

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

Desenvolvimento e avaliação de filmes biodegradáveis à base de fécula de mandioca incorporado com óleo essencial das folhas do *Cochlospermum regium* no armazenamento de morangos

Autor: Vinícius Alves do Nascimento  
Orientadora: Dra. Cristiane de Melo Cazal  
Coorientadora: Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves

Rio Verde – GO  
Dezembro - 2021

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

Desenvolvimento e avaliação de filmes biodegradáveis à base de fécula de mandioca incorporado com óleo essencial das folhas do *Cochlospermum regium* no armazenamento de morangos

Autor: Vinícius Alves do Nascimento  
Orientadora: Dra. Cristiane de Melo Cazal  
Coorientadora: Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves

Dissertação apresentada como parte das exigências 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.

Rio Verde - GO  
Dezembro – 2021

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

NN244d Nascimento, Vinícius Alves do  
Desenvolvimento e avaliação de filmes biodegradáveis a base de fécula de mandioca incorporado com óleo essencial das folhas do *Cochlospermum regium* no armazenamento de morangos / Vinícius Alves do Nascimento; orientadora Cristiane de Melo Casal; co-orientadora Cássia Cristina Fernandes Alves. -- Rio Verde, 2021.  
76 p.

Dissertação (Mestrado em Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Agroquímica) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2021.

1. Óleo Essencial. 2. Filme biodegradável. 3. Podridão Mole. I. Casal, Cristiane de Melo, orient. II. Alves, Cássia Cristina Fernandes, co-orient. III. Título.

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO

### PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS

### NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

#### IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado)                  | <input type="checkbox"/> Artigo científico              |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização)       | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input type="checkbox"/> TCC (graduação)                   | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |

Produto técnico e educacional - Tipo:


Nome completo do autor:

**Vinicius Alves do Nascimento**

Matrícula:

**2019103310310030**

Título do trabalho:

**Desenvolvimento e avaliação de filmes biodegradáveis a base de fécula de mandioca incorporado com óleo essencial das folhas do *Cochlospermum regium* no armazenamento de morangos** 

#### RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIIF Goiano: **10 / 06 / 2022**

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

#### DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

**Rio Verde**

Local

**01 / 06 / 2022**

Data

*Vinicius Alves do Nascimento*

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

*Cristiane de Melo Casal*

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
 SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
 INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 115/2021 - NREPG-RV/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE FÉCULA DE  
 MANDIOCA INCORPORADO COM ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DO *Cochlospermum regium* NO  
 ARMAZENAMENTO DE MORANGOS

Autor: Vinícius Alves do Nascimento  
 Orientadora: Cristiane de Melo Cazal

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica - Área de Concentração Agroquímica

APROVADA em 13 de dezembro de 2021.

Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Rejiane Avelar Bastos  
 Silva  
 Avaliadora externa - IF do  
 Sudeste de Minas Gerais / Campus  
 Barbacena

Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Raphaela Gabri  
 Bitencourt  
 Avaliadora externa - IF Goiano /  
 Campus Rio Verde

Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Cristiane de Melo Cazal  
 Presidente da Banca - IF do Sudeste de Minas Gerais / Campus  
 Barbacena

Documento assinado eletronicamente por:

- Raphaela Gabri Bitencourt, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 12/01/2022 14:44:10.
- Rejiane Avelar Bastos, Rejiane Avelar Bastos - 233130 - Professor de técnicas industriais - If do Sudeste de Minas Gerais - Campus Rio Pomba (10723648000220), em 16/12/2021 11:29:26.
- Cristiane de Melo Cazal, Cristiane de Melo Cazal - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (10651417000500), em 13/12/2021 18:05:57.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 13/12/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 340976

Código de Autenticação: 4fa0988127



INSTITUTO FEDERAL GOIANO  
 Campus Rio Verde  
 Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970  
 (64) 3620-5600

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Antônio Alves do Nascimento e Maristela Vidal do Nascimento pelo apoio e carinho. À minha irmã, Thaís Nascimento Bruss, pelo apoio. À minha madrinha, Rosinha, pelo apoio e carinho de sempre. À minha esposa, Hayalla Presot da Silva Pires, pela paciência diante das minhas crises de ansiedade: sou grato por todo o apoio, compreensão e carinho.

À professora Dra. Cristiane de Melo Casal, pela orientação, paciência, confiança e ensinamentos. À professora Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves, pela coorientação e por todo o apoio em Rio Verde e ensinamentos.

Às professoras Ana Carolina e Ana Paula Gomide, por todo o apoio em Rio Verde. À Larissa Liz, à Larissa Souza, à Anne Caroline, à Silvania Silva e à Chrystiane Campos, o meu muito obrigado e a minha gratidão pela ajuda nos trabalhos do mestrado e, principalmente, no desenvolvimento da minha pesquisa.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde; aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica; aos colegas de estudos e pesquisa; à Universidade Federal de São Carlos; ao Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais – Campus Barbacena; à FAPEG, ao CNPq e à CAPES pela concessão da bolsa.

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Vinícius Alves do Nascimento, filho de Antônio Alves do Nascimento e Maristela Vidal do Nascimento, natural de Barbacena (Minas Gerais), ingressou em março de 2005 no curso de Ciência e Tecnologia de Laticínios da Universidade Federal de Viçosa e graduou-se no mesmo curso em julho de 2009. Atuou na indústria de leite e derivados durante quatro anos como supervisor de qualidade e produção, encarregado de posto de resfriamento de leite e responsável técnico.

Ingressou no curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, Campus Barbacena, em agosto de 2014, no qual se graduou em agosto de 2018. Durante o curso, trabalhou em três projetos de iniciação científica e foi aluno do Programa de Iniciação à Docência.

Em março de 2019, ingressou no curso de pós-graduação em Agroquímica do Instituto Federal Goiano, sob a orientação da professora Dra. Cristiane de Melo Cazal e a coorientação da professora Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	3
<b>1.1. Óleos essenciais</b> .....	4
<b>1.3. Morangos</b> .....	6
<b>1.4. <i>R. stolonifer</i></b> .....	7
<b>1.5. Filmes biodegradáveis e fécula de mandioca</b> .....	8
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	9
<b>2.1. Objetivo geral</b> .....	9
<b>2.2. Objetivos específicos</b> .....	9
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	10
<b>3.1. Material vegetal</b> .....	10
<b>3.2. Extração do óleo essencial</b> .....	10
<b>3.3. Análise química do óleo essencial</b> .....	10
<b>3.4. Ensaio antifúngico</b> .....	11
<b>3.5. Produção dos filmes biodegradáveis</b> .....	12
<b>3.6. Caracterização dos filmes biodegradáveis</b> .....	13
<b>3.6.1. Espessura</b> .....	13
<b>3.6.2. Solubilidade em água</b> .....	13
<b>3.6.3. Transmissão de luz UV</b> .....	13
<b>3.6.4. Permeabilidade ao vapor de água</b> .....	14
<b>3.6.5. Biodegradabilidade</b> .....	15
<b>3.6.6. Diferença de cor</b> .....	15
<b>3.6.7. Análise dos resultados</b> .....	15
<b>3.7. Experimento de morangos armazenados com FB à base de OE das folhas de <i>C. regium</i></b> .....	16



<b>3.7.1. Perda de peso</b> .....	17
<b>3.7.2. Fenóis</b> .....	17
<b>3.7.3. Antocianinas</b> .....	17
<b>3.7.4. Sólidos solúveis totais</b> .....	18
<b>3.7.5. Cor da superfície</b> .....	18
<b>3.7.6. Firmeza</b> .....	19
<b>3.7.7. Decaimento simples (%)</b> .....	19
<b>3.7.8. Análise dos resultados</b> .....	19
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	20
<b>4.1. Rendimento da extração do óleo essencial</b> .....	20
<b>4.2. Composição química</b> .....	20
<b>4.3. Atividade antifúngica</b> .....	23
<b>4.4. Caracterização dos filmes</b> .....	25
<b>4.4.1. Espessura</b> .....	25
<b>4.4.2. Solubilidade em água</b> .....	27
<b>4.4.3. Taxa de transmissão da luz UV</b> .....	28
<b>4.4.4. Permeabilidade ao vapor de água</b> .....	30
<b>4.4.5. Biodegradabilidade</b> .....	32
<b>4.4.6. Diferença de cor</b> .....	35
<b>4.5. Experimento de morangos armazenados com FB à base de OE das <i>C. regium</i></b> 36	
<b>4.5.1. Perda de peso (%)</b> .....	36
<b>4.5.2. Teor de fenóis</b> .....	37
<b>4.5.3. Antocianinas totais</b> .....	38
<b>4.5.4. Sólidos solúveis totais</b> .....	40
<b>4.5.5. Cor da superfície</b> .....	41
<b>4.5.6. Firmeza</b> .....	43
<b>4.5.7. Decaimento simples (%)</b> .....	43

<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	48
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	49

## ÍNDICE DE TABELA

<b>Tabela 1</b> - Fatores e níveis codificados planejamento composto central $2^2$ contendo 3 pontos centrais .....	12
<b>Tabela 2</b> - Valores das variáveis independentes dos FBS; concentração do OE das folhas do <i>C. regium</i> (OE); tween 80 (TW 80).....	12
<b>Tabela 3</b> - Fatores e níveis planejamento composto central $2^3$ contendo 3 pontos centrais. ....	16
<b>Tabela 4</b> - Valores das variáveis independentes dos filmes biodegradáveis; concentração do óleo essencial das folhas do <i>Cochlospermum regium</i> (OE); tween 80 (TW); tempo (T). ....	16
<b>Tabela 5</b> - Composição química das folhas frescas de <i>C. regium</i> .....	20
<b>Tabela 6</b> - Valores das variáveis independentes dos FBS; concentração do OE das folhas do <i>C. regium</i> (OE); tween 80 (TW 80); imagens dos morangos armazenados. ....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – <i>C. regium</i> .....	5
<b>Figura 2</b> – Fruto colonizado pelo <i>R. stolonifer</i> .....	5
<b>Figura 3</b> – Fruto colonizado pelo <i>R. stolonifer</i> .....	7
<b>Figura 4</b> - Cromatograma obtido no CG-MS/MS para o OE das folhas do <i>C. regium</i> . Gás de arraste Hélio (He). A temperatura inicial foi mantida 60°C por 3,0 min., seguido de um acréscimo de 3°C/min até atingir 200°C e, posteriormente, foi programada para um aumento de temperatura de 15°C/min até 280°C. ....	22
<b>Figura 5</b> - Estrutura química: Mirceno (A); Bicyclogermacreno (B); .....	23
<b>Figura 6</b> - Percentual de inibição de crescimento (PIC) micelial do OE <i>in natura</i> das folhas frescas do <i>C. regium</i> frente ao <i>R. stolonifer</i> . Barras com letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa por concentração ( $p < 0,05$ ), entre os tratamentos, o controle negativo (CN) e o controle Tween 80 (TW).....	24
<b>Figura 7</b> - Gráfico de Pareto dos efeitos para Espessura (mm). ....	26
<b>Figura 8</b> - Gráfico de efeito; Concentração OE ( $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) * Espessura (mm).....	26
<b>Figura 9</b> – Gráfico de Pareto dos efeitos para Solubilidade (%). ....	27
<b>Figura 10</b> - Gráfico de efeito; Tween 80 (g) * Solubilidade (%). ....	28
<b>Figura 11</b> - Gráfico de Pareto dos efeitos para Transmitância (T280 (%)). ....	29
<b>Figura 12</b> - Gráfico de efeito; Concentração OE ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) * Transmitância (Abs280/mm). ....	29
<b>Figura 13</b> - Gráfico de Pareto dos efeitos para Permeabilidade ao vapor de água (PVA) ( $\text{g} \times \text{mm} \times \text{kPa} \times \text{h}^{-1} \times \text{mm}^2$ ).....	30
<b>Figura 14</b> - Gráfico de efeito; Concentração OE ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) * PVA ( $\text{g} \times \text{mm} \times \text{kPa} \times \text{h}^{-1} \times \text{mm}^2$ ) e Tween 80 (g) * PVA ( $\text{g} \times \text{mm} \times \text{kPa} \times \text{h}^{-1} \times \text{mm}^2$ ).....	31
<b>Figura 15</b> - Gráfico de interação; Concentração OE ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) * TW 80 (g) para PVA ( $\text{g} \times \text{mm} \times \text{kPa} \times \text{h}^{-1} \times \text{mm}^2$ ).....	32
<b>Figura 16</b> - Gráfico de Pareto dos efeitos para a Biodegradabilidade (%). ....	33
<b>Figura 17</b> – Gráfico de efeito; Concentração OE ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) * Biodegradabilidade (%) e TW 80 (g) * Biodegradabilidade (%). ....	33
<b>Figura 18</b> – Gráfico de interação; Concentração OE ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) * TW 80 (g) para Biodegradabilidade (%). ....	34
<b>Figura 19</b> - Gráfico de Pareto dos efeitos para Análise de Cor (%). ....	35

<b>Figura 20</b> - Gráfico de Pareto dos efeitos para Perda de peso (%). .....	36
<b>Figura 21</b> - Gráfico de Pareto dos efeitos para Teor de fenóis (mg GAE/g de morango). .....	38
<b>Figura 22</b> – Gráfico de Pareto dos efeitos para Antocianinas totais (mg de ant./100g de amostra). .....	39
<b>Figura 23</b> - Gráfico de efeito; tempo (dias) * AntT (mg de ant./100g de amostra).....	39
<b>Figura 24</b> -Gráfico de Pareto dos efeitos para Sólidos solúveis totais (°Brix).....	40
<b>Figura 25</b> – Gráfico de Pareto para Luminosidade (L*).....	41
<b>Figura 26</b> – Gráfico de Pareto para Cromaticidade (C*).....	42
<b>Figura 27</b> – Gráfico de Pareto para ângulo hue (h°).....	42
<b>Figura 28</b> - Gráfico de Pareto dos efeitos para Firmeza (N). .....	43
<b>Figura 29</b> - Gráfico de Pareto dos efeitos de Decaimento simples (%). .....	44
<b>Figura 30</b> - Gráfico de interação; Concentração OE (µL/mL) * Tempo (dias) para decaimento simples (%). .....	45

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

<b>BDA</b>	Batata-dextrose-ágar	
<b>TR</b>	Tempo de retenção	(min.)
<b>IR<sub>exp</sub></b>	Índice de retenção em relação aos <i>n</i> -alcanos	
<b>IR<sub>lit</sub></b>	Índice de retenção encontrado na literatura	
<b>%RA</b>	Porcentagem da área relativa	(%)
<b>NI</b>	Não identificados	
<b>PVA</b>	Permeabilidade ao vapor de água	(g x mm x kPa x h <sup>-1</sup> x mm <sup>-2</sup> )
<b>TW</b>	Tween	
<b>OE</b>	Óleo essencial	
<b>Abs</b>	Absorbância	
<b>FB</b>	Filme biodegradável	
<b>FBS</b>	Filmes biodegradáveis	
<b>μL</b>	Microlitros	
<b>mL</b>	Mililitros	
<b>UV</b>	Ultravioleta	
<b>nm</b>	Nanômetro	
<b>%</b>	Porcentagem	
<b>°C</b>	Grau Celsius	
<b>PVC</b>	Policloreto de vinila	
<b>g</b>	Gramas	
<b>kPa</b>	Kilopascal	
<b>h</b>	Hora	
<b>mm</b>	Milímetro	
<b>ANOVA</b>	Análise de variância	
<b>ΔE</b>	Diferença de cor	
<b>CIE</b>	Commission Internationale de l'Eclairage	
<b>SST</b>	Sólidos solúveis totais	
<b>N</b>	Newton	

## RESUMO

NASCIMENTO, VINÍCIUS ALVES. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, dezembro de 2021. **Desenvolvimento e avaliação de filmes biodegradáveis à base de fécula de mandioca incorporado com óleo essencial das folhas do *Cochlospermum regium* no armazenamento de morangos.** Orientadora: Dra. Cristiane de Melo Casal. Coorientadora: Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves.

O *Rhizopus stolonifer* (*R. stolonifer*) é um fungo fitopatígeno pós-colheita pertencente à classe dos zigomicetos, que causam podridão mole em frutos e vegetais. Os seus esporos, presentes nos ambientes de embalagem e comercialização, podem apodrecer facilmente estes alimentos. Dentro deste contexto, o presente trabalho desenvolveu e avaliou filmes biodegradáveis (FBS) à base de fécula de mandioca incorporados com óleo essencial (OE) das folhas do *Cochlospermum regium*, no armazenamento de morangos. O OE foi analisado em cromatógrafo a gás. O ensaio de atividade antifúngica utilizado foi o de difusão de disco. Os FBS foram caracterizados pela determinação da espessura, solubilidade em água, transparência, permeabilidade ao vapor de água e biodegradabilidade. Os morangos foram avaliados através da perda de peso, do decaimento simples, do teor de fenóis, do teor de antocianinas, do teor de sólidos solúveis totais, da firmeza e da cor da superfície. Os compostos majoritários encontrados no OE foram os seguintes: Mirceno (36,45%), Biciclogermacreno (21,30%), Germacreno D (7,43%) e Espatulanol (5,65%). À luz do nosso conhecimento, não existe registro da análise química do óleo essencial das folhas frescas do *C. regium* na literatura. FBS com 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  do OE em sua formulação tiveram maiores valores para a espessura, a barreira a luz  $\text{UV}_{280\text{nm}}$  e a permeabilidade ao vapor de água. Nos FBS com 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  do OE e 0,0625g de tween 80 a biodegradabilidade foi superior a 60%. O peso, a textura, o teor de fenóis, os sólidos solúveis totais e o decaimento simples reduziram com o passar do tempo. Já o teor de antocianinas aumentou. Adicionalmente, os morangos ficaram mais vermelhos, escuros e com menor brilho. Os FBS com OE a 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  apresentaram forte atividade contra o surgimento de manchas marrons e mofo cinza visível na superfície dos morangos. Os parâmetros luminosidade, cromaticidade e grau Hue indicaram maturação dos morangos. Em dose maior de incorporação, OE 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , os FBS apresentaram

potencial para serem utilizados no desenvolvimento de embalagens ativas e biodegradáveis para o armazenamento de morangos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Óleo Essencial, Filme Biodegradável, Podridão Mole.



## ABSTRACT

NASCIMENTO, VINICIUS ALVES. Goiano Federal Institute of Education, Science and Technology - Rio Verde Campus, December 2021. **Development and evaluation of biodegradable films based on cassava starch incorporated with essential oil from *Cochlospermum regium* leaves in strawberry storage.** Advisor: Dra. Cristiane de Melo Cazal. Co-advisor: Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves.

*Rhizopus stolonifer* is a postharvest phytopathogenic fungus belonging to the zygomycete class that causes soft rot in fruits and vegetables. Its spores, present in packaging and marketing environments, can easily rot these foods. Within this context, the present work developed and evaluated biodegradable films (FBS) based on cassava starch incorporated with essential oil (EO) from the leaves of *Cochlospermum regium* in the storage of strawberries. The EO was analyzed in a gas chromatograph. The antifungal activity assay used was the disk diffusion assay. The FBS were characterized by the determination of thickness, water solubility, transparency, water vapor permeability and biodegradability. Strawberries through weight loss, simple decay, phenol content, anthocyanin content, total soluble solids content, firmness and surface color. The major compounds found in the EO were: Myrcene (36.45%), Bicyclogermacrene (21.30%), Germacrene D (7.43%) and Spatulanol (5.65%), to our knowledge there is no record of chemical analysis of essential oil from fresh leaves of *C. regium* in the literature. FBS with 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  of EO in its formulation had higher values for thickness, UV 280nm light barrier and water vapor permeability. In FBS with 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  of EO and 0.0625g of tween 80, biodegradability was greater than 60%. The weight, texture, content of phenols, total soluble solids and simple decay reduced over time, whereas the anthocyanin content increased. Additionally, the strawberries became redder, darker and less shiny. FBS with EO at 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  showed strong activity against the appearance of brown spots and visible gray mold on the surface of strawberries. The parameters luminosity, chromaticity and degree of Hue indicated ripening of strawberries. At a higher incorporation dose, EO 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , the FBS showed potential to be used in the development of active and biodegradable packaging for the storage of strawberries.

**KEYWORDS:** Essential Oil, Biodegradable Film, Soft Rot.

## 1. INTRODUÇÃO

As embalagens ativas possuem aditivos em sua estrutura química que interagem com o alimento para assegurar proteção, qualidade sensorial, aumento da vida de prateleira e segurança alimentar (BRAGA; SILVA, 2017). As embalagens antimicrobianas, um dos sistemas que engloba o conceito de embalagens ativas, possuem, em sua estrutura, aditivos antimicrobianos que podem conferir atividade antifúngica e/ou antibacteriana, auxiliando na conservação dos alimentos (SARANTÓPOULOS; COFCEWICZ, 2016). Os óleos essenciais, provenientes da extração das partes dos vegetais, podem apresentar atividades antimicrobianas e, ao serem incorporados na estrutura das embalagens, tornam-se um aditivo natural interessante no combate ao desenvolvimento de microrganismos comprometedores da qualidade dos alimentos (ALMEIDA, 2017).

A composição química dos óleos essenciais determina as propriedades antimicrobianas (OOTANI *et al.*, 2013). Os óleos essenciais são formados por compostos bioativos, representados, principalmente, pelos terpenos, que conferem as diferentes aplicações na medicina, agricultura, entre outras (JUGREET *et al.*, 2020). A produção dos compostos bioativos constituintes dos óleos essenciais depende de fatores bióticos e abióticos (SILVESTRE *et al.*, 2019). Os fatores bióticos constituem os estímulos provenientes de substâncias biológicas, ou seja, são produzidas nos organismos vivos e os fatores abióticos através de estímulos químicos e/ou físicos (THAKUR *et al.*, 2019).

O cerrado brasileiro é rico em substâncias bioativas (SCHIASSI *et al.*, 2018). As partes do *Cochlospermum regium* (*C. regium*), planta nativa do cerrado e popularmente conhecida como algodãozinho, são utilizadas com fins terapêuticos para combater feridas e infecções. Os extratos das folhas do *C. regium*, por exemplo, são uma alternativa para tratar infecções de *Staphylococcus aureus* (GALVÃO, 2020). Diante das alegações populares e de comprovações científicas dos benefícios dos compostos bioativos no combate à microrganismos patogênicos, torna-se interessante investigar o potencial antifúngico do óleo essencial das folhas do *C. regium* frente ao desenvolvimento do *R. stolonifer*.

O *R. stolonifer* é o agente causador de podridão em frutos. Os seus esporos, presentes nos ambientes de embalagem e comercialização, podem apodrecer facilmente as frutas (KONG *et al.*, 2019). Os morangos possuem vida útil reduzida devido à podridão

causada por fungos (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Lesões nos frutos são porta de entrada para os esporos dos fungos, com consequente surgimento da podridão mole (BAUTISTA-BAÑOS *et al.*, 2014). O desenvolvimento de embalagens ativas contendo FBS incorporados com óleos essenciais (OES) pode ser uma alternativa natural para aumentar o tempo de armazenamento de morangos (SHANKAR *et al.*, 2021). Os FBS à base de amido têm sido alvo de muitas investigações devido à sua disponibilidade na natureza e, no caso de amidos com alto teor de amilose, apresentam propriedades desejadas como a resistência mecânica, barreira a gases e biodegradabilidade (CHEN *et al.*, 2017).

### 1.1. Óleos essenciais

Os OES auxiliam na adaptação das plantas no meio onde elas se encontram e são amplamente utilizados na fabricação de produtos cosméticos e farmacêuticos. Os terpenos são as substâncias predominantes na constituição dos óleos essenciais, destacando-se os monoterpenos e os sesquiterpenos (BAKKALI *et al.*, 2007). Estes metabólitos secundários conferem propriedades medicinais aos óleos essenciais, tais como atividades antiinflamatórias e antivirais, e também auxiliam na defesa dos vegetais contra microrganismos patogênicos (JAMIOIKOWSKA; KOPACKI, 2020; MISHRA *et al.*, 2020).

As propriedades antimicrobianas dos OES os colocam em destaque no desenvolvimento de tecnologia natural de conservação de alimentos devido à procura de segurança alimentar, o que se soma ao apelo de consumidores por conservantes naturais (CORTEZ *et al.*, 2015). Também apresentam baixa toxicidade nos organismos dos mamíferos e, dependendo da sua origem vegetal, podem apresentar atividade antifúngica (PANDEY *et al.*, 2014).

### 1.2. *C. regium*

O cerrado brasileiro é o segundo bioma mais rico do Brasil, abrangendo, principalmente, a região centro-oeste e ocupando cerca de dois milhões de km<sup>2</sup> do território do país. O seu bioma é composto por mais 7.000 espécies de plantas nativas: herbáceas, arbustivas, arbóreas e cipós (DEL-CLARO; TOREZAN-SILINGARDI, 2019).

O *C. regium* (Figura 1) é uma planta encontrada facilmente no cerrado brasileiro. É um arbusto pertencente à família Bixaceae (ARUNACHALAM, *et al.*, 2019). Todas as

partes da planta são utilizadas na medicina popular: raiz, caule, folhas (Figura 2) e flor, entre outras. Segundo registros e relatos do conhecimento popular, os chás das folhas, dos caules, das flores, da raiz e de outras partes são ingeridos para combater infecções no útero, na próstata e nas vias urinárias, além de promover uma ótima cicatrização em ferimentos (LEME *et al.*, 2017).

**Figura 1** – *C. regium*



Fonte: Autoria própria

**Figura 2** – Fruto colonizado pelo *R. stolonifer*



Fonte: Autoria própria

Nos estudos de Menezes Filho *et al.* (2020a, 2020b), o OE da flor do *C. regium* apresentou atividade antifúngica frente ao desenvolvimento da *Sclerotinia sclerotiorum* no ensaio biológico *in vitro*. E os OES das raízes e das folhas apresentaram atividade antifúngica frente ao desenvolvimento do *S. sclerotiorum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. A análise química do OE das flores identificou o cariofileno E (9,76%),

o  $\gamma$ -muuroleno (16,69%) e o biciclogermacreno (39,82%) como os compostos majoritários. A análise química do OE das folhas secas do *C. regium*, no estudo de Inácio *et al.*, (2014) em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas, revelou os compostos  $\beta$ -copaen-4- $\alpha$ -ol (18,73%), seguido pelo viridiflorol (12,67%) como majoritários. A extração do OE realizada em aparelho tipo clevenger apresentou rendimento de 0,2%.

Sabe-se que os OES são importantes para a defesa e adaptação das plantas e que são formados por metabólitos secundários que podem apresentar propriedade fungicida/fungistática (PAVELA; BENELLI, 2016).

Os fungos podem comprometer a qualidade dos alimentos e o estudo do OE *in natura* das folhas do algodãozinho do cerrado pode ser uma alternativa natural no combate ao *R. stolonifer* durante o armazenamento de morangos.

### 1.3. Morangos

A produção de morangos possui relevância no cenário econômico brasileiro e gera renda para os pequenos produtores espalhados pelo país (FONTANA *et al.*, 2021). Atrela-se ao consumo de morangos a ingestão de substâncias antioxidantes, representadas principalmente pelos fenóis (PANICO *et al.*, 2009). O teor total de compostos fenólicos nos morangos varia de 38 a 218 mg/100 g de fruta, mas podem ocorrer valores diferentes. A produção destes compostos depende do tipo e estrutura do solo, das espécies e de cultivares e fatores ambientais (MUSA, 2016).

As antocianinas, principais compostos fenólicos encontrados nos morangos, são acumuladas nos vacúolos das células vegetais e produzidas sob estresse da planta, conferindo as cores roxo, vermelho, violeta e azul na natureza. O teor de antocianinas em morangos varia de 150-600 mg/kg do fruto (LÓPEZ-ORTIZ *et al.*, 2019).

A promoção de saúde atribuída ao consumo de morangos compreende efeitos positivos no sistema digestivo até a sinalização de expressão gênica (AABY *et al.*, 2012).

Os morangos são classificados como não climatéricos, ou seja, devem ser colhidos maduros, com aroma, textura e cor desejados pelos consumidores. São suscetíveis à contaminação por fungos causadores de podridão durante o armazenamento, pois apresentam alta taxa de umidade e nutrientes suficientes para o desenvolvimento dos microrganismos (PASSAGLIA, 2017).

#### 1.4. *R. stolonifer*

O *R. Stolonifer* é um fungo responsável por uma doença conhecida como podridão mole ou *R. stolonifer* podridão do *rhizopus* em frutos e vegetais (ZHOU *et al.*, 2019). Os seus esporos são facilmente encontrados no ar e no solo, o que exige cuidados e higiene durante o armazenamento, na embalagem e no transporte. Em condições de desenvolvimento, o fungo produz facilmente hifas densas e cinzas na superfície dos frutos. Pequenas aberturas nos tecidos dos frutos são suficientes para a penetração dos esporos e consequente desenvolvimento do *R. stolonifer*. Hifas curtas e muitos esporos são observados em condições de baixa umidade e hifas maiores e poucos esporos são observados em condições de alta umidade (BAUTISTA-BAÑOS; BOSQUEZ-MOLINA; BARRERA-NECHA, 2014; OLIVEIRA; FILHO, 2007).

É comum encontrar frutos doentes no comércio. As hifas acinzentadas, halo aquoso e esporos escuros são observados nos alimentos colonizados pelo *R. stolonifer* (Figura 3). Temperaturas elevadas e umidade relativa alta são condições ideais para a produção rápida de hifas e esporos. Sem o manejo correto de acondicionamento dos frutos e sem o resfriamento adequado, o fungo alastra-se facilmente para os frutos adjacentes. Bactérias e leveduras também podem colonizar os tecidos, fazendo surgir odores desagradáveis (BAUTISTA-BAÑOS; BOSQUEZ-MOLINA; BARRERA-NECHA, 2014).

**Figura 3** – Fruto colonizado pelo *R. stolonifer*



Fonte: Agrolink, 2019.

## 1.5. Filmes biodegradáveis e fécula de mandioca

O desenvolvimento de FBS para embalagens de alimentos é uma alternativa para contornar os problemas ambientais relacionados diretamente à produção e ao consumo de embalagens plásticas e metálicas. As embalagens possuem a proteção como principal função e, dependendo da sua constituição, podem interagir com o alimento e garantir o aumento da sua vida de prateleira (ROCHA *et al.*, 2014).

O biopolímero de fécula de mandioca é um dos principais extraídos de vegetais para a produção de FBS. Filmes à base de amido apresentam propriedades de barreira e tensão na ruptura que são atribuídas ao teor de amilose. A adição de glicerol na formulação confere homogeneidade na matriz polimérica, através da interferência nas ligações de hidrogênio e nas interações macromoleculares durante o rearranjo da amilopectina que conferem efeito plastificante (MATHEUS *et al.*, 2021). Por outro lado, também confere higroscopicidade e alta permeabilidade ao vapor de água, propriedades que podem ser amenizadas através da adição dos OES (CAETANO *et al.*, 2018).

A fécula de mandioca possui grânulos redondos de tamanho entre 5 e 35  $\mu\text{m}$ . Possui teor de proteínas e lipídios em torno de 0,2% e gelatiniza entre 60°C e 80°C (WHEATLEY *et al.*, 2003). Os FBS se degradam facilmente na natureza (CAETANO *et al.*, 2018).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Desenvolver e avaliar filmes à base de fécula de mandioca incorporados com óleo essencial das folhas do *Cochlospermum regium* no armazenamento de morangos.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Avaliar a composição química e atividade antifúngica do OE das folhas frescas de *C. regium* frente ao desenvolvimento do *R. stolonifer*;
- Produzir e caracterizar os FBS à base de fécula de mandioca incorporados com OE das folhas frescas de *C. regium*;
- Avaliar os morangos armazenados com FBS à base de fécula de mandioca incorporados com OE das folhas de *C. regium*.



### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Material vegetal**

As folhas do *C. regium* foram coletadas na região rural da cidade de Rio Verde – Goiás, no período das 08:00 às 10:00, em novembro de 2019 e em fevereiro de 2020, sendo ambos meses demarcados por chuvas. As coordenadas geográficas do local da coleta são: 17°47'15.9''S 50°57'58.6''W.

#### **3.2. Extração do óleo essencial**

O OE das folhas do *C. regium* foi extraído após a colheita. Utilizou-se o método de arraste por vapor d'água. Foram adicionados 250g de folhas frescas do *C. regium* trituradas a um balão de fundo redondo de 3000 mL, contendo 1500 mL de água destilada. O balão acoplado a um aparelho tipo clewenger foi posicionado sobre uma manta de aquecimento. Após a hidrodestilação de 4 horas, o hidrolato foi adicionado a um funil de separação contendo 20 mL de diclorometano para obtenção da fase orgânica. Esta etapa foi realizada em triplicata. Utilizou-se sulfato de sódio anidro como agente de secagem da fase orgânica, o qual foi removido através de filtração simples. O diclorometano foi eliminado com auxílio do rotaevaporador. O OE foi obtido em peso constante após permanecer por alguns minutos na capela de exaustão. O rendimento foi calculado através da relação da massa do OE com a massa de material vegetal utilizado na extração (ZHANG *et al.*, 2015).

#### **3.3. Análise química do óleo essencial**

A análise química foi realizada em parceria com a Universidade Federal de São Carlos, localizada em São Carlos, São Paulo. O OE das folhas frescas do *Cochlospermum regium* foi dissolvido em hexano e analisado em cromatógrafo a gás acoplado a Espectrômetro de Massas Sequencial (CG-MS/MS), equipado com auto-injetor (Combi PAL AOC-5000 Shimadzu), coluna Restec Rtx-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) fundida com sílica e Espectrômetro de Massas Sequencial (MSTQ8030 Shimadzu) e detector por ionização por impacto eletrônico (IE) (70 eV).

A temperatura inicial foi de 60°C por 3,0 min, seguido de um acréscimo de 3°C/min até se atingir 200°C. Posteriormente, programou-se um aumento de temperatura de 15°C/min até 280°C, sendo a temperatura do injetor de 230°C.

Os dados de separação e seus tratamentos foram realizados utilizando-se o Software CGMS Real Time Analysis®. A identificação dos componentes do óleo foi baseada no índice de retenção linear (índice de Kovats (IK), calculado em relação aos tempos de retenção da série homóloga de *n*-alcanos (C-07 a C-40) e no padrão de fragmentação observado no espectro de massas, por comparação destes com dados da biblioteca do equipamento.

### 3.4. Ensaio antifúngico

A metodologia utilizada no ensaio de atividade antimicrobiana foi a de difusão de disco por Diánez *et al.* (2018) em câmara de fluxo laminar. O ensaio foi realizado no laboratório de microbiologia agrícola do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde.

Foram preparadas soluções de OE das folhas de *C. regium* de concentrações 600 µL.mL<sup>-1</sup>; 300 µL.mL<sup>-1</sup>; 150 µL.mL<sup>-1</sup>; 75 µL.mL<sup>-1</sup> e 37,5 µL.mL<sup>-1</sup> em Tween 80 a 5%. As soluções foram preparadas a partir de uma solução estoque de 600 µL.mL<sup>-1</sup>.

Alíquotas de 100 µL de cada solução foram dispersas com o auxílio de uma alça de Drigalski na superfície do meio de cultura BDA solidificado em placas de petri. Discos de 5 mm do micélio de *R. stolonifer* foram posicionados no centro das placas. As mesmas foram protegidas com papel filme PVC, identificadas e incubadas a 28 ± 2°C. Foram utilizados dois controles positivos, um com o micélio e o outro com o micélio e Tween 80 (TW 80) a 5%.

Os diâmetros dos halos de crescimento micelial dos tratamentos foram medidos com auxílio de um paquímetro. As medições se encerraram quando ocorreu o crescimento total das colônias nas placas controle. Os tratamentos foram realizados em quadruplicata. A atividade antifúngica foi determinada através do Percentual de Inibição de Crescimento (PIC) (Equação 1) (AL-REZA *et al.*, 2010). A porcentagem foi calculada a partir da média do crescimento micelial de cada tratamento em relação ao crescimento micelial das placas controle.

$$\text{PIC (\%)} = \frac{\text{crescimento do controle} - \text{crescimento do tratamento}}{\text{crescimento do controle}} \quad (1)$$

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. As variáveis foram submetidas à análise de variância (ANOVA) no software SISVAR e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

### 3.5. Produção dos filmes biodegradáveis

Os FBS foram produzidos pelo método de *casting* descrito por Valadares *et al.* (2020), à base de fécula de mandioca e incorporados ao OE das folhas do *C. regium*, através de um planejamento composto central 2<sup>2</sup>, contendo 3 pontos centrais (Tabelas 1 e 2).

**Tabela 1** - Fatores e níveis codificados planejamento composto central 2<sup>2</sup> contendo 3 pontos centrais

Fatores	Níveis		
	-1	0	1
Óleo essencial ( $\mu\text{L}.\text{mL}^{-1}$ )	25	50	75
Tween 80 (g)	0,0625	0,125	0,1875

**Tabela 2** - Valores das variáveis independentes dos FBS; concentração do OE das folhas do *C. regium* (OE); tween 80 (TW 80).

n°	Variáveis independentes	
	OE ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	TW 80 (g)
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

Inicialmente, foram preparados 10 mL de soluções contendo água destilada e fécula de mandioca na concentração 5% (p/v) e aquecidas sob agitação constante até se atingir 80°C. Foi adicionado 1% (p/v) de glicerol após a gelatinização do amido e o início do resfriamento sob agitação constante. Após atingir 40°C, foram transferidos TW 80 e OE das folhas do *C. regium* em quantidades definidas pelo esquema fatorial completo 2<sup>2</sup> com 3 pontos centrais (Tabelas 1 e 2). O sistema de agitação foi desligado após 15 minutos. Alíquotas de 10 mL da solução filmogênica foram transferidas para embalagens plásticas utilizadas na comercialização de morangos, de dimensões 8 cm x 8 cm, nas quais

aquelas permaneceram em processo de secagem em temperatura ambiente  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  até o desprendimento dos FBS.

### 3.6. Caracterização dos filmes biodegradáveis

#### 3.6.1. Espessura

As espessuras foram determinadas conforme o descrito por Shankar *et al.* (2021) com modificações. Foram realizadas 10 medições por filme biodegradável (FB): 9 nas bordas e 1 no centro, com o auxílio de um micrômetro manual Warszawa de precisão 0,01 mm. Foi calculada a média (mm) das medidas da espessura dos FBS.

#### 3.6.2. Solubilidade em água

A solubilidade em água foi determinada conforme descrito por Valadares *et al.* (2020) com modificações. Os FBS foram cortados em quadrado de área igual a  $4\text{ cm}^2$ , secos em estufa a  $105^{\circ}\text{C}$ , no período de 3 horas, e pesados em balança analítica. Após a pesagem, os mesmos foram transferidos individualmente para erlenmeyers contendo 50 mL de água destilada que ficaram sob agitação constante durante 24 horas. Posteriormente, os FBS foram removidos das soluções através de filtração e, em seguida, secos em estufa a  $105^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Posteriormente, foram pesados em balança analítica. A solubilidade dos FBS foi determinada utilizando-se a Equação 2.

$$\text{Solubilidade em água (\%)} = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad (2)$$

$M_i$  = massa inicial do FB;

$M_f$  = Massa final do FB.

#### 3.6.3. Transmissão de luz UV

A transmissão de luz UV foi determinada conforme descrito por Shankar *et al.* (2021) com modificações. Foram realizados cortes retangulares nos FBS e fixados na parede interna da cubeta para leitura da transmitância em espectrofotômetro a 280 nm. A transparência foi calculada através da equação 3.

$$\text{Transmissão} \left( \text{Abs} \frac{280}{\text{mm}} \right) = - \frac{\log T}{X} \quad (3)$$

T = transmitância em 280 nm;

X = espessura do FB em mm.

### 3.6.4. Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi avaliada conforme o método ASTM E96-80 com modificações. Os FBS foram fixados na abertura de balão volumétrico contendo 5g de água destilada. Os balões volumétricos foram colocados em embalagens de vidro contendo sílica gel azul e fechadas com tampa e protegidas da umidade externa. A massa dos balões volumétricos foi medida de hora em hora, no período de 8 horas e 32 horas após o início da análise.

A taxa de transmissão de vapor de água (TVA) foi determinada através da regressão linear, conforme a Equação 4.

$$\text{TVA} \left( \text{g} \times \text{h}^{-1} \times \text{mm}^{-2} \right) = \frac{G}{t \times A} \quad (4)$$

G = variação da medida da massa do balão volumétrico (g);

t = tempo (h);

A = área da boca do balão volumétrico (m<sup>2</sup>);

A permeabilidade ao vapor de água foi calculada através da Equação 5.

$$\text{PVA} \left( \text{g} \times \text{mm} \times \text{kPa} \times \text{h}^{-1} \times \text{mm}^{-2} \right) = \frac{\text{TVA} \times X}{\Delta P} \quad (5)$$

TVA = taxa de transmissão de vapor (g x h<sup>-1</sup> x m<sup>-2</sup>);

X = espessura do FB (mm);

ΔP = diferença de vapor de água entre o ambiente contendo a sílica e a água destilada (kPa).

### 3.6.5. Biodegradabilidade

A biodegradabilidade em água foi determinada conforme descrito por Valadares *et al.* (2020) com modificações. Amostras do FB de área igual a 4 cm<sup>2</sup> e peso constante foram enterradas individualmente, durante 25 dias, em potes de plástico de polietileno contendo terra orgânica. Os potes permaneceram abertos para permitir a penetração de umidade e de microrganismos em ambiente com temperatura e umidade constantes. A biodegradabilidade foi calculada através da Equação 6.

$$\text{Biodegradabilidade (\%)} = \frac{M_f - M_i}{M_i} \times 100 \quad (6)$$

$M_i$  = Massa inicial do FB (g);

$M_f$  = Massa final do FB (g).

### 3.6.6. Diferença de cor

A diferença de cor foi determinada conforme descrito por Melo (2020) com modificações. A análise de cor dos filmes foi realizada com o auxílio de um colorímetro portátil – CR 400, usando os padrões CIE-Lab. O espaço de cor L\*a\*b\* criado pela CIE (Commission Internationale de l'Éclairage) avalia a luminosidade através do L\* e a cromaticidade através de a\* e b\*. A leitura foi realizada diretamente nos FBS apoiados em fundo branco. A leitura determinou a luminosidade (L\*) e os parâmetros de cromaticidade (a\* e b\*).

As medições foram realizadas colocando a amostra de FB sobre fundo branco. Foi calculado o  $\Delta E$  a partir destes parâmetros (Equação 7).

$$\Delta E = [ (\Delta L)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 ] \quad (7)$$

$\Delta E$  = Diferença total de cor.

### 3.6.7. Análise dos resultados

Os resultados foram analisados por meio de regressão fatorial e análise de variância ANOVA no software MINITAB19.

### 3.7. Experimento de morangos armazenados com FB à base de OE das folhas de *C. regium*

Os morangos foram coletados maduros e selecionados na zona rural de Barbacena, Minas Gerais, e transportados imediatamente para o laboratório de Análise Instrumental do Núcleo de Química do Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, no Campus Barbacena, Minas Gerais.

Seis morangos foram acomodados em embalagem transparente (PVC/PET) de dimensões 8 cm x 8 cm, totalizando 11 embalagens conforme o planejamento composto central  $2^3$  contendo 3 pontos centrais (Tabelas 3 e 4). Os FBS foram fixados na parte inferior da tampa e não tiveram contato físico com os frutos. Os frutos foram armazenados sob condições térmicas de 5°C a 10°C, intervalo de temperatura de armazenamento encontrado nas gôndolas dos mercados. Os morangos possuem, em média, de 3 a 5 dias de vida de prateleira. No presente estudo, conforme o planejamento estatístico utilizado, os frutos foram avaliados nos dias 0, 6 e 12.

**Tabela 3** - Fatores e níveis planejamento composto central  $2^3$  contendo 3 pontos centrais.

Fatores	Níveis		
	-1	0	1
Óleo essencial ( $\mu\text{L.mL}^{-1}$ )	25	50	75
Tween 80 (g)	0,0625	0,125	0,1875
Tempo (dias)	0	6	12

**Tabela 4** - Valores das variáveis independentes dos filmes biodegradáveis; concentração do óleo essencial das folhas do *Cochlospermum regium* (OE); tween 80 (TW); tempo (T).

n°	Variáveis independentes		
	OE ( $\mu\text{L/mL}$ )	TW 80 (g)	T (dias)
1	1	1	1
2	1	1	-1
3	1	-1	-1
4	1	-1	1
5	-1	-1	-1
6	-1	1	1
7	-1	-1	1
8	-1	1	-1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

### 3.7.1. Perda de peso

A perda de peso foi determinada conforme descrito por Shankar *et al.* (2021) com modificações. Os morangos foram pesados em balança analítica. O peso foi determinado em relação ao peso inicial de todos os tratamentos (Equação 8).

$$\text{Perda de peso (\%)} = \frac{P_f - P_i}{P_f} \times 100 \quad (8)$$

### 3.7.2. Fenóis

A determinação do teor de fenóis foi realizada conforme descrito por Shankar *et al.* (2021) com modificações. Foi utilizado o método Folin-Ciocalteu. Foram adicionados a um béquer: 5 mL de água destilada e 4g de morangos previamente triturados. A mistura foi submetida à agitação por 5 minutos. Foram adicionados 50 mL de etanol absoluto e submetidos à agitação por 2 horas, seguido de filtração. Uma alíquota de 25 mL do filtrado e de 2,75 mL de Folin-Ciocalteu 3% foram transferidos para um tubo de ensaio e agitados por 10 segundos no vórtex. Foram adicionados 0,25 mL de carbonato de sódio 10%, o qual foi agitado novamente em vórtex durante 10 segundos. O tubo de ensaio ficou em repouso durante 60 minutos na ausência de luz. Após este período, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 765 nm. Os valores de absorbância dos tratamentos foram utilizados para determinar a concentração de ácido equivalente (AGE) mg/100g de massa fresca.

### 3.7.3. Antocianinas

A determinação do teor de fenóis foi realizada conforme descrito por Rigolon *et al.* (2020) com modificações. As antocianinas foram determinadas pelo método do pH único. Foram misturadas 5g de morango com 40 mL de etanol:HCl (85:15) e homogeneizados por 1 min. A mistura foi filtrada e o filtrado foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL que foi preenchido com água destilada. Foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 535 nm. O cálculo do teor de antocianinas pela Equação 9.

$$\text{AntT} = \frac{\text{Abs} \times \text{PM} \times \text{fd}}{\epsilon} \times 1000 \quad (9)$$



AntT = antocianinas totais (mg de ant. / 100g de amostra);

Abs = absorvância;

PM = massa molar da cianidina-3-glicosídeo;

fd = fator de diluição;

$\varepsilon$  = coeficiente de extinção molar da cianidina-3-glicosídeo.

### 3.7.4. Sólidos solúveis totais

A sólidos solúveis totais foram determinados conforme descrito por Shankar *et al.* (2021) com modificações. Os morangos foram macerados em cadinhos de porcelana e filtrados com um pano de algodão. O teor de sólidos solúveis totais foi determinado com auxílio de um refratômetro digital portátil Milwaukee MA871. Os resultados foram expressos em °Brix.

### 3.7.5. Cor da superfície

A cor da superfície foi determinada conforme descrito por Oliveira (2017) com modificações. Medidas da cor dos morangos foram realizadas com o auxílio de um colorímetro Chroma Meter CR-400 – Konica Minolta, calibrado com uma placa de padrão branco,  $L^* = 42,60$ ,  $a^* = 27,45$  e  $b^* = 20,95$ . O espaço  $L^*C^*h^\circ$  é um espaço de coordenadas criado pela CIE (Commission Internationale de l'Éclairage) que avalia a luminosidade -  $L^*$  (preto (0) a branco (100)), a cromaticidade -  $C^*$  (saturação – distância do centro até o ponto da cor) e o  $h^\circ$  (ângulo no espaço radial) (Figura 29) (FERREIRA; SPRICIGO, 2017).

Foram realizadas as medidas de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , de 5 pontos diferentes da superfície dos morangos e calculados  $C^*$  e  $h^\circ$  (Equações 10 e 11).

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (10)$$

$$h = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (11)$$

Os valores dos parâmetros  $L^*$ ,  $C^*$  e  $h^\circ$  em estudo de vida de prateleira de morangos são interpretados como indicadores de maturação (ALVES *et al.*, 2017).

### 3.7.6. Firmeza

A firmeza foi determinada conforme descrito por Shankar *et al.* (2021) com modificações. Foi medida com a força máxima através do aparelho Texture Analyser TA.XT Express, o qual foi ajustado para penetrar 6 mm no fruto através de uma sonda cilíndrica de 2 mm de diâmetro a uma velocidade de 1 mm/s.

### 3.7.7. Decaimento simples (%)

O percentual do decaimento simples foi determinado através da Equação 12, em que  $n_{\text{infec}}$  é o número de morangos com mofo cinza visível, manchas marrons ou amolecimento de área ferida na embalagem e  $n_{\text{total}}$  é o número total de morangos na embalagem.

$$\text{Decaimento simples} = \frac{n_{\text{infec}}}{n_{\text{total}}} \times 100 \quad (12)$$

A avaliação ocorreu nos dias 0, 6 e 12 de armazenamento dos morangos. Mofo cinza visível, manchas marrons e amolecimento de área ferida são indicadores de podridão (SHANKAR *et al.*, 2021).

### 3.7.8. Análise dos resultados

Os resultados foram analisados por meio de regressão fatorial e análise de variância ANOVA no software MINITAB19.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Rendimento da extração do óleo essencial

O OE apresentou coloração verde clara e nele foi percebido um aroma característico. O rendimento médio das extrações de dezembro de 2019 foi de  $0,24\% \pm 0,006$  e das extrações de fevereiro de 2020 foi de  $0,25\% \pm 0,004$ . Esses valores possuem uma pequena diferença em relação ao rendimento da extração do OE das folhas secas do *C. regium* obtido no estudo de Inácio *et al.*, (2014), que registrou o rendimento de 0,20%. Menezes *et al.* (2020b) registraram rendimento de 0,168%.

### 4.2. Composição química

Foram detectados 75 compostos e identificados outros 41 na análise química do OE das folhas frescas do *C. regium* (Tabela 5). O cromatograma obtido pela análise química realizada em cromatógrafo a gás acoplado a Espectrômetro de Massas Sequencial (CG-MS/MS) está representado pela Figura 4.

**Tabela 5** - Composição química das folhas frescas de *C. regium*.

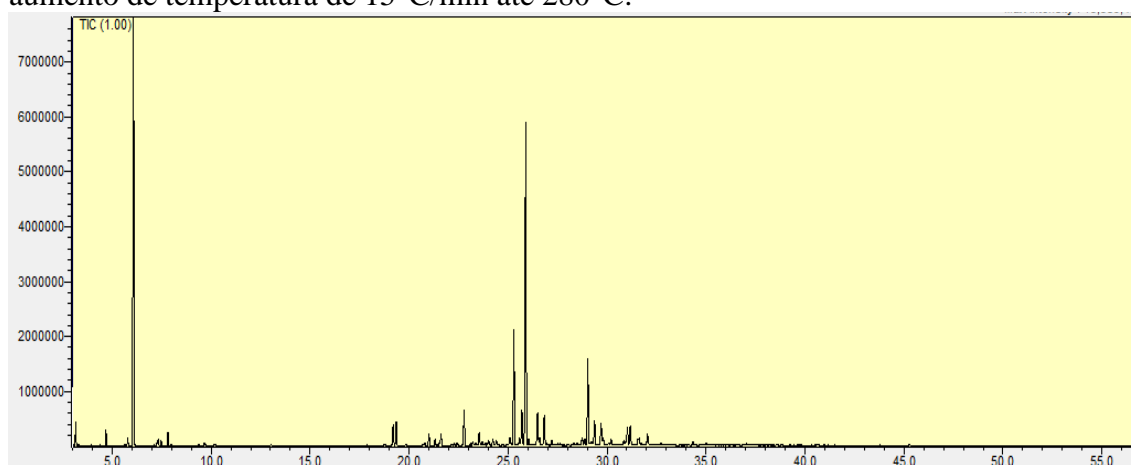
Composto	TR (min)	RI <sub>EXP</sub>	RI <sub>LIT</sub>	%RA
NI	3,157			1,06
Alfa-pineno	4,686	931	932	0,69
Sabineno	5,636	970	969	0,02
Beta-pineno	5,787	976	974	0,36
Mirceno	6,076	988	988	36,45
Orto-cimeno	7,131	1023	1022	0,05
Limoneno	7,279	1027	1024	0,12
Beta-felandreno	7,334	1029	1025	0,16
Cis-beta-ocimeno	7,474	1033	1032	0,22
Trans-beta-ocimeno	7,817	1043	1044	0,53
NI	9,653	1097		0,08
NI	18,774	1318		0,06
NI	19,196	1328		1,29
Delta-elemeno	19,352	1331	1335	1,46
Alfa-cubeneno	19,839	1343	1345	0,06
Isoledeno	20,797	1366	1374	0,11
Alfa-copaeno	21,006	1370	1374	0,79
Beta-boubornono	21,316	1378	1387	0,37
Beta-cubeneno	21,532	1383	1387	0,04
Beta-elemeno	21,614	1385	1389	0,59

<b>Composto</b>	<b>TR (min)</b>	<b>RI<sub>EXP</sub></b>	<b>RI<sub>LIT</sub></b>	<b>%RA</b>
NI	22,170	1398		0,04
Alfa-gurjuneno	22,288	1401	1409	0,10
NI	22,427	1404		0,12
Trans-cariofileno	22,778	1413	1417	2,39
NI	23,091	1420		0,08
Beta-copaeno	23,219	1424	1430	0,23
NI	23,354	1427		0,10
NI	23,425	1429		0,01
Aromadendreno	23,539	1431	1439	0,72
NI	23,715	1436		0,18
Alfa-guaieno	23,858	1439	1437	0,11
NI	24,015	1443		0,33
Alfa-humuleno	24,238	1448	1452	0,34
Alloaromadendreno	24,409	1453	1458	0,23
Cis-muurolo-3,5-dieno	24,527	1456	1448	0,05
NI	24,960	1466		0,02
Gama-muurolo	25,091	1469	1478	0,51
Germacreno D	25,294	1474	1484	7,43
NI	25,577	1481		0,37
NI	25,699	1484		2,20
Biciclogermacreno	25,892	1489	1500	21,30
Alfa-muurolo	26,051	1493	1500	0,36
Beta-bisaboleno	26,494	1504	1505	1,69
Gama-cadineno	26,593	1506	1513	0,29
Delta-cadineno	26,832	1512	1522	1,85
Trans-calameneno	26,939	1515	1521	0,03
Trans-gama-bisaboleno	27,207	1522	1529	0,30
NI	27,522	1530		0,07
NI	28,041	1543		0,04
Germacreno-B	28,318	1550	1559	0,10
NI	28,476	1554		0,11
Trans-nerolidol	28,620	1558	1561	0,03
NI	28,742	1561		0,48
NI	28,876	1565		0,34
Espatulenol	29,034	1569	1577	5,65
Óxido de cariofileno	29,202	1573	1582	0,06
NI	29,369	1577		1,51
Viridiflorol	29,699	1586	1592	1,30
NI	29,806	1589		0,25
Globulol	30,078	1595	1590	0,11
Rosifoliol	30,205	1599	1600	0,39
NI	30,858	1616		0,12
NI	30,949	1619		0,03

Composto	TR (min)	RI <sub>EXP</sub>	RI <sub>LIT</sub>	%RA
NI	31,035	1621		0,98
NI	31,175	1625		1,17
NI	31,570	1635		0,08
NI	31,626	1637		0,03
Torreiol	32,043	1648	1644	0,76
NI	32,471	1659		0,04
NI	32,721	1666		0,06
NI	34,337	1710		0,25
NI	35,027	1729		0,10
NI	36,532	1771		0,03
NI	36,645	1774		0,02
<b>TOTAL</b>				<b>100,00</b>

**TR:** Tempo de retenção; **RI<sub>EXP</sub>:** Índice de retenção em relação aos *n*-alcanos (C<sub>7</sub>-C<sub>40</sub>); **RI<sub>LIT</sub>:** Índice de retenção encontrado na literatura (Adams 2007); **%RA:** Porcentagem da área relativa; **NI:** Não identificados

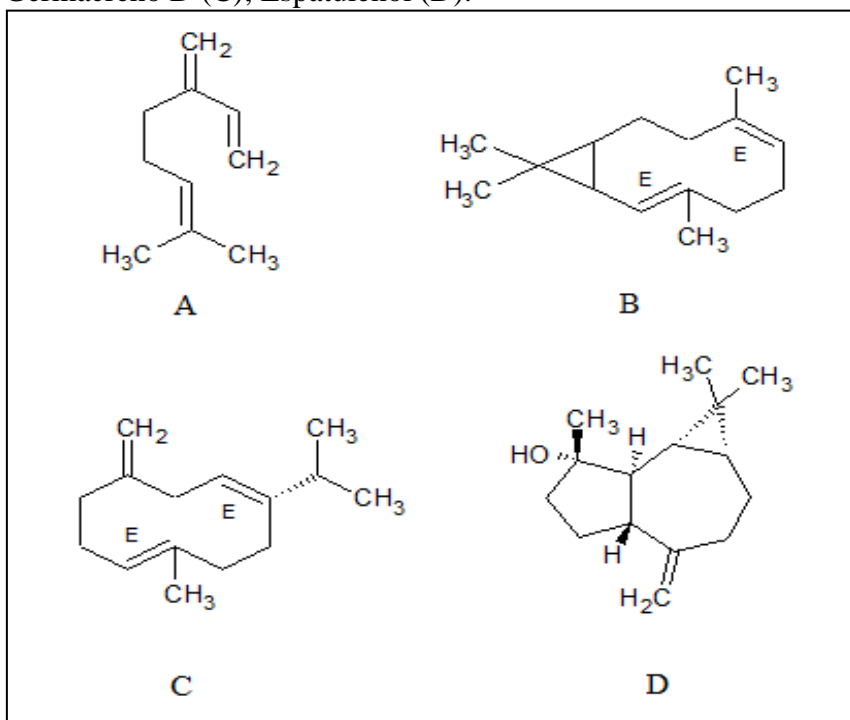
**Figura 4** - Cromatograma obtido no CG-MS/MS para o OE das folhas do *C. regium*. Gás de arraste Hélio (He). A temperatura inicial foi mantida a 60°C por 3,0 min., seguido de um acréscimo de 3°C/min até atingir 200°C e, posteriormente, foi programada para um aumento de temperatura de 15°C/min até 280°C.



Fonte: Autoria própria

Os compostos majoritários encontrados foram: Mirceno (36,45%), Bicyclogermacreno (21,30%), Germacreno D (7,43%) e Epatulenol (5,65%) (Figura 5).

**Figura 5** - Estrutura química: Mirceno (A); Bicyclogermacreno (B); Germacreno D (C); Epatulenol (D).



Fonte: Autoria própria

Inácio *et al.* (2013) realizaram a análise química do OE das folhas secas de *C. regium* coletadas na cidade Araxá, Minas Gerais, Brasil. Os autores identificaram 19 compostos, sendo o  $\beta$ -copaen-4- $\alpha$ -ol (18,73%) e o viridiflorol (12,67%) as substâncias majoritárias. A análise química do OE das flores do *C. regium* no estudo de Menezes *et al.* (2020a) revelou os compostos cariofileno E (9,76%),  $\gamma$ -muuroleno (16,69%) e bicyclogermacreno (39,82%) como majoritários. Já na raiz do *C. regium*, em estudo de Brum *et al.* (1997), foram encontrados os compostos  $\beta$ -selineno (34,1%) e elemeno (5,4%) como majoritários.

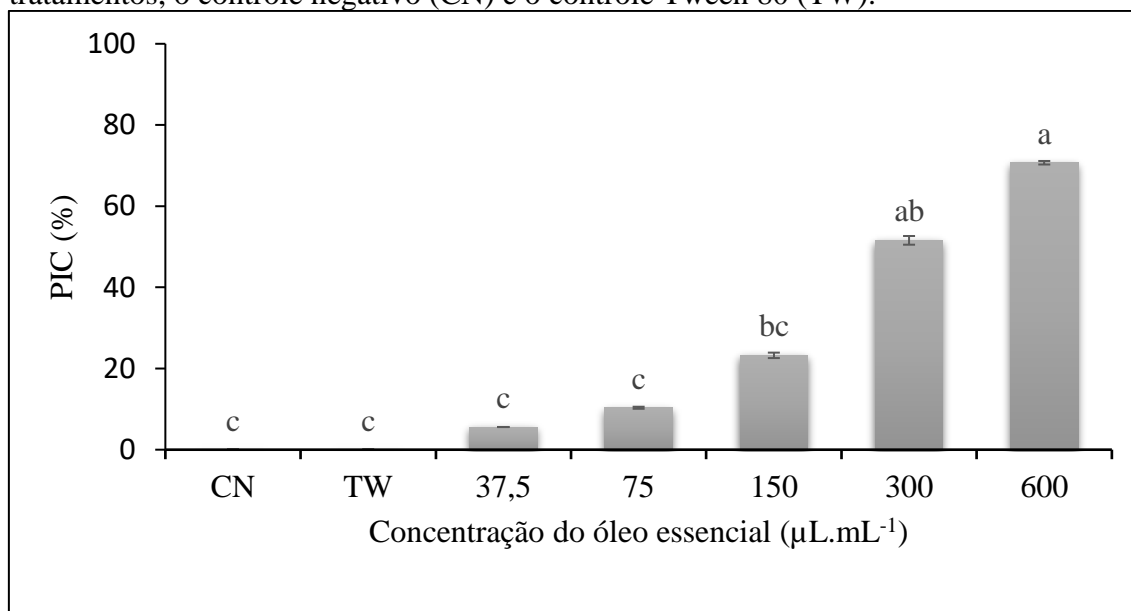
Fatores abióticos, tais como altitude, temperatura, qualidade do solo, intensidade solar e umidade influenciam na porcentagem de rendimento ao final das extrações dos óleos essenciais e também na composição química (PROPERZI *et al.*, 2013).

### 4.3. Atividade antifúngica

O PIC micelar do *R. stolonifer* mostrou ser dose-dependente; cresceu com o aumento das concentrações do OE em solução de TW 80 a 5%. A concentração de 600  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  apresentou o melhor PIC, 76%. O controle negativo e as placas com TW 80 a

5% não inibiram o crescimento micelar do *R. stolonifer* e o PIC em ambos foi igual a zero. Os resultados da atividade antifúngica podem ser observados na Figura 6.

**Figura 6** - Percentual de inibição de crescimento (PIC) micelial do OE *in natura* das folhas frescas do *C. regium* frente ao *R. stolonifer*. Barras com letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa por concentração ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, o controle negativo (CN) e o controle Tween 80 (TW).



Nos estudos citados a seguir, foram avaliadas atividades antifúngicas de OES de diferentes origens vegetais e que apresentam, em sua composição, pelo menos um dos compostos majoritários identificados no OE do presente trabalho.

Rezende *et al.* (2020) realizaram a análise do potencial antifúngico do OE das cascas frescas de duas variedades de *Citrus sinensis* frente ao desenvolvimento de *R. stolonifer*. Os estudos químicos dos OES das cascas frescas de ambas as variedades, laranja lima e laranja de umbigo bahia, identificaram o composto mirceno, que pode estar associado à atividade antifúngica observada no estudo.

Safari *et al.* (2012) investigaram a atividade antifúngica do OE das partes da erva seca *Satureja richingeri* do Irã contra o *R. stolonifer*. O estudo concluiu que o OE de *S. richinger* mostrou-se com potencial de inibir a germinação dos esporos de *R. stolonifer*. Apesar do estudo químico do OE de *S. richinger* ter mostrado o composto carvacrol como majoritário, o composto mirceno também integra a lista das substâncias principais identificadas. Na investigação da atividade antifúngica do OE dos frutos de *Phellodendron chinense*, Gong *et al.* (2011) concluíram que o alto teor do mirceno no OE pode estar associado à atividade antimicrobiana observada frente aos fungos

fitopatogênicos estudados, mas isso precisa ser investigado isoladamente. A análise química do OE revelou o monoterpene mirceno (70,7%) como o composto majoritário.

Alyousef *et al.* (2014) compararam as atividades antifúngicas do OE de *Cymbopogon citratus* (capim-limão), do mirceno e do citral isolados contra o desenvolvimento do *Aspergillus niger* e do *Aspergillus flavus*. O citral e o OE apresentaram atividades antifúngicas semelhantes; já o mirceno não inibiu o desenvolvimento dos fungos. Carmo *et al.* (2012) avaliaram a sensibilidade de cepas de *Malassezia* spp. ao OE de *Cymbopogon citratus*. Os autores concluíram que o OE possui potencial antifúngico contra os fungos estudados e atribuíram a atividade antifúngica ao citral, que foi potencializada pela presença do mirceno. No estudo de Mashigo *et al.* (2014), os OES extraídos das partes aéreas de *Helichrysum splendidum* coletadas na região de Mpumalanga, província da África do Sul, apresentaram atividade antifúngica frente ao desenvolvimento de *Alternaria alternata* e de *C. gloeosporioides*. As análises químicas dos OES revelaram o biciclogermacreno, o espatulenol e germacreno D como parte dos compostos principais. Nascimento *et al.* (2018) realizaram a análise química do OE das folhas de *Xylopiá aromática*. A mesma revelou os compostos espatulenol e biciclogermacreno como integrantes do grupo dos compostos majoritários. O OE desta planta apresentou potencial de inibição moderada frente aos fungos estudados. A análise química do OE das flores do *C. regium*, realizada por Menezes *et al.* (2020a), revelou o biciclogermacreno (39,82%) como o composto de maior concentração e apresentou atividade antifúngica sobre o isolado de *S. sclerotiorum*.

A análise química do OE realizada no presente trabalho revelou o mirceno, o biciclogermacreno, o germacreno D e o espatulenol como compostos majoritários que podem estar associados à atividade antifúngica observada.

## **4.4. Caracterização dos filmes**

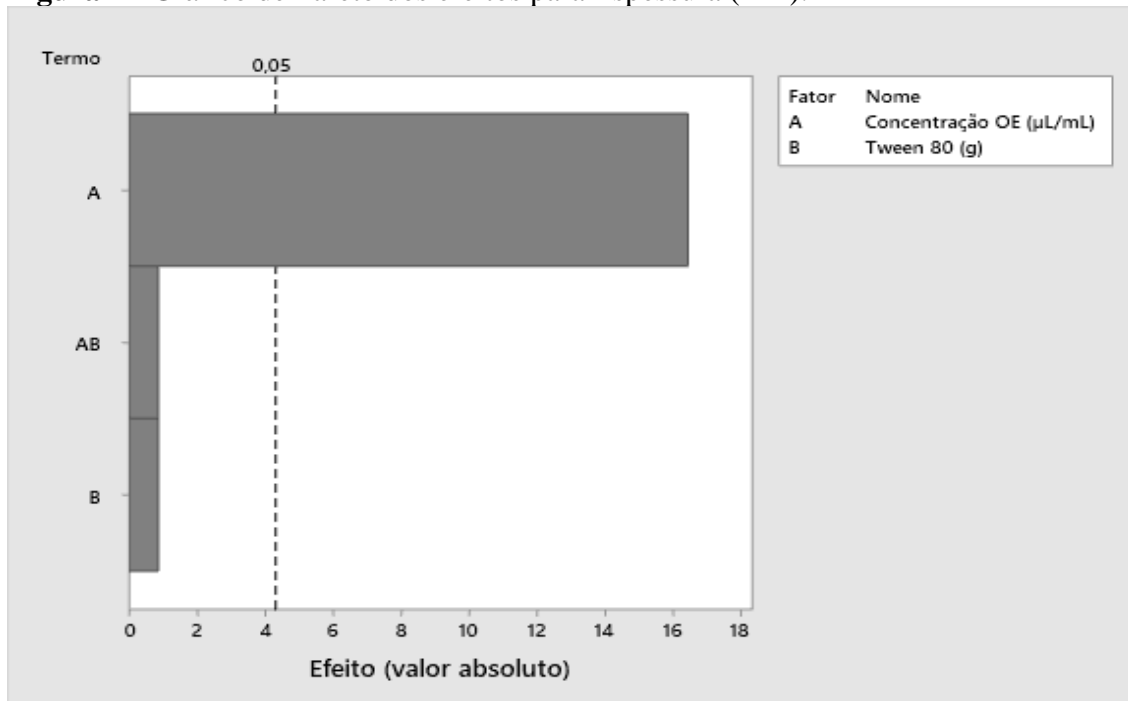
### **4.4.1. Espessura**

A espessura é um indicador da homogeneidade da estrutura dos FBS e variações nos valores deste parâmetro afetam a permeabilidade ao vapor de água (FARIAS, 2016; SANTOS, 2020). Diferentes valores de espessura podem apresentar desempenhos distintos na conservação dos alimentos (ROCHA, 2009).



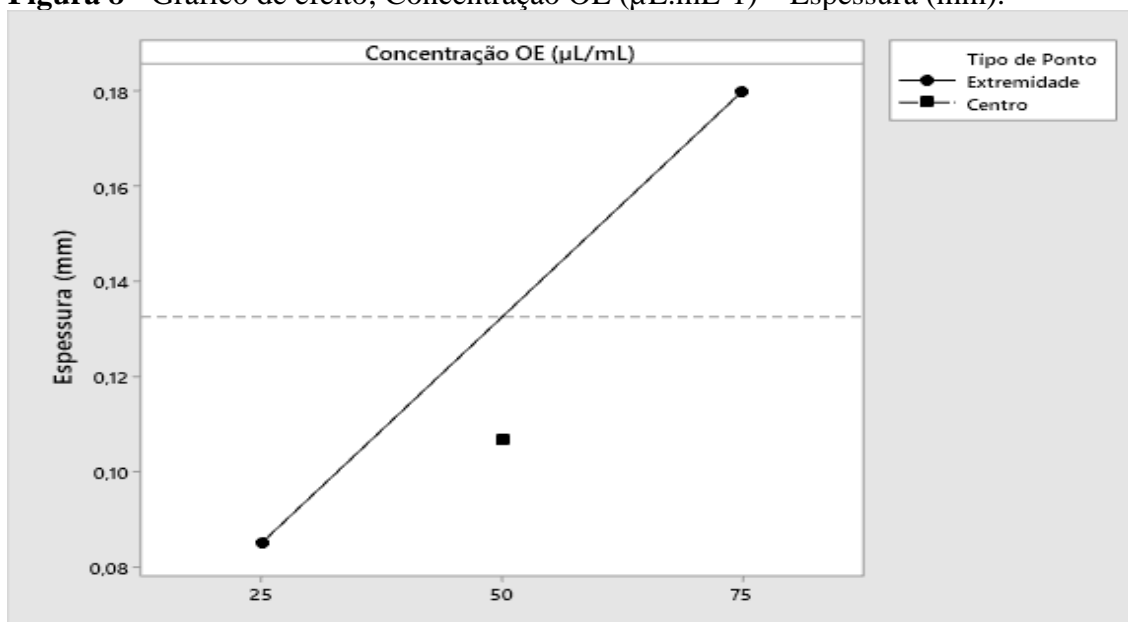
A concentração do óleo essencial foi a única variável estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), o que reforça a observação dos valores absolutos das espessuras dos FBS (Figura 7).

**Figura 7** - Gráfico de Pareto dos efeitos para Espessura (mm).



Os FBS apresentaram espessuras que variaram de 0,08 a 0,18 mm. A espessura é maior conforme o aumento da concentração do OE (Figura 8).

**Figura 8** - Gráfico de efeito; Concentração OE ( $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) \* Espessura (mm).



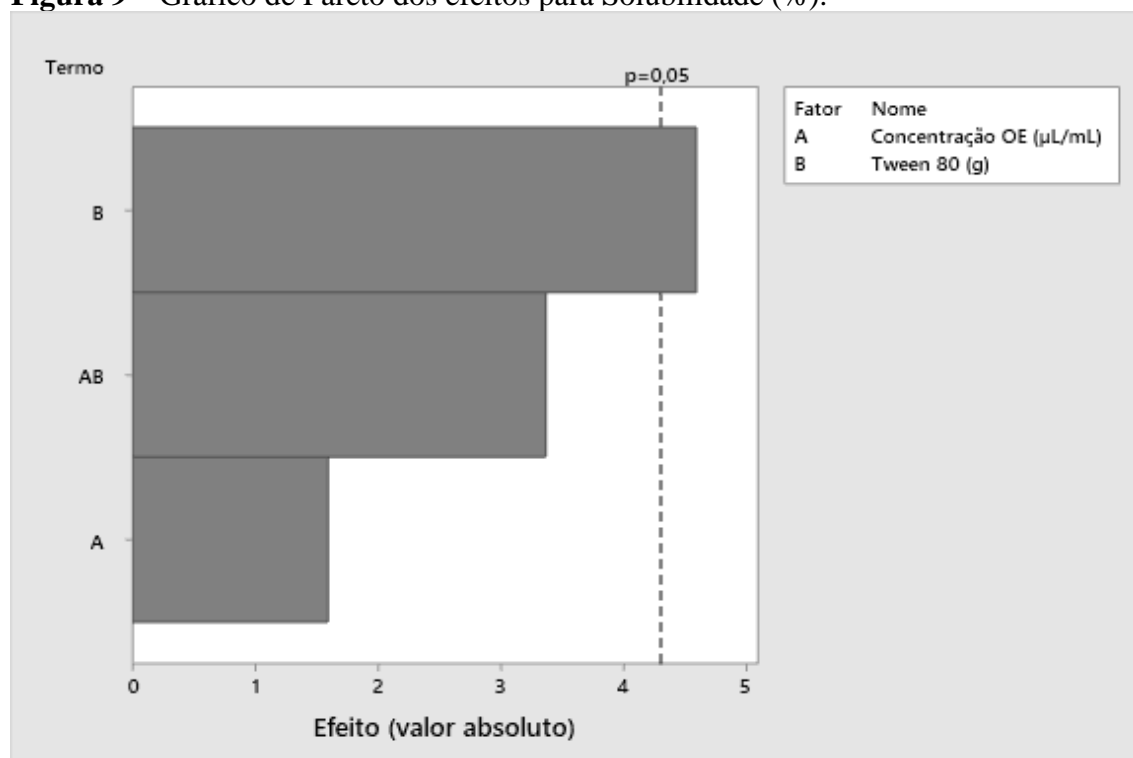
A incorporação do OE no FB ocorre devido à interação do OE com a matriz polimérica. E quanto maior a concentração de OE adicionada à solução filmogênica, maior a concentração de sólidos e, conseqüentemente, mais espesso o FB (FLORES-MARTÍNEZ *et al.* (2016); RESIANINGRUM *et al.* (2016). Caetano *et al.* (2018) observaram, em seu estudo, que a espessura dos FBS à base de fécula de mandioca, incorporados com extrato residual de abóbora e OE de orégano, é dependente da concentração do OE. A espessura aumentou de 0,124 mm para 0,193 mm com a incorporação de 0 a 2% (p/v) de OE.

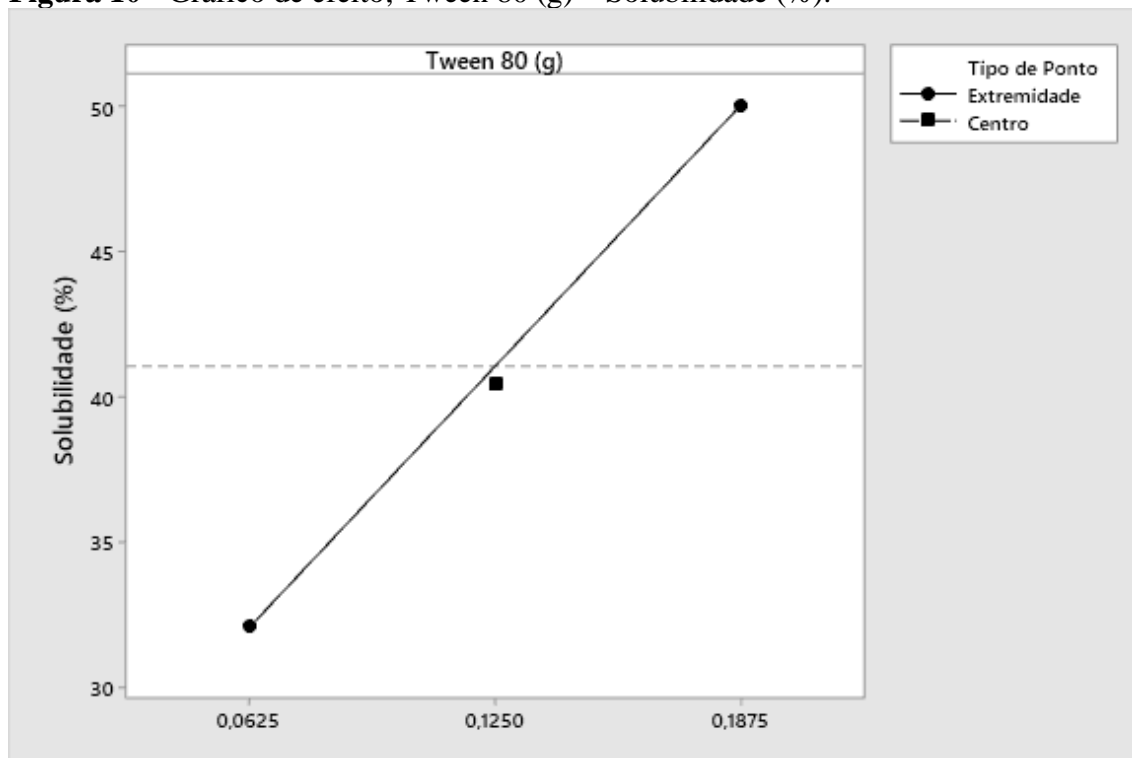
#### 4.4.2. Solubilidade em água

É desejável baixa solubilidade das embalagens na proteção e conservação dos alimentos, entretanto, é importante que o FB apresente solubilidade suficiente para favorecer a biodegradabilidade e permitir a passagem de compostos bioativos para o meio, favorecendo, desta forma, o aumento da vida de prateleira e a permanência curta da embalagem na natureza (PINHELLI *et al.*, 2019).

O TW 80 foi o fator que apresentou significância estatística ( $p < 0,05$ ) e o aumento da sua quantidade favoreceu a solubilidade (Figuras 9 e 10).

**Figura 9** – Gráfico de Pareto dos efeitos para Solubilidade (%).



**Figura 10** - Gráfico de efeito; Tween 80 (g) \* Solubilidade (%).

Os valores obtidos no teste de solubilidade do presente trabalho variaram de 22% a 47%, valores aceitáveis para embalagens utilizadas em frutas minimamente processadas (PORRAS *et al.*, 2018).

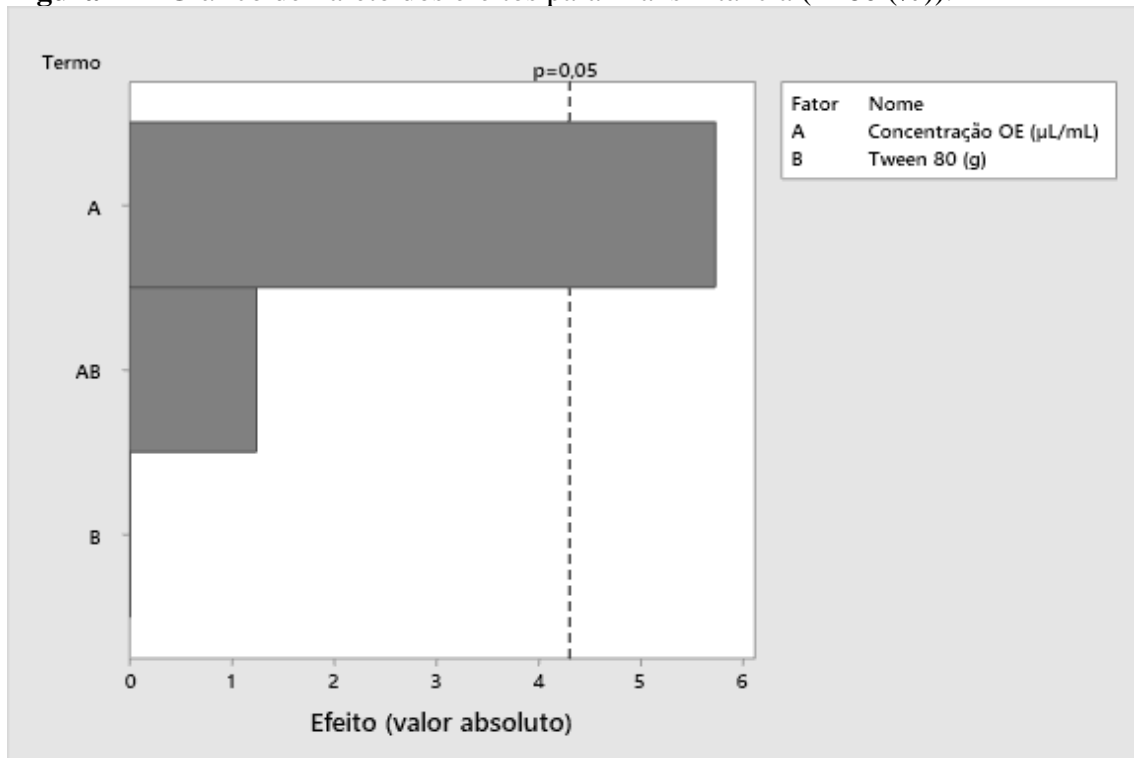
A solubilidade dos FBS depende da sua composição química (ASSIS *et al.*, 2018). Os compostos hidrofílicos contribuem para a sua solubilidade, portanto, altas concentrações de TW 80, que possui uma porção polar em sua estrutura química, podem contribuir para a hidrofiliicidade dos FBS. Rodríguez *et al.* (2006) observaram aumento da solubilidade em FBS de fécula de batata com adição de glicerol como plastificante e tween 20 como surfactante.

#### 4.4.3. Taxa de transmissão da luz UV

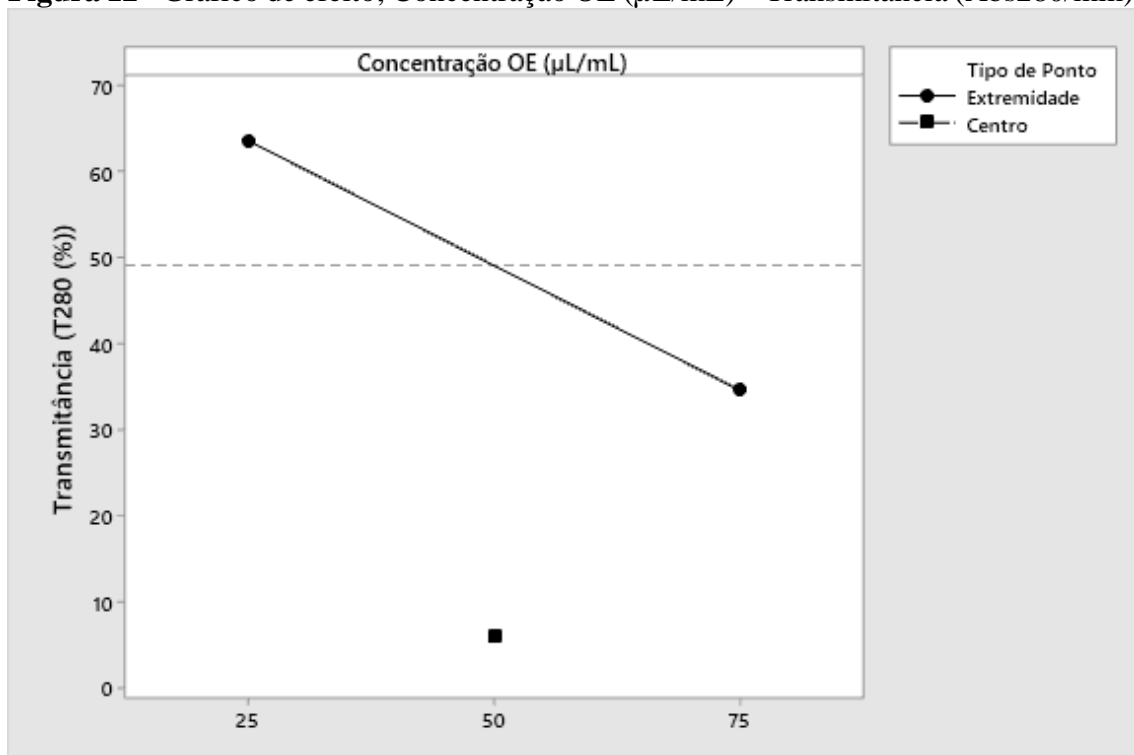
Para os alimentos que são sensíveis à radiação ultravioleta, as embalagens devem apresentar barreira para evitar a degradação de compostos nutricionais. As antocianinas, presentes nos morangos, são sensíveis a esta radiação (VENENCIO, 2010).

A concentração do óleo essencial foi o fator que apresentou significância estatística ( $p < 0,05$ ) e seu aumento não favoreceu a porcentagem de transmitância  $UV_{280nm}$  (Figuras 11 e 12).

**Figura 11** - Gráfico de Pareto dos efeitos para Transmissão (T280 (%)).



**Figura 12** - Gráfico de efeito; Concentração OE (µL/mL) \* Transmissão (Abs280/mm).



Para a maior concentração de OE ( $75 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 0,1875g de tween 80), a porcentagem de transmitância diminuiu 52,83% em relação à da concentração menor de OE ( $25 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 0,0625g de tween 80). Ou seja, o OE aumentou a barreira contra a radiação  $\text{UV}_{280 \text{ nm}}$ .

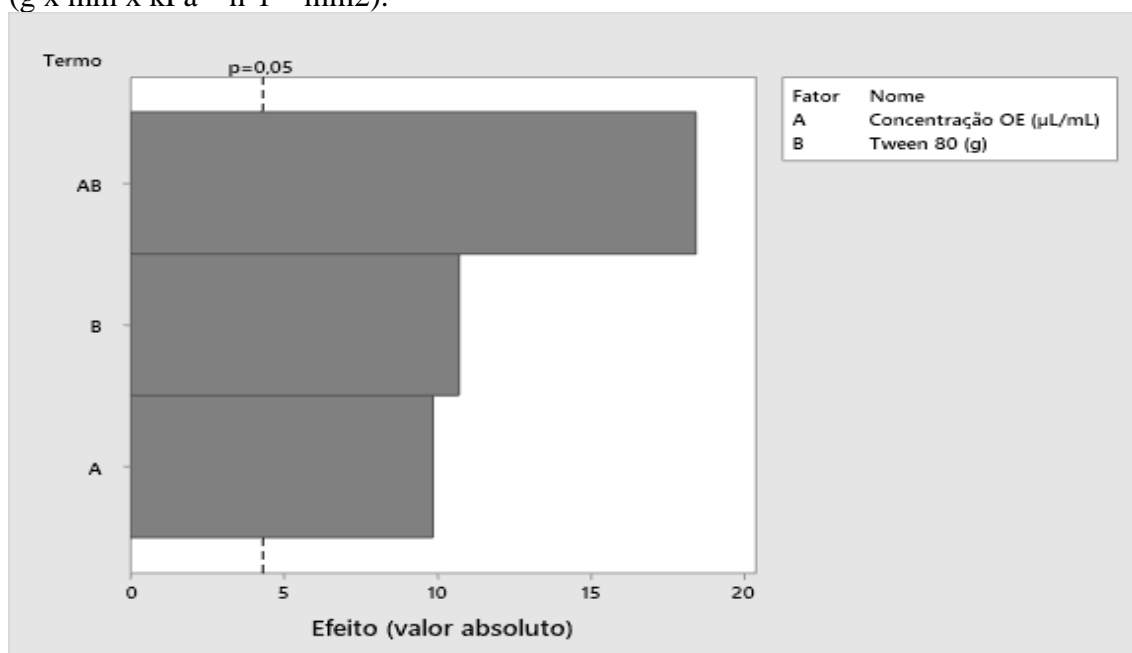
As gotículas do OE distribuídas pela matriz polimérica podem ser responsabilizadas pela redução da taxa de transmitância, pois interferem na passagem da luz UV (RIBEIRO-SANTOS *et al.*, 2017). No trabalho de Sharma *et al.*, (2020), os FBS incorporados com OES de cravo e tomilho apresentaram redução na porcentagem de transmitância em relação ao controle. O OE de cravo na concentração de 10% aumentou a barreira à radiação em 80% e o OE do tomilho, na mesma concentração, aumentou a barreira em 20%.

#### 4.4.4. Permeabilidade ao vapor de água

As embalagens devem apresentar barreira à passagem de vapor de água para assegurar estabilidade aos morangos que são sensíveis à perda de água com consequente perda de peso, encolhimento e enfraquecimento dos tecidos (THIEL *et al.*, 2020; VENENCIO, 2010).

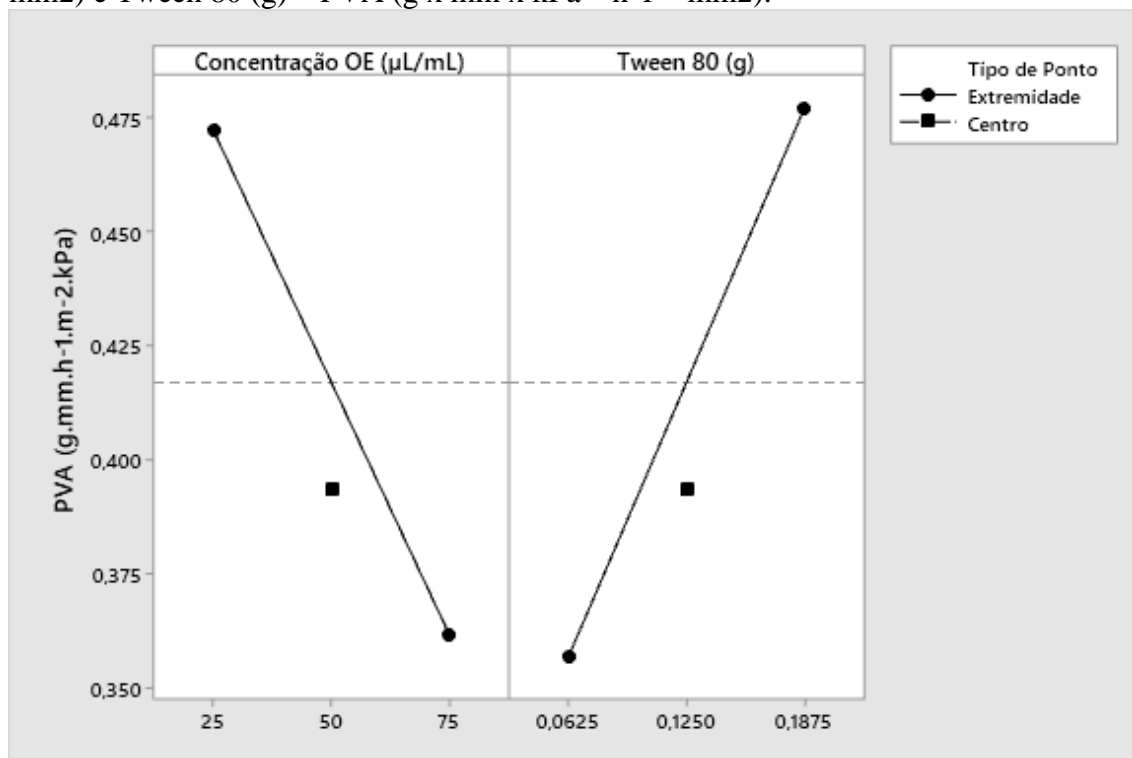
A interação entre o OE e o TW 80 foi mais significativa ( $p < 0,05$ ) que os efeitos dos fatores isolados sobre a permeabilidade ao vapor de água do FB (Figura 13).

**Figura 13** - Gráfico de Pareto dos efeitos para Permeabilidade ao vapor de água (PVA) ( $\text{g} \times \text{mm} \times \text{kPa} \times \text{h}^{-1} \times \text{mm}^2$ ).



O aumento da quantidade de TW 80 favoreceu o crescimento da permeabilidade, enquanto o aumento da concentração do OE a reduziu (Figura 14).

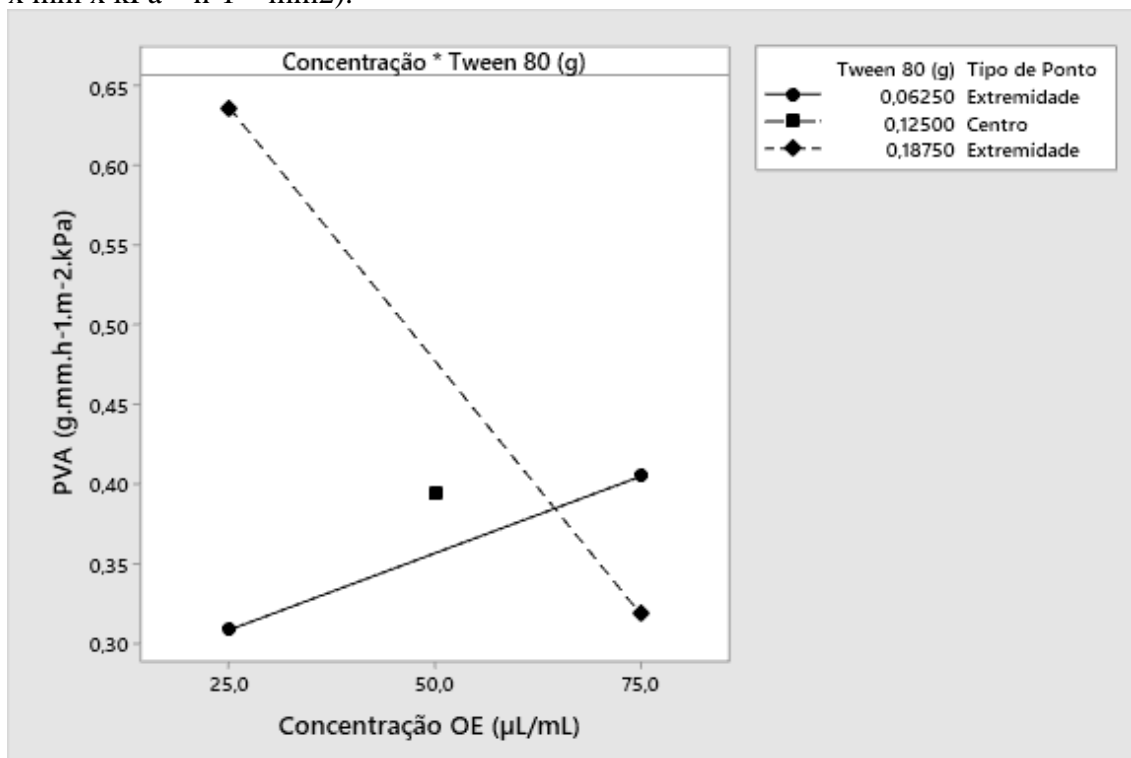
**Figura 14** - Gráfico de efeito; Concentração OE ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) \* PVA ( $\text{g} \times \text{mm} \times \text{kPa} \times \text{h}^{-1} \times \text{mm}^2$ ) e Tween 80 ( $\text{g}$ ) \* PVA ( $\text{g} \times \text{mm} \times \text{kPa} \times \text{h}^{-1} \times \text{mm}^2$ ).



Resultado semelhante em relação ao TW 80 ocorreu na investigação de *Brandelero et al.* (2010), na qual os FBS com maior concentração de surfactante aumentaram o volume livre entre as cadeias adjacentes do amido favorecendo a PVA. As micrografias confirmaram a menor integridade estrutural dos FBS. A hidrofobicidade do OE, somada ao fator de tortuosidade do caminho de vapor de água provocado pelo mesmo na composição química do filme biodegradável, reduz a PVA.

É possível observar, na Figura 15, que a incorporação de  $25 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$  do OE com  $0,1875\text{g}$  de TW 80 no FB tem uma contribuição importante para a PVA. Enquanto isso, a incorporação de  $75 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$  do OE com  $0,0625\text{g}$  ou  $0,1875\text{g}$  do surfactante favorecem pouco a PVA.

**Figura 15** - Gráfico de interação; Concentração OE ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) \* TW 80 (g) para PVA ( $\text{g} \times \text{mm} \times \text{kPa} \times \text{h}^{-1} \times \text{mm}^2$ ).



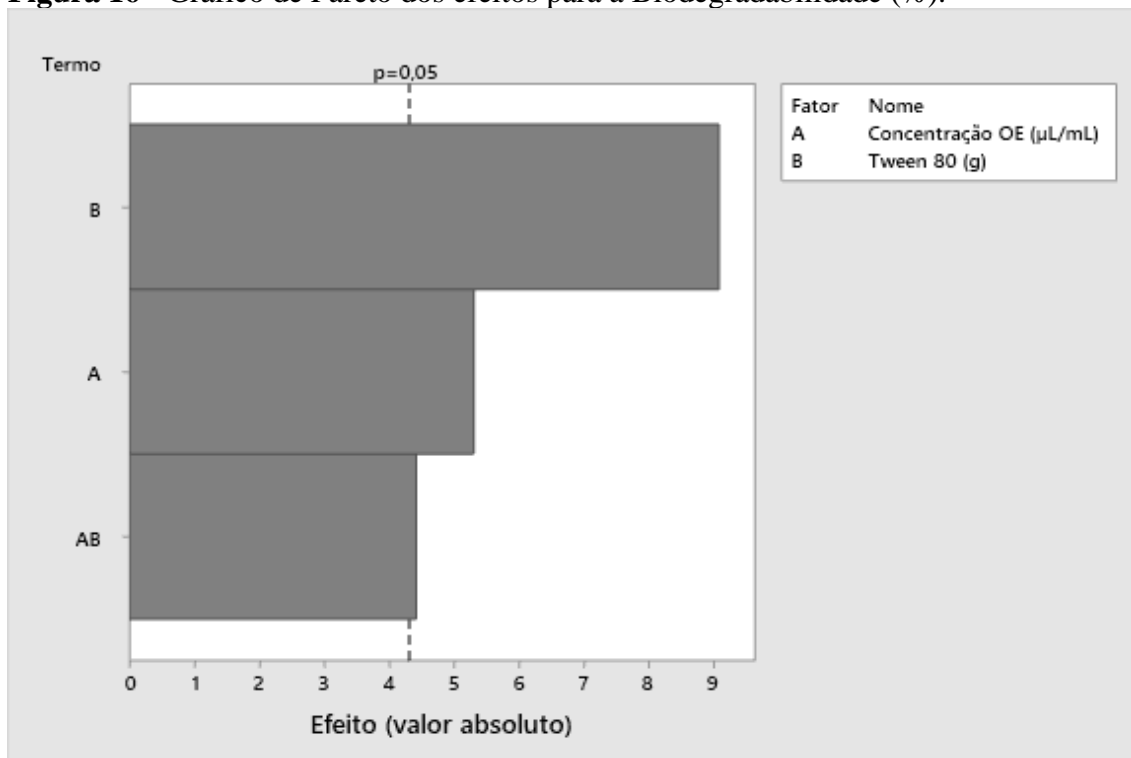
A adição de 0,1875 g de surfactante à solução filmogênica para incorporar  $25 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$  de OE pode ter sido excessiva e ter contribuído para o aumento da PVA. Esta mesma quantidade de TW 80 pode ter sido próxima da ideal para auxiliar na incorporação de  $75 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$  do OE, favorecendo menos a permeabilidade. Quantidade insuficiente de surfactante – 0,0625 g – pode ter dificultado a incorporação do OE na matriz polimérica, o que pode justificar o pequeno aumento da PVA na comparação das concentrações  $25 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$  e  $75 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$  do OE.

#### 4.4.5. Biodegradabilidade

Os FBS, quando enterrados em terra orgânica, são fontes de amido para o desenvolvimento microbiano com consequente biodegradação (CARISSIMI, 2017). O seu tempo curto na natureza é interessante para o desenvolvimento de embalagens de alimentos, pois os FBS não contribuem para a poluição do ambiente (VIÉGAS, 2016).

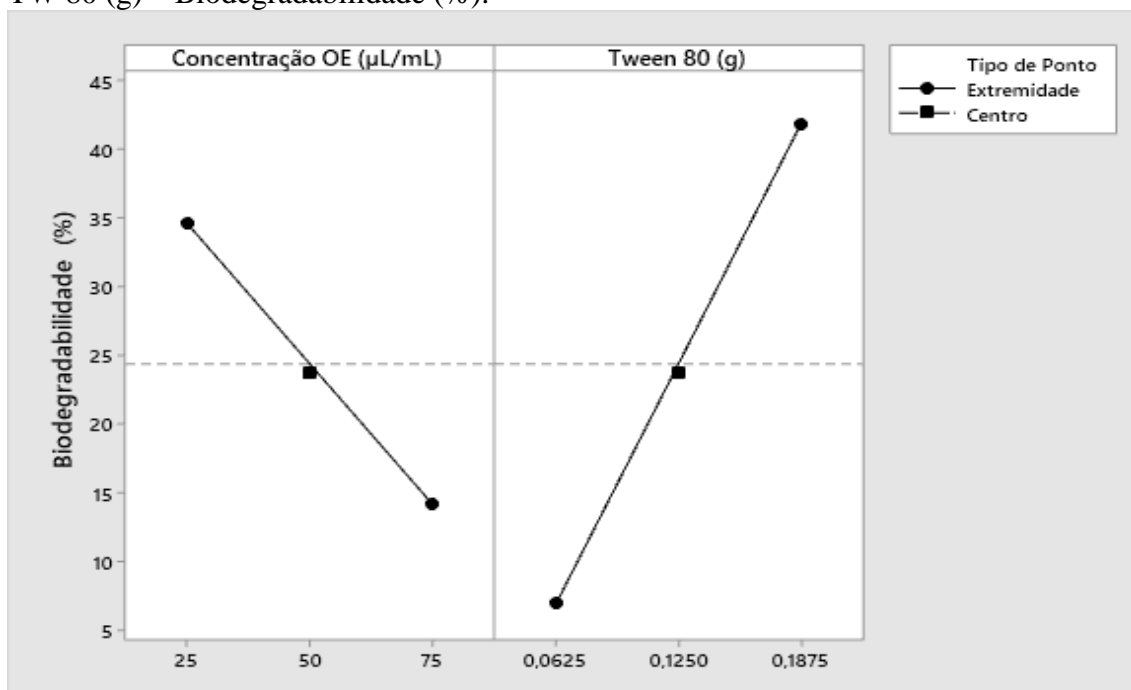
A concentração do OE, o TW 80 e a interação entre ambos os fatores apresentaram significância estatística ( $p < 0,05$ ) (Figura 16).

**Figura 16** - Gráfico de Pareto dos efeitos para a Biodegradabilidade (%).



Concentrações menores do óleo essencial e quantidades maiores de tween 80 contribuíram para a biodegradabilidade do filme, fenômeno que pode ser observado na Figura 17.

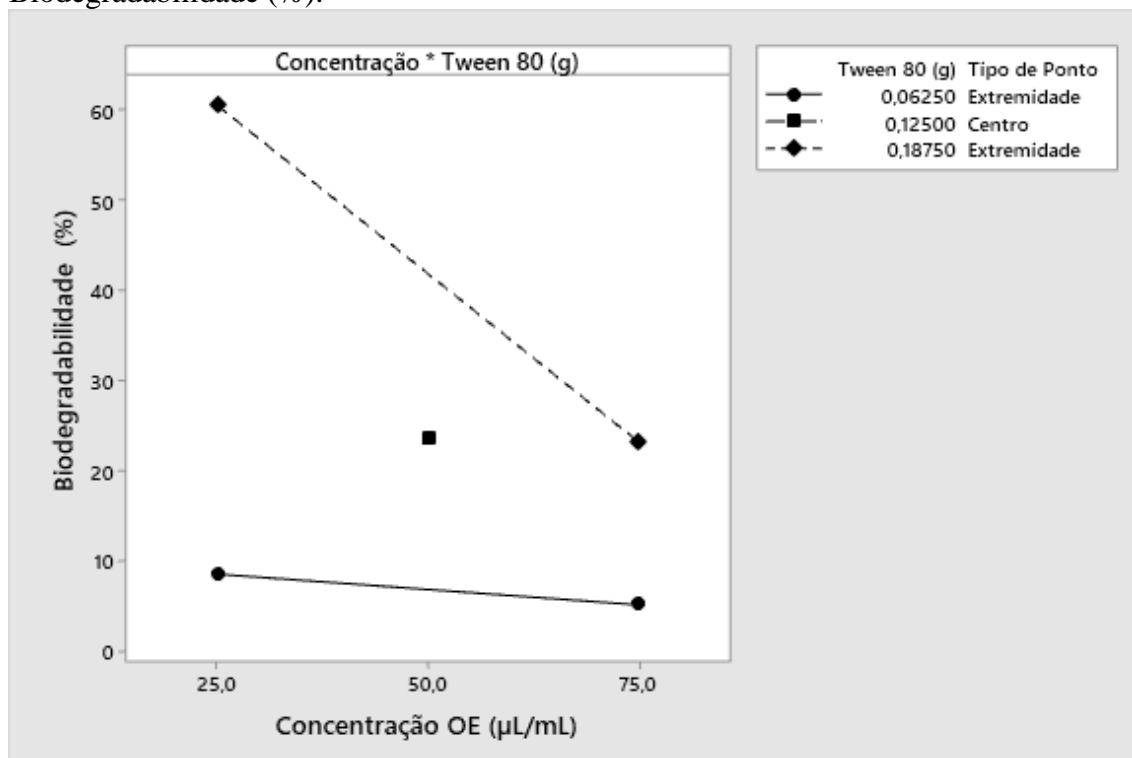
**Figura 17** – Gráfico de efeito; Concentração OE ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) \* Biodegradabilidade (%) e TW 80 (g) \* Biodegradabilidade (%).





É possível observar, na Figura 18, que a incorporação de  $25 \mu\text{L.mL}^{-1}$  do OE com 0,1875g de TW 80 na composição do FB tem uma contribuição importante para a biodegradabilidade. Além disso, a incorporação de 0,0625g ou 0,1875g do surfactante com  $75 \mu\text{L.mL}^{-1}$  de OE favorece menos a biodegradabilidade.

**Figura 18** – Gráfico de interação; Concentração OE ( $\mu\text{L/mL}$ ) \* TW 80 (g) para Biodegradabilidade (%).



O excesso de surfactante na incorporação do OE na proporção ( $25 \mu\text{L.mL}^{-1}$  OE : 0,1875g TW 80) pode ter favorecido muito a biodegradabilidade. Quantidade insuficiente de TW 80 (0,0625g) para a incorporação de  $75 \mu\text{L.mL}^{-1}$  de OE pode justificar o leve declínio da biodegradabilidade em comparação à incorporação de OE  $25 \mu\text{L.mL}^{-1}$  com esta mesma quantidade de TW 80 (0,0625g).

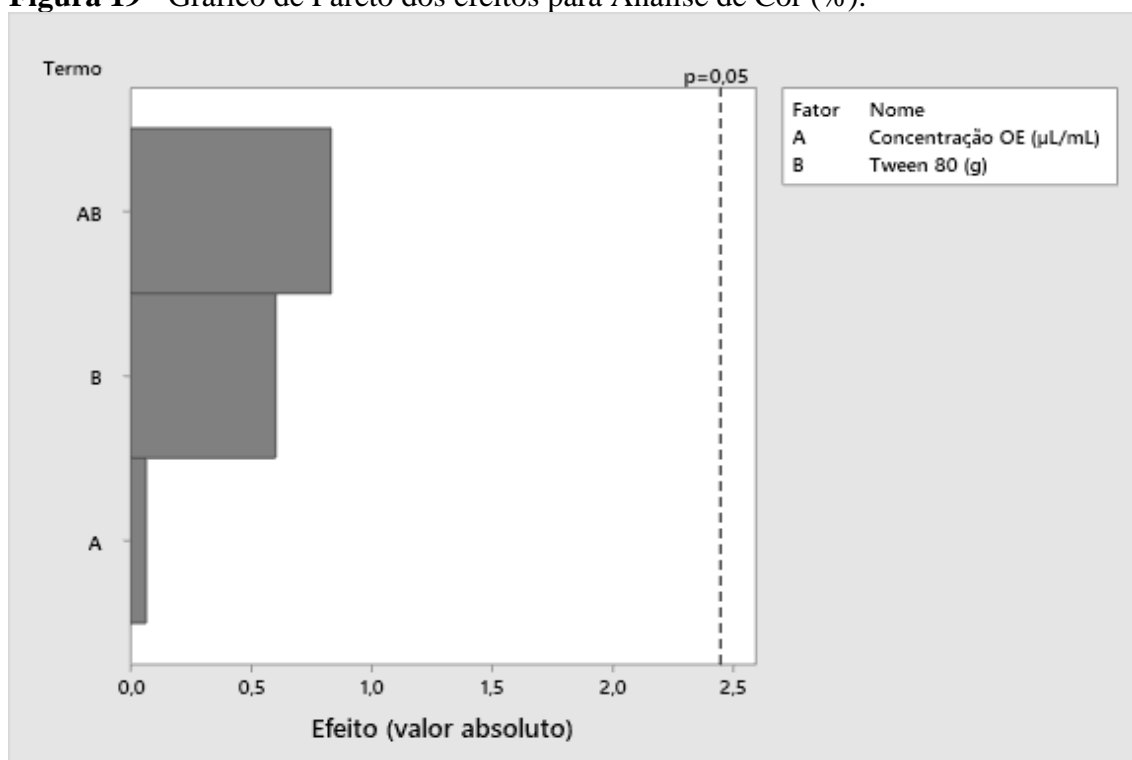
A biodegradabilidade dos FBS depende da solubilidade: quanto maior a solubilidade, maior é a velocidade de biodegradação (CARISSIMI, 2017), o que corrobora com os resultados da biodegradabilidade e da solubilidade do presente trabalho. O TW 80 possui uma parte da sua estrutura química que é hidrofílica, ou seja, apresenta afinidade com a água, facilita a solubilidade dos FBS com conseqüente biodegradação.

#### 4.4.6. Diferença de cor

A cor das embalagens é um critério importante para a decisão de compra do alimento, pois a cor é capaz de contribuir positivamente para a satisfação, o orgulho, a felicidade, o prazer, a confiança e o entusiasmo do consumidor. Uma boa apresentação do alimento no interior da embalagem é esperada pelo consumidor (FRUGÉRIO; KAETSU, 2015). Por isso, a embalagem tem que oferecer aos clientes uma visualização nítida dos morangos acondicionados no seu interior.

O OE e o TW 80 e a interação de ambos não apresentaram significância estatística no intervalo de confiança de 95% (Figura 19), ou seja, não contribuiram para a diferença de cor ( $\Delta E$ ).

**Figura 19** - Gráfico de Pareto dos efeitos para Análise de Cor (%).



Os valores de  $\Delta E$  variaram de 1,61 a 16,91. A título de comparação, no trabalho de obtenção e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de misturas de amido de mandioca e extrato proteico de soja, de Rocha (2009), os valores de  $\Delta E$  variaram de 8,14 a 17,26.

Foi observado, através de uma avaliação visual dos filmes biodegradáveis produzidos no presente trabalho, uma leve diferença de cor entre os de maior concentração de OE com diferentes quantidades de TW 80. Esta diferença de cor pode

estar associada à menor incorporação do óleo essencial em 0,0625g de TW 80. Foi possível perceber, através do contato das pontas dos dedos na superfície dos filmes biodegradáveis, OE não incorporado nas formulações que possuem maior concentração de OE e menor quantidade do TW 80. Apesar da leve diferença de cor, foi possível observar os morangos no interior das embalagens.

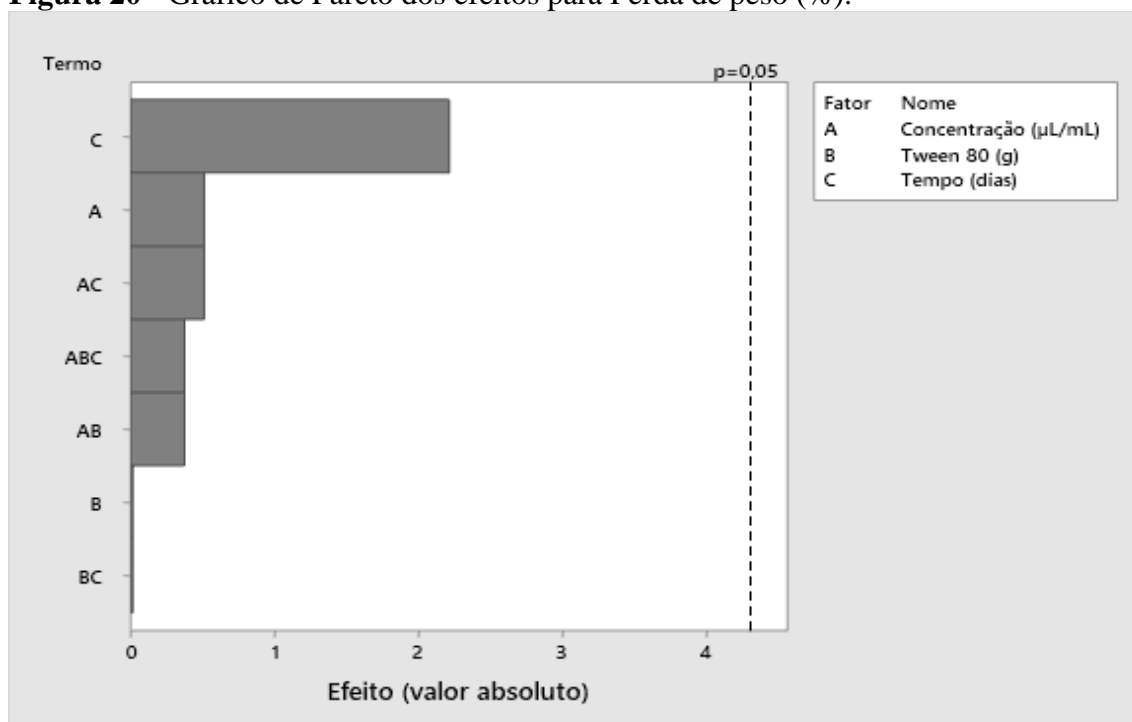
## 4.5. Experimento de morangos armazenados com FB à base de OE das *C. regium*

### 4.5.1. Perda de peso (%)

É comum os morangos perderem peso após a colheita devido ao processo respiratório e à perda rápida de água para o ambiente (HERNÁNDEZ-MUÑOZ *et al.*, 2006; YAN *et al.*, 2021) A casca fina que envolve a fruta facilita a perda de umidade e a consequente decomposição dos frutos (HERNÁNDEZ-MUÑOZ *et al.*, 2006).

O OE, o TW 80, o tempo e a interação entre os fatores não apresentaram significância estatística no intervalo de confiança de 95%, ou seja, não influenciaram na perda de peso dos morangos (Figura 20).

**Figura 20** - Gráfico de Pareto dos efeitos para Perda de peso (%).



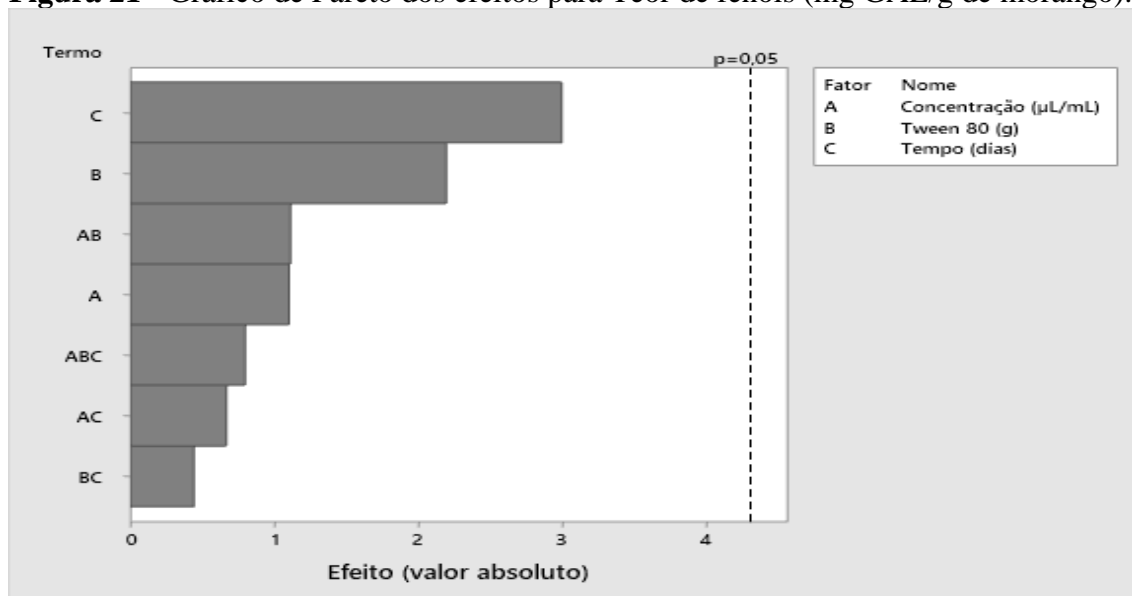
Os morangos perderam peso no período de 0 a 12 dias. O valor máximo de perda de peso no presente trabalho foi 5,1393% no décimo segundo dia em embalagem contendo o filme com 25  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$  de OE e 0,0625g de TW 80. A perda de até 6% de água em morangos é o teor máximo que não prejudica a comercialização dos frutos (ANAMI, 2019).

Uma boa barreira ao vapor de água da embalagem é importante para o armazenamento dos morangos, pois reduz a perda de água dos mesmos para o ambiente externo (THIEL *et al.*, 2020). Não é possível afirmar, no presente estudo, a(s) causa(s) da redução do peso, pois os fatores (OE; TW 80; tempo) não apresentaram significância estatística. Entretanto, os frutos armazenados com filme biodegradável produzido com 75  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$  de OE e 0,1875g de TW 80 apresentaram o menor percentual de perda de peso, 1,8017% no décimo segundo dia de armazenamento. É possível observar, na figura 14 da seção 4.4.4, que o filme biodegradável com esta formulação foi o que contribuiu menos para a permeabilidade ao vapor de água, o que pode ser explicado pela hidrofobicidade do óleo essencial.

#### **4.5.2. Teor de fenóis**

Os fenóis são compostos antioxidantes que contribuem para a manutenção da saúde humana. Protegem as células e reduzem o risco de doenças cardiovasculares, distúrbios neurodegenerativos e câncer (GUINÉ *et al.*, 2020).

O OE, o TW 80 e o tempo não apresentaram significância estatística a 95%, ou seja, não influenciaram na redução do teor de fenóis (Figura 21).

**Figura 21** - Gráfico de Pareto dos efeitos para Teor de fenóis (mg GAE/g de morango).

O teor de fenóis variou de 4,86944 a 2,21389 mg GAE/g de morango, ocorrendo uma redução no decorrer dos dias. Segundo Mahmood *et al.* (2012), o teor de fenóis diminui com o passar dos dias conforme o grau de maturidade dos frutos durante a colheita e com os cuidados de armazenamento. Durante o amadurecimento dos frutos, os compostos fenólicos condensam-se e tornam-se insolúveis, sendo difícil de ser extraídos para quantificação. Dessa forma, são esperados valores quantificados menores do teor de fenólicos com o passar dos dias de armazenamento (ROCHA *et al.*, 2008).

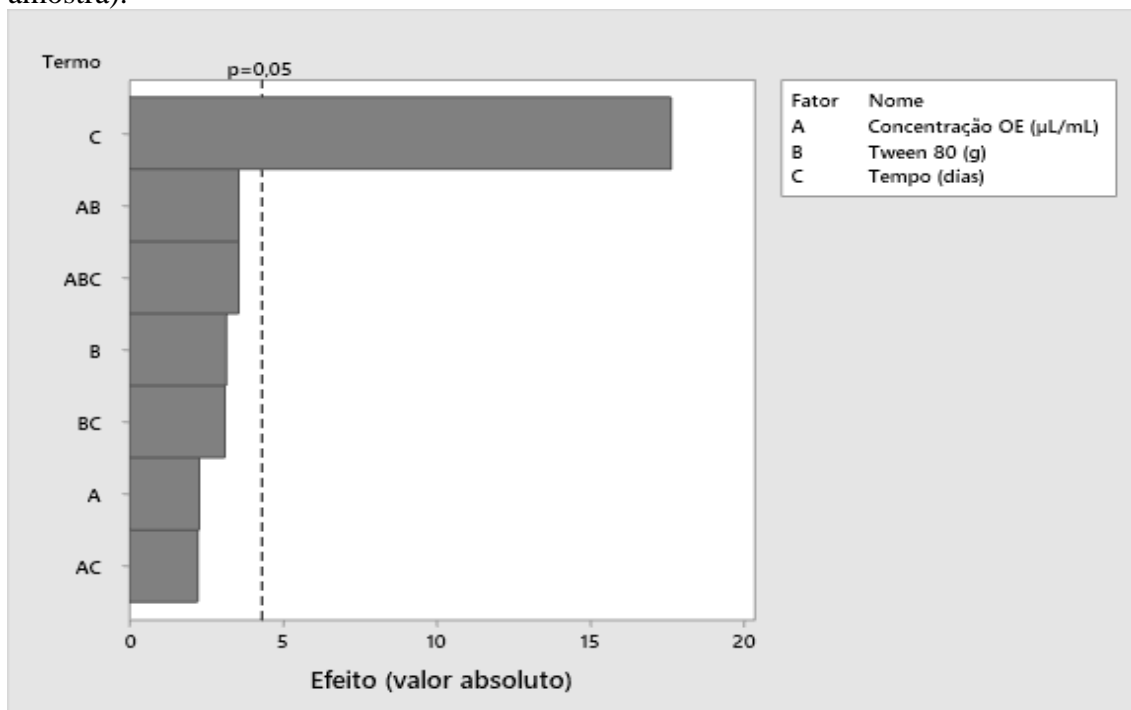
A título de comparação, Cordeiro *et al.* (2019) determinaram o teor de fenóis de morangos *San andreas* em 1,5082 mg GAE/g de morango, valor abaixo dos encontrados no presente trabalho.

#### 4.5.3. Antocianinas totais

A antocianina é um poderoso antioxidante pertencente ao grupo dos compostos fenólicos, com atividade anticarcinogênica e antiangiogênica. São compostos benéficos à saúde humana (FERREIRA, 2014).

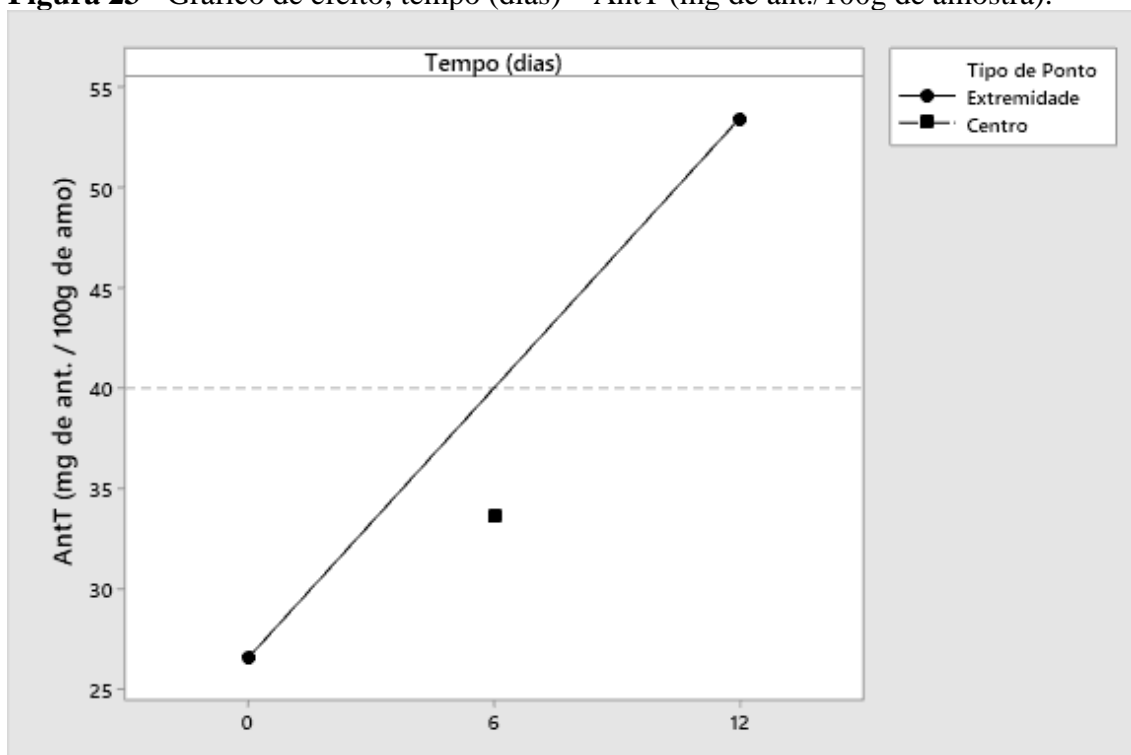
Dos fatores em análise, o tempo foi o único fator que apresentou significância estatística a 95% (Figura 22).

**Figura 22** – Gráfico de Pareto dos efeitos para Antocianinas totais (mg de ant./100g de amostra).



As antocianinas totais aumentaram com o decorrer dos dias (Figura 23).

**Figura 23** - Gráfico de efeito; tempo (dias) \* AntT (mg de ant./100g de amostra).



Segundo Musa (2016), o teor de antocianinas em morangos varia de 15-60 mg de ant./100g do fruto. Nos morangos do presente estudo, o teor variou de 26,4715 a 67,0640 mg de ant./100g de amostra.

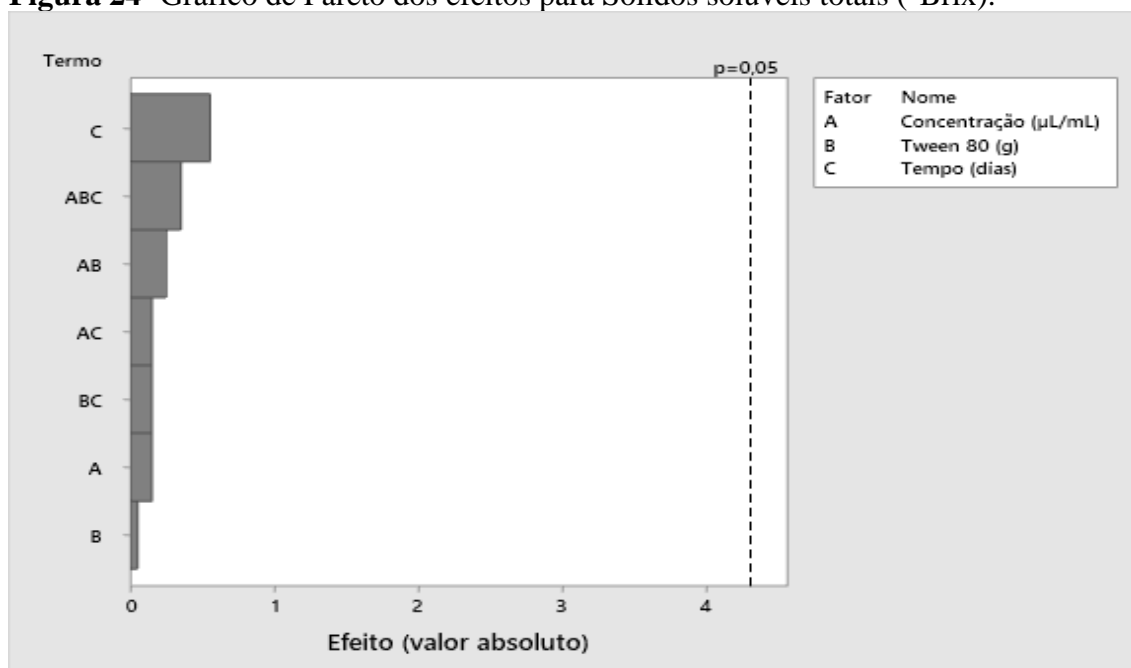
Os níveis de antocianinas são responsáveis pelo surgimento da cor vermelha nos morangos e aumentam durante o período de maturação (JANURIANTI *et al.*, 2021). A biossíntese destes compostos fenólicos é influenciada por fatores genéticos, bioquímicos e ambientais (LI *et al.*, 2016). A coloração vermelha mais intensa foi observada com o passar dos dias de armazenamento dos frutos.

#### 4.5.4. Sólidos solúveis totais

Os sólidos solúveis são importantes para a determinação da qualidade do morango e fornecem uma estimativa de açúcares nos frutos que proporcionam o sabor durante a maturação (SILVA, 2007).

O OE, o TW 80 e o tempo não apresentaram significância estatística a 95%, ou seja, não influenciaram no teor de sólidos solúveis totais (Figura 24).

**Figura 24** -Gráfico de Pareto dos efeitos para Sólidos solúveis totais (°Brix).



Os sólidos solúveis totais variaram de 8,1 a 6,7 °Brix, valor mínimo encontrado no presente estudo. Os sólidos solúveis totais foram expressos em °Brix. No dia 0, a média foi de  $7,1 \pm 0,102$  °Brix e no dia 12, foi de  $6,8 \pm 0,203$  °Brix. No trabalho de Cantillano *et al.* (2008), foi percebido este comportamento. Em relação aos SSTs determinados em °Brix de cultivares *Camino real*, *Ventana* e *Amoras*, no terceiro, sexto e nono dias, a

10°C, as médias variaram de 6,10 a 6,00; de 7,45 a 7,00; e de 6,4 a 5,8, respectivamente. Segundo os autores, a diminuição do SST ocorre devido aos açúcares serem utilizados no processo de respiração.

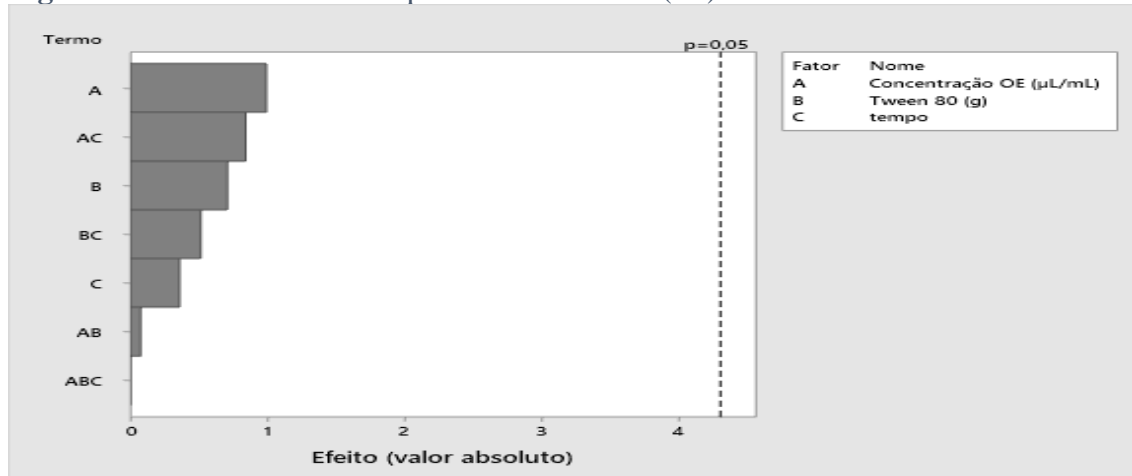
Os morangos apresentam alta taxa de respiração, principal processo fisiológico dos frutos no período pós-colheita. Utilizam os substratos produzidos durante o crescimento e maturação para respirar, o que justifica a redução dos sólidos solúveis totais. O ideal é armazenar os morangos em refrigeração, pois o aumento de 10°C durante a comercialização aumenta, de 4 a 5 vezes, a respiração e, conseqüentemente, promove a redução indesejada dos sólidos solúveis totais (SILVA, 2004).

#### 4.5.5. Cor da superfície

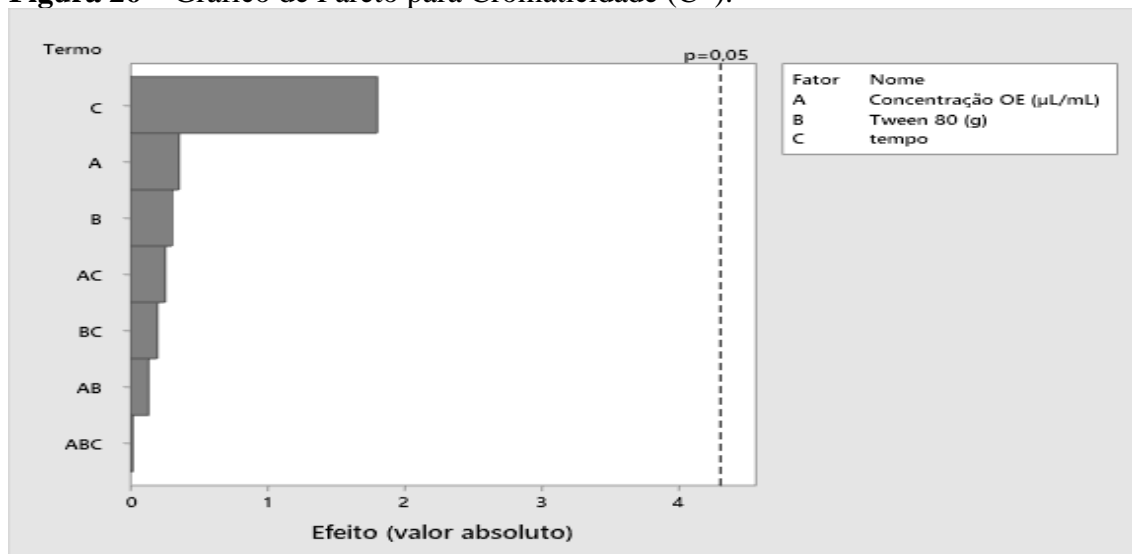
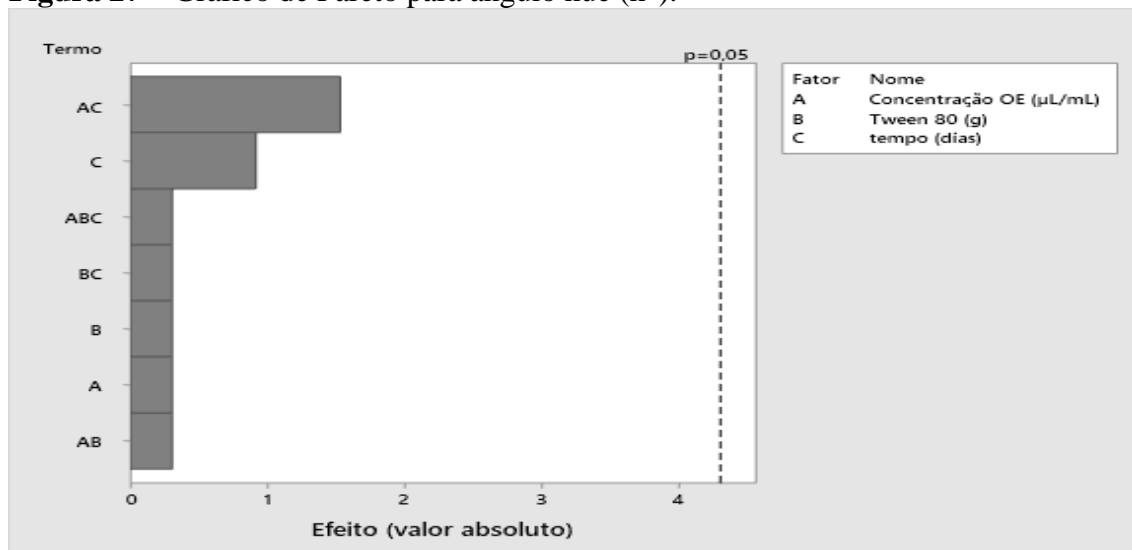
A cor vermelha brilhante dos morangos atrai os consumidores. O vermelho característico dos frutos é devido ao teor das antocianinas (GOSSINGER *et al.*, 2008; FERREIRA, 2014).

O OE, o TW 80 e o tempo não apresentaram significância estatística a 95%, ou seja, não influenciaram na cor da superfície dos morangos (Figura 25, 26 e 27).

**Figura 25** – Gráfico de Pareto para Luminosidade ( $L^*$ ).





**Figura 26** – Gráfico de Pareto para Cromaticidade ( $C^*$ ).**Figura 27** – Gráfico de Pareto para ângulo hue ( $h^\circ$ ).

Os valores de  $L^*$ ,  $C^*$  e  $h^\circ$  variaram de (44,26 a 38,46); (34,81 a 16,95) e (0,7 a 0,5), respectivamente. Nos três parâmetros, ocorreram decréscimos com o passar dos dias.

No tempo zero, de acordo com os valores encontrados no espaço  $L^*C^*h^\circ$ , os morangos foram armazenados nas embalagens com o filme biodegradável de coloração vermelha, brilho desejado e sem escurecimento. No décimo segunda dia de avaliação da vida de prateleira, com o decréscimo nos valores dos parâmetros  $L^*C^*h^\circ$ , os morangos apresentaram coloração vermelha mais intensa, com menos brilho e um pouco de escurecimento.

A redução do ângulo Hue é compatível com o aumento da coloração vermelha ocasionada pelo aumento de antocianinas. Valores menores da luminosidade indicam que

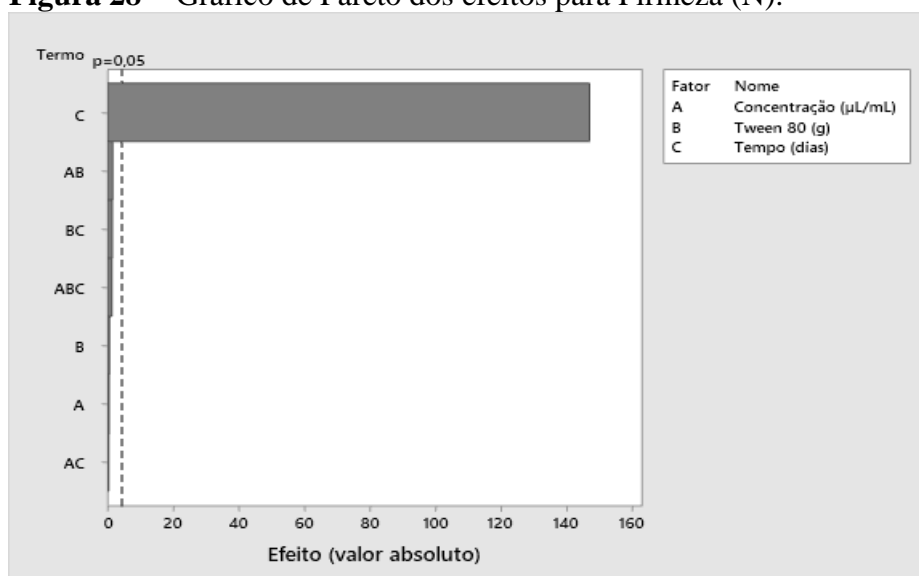
os morangos ficaram mais escuros e, conseqüentemente, menos cromáticos, com menos brilho (FERREIRA; SPRICIGO, 2017).

#### 4.5.6. Firmeza

A firmeza do fruto conserva as qualidades organolépticas, o que pode aumentar a vida de prateleira do alimento. A firmeza diminui durante o armazenamento devido à solubilização dos polissacarídeos, compostos que determinam a textura do fruto (SILVA, 2004).

O tempo foi o único fator que apresentou significância estatística a 95% (Figura 28).

**Figura 28** - Gráfico de Pareto dos efeitos para Firmeza (N).



Valores de firmeza acima de 135,16 são característicos de morangos muito firmes e valores abaixo de 83,55N são significativos de frutos macios (ANTUNES, 2013). Os morangos no tempo zero apresentaram valores que o caracterizam como firmes (próximos de 90N) e, no décimo segundo dia, como macios (próximos de zero). Morangos muito macios podem sofrer lesões durante o transporte e facilitar a instalação de fungos causadores de podridão (LAFARGA *et al.*, 2019).

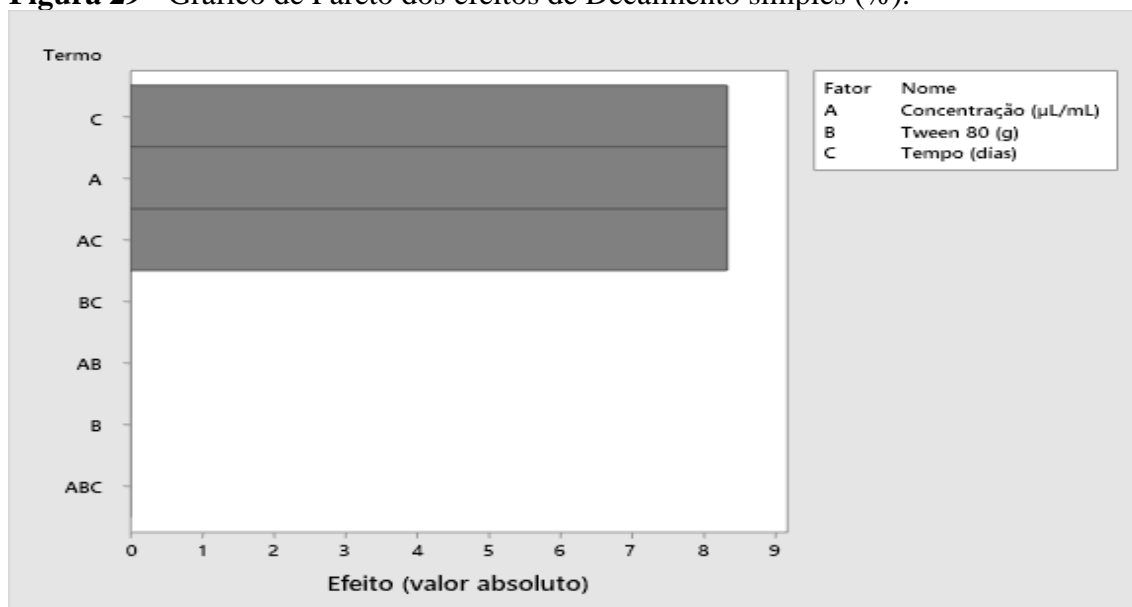
#### 4.5.7. Decaimento simples (%)

O decaimento simples, expresso em porcentagem, é uma avaliação da qualidade visual dos morangos, semelhante à realizada pelos consumidores nas prateleiras do

mercado. Os indicadores de qualidade utilizados na avaliação são manchas marrons e/ou amolecimento de área ferida e/ou mofo cinza visível (SHANKAR *et al.*, 2021).

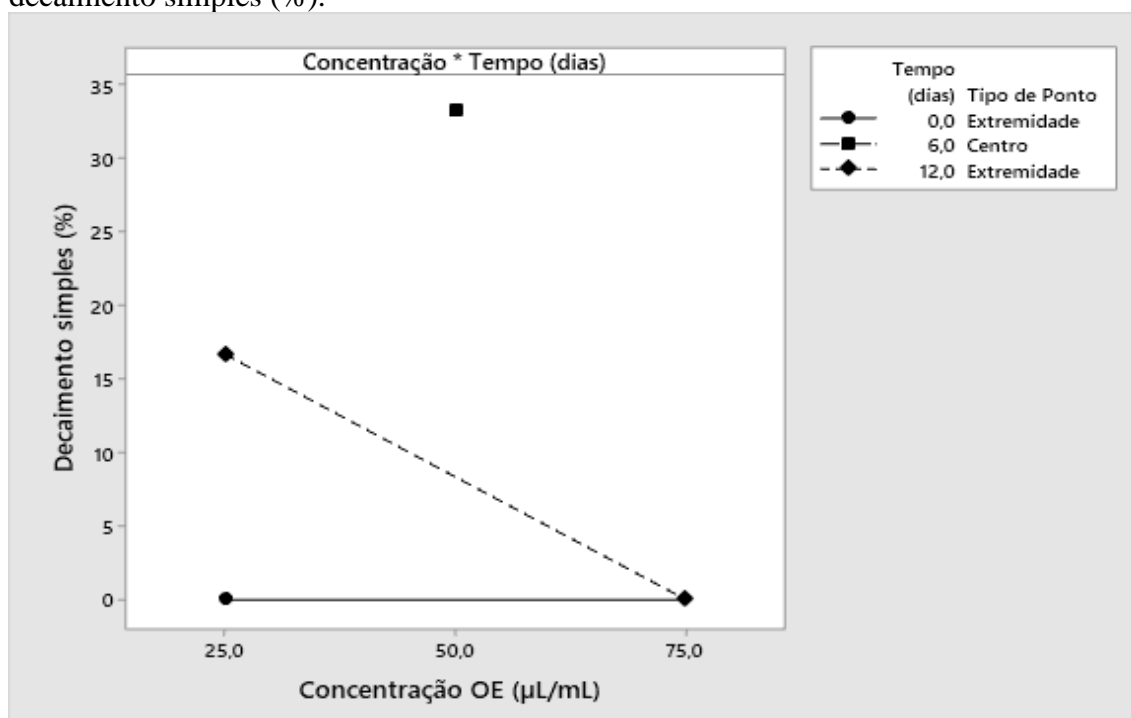
A concentração do OE, o tempo e a interação entre ambos apresentaram significância estatística a 95% (Figura 29).

**Figura 29** - Gráfico de Pareto dos efeitos de Decaimento simples (%).




Os tratamentos com OE 25  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  tiveram um aumento de 15% a 20% na porcentagem do decaimento simples, do primeiro ao décimo segundo dia. Os tratamentos com OE 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  praticamente não apresentaram aumento neste mesmo período de armazenamento. Os filmes com OE 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  apresentaram forte atividade contra o surgimento de manchas marrons e de mofo cinza visível ao final da avaliação (Figura 30).





**Figura 30** - Gráfico de interação; Concentração OE ( $\mu\text{L/mL}$ ) \* Tempo (dias) para decaimento simples (%).






O TW 80 não apresentou significância estatística ( $p > 0,05$ ) (Figura 26). O surfactante não produziu efeito sobre o surgimento de mofo cinza visível, de manchas marrons ou amolecimento de área ferida. Ou seja, ele não interferiu em nenhuma etapa do desenvolvimento do mofo durante de armazenamento dos morangos. Não foi observado mofo cinza visível nos morangos em nenhum dos tratamentos, apenas manchas marrons e amolecimento da área visível (Tabela 4).

**Tabela 6** - Valores das variáveis independentes dos FBS; concentração do OE das folhas do *C. regium* (OE); tween 80 (TW 80); imagens dos morangos armazenados.

n°	Variáveis independentes			Morangos armazenados
	OE ( $\mu\text{L/mL}$ )	TW 80 (g)	T (dias)	
1	75	0,0625	12	

n°	Variáveis independentes			Morangos armazenados
	OE (µL/mL)	TW 80 (g)	T (dias)	
2	75	0,1875	0	
3	75	0,0625	0	
4	75	0,0625	12	
5	25	0,0625	0	
6	25	0,1875	12	
7	25	0,0625	12	
8	25	0,1875	0	

n°	Variáveis independentes			Morangos armazenados
	OE (µL/mL)	TW 80 (g)	T (dias)	
9	50	0,125	6	
10	50	0,125	6	
11	50	0,125	6	

## 5. CONCLUSÃO

O óleo essencial das folhas do *Cochlospermum regium* incorporado aos filmes biodegradáveis apresentaram atividade contra o surgimento de mofo cinza visível nos morangos durante o período de armazenamento de 0 a 12 dias. Em dose maior de incorporação – OE 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  – os filmes biodegradáveis apresentam potencial para serem utilizados no desenvolvimento de embalagens ativas e biodegradáveis para o armazenamento de morangos.

## 6. REFERÊNCIAS

AABY, K.; MAZUR, S.; NES, A.; SKREDE, G. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x anassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. **Food Chemistry**, v. 132, n. 1, p. 86-97, mai. 2012.

Adams, R. P. (2007). **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Carol Stream, Illinois, USA: Allured Publishing Corporation.

ALVES, M. C.; MATOSO, E. S.; VIGHI, V. A.; MOURA, J. C.; CASTRO, T. V. Qualidade pós-colheita de frutas de morangueiro produzidas no solo e em substratos. **Revista da jornada da pós-graduação e pesquisa**, Congrega, 2017.

ANAMI, 2019. J. M. **Impacto do retardo do resfriamento e da atmosfera modificada ativa sobre a manutenção da qualidade de morangos *San andreas***. (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, 2019.

ALMEIDA, P. P. **Desenvolvimento de embalagem ativa antimicrobiana para pães de forma**. 2017. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2017.

AL-REZA, S. M.; RAHMAN. A.; AHMED, Y.; KANG, S. C. Inhibition of plant pathogens *in vitro* and *in vivo* with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. Pesticide **Biochemistry and Physiolog.**, v. 96, n. 2, p. 86-92, fev. 2010.

ALYOUSEF, M. A.; ALOQIEL, S. A.; ALDALLAH, S. D.; Antifungal activity of lemon grass oil against clinically *Aspergillus* spp. isolates. **International Journal of Advanced Research in Biological Sciences**, v. 1, n. 3, p. 44-46, 2014.

American Society for Testing and Materials - ASTM - “ASTM D 882-00: Standard test methods for tensile properties of thin plastics sheeting”, ASTM, Philadelphia (2001)



ANTUNES, M. C. **Qualidade de frutos de seis cultivares de morangueiro**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal do Paraná, 2013.

ARUNACHALAM, K.; DAMAZO, A. S.; PAVAN, E.; OLIVEIRA, D. M.; FIGUEIREDO, F. de F.; MACHADO, M. T. M.; BALOGUN, S. O.; SOARES, I. M.; BARBOSA, R. dos S.; ALVIM, T. da C.; ASCÊNDIO, S. D.; MARTINS, D. T. de O. *Cochlospermum regium* (Mart. ex Schrank) Pilg.: Evaluation of Chemical profile, gastroprotective activity and mechanism of action of hydroethanolic extract of its xylodium in acute and chronic experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 233, p. 101-114, abr. 2019.

ASSIS, R. Q.; PAGNO, C. H.; COSTA, T. M. H.; FLÔRES, S. H.; RIOS, A. O. Synthesis of biodegradable films based on cassava starch containing free and nanoencapsulated  $\beta$ -carotene. **Packaging Technology and Science**, v. 31, n. 3, p. 157-166, mar. 2018.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, fev. 2008.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; BERRERA-NECHA, L. L. *Rhizopus stolonifer* (Soft Rot). In: BAUSTISTA-BAÑOS, S. **Postharvest decay: control strategies**. Academic press, 2014. Capítulo 1, p. 1-44.

BRANDELERO, R. P.H.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V.E. The effect of surfactant Tween 80 on the hydrophilicity, water vapor permeation, and the mechanical properties of cassava starch and poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) blend films.

BRAGA, L. R.; SILVA, F. M. Embalagens ativas: uma nova abordagem para embalagens alimentícias. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 4, p. 170-186, dez. 2017.

BRUM, R. L.; HONDA, N. K.; HESS, S. C.; CRUZ, A. B.; MORETTO, E. Antibacterial activity of *Cochlospermum regium* essential oil. **Fitoterapia**, v.68, n.1, p.79, 1997.

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

CANTILLANO, R. F. L.; CASTANEDA, L. M. F.; TREPTOW, R. O.; SCHUNEMANN, A. P. P. **Qualidade físico-química e sensorial de cultivares de morango durante o armazenamento refrigerado**. Embrapa, 2008.

CARMO, E. S.; PEREIRA, F. O.; MOREIRA, A. C. P.; BRITO, L. L.; GAYOSO, C. W.; COSTA, J. G. M.; LIMA, E. O. Essential oil from *Cymbopogon citratus* DC) Stapf: a promising natural product against *Malassezia* spp. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.71, n.2, 2012.

CARISSIMI, M. **Desenvolvimento e aplicação de filmes biodegradáveis a partir de amido de mandioca e microalga verde**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2017.

CHEN, X.; GHU, L.; CHEN, P.; XU, Y.; HAO, H.; DU, X. Investigation of the high-amylose maize starch gelatinization behaviours in glycerol-water systems. **Journal of Cereal Science**, v. 77, p. 135-140, set. 2017.

CORDEIRO, E. C. N.; RESENDE, J. T. V.; CÓRDOVA, K. R. V.; NASCIMENTO, D. A.; JÚNIOR, O. J. S.; ZEIST, A. R.; FAVARO, R. Arbuscular mycorrhizal fungi action on the quality of strawberry fruits. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 4, dez. 2019.

CORTEZ, L. E. R.; YAMAGUCHI, M. U.; CORTEZ, D. A. G.; PESCO, D. C. S. Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) e *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf (Poaceae). **O Mundo da Saúde**, v. 39, n. 4, p. 433-440, dez. 2015.

DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARD, H. M.; The study of biotic interactions in the Brazilian Cerrado as a path to the conservation of biodiversity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 3, ago. 2019.

DIÁNEZ, F.; SANTOS, M.; PARRA, C.; NAVARRO, M. J.; BLANCO, R.; GEA, F. J. Screening of antifungal activity of twelve essential oils against eight pathogenic fungi of vegetables and mushroom. **Letters in Applied Microbiology**, v. 67, p. 400-410, out. 2018.

FARIAS, M. G. **Elaboração e caracterização de filmes de amido e polpa de acerola por casting, extrusão termoplástica e termoprensagem**. 2016. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Soropédica, 2016.

FERREIRA, A. L. **Extração e quantificação de antocianina em fruta e polpa de morango**. 2014. Iniciação científica (Iniciação científica). Instituto Municipal de Ensino Superior do Município de Assis. Assis, 2014.

FERREIRA, M. D.; SPRICIGO, P. C.; **Colorimetria – Princípios e aplicações na agricultura**. Embrapa Instrumentação, 2017.

FLORES-MARTÍNEZ, N. L.; VALDEZ-FRAGOSO, A.; JIMÉNEZ-ISLAS, H.; PÉREZ-PÉREZ, M. C. Physical, barrier, mechanical and microstructural properties of *Aloe vera* – gelatina-glycerol edible films incorporated with *Pimenta dioica* L. merrill essential oil. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, v. 16, n. 1, p. 109-119, dez. 2016.

FONTANA, D. C.; NETO, D. D.; PRETTO, M. M.; MARIOTTO, A. B.; CARON, B. O.; KULCZYNSKI, S. M.; SCHIMIDT, D. Using essential oils to control diseases in strawberries and peaches. **International Journal of Food Microbiology**, v. 338, jan. 2021.

FRUGÉRIO, G.; KAETSU, S. T. Análise de embalagens de produtos alimentícios que marcaram a lembrança dos consumidores. **Caderno de Administração**, v. 23, n. 2, nov. 2015.

GALVÃO, F. de O.; DANTAS, F. G. da S.; SANTOS, C. R. de L.; MARCHIORO, S. B.; CARDOSO, C. A. L.; WENDER, H.; SANGALLI, A.; ALMEIDA-APOLONIO, A. A. de; OLIVEIRA, K. M. P. *Cochlospermum regium* (Schrank) pilger leaf extract inhibit methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 261, out. 2020.

GONG, Y.; ZHOU, L.; SHI, X.; MA, Z.; GUO, Z.; WANG, M.; WANG, J.; LI, X. Chemical Composition of the Fruit Essential Oil of *Phellodendron chinense* (Rutaceae) from China and Its Antifungal Activity against Plant Pathogenic Fungi. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, n. 1, p. 108-112, dez. 2011.

GOSSINGER, M.; MAYER, F.; RADOCHA, N.; HOFER, M.; BONER, A.; GROLL, E.; NOSKO, E.; BAUER, R.; BERGHOFER. Consumer's color acceptance of strawberry nectars from puree. **Journal of Sensory Studies**, n. 24, p. 78-92, mar. 2008.

GUINÉ, R. P. F.; CORREIA, P. M. R.; FERRÃO, A. C.; GONÇALVES, F. LERAT, C.; EL-IDRISSI, T.; RODRIGO, E. Evaluation of phenolic and antioxidant properties of strawberry as a function of extraction conditions. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, 2020.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; ALMENAR, E.; OCIO, M. J.; GAVARA, R. Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). **Postharvest Biology and Technology**, n. 39, p. 247-253, nov. 2005.

INÁCIO, M. C.; PAZB, T. A.; BERTONI, B. W.; VIEIRA, M. A. R.; MARQUES, M. O. M.; PEREIRA, A. M. S. Histochemical investigation of *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilg. leaves and chemical composition of its essential oil. **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v. 28, n. 10, fev. 2014.

JAMIOIKOWSKA, A.; KOPACKI, M. **Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control: Natural Compounds Against Plant Pests and Pathogens**. Capítulo 5, p. 55-63, 2020.

JANURIANTI, N. M. D.; UTAMA, I. M. S.; GUNAM, I. B. W.; Colour and Quality of Strawberry Fruit (*Fragaria x ananassa* Duch.) at Different Levels of Maturity. **Sustainable Environment Agricultural Science**, v. 5, n. 1, p. 22-28, abr. 2021.

JUGREET, B. S.; SUROOWAN, S.; RENGASAMY, R. R. K.; MAHOMOODALLY, M. F. Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. **Trends in Food Science & Technology**, v. 101, p. 89-105, jul. 2020.

KONG, J.; ZHANG, Y.; JU, J.; XIE, Y.; YAHUI GUO, Y.; YULIANG CHENG, Y.; HE QIAN, H.; SIEW YOUNG QUEK, S. Y.; YAO, W. Antifungal effects of thymol and salicylic acid on cell membrane and mitochondria of *Rhizopus stolonifer* and their application in postharvest preservation of tomatoes. **Food Chemistry**, v. 285, p. 380-388, jul. 2019.

LAFARGA G.; VIÑAS, I. Qualidade de frutos de seis cultivares de morangueiro. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n. 52, p. 197-212, dez. 2019.

LEME, D. E. M.; RODRIGUES, A. B.; ALMEIDA-APOLONIO, A. A.; DANTAS, F. G. da S.; NEGRI, M. F. N.; SVIDZINSKI, T. I. E.; MOTA, J. da S.; CARDOSO, C. A. L.; OLIVEIRA, K. M. P. *In Vitro* Control of Uropathogenic Microorganisms with the Ethanolic Extract from the Leaves of *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilger. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, dez. 2017.

LI, C.; WANG, K.; LEI, C.; ZHENG, Y. Translocation of PpNPR1 is required for  $\beta$ -aminobutyric acid-triggered resistance against *Rhizopus stolonifer* in peach fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 272, out. 2020.

LÓPEZ-ORTIZ, A.; M'WNDEZ-LAGUNAS, L. L.; DESLESMA, C.; LONGORIA, A.; ESCOBAR, J.; MUÑIZ, J. Understand the drying kinetics of phenolic compounds in strawberries: An experimental and density functional theory study. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n. 60, dez. 2019.

MASHIGO, M.; COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; DU PLOOY, W.; AUGUSTYN, W.; MOKGALAKA, N. Chemical variations, trichome structure and antifungal activities of essential oils of *Helichrysum splendidum* from South Africa. **South African Journal of Botany**, v. 96, p. 78-84, out. 2014.

MATHEUS, J. R. V.; SATORIVA, J. M.; BARONE, J. M.; ANDRADE, C. J.; FAI, A. E. C. Biodegradable films and vegetable reinforcement agents: A focus on Brazilian studies from the perspective of the circular economy. **Research, society and development**, v. 10, n. 9, jun. 2021.

MAHMOOD, T.; ANWAR, F.; ABBAS, M.; SAARI, N. Effect of Maturity on Phenolics (Phenolic Acids and Flavonoids) Profile of Strawberry Cultivars and Mulberry Species from Pakistan. **International Journal of Molecular Sciences**, v.13, p. 4591-4607, abr.2012

MELO, N. F. C. B. **Bioatividade comestíveis a base de quitosana em gel e nanopartículas na conservação de morangos (*FRAGARIA X ANANASSA*)**. 2020. (Doutorado em Nutrição). Universidade Federal de Pernambuco, 2020.

MENEZES FILHO, A. C. P.; SOUSA, W. C.; CHRISTOFOLI, M.; CASTRO, C. F. de S. Perfil químico e atividades antioxidante e antifúngica do óleo essencial da flor de *Cochlospermum regium* (Mart. ex Schrank.) –Pilg. (*Bixaceae*). **Colloquium Agrariae**, v. 16, n. 4, p. 89-101, ago. 2020.

MENEZES FILHO, A. C. P.; SOUSA, W. C.; CASTRO, C. F. de S. Atividades antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais de *Cochlospermum regium* frente à *Sclerotinia sclerotiorum* e *Colletotrichum gloeosporioides*). **Colloquium Agrariae**, v. 16, n. 1, p. 109-116, fev. 2020.

MISHRA, A. P.; DEVKOTA, H. P.; NIGAM, M.; ADETUNJI, C. O.; SRIVASTAVA, N.; SAKLANI, S.; SHUKLA, I.; AZMI, L.; SHARIATI, M. A.; COUTINHO, H. D. M.; KHANEGHAH, A. M. Combination of essential oils in dairy products: A review of their functions and potential benefits. **LWT - Food Science and Technology**, v. 133, nov. 2020.

MUSA, C. I.; **Caracterização físico-química de morangos de diferentes cultivares em sistemas de cultivo distintos no município de Bom Princípio/RS**. 2016. Tese (Doutorado em Ambiente e Desenvolvimento). Univates. Lajeados, 2016.

NASCIMENTO, M. N. G.; JUNQUEIRA, J. G. M.; TEREZAN, A. P.; SEVERINO, R. P.; SILVA, T. S.; MARTINS, C. H. G.; SEVERINO, V. G. P. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from *Xylopiya aromatica* (Annonaceae) Flowers and Leaves. **Revista Virtual de Química**, v.10, n.5, p. 1578-1590, out. 2018.

OLIVEIRA, A. A. R.; FILHO, H. P. S. Podridão do Rhizopus. **Embrapa**, 1 ed., v. 26, dez. 2009.

OLIVEIRA, L. M. **Determinação das melhores condições de extração e caracterização cinética e termodinâmica do processo degradativo de antocianinas de extrato de Eugenia involucrata (cerejeira-do-mato)**. 2017. (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande, 2017.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C. C.; BRITO, D. R.; DA SILVA, J. B.; CAJAZEIRA, J. P. USE OF ESSENTIAL OILS IN AGRICULTURE. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162-174, mai. 2013.

PANDEY, A. K.; SINGH, P.; PALNI, U. T.; TRIPATHI, N. N. In vivo evaluation of two essential oil based botanical formulations (EOBBFs) for the use against stored product pathogens and pests, *Aspergillus* species and *Callosobruchus* species (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 133, p. 285-291, nov. 2014.

PANICO, A. M.; GARUF, F.; NITTO, S; DI MAURO, R.; LONGHITANO, R. C.; MAGRÍ, G.; CATALFO, A.; SERRENTINO, M. E.; GUIDI, G. Antioxidant activity and phenolic content of strawberry genotypes from *Fragaria x ananassa*. **Taylor&Francis**, v. 47, n. 3, p. 203-208, mar. 2009

PASSAGLIA, V. Óleos essenciais no controle de *Rhizopus stolonifer* e *Botrytis cinérea* em morangos. 2017. Dissertação (Agronomia/Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2017.

PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? **Challenges and constraints. Trends in Plant Science**, v. 21, n. 12, dez. 2016.

PINHELLI, E. M.; SILVA, G. A.; RAMOS, G. B.; SERAFIM, J. V.; OLIVEIRA, N. R. **Produção de filmes biodegradáveis a base de amido e farinha de banana verde adicionados de óleo essencial de capim-limão**. 2019. Iniciação científica (Projeto de Iniciação Científica). Instituto Federal Catarinense. Araquari, 2019.

PORRAS, D. P. N.; SUÁREZ, M. G.; UMAÑA, J. H.; PERDOMO, L. G. P. Optimization of Physical, Optical and Barrier Properties of Films Made from Cassava Starch and Rosemary Oil. **Journal of Polymers and the Environment**, n. 27, p. 127-140, nov. 2018.

PROPERZI, A.; ANGELINI, P.; BERTUZZI, G.; VENANZONI, R. Some Biological Activities of Essential Oils. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 2, n. 5, p. 2-5, out, 2013.

REZENDE, J. L.; FERNANDES, C. C.; COSTA, A. O. M.; SANTOS, L. S.; VICENTE NETO, F.; SPERANDIO, E. M.; SOUCHIE, E. L.; COLLI, A. C.; CROTTI, A. E. M.; MIRANDA, M. L. D. Antifungal potential of essential oils from two varieties of *Citrus sinensis* (lima orange and bahia navel orange) in postharvest control of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 405-409, dez. 2020.

RESIANINGRUM, R.; ATMAKA, W.; KHASANAH, L. U.; KAWIJI; UTAMI, R.; PRASEPTIANGGA, D. Characterization of cassava starch-based edible film enriched with lemongrass oil (*Cymbopogon citratus*). **Nusantara bioscience**, v. 8, n. 2; p. 278-282, nov. 2016.

RIBEIRO-SANTOS, R.; MELO, N. R.; ANDRADE, M.; AZEVEDO, G.; MACHADO, A. V.; CARVALHO-COSTA, D.; SANCHES-SILVA, A. Whey protein active



incorporated with a blend of essential oils: Characterization and affectiveness. **Packaging Technology and Science**, v. 31, n. 1, p. 27-40, set. 2017.

RIGOLON, T. C. B.; BARROS, F. A. R.; VIEIRA, E. N. F.; STRINGHETA, P. C. Prediction of total phenolics, anthocyanins and antioxidant capacity of blackberry (*Rubus* sp.), blueberry (*Vaccinium* sp.) and jaboticaba (*Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel) skin using colorimetric parameters. **Food Science and Technology**, dez. 2020.

ROCHA, D. A.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. D.; CORRÊA, E. W. N. Análise comparativa de nutrientes funcionais em morangos de diferentes cultivares da região de Lavras-mg. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 4, p. 1124-1128, dez. 2008.

ROCHA, G. O. **Obtenção e Caracterização de Filmes Biodegradáveis a partir de Misturas de Amido de Mandioca e Extrato Protéico de Soja**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Soropédica, 2009.

ROCHA, G. O.; FARIAS, M. G.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R.; GALDEANO, M. C. Biodegradable composite films based on cassava starch and soy protein. **Polímeros**, n. 24, v. 5, out. 2014.

RODRÍGUEZ, M.; OSÉS, J.; ZIANI, K.; MATÉ, J. I.; Combined effect of plasticizers on the physical properties of starch edible films. **Food Research International**, n. 39, p. 840-846, abr. 2006.

SANTOS, A. N.; COELHO, B. E. S.; GALVÃO, L. C.; TORRES, G. S.; NETO, A. F.; SANTOS, I. H. CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E FÍSICO-QUÍMICA DE MORANGOS SAN ANDREAS PRODUZIDOS SOB SISTEMAS ORGÂNICO E CONVENCIONAL. **Revista Cultura Agronômica**, v. 29, n. 3, p. 379-388, out. 2020.

SAFARI, M.; KAMALY, A.; HADIAN, J.; FARZANEH, M. Inhibition of Spore Development and Mycelial Growth of *Rhizopus stolonifer* by Essential Oil of *Satureja richingeri* from Iran. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, n. 6, p. 5-10, fev. 2012.

SARANTÓPOULOS, C.; COFCEWICZ, L. S. Embalagens ativas para produtos perecíveis. **Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, v. 28, n. 3, set. 2016.

SCHIASSI, M. C. E. V.; DE SOUZA, V. R.; LAGO, A. M. T.; CAMPOS, L. G.; QUEIROZ, F. Fruits from the brazilian cerrado region: physicochemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry**, v. 245, p. 305-311, abr. 2018.

SHANKAR, S.; KHODAEI, D.; LACROIX, M.; Effect of chitosan/essential oils/silver nanoparticles composite films packaging and gamma irradiation on shelf life of strawberries. **Food Hydrocolloids**, v. 117, mar. 2021.

SHARMA, S.; BARKAUSKAITE, S.; DUFFY, B.; JAISWAL, A. K.; JAISWAL, S. **Characterization and Antimicrobial Activity of Biodegradable Active Packaging Enriched with Clove and Thyme Essential Oil for Food Packaging Application.** Foods, n.9, v.8, ago. 2020.

SILVESTRE, W. P.; LIVINALI, N. F.; BALDASSO, C.; TESSARO, I. C. Pervaporation in the separation of essential oil components: **A review.** **Trends in Food Science & Technology**, v. 93, p. 42-52, nov. 2019.

SILVA, C. S. **Qualidade e conservação do morango tratado em pós-colheita com cloreto de cálcio e do armazenamento em atmosfera modificada ativa.** 2004. Mestrado (Mestre em Agronomia). Botucatu, São Paulo, 2004.

SILVA, P. A. **Qualidade de morangos cultivados na região de Lavras. MG, armazenados em temperatura ambiente.** (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2007.

THAKUR, M.; BHATTACHARYA, S.; KHOSLA, P. K.; PURI, S. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 12, p. 1-12, mar. 2019.

THIEL, S.R.; GIACOMELLI, F. O.; FONTOURA, A. M.; OLIVEIRA, M. S. R.; DORNELLES, R. C. P.; MELLO, R. O. **Qualidade de morangos embalados com filme a base de fibra de colágeno com adição de óleo essencial de pimenta rosa**. In: Simpósio de Segurança alimentar, 7, 2020, Rio Grande do Sul. Santa Catarina: UFSM, 2020.

WHEATLEY, C. C.; CHUZEL, G.; ZAKHIA, N. CASSAVA / The nature of the tuber. In: CABALLERO, B. **Encyclopedia of Food Science and Nutrition**. Academic Press, 2003. p. 964-969.

VALADARES, A. C. F.; FERNANDES, C. C.; FILHO, J. C. O.; DEUS, I. P. B.; LIMA, T. M.; SILVA, SOUCHIE, E. L.; MIRANDA, M. L. D. Incorporation of essential oils from *Piper aduncum* into films made from arrowroot starch: effects on their physicochemical properties and antifungal activity. **Química nova**, v. 43, n. 6, p. 729-737, mar. 2020.

VENENCIO, G. **Avaliação de degradação de pelargonidina durante a secagem de morangos**. 2010. Monografia (Engenharia de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

VIÉGAS, L. P. **Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de amido com quitosana para aplicação em embalagens de alimentos**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos do Goytacazes, 2016.

ZHANG, D.; YAO, X.; DUAN, M.; WEI, F.; WU, G.; LI, L. Variation of essential oil content and antioxidant activity of *Lonicera* species in different sites of China. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 772-779, dez. 2015.

ZHOU, L.; ZHANG, Z.; WEI, M.; XIE, Y.; HE, S.; SHI, H.; LIN, Z. Evaluation of the antifungal activity of individual and combined monoterpenes against *Rhizopus stolonifer* and *Absidia coerulea*. **Environmental Science and Pollution Research**, n. 26, p. 7804-7809, jan. 2019.

YAN, Jiaqi; WU, Hua; CHEN, Keying; FENG, Jiajun; ZHANG, Yansong. Antifungal activities and mode of action of *Cymbopogon citratus*, *Thymus vulgaris*, and *Origanum heracleoticum* essential oil vapors against *Botrytis cinerea* and their potential application to control postharvest strawberry gray mold. **Foods**, v. 10, n. 10, p. 2451, 2021.