicas já reportadas na literatura para outras populações de *P. aduncum* ocorrentes em outras localidades do Brasil (Oliveira et al. 2006; Oliveira et al. 2013b).

Os principais constituintes foram previamente identificados no óleo essencial de quatro populações de folhas de *P. aduncum* encontradas no Distrito Federal, no Brasil (Potzernheim et al., 2012). Observou-se também similaridade quando se compara a composição química dos óleos essenciais de *P. aduncum* com os óleos essenciais de outras espécies da família Piperaceae como *P. manausense*, *P. demeraranum*, *P. malacophyllum* e *P. tuberculatum* (Andrade et al. 2005; Andrade et al. 2006; Santos et al. 2012; Sales et al. 2017).

A comparação entre as composições químicas de PL-EO e o óleo essencial de folhas de *P. aduncum* encontradas em Bocaiúva, uma cidade localizada no estado de

Minas Gerais, Brasil (Oliveira et al. 2013a) mostrou que eram muito diferentes. Isto pode ser evidência da existência de um novo quimiotipo da espécie *P. aduncum* no sudeste do estado de Goiás, no Brasil. Além disso, um estudo recentemente publicado descreve nove diferentes quimiotipos das espécies *P. aduncum* e um novo que foi encontrado em Cuba (Monzote et al., 2017). No óleo essencial das partes aéreas de *P. aduncum* em Cuba, foram identificados os seguintes constituintes principais: piperitona (23,7%), cânfora (17,1%) e viridiflorol (14,5%) (Monzote et al., 2017). Apenas a piperitona foi identificada como constituinte principal de PI-EO e PL-EO, com 23,4% e 11,8%, respectivamente (Tabela I).

A atividade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais das inflorescências e das folhas de *P. aduncum* foi avaliada contra o fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum*. Os valores do percentual de inibição do crescimento micelial (PIC) dos óleos essenciais das inflorescências e folhas de *P. aduncum* são exibidos nos gráficos 1 e 2, respectivamente.

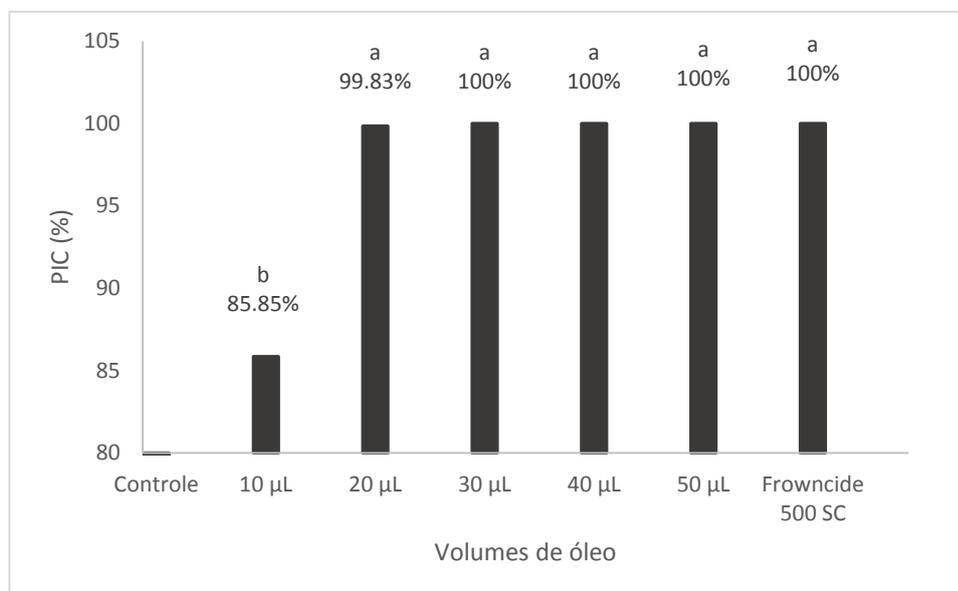


Gráfico 1 – Percentual de inibição micelial do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes volumes de óleo essencial das inflorescências de *P.*

aduncum. As médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

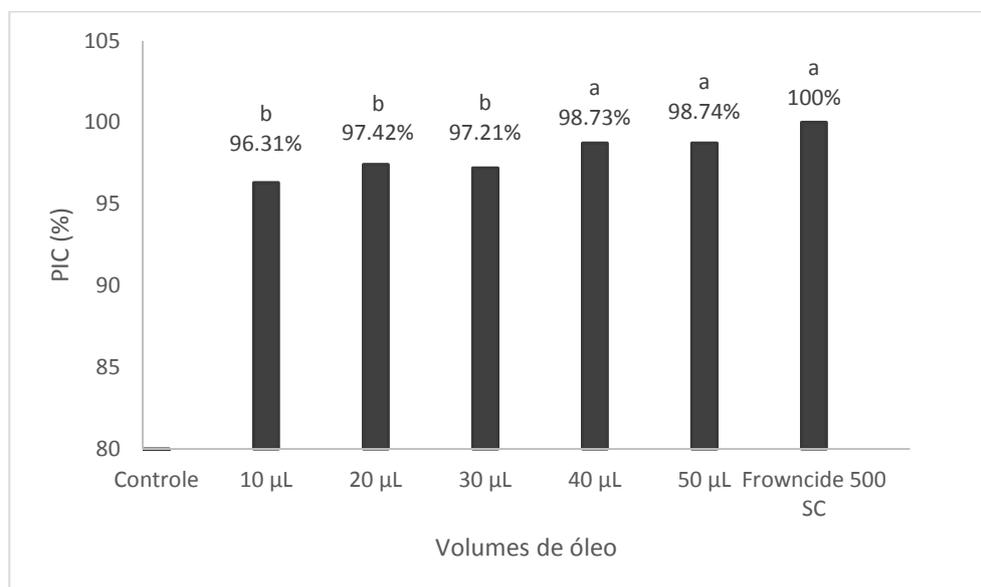


Gráfico 2 – Percentual de inibição micelial do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes volumes de óleo essencial das folhas de *P. aduncum*. As médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Os resultados da análise de inibição do crescimento micelial demonstraram o alto potencial antifúngico dos óleos essenciais extraídos das inflorescências e folhas de *P. aduncum*. O estudo das médias pelo teste de Scott-Knott revelou que as doses a partir de 20 µL do óleo essencial das inflorescências não diferiram estatisticamente do fungicida comercial Frownicide 500 SC, utilizado como controle positivo (Gráfico 1). Quanto ao óleo essencial das folhas de *P. aduncum*, as doses acima de 10 µL exibiram resultados semelhantes apresentando valores de inibição acima de 95 % (Gráfico 2). Em adição, a atividade antifúngica do óleo essencial das inflorescências de *P. aduncum* é digna de nota, tendo em vista que a partir 30 µL de óleo o potencial de inibição do crescimento micelial do fungo *S. sclerotiorum* foi de 100 %, se igualando ao fungicida comercial Frownicide 500 SC.

É descrito na literatura que o extrato aquoso dos frutos de *P. aduncum* inibiu em 42.86 % o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* e que o óleo essencial desta Piperaceae por apresentar em sua composição química o constituinte dilapiol faz com que este óleo exiba ação fungicida (Garcia et al. 2012). Em adição, os constituintes químicos majoritários piperitona, terpinen-4-ol, β -cariophileno, α -humuleno, germacreno-D e miristicina identificados nos óleos essenciais de *P. aduncum* ocorrente no estado de Goiás, juntamente com o dilapiol podem justificar a atividade anti-*Sclerotinia sclerotiorum* promissora observada no presente trabalho, tendo em vista que estes compostos já possuem suas atividades antifúngicas bem descritas na literatura (Costa et al. 2000; Mondello et al. 2006; Francescato et al. 2007; Maxia et al. 2012; Benmansour et al. 2016).

Ainda neste segmento, Silva e Bastos (2007) descreveram a significativa atividade inibitória de óleos essenciais de folhas de espécies de *Piper* sobre o crescimento micelial de outros fungos como *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. O óleo essencial das folhas secas de *P. aduncum* também exibiu atividade promissora quando testado frente ao fungo *Colletotricum musae*, e em concentrações acima de 100 $\mu\text{g/mL}$, o óleo inibiu em 100 % o crescimento micelial e a germinação dos conídios (Bastos e Albuquerque 2004). Em suma, os óleos essenciais das inflorescências e folhas de *P. aduncum* apresentaram-se mais ativo que o óleo essencial de *Cardiopetalum calophyllum*, outra espécie ocorrente no Cerrado goiano, em que 300 μL de óleo essencial inibiu em 87.63 % o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* (Xavier et al. 2016). Este é o primeiro relato da avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais das inflorescências e folhas de *P. aduncum* contra *S. sclerotiorum*.

Em suma, os resultados deste estudo mostram que os óleos essenciais de inflorescências e folhas de *P. aduncum* possuem forte atividade antimicrobiana *contra* *S. sclerotiorum*, um patógeno fúngico que causa danos a muitas plantas de interesse econômico. Estudos anteriores da composição química e constituintes químicos principais identificados em óleos essenciais de *P. aduncum* também corroboram o potencial observado nesta investigação *in vitro*. Portanto, os resultados deste estudo mostram que há uma boa perspectiva de usar esses óleos essenciais experimentalmente para controlar os fitopatógenos em condições de estufa e de campo.

1.4 REFERÊNCIAS

- ADAMS RP. 2007. In Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy, 4th ed., Allured Publishing Corporation: Carol Stream, 804 p.
- ALBUQUERQUE MRJR, SILVEIRA ER, UCHOA DEA, LEMOS TLG, SOUZA EB, SANTIAGO GMP AND PESSOA ODL. 2004. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) Baker (Asteraceae). J Agric Food Chem 52: 6708-6711.
- ANDRADE EHA, RIBEIRO AF, GUIMARÃES EF AND MAIA JGS. 2005. Essential oil composition of *Piper manausense* Yuncker. J. Essent Oil Bearing Plants 8: 295-299.
- ANDRADE EHA, RIBEIRO AF, GUIMARÃES EF AND MAIA JGS. 2006. Essential oil composition of *Piper demeraranum* (Miq.) C. DC. J. Essent Oil Bearing Plants 9: 47-52.
- BASTOS CN AND ALBUQUERQUE PSB. 2004. The effect of essential oil of *Piper aduncum* in controlling *Colletotrichum musae* on post harvest bananas. Fitopatol bras 29: 555-557.

- BENMANSOUR N, BENMANSOUR A, HANBALI FEI, GONZÁLES-MAS MC, BLÁZQUEZ MA, HAKMAOUI AEI AND AKSSIRA M. 2016. Antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia judaica* L. from Algeria against multi-drug resistant bacteria from clinical origin. *Flavour Fragr J* 31: 137-142.
- BIN AHMAD F AND BIN JANTAN I. 2003. Chemical constituents of the essential oils of *Goniothalamus uvarioides* King. *Flavour Fragr J* 18: 128-130.
- BOULANGER R. AND CROUZET J. 2000. Free and bound flavour components of Amazonian fruits: 3-glycosidically bound components of cupuacu. *Food Chem* 70: 463-470.
- CARNEIRO NS, ALVES JM, ALVES CCF, ESPERANDIM VR AND MIRANDA MLD. 2017. Óleo essencial das flores de *Eugenia klotzschiana* (Myrtaceae): composição química e atividades tripanocida e citotóxica *in vitro*. *Rev Virtual Quim* 9: 1381-1392.
- COSTA TR, FERNANDES OFL, SANTOS SC, OLIVEIRA CMA, LIÃO LM, FERRI PH, PAULA JR, FERREIRA HD, SALES BHN AND SILVA MRR. 2000. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. *J Ethnopharmacol* 72: 111-117.
- CHUTIA M, BHUYAN PD, PATHAK MG, SARMA TC AND BORUAH P. 2009. Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. *Food sci technol* 42: 777-780.
- DILDEY ODF, BARBIAN JM, GONÇALVES EDV, BROETTO L, ETHUR LZ, KUHN OJ AND BONETT LP. 2014. Inibição do crescimento *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum*, causador de mofo-branco, por isolados de *Trichoderma* spp. *R Bras Bioci* 12: 132-136.

FRANCESCATO LN, DEUSCHLE RAN, MALLMANN CA, ALVES SH AND HEINZMANN BM. 2007. Atividade antimicrobiana de *Senecio heterotrichius* DC. (Asteraceae). Rev Bras Cienc Farm 43: 239-245.

FONSECA MCM, LEHNER MS, GONÇALVES MG, PAULA JÚNIOR TJ, SILVA AF, BONFIM FPG AND PRADO AL. 2015. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. Rev Bras Pl Med 17: 45-50.

GARCIA RA, JULIATTI FC, BARBOSA KAG AND CASSEMIRO TA. 2012. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. Biosci J 28: 48-57.

HAMM S, BLETON J, CONNAN J AND TCHAPLA A. 2005. A chemical investigation by headspace SPME and GC-MS of volatile and semi-volatile terpenes in various olibanum samples. Phytochem 66: 1499-1514.

HOGNADOTTIR A AND ROUSEFF RL. 2003. Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography–olfactometry and gas chromatography–mass spectrometry. J Chromatogr A 998: 201-211.

KARIOTI A, SKAL TSA H., DEMETZOS C, PERDETZOGLOU D, ECONOMAKIS CD AND SALEM AB. 2003. Effect of nitrogen concentration of the nutrient solution on the volatile constituents of leaves of *Salvia fruticosa* Mill. in solution culture. J Agric Food Chem 51: 6505-6508.

LEMES RS, COSTA GCS, SILVA DCS, BECCENERI AB, BICALHO KU, MIRANDA MLD, DINIZ VSS AND CAZAL CM. 2017. Óleos essenciais dos frutos e folhas de *Kielmeyera coriacea*: atividade antitumoral e estudo químico. Rev Virtual Quim 9: 1245-1257.

MAXIA A, FALCONIERI D, PIRAS A, PORCEDDA S, MARONGIU B, FRAU MA, GONÇALVES MJ, CABRAL C, CAVALEIRO C AND SALGUEIRO L. 2012.

Chemical composition and antifungal activity of essential oils and supercritical CO₂ extracts of *Apium nodiflorum* (L.) Lag. Mycopathologia 174: 61-67.

MONDELLO F, BERNARDIS F, GIROLAMO A, CASSONE A AND SALVATORE G. 2006. *In vivo* activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Malaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and resistant human pathogenic *Candida* species. BMC Infect Dis 6: 1-8.

MONZOTE L, SCULL R, COS P AND SETZER WN. 2017. Essential oil from *Piper aduncum*: chemical analysis, antimicrobial assessment, and literature review. Medicines 49: 1-14.

OLIVEIRA JCS, DIAS IJM, CAMARA CAG AND SCHWARTZ MOE. 2006. Volatile constituents of the leaf oils of *Piper aduncum* L. from different regions of Pernambuco (Northeast of Brazil). J Essent Oil Res 18: 557-559.

OLIVEIRA GL, CARDOSO SK, JÚNIOR CRL, VIEIRA TM, GUIMARÃES EF, FIGUEIREDO LS, MARTINS ER, MOREIRA DL AND KAPLAN MAC. 2013a. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). An Acad Bras Cienc 85: 1227-1234.

OLIVEIRA GL, CARDOSO SK, JÚNIOR CRL, VIEIRA TM, GUIMARÃES EF, FIGUEIREDO LS, MARTINS ER, MOREIRA DL AND KAPLAN MAC. 2013a. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). An Acad Bras Cienc 85: 1227-1234.

OLIVEIRA GL, MOREIRA DL, MENDES ADR, GUIMARÃES EF, FIGUEIREDO LS, KAPLAN MAC AND MARTINS ER. 2013b. Growth study and essential oil analysis of *Piper aduncum* from two sites of Cerrado biome of Minas Gerais State, Brazil. Rev Bras Farmacogn 23: 743-753.

OLIVEIRA JD, ALVES CCF, MIRANDA MLD, MARTINS CHG, SILVA TS, AMBROSIO MALV, ALVES JM AND SILVA JP. 2016. Rendimento, composição química e atividades antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de folhas de *Campomanesia adamantium* submetidas a diferentes métodos de secagem. Rev Bras Pl Med 18: 502-510.

OLIVEIRA JD, ALVES DKM, MIRANDA MLD, ALVES JM, XAVIER MN, CAZAL CM AND ALVES CCF. 2017. Chemical composition of essential oil extracted from leaves of *Campomanesia adamantium* subjected to different hydrodistillation times. Ciência Rural 47: e20151131.

PANSERA MR, PAULETTI M, FEDRIG CP, SARTORI VC, RIBEIRO RTS. 2013. Utilization of essential oil and vegetable extracts of *Salvia officinalis* L. in the control of rot sclerotinia in lettuce. Appl Res & Agrotec 6: 83-88.

POTZERNHEIM MCL, BIZZO HR, SILVA JP AND VIEIRA RF. 2012. Chemical characterization of essential oil constituents of four populations of *Piper aduncum* L. from Distrito Federal, Brazil. Biochem Syst Ecol 42: 25-31.

SALES VS, NASCIMENTO EP, MONTEIRO AB, COSTA MHN, DELMONDES GA, SOARES TRC, TINTINO SR, SOBREIRA FR, FIGUEIREDO DN, RODRIGUES CKS, COSTA JGM, COUTINHO HDM, FELIPE CFB, MENEZES IRA AND KERNTOPF MR. 2017. *In vitro* modulation of the antibiotic activity of essential oil from fruits of *Piper tuberculatum* Jacq. Rev Cub de Plant Med 22: 1-11.

SANTOS TG, REBELO RA, DALMARCO EM, GUEDES A, GASPAR AL, CRUZ AB, SCHMIT AP, CRUZ RCB, STEINDEL M AND NUNES RK. 2012. Composição química e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Piper malacophyllum* (C. PRESL.) C. DC. Quim Nova 35: 477-481.

SILVA DMMH AND BASTOS CN. 2007. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. Fitopatol bras 32: 143-145.

SILVA AL, CHAVES FCM, LAMEIRA RC AND BIZZO HR. 2013. Rendimento e composição do óleo essencial de *Piper aduncum* L. cultivado em Manaus, AM, em função da densidade de plantas e épocas de corte. Rev Bras Pl Med 15: 670-674.

SOYLU S, YIGITBAS H, SOYLU EM AND KURT S. 2007. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. J Appl Microbiol 4: 1021-1030.

XAVIER MN, ALVES JM, CARNEIRO NS, SOUCHIE EL, SILVA EAJ, MARTINS CHG, AMBROSIO MALV, EGEA MB, ALVES CCF AND MIRANDA MLD. 2016. Composição química do óleo essencial de *Cardiopetalum calophyllum* Schltld. (Annonaceae) e suas atividades antioxidante, antibacteriana e antifúngica. Rev Virtual Quim 8: 1433-1448.

CAPÍTULO 2 – Desenvolvimento de filmes biodegradáveis de fécula de araruta incorporados com óleo essencial de *Piper aduncum*

RESUMO

As embalagens desempenham papel fundamental na indústria de alimentos, porém, o grande volume de resíduo gerado por esses materiais é grave problema ambiental. Há, portanto, a real necessidade do desenvolvimento de embalagens biodegradáveis e ativas. O amido é uma promissora fonte de biopolímeros e a incorporação de óleos essenciais, pode melhorar algumas propriedades dos filmes. O objetivo deste estudo foi então, desenvolver e caracterizar filmes biopoliméricos à base de fécula de araruta e incorporar óleo essencial (OE) extraído das folhas e das inflorescências de *Piper aduncum*. O OE foi extraído em aparelho tipo Clevenger. O desenvolvimento dos filmes de fécula de araruta e a incorporação do OE se deu pelo método de *Casting*. Os filmes foram caracterizados quanto a propriedades de barreira, biodegradabilidade, propriedades ópticas e atividade antimicrobiana frente aos fungos *Rhizopus microsporus* e *Colletotrichum gloeosporioides*. Os filmes biodegradáveis obtidos apresentaram boa propriedade de barreira, baixa permeabilidade ao vapor de água, transparência e boa propriedade de barreira à luz UV-Vis, foram 100% biodegradados e apresentaram, nas concentrações de 0,75% e 1,0%, atividade antifúngica frente aos microrganismos avaliados. Assim, pode-se perceber o potencial da fécula de araruta no desenvolvimento de filmes biodegradáveis e a promissora atividade antifúngica dos filmes com a incorporação dos óleos essenciais de *P. aduncum*.

Palavras-chave: Embalagens ativas, *Piper aduncum*, filmes biopoliméricos, atividade antifúngica.

CHAPTER 2 - Development of biodegradable arrowroot starch films incorporated with *Piper aduncum* essential oil

ABSTRACT

Packaging plays a main function in the food industry, but the high volume of waste generated by these materials is a serious environmental problem. There is therefore a real need for the development of biodegradable and active packaging. Starch is a promising source of biopolymers and the incorporation of essential oils can improve some properties of the films. The objective of this study was to develop and characterize biopolymer films based on arrowroot starch and to incorporate essential oil (EO) extracted from the leaves and inflorescences of *Piper aduncum*. EO was extracted in Clevenger type apparatus. The development of the arrowroot starch films and the incorporation of EO was by Casting method. The films were characterized as barrier properties, biodegradability, optical properties and antimicrobial activity against the fungi *Rhizopus microsporus* and *Colletotrichum gloeosporioides*. The biodegradable films obtained showed good barrier properties, low permeability to water vapor, transparency and good barrier properties to UV-Vis light, were 100% biodegradable and presented activity at concentrations of 0.75% and 1.0% antifungal activity against the evaluated microorganisms. Thus, the potential of arrowroot starch in the development of biodegradable films and the promising antifungal activity of the films with the incorporation of the essential oils of *P. aduncum* can be seen.

Key words: Active packaging, *Piper aduncum*, biopolymer films, antifungal activity

2.1. INTRODUÇÃO

Na indústria de alimentos, as embalagens desempenham funções fundamentais na manutenção da qualidade e integridade dos produtos alimentícios até o consumo, evitando injúrias e danos no transporte e armazenamento, além de fornecer recursos estéticos e informações sobre os produtos embalados (KECHICHIAN et al., 2010; HAQ, JAFRI, HASNAIN, 2016). O uso de embalagens tradicionais, à base de petróleo, vêm crescendo ao longo do tempo, principalmente pelas suas características favoráveis como baixa densidade, e altas propriedades mecânica e de barreira, porém, por causa da grande quantidade de resíduo gerado por esse tipo de material não degradável, tecnologias de obtenção de polímeros biodegradáveis e de fontes renováveis, principalmente à base de polissacarídeos, proteínas e lipídios vêm despertando o interesse de pesquisadores e empresas de alimentos e embalagens (DE DICASTILHO et al., 2016; SHEN & KAMDEM., 2015; FERREIRA et al., 2015; HAFSA et al., 2016).

O amido é um tipo de biopolímero muito promissor no desenvolvimento de filmes biodegradáveis pela sua alta disponibilidade e baixo custo (DAVOODI, KAVOOSI & SHAKERI, 2017; PERAZZO et al., 2014). Filmes à base de amido são biodegradáveis, não tóxicos, apresentam alto brilho e transparência (GORDILLO et al., 2014). Típica da América Latina, a araruta (*Maranta arundinacea*) apresenta rizomas dos quais se obtém elevado teor de amido. No Brasil, existem três cultivares de importância comercial: a crioula, a banana e a comum (LEONEL & CEREDA, 2002). Devido ao alto teor de amido em seus rizomas, a extração do amido de araruta é economicamente interessante. O amido extraído da araruta apresenta características vantajosas como excelente digestibilidade, capacidade de gelatinização em temperaturas relativamente baixas, além de características físico-químicas especiais, como o alto teor de amilose, necessário para o desenvolvimento de filmes com boas propriedades (NOGUEIRA, FAKHOURI & DE OLIVEIRA, 2018; CHARLES et al., 2016).

Além da biodegradabilidade, propriedades mecânicas e de barreira, os biopolímeros podem funcionar como embalagens ativas, transportando agentes antimicrobianos, antioxidantes ou substâncias nutricionais, como vitaminas (JAHED et al., 2017; DEBEAUFORT, QUEZADA-GALLO, VOILLEY, 1998; FLORES-LÓPEZ et al., 2015). Nesse aspecto, os óleos essenciais (OEs) têm demonstrado potencial aplicabilidade em filmes e revestimentos biopoliméricos por apresentarem propriedades antimicrobianas e antioxidantes, sendo a maioria deles, substâncias consideradas GRAS

(“*Generally Recognized as Safe*” ou, na tradução literal, “Geralmente Reconhecido como Seguro”) (NOSHIRVANI et al., 2017).

O óleo essencial de *Piper aduncum* tem apresentado elevado potencial antifúngico, antibacteriano e antioxidante (OLIVEIRA et al., 2013, BASTOS & ALBUQUERQUE, 2004; GUTIÉRREZ et al., 2016; POHLIT et al., 2013). Entretanto, ainda são escassos na literatura, os trabalhos utilizando a fécula de araruta no desenvolvimento de filmes biopoliméricos, e nenhum trabalho realizou a incorporação de óleos essenciais em filmes à base de fécula de araruta, portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes biodegradáveis a partir da fécula de araruta, incorporados com óleo essencial das folhas e das inflorescências de *Piper aduncum*.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 MATERIAL VEGETAL

As folhas e inflorescências de *Piper aduncum* foram coletadas no município de Rio Verde, Goiás, no Campus da Universidade de Rio Verde (UniRV) (17°47'22.776"S e 50°57'56,894"W). A planta foi identificada pela botânica Luzia Francisca de Souza e uma amostra foi depositada no Herbário Jataiense Professor Germano Guarim Neto, com a exsicata número HJ 7872.

2.2.2 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Amostras de folhas e inflorescências de *P. aduncum* foram submetidas a hidrodestilação por 2 horas em aparelho tipo Clevenger (CARNEIRO et al., 2017). Após a coleta das amostras dos óleos essenciais (EOs), os vestígios de água ainda presentes no óleo essencial foram removidos com sulfato de sódio anidro, seguido de filtração. Os óleos essenciais purificados foram armazenados sob refrigeração a $4 \pm 2^\circ\text{C}$, até serem incorporados às soluções filmogênicas.

2.2.3 DESENVOLVIMENTO DO FILME BIODEGRADÁVEL

Foram realizados testes prévios para avaliar as melhores condições de obtenção dos filmes à base de fécula de araruta, observando parâmetros como concentração de

fécua, temperatura, velocidade de agitação e tempo de gelatinização da solução filmogênica, melhor temperatura para incorporação dos OEs, temperatura e tempo de secagem, além de melhores condições de armazenamento.

Os filmes biodegradáveis foram obtidos pela técnica de *Casting*, segundo metodologia proposta por Issa e colaboradores (2017), com algumas modificações. Para obtenção de cada filme, dissolveu-se 5 g de fécula de araruta comercial em 100 mL de água destilada, agitando moderadamente a temperatura ambiente. Posteriormente, essa solução foi aquecida a 80°C, sob agitação constante, durante 30 minutos. Após a gelatinização do amido, adicionou-se glicerol como plastificante (30% p/p), e essa dispersão foi agitada por mais 5 minutos. No momento em que a solução filmogênica atingiu a temperatura de 40°C, uma suspensão de óleo essencial de *Piper aduncum* em Tween 80 (0,25 g/g de OE) previamente preparada foi incorporada, em constante agitação por 15 minutos.

As soluções filmogênicas à base de fécula de araruta e incorporadas com os OEs das folhas e inflorescências de *Piper aduncum*, foram vertidas em placas de poliestireno e submetidas a secagem em estufa com circulação de ar (35 °C) por aproximadamente 48 horas, até que os filmes começassem a se soltar das placas. As concentrações finais dos OEs das folhas e inflorescências de *P. aduncum* foram de 0,25%, 0,50%, 0,75% e 1% (v/v), e um tratamento controle (sem adição de OE).

2.2.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

2.2.4.1 ESPESSURA E UMIDADE

A espessura dos filmes foi aferida com o auxílio de um micrômetro digital, com precisão de 0,01 mm. As medidas foram realizadas em 10 pontos de cada filme, então foi calculada a média da espessura. O teor de umidade foi determinado através da perda de massa dos filmes, submetidos a secagem em estufa a 110 °C, até atingir peso constante. Foram utilizadas três repetições por tratamento de filme (SALARBASHI et al., 2013).

2.2.4.2 SOLUBILIDADE EM ÁGUA

Para determinação da solubilidade em água dos filmes ativos produzidos, amostras com cerca de 2 cm² foram secas em estufa, a 105°C por 3 horas e então

pesadas para determinar a massa inicial (M_i). Essas amostras foram então imersas em 50 mL de água destilada, e mantidas sob constante agitação, a 25°C, durante 24 horas. Após esse período, as amostras foram filtradas em papel de filtro Whatman No. 1. Os papéis contendo os filmes foram secos a 105°C por 24 horas e pesados (M_f) (JAHED et al., 2017). Cada tratamento foi analisado em triplicata. A solubilidade dos filmes (%) foi calculada usando a equação:

$$\text{Solubilidade em água (\%)} = \frac{(M_i - M_f)}{M_i} \times 100 \quad (1)$$

2.2.4.3 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

A taxa de transmissão de vapor de água (TTVA) e a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foram avaliadas de acordo com ASTM E 96/E 96 M (ASTM, 2013), utilizando o método da água.

Para tanto, béqueres de 10 mL foram preenchidos com 5,0 g de água deionizada, selados com os filmes, e então colocados em dessecador contendo solução saturada de nitrato de potássio. A massa dos béqueres foi medida de hora em hora, durante 8 horas, e posteriormente com 24 horas (MA et al., 2016). O experimento foi realizado em triplicata. A TTVA e a PVA foram calculadas segundo as equações:

$$TTVA = \frac{m}{t \times A} \quad (2)$$

Em que, m é a perda de massa, t é o tempo e A é a área do filme. O cálculo da PVA foi realizado multiplicando a TTVA pela espessura dos filmes (E) e dividindo pela diferença de pressão (ΔP):

$$PVA = \frac{TTVA}{(\Delta P)} \times E \quad (3)$$

2.2.4.4 BIODEGRADABILIDADE

A análise da biodegradabilidade foi realizada seguindo metodologia proposta por Martucci e Ruseckaite (2009), com algumas modificações. Para tanto, amostras de filme (2 x 3 cm) foram secas até peso constante para obtenção da massa inicial (M_i). As amostras foram então colocadas em pacotes de polietileno vazado, permitindo que os

microrganismos e umidade tenham acesso às amostras, porém as embalam de forma que elas possam ser posteriormente recuperadas.

As amostras foram então enterradas em solo orgânico, previamente preparado em uma caixa de plástico, mantendo-se a umidade relativa em torno de 40% a temperatura ambiente.

Quinze dias após a montagem do experimento, os pacotes contendo as amostras biodegradadas foram retiradas do solo, lavadas com água destilada e secas até peso constante (M_f). A biodegradabilidade (%) foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Biodegradabilidade (\%)} = \frac{(M_f - M_i)}{M_i} * 100 \quad (4)$$

2.2.4.5 ANÁLISE DE COR

A análise de cor dos filmes foi realizada em Colorímetro (HunterLab, Color Quest II, Reston, EUA) e os parâmetros avaliados foram L^* (luminosidade) e parâmetros de cromaticidade (a^* e b^*). As medições foram realizadas colocando o padrão branco sobre a amostra do filme ($L^* = 99,94$, $a^* = -0,52$ e $b^* = 1,43$). A diferença de cor (ΔE) foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\Delta E: [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \quad (5)$$

ΔE foi relacionado pela média de cinco medições por filme (NOSHIRVANI et al., 2017).

2.2.4.6 ANÁLISE DE TAXA DE TRANSMISSÃO DE LUZ UV-VIS

A transmissão de luz ultravioleta (UV) e visível dos filmes foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis (Modelo LAMBDA 750, PerkinElmer). As amostras de filme foram colocadas em um suporte para filme, e a transmitância foi medida em comprimentos de onda selecionados entre 250 e 850 nm (HOSSEINI et al., 2015).

2.2.5 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

A atividade antifúngica dos filmes foi analisada frente aos fungos fitopatogênicos *Colletotrichum gloeosporioides* (CCT 5177) e *Rhizopus microsporus*

var. *oligosporus* (IOC 3801), utilizando ensaio de difusão em disco (MA et al., 2016). Placas de Petri contendo meio BDA foram inoculadas com 100 µL de suspensão com 10^5 UFC/mL, três amostras de filmes previamente cortados em círculos com aproximadamente 5 mm de diâmetro, foram depositados em cada placa. As placas foram incubadas a 25 ± 2 °C, por 5 dias. Os diâmetros da zona de inibição (mm) foram então medidos.

2.2.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A análise da microestrutura dos filmes foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (modelo JSM – IT300, Jeol), no Laboratório de Microscopia do Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação de Goiás (CRTI – GO). As aproximações realizadas foram de 1000x.

2.2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente ao acaso (DIC), os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias das repetições foram analisadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o *software* ASSISTAT.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes prévios realizados serviram para aperfeiçoar a metodologia de desenvolvimento dos filmes à base de fécula de araruta, visto que parâmetros como concentração de fécula em solução, tempo de agitação, temperatura de aquecimento, concentração de OE, temperatura de incorporação e até mesmo temperatura de secagem influenciaram significativamente na obtenção de filmes com características adequadas. Antes de acertar os detalhes metodológicos os filmes ficavam, por muitas vezes, turvos, quebradiços e/ou apresentavam profundas rachaduras, ou simplesmente não secavam de maneira adequada.

Os filmes produzidos à base de fécula de araruta apresentaram, visualmente, aspecto transparente e brilhoso conforme pode-se observar na figura 1. Segundo Gordillo et al. (2014) a araruta (*Maranta arundinacea* L.) apresenta alto teor de amido (>99%), sendo que o teor de amilose é maior que 40%, responsáveis pela formação de matrizes poliméricas fortes para a produção dos filmes, sendo assim, a fécula de araruta

é uma opção promissora no desenvolvimento de filmes biodegradáveis, sendo o glicerol o melhor plastificante (HAQ, JAFRI, HASNAIN, 2016).

Com a adição de OEs das folhas e inflorescências de *P. aduncum* os filmes passaram a ficar menos transparentes visualmente e, conforme a concentração dos OEs incorporado foi aumentada, as soluções filmogênicas ficavam mais brancas e os filmes mais turvos. A fim de obter soluções filmogênicas homogêneas, houve a necessidade da incorporação de emulsificante Tween 80 nas formulações de filmes de fécula de araruta, o volume de emulsionante utilizado variou de acordo com a concentração de óleo, a fim de garantir maior homogeneização, como foi sugerido por Souza et al. (2013).

2.3.1 PROPRIEDADES FÍSICAS E DE BARREIRA

As espessuras (mm) dos filmes produzidos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si, apresentando valores entre 0,108 mm a 0,122 mm com a incorporação dos OEs de *P. aduncum*, conforme demonstrado no gráfico 1. Pode-se entender, portanto que as aglomerações das partículas de OE no filme tiveram pouco efeito sobre a variação da espessura (SONG, ZUO & CHEN, 2018).

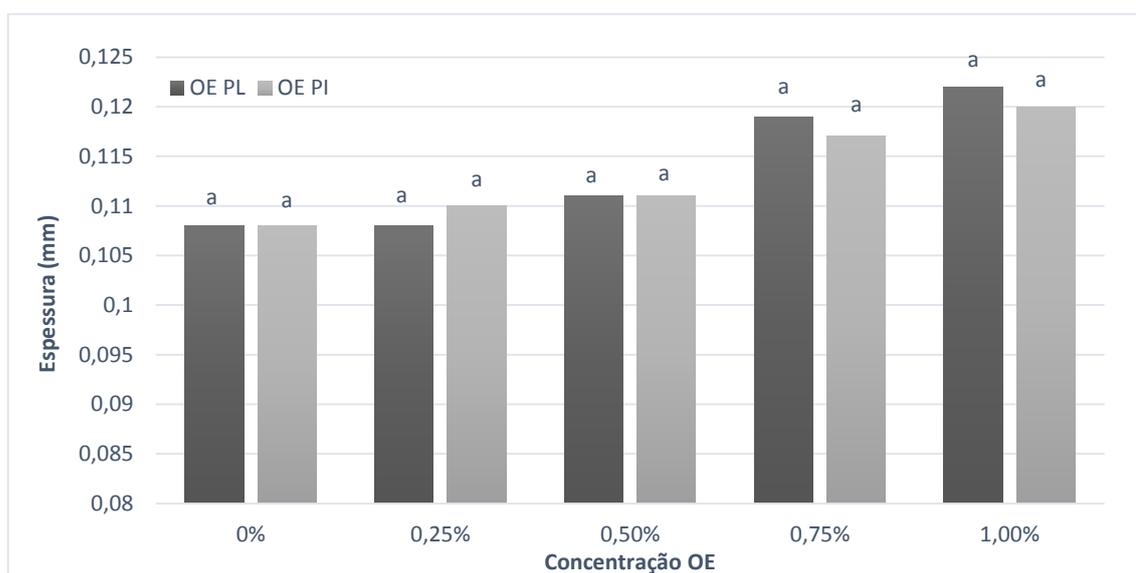
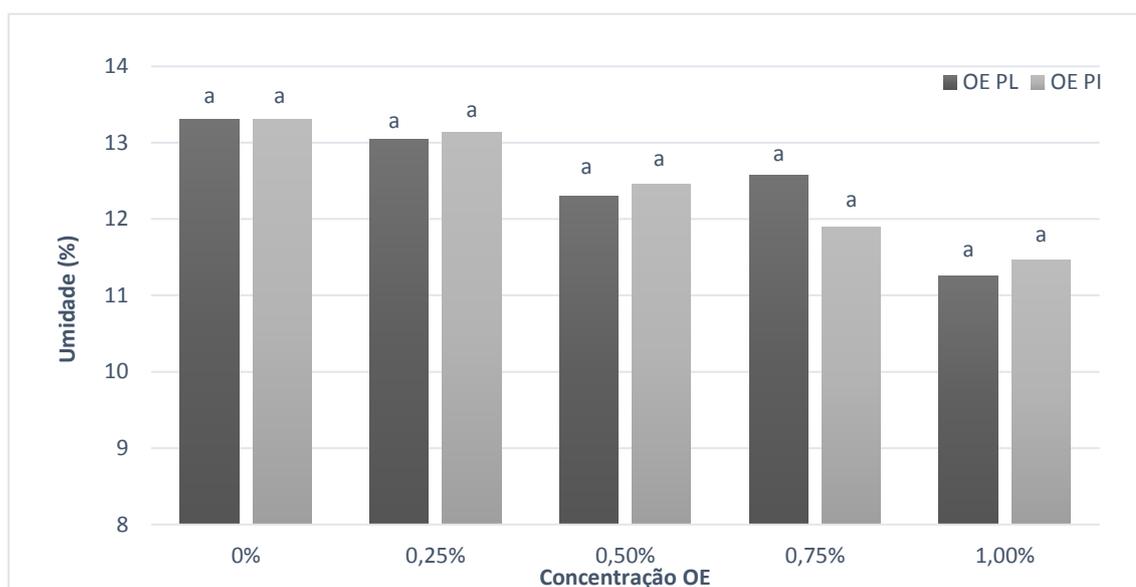


Gráfico 1 – Espessura (mm) dos filmes à base de fécula de araruta incorporados com óleo essencial das folhas (OE – PL) e das inflorescências (OE – PI) de *Piper aduncum*.

O teor de umidade dos filmes apresentou tendência a diminuir, com o aumento da concentração de OEs incorporados, tanto para OEs das folhas, quanto para os OEs das inflorescências (Gráfico 2). Esse comportamento era esperado pelo caráter hidrofóbico dos OEs, e as interações entre os grupos funcionais dos OEs e o amido, limitando as interações polissacarídeo-água, resultando em menor teor de umidade. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Song, Zuo & Chen (2018), em filmes de amido de milho e trigo incorporados com óleo essencial de limão, e por Shen & Kandem (2015) em filmes de quitosana incorporados com óleo essencial de citronela

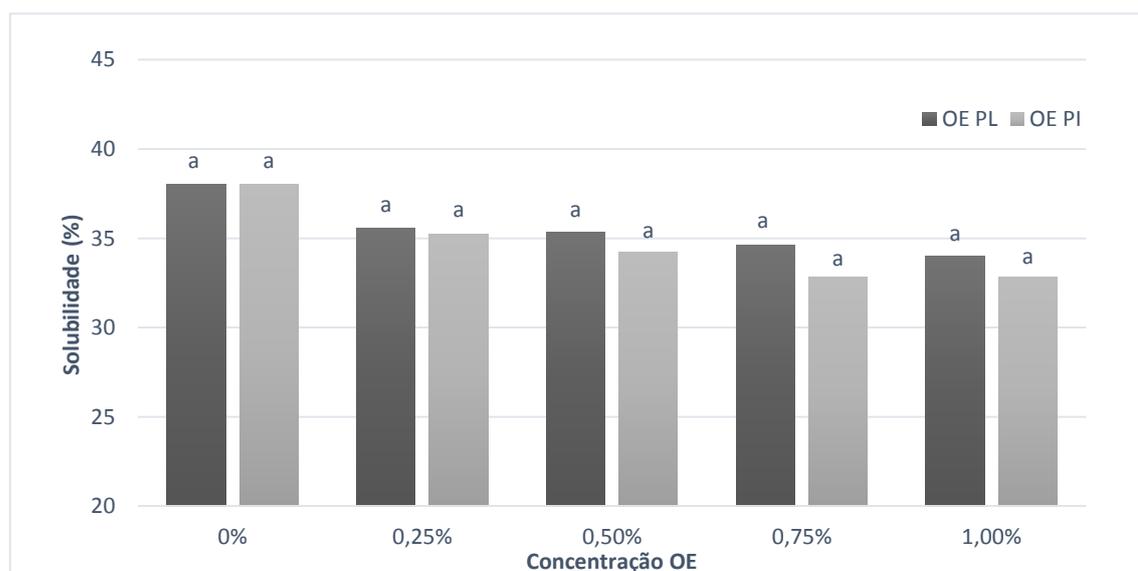


e de cedro.

Gráfico 2 – Umidade (%) dos filmes à base de fécula de araruta incorporados com óleo essencial das folhas (OE – PL) e das inflorescências (OE – PI) de *Piper aduncum*.

A solubilidade é um parâmetro importante na caracterização de filmes biopoliméricos, principalmente porque potenciais aplicações como embalagens de alimentos podem exigir que os filmes apresentem baixa solubilidade, ou seja, uma alta resistência à água (KHAZAEI et al., 2014; LOPÉZ-MATA, et al., 2015). De acordo com os resultados apresentados no gráfico 3, a incorporação de OEs das folhas e inflorescências de *P. aduncum* diminuiu a solubilidade dos filmes em relação ao controle (filme com 0% de OE), sendo que o filme controle apresentou 38,04% de solubilidade, enquanto os filmes com 1,0% de OEs das folhas e inflorescências (filmes

de maior concentração de OE) apresentaram 33,99 e 32,92%, respectivamente. Os resultados obtidos demonstram diminuição na natureza hidrofílica dos filmes. Essa redução ocorreu porque os componentes dos OEs interagem com os grupos hidroxila do filme, reduzindo a disponibilidade de hidroxilas que interagiriam com a água, resultando em filme mais resistente à água (SONG, ZUO & CHEN, 2018; JOUKI et al., 2014). Jahed et al. (2017) também observaram redução na solubilidade em água de filmes de quitosana quando incorporado o OE de *C. copticum*. Em outro estudo, Ghasemlou et al. (2013) também observaram redução na solubilidade em água de filmes de amido de milho incorporados com dois tipos de OEs: *Zataria multiflora* Boiss e *Mentha pulegium*. Segundo Kavooosi, Dadfar & Purfar (2013), os efeitos da incorporação de aditivos à matriz polimérica sobre a solubilidade dependem do tipo de aditivos, as concentrações utilizadas, e seus índices de hidrofílicidade e hidrofobicidade. Portanto, espera-se que compostos hidrofílicos aumentem a solubilidade dos filmes, enquanto compostos hidrofóbicos, como os óleos essenciais, supostamente devem



diminuir a solubilidade.

Gráfico 3 –Solubilidade (%) dos filmes à base de fécula de araruta incorporados com óleo essencial das folhas (OE – PL) e das inflorescências (OE – PI) de *Piper aduncum*.

Os resultados da análise de permeabilidade ao vapor de água seguiram a tendência observada nas análises de teor de umidade e solubilidade em água, com uma diminuição significativa ($p < 0,05$) na permeabilidade dos filmes como aumento na

concentração dos OEs das folhas e inflorescências de *P. aduncum* incorporada (Gráfico 4). Essa diminuição na permeabilidade foi maior com a incorporação do óleo essencial das folhas do que nos filmes incorporados com o óleo essencial das inflorescências. Esse resultado pode ser associado ao fato de que duas partes de uma mesma planta podem apresentar óleos essenciais com composição química diferente. A permeabilidade ao vapor de água de filmes é um valor constante de permeação do vapor de água em determinada temperatura. Esse parâmetro depende da estrutura química e da morfologia do material analisado (PERAZZO et al., 2014). Uma vez que uma das principais funções de embalagens em alimentos é evitar ou, pelo menos minimizar, a transferência de umidade entre os alimentos e a atmosfera circundante, a permeabilidade ao vapor de água (PVA) deve ser a menor possível (HOSSEINI et al., 2013). Os resultados de PVA dos filmes de fécula de araruta incorporados com óleos essenciais das folhas e inflorescências de *P. aduncum* foram semelhantes aos obtidos por Salarbashi et al. (2013) em seu estudo com filmes de quitosana incorporados com OE de *Zataria multiflora* Boiss e *Mentha pulegium*, no qual foi observado que o aumento na concentração de OE incorporado ao filme resultou na redução da PVA.

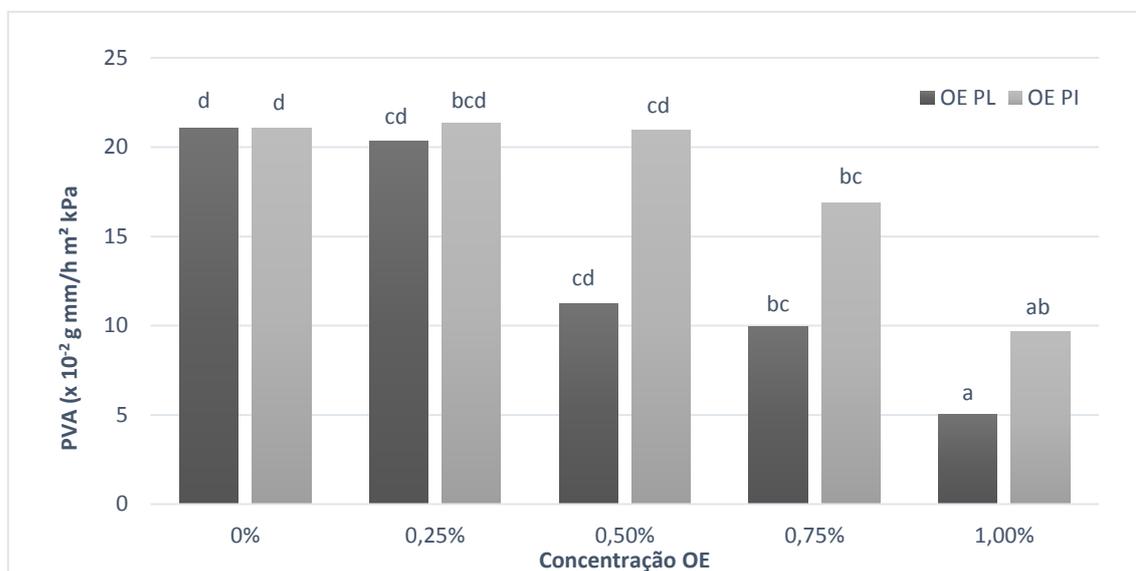


Gráfico 4 – Permeabilidade ao vapor de água ($\times 10^{-2}$ g mm/h m² kPa) dos filmes à base de fécula de araruta incorporados com óleo essencial das folhas (OE – PL) e das inflorescências (OE – PI) de *Piper aduncum*.

2.3.2 BIODERADABILIDADE

A análise da biodegradação dos filmes de araruta incorporados com OEs das folhas e inflorescências de *P. aduncum* foi realizada em solo e a umidade relativa do solo mantida a 40% a fim de expor os filmes a condições as mais próximas possível das encontradas em ambientes naturais. A microflora mista presente no solo orgânico (bactérias, actinobactérias, fungos e protozoários, entre outros) pode atuar durante a degradação dos filmes (MARTUCCI & RUSECKAITE, 2009). Quinze dias após a instalação do experimento, foi visível a completa (100%) degradação dos filmes de araruta (dados não apresentados) durante a retirada das amostras do solo orgânico. Stoll et al. (2011), relataram 96,27% de degradação de filmes à base de fécula de mandioca com antocianinas, com 10 dias de experimento, demonstrando a capacidade de degradação de filmes à base de féculas e amidos.

2.3.3 PROPRIEDADES ÓPTICAS

É importante avaliar a cor de filmes biopoliméricos para embalagens de alimentos porque o aspecto visual desses materiais pode influenciar na aceitação dos consumidores (SONG, ZUO & CHEN,2018). A Tabela 1 apresenta os resultados da análise de cor dos filmes de araruta incorporados com OEs das folhas e inflorescências de *P. aduncum*.

Tabela 1: Parâmetros CIE Lab de cor L* (luminosidade), a* e b* (cromaticidade), e a diferença total de cor (Δe) dos filmes de fécula de Araruta incorporado com OE das folhas (PL) e inflorescências (PI) de *P. aduncum*.

Tratamento	L*	a*	b*	Δe
CONTROLE	87,91 ± 0,48 ^{cd}	-1,126 ± 0,005 ^h	3,244 ± 0,16 ^b	12,179 ± 0,47 ^{bc}
OE PL 0,25%	88,24 ± 0,01 ^{bc}	-1,264 ± 0,005 ^d	3,37 ± 0 ^b	11,885 ± 0,01 ^{cd}
OE PL 0,50%	88,43 ± 0,008 ^b	-1,394 ± 0,01 ^c	3,492 ± 0,01 ^b	11,727 ± 0,006 ^d
OE PL 0,75%	88,43 ± 0,02 ^b	-1,432 ± 0,004 ^b	3,504 ± 0,01 ^b	11,727 ± 0,01 ^d
OE PL 1,0%	88,92 ± 0,007 ^a	-1,484 ± 0,005 ^a	3,272 ± 0,44 ^b	11,223 ± 0,06 ^e
OE PI 0,25%	87,89 ± 0,007 ^d	-1,15 ± 0,01 ^g	3,408 ± 0,008 ^b	12,227 ± 0,005 ^b

<i>OE PI 0,50%</i>	$87,65 \pm 0,008^{de}$	$-1,18 \pm 0,007^f$	$3,442 \pm 0,01^b$	$12,465 \pm 0,009^{ab}$
<i>OE PI 0,75%</i>	$87,51 \pm 0,01^e$	$-1,198 \pm 0,008^e$	$3,512 \pm 0,05^b$	$12,619 \pm 0,01^a$
<i>OE PI 1,0%</i>	$87,59 \pm 0,004^{de}$	$-1,15 \pm 0,007^g$	$3,904 \pm 0,01^a$	$12,609 \pm 0,007^a$

A incorporação dos OEs das folhas de *P. aduncum* em filmes de araruta provocou leve aumento nos valores de L* dos filmes em comparação com o filme controle e esse aumento foi significativo a partir da concentração de 0,50% de OE PL, indicando que os filmes se tornaram mais claros. Os filmes incorporados com os OEs das inflorescências de *P. aduncum* apresentaram leve redução nos valores de L* e essa redução foi significativa apenas para a concentração de 0,75% de OE PI. Os valores de L* de todos os filmes ficaram próximos de 100 (branco), indicando que os filmes de araruta incorporados com OE de *Piper aduncum* tem aspecto brilhante (SOUZA et al, 2017). Além disso, a incorporação dos OEs aumentou significativamente os valores negativos de a*. Os maiores valores de a* foram observados para o filme adicionado com OEs das folhas de *P. aduncum* na concentração de 1% (-1,48). Exceto o filme OE PI 1,0%, não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) nos valores de b* entre os filmes incorporados com OE de *P. aduncum* e o filme controle. Os valores de ΔE variaram amplamente com a incorporação do OE, no entanto, os filmes incorporados com o OE das inflorescências de *P. aduncum* apresentaram valores mais próximos aos dos filmes controle.

Hafsa et al. (2016) observaram influência direta nos parâmetros de cor de filmes de quitosana com a incorporação de OE de *Eucalyptus globulus*. Em seu estudo, os autores utilizaram concentrações de OE de 0, 1, 2, 3 e 4%, e o aumento da concentração causou diminuição na luminosidade do filme, e mudanças na coloração em direção ao vermelho (a*) e ao amarelo (b*).

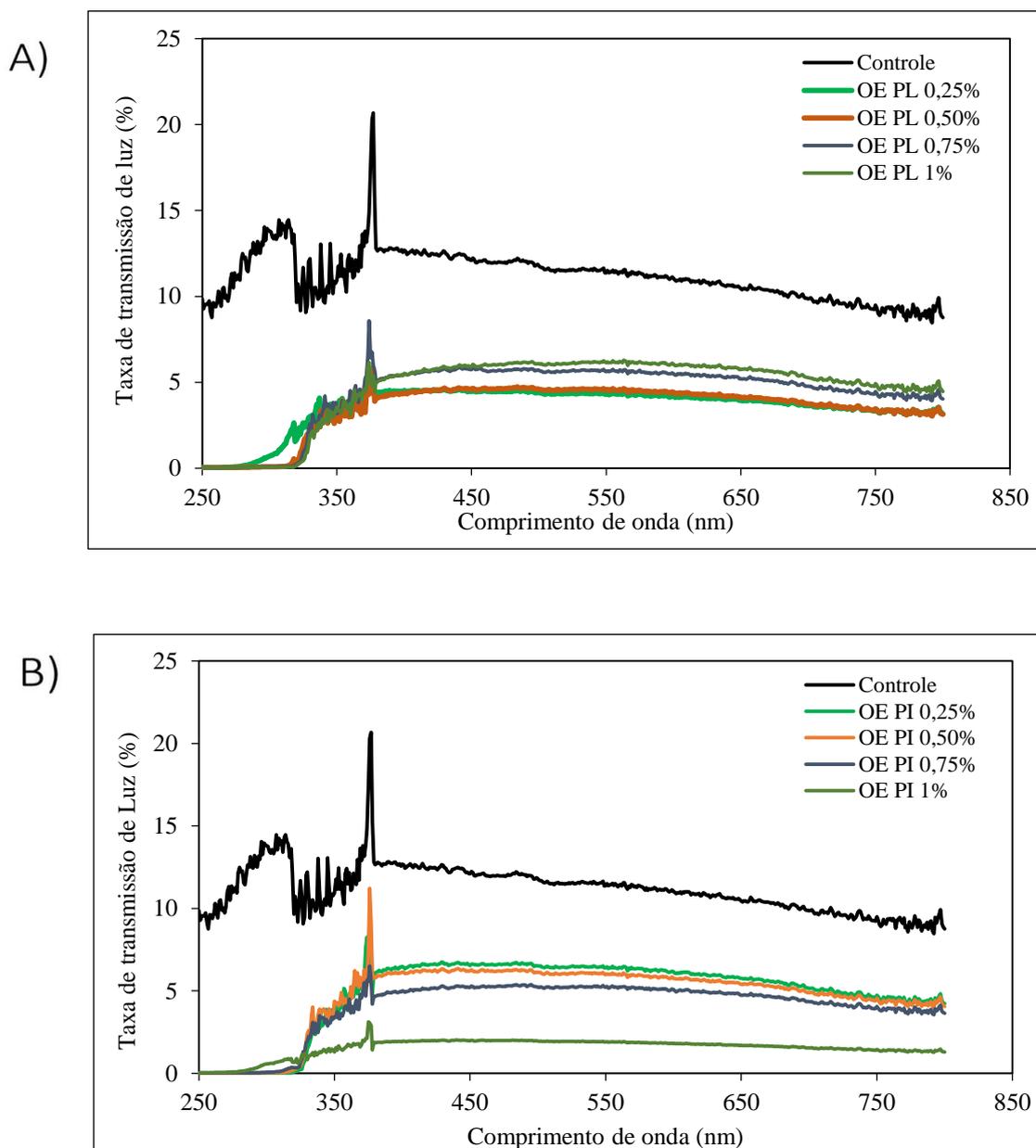


Figura 1: Taxa de transmissão de luz UV-vis de filmes de araruta incorporados com OE das folhas (A) e inflorescências (B) de *P. aduncum*.

A Figura 1 apresenta a taxa de transmissão de luz (%) dos filmes de araruta incorporados com OEs das folhas e das inflorescências de *P. aduncum*, respectivamente, na faixa de 250 a 850 nm. Os resultados obtidos na região da luz UV (entre 250 e 370 nm), mostraram que o filme à base de fécula de araruta controle (sem adição de OE) apresentou boa propriedade de barreira à luz UV, reduzindo até 85% a transmissão de luz UV nessa faixa. A adição dos OEs das folhas e inflorescências de *P.*

aduncum reduziu a transmissão de luz na faixa do UV, em até 100% para todas as concentrações testadas. Guerrero et al. (2011) avaliaram a transmissão de luz de filmes de proteína de soja incorporados com óleo de soja epoxidizado, óleo de oliva Picual e ácido láctico, em comparação com alguns filmes plásticos comuns: polipropileno orientado e polietileno de baixa densidade, que apresentaram taxa de transmissão de luz de 71,78% e 27,64%, respectivamente, em 280 nm, e obtiveram taxas de transmissão de luz marcadamente menores de seus filmes, em comparação.

A mesma redução na taxa de transmissão de luz com a adição dos OEs também foi observada na região do visível, mais acentuadamente na concentração de 1% do OE das inflorescências. Esses resultados demonstram a capacidade dos OEs em reduzir a taxa de transmissão de luz na região do UV-Vis, possivelmente pela dispersão da luz na interface das gotículas de OE na matriz do filme (HOSSEINI et al., 2015; TONGNUANCHAN, BENJAKUL & PRODPRAN, 2012)

As embalagens para alimentos com alto teor de gordura precisam apresentar baixa taxa de transmissão de luz, por causa do processo de oxidação lipídica que causa deterioração nesse tipo de alimento (STOLL et al., 2017).

2.3.4 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

A incorporação de agentes antimicrobianos, como os óleos essenciais, em matrizes biopoliméricas tem a intenção de evitar a deterioração causada por contaminação microbiana, na superfície dos alimentos, diminuindo assim, a necessidade de utilização de antimicrobianos que são geralmente incorporados na maioria dos alimentos (VAN LONG, JOLY & DANTIGNY, 2016). A tendência dos filmes incorporados com agentes antimicrobianos é liberar essas substâncias no meio em que foram colocados (BDA neste caso), resultando em uma zona de inibição limpa ao redor dos cortes de filme (OJAGH et al., 2010; LÓPEZ et al., 2007).

A Figura 2 apresenta as imagens das placas de Petri contendo os fungos e os filmes, após o período de 5 dias de incubação. Foi possível observar que os filmes controle (sem adição de OE) não apresentaram nenhuma inibição do crescimento de ambos os fungos testados (*R. microsporus* e *C. gloeosporioides*) e os fungos cresceram sobre os filmes. Os filmes incorporados com OEs das folhas (PL) e inflorescências (PI) de *P. aduncum* nas concentrações de 0,75% e 1,0% de OE PI e 1,0% de OE PL foram bem efetivos no controle do crescimento do fungo *R. microsporus*, não apresentando

crescimento fúngico sobre os filmes. O mesmo não foi observado nas concentrações mais baixas (0,25% e 0,50%), nas quais o fungo cresceu em toda placa, inclusive sobre os filmes. Nas placas inoculadas com o fungo *C. gloeosporioides*, os filmes nas concentrações 0,50%, 0,75% e 1,0% de OE PL e 0,75% e 1,0% de OE PI foram efetivas na inibição do crescimento do fungo sobre os filmes, os filmes controle e 0,25% não apresentaram inibição no crescimento do fungo, que cresceu sobre os mesmos.

Souza et al. (2013) avaliaram a atividade antifúngica de filmes de fécula de mandioca incorporado com OEs de canela e cravo frente aos fungos *P. Commune* e *E. amstelodami*, e também observaram que os filmes controle (sem adição de OE) não apresentaram nenhuma atividade inibitória ao crescimento de nenhum dos fungos testados, enquanto o aumento da concentração dos OEs avaliados, aumentou a área de inibição dos filmes.

A atividade antimicrobiana de filmes incorporados com OE depende das concentrações dos OE. Baixas concentrações podem não apresentar inibição do crescimento microbiano, além de afetar a capacidade de difusão de OE da matriz do filme para o meio (BDA), influenciando na formação dos halos de inibição (WANG et al., 2011). O fato dos filmes de araruta incorporados com OEs das folhas e inflorescências de *P. aduncum* não apresentarem halo de inibição, após o período de incubação, pode estar associado as baixas concentrações de OE incorporado, dificultando a formação de halos visíveis, porém, é perceptível que, as maiores concentrações testadas permaneceram sem o crescimento dos fungos sobre os filmes, indicando que, possivelmente, concentrações acima de 1% de OE incorporados a matriz polimérica à base de fécula de araruta, poderão apresentar formação de halos de inibição.

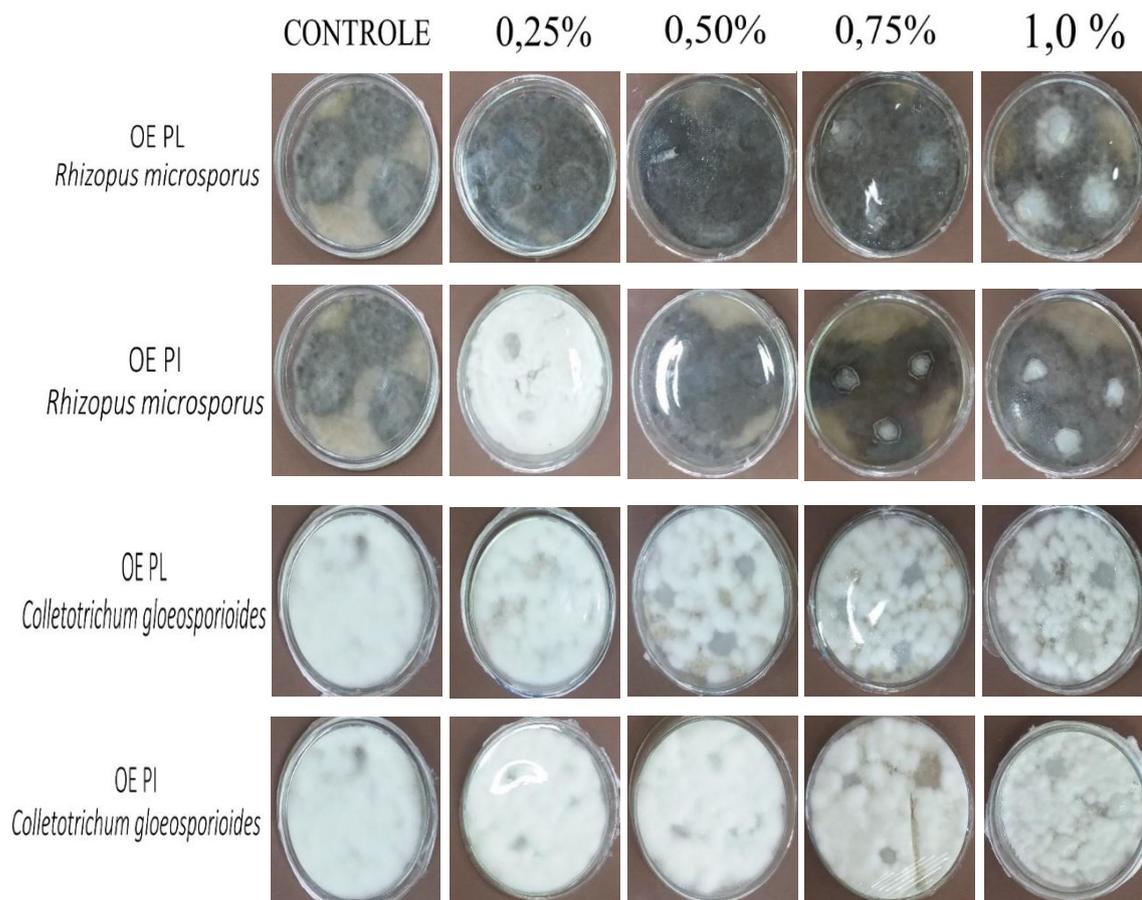


Figura 2: Atividade antifúngica de filmes de fécula de araruta incorporados com OEs das folhas (OE PL) e das inflorescências (OE PI) de *P. aduncum* frente aos fungos *Rhizopus microsporus* e *Colletotrichum gloeosporioides*.

2.3.5. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

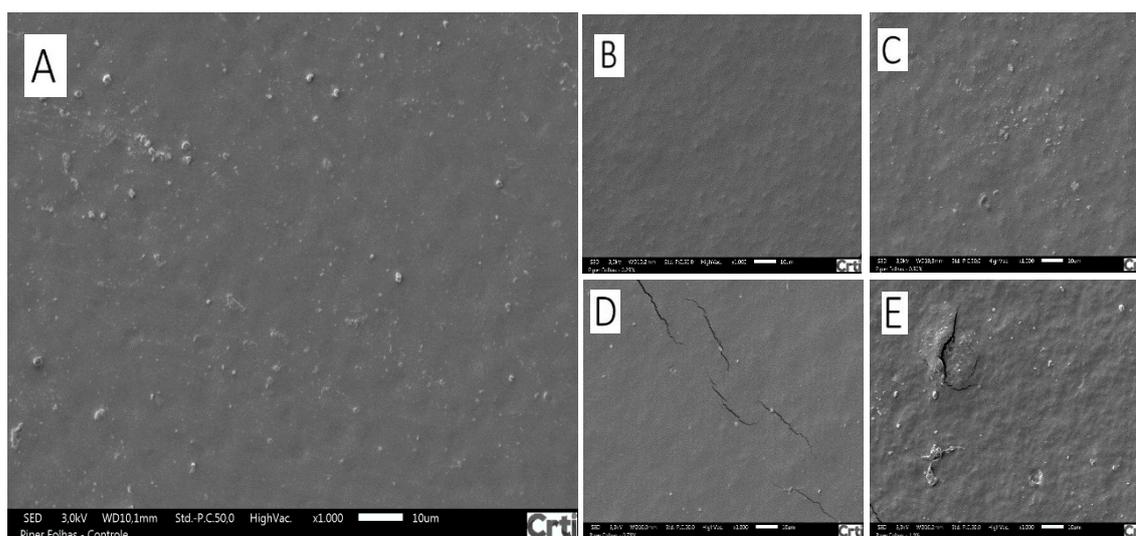


Figura 3. Imagens de MEV (ampliação 1000x) dos filmes de fécula de araruta controle (A), e incorporados com 0,25% (B), 0,50% (C), 0,75% (D) e 1,0% (E) de OE – PL.

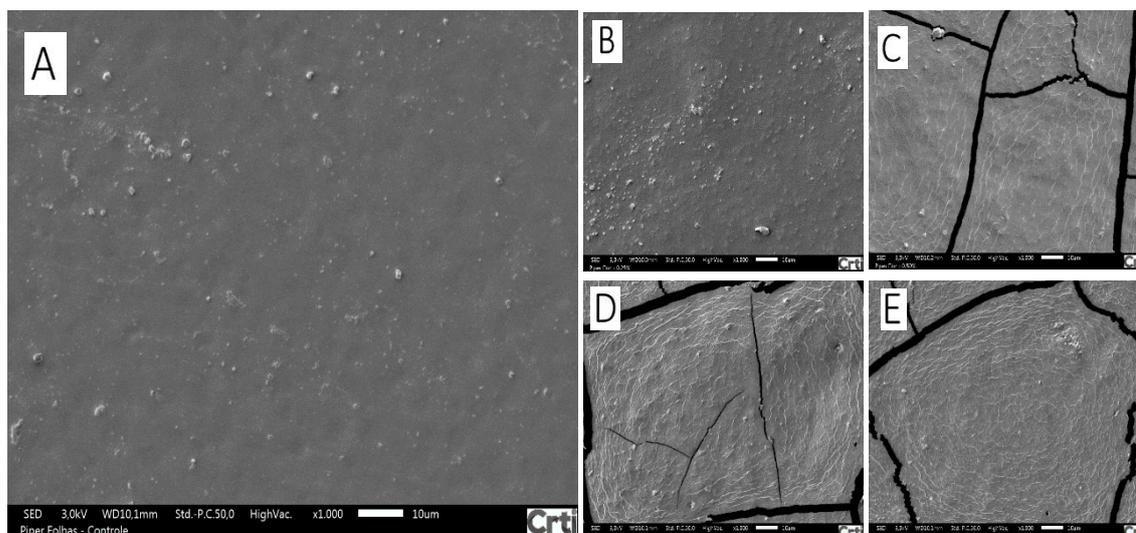


Figura 4. Imagens de MEV (ampliação 1000x) dos filmes de fécula de araruta controle (A), e incorporados com 0,25% (B), 0,50% (C), 0,75% (D) e 1,0% (E) de OE – PI.

As figuras 3 e 4 apresentam as imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes de araruta incorporados com óleo essencial das folhas (figura 3) e inflorescências (figura 4) de *Piper aduncum* na mesma ampliação (1000 x).

É possível observar nas imagens a presença de grânulos de amido que não foram geleificados durante o aquecimento, principalmente nos filmes controle e 0,25% de OE-PI.

Os filmes controle, 0,25% e 0,50% de OE – PL e o filme com 0,25% de OE – PI apresentaram características semelhantes, com microestrutura homogênea. No entanto, nas concentrações 0,75% e 1,0% de OE – PL os filmes apresentaram microestrutura com algumas rachaduras. Os filmes incorporados com 0,50%, 0,75% e 1,0% de OE – PI apresentaram rachaduras mais profundas em sua microestrutura.

A incorporação de alguns aditivos na solução filmogênica pode alterar o mecanismo da formação dos filmes. O aumento da distância entre as unidades de polissacarídeos dos filmes pode estar relacionado com a segregação de fases, uma vez que o amido é um polímero hidrofílico e o óleo essencial um ativo hidrofóbico. Além disso, a presença de óleo essencial causa perturbação no processo de evaporação do solvente (água), alterando os padrões de formação do filme.

Mudanças na microestrutura de filmes causadas pela incorporação de óleos essenciais também foram observadas por Ghasemlou et al. (2013) em filmes de quitosana incorporados com óleo essencial de *Zataria multiflora Boiss* e *Mentha pulegium*.

Hafsa et al. (2015) relataram que a incorporação de óleo essencial de *Eucalyptus globulus* em filmes de quitosana, principalmente nas concentrações mais altas testadas (3 e 4%), alterou consideravelmente a microestrutura dos filmes, que passaram a apresentar superfície heterogênea, na qual as gotículas de óleo foram aprisionadas na rede contínua de polissacarídeos. As concentrações de OEs utilizadas no presente estudo (0,25%, 0,50%, 0,75% e 1,0%) foram baixas se comparadas com as concentrações utilizadas por Hafsa et al. (2015) (1%, 2%, 3% e 4%), assim, não foi possível diferenciar as gotículas de óleo essencial na estrutura dos filmes através das imagens de MEV.

2.4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo apresentam o potencial da fécula de araruta (*Maranta arundinacea*) como base para o desenvolvimento de filmes biopoliméricos e biodegradáveis que podem ser incorporados com os OEs das folhas e inflorescências de *P. aduncum*. As análises das propriedades físicas e mecânicas dos filmes demonstraram que a incorporação dos OEs na matriz polimérica melhora suas propriedades de barreira, tornando os filmes menos solúveis em água e menos permeáveis ao vapor de água. Os filmes também apresentaram boa barreira à luz UV-Vis, característica relevante em filmes biopoliméricos para alimentos. Em suma, é importante salientar a completa biodegradação

dos filmes em solo e o seu potencial antifúngico frente aos fungos *R. microsporus* e *Colletotrichum gloeosporioides*, caracterizando assim, os filmes à base de fécula de araruta e incorporados com OEs de *P. aduncum* como biodegradáveis e ativos.

2.5 REFERÊNCIAS

ASTM. Standard test method for water vapor transmission of materials (E 96/ E 96 M). In: MA Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing Materials, Philadelphia, PA, 2013.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia brasileira**, v. 29, n. 5, p. 555-557, 2004.

CARNEIRO NS, ALVES JM, ALVES CCF, ESPERANDIM VR AND MIRANDA MLD. 2017. Óleo essencial das flores de *Eugenia klotzschiana* (Myrtaceae): composição química e atividades tripanocida e citotóxica *in vitro*. **Revista Virtual Química** 9: 1381-1392.

CHARLES, A. L.; CATO, K.; HUANG, T. C.; CHANG, Y. H.; CIOU, J. Y.; CHANG, J. S.; LIN, H. H. Functional properties of arrowroot starch in cassava and sweet potato composite starches. **Food Hydrocolloids**, v. 53, p. 187-191, 2016.

DAVOODI, M.; KAVOOSI, G.; SHAKERI, R. Preparation and characterization of potato starch-thymol dispersion and film as potential antioxidant and antibacterial materials. **International journal of biological macromolecules**, v. 104, p. 173-179, 2017.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. A.; VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.

DE DICASTILLO, C. L.; RODRÍGUEZ, F.; GUARDA, A.; GALOTTO, M. J. Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. **Carbohydrate polymers**, v. 136, p. 1052-1060, 2016.

FERREIRA, M. S.; FAI, A. E. C.; ANDRADE, C. T.; PICCIANI, P. H.; AZERO, E. G.; GONÇALVES, É. C. Edible films and coatings based on biodegradable residues

applied to acerolas (*Malpighia puniceifolia* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 5, p. 1634-1642, 2016.

FLORES-LÓPEZ, M. L.; CERQUEIRA, M. A.; DE RODRÍGUEZ, D. J.; VICENTE, A. A. Perspectives on utilization of edible coatings and nano-laminate coatings for extension of postharvest storage of fruits and vegetables. **Food Engineering Reviews**, v. 8, n. 3, p. 292-305, 2016.

GHASEMLOU, M.; ALIHEIDARI, N.; FAHMI, R.; SHOJAEI-ALIABADI, S.; KESHAVARZ, B.; CRAN, M. J.; KHAKSAR, R. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. **Carbohydrate polymers**, v. 98, n. 1, p. 1117-1126, 2013.

GORDILLO, C. A. S.; VALENCIA, G. A.; ZAPATA, R. A. V.; HENAO, A. C. A. Physicochemical Characterization of Arrowroot Starch (*Maranta arundinacea* Linn) and Glycerol/Arrowroot Starch Membranes. **International Journal of Food Engineering**, v. 10, n. 4, p. 727-735, 2014.

GUERRERO, P.; HANANI, Z. N.; KERRY, J. P.; DE LA CABA, K. Characterization of soy protein-based films prepared with acids and oils by compression. **Journal of Food Engineering**, v. 107, n. 1, p. 41-49, 2011.

GUTIÉRREZ, Y.; MONTES, R.; SCULL, R.; SÁNCHEZ, A.; COS, P.; MONZOTE, L.; SETZER, W. N. Chemodiversity associated with cytotoxicity and antimicrobial activity of *Piper aduncum* var. *ossanum*. **Chemistry & biodiversity**, v. 13, n. 12, p. 1715-1719, 2016.

HAFSA, J.; ALI SMACH, M.; KHEDHER, M. R. B.; CHARFEDDINE, B.; LIMEM, K.; MAJDOUB, H.; ROUATBI, S. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing *Eucalyptus globulus* essential oil. **LWT-Food Science and Technology**, v. 68, p. 356-364, 2016.

HAQ, M. A.; JAFRI, F. A.; HASNAIN, A. Effects of plasticizers on sorption and optical properties of gum cordia based edible film. **Journal of food science and technology**, v. 53, n. 6, p. 2606-2613, 2016.

HOSSEINI, S. F.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. **Industrial Crops and products**, v. 67, p. 403-413, 2015.

HOSSEINI, S. F.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; GHAVI, F. F. Preparation and functional properties of fish gelatin–chitosan blend edible films. **Food chemistry**, v. 136, n. 3-4, p. 1490-1495, 2013.

ISSA, A.; IBRAHIM, S. A.; TAHERGORABI, R. Impact of Sweet Potato Starch-Based Nanocomposite Films Activated With Thyme Essential Oil on the Shelf-Life of Baby Spinach Leaves. **Foods**, v. 6, n. 6, p. 43, 2017.

JAHED, E.; KHALEDABAD, M. A.; ALMASI, H.; HASANZADEH, R. Physicochemical properties of *Carum copticum* essential oil loaded chitosan films containing organic nanoreinforcements. **Carbohydrate polymers**, v. 164, p. 325-338, 2017.

JOUKI, M.; MORTAZAVI, S. A.; YAZDI, F. T.; KOOCHEKI, A. Characterization of antioxidant–antibacterial quince seed mucilage films containing thyme essential oil. **Carbohydrate polymers**, v. 99, p. 537-546, 2014.

KAVOOSI, G.; DADFAR, S. M. M.; PURFARD, A. M. Mechanical, physical, antioxidant, and antimicrobial properties of gelatin films incorporated with thymol for potential use as nano wound dressing. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 2, 2013.

KECHICHIAN, V.; DITCHFIELD, C.; VEIGA-SANTOS, P.; TADINI, C. C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 7, p. 1088-1094, 2010.

KHAZAEI, N.; ESMAILI, M.; DJOMEH, Z. E.; GHASEMLOU, M.; JOUKI, M. Characterization of new biodegradable edible film made from basil seed (*Ocimum basilicum* L.) gum. **Carbohydrate polymers**, v. 102, p. 199-206, 2014.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Food Science and Technology (Campinas)**, p. 65-69, 2002.

LÓPEZ-MATA, M. A.; RUIZ-CRUZ, S.; SILVA-BELTRÁN, N. P.; ORNELAS-PAZ, J. D. J.; OCAÑO-HIGUERA, V. M.; RODRÍGUEZ-FÉLIX, F.; CIRA-CHÁVEZ, L. A.; DEL-TORO-SÁNCHEZ, C. L.; SHIRAI, K. Physicochemical and antioxidant properties of chitosan films incorporated with cinnamon oil. **International Journal of Polymer Science**, v. 2015, 2015.

LÓPEZ, P.; SÁNCHEZ, C.; BATLLE, R.; NERÍN, C. Development of flexible antimicrobial films using essential oils as active agents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 21, p. 8814-8824, 2007.

MA, Q.; ZHANG, Y.; CRITZER, F.; DAVIDSON, P. M.; ZIVANOVIC, S.; ZHONG, Q. Physical, mechanical, and antimicrobial properties of chitosan films with microemulsions of cinnamon bark oil and soybean oil. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 533-542, 2016.

MARTUCCI, J. F.; RUSECKAITE, R. A. Tensile properties, barrier properties, and biodegradation in soil of compression—Molded gelatin- dialdehyde starch films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 112, n. 4, p. 2166-2178, 2009.

NOGUEIRA, G. F.; FAKHOURI, F. M.; DE OLIVEIRA, R. A. Extraction and characterization of arrowroot (*Maranta arundinaceae* L.) starch and its application in edible films. **Carbohydrate Polymers**, 2018.

NOSHIRVANI, N.; GHANBARZADEH, B.; GARDRAT, C.; REZAEI, M. R.; HASHEMI, M., LE COZ, C.; COMA, V. Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 36-45, 2017.

OJAGH, S. M.; REZAEI, M.; RAZAVI, S. H.; HOSSEINI, S. M. H. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 161-166, 2010.

OLIVEIRA, G. L.; MOREIRA, D. D. L.; MENDES, A. D. R.; GUIMARÃES, E. F.; FIGUEIREDO, L. S.; KAPLAN, M. A. C.; MARTINS, E. R. Growth study and essential oil analysis of *Piper aduncum* from two sites of Cerrado biome of Minas Gerais State, Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 5, p. 743-753, 2013.

PERAZZO, K. K. N. C. L.; DE VASCONCELOS CONCEIÇÃO, A. C.; DOS SANTOS, J. C. P.; DE JESUS ASSIS, D.; SOUZA, C. O.; DRUZIAN, J. I. Properties and antioxidant action of actives cassava starch films incorporated with green tea and palm oil extracts. **PloS one**, v. 9, n. 9, p. e105199, 2014.

POHLIT, A. M.; PINTO, A. C. S.; MAUSE, R. *Piper aduncum* L.: Planta Pluripotente e Fonte de Substâncias Fitoquímicas Importantes. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 2, n. 01, p. 7-18, 2013.

SALARBASHI, D.; TAJIK, S.; GHASEMLOU, M.; SHOJAEI-ALIABADI, S.; NOGHABI, M. S.; KHAKSAR, R. Characterization of soluble soybean polysaccharide

film incorporated essential oil intended for food packaging. **Carbohydrate polymers**, v. 98, n. 1, p. 1127-1136, 2013.

SHEN, Z.; KAMDEM, D. P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. **International journal of biological macromolecules**, v. 74, p. 289-296, 2015.

SONG, X.; ZUO, G.; CHEN, F. Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films. **International journal of biological macromolecules**, v. 107, p. 1302-1309, 2018.

SOUZA, A. C.; GOTO, G. E. O.; MAINARDI, J. A.; COELHO, A. C. V.; TADINI, C. C. Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. **LWT-Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 346-352, 2013.

SOUZA, V. G. L.; FERNANDO, A. L.; PIRES, J. R. A.; RODRIGUES, P. F.; LOPES, A. A.; FERNANDES, F. M. B. Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 565-572, 2017.

STOLL, L.; SILVA, A. M. D.; COSTA, T. M. H.; FLÔRES, S. H.; RIOS, A. D. O. Active biodegradable film with encapsulated anthocyanins: Effect on the quality attributes of extra- virgin olive oil during storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 6, 2017.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1571-1579, 2012.

VAN LONG, N. N.; JOLY, C.; DANTIGNY, P. Active packaging with antifungal activities. **International journal of food microbiology**, v. 220, p. 73-90, 2016.

WANG, L.; LIU, F.; JIANG, Y.; CHAI, Z.; LI, P.; CHENG, Y.; JING, H.; LENG, X. Synergistic antimicrobial activities of natural essential oils with chitosan films. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 23, p. 12411-12

CONCLUSÃO GERAL

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram o potencial do óleo essencial extraído das folhas e inflorescências de *P. aduncum* como agente antifúngico tanto no teste *in vitro* quanto incorporado em filmes biopoliméricos.

A análise da composição química dos OEs de *P. aduncum* identificou a piperitona (23,4%), miristicina (12,4%), terpinen-4-ol (12,3%), β -cariofileno (7,2%), α -humuleno (6,9%), germacreno-D (6,9%) e o dilapiol (6,3%) como constituintes majoritários nos OEs das folhas e inflorescências, esses resultados, comparados com os da literatura, sugerem que há um quimiotipo diferente de *P. aduncum* no sudeste goiano, visto que, em grande parte dos estudos envolvendo OE das folhas de *P. aduncum*, o dilapiol ou o linalol são apontados como constituintes majoritários. A composição química do OE das inflorescências de *P. aduncum* foi relatado pela primeira vez por este estudo.

A atividade antifúngica *in vitro* frente ao fungo *S. sclerotiorum* demonstrou forte atividade antimicrobiana do óleo essencial de *P. aduncum*. Doses a partir de 20 μ L do óleo essencial das inflorescências apresentaram inibição do crescimento micelial maior que 99%. Quanto ao óleo essencial das folhas de *P. aduncum*, as doses acima de 10 μ L exibiram resultados semelhantes, apresentando valores de inibição acima de 95%. A diferença na composição química das folhas e das inflorescências pode explicar o fato de as inflorescências terem apresentado atividade antifúngica com doses menores de OE.

Foram necessários vários testes prévios para definição da metodologia de obtenção dos filmes à base de fécula de araruta. Os parâmetros envolvidos no processo

(concentração de fécula, temperaturas, velocidade de agitação, tempo de agitação) definem a qualidade dos filmes obtidos. Quando a solução filmogênica não era agitada por tempo suficiente e na temperatura adequada, por exemplo, o amido não completava seu processo de gelatinização e o filme ficava com aspecto turvo e/ou não secava completamente. A temperatura da solução filmogênica no momento da incorporação dos OEs também influenciou significativamente no desenvolvimento dos filmes incorporados com OE.

O desenvolvimento de filmes biodegradáveis e ativos à base de fécula de araruta, incorporados com óleo essencial das folhas e inflorescências de *P. aduncum*, resultou na obtenção de filmes de aspecto brilhoso e transparente, que apresentaram boas propriedades de barreira, baixa solubilidade em água e baixa permeabilidade ao vapor de água. A incorporação dos OEs melhorou a propriedade de barreira à luz UV-Vis, característica importante em filmes para embalagens de alimentos com alto teor de gordura. Além disso, os filmes apresentaram atividade antifúngica frente aos fungos *C. gloeosporioides* e *R. microsporus*, nas concentrações de 0,75% e 1,0% de OE.

Pode-se concluir, então, que os OEs extraído das folhas e inflorescências de *P. aduncum* apresentaram grande potencial para utilização, tanto no controle direto do crescimento miscelial de fungos patogênicos, quanto incorporados em matrizes biopoliméricas. A fécula de araruta é uma boa matéria-prima na obtenção de filmes biodegradáveis e ativos com a incorporação de ativos antimicrobianos, como os óleos essenciais.