



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

LEILANNE MARCIA NOGUEIRA OLIVEIRA

**REVESTIMENTO DE GOMAS DO CAJUEIRO E GELANA COM EXTRATOS DE
PLANTAS PARA APLICAÇÃO EM BARRA DE FRUTA**

FORTALEZA

2019

LEILANNE MARCIA NOGUEIRA OLIVEIRA

REVESTIMENTO DE GOMAS DO CAJUEIRO E GELANA COM EXTRATOS DE
PLANTAS PARA APLICAÇÃO EM BARRA DE FRUTA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia no ponto focal na Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de doutor em Biotecnologia. Área de Concentração: Biotecnologia Industrial.

Orientador: Prof^o. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.

Co-orientadora: Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- O48 Oliveira, Leilanne Marcia Nogueira.
Revestimento de gomas do cajueiro e gelana com extratos de plantas para aplicação em barra de fruta /
Leilanne Marcia Nogueira Oliveira. – 2019.
119 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Programa
de Pós-Graduação em Biotecnologia (Rede Nordeste de Biotecnologia), Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.
Coorientação: Prof. Dr. Maria do Socorro Rocha Bastos.
1. Anacardium occidentale. 2. extrato de plantas . 3. antimicrobiano natural . 4. revestimento. 5.
estruturado de fruta. I. Título.

CDD 660.6

LEILANNE MARCIA NOGUEIRA OLIVEIRA

REVESTIMENTO DE GOMAS DO CAJUEIRO E GELANA COM EXTRATOS DE
PLANTAS PARA APLICAÇÃO EM BARRA DE FRUTA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia no ponto focal na Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de doutor em Biotecnologia. Área de Concentração: Biotecnologia Industrial.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

Dra. Larissa Moraes Ribeiro da Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Renato de Azevedo Moreira
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Dr. Selene Daiha Benevides
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

Dra. Roselayne Ferro Furtado
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

A Deus, sem o qual nada seria possível.

Aos meus pais Ana e Luís pelo apoio e amor incondicional.

As minhas irmãs Laila, Letícia e Luanda pelo carinho e companheirismo.

Aos meus amigos que me dão forças para que eu nunca desista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado força para finalizar essa etapa tão importante da minha vida e por sempre me ajudar nos momentos difíceis.

À Universidade Federal do Ceará, por intermédio da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), pela oportunidade de realização deste doutorado.

À Embrapa pela disponibilidade dos Laboratórios de Biomassa, Embalagens de Alimentos e Química de Produtos Naturais.

Ao meu orientador Prof.^o Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo pela orientação, dedicação, ensinamentos e apoio durante todo este trabalho.

À minha co-orientadora Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos por toda a compreensão, orientação, amizade e atenção.

Ao Prof. Paulo Henrique Machado de Sousa, por toda prontidão e pelas contribuições destinadas a este trabalho.

À minha amiga Prof.^a Dra. Larissa Morais Ribeiro da Silva pela amizade, palavras de conforto, ensinamentos e contribuições para a realização deste trabalho.

À Prof.^a Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo pela orientação, confiança e preocupação que foram importantes para a realização e concretização deste trabalho e para minha formação profissional.

À minha amiga e companheira de doutorado Ana Cristina Silva de Lima por todo apoio prestado nessa caminhada.

À banca pelas correções, sugestões e críticas importantes para a melhoria desse trabalho.

À minha médica Dra Brenda Maria Gurgel por toda a atenção e empenho no meu tratamento da artrite. Com certeza não teria conseguido chegar até aqui sem o seu profissionalismo, amizade, zelo...tantos outros atributos que lhe definem.

À minha família pela força e pela torcida durante todos os momentos de minha vida, em especial aos meus pais (Ana e Luís), irmãs (Laila, Letícia e Luanda), meu tio Aldoncio, minha tia Socorro Brito e minha avó Maria Brito.

Aos amigos e técnicos do Laboratório de Frutos Tropicais pelo incansável apoio, sempre.

Às amigas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, em especial Débora e Flayanna pela ajuda. Vocês foram parte fundamental na condução do experimento.

À Prof.^a Dra. Antoniella Souza Gomes pela realização da análise de citotoxicidade.

Às minhas amigas da igreja Videira, especialmente do meu grupo de crescimento, pela torcida e incentivo para finalização deste trabalho.

Às minhas amigas Erika Paula e Suzany Alves que tanto me escutaram nos momentos difíceis e me deram força para nunca desistir.

Às minhas amigas Luiza Karoline, Luzia Karine, Monique Darli, Suzana Mauricio, Kalyane Maciel, Amanda Alice, Suzane Nunes, Barbara Mara, Camila Duarte e todas as outras que me ajudaram dando palavras de incentivo e me escutando.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para realização desse trabalho,
OBRIGADA !!!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes.”

Martin Luther King

RESUMO

Revestimentos comestíveis são desenvolvidos para interagir favoravelmente com os alimentos, aumentando sua vida de prateleira. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo desenvolver revestimento comestível de gomas do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) e gelana adicionado de extratos de folhas de chambá (*Justicia pectoralis Jacq.*) e marmeleiro preto (*Croton jacobinensis Baill.*) para aplicação em barra de açaí. Extratos aquosos e hidroalcoólicos (50 e 70%) de chambá e marmeleiro preto foram obtidos e caracterizados quanto ao teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante total e atividade antimicrobiana frente as bactérias *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* e *Staphylococcus aureus*. Os extratos com melhor atividade antimicrobiana foram avaliados quanto a citotoxicidade frente a células epiteliais humanas através do MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-brometo de tetrazólio] e ao perfil de substâncias por cromatografia associada à espectrometria de massas. Um delineamento experimental do tipo composto central rotacional 2^2 com 6 pontos axiais e 3 centrais totalizando 11 formulações foi realizado para obter revestimentos comestíveis à base de gomas do cajueiro e gelana, no qual as concentrações de goma do cajueiro e do plastificante glicerol foram variadas. Esses revestimentos foram caracterizados quanto à cor, reologia, potencial zeta e ângulo de contato. A formulação mais promissora incorporada do extrato com melhor potencial antimicrobiano foi aplicada em barras de açaí armazenadas a 5 °C por 30 dias. A bioacessibilidade dos compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante total das barras sem e com revestimento foi determinada. Os resultados mostraram que as maiores quantidades de compostos fenólicos totais e maiores atividades antioxidante total foram encontradas no extrato etanólico de 70% para ambas as plantas estudadas. Todos os materiais vegetais apresentaram atividade contra as cepas de bactérias testadas, sendo os extratos aquoso de chambá e hidroalcoólico 70% de marmeleiro preto, os mais eficientes. Os extratos não apresentaram toxicidade pelo método do MTT. A formulação mais promissora do revestimento foi o tratamento com solução de goma do cajueiro 11,5% e 3,5% de glicerol, pois dentre outras características, apresentou menor molhabilidade e maior espalhamento, através da medição do ângulo de contato. A formulação foi incorporada o extrato hidroalcoólico 70% de marmeleiro preto, que apresentou melhor atividade antimicrobiana, sendo aplicado em barras de açaí. Dos parâmetros físico-químicos analisados, apenas para as análises de susceptibilidade à sinérese, compostos fenólicos totais e o parâmetro de cor a^* foram observadas interações significativas ($p \leq 0,05$) entre as formulações e o tempo de armazenamento. As análises microbiológicas mostraram que as

barras de açaí revestidas apresentaram maiores contagens de bactérias mesófilas e psicrófilas e bolores e leveduras. Em relação a bioacessibilidade, não houve diferença significativa entre as barras revestidas ou não. O conjunto de dados mostrados tornam os extratos de *J. pectoralis* Jacq. e *C. jacobinensis* Baill. potenciais candidatos para uso no desenvolvimento de novos produtos alimentícios. Porém, sua incorporação em revestimentos precisa ser mais estudada. A atividade biológica do revestimento não comprovada, mas evitou a sinérese da barra de açaí.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*. Extrato de plantas. Revestimento. Antimicrobiano natural. Estruturado de fruta.

ABSTRACT

Edible coatings are developed to interact favorably with food, increasing your shelf life. In this context, the objective of this work was to develop an edible coating of cashew gums (*Anacardium occidentale* L.) and gill extract of leaves of chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.) And black quince (*Croton jacobinensis* Baill.) For bar application açai. Aqueous and hydroalcoholic extracts of chambá and black quince were obtained and characterized in terms of total phenolic compounds, total antioxidant activity and antimicrobial activity against the bacteria *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* and *Staphylococcus aureus*. The extracts with the best antimicrobial activity were evaluated for cytotoxicity against human epithelial cells through MTT [3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyl-tetrazolium bromide] and to the profile of substances by chromatography associated with mass spectrometry. An experimental design of the rotational central composite type 22 with 6 axial and 3 central points totaling 11 formulations was performed to obtain edible coatings based on cashew and gellan gums, in which the concentrations of cashew and glycerol plasticizer were varied. These coatings were characterized for color, rheology, zeta potential and contact angle. The most promising incorporated formulation of the extract with the best antimicrobial potential was applied to açai bars stored at 5 ° C for 30 days. The bioaccessibility of the total phenolic compounds and the total antioxidant activity of the coated and uncoated bars was determined. The results showed that the highest amounts of total phenolic compounds and higher total antioxidant activities were found in the ethanolic extract of 70% for both plants studied. All the plant materials presented activity against the strains of bacteria tested, being the aqueous extracts of chambá and hydroalcoholic 70% of black quince, the most efficient ones. The extracts showed no toxicity by the MTT method. The most promising formulation of the coating was the treatment with gum solution of 11.5% cashew and 3.5% glycerol, because among other characteristics, it presented less wettability and greater spreading, through the measurement of the contact angle. The formulation was incorporated the hydroalcoholic extract 70% of black quince, which presented better antimicrobial activity, being applied in açai bars. From the physical-chemical parameters analyzed, only significant interactions ($p \leq 0.05$) between the formulations and the storage time were observed for analysis of susceptibility to syneresis, total phenolic compounds and color parameter a*. Microbiological analyzes showed that the coated açai bars presented higher counts of mesophilic and psicrófilas bacteria and molds and yeasts. Regarding bioaccessibility, there was no significant difference between the coated and non-coated bars. The data set show the extracts of *J. pectoralis* Jacq. and *C. jacobinensis* Baill.

potential candidates for use in the development of new food products. However, its incorporation into coatings needs to be further studied. The biological activity of the coating was not proven, but it avoided the syneresis of the açai bar.

Keywords: *Anacardium occidentale*. Plant extract. Coating. Natural antimicrobial. Structured fruit.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fotografia do exsudado do cajueiro.....	29
Figura 2 -	Fotografia da goma do cajueiro após precipitação.....	30
Figura 3 -	Estruturas das duas formas de goma gelana (a) nativa e (b) de baixo acil.....	32
Figura 4 -	Fluxograma geral da parte experimental.....	39
Figura 5 -	Fotografia de chambá (<i>Justicia pectoralis</i> Jacq).....	41
Figura 6 -	Fotografia de marmeleiro preto (<i>Croton jacobinensis</i> Baill).....	42
Figura 7 -	Fluxograma das análises da barra de açaí revestida e sem revestimento comestível de gomas do cajueiro e gelana incorporado de extrato de planta.....	51
Figura 8 -	Barras de açaí com revestimento de gomas do cajueiro e gelana incorporado de extrato de planta.....	53
Figura 9-	Cromatograma obtido no sistema UPLC-QToF-MS em modo negativo (ESI-) do extrato aquoso de <i>Justicia pectoralis</i> Jacq.....	67
Figura 10 -	Cromatograma obtido no sistema UPLC-QToF-MS em modo negativo (ESI-) do extrato hidroalcoólico de <i>Croton jacobinences</i> Baill.....	71
Figura 11 -	Diagrama de Pareto da variável da tensão inicial (A) e superfície de resposta sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol na variável tensão inicial (B).....	76
Figura 12 -	Diagrama de Pareto da variável viscosidade plástica de Casson sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol.....	77
Figura 13 -	Diagrama de Pareto dos parâmetros de cor L*(a), a*(b) e b*(c) sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol.....	79
Figura 14 -	Diagrama de Pareto (A) e superfície de resposta (B) do potencial zeta sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol.....	81
Figura 15 -	Ângulo de contato referente à molhabilidade de revestimentos de gomas do cajueiro e gelana.....	83
Figura 16 -	Diagrama de Pareto (A) e Superfície de resposta (B) para a molhabilidade sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol.....	84

Figura 17 -	Ângulo de contato referente ao espalhamento de revestimentos de gomas do cajueiro e gelana.....	86
Figura 18 -	Gráfico de Pareto (A) e Superfície de resposta (B) sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol no espalhamento.....	87
Figura 19 -	Perda de peso das barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob refrigeração (5 ± 2 °C).....	89
Figura 20 -	Média dos valores de pH das barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C).....	90
Figura 21 -	Média dos valores de sólidos solúveis totais (SST) das barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.....	92
Figura 22 -	Média dos valores de acidez total titulável das barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.....	93
Figura 23 -	Valores de cromaticidade (a^*) das barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.....	95
Figura 24 -	Valores de b^* das barras de açaí revestidas e não durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.....	96
Figura 25 -	Valores de compostos fenólicos totais de barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.....	97
Figura 26 -	Valores de atividade antioxidante total de barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.....	98
Figura 27 -	Valores de antocianinas totais de barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Delineamento composto central de formulações dos revestimentos à base de goma do cajueiro e goma gelana com diferentes concentrações de goma do cajueiro e glicerol.....	48
Tabela 2 -	Modelos reológicos utilizados para avaliação do comportamento reológico dos revestimentos de goma do cajueiro.....	49
Tabela 3 -	Teor de compostos fenólicos totais expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG).....	60
Tabela 4 -	Atividade antioxidante total expressa em micromolar de Trolox por grama de extrato.....	62
Tabela 5 -	Atividade antimicrobiana dos extratos de <i>J. pectoralis</i> Jacq.....	64
Tabela 6 -	Atividade antimicrobiana dos extratos de <i>C. jacobinensis</i> Baill.....	65
Tabela 7 -	Absorbâncias das culturas celulares expostas ao extrato aquoso de <i>J. pectoralis</i> Jacq e ao extrato hidroalcoólico 70% de <i>C. jacobinensis</i> Baill.....	66
Tabela 8 -	Compostos identificados no extrato de <i>Justicia pectoralis</i> Jacq.....	70
Tabela 9 -	Compostos identificados no extrato de <i>Croton jacobinences</i> Baill.....	73
Tabela 10 -	Parâmetros reológicos do modelo de Casson para tratamentos com diferentes concentrações de goma do cajueiro (%) e glicerol (%).....	75
Tabela 11 -	Parâmetros de cor de tratamentos com diferentes concentrações de goma do cajueiro (%) e glicerol (%), com concentração de goma gelana fixa (0,3%).....	78
Tabela 12 -	Potencial zeta de tratamentos com diferentes concentrações de goma do cajueiro (%) e glicerol (%), com concentração de goma gelana fixa (0,3%).....	78
Tabela 13 -	Molhabilidade dos tratamentos com diferentes concentrações de goma do cajueiro (%) e glicerol (%).A concentração de goma gelana é 0,3%.....	79
Tabela 14 -	Espalhamento dos tratamentos com diferentes concentrações de goma do cajueiro (%) e glicerol (%)com concentração de goma gelana fixa (0,3%).....	84

Tabela 15 -	Valores de pH das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.....	89
Tabela 16 -	Valores de sólidos solúveis, em °Brix, das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.....	90
Tabela 17 -	Valores de acidez total titulável em % de ácido cítrico das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.....	91
Tabela 18 -	Valores da coordenada L* das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.....	93
Tabela 19 -	Valores da coordenada b* das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.....	94
Tabela 20 -	Valores da atividade antioxidante total em µM de Trolox/g das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.....	97
Tabela 21 -	Valores de antocianinas totais em mg de equivalente cianidina-3-O-glucosídeo/ 100g das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.....	98
Tabela 22 -	Resultado do teste de ausência ou presença de <i>E. coli</i> , <i>Salmonella sp.</i> e <i>Listeria sp.</i> nas barras de açaí revestidas e não revestidas.....	99
Tabela 23 -	Efeito do revestimento de goma de cajueiro e goma gelana incorporado de extrato de marmeleiro preto sob o crescimento das bactérias mesófilas e psicrófilas, bolores e leveduras em barra de açaí armazenada a 5°C durante 30 dias.....	99
Tabela 24 -	Valores das médias para os teores de compostos fenólicos totais para as barras de açaí revestidas e não revestidas antes e após a digestão gastrointestinal simulada <i>in vitro</i>	100
Tabela 25 -	Valores das médias da atividade antioxidante total para as barras de açaí revestidas e não revestidas antes e após a digestão gastrointestinal simulada <i>in vitro</i>	101

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CIM Concentração inibitória mínima

CBM Concentração bactericida mínima

EAG Equivalente em ácido gálico

MTT 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-brometo de tetrazólio

DGS Digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	OBJETIVOS	24
2.1	Objetivo geral	24
2.2	Objetivos específicos	24
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
3.1	Revestimentos comestíveis	26
3.1.1	<i>Revestimento comestível à base de polissacarídeos</i>	27
3.2	Goma do cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.)	29
3.3	Goma gelana	31
3.4	Extratos de plantas	34
3.4.1	<i>Chambá (<i>Justicia pectoralis</i> Jacq.)</i>	34
3.4.2	<i>Marmeleiro preto (<i>Croton jacobinensis</i> Baill)</i>	36
3.5	Barra de fruta	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	1ª etapa - elaboração e caracterização de extratos de folhas de chambá (<i>justicia pectoralis</i> Jacq.) e marmeleiro preto (<i>Croton jacobinensis</i> baill) e seu potencial antimicrobiano	40
4.1.1	 Materiais	40
4.1.1.1	<i>Folhas de chambá e marmeleiro preto</i>	40
4.1.1.2	<i>Cepas</i>	40
4.1.1.3	<i>Reagentes</i>	40
4.1.2	 Métodos	41
4.1.2.1	<i>Processamento das folhas</i>	41
4.1.2.2	<i>Elaboração dos extratos</i>	42
4.1.3	 Caracterização dos extratos	42
4.1.3.1	<i>Compostos fenólicos totais</i>	42
4.1.3.2	<i>Atividade Antioxidante Total</i>	42
4.1.3.3	<i>Atividade Antimicrobiana</i>	42
4.1.3.3.1	Preparo do inóculo.....	42
4.1.3.3.2	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM) dos	

	extratos.....	43
4.1.3.4	<i>Citotoxicidade frente a células epiteliais humanas.....</i>	45
4.1.3.5	<i>Perfil de substâncias por cromatografia líquida e espectrometria de massas.....</i>	46
4.1.4	Análise estatística.....	46
4.2	2ª etapa – desenvolvimento e caracterização de revestimentos comestíveis à base dos polissacarídeos gomas do cajueiro e gelana.....	47
4.2.1	Materiais.....	47
4.2.2	Métodos.....	47
4.2.2.1	<i>Precipitação da goma do cajueiro.....</i>	47
4.2.2.2	<i>Elaboração dos revestimentos.....</i>	48
4.2.3	Caracterização dos revestimentos.....	49
4.2.3.1	<i>Reologia.....</i>	49
4.2.3.2	<i>Cor.....</i>	49
4.2.3.3	<i>Potencial Zeta.....</i>	50
4.2.3.4	<i>Ângulo de contato.....</i>	50
4.2.4	Análise estatística.....	50
4.3	3ª etapa – revestimento comestível à base dos polissacarídeos gomas do cajueiro e gelana incorporado de extrato de folha de melhor atividade antimicrobiana para avaliar a estabilidade de barra de açaí.....	51
4.3.1	Materiais.....	52
4.3.2	Métodos.....	52
4.3.2.1	<i>Elaboração do estruturado de açaí.....</i>	52
4.3.2.2	<i>Elaboração e aplicação do revestimento de goma do cajueiro e goma gelana incorporado de extrato de planta.....</i>	52
4.3.3	Análises físico-químicas e químicas.....	53
4.3.3.1	<i>Susceptibilidade a sinérese.....</i>	53
4.3.3.2	<i>pH.....</i>	54
4.3.3.3	<i>Sólidos solúveis totais (SST).....</i>	54
4.3.3.4	<i>Acidez total titulável (ATT).....</i>	54
4.3.3.5	<i>Cor.....</i>	54
4.3.3.6	<i>Compostos fenólicos totais.....</i>	55

4.3.3.7	<i>Atividade antioxidante total</i>	55
4.3.3.8	<i>Antocianinas totais</i>	55
4.3.3.9	<i>Análise estatística</i>	56
4.3.4	<i>Análises microbiológicas</i>	56
4.3.4.1	<i>Presença ou ausência de Escherichia coli nos estruturados de açaí</i>	57
4.3.4.2	<i>Presença ou ausência de Salmonella sp. nos estruturados de açaí</i>	57
4.3.4.3	<i>Presença ou ausência de Listeria spp. nos estruturados de açaí</i>	57
4.3.4.4	<i>Contagem de bactérias aeróbias mesófilas, psicrófilas e bolores e leveduras</i>	57
4.3.5	<i>Teste de Bioacessibilidade in vitro (Digestão gastrointestinal simulada in vitro) de barras de açaí revestidas ou não</i>	58
4.3.5.1	<i>Compostos fenólicos totais</i>	59
4.3.5.2	<i>Atividade antioxidante total</i>	59
4.3.5.3	<i>Análise estatística</i>	59
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1	1ª etapa – elaboração e caracterização de extratos de folhas de chambá (<i>Justicia pectoralis</i> Jacq.) e marmeleiro-preto (<i>Croton jacobinensis</i> Baill) e seu potencial antimicrobiano	60
5.1.1	<i>Compostos fenólicos totais</i>	60
5.1.2	<i>Atividade antioxidante total</i>	62
5.1.3	<i>Concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos</i>	63
5.1.4	<i>Citotoxicidade frente a células epiteliais humanas</i>	66
5.1.5	<i>Perfil de substâncias por cromatografia líquida e espectrometria de massas</i>	67
5.2	2ª etapa – desenvolvimento e caracterização de revestimentos comestíveis à base dos polissacarídeos gomas do cajueiro e gelana	74
5.2.1	<i>Reologia</i>	74
5.2.2	<i>Cor</i>	77
5.2.3	<i>Potencial Zeta</i>	79
5.2.4	<i>Ângulo de contato</i>	80

5.2.4.1	<i>Molhabilidade</i>	80
5.2.4.2	<i>Espalhamento</i>	83
5.2.5	<i>Escolha da formulação mais promissora</i>	86
5.3	3ª etapa – revestimento comestível à base de goma do cajueiro e gelana incorporado de extrato de folha de melhor atividade antimicrobiana para avaliar a estabilidade de barra de açaí	87
5.3.1	<i>Análises físico-químicas e químicas</i>	87
5.3.1.1	<i>Análise de susceptibilidade a sinérese (Perda de peso)</i>	87
5.3.1.2	<i>pH</i>	88
5.3.1.3	<i>Sólidos Solúveis Totais (°Brix)</i>	90
5.3.1.4	<i>Acidez Total Titulável</i>	91
5.3.1.5	<i>Cor</i>	92
5.3.1.6	<i>Compostos fenólicos totais</i>	95
5.3.1.7	<i>Atividade Antioxidante Total</i>	96
5.3.1.8	<i>Antocianinas totais</i>	97
5.3.2	<i>Análises microbiológicas</i>	99
5.3.2.1	<i>Presença ou ausência de E. coli, Salmonella sp. e Listeria sp. nas barras de açaí</i>	99
5.3.2.2	<i>Contagens de bactérias aeróbias mesófilas, psicrófilas, bolores e leveduras</i>	99
5.3.3	<i>Teste de Bioacessibilidade in vitro (Digestão gastrointestinal simulada in vitro) de barras de açaí revestidas ou não</i>	100
6	CONCLUSÃO	103
	REFERÊNCIAS	104

1 INTRODUÇÃO

O aumento do interesse em revestimentos comestíveis é motivado pela crescente demanda do consumidor por segurança, conveniência e estabilidade dos alimentos, além da consciência dos efeitos ambientais negativos das embalagens não biodegradáveis. Os revestimentos comestíveis são uma tecnologia ecologicamente correta aplicada em muitos produtos para controlar processos de migração de umidade, troca de gás ou oxidação. Podem fornecer uma proteção adicional e também podem dar o mesmo efeito que o armazenamento em atmosfera modificada (DHALL, 2013).

Os revestimentos podem ser elaborados a partir de lipídeos, proteínas, polissacarídeos ou mistos. Os revestimentos à base de polissacarídeos são geralmente muito hidrofílicos e, portanto, apresentam barreira à umidade quase insignificante, mas têm permeabilidade seletiva para O₂ e CO₂ e resistem à migração lipídica. Embora os revestimentos de polissacarídeos possam não fornecer uma boa barreira ao vapor de água, eles retardam a perda de umidade dos produtos alimentícios (DEHGHANI; HOSSEINI; REGENSTEIN, 2018). Além disso, os polissacarídeos possuem estruturas químicas bem definidas que permitem o ajuste de suas propriedades de revestimento (ARNON *et al.*, 2015). Esses revestimentos podem ser elaborados usando celulose, amido (nativo e modificado), derivados de pectina, quitosana, exsudados vegetais, gomas, entre outros (DEHGHANI; HOSSEINI; REGENSTEIN, 2018).

A goma do cajueiro pode ser obtida a partir do exsudado liberado do caule da espécie *Anacardium occidentale* L., comumente denominado cajueiro, árvore típica do Brasil e países subtropicais. É um complexo heteropolissacarídeo que após hidrólise apresenta alto teor de monossacarídeos com composição variada, dependendo de sua origem. Devido à sua origem biológica, a capacidade de formar géis e o fato de possuir propriedades similares aos polímeros sintéticos, é uma ótima opção para aplicação em diversos setores da indústria. Na indústria alimentar, pode ser utilizado como espessante e estabilizador de sumos, emulsificante em molhos para saladas, estabilizante em emulsões de carnes tais como salsichas e em composições alimentares contendo chocolate. Devido às suas propriedades, vários estudos mostram o seu potencial de utilização para a elaboração de revestimentos (BASTOS *et al.*, 2018; SILVA, 2013; SOUZA, 2010).

A goma gelana é outro polissacarídeo que pode ser utilizado na elaboração de revestimentos. É preparado comercialmente por fermentação microbiana da bactéria *Sphingomonas elodea* ou *Pseudomonas elodea*. Está comercialmente disponível em duas formas: alto e baixo teor acil. As melhores características da goma gelana são a sua propriedade

gelificante, maleabilidade, capacidade termo-resistente e mucoadesiva (ZIA *et al.*, 2018).

Várias substâncias vêm sendo incorporadas aos revestimentos com o intuito de melhorar as propriedades antimicrobianas frente a micro-organismos deteriorantes e patogênicos encontrados em alimentos. Os extratos de plantas vêm sendo estudados como fonte natural de compostos bioativos para compor formulações de filmes, revestimentos, encapsulados e usando a liberação de alguns compostos de interesse aos alimentos. As plantas produzem uma diversidade de compostos que possuem excelentes propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, antidiabéticas, antioxidantes, entre outras. Em relação a propriedade antimicrobiana para alimentos, a utilização de extratos de plantas tem como vantagens evitar a resistência das bactérias aos antimicrobianos sintéticos, além de atender a demanda dos consumidores por alimentos mais naturais e a substituição de aditivos sintéticos por naturais (CABRAL; PINTO; PATRIARCA, 2013; LV *et al.*, 2011; MAK *et al.*, 2013).

O chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.) é uma planta da família *Acanthaceae* encontrada nas regiões Norte, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil. É utilizada pela população para o tratamento de doenças respiratórias, devido ao seu poder expectorante (MOURA *et al.*, 2017). Os principais compostos bioativos encontrados nesta planta são a cumarina (1,2 benzopirona) e a umbeliferona. Em proporções menores, encontram-se flavonóides, saponinas e taninos. Devido a sua constituição, o chambá apresenta atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante e antiviral (CHANFRAU *et al.*, 2013). Segundo Corrêa e Alcântara (2012), essa planta apresenta atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus epidemidis*.

O marmeleiro preto (*Croton jacobinensis* Baill) é uma planta pertencente à família *Euphorbiaceae*, sendo encontrado principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil. É rica em metabólitos secundários, tais como terpenoides, alcaloides e compostos fenólicos, que conferem várias atividades biológicas, tais como atividade inseticida, antifúngica, antimicrobiana, antioxidante, dentre outras (NEVES; CAMARA, 2011; PONTES *et al.*, 2011).

Segundo Sessa, Ferrari e Donsi (2015) a incorporação de antimicrobianos naturais provenientes de plantas em revestimentos comestíveis para aumentar a vida útil de frutas e hortaliças tem grande potencial de aplicação industrial, visto que os antimicrobianos naturais apresentam excelente disponibilidade, menos efeitos colaterais ou toxicidade e melhor capacidade de biodegradação em comparação aos conservantes disponíveis. De acordo com os autores supracitados, a utilização de revestimento comestível contendo antimicrobiano natural é capaz de melhorar as características microbiológicas, físico-químicas e nutricionais de frutas e seus derivados, aumentando a vida útil desses produtos.

A barra de fruta ou fruta estruturada é um produto obtido de purê das frutas com a adição de hidrocoloides e coadjuvantes tecnológicos, devidamente formulado para a obtenção de um produto nutritivo, com boa textura e sabor, além de praticidade e conveniência de consumo. Esse produto pode ser comercializado após processo de secagem ou fresco (CARVALHO *et al.*, 2014; FERREIRA; PINTO, 2017). Quando comercializado fresco apresenta vida útil reduzida, sendo necessário a utilização de tecnologias que garantam a sua conservação. Nesse contexto, a utilização de revestimentos comestíveis nesse alimento apresenta-se como uma alternativa viável para aumentar a sua estabilidade, melhorar aparência, firmeza e sinérese (DANALACHE *et al.*, 2015a).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver revestimentos comestíveis à base de gomas do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) e gelana adicionados de extratos de folhas de chambá (*Justicia pectoralis Jacq.*) ou marmeleiro preto (*Croton jacobinensis Baill*) para aplicação em barra de açaí.

2.2 Específicos

- Elaborar extratos aquoso e hidroalcoólico de folhas de chambá e marmeleiro preto;
- Caracterizar os extratos de folhas de chambá e marmeleiro preto quanto ao teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante;
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos da folha de chambá e marmeleiro preto frente a *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* para selecionar o extrato com melhor potencial antimicrobiano;
- Verificar o perfil de substâncias por cromatografia líquida e espectrometria de massas e a citotoxicidade frente a células epiteliais humanas para os extratos com melhores atividades antimicrobianas;
- Desenvolver revestimentos comestíveis à base de gomas de cajueiro e gelana e caracteriza-los quanto à cor, ângulo de contato, reologia e potencial zeta visando selecionar a formulação mais promissora.
- Aplicar o revestimento mais promissor adicionado de extrato de planta com melhor atividade antimicrobiana em barra de açaí e analisar a estabilidade do produto armazenado a 5 °C por 30 dias;

- Determinar a bioacessibilidade de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante total de barras de açaí (revestidas e não) após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Revestimentos comestíveis

Revestimento comestível pode ser definido como uma embalagem primária elaborada a partir de componentes comestíveis. Trata-se de uma película que pode se apresentar de variadas espessuras constituídas por diferentes substâncias naturais e/ou sintéticas que isolam o alimento, sem riscos para a saúde do consumidor (GALUS; KADZIŃSKA, 2015).

Frequentemente, os termos revestimentos e filmes são usados sem distinção, no entanto, há diferenças. Geralmente, os filmes comestíveis são preparados separadamente, obtidos como folhas sólidas e depois aplicados na superfície do alimento, enquanto os revestimentos são aplicados na forma líquida e formados diretamente nas superfícies dos alimentos. Embora os filmes e os revestimentos comestíveis não devam substituir totalmente as embalagens tradicionais, a adequação da proteção de alimentos pode ser melhorada pela combinação de embalagens comestíveis primárias e embalagens secundárias não comestíveis. Embalagens secundárias são geralmente necessárias por razões de manuseio e higiene (AZEREDO, 2012).

O aumento do interesse em revestimentos comestíveis tem sido motivado pelo aumento da demanda do consumidor por alimentos seguros, convenientes e estáveis, e pela conscientização dos efeitos ambientais negativos das embalagens não biodegradáveis, visto que os revestimentos comestíveis são produzidos a partir de recursos comestíveis e geralmente renováveis e, na maioria dos casos, degradarão mais prontamente do que os materiais poliméricos. Mesmo que os revestimentos não sejam consumidos, eles ainda contribuirão para a redução da poluição ambiental (DEHGHANI; HOSSEINI; REGENSTEIN, 2018).

Os revestimentos comestíveis têm sido utilizados para melhorar as barreiras de gás e umidade, propriedades mecânicas, percepções sensoriais, conveniência, proteção microbiana e prolongar o prazo de validade de vários produtos alimentícios, ou seja, tem a capacidade de melhorar a qualidade global dos alimentos (GALUS; KADZIŃSKA, 2015).

A aplicabilidade dos revestimentos comestíveis tem-se mostrado bastante viável, uma vez que o procedimento de elaboração é simples e passível de aplicação em larga escala. Consiste em imergir o alimento diretamente na solução do revestimento ou submeter o alimento à nebulização com sistema de pressão manual (spray) da solução do revestimento. Após escoamento do excedente, parte do material aderido à superfície é parcialmente absorvido e a fração superficial é seca formando uma película (FALGUERA *et al.*, 2011).

Os revestimentos comestíveis são geralmente classificados de acordo com seu material

estrutural. Desta forma, podem ser formulados com proteínas, lipídios, polissacarídeos ou compósitos, com a adição de plasticizantes e/ou surfactantes. Sendo um revestimento compósito elaborado através da combinação de dois ou mais materiais (lipídeos, polissacarídeos e proteínas). Em alguns estudos recentes, a produção de revestimentos comestíveis através da combinação de vários polissacarídeos, proteínas e lipídios é considerada com o objetivo de aproveitar as propriedades de cada composto e a sinergia entre eles. As propriedades mecânicas e de barreira não dependem apenas dos compostos usados na matriz polimérica, mas também da sua compatibilidade (YOUSUF; QADRI; SRIVASTAVA, 2017).

3.1.1 Revestimento comestível à base de polissacarídeos

Existem estudos recentes na literatura sobre o uso de revestimentos comestíveis à base de polissacarídeos para diferentes produtos alimentícios altamente perecíveis. Devido a sua natureza hidrofílica, os revestimentos à base de polissacarídeos fornecem mínima barreira contra a umidade, no entanto, propriedades de barreira à gases desejáveis, visto que, proporciona a criação de uma atmosfera modificada, aumento do prazo de validade sem a criação de condições anaeróbicas (YOUSUF; QADRI; SRIVASTAVA, 2017). Embora os revestimentos de polissacarídeos não forneçam uma boa barreira ao vapor de água, esses revestimentos podem atuar como “agentes de sacrifício” retardando a perda de umidade dos produtos alimentícios (CAZON *et al.*, 2017).

Os revestimentos à base de polissacarídeos são muito empregados na conservação pós-colheita de frutas e hortaliças. Eles possuem bom aspecto, não são pegajosos, são brilhantes e transparentes melhorando a aparência dos alimentos. Podem ser ingeridos juntamente com o produto protegido, devido ao fato de não serem tóxicos, ou serem removidos com água. A aplicação de polissacarídeos também é vantajosa devido à sua disponibilidade, baixo custo e biodegradabilidade, além disso, são facilmente modificados quimicamente (ALVAREZ; PONCE; MOREIRA, 2018).

Os revestimentos polissacarídicos podem incluir várias gomas naturais de diferentes fontes, amidos, dextrina, pectina, celulose e seus derivados, quitosana, alginato, carragena, entre outros (DEHGHANI; HOSSEINI; REGENSTEIN, 2018).

As propriedades únicas, a biocompatibilidade, a disponibilidade e os baixos custos de produção levaram à aplicação de gomas naturais em várias áreas. Esta classe de compostos consiste em polissacarídeos obtidos a partir de tecidos vegetais (goma arábica, goma ghatti, goma adragante etc.), sementes (goma guar, goma konjac etc.), algas marinhas (ágar-ágar-ágar,

alginatos, carregenas, etc.) ou microrganismos (goma gelana, goma xantana, goma ransana, goma de sabão, etc.) (BANERJEE; BHATTACHARYA, 2011).

As gomas à base de plantas naturais e seus derivados são amplamente utilizadas nas indústrias alimentícias, no entanto, suas aplicações como revestimentos comestíveis para prolongar a vida útil de frutas frescas e vegetais têm sido exploradas recentemente. Estes polissacarídeos poliméricos naturais apresentam muitas vantagens em comparação com os polímeros sintéticos, porque são biodegradáveis, não tóxicos, econômicos e facilmente disponíveis no ambiente. As gomas naturais também podem ser modificadas semi-sinteticamente para produzir derivados, que podem facilmente competir com os conservantes sintéticos disponíveis no mercado de alimentos (SAHA *et al.*, 2017).

Além das gomas vegetais, os polissacarídeos microbianos são de crescente importância comercial e são produzidos em grande escala pela fermentação industrial. Eles podem ser produzidos sob demanda e com qualidade consistente, de modo que a disponibilidade e a variabilidade não são motivo de preocupação (PRAJAPATI *et al.*, 2013). A goma xantana e a goma gelana são exemplos de gomas microbianas.

Existe um potencial promissor na utilização de gomas naturais para elaboração de revestimentos comestíveis, sendo uma aplicação cada vez mais estudada. Cortez-Vega *et al.* (2013) avaliaram a conservação de mamão “Formosa” minimamente processado com o uso de revestimento comestível à base de goma xantana, uma goma natural produzida por espécies de bactérias do gênero *Xanthomonas*, normalmente, *Xanthomonas campestris pv. campestris*, e observaram redução da perda de massa e manutenção da luminosidade quando comparado ao controle durante 12 dias a 4 ± 1 °C. Ruelas-Chacon *et al.* (2017) investigaram a eficácia do revestimento de goma guar, goma obtida das sementes da *Cyamopsis tetragonolobus* ou da *Cyamopsis psoraloides*, nas várias características de qualidade do tomate Roma e verificaram que os tomates revestidos aumentaram significativamente a firmeza e reduziram a perda de peso, retardaram as alterações no teor de sólidos solúveis, retardaram a perda de acidez total e diminuíram a taxa de respiração em comparação com controle não revestido. Murmu e Mishra (2018) estudaram a utilização de revestimentos à base de goma arábica, goma natural obtida a partir do exsudado de plantas do gênero *Acacia*, na conservação pós-colheita de goiabas e verificaram um prolongamento na vida de prateleira de goiaba até 40 dias versus sete dias de amostras não revestidas.

Além da utilização das gomas supracitadas para a elaboração de revestimentos comestíveis, as gomas do cajueiro e gelana também apresentam potencial para serem utilizadas com a mesma finalidade e tem sido instrumento de pesquisa nos últimos anos (AZARAKHSH

et al., 2012; CARNEIRO-DA-CUNHA *et al.*, 2009; JAVANMARD, 2011; RODRIGUES *et al.* 2014; ROJAS-GRAÜ *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2010; PINTO *et al.* 2015). No entanto, os estudos são baseados na utilização desses polissacarídeos separadamente, não havendo relatos da utilização conjunta desses polímeros.

A funcionalidade dos revestimentos comestíveis pode ser expandida incorporando aditivos antimicrobianos para proteger os produtos alimentícios contra a deterioração microbiana, estendendo sua vida útil e segurança. Alguns relatórios foram publicados recentemente com o objetivo de avaliar e demonstrar a eficácia contra vários patógenos de substâncias antimicrobianas incorporadas como aditivos ativos em revestimentos comestíveis (SÁNCHEZ-ORTEGA *et al.*, 2014; SALGADO *et al.*, 2015; TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016; VALDÉS *et al.*, 2017)

3.2 Goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma árvore nativa do Brasil, pertencente à família Anacardiaceae. Essa família produz uma resina (FIGURA 1) nos ductos resinosos no cortéx e lenho, além de também existir exsudação a partir da casca ou do caule da árvore (ARAUJO *et al.*, 2018). A resina é um material pegajoso secretado pela planta durante o metabolismo normal (proteção contra infecções e dessecação) ou em situações de estresse das condições ambientais, por exemplo em períodos secos (BEMILLER; HUBER, 2010). Sendo, a produção desse exsudado podendo acontecer de maneira espontânea ou induzida.

Figura 1 – Fotografia do exsudado do cajueiro ^(a,b e c)



Fonte: Silva (2013a).

A goma do cajueiro (FIGURA 2) é obtida a partir desse exsudado após precipitação em solventes orgânicos polares como o etanol (CAMPOS *et al.*, 2012). É um heteropolissacarídeo complexo, hidrofílico, ramificado e de massa molecular elevada contendo galactose, arabinose,

ramnose, glucose, ácido urônico e outros resíduos de açúcares, sendo a concentração destes açúcares variável com a época do ano (GOWTHAMARAJAN *et al.*, 2011). Tem a capacidade de interagir com a água e apresentar propriedades de emulsificação, adesividade e estabilizante (ANDRADE *et al.*, 2013). No entanto, há uma falta de compreensão de suas propriedades toxicológicas e de biodisponibilidade, limitando assim sua utilização em alimentos e produtos farmacêuticos. A estrutura química, a solubilidade e o peso molecular da goma do cajueiro afetam de perto suas propriedades de solução, bem como suas interações com outros polissacarídeos. A estratégia de longo prazo para promover o uso desse polímero na indústria é, portanto, entender e explorar as propriedades físico-químicas da goma, em seu estado original ou quimicamente modificadas, isoladas ou misturadas com outros polímeros (RIBEIRO *et al.*, 2016).

Figura 2 – Fotografia da goma do cajueiro após processo de isolamento do polissacarídeo.



Fonte: Furtado *et al.* (2013)

Os ácidos presentes contêm vários íons metálicos na forma de cátions neutralizados, sendo a natureza e conteúdo destes dependentes da composição do solo que as árvores crescem. Os principais cátions são K^+ , Na^+ , Ca^{+2} e Mg^{+2} tendo eles grande impacto na viscosidade. Já a presença dos sais cloreto de sódio ($NaCl$), cloreto de cálcio ($CaCl_2$) e cloreto de alumínio ($AlCl_3$) reduzem a viscosidade (KUMAR *et al.*, 2012).

Segundo Paula *et al.* (2011), a goma do cajueiro tem grande potencial de ser utilizada como substituto da goma arábica, devido as semelhanças em relação ao peso molecular, teor de ácido glucurônico e mesmo tipo de unidades monossacarídicas. Além disso, a goma do cajueiro apresenta custo mais baixo e ainda se trata de um subproduto da indústria do caju, sem valor comercial atualmente.

A goma do cajueiro tem alta disponibilidade na região Nordeste do território brasileiro, podendo gerar lucros no período da entressafra do caju, sendo, portanto, um importante diferencial e é economicamente atrativa no cenário brasileiro, devido ao elevado custo da goma arábica (ANDRADE *et al.*, 2013).

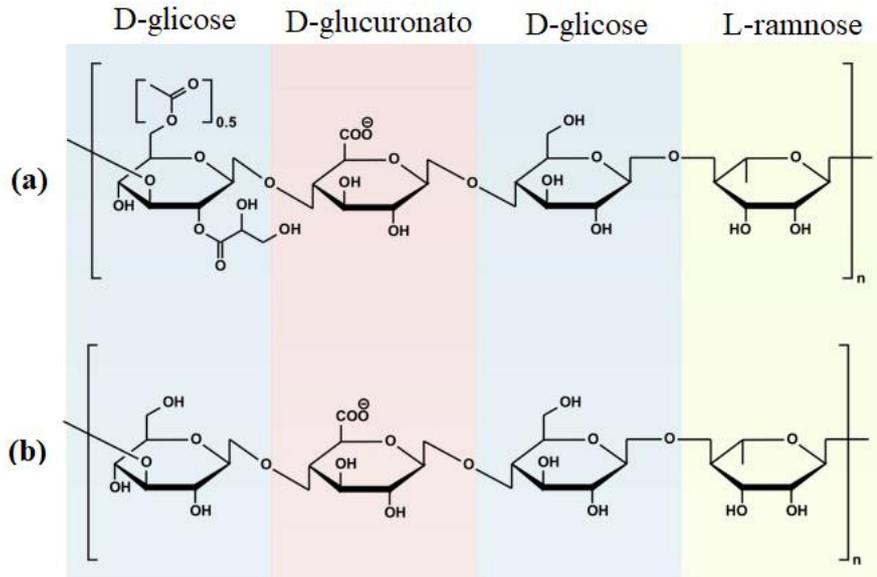
O interesse no desenvolvimento de revestimentos do polissacarídeo da goma do cajueiro vem crescendo nos últimos anos. Forato *et al.* (2015) avaliaram formulações de revestimentos à base de goma do cajueiro e carboximetilcelulose na conservação pós-colheita de goiabas vermelhas e observaram redução da perda de massa, preservando a firmeza e retardando as mudanças na cor após 12 dias de armazenamento em condições ambientais (25–28 °C, 76,0 ± 12,4% UR). Souza *et al.* (2010) estudaram o efeito de revestimentos de goma do cajueiro na vida útil de mangas Tommy Atkins e observaram uma redução na perda de água, evitando a desidratação e consequente perda de textura. Martins, Morgado e Assis (2016) elaboraram e caracterizaram filmes de goma do cajueiro, quitosana e glicerol e verificaram que a mistura deste proporciona a obtenção de um filme mais hidrofóbico e com potencial de aplicação em alimentos.

3.3 Goma gelana

A goma gelana é um polissacarídeo de alto peso molecular produzido por uma cultura pura de *Sphingomonas paucimobilis* e/ou *Azotobacter chroococcum* (anteriormente *Pseudomonas elodea*) após fermentação de carboidratos, purificada por recuperação com álcool isopropílico, seca e moída. É biodegradável e de natureza não tóxica. Oferece uma solução para muitos problemas encontrados nos atuais agentes gelificantes, porque pode formar um gel transparente na presença de cátions multivalentes, que é resistente ao calor e ao ácido (PRAJAPATI *et al.*, 2013).

O exopolissacarídeo, goma gelana, caracteriza-se por ser aniônico linear sendo a unidade de repetição constituída por α -L-ramnose, β -D-glicose e β -D-glucuronato nas razões molares 1: 2: 1 (FIGURA 3). Existem duas formas de goma gelano: uma forma nativa que contém dois tipos de substituintes acil, nomeados de L-gliceril e acetil; e outra forma obtida por hidrólise alcalina que remove ambos resíduos e fornece uma goma gelana desacetilada, também chamado de baixo acetil ou baixo acil (OSMAŁEK; FROELICH; TASAREK, 2014).

Figura 3 – Estruturas das duas formas de goma gelana (a) nativa e (b) de baixo acil.



Fonte: Osmałek, Froelich e Tasarek (2014)

As duas formas de goma gelana formam hidrogéis na presença de cátions mono-, di- e trivalentes em um processo dependente de temperatura com aquecimento de pelo menos 70°C em solução aquosa (MAITI *et al.*, 2011). O arrefecimento leva a alterações na conformação das cadeias poliméricas que induzem a transição entre o estado de bobina para helicoidal. Sendo a forma nativa (ou de alto teor acil) produtora de géis flexíveis e facilmente deformáveis, enquanto a de baixo teor acil forma géis rígidos e flexíveis (OSMAŁEK; FROELICH; TASAREK, 2014). Segundo Morris, Nishinari e Rinaudo (2012), como a goma gelana de alto teor acil apresenta os grupos acetil e gliceril localizados na periferia da hélice, isso dificulta a associação da cadeia polimérica contribuindo para um empacotamento menos eficaz. Já na forma desacetilada, os cátions podem facilmente formar pontes entre as cadeias gerando uma rede ramificada.

Segundo Zia *et al.* (2018), a goma gelana produz gel rígido e translúcido na presença de íons metálicos, que é estável em pH baixo. No entanto, tem baixa resistência mecânica, fraca estabilidade em condições fisiológicas, alta temperatura de gelificação e janela de temperatura pequena. Portanto, pode ser misturado com diferentes polímeros como ágar, quitosana, celulose, alginato de sódio, amido, pectina, polianalina e goma xantana a fim de melhorar as suas características.

A goma gelana possui estabilidade térmica e ácida, elasticidade e dureza ajustáveis e alta transmitância, o que permite que o material mude facilmente de forma e forneça muitas aplicações diferentes (LEE; CHEN; TSAO, 2010).

Amplamente estudada como ingrediente alimentar (BANERJEE; BHATTACHARYA, 2011; IMESON, 2011) e como um potente aditivo multifuncional para vários produtos farmacêuticos e biomédicos (KAJJARI; MANJESHWAR; AMINABHAVI, 2012; REHM, 2010; VIJAN *et al.*, 2012), esse polissarídeo, pode ser usado como agente de entrega de bioativos na forma de microesferas e poliesferas (KUMAR *et al.*, 2016). Além disso, tem inúmeras aplicações práticas existentes e potenciais em produtos cosméticos, produtos de higiene pessoal e microbiologia (MORRIS; NISHINARI; RINAUDO, 2012).

A goma gelana é um biomaterial aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) dos EUA e usado na estabilização de produtos de confeitaria, compotas, gel à base de água, laticínios, tais como: sorvete, iogurte, milk-shakes, leite gelificado e em bebidas lácteas ácidas como potencial estabilizador (DANALACHE *et al.*, 2015; ROSAS-FLORES; RAMOS-RAMÍREZ; SALAZAR-MONTOYA, 2013; ZHANG *et al.*, 2017). Além disso, é utilizado como emulsificante, estabilizante, aglutinante, gelificante, coagulante, lubrificante, formador de filme e agente espessante (DOLAN *et al.*, 2016). Os agentes gelificantes tradicionais (agarose e carragena) apresentam menor capacidade de gelificação em pH baixo, enquanto goma gelana produz géis reforçados (LORENZO; ZARITZKY; CALIFANO, 2013). Também pode ser usado como um novo agente eficiente de limpeza úmida na indústria de limpeza de papel (MAZZUCA *et al.*, 2016).

A literatura apresenta raros estudos sobre a utilização isoladamente da goma gelana como matriz polimérica para elaboração de revestimentos comestíveis, sendo identificado apenas o estudo realizado por Danalache *et al.* (2016). Esses autores investigaram a aplicação de revestimentos comestíveis à base de goma gelana com diferentes proporções de goma de baixo e alto teor de acetilação em barra estruturada de manga e verificaram que o revestimento melhorou as características sensoriais (aparência e firmeza) e estabilidade em termos de sinérese, cor e conteúdo de substâncias voláteis responsáveis pelo aroma durante o armazenamento da barra, aumentando, dessa forma, o valor comercial do produto final. Javanmard (2011) elaborou revestimentos comestíveis combinando goma gelana e concentrado proteico de soro de leite com o intuito de avaliar a capacidade dessas coberturas em preservar a qualidade de maçãs. O autor observou que a aplicação do revestimento efetivamente manteve a cor, firmeza, brilho e aceitabilidade geral das maçãs.

3.4 Extratos de plantas

As plantas são persistentemente generosa fonte de substâncias bioativas valiosas que apresentam diversas atividades biológicas, tais como: atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antidiabética, antioxidante, inseticida, antiviral, entre outras (SHAH; BOSCO; MIR, 2014). Muitos compostos são responsáveis por essas atividades supracitadas, dentre eles, alcalóides, flavonóides, isoflavonóides, taninos, cumarinas, glicosídeos, terpenos, fenilpropanos e ácidos orgânicos. Observa-se que esses compostos atuam sinergicamente potencializando suas propriedades (CABRAL; PINTO; PATRIARCA, 2013).

Os extratos de plantas vêm sendo estudados quanto as suas propriedades relacionadas à conservação de produtos alimentares, visando atividade contra microrganismos patogênicos em alimentos. Essa utilização é vantajosa, pois tem-se a aplicação de antimicrobianos a partir de fontes naturais o que atende aos anseios atuais dos consumidores, além disso, tem-se novos compostos à fim de evitar à resistência das bactérias aos antimicrobianos sintéticos (CALO *et al.*, 2015; DICASTILLO *et al.*, 2017; MAK *et al.*, 2013).

Pinto *et al.* (2017) estudaram a atividade antimicrobiana de extrato de folhas de *Annona muricata* L. (graviola) em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas que frequentemente contaminam os alimentos e obtiveram resultados promissores sendo os melhores para *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* e *Enterococcus faecalis*, com os valores das concentrações mínimas bactericidas (CBM) 156 µg/mL, 78 µg/mL e 78 µg/mL, respectivamente.

Nastic *et al.* (2018) observaram a atividade antimicrobiana do extrato das folhas de *Geranium macrorrhizum* L., uma planta ornamental de flores rosas conhecida como gerânio búlgaro, para *Staphylococcus aureus* e *Aspergillus niger*, obtendo CMI de 19,53 µg/mL e 39,1 µg/mL, respectivamente.

3.4.1 Chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.)

Justicia é o maior gênero da família Acanthaceae, com aproximadamente 600 espécies. Várias espécies são amplamente utilizadas na medicina popular para o tratamento de doenças respiratórias, gastrointestinais e inflamatórias (como artrite). As plantas também são utilizadas por seus efeitos no sistema nervoso central como alucinógenos, agentes soníferos, sedativos, depressores e tratamentos para a epilepsia e outros transtornos mentais. Outras espécies são popularmente utilizadas no tratamento de cefaleia e febre, câncer, diabetes e HIV. Os extratos

mais utilizados são elaborados apenas das folhas, seguidos de extratos feitos a partir das raízes. É comum a utilização de misturas de espécies, sendo as mais estudadas a *Justicia pectoralis* Jacq., *Justicia procumbens* L., *Justicia gendarussa* Burm. f. e *Justicia anselliana* (Nees) T. Anderson (CORRÊA; ALCANTARA, 2012).

A *Justicia pectoralis* é uma erva doméstica encontrada em vários países da América do Norte, do Sul e Central. Há registros dessa espécie no Centro-Oeste, Norte e Nordeste do Brasil, incluindo estados como Goiás, Mato Grosso, Acre, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Maranhão e Ceará (PROFICE *et al.*, 2015). A *Justicia pectoralis* Jacq. é popularmente conhecida como chambá, anador ou trevo-cumarú, sendo sempre verde, perene e sub-ereta (LEAL; SILVA; BARROS VIANA, 2017).

Várias atividades biológicas já foram demonstradas para essa espécie. A *J. pectoralis* Jacq. mostrou atividade antibacteriana contra a *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus epidermidis*. Observou-se atividade larvicida no crescimento e desenvolvimento de larvas em estágio IV de mosquitos *Aedes aegypti* (CORRÊA; ALCANTARA, 2012). Segundo Agra, Freitas e Barbosa-Filho (2007), extrato de folhas de *J. pectoralis* Jacq. tem ação eficaz no tratamento de asma, tosse e bronquite. Lizcano *et al.* (2010) verificaram que extratos das folhas e das raízes da *J. pectoralis* Jacq. são eficientes no tratamento da diabetes, de doenças respiratórias e doença na próstata. Além disso, tem efeito antibacteriano e sedativo.

Chariandy *et al.* (1999) avaliaram a atividade antimicrobiana das partes aéreas de *J. pectoralis* e verificaram que a fração de éter de petróleo apresentou atividade antibacteriana acentuada contra *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* e *Salmonella typhimurium*, e que a fração acetato de etila, além desses microrganismos, também inibe o crescimento de *Staphylococcus aureus*. Em outro estudo (FURTADO *et al.*, 2015), um extrato aquoso não padronizado de *J. pectoralis* não demonstrou atividade antimicrobiana em nenhuma das concentrações avaliadas (25, 50 e 100 mg/mL) contra *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

Análises fitoquímicas realizadas com o extrato de *J. pectoralis* Jacq. revelaram a presença de cumarinas, flavonóides, esteróides, triterpenóides e alcalóides (ARAÚJO; FARIA; SAFADI, 2014). Estudos cromatográficos e espectrométricos da parte aérea dessa espécie permitiram o isolamento e caracterização de derivados cumarínicos, tais como: 1,2-benzopirona-cumarina, di-hidrocumarina, 7-hidroxi-quinina e umbeliferona. Além disso, derivados do ácido fenilpropiónico, ácido acetilado orto-hidroxitranscinâmico, ácido acetilado orto-hidroxi-dihidrocinâmico, betaína, justicidina B e C-glicosilflavonas o-metoxiladas, como swertisin, 2"-O-ramnosil-eswertisina, eswertiajaponina e 2"-O-ramnosileswertiajaponina (LEAL; SILVA; BARROS VIANA, 2017).

3.4.2 Marmeleiro preto (*Croton jacobinensis* Baill)

O gênero *Croton* pertence à família *Euphorbiaceae*, que compreende cerca de 1300 espécies e é amplamente distribuído nas regiões tropical e subtropical do mundo. Muitas espécies são usadas na medicina popular no tratamento de muitas doenças, como dor de estômago, abscessos, inflamação e malária (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007). O *Croton* é abundante em diversos diterpenóides, incluindo clerodano, tigliane, caurano, labdano, cembrana e pimarano, com ampla gama de atividades biológicas, como citotóxica, anti-inflamatória, antioxidante, anticâncer e antimicrobiana (NATH *et al.*, 2013; PREMPRASERT *et al.*, 2013).

Além das atividades acima, outras atividades biológicas também foram relatadas. O diterpenoide crotonolide G, das partes aéreas de *C. laui*, apresentou atividade antibacteriana potente (CMI 43,4 mM) contra quatro estirpes de bactérias Gram-positivas, nomeadamente, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus* e *Bacillus subtilis* (LIU *et al.*, 2014). O alcalóide indol foi encontrado em *C. mauritianus* com atividade antioxidante (IC₅₀, 30.0.0 ± 0.7 µM) pelo ensaio de eliminação do radical DPPH (NOVELLO *et al.*, 2016). A crassifolina H, um diterpenoide, obtida das raízes de *C. crassifolius* apresentou efeito inibidor angiogênico, reduzindo a formação de vasos para 59,3% a 15 µg / mL (HUANG; LI; LI, 2014).

Segundo Xu, Liu e Liang (2018), até o momento, 399 novos compostos foram isolados e identificados a partir de espécies de *Croton*, incluindo 339 diterpenóides, sete sesquiterpenóides, um sesterterpenóide, um triterpenoide, vinte e um glicosídeos, oito alcalóides, três derivados de benzoato, três derivados de piran-2-ona, dois ciclopeptídeos, dois derivados de tropone, dois limonóides e dez compostos diversos.

A espécie *Croton jacobinensis*, popularmente conhecido como “marmeleiro-preto”, é encontrado principalmente nas regiões sudeste e nordeste do Brasil e apresenta várias atividades biológicas (PONTES *et al.*, 2011), como propriedades antibacteriana e citotóxica (RAMOS *et al.*, 2009), atividade acaricida contra o *Tetranychus urticae* (NEVES; CAMARA, 2011), atividade larvicida de mosquito *Aedes aegypti* (VALOTTO *et al.*, 2011), propriedade anti-hipertensivo devido a efeito vasodilatador (DEMETZOS; DIMAS, 2011), atividade antimalária (VILLAMIZAR *et al.*, 2009) e atividade antimicobacterial contra *Mycobacterium tuberculosis* (KULKARNI *et al.*, 2013).

Bernardino *et al.* (2017) extraíram e isolaram o diterpeno do tipo labdano denominado

de 15,16-epoxi-4-hidroxi-labda-13(16),14-dien-3,12-diona (C₂₀H₂₈O₄) da planta *Croton jacobinensis* pela primeira vez e avaliaram a atividade antimicrobiana desse composto. Os autores obtiveram concentração inibitória mínima para o composto nas bactérias *P. aeruginosa* e *E. coli* $\geq 1024 \mu\text{g} / \text{mL}$. Eles observaram ainda, sinergismo considerável para *E. coli* quando o composto em estudo foi associado ao antibiótico gentamicina e efeitos antagônico em relação à *E. coli* com os antibióticos benzilpenicilina e cefalotina. Em relação à *P. aeruginosa* observaram efeitos sinérgicos quando o composto em estudo estava associado aos antibióticos gentamicina e cefalotina. Entretanto, um efeito antagônico foi observado com o antibiótico benzilpenicilina.

Lima (2001) relataram atividade antimicrobiana de uma substância isolada do caule de *Croton jacobinensis* Baill., com ação sobre cepas de *Neisseria*, de *Nocardia*, e de *Brucella*.

3.5 Barra de fruta

Atualmente, o volumoso desperdício de alimentos frescos, como as frutas, sugere a indispensabilidade do desenvolvimento de novas tecnologias que permitam aumentar a vida útil destes alimentos. Neste contexto, a estruturação de polpa de frutas representa uma inovação com resultados bastante promissores (CARVALHO *et al.*, 2010).

Barra de frutas ou estruturado de fruta é um produto alimentício com mercado bem estabelecido na América do Norte. No entanto, no Brasil tem-se um mercado amplo e promissor a ser explorado, visto que o país apresenta grande riqueza de sabores com relação às frutas tropicais. Barras de frutas são produtos obtidos do purê das frutas e um hidrocoloide, devidamente formulado, para a obtenção de produtos nutritivos, com excelente textura e sabor. Além disso, são produtos que apresentam praticidade e conveniência em seu consumo. O hidrocoloide utilizado é responsável pela diminuição da umidade e estruturação da polpa de fruta, que acontece através da gelatinização, proporcionando textura característica do produto, além de aspecto agradável (CARVALHO *et al.*, 2014; GRIZOTTO; AGUIRRE; MENEZES, 2005). Esse produto pode ainda passar por processo de secagem ou ser comercializado fresco (CARVALHO *et al.*, 2014; FERREIRA; PINTO, 2017).

A barra de fruta, além de ser uma alternativa para aumentar a vida útil das frutas frescas diminuindo o desperdício, pode ser considerada um exemplo de industrialização de matérias-primas fora da classificação para comercialização no mercado *in natura*, bem como o aproveitamento de excedentes de produção durante o período de safra pela elaboração de produtos inovadores, convenientes, de maior valor agregado e com excelentes propriedades

nutricionais e sensoriais (GRIZOTTO; AGUIRRE; MENEZES, 2005).

Segundo Danalache *et al.* (2016), a produção de barras de frutas é uma nova opção ao processamento de frutos, pois este produto, além de outras vantagens, tende a apresentar características próximas ao fruto *in natura*. Além disso, trata-se de um produto que apresenta técnica para obtenção relativamente simples. Em relação ao hidrocoloide a ser adicionado, baixas quantidades, 1% ou menos em relação ao peso total do produto, são suficientes para alterar a textura de polpas das frutas. Entretanto, segundo Oliveira *et al.* (2010), há carência de informações sobre os procedimentos tecnológicos empregados, a correta formulação dos ingredientes usados na elaboração de produtos barras e o efeito da secagem na textura dos produtos barras, sendo necessário mais estudos.

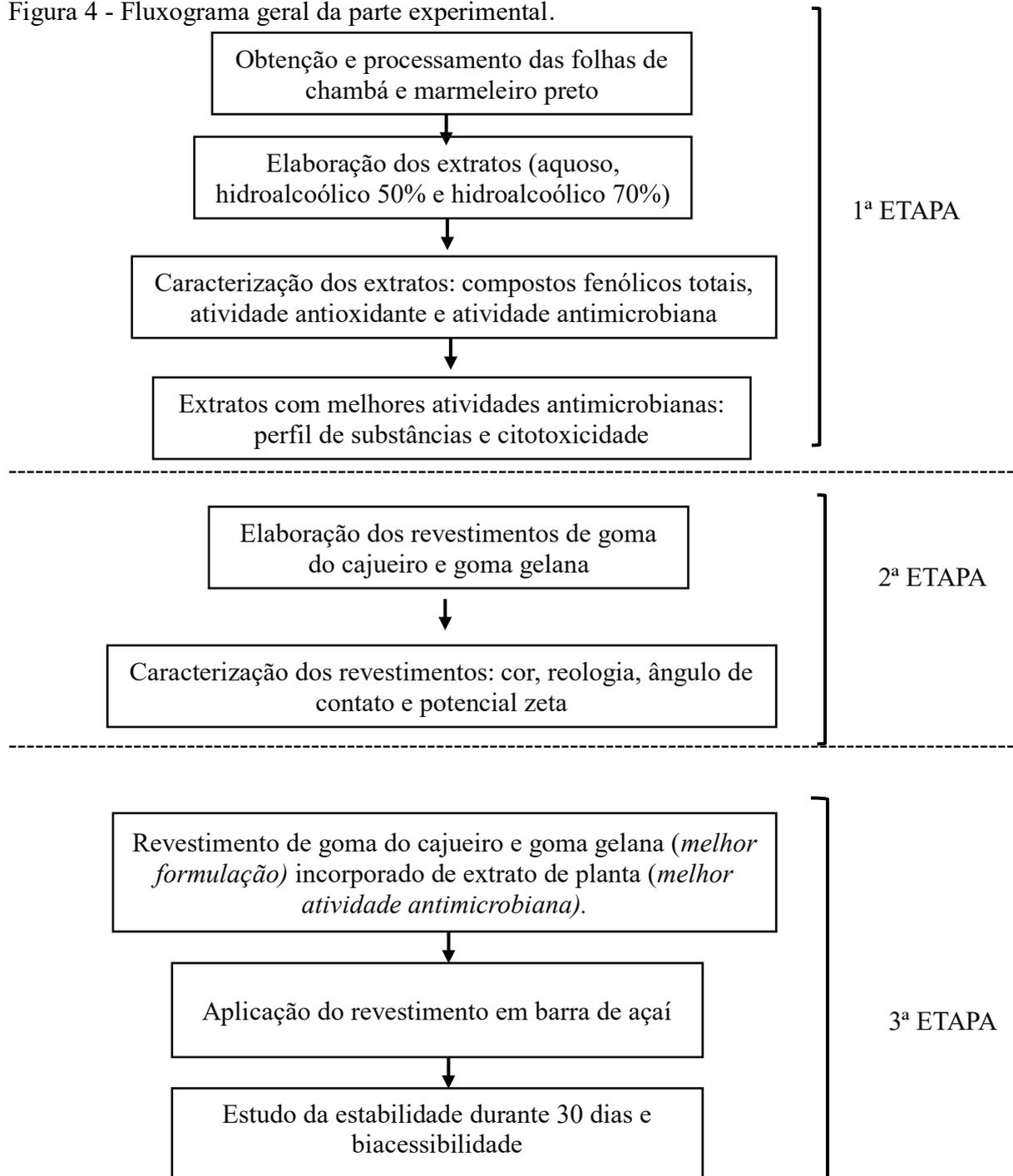
Várias pesquisas estão sendo direcionadas para elaboração de barras de frutas. Alencar Costa *et al.* (2017) elaboraram barra de murici e verificaram que se trata de uma alternativa viável de agregação de valor ao fruto, sendo um produto com características nutricionais e coloração atrativa. Além disso, é um produto que incentiva o consumo de um fruto da biodiversidade do Nordeste do Brasil, que é pouco consumido ou subutilizado. Carvalho *et al.* (2011) elaboraram barra mista de cajá e mamão e observaram boa aceitação sensorial para todos os atributos avaliados. Com relação à intenção de compra, 70% dos provadores responderam que provavelmente ou certamente, comprariam a barra mista de cajá e mamão se a encontrassem à venda. Oliveira *et al.* (2010) desenvolveram três formulações de barras de cupuaçu e verificaram que todas apresentaram médias de aceitação sensorial elevadas e excelente qualidade nutricional, indicando potencial de consumo do produto na forma em que se apresenta, além de ser considerado um produto conveniente e saudável.

Dentre as barras de frutas estudadas, a barra de açaí tem grande potencial de ser comercializado, pois a polpa de açaí é um alimento muito consumido, com crescente demanda no mercado nacional nos últimos anos, despertando grande interesse em investimentos e pesquisas sobre o assunto (RODRIGUES; RIBEIRO; DA SILVA, 2015). Segundo Carvalho *et al.* (2010) acredita-se que o processamento do açaí, por meio da estruturação com geleificantes, seja uma boa opção para a manutenção de suas características desejáveis, reduzindo os desperdícios que ocorrem por ocasião das grandes safras, além de oferecer produtos inovadores, convenientes e de maior valor agregado. Os autores elaboraram uma barra de açaí e verificaram boa aceitação sensorial, com 77,5% dos provadores respondendo que provavelmente ou certamente comprariam o produto.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental foi dividida em três etapas conforme a Figura abaixo:

Figura 4 - Fluxograma geral da parte experimental.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

4.1 1ª etapa – elaboração e caracterização de extratos de folhas de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.) e marmeleiro preto (*Croton jacobinensis* Baill) e seu potencial antimicrobiano

Nesta etapa da pesquisa foi realizado o processamento das folhas de chambá e marmeleiro preto, a elaboração dos extratos aquosos, hidroalcoólico 50%, hidroalcoólico 70% e caracterização quanto à quantidade de compostos fenólicos totais, atividades antioxidante e antimicrobiana. O extrato de cada planta que apresentou melhor atividade antimicrobiana foi analisado quanto ao perfil de substâncias e a citotoxicidade frente a células epiteliais humanas.

4.1.1 Materiais

4.1.1.1 Folhas de chambá e marmeleiro preto

As folhas de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.) e marmeleiro preto (*Croton jacobinensis* Baill) foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais Professor Francisco José de Abreu Matos (Farmácia Viva) da Universidade Federal do Ceará (UFC) no município de Fortaleza- CE. O Departamento de Biologia confirmou a identidade das plantas por meio dos números das exsiccatas 61197 para chambá e 61198 para marmeleiro preto depositados no Herbário Prisco Bezerra da UFC.

4.1.1.2 Cepas

Foram utilizadas as bactérias patogênicas gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella Enteritidis* (IAL 1132) e as gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 27664) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 19115), pertencentes à coleção de bactérias do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, UFC.

4.1.1.3 Reagentes

O álcool etílico (Dinâmica), o ácido gálico (Vetec) e os reagentes Folin-Ciocalteu, radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico e Trolox (ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano) foram obtidos da Sigma-Aldrich. Os meios de cultura utilizados na determinação da atividade antimicrobiana foram obtidos da Difco, Sparks, USA.

4.1.2 Métodos

4.1.2.1 Processamento das folhas

As folhas de chambá e de marmeleiro preto foram colhidas com auxílio de uma tesoura, no período da manhã (entre 8h e 10h) sob as condições de temperatura máxima, mínima e umidade relativa, 32 °C, 24 °C e 65%, respectivamente, durante o período de janeiro a março de 2017.

No Laboratório de Processamento de Frutos e Hortaliças do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEAL/UFC) foi efetuada a separação das folhas do talo. Após esse procedimento, as mesmas foram lavadas com água destilada e dispostas em bandejas de alumínio e secas em estufa de circulação de ar Modelo TE-394/2 (TECNAL) em temperatura de 35 °C ± 3 °C. As folhas de chambá foram secas por 24 h, pois apresenta dimensões menores, conforme Figura 5, e as folhas de marmeleiro preto por 48 h, pois apresenta dimensões maiores, conforme Figura 6. Após a secagem, as folhas foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas ao abrigo da luz em recipiente plástico (25 °C ± 1 °C) até elaboração dos extratos.

Figura 5 – Fotografia de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.)



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

Figura 6 – Fotografia de marmeleiro preto (*Croton jacobinensis* Baill)



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

4.1.2.2 *Elaboração dos extratos*

Foram elaborados três tipos de extratos de cada planta variando o solvente utilizado na extração, sendo, água, solução hidroalcoólica 50% e solução hidroalcoólica 70% os solventes utilizados.

Os extratos foram elaborados a partir das folhas secas previamente maceradas com auxílio de almofariz e pistilo, obtendo granulometria de 0,84 mm medida através de agitador de peneiras RETSCH e peneiras granulométricas (Bertel) de 20 mesh. As folhas secas foram submetidas a infusão em água destilada aquecida (90 °C) ou solução hidroalcoólica levemente aquecida (70°C) (TAGLIARI; KNAAK; FIUZA, 2010; PACHÚ, 2007), na proporção de 1:20 (folhas secas: solvente). Tal mistura foi deixada em repouso por 30 minutos e posteriormente filtrada em tela de algodão. O procedimento foi repetido, reutilizando as folhas. Posteriormente, as duas extrações obtidas foram homogeneizadas, filtradas em papel qualitativo Wathman nº1, dispostas em recipientes de polietileno, congeladas e submetidas ao processo de liofilização em equipamento modelo Beta 1-8 LD plus (CHRIST, Alemanha) numa pressão de 0,025 mbar e temperatura de -40 °C. Após a liofilização, os extratos foram armazenados em recipiente de polietileno, protegidos da luz, em freezer (-18 °C) até o momento das análises.

4.1.3 *Caracterização dos extratos*

4.1.3.1 *Compostos fenólicos totais*

Os compostos fenólicos totais foram determinados através de método descrito por Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997) o qual utiliza o reagente Folin-Ciocalteu e ácido

gálico como padrão. Inicialmente, preparou-se um extrato aquoso de concentração 1mg/mL a partir dos liofilizados obtidos de cada planta. Em tubos de ensaio foram adicionadas alíquotas de 100 µL dos extratos e adicionada água destilada para completar o volume de 0,5 mL. Foram então adicionados 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (1:3), 1,0 mL de solução de NaCO₃ 20% e 1,0 mL de água destilada. O material foi homogeneizado em agitador vortex e deixado em repouso, protegido da luz, por 30 minutos. Decorrido o tempo, a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV-1800) a 700 nm, usando como referência uma curva padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos em g equivalente de ácido gálico (EAG)/100 g de amostra liofilizada.

4.1.3.2 Atividade Antioxidante Total

A atividade antioxidante total foi determinada pelo método da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), conforme método readaptado por Rufino *et al.* (2010). Inicialmente, preparou-se um extrato aquoso de concentração 5mg/mL a partir dos extratos liofilizados obtidos de cada planta. Em seguida, em tubos de ensaio, foram preparadas três diluições diferentes, em triplicata. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 30 µL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,0 mL do radical ABTS^{•+} e homogeneizou-se em agitador de tubos. Realizou-se a leitura em espectrofotômetro de marca Shimadzu, modelo UV-1800 a 734 nm após 6 minutos da mistura.

Os resultados foram expressos como TEAC - Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano) em µM/g de amostra liofilizada.

4.1.3.3 Atividade Antimicrobiana

4.1.3.3.1 Preparo do inóculo

Inicialmente, cepas liofilizadas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Salmonella enteritidis* IAL 1132 e *Staphylococcus aureus* ATCC 27664 foram submetidas ao protocolo de ativação. Foram semeadas no meio de manutenção Tripticase Soya Ágar-TSA a 35 °C durante 24 horas. Após esse período, colônias isoladas variando 1-2 mm de diâmetro foram transferidas para tubos contendo 5mL do caldo de soja Tripticase de Soja - TSB e incubadas a 35 °C por 24 horas. Posteriormente, foram realizadas

diluições seriadas (10^{-1} - 10^{-7}) em água peptonada 0,1% seguidos de inoculação (*spread plate*) de alíquotas de 100 μ L nos meios diferenciais para cada micro-organismo, conforme descrito a seguir: ágar Palcam (*L. monocytogenes*), ágar Baird-Parker (*S. aureus*), ágar Entérico de Hektoen (*S. Enteritidis*) e ágar Macconkey (*E. coli*). Após o período de incubação, respeitando tempo e temperatura, foram realizadas as contagens de colônias a fim de determinar suspensões bacterianas utilizadas no estudo e padronizar essa etapa para ensaios posteriores. Essas foram quantificadas em ensaios sucessivos e utilizadas para determinação da atividade antimicrobiana dos extratos (APHA, 2001).

4.1.3.3.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos

A concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) foram determinadas conforme os métodos descritos por Branen e Davidson (2004) e Brandt *et al.* (2010), com adaptações, através de microdiluição em placas (96 poços, 300 μ L de capacidade / poço (MicrotestTM, Becton Dickinson and Co.).

Soluções aquosas dos extratos, com concentrações variando de 0,5 a 100 mg/mL foram elaboradas, esterilizadas através de filtro de membrana de 0,22 μ m e testadas frente aos micro-organismos patogênicos: *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* e *S. aureus*. Nas microplacas utilizadas foram distribuídas em cada poço caldo TSB, suspensão bacteriana de aproximadamente 10^5 UFC/mL e as soluções dos extratos a serem testadas. Poços contendo meio de cultura, água destilada estéril e suspensão bacteriana dos micro-organismos em estudo serviram como controle negativo. Poços contendo meio de cultura, um agente antimicrobiano de uso comercial (amicacina) e inóculo serviram de controle positivo.

Após a distribuição da placa, foi realizada a leitura da densidade óptica (D.O.) a 630 nm utilizando o leitor de absorvância ELx 808 (BioTek instruments), Inc. Winooski, VT, EUA, no tempo imediato após a distribuição (T_0) e após a incubação a 35°C por um período de 24 horas (T_{24}) com agitação no próprio equipamento. A interpretação dos resultados foi obtida pela variação das leituras ($T_{24} - T_0$), sendo consideradas as CIM as concentrações que apresentaram diferenças entre as leituras $\leq 0,05$ nm.

A partir dos poços testes que indicaram atividade inibitória ($\leq 0,05$ nm), plaqueou-se (*spread plate*) 100 μ L de cada poço em meios de cultura seletivos e diferenciais específicos para cada micro-organismo, sendo utilizado o ágar Mac Conkey (Oxoid) para *E. coli*, o ágar Listeria Oxford (Hi Media) para *L. monocytogenes*, ágar Baird-Parker (BD) para *S. aureus* e

ágar de desoxicolato-lisina-xilose (XLD) para *S. Enteritidis*. Em seguida, as placas foram incubadas a 35 °C por um período de 48 horas, sendo considerada a CBM a menor concentração testada cuja placa apresentou ausência de crescimento microbiano. Os resultados foram expressos em mg/mL de extrato seco.

4.1.3.4 Citotoxicidade frente a células epiteliais humanas

Os extratos que apresentaram melhor atividade antimicrobiana foram avaliados quanto a citotoxicidade frente a células epiteliais humanas segundo método descrito por Mossmann (1983) utilizando o MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-brometo de tetrazólio]. A quantificação da redução do brometo de tetrazólio avalia a viabilidade celular a partir de um método colorimétrico simples. Enzimas desidrogenases mitocondriais têm a capacidade de clivar o anel tetrazólio do corante utilizado, formando um cristal insolúvel de formazan de cor roxa, que ao ser dissolvido absorve na região do visível, podendo ser quantificado por espectrofotometria. A intensidade da cor mensurada é diretamente proporcional à quantidade de células viáveis.

A citotoxicidade foi medida através da exposição das células epiteliais intestinais (aproximadamente 20.000 células - cultura IEC 6), previamente cultivadas, a 100µL das soluções dos extratos com concentrações de 6,25, 12,5, 25, 50, 75 e 100% (m/v). O controle positivo foi a toxina A do *Clostridium difficile*. As células foram incubadas em estufa de CO₂ a 37°C, por mais 24 horas e posterior remoção do meio de cultura. Os poços da placa foram lavados duas vezes com solução salina tamponada estéril (PBS, 0,1 M, pH 7,0) e a cada um foram adicionados 100µL da solução de MTT (5mg/mL) em meio Krebs. O sistema permaneceu em repouso por 20 min a 37 °C, no escuro. Após a incubação, a solução de MTT foi removida e foi adicionado 1mL de solução de HCl 0,04 M em isopropanol para dissolver os cristais de "formazan". Finalmente foi adicionado a todos os poços 100µL de DMSO puro, sendo a placa agitada por 5 min com espera de mais 5 min para a estabilização da cor. As amostras foram colocadas em cubetas de 1,5mL e a absorbância lida a 570nm no espectrofotômetro, usando como branco uma solução preparada com 0,5mL de MTT (0,5mg/mL) e 1mL de isopropanol-ácido.

O valor de absorbância foi medido a um comprimento de onda de 570 nm em cubetas de 1,5 mL em espectrofotômetro, usando como branco uma solução preparada com 0,5mL de MTT (0,5mg/mL) e 1mL de isopropanol-ácido. Frações foram comparadas com o controle positivo (citotoxina A do *C. difficile*) e negativo (somente cultura celular em meio de cultura),

sendo o último considerado como 100% de viabilidade celular.

4.1.3.5 Perfil de Substâncias por cromatografia líquida e espectrometria de massas

Os extratos que apresentaram melhores atividades antimicrobianas foram caracterizados quanto ao perfil de substâncias utilizando UPLC-ESI-QToF-MS (Waters, modelo Acquity® UPLC/XEVO®, Milford, MA, USA), acoplado a um analisador em série tipo quadrupolo/tempo de voo (QToF). No procedimento foi utilizada coluna Acquity UPLC® BEH C-18 da Waters (2,1 x 150 mm, 1,7 µm) com um fluxo de 0,4 mL/min a 40°C e volume de injeção da amostra de 5 µL. Utilizou-se como eluente a combinação de água acidificada (0,1 % de ácido fórmico/L) e acetonitrila acidificada (0,1% de ácido fórmico/L). O gradiente de concentração variou linearmente de 5 a 95% de acetonitrila (v/v) em 15 min. A ionização foi realizada com fonte de ionização por eletrospray (modo negativo - ESI), adquirida na faixa de 110-1180 Da, temperatura de fonte ajustada em 120 °C, temperatura de dessolvatação de 350 °C, vazão de gás de dessolvatação de 500 Lh⁻¹, extração cone de 0,5 V, voltagem capilar de 2,6 kV. A encefalina leucina foi usada como massa de bloqueio. O modo de aquisição foi o MSE. O instrumento foi controlado pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation). Todas as amostras foram injetadas em triplicata.

4.1.4 Análise estatística

Os resultados de polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante total foram analisados estatisticamente por meio de comparação de médias por Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, utilizando o programa estatístico Statistica 10.0.

Os dados obtidos nas análises referentes ao efeito antimicrobiano foram expressos através das concentrações inibitória e bactericida mínima.

Os resultados das absorbâncias obtidas foram submetidos ao teste de comparação múltipla de Bonferroni's e os resultados expressos em média e desvio padrão.

4.2 2ª etapa – desenvolvimento e caracterização de revestimentos comestíveis à base dos polissacarídeos gomas do cajueiro e gelana

Nesta etapa da pesquisa foi realizado o desenvolvimento dos revestimentos comestíveis dos polissacarídeos goma do cajueiro e goma gelana e caracterização dos mesmos quanto à cor, reologia, potencial zeta e ângulo de contato. Com essas informações, foi escolhido a melhor formulação para posterior aplicação em alimento.

4.2.1 Materiais

A goma gelana utilizada na elaboração dos revestimentos foi obtida comercialmente sendo do tipo de baixo teor acilo (Sosa Ingredients, Moia, Espanha). A goma de cajueiro foi proveniente de exsudado vegetal de *Anacardium occidentale* L., obtida no Campo Experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, localizado na cidade de Pacajus (CE). Foram utilizados na formulação glicerol (Vetec), gluconolactato de cálcio (Sosa Ingredients - Moia, Espanha), etanol comercial (Santa Cruz) e a acetona (Synth).

4.2.2 Métodos

4.2.2.1 Precipitação da goma do cajueiro

A goma do cajueiro foi obtida seguindo método adaptado de Torquato *et al.* (2004), a partir de isolamento de polissacarídeo do exsudado do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). O material foi primeiramente fragmentado em partículas menores. Pesaram-se 50 g desse material e, em seguida foi adicionado 150 mL de água destilada na proporção de 1:3 m/v (resina:água), sendo a mistura mantida sob agitação até completa dissolução do material sólido. Em seguida, a solução foi filtrada para a remoção de possíveis fragmentos de madeira, e posteriormente precipitada com álcool etílico na proporção 1:4 v/v (filtrado:etanol). O precipitado foi deixado sob refrigeração (6 ± 2 °C) por 20 horas, para que houvesse uma melhor precipitação. Após esse período, o precipitado foi separado por filtração a vácuo, em funil de placa sinterizada e, ainda no sistema a vácuo, foi purificado com 100 mL de acetona. Após a purificação, o material obtido foi seco com auxílio de um secador manual para a remoção do etanol e da acetona. A goma seca foi armazenada em frasco fechado à temperatura ambiente.

4.2.2.2 Elaboração dos revestimentos

Os revestimentos comestíveis à base de goma do cajueiro e goma gelana foram elaborados de acordo com delineamento composto central rotacional 2^2 sendo 6 pontos axiais e 3 centrais, totalizando 11 formulações (Tabela 1), no qual variaram-se as concentrações de goma do cajueiro e do plastificante glicerol.

Tabela 1 - Delineamento composto central de formulações dos revestimentos à base de goma do cajueiro e goma gelana com diferentes concentrações de goma do cajueiro e glicerol.

Experimentos	Goma do cajueiro (%p/v)	Glicerol (%p/v)
1	-1 (11,50)	-1 (3,45)
2	1 (11,50)	-1 (5,55)
3	-1 (18,50)	1 (3,45)
4	1 (18,50)	1 (3,45)
5	-1,41 (10,05)	0 (4,50)
6	1,41 (19,95)	0 (4,50)
7	0 (15,00)	-1,41 (3,00)
8	0 (15,00)	1,41 (6,00)
9 (C)	0 (15,00)	0 (4,50)
10 (C)	0 (15,00)	0 (4,50)
11 (C)	0 (15,00)	0 (4,50)

Fonte: Elaborada pela autora (2019).

Em um béquer, foram adicionados o glicerol, 0,3% de goma gelana (porcentagem em relação ao volume total de solução do revestimento) e 20 mL de água destilada. Em seguida, deixado sob agitação por 5 minutos e aquecimento a 70-75 °C. Em outro béquer, foram pesados 0,2% de gluconolactato de cálcio (porcentagem em relação ao volume total de solução do revestimento) e dissolvidos em 10 mL de água destilada. Posteriormente, essa solução foi misturada com a solução de goma gelana e glicerol. Em um terceiro béquer, foi pesada a goma de cajueiro e solubilizada em água destilada em quantidade para completar 100 mL e, deixada sob agitação por 24 horas a temperatura ambiente (solução preparada previamente). Posteriormente, a solução de goma do cajueiro foi misturada com a solução contendo a goma gelana, o glicerol e o gluconolactato de cálcio, e homogeneizada em Ultraturrax (IKA, modelo T-18, Brasil) a 10000 rpm por 5 minutos.

4.2.3 Caracterização dos revestimentos

4.2.3.1 Reologia

O comportamento reológico dos revestimentos de goma do cajueiro e goma gelana foi determinado através de um reômetro rotacional de cilindros concêntricos tipo Searle da Brookfield, modelo R/S plus SST 2000. As medidas foram feitas a temperatura de 25 °C, a qual foi ajustada através de um banho termostático acoplado ao equipamento. O equipamento forneceu os dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação através do software RHEO V 2.8. As análises reológicas foram obtidas com variação da taxa de deformação de 0 a 500 s⁻¹ (curva ascendente) e de 500 a 0 s⁻¹ (curva descendente), com um tempo de 1 minuto e leitura de 25 pontos para cada curva. As leituras foram feitas em triplicata e em cada medida foi utilizada uma nova amostra. Os dados obtidos na análise reológica foram ajustados aos modelos de Ostwald-de-Waele, Casson e Newton (TABELA 2) através de regressão não linear, utilizando o programa estatístico *Statistical Analysis System for Windows* (SAS, 2012), versão 12.1.

Tabela 2 - Modelos reológicos utilizados para avaliação do comportamento reológico dos revestimentos de goma do cajueiro.

Modelo	Equação
Ostwald-de-Waele	$\tau = K(\dot{\gamma})^n$
Casson	$(\tau)^{0,5} = K_{OC} + \kappa_c(\dot{\gamma})^{0,5}$
Newton	$\tau = \eta \dot{\gamma}$

Onde: τ = tensão de cisalhamento (Pa), K = índice de consistência (Pa.s), n = índice de comportamento (adimensional), τ = tensão de cisalhamento (Pa), $\dot{\gamma}$ = taxa de deformação (s⁻¹), K_{OC} = tensão inicial (Pa), κ_c = viscosidade plástica de Casson (Pa.sⁿ), τ = tensão de cisalhamento (Pa), η = viscosidade newtoniana (Pa.s), $\dot{\gamma}$ = taxa de deformação (s⁻¹).

4.2.3.2 Cor

A cor dos revestimentos foi determinada em colorímetro ColorQuest XE (Hunter Lab, USA), utilizando o sistema CIELAB, iluminante D65 e ângulo observador padrão 10°, segundo metodologia ASTM D2244 (2009). Esse equipamento apresenta a tecnologia de instrumentação de cores que utiliza os parâmetros L*, a*, b*, onde L* corresponde à luminosidade numa escala de 0 a 100 (claro a escuro), a* corresponde a intensidades de cores que variam do vermelho ao verde, e b* corresponde a intensidades de cores que variam do amarelo ao azul. Amostras de revestimentos foram distribuídas em quantidade suficiente para cobrir a base de uma placa de

Petri e as leituras foram tomadas a partir da emissão de feixe de luz da lente do espectrofotômetro, medidos por reflectância.

4.2.3.3 Potencial Zeta

O potencial zeta dos revestimentos foi determinado utilizando-se um equipamento Malvern 3000 Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK). As análises foram realizadas com alíquotas das soluções de revestimento a 0,5% (m/v).

4.2.3.4 Ângulo de contato

As medidas de ângulo de contato foram realizadas em sistema GBX - Digidrop MCAAT (modular contact angle technology) acoplado ao tensiômetro CAN101 Optical Contact Angle Meter (KSV Instruments). Foram realizados dois tipos de leitura. Na primeira, cinco gotas de água deionizada foram gotejadas na superfície da barra de açaí coberto com o revestimento de goma do cajueiro e goma gelana. Os ângulos foram registrados por sistema óptico imediatamente após a disposição das gotas, sendo todas as medidas determinadas digitalmente. O ensaio foi realizado em temperatura ambiente (~25 °C). Essa leitura mostrou a molhabilidade do revestimento. A segunda leitura foi realizada através do método da gota séssil, no qual gotas dos revestimentos foram aplicadas na superfície da barra de açaí. Este aparelho conta com um sistema de aquisição de imagens através de uma câmera de vídeo, uma seringa controlada através do computador e uma base para colocação da amostra. O sistema de aquisição de imagens foi conectado a um computador e, através de um software, as imagens do momento em que a gota do líquido toca a superfície são processadas para obtenção do ângulo de contato. Essa leitura mostrou a espalhabilidade do revestimento.

4.2.4 Análise estatística

Depois de obtidas as respostas para todos os ensaios, foi utilizado o programa Statistica, versão 10.0 para realização de teste de pareto e análise do modelo e da sua falta de ajuste, bem como os efeitos principais e das interações entre os tratamentos, fornecendo um gráfico de superfície de resposta e descrição matemática do modelo dos revestimentos para determinação da região de melhores condições experimentais.

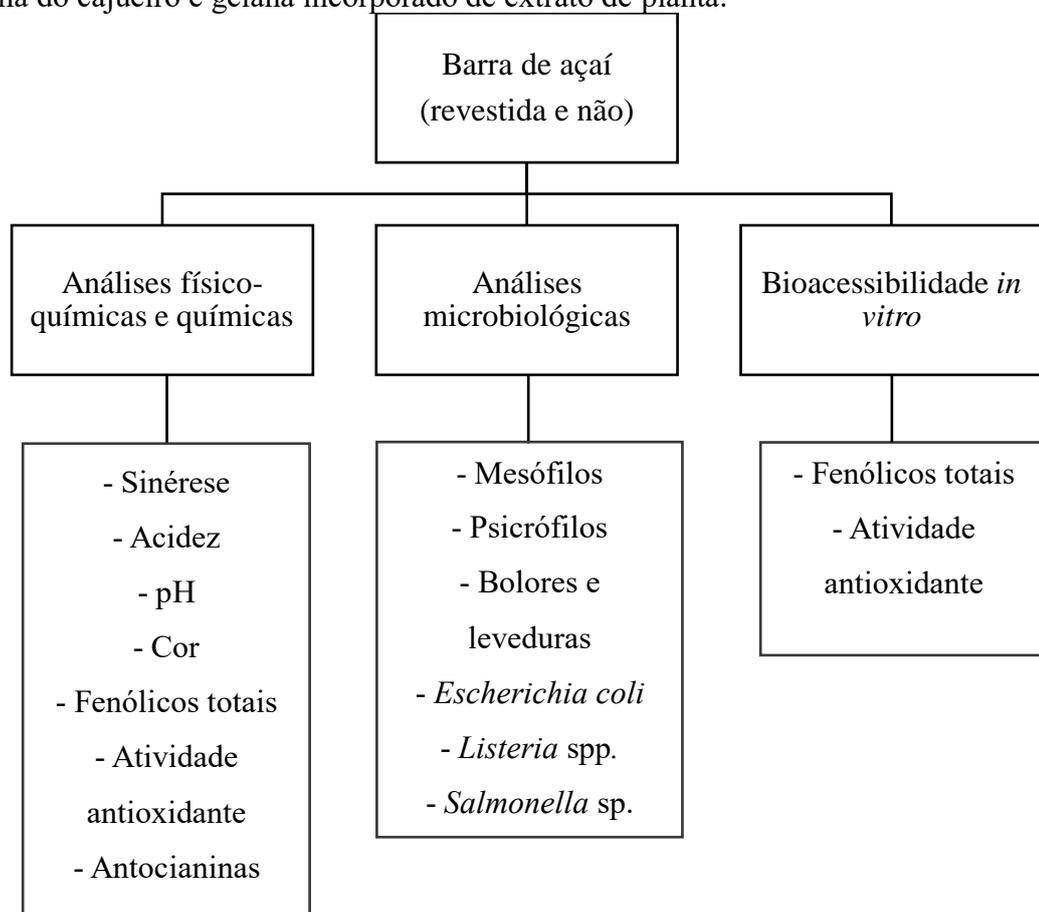
Além disso, foi realizado comparação de médias por Análise de Variância (ANOVA) e

teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, utilizando o XLSTAT software para Windows versão 2012.5 (Adinsoft, Paris, França).

4.3 3ª etapa – revestimento comestível à base dos polissacarídeos gomas do cajueiro e gelana incorporado de extrato de folha de melhor atividade antimicrobiana para avaliar a estabilidade de barra de açaí

Nesta etapa da pesquisa foi incorporado o extrato de planta com a melhor atividade antimicrobiana na formulação mais promissora do revestimento de gomas do cajueiro e gelana e aplicado em barra de açaí. A estabilidade da barra de açaí com e sem revestimento foi avaliada durante 30 dias quanto às análises físico-químicas, químicas e microbiológicas. Analisou-se também a bioacessibilidade *in vitro* da barra de açaí (FIGURA 7).

Figura 7 - Fluxograma das análises da barra de açaí revestida e sem o revestimento comestível de goma do cajueiro e gelana incorporado de extrato de planta.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

4.3.1 Materiais

A polpa de açaí e o açúcar, ingredientes utilizados na elaboração das barras, foram obtidos no comércio local do município de Fortaleza-CE. Os hidrocoloides utilizados foram de dois tipos de goma gelana: goma gelana com baixo teor de acil (Kelcogel®F) e goma gelana com alto teor de acil (Kelcogel® LT). Os materiais utilizados na elaboração dos revestimentos foram os mesmos da segunda etapa (itens 4.1 e 4.2).

4.3.2 Métodos

4.3.2.1 Elaboração da barra de açaí

Para a produção da barra de açaí foi utilizado 50% de polpa de açaí, 1% de goma gelana (sendo 50% de goma gelana de baixo teor acil e 50% de goma gelana de alto teor acil), 10% de açúcar e 39% de água. As proporções utilizadas foram escolhidas de acordo com Danalache *et al.* (2015b).

O processamento foi iniciado com o descongelamento da polpa (cerca de 10 °C) e pesagem dos ingredientes. Em seguida, os ingredientes foram homogeneizados e aquecidos em micro-ondas por três vezes, até fervura (80 ± 5 °C), agitando sempre, até dissolução completa do hidrocolóide. Este preparado foi colocado em formas de silicone e armazenado em refrigerador a 5 °C, em recipiente fechado e coberto com filme plástico até o momento das análises.

4.3.2.2 Elaboração e aplicação do revestimento de gomas do cajueiro e gelana incorporado de extrato de planta

A partir da formulação mais promissora do revestimento de gomas do cajueiro e gelana obtida na etapa 2 do experimento, foram adicionadas três vezes a concentração inibitória mínima do extrato da planta com melhor atividade antimicrobiana, conforme Burt (2004).

Um palito fino de madeira foi cuidadosamente introduzido nas barras de açaí e então, estas foram mergulhadas por 20s na solução do revestimento e deixadas a temperatura ambiente (22 ± 2 °C) por 30 minutos para secagem da cobertura (FIGURA 8) (DANALACHE *et al.*, 2016). As barras foram armazenadas a 5 °C e analisadas nos tempos 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias.

Figura 8 – Barras de açaí com revestimento de gomas do cajueiro e gelana incorporado de extrato de planta.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

4.3.3 Análises físico-químicas e químicas

Amostras de barra de açaí revestidas com cobertura de gomas do cajueiro e gelana incorporado de extrato de planta e, amostras não revestidas, foram armazenadas em câmara incubadora refrigerada (Biochemical Oxygen Demand – BOD) sob refrigeração ($5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) pelo período de 30 dias. A cada 5 dias foram realizadas as análises, até completar 30 dias.

4.3.3.1 Susceptibilidade a sinérese

A determinação da sinérese das barras de açaí revestidas e não revestidas foi realizada em triplicata, seguindo método descrito por Danalache *et al.* (2016). As amostras foram pesadas, acondicionadas em recipiente fechado para minimizar a vaporização do líquido e mantidas sob refrigeração ($5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) em câmara incubadora refrigerada (Biochemical Oxygen Demand – BOD). Para determinação da porcentagem de sinérese, as amostras foram pesadas, em intervalos de 5 dias, pelo período de 30 dias. Ao final, a porcentagem de sinérese foi calculada pela diferença entre a massa inicial e a massa final da amostra.

$$S (\%) = \frac{P1 - P2}{P1} \times 100$$

Onde:

S (%): Porcentagem de sinérese;

P1: Peso da amostra antes da sinérese (g);

P2: Peso da amostra após a sinérese (g);

4.3.3.2 *pH*

O pH foi determinado através de leitura direta, em potenciômetro de marca WTW, modelo 330i/SET, calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, conforme IAL (2008).

4.3.3.3 *Sólidos solúveis totais (SST)*

As determinações dos sólidos solúveis totais (SST) foram realizadas em refratômetro digital (Milwaukee MA871) com escala de 0 a 85 °Brix, através de leitura direta. Os resultados foram expressos em °Brix, de acordo com IAL (2008).

4.3.3.4 *Acidez total titulável (ATT)*

A acidez total titulável (ATT) foi determinada por método eletrométrico, no qual aproximadamente 1 grama de barra de açaí foi pesado e homogeneizado com 50mL de água destilada. Em seguida, os eletrodos foram colocados na amostra e foi realizada a titulação com solução de NaOH 0,1 M, sob constante agitação, até alcançar o pH de 8,1.

Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico, segundo metodologia descrita pelo IAL (2008).

4.3.3.5 *Cor*

A cor das barras de açaí foi determinada conforme item 4.2.4.2 da 2ª etapa do experimento.

4.3.3.6 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados utilizando o mesmo método descrito no item 4.2.3.1 da 1ª etapa do experimento. No entanto, a metodologia de elaboração do extrato foi diferente. Inicialmente, foi preparado um extrato a partir da barra de açaí utilizando 1 g de amostra e em seguida foi adicionado 20 mL de solução de etanol 50%. A mistura obtida foi homogeneizada e deixada em repouso por 1 hora para extração. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 10.000 rpm por 15 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante obtido foi filtrado e transferido para um balão de 50 mL. Ao precipitado foi adicionado 20 mL de uma solução de acetona 70%, ficando em repouso por mais 1 hora. Em seguida a mistura foi centrifugada a 10.000 rpm por 15 minutos. O segundo sobrenadante obtido foi misturado ao primeiro no mesmo balão de 50 mL, o qual foi aferido com água destilada, obtendo-se assim o extrato para determinação dos polifenóis extraíveis totais. Todo o processo foi realizado ao abrigo da luz.

Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/100 g de barra de açaí.

4.3.3.7 Atividade antioxidante total

A atividade antioxidante total foi determinada utilizando o mesmo método descrito no item 4.2.3.2 da 1ª etapa do experimento com o mesmo extrato elaborado no item anterior (4.2.4.6).

4.3.3.8 Antocianinas totais

As antocianinas totais foram determinadas de acordo com os métodos descritos por Fuleki e Francis (1968) e Lee, Durst e Wrolstad (2005) com modificações. Foram utilizadas soluções tampão pH 1,0 e 4,5. A solução pH 1,0 foi preparada a partir da mistura de soluções de KCl (0,2 N) e HCl (0,2N) ajustada até o pH 1,0 através de potenciômetro de marca WTW, modelo 330i/SET. O tampão pH 4,5 foi preparado a partir de solução de acetato de sódio (1N), HCl e água com pH ajustado na mesma maneira da solução anterior.

Diluições da barra de açaí foram preparadas partindo de 0,5g de barra para um balão volumétrico de 50 mL de cor âmbar, com cada solução de pH elaborada (pH 1 e pH 4,5). Foi deixado em repouso por duas horas na ausência de luz. Após o período de tempo, a solução foi

filtrada e o teor de antocianinas foi quantificado através de espectrofotômetro de marca Shimadzu, modelo UV-1800 a 520 nm e a 710 nm. A concentração de antocianinas foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Antocianinas (equivalente em cianidina-3-O-glucosídeo, mg/100g)} = \frac{A \times MM \times FD \times 10^3}{\epsilon \times l}$$

Onde:

A é a absorvância = $(A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$

MM é Massa molecular = 449,2 g/mol para cianidina-3-O-glucosídeo

FD = fator diluição = 100

ϵ = coeficiente de extinção molar = 26900 L x mol⁻¹x cm⁻¹ para cianidina-3-O-glucosídeo

10³ = fator para converter g em mg.

4.3.3.9 *Análise estatística*

O experimento foi conduzido segundo o delineamento em parcelas subdivididas, com dois tipos de barras de açaí nas parcelas (Barra de açaí não revestido e barra de açaí revestido) e tempo de armazenamento nas subparcelas, em sete níveis (0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias) mantidos à temperatura de refrigeração (5±1 °C), em fatorial inteiramente ao acaso, com três repetições.

Os dados obtidos nas análises físico-químicas foram submetidos à análise de interação entre formulações e tempos de armazenamento e regressão, e quando conveniente, foi realizado teste de Tukey para comparação de médias, ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas por o XLSTAT software para Windows versão 2018.6 (Adinsoft, Paris, França).

4.3.4 *Análises microbiológicas*

Amostras de barra de açaí revestidos com cobertura de goma do cajueiro e goma gelana incorporado de extrato de planta e amostras não revestidas foram armazenadas em câmara incubadora refrigerada (Biochemical Oxygen Demand – BOD) sob refrigeração (5 °C ± 1 °C) por um período de 30 dias. A cada 5 dias as análises foram realizadas, sendo os tempos T0, T5, T10, T15, T20, T25 e T30 empregados.

4.3.4.1 Presença ou ausência de *Escherichia coli* nas barras de açaí

O teste de presença e ausência de *E. coli* nas barras de açaí (revestidas e não) foi efetuado segundo APHA (2001). Foi utilizado o método do Número Provável (NMP) com o caldo lauril sulfato triptose (LST/Merck) para o teste presuntivo; caldo *E. coli* (EC/Difco) para o teste confirmativo, com posterior estriamento em ágar levine eosina azul de metileno (L-EMB) para teste completo. O resultado foi expresso como presença ou ausência de *E. coli*/g de barra de açaí.

4.3.4.2 Presença ou ausência de *Salmonella sp.* nas barras de açaí

O teste de presença ou ausência de *Salmonella sp.* foi realizado a partir de 25 g de barra de açaí conforme a legislação vigente (BRASIL, 2001) e método da Food and Drug Administration – FDA do Bacteriological Analytical Manual (ANDREWS *et al.*, 1998).

4.3.4.3 Presença ou ausência de *Listeria spp.* nas barras de açaí

O teste de ausência e presença de *Listeria spp.* nas barras de açaí (revestidas e não) foi efetuado segundo o método Health Canada (HEALTH CANADA, 2010).

4.3.4.4 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas, psicrófilas e bolores e leveduras

As determinações foram realizadas segundo American Public Health Association (APHA, 2001). Foram transferidas 25 g de barra de açaí para 225 mL de água peptonada 0,1% (Difco) e após homogeneização foram preparadas diluições até 10^{-7} . Foi inoculado 0,1 mL de cada diluição em placas de petri contendo ágar padrão (PCA/Oxoid) e espalhados com alça de Drigalski. As placas foram incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 ± 2 h para bactérias mesófilas e a $7 \pm 1^\circ\text{C}$ por 10 dias para bactérias psicrófilas, sendo as contagens expressas em UFC/g de barra.

A contagem de bolores e leveduras (UFC/g) foi realizada por espalhamento em superfície em meio de ágar batata acidificado (pH final 3,5), incubado a 25°C , por 3 a 5 dias.

4.3.5 Teste de Bioacessibilidade in vitro (Digestão gastrointestinal simulada in vitro) de barras de açaí revestidas ou não

A digestão gastrointestinal simulada foi realizada de acordo com o procedimento *in vitro* proposto por Moura e Canniatti-Brazaca (2006), que consta de uma fase gástrica com pepsina solubilizada em HCl 0,1 mol L⁻¹ e uma fase intestinal com sais de bile-pancreatina solubilizada com NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹.

A solução de pepsina foi preparada dissolvendo 16 g de pepsina em 100 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹. A solução de pancreatina e sais de bile foi preparada pela dissolução de 0,5 g de pancreatina e 3,13 g de extrato de bile em 125 mL de NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹. Foram adicionadas 20 g de cada amostra de barra (revestida e não revestida), 100 mL de HCl 0,01 mol L⁻¹ e ajustado o pH para 2 com solução de HCl 2 mols L⁻¹. Após o ajuste do pH, foram adicionados 3,2 mL de pepsina no meio e submetido a agitação em banho termostatizado a 37 °C durante 2 horas. Essa etapa simula a digestão do alimento que ocorre no estômago.

Ao final da primeira etapa de 2 horas de digestão, 20 g do digerido de pepsina foram pesados em triplicata sendo uma delas utilizada para o procedimento de titulação e as outras submetidas a diálise. Para o procedimento de titulação, 5 mL de solução de pancreatina e sais de bile foram adicionados aos digeridos de pepsina de cada amostra que, em seguida, foram tituladas com solução 0,5 mol L⁻¹ de NaOH até pH 7,5 para simular o valor de pH encontrado no meio intestinal de um indivíduo. A diálise foi realizada durante duas horas em sacos de diálise contendo NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ equivalente à acidez titulável. Solução de NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ foi utilizado no interior da membrana de diálise, pois a mesma deve estar em meio tamponado para que, durante o processo de diálise, não ocorra mudança brusca de pH e precipitação das proteínas. Após o ajuste do pH, foram adicionadas as membranas de diálise e submetidas a agitação em banho termostatizado a 37 °C durante 30 minutos, após isso, foram adicionados 5,0 mL da solução de pancreatina e sais de bile no meio e agitados em banho termostatizado a 37 °C durante 2 horas. Essa etapa simula a digestão do alimento que ocorre no intestino.

Ao final desta etapa de 2 horas de digestão, o conteúdo da membrana chamado de dialisado, foi retirado e as amostras foram armazenadas sob refrigeração até o instante das análises.

Essas digestões foram feitas nas amostras de barra de açaí revestida e não revestida para avaliar a bioacessibilidade de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante total presentes nas amostras, após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

4.3.5.1 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro* foram determinados por meio do reagente de Folin-Ciocalteu, utilizando uma curva padrão de ácido gálico como referência, conforme método descrito por Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997). A leitura foi realizada em espectrofotômetro de marca Shimadzu, modelo UV-1800 a 700 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/100 g de barra de açaí.

A porcentagem bioacessível foi calculada de acordo com Briones-Labarca *et al.* (2011): %Bioacessível = 100 x (A/B). Onde A é o conteúdo de compostos fenólicos dialisável (mg AGE/100 g) e B corresponde ao teor de compostos fenólicos totais da amostra (mg AGE/100g).

4.3.5.2 Atividade Antioxidante total

A atividade antioxidante total foi determinada pelo método da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), de acordo com Rufino *et al.* (2010). A leitura foi realizada em espectrofotômetro de marca Shimadzu, modelo UV-1800 a 734 nm.

Os resultados foram expressos como TEAC - Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano), em μM de Trolox/g de amostra.

A porcentagem bioacessível foi calculada de acordo com Briones-Labarca *et al.* (2011): %Bioacessível = 100 x (C/D). Onde C é a atividade antioxidante total dialisável μM de Trolox/g e D corresponde é a atividade antioxidante total da amostra (μM Trolox/g).

4.3.5.3 Análise estatística

Os resultados foram avaliados através de comparação de médias e erro padrão da média (\pm EPM) por Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, como pós-teste ao nível de 5% de significância, utilizando o programa estatístico Statistica Versão 10.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 1ª etapa – elaboração e caracterização de extratos de folhas de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.) e marmeleiro preto (*Croton jacobinensis* Baill) e seu potencial antimicrobiano

5.1.1 Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais presentes nos extratos aquoso, 50% etanol e 70% etanol de chambá e marmeleiro preto estão expressos na Tabela 3. Os resultados indicaram que os extratos elaborados com 70% de etanol em ambas as plantas estudadas, apresentaram maiores conteúdos de compostos fenólicos totais quando comparado com outros métodos de extração, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$).

Tabela 3 - Teor de compostos fenólicos totais expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG).

Solvente de extração	Compostos fenólicos totais expressos (g EAG 100g ⁻¹)	
	<i>J. Pectoralis</i> Jacq.	<i>C. jacobinensis</i> Baill.
Aquoso	8,44 ^a ± 0,11	24,91 ^a ± 0,23
50% etanol	12,11 ^b ± 0,41	31,38 ^b ± 0,25
70% etanol	14,50 ^c ± 0,42	32,52 ^c ± 0,22

Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância para o teste de Tukey.

A divergência entre as metodologias utilizadas na literatura pode dificultar a comparação destes resultados com os estudos de variados autores. Arteaga, Perea e Varón (2011) estudaram o teor de compostos fenólicos totais da *Justicia pectoralis* Jacq. utilizando como solventes água, etanol ou acetato de etila e também encontraram maiores teores no extrato etanólico, com valor médio de 23,79g EAG 100g⁻¹. No presente estudo foi encontrado 12,11g EAG 100g⁻¹ para o extrato elaborado com 50% etanol e 14,50g EAG 100g⁻¹ para o extrato elaborado com 70% etanol da mesma planta, valores inferiores aos obtidos pelos autores supracitados. O mesmo comportamento ocorreu no extrato aquoso, no qual os autores obtiveram valor médio de 14,59g EAG 100g⁻¹, enquanto no presente estudo foi obtido 8,44g EAG 100g⁻¹. A divergência nos valores obtidos pode ser justificada pelo fato de os autores supracitados terem utilizado o solvente etanol não diluído e método de extração diferente, no

qual para os solventes orgânicos utilizou as folhas secas e moídas embebidas no solvente até o esgotamento, enquanto que para a água a decocção. Já o presente estudo utilizou para ambos solventes o método de infusão. Além disso, trata-se de plantas cultivadas em países distintos, com condições climáticas e de cultivo diferentes.

Em relação ao *C. jacobinensis* Baill, Chisté, Godoy e Prado (2013) encontraram teor médio de compostos fenólicos totais em extrato aquoso de folhas de *Croton* spp. elaborado por infusão de 2,60g EAG 100g⁻¹, enquanto que o presente estudo obteve teor expressivamente maior, cerca de 24,91g EAG 100g⁻¹. De acordo com Somit, Priyankar e Kumar (2013) as folhas de *C. bonplandianum* são ricas em vários fitoquímicos, como compostos fenólicos, que possuem várias propriedades bioativas, tendo a planta potencial para ser utilizada como agente terapêutico. Segundo os autores, os compostos fenólicos têm capacidade de combater o câncer, evitar doenças cardíacas, além de apresentar ação anti-inflamatória, vasodilatadora e antioxidante.

O teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante variam em função do solvente utilizado para extração. Segundo Cutrim e Cortez (2018) os solventes com alta polaridade, como a água, e solventes com polaridade muito baixas, ou apolares, como hexano ou diclorometano, não são bons extratores. Eles constataram que a acetona foi o solvente mais eficiente em extração, seguido de metanol e etanol, que não diferiram entre si. A água pura como solvente extrator não foi tão eficiente quando comparada aos demais solventes testados (exceto o solvente hexano), além disso, o uso de água pura resulta em extratos com alta impureza (ácidos orgânicos, açúcares, proteínas solúveis), podendo interferir na quantificação destes compostos. No entanto, a água em combinação com outros solventes orgânicos contribui para criar um meio moderadamente polar, o que favorece a extração de polifenóis. Os autores enfatizam que a acetona se mostrou mais eficiente na extração, entretanto, este solvente apresenta vários inconvenientes, principalmente o fato de ser um produto que tem a compra controlada; por esta razão, a utilização de metanol ou etanol são boas alternativas para melhorar a eficiência de extração (CUTRIM; CORTEZ, 2018).

Um dos pontos mais relevantes na pesquisa de compostos fitoquímicos, como as substâncias polifenólicas, na atividade biológica de plantas, reside no fato de que estes estão envolvidos no sistema de resistência dos vegetais contra patógenos e predadores (pragas pós-colheita). Segundo Negi (2012), a atuação de extratos de plantas como controle bacteriano possivelmente está ligada à ruptura da membrana celular devido à adsorção de polifenóis a esta estrutura, causando enfraquecimento e vazamento da estrutura da célula.

Associada a esta característica, na indústria de alimentos é crescente o interesse no

estudo deste metabólito, devido a habilidade antioxidante associada a algumas classes destes compostos fenólicos, atribuindo potenciais efeitos na saúde humana (BRAVO, 1998; OU *et al.*, 2018). O estudo de compostos fenólicos extraídos de plantas tem sido cada vez mais amplificado a sua utilização como aditivos alimentares, representando um desafio relevante para a indústria alimentícia em termos de adequação destes componentes a variadas formulações (CUTRIM; CORTEZ, 2018).

5.1.2 Atividade antioxidante total

A atividade antioxidante total dos extratos aquoso, 50% etanol e 70% etanol de chambá e marmeleiro preto estão expressas na Tabela 4. Os resultados indicaram que os extratos elaborados com etanol (50 e 70%) em ambas as plantas estudadas, apresentaram maior atividade antioxidante total quando comparados aos extratos aquosos, apresentando diferença significativa. No entanto, os extratos preparados com 50 e 70% de etanol não diferiram estatisticamente entre si, em ambas as plantas.

Tabela 4 - Atividade antioxidante total expressa em micromolar de Trolox por grama de extrato.

Solvente de extração	Atividade antioxidante total (μM de Trolox g^{-1})	
	<i>J. Pectoralis</i> Jacq.	<i>C. jacobinensis</i> Baill.
Aquoso	367,5 ^a \pm 0,80	967,8 ^a \pm 13,69
50% etanol	1.146,8 ^b \pm 83,85	1.486,4 ^b \pm 2,34
70% etanol	1.186,1 ^b \pm 54,65	1.507,9 ^b \pm 34,96

Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância para o teste de Tukey.

As condições de extração como método, agente extrator, temperatura e tempo são fatores importantes a serem considerados na extração de fitoquímicos de plantas. Também é muito importante ressaltar que a polaridade do agente de extração, ou misturas de solventes, desempenham um importante papel na extração (BAQUEIRO-PEÑA; GUERRERO-BELTRÁN, 2017).

A pesquisa de antioxidantes naturais presentes nas plantas atrai o interesse dos pesquisadores para seu emprego, principalmente nas indústrias farmacêutica e de alimentos, devido às suas propriedades terapêuticas e nutricionais. Em relação a indústria alimentícia, essas substâncias provenientes das plantas são uma alternativa à substituição dos antioxidantes

sintéticos, como butilhidroxianisol (BHA) e butilhidroxitolueno (BHT), que podem ocasionar efeitos nocivos à saúde (RAMESHKUMAR; SIVASUDHA, 2012).

A capacidade antioxidante dos extratos vegetais é principalmente atribuída aos compostos fenólicos presentes (DEY *et al.*, 2012). Dessa forma, no presente estudo, observa-se que os extratos hidroalcoólicos apresentaram maiores teores de compostos fenólicos quando comparados aos extratos aquosos, apresentando também maior atividade antioxidante. O presente estudo está em concordância com outros relatos da literatura para o gênero *Justicia*. Reddy *et al.* (2015) e Baqueiro-Peña e Guerrero-Beltrán (2017) estudaram extratos de vegetais deste gênero e também identificaram maiores concentrações de antioxidantes em extratos etanólicos.

Em relação ao *C. jacobinensis* Baill, Keerthana, Kalaivani e Sumathy (2013) também relataram que o extrato etanólico de folhas de *C. bonplandianum* tem boa capacidade antioxidante. Os autores utilizaram os métodos de fosfomolibdênio e a captura do radical DPPH. Nath *et al.* (2013) avaliaram a atividade antioxidante de extrato etanólico da folha, caule e raiz de *C. argyratus* por meio da atividade de eliminação do radical DPPH e verificaram maior valor de atividade antioxidante na folha, sugerindo o potencial de uso de extratos de plantas de *C. argyratus* como fonte natural de antioxidantes.

5.1.3 Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos

Os extratos aquoso e 50% de etanol das folhas de *Justicia pectoralis* Jacq. (chambá) apresentaram atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* e *E. coli*) sendo as concentrações inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM) apresentadas na Tabela 5. O extrato elaborado com 70% de etanol não apresentou atividade antibacteriana apenas para a *E. coli*.

Tabela 5 - Atividade antimicrobiana dos extratos de *J. pectoralis* Jacq.

<i>J. pectoralis</i> Jacq.		Aquoso (mg/mL)	50% etanol (mg/mL)	70% etanol (mg/mL)
<i>S. aureus</i>	CIM	1	15	5
	CBM	1	15	15
<i>L. monocytogenes</i>	CIM	10	15	25
	CBM	10	15	35
<i>S. Enteritidis</i>	CIM	25	25	45
	CBM	25	25	Nd
<i>E. coli</i>	CIM	25	40	Nd
	CBM	50	50	Nd

CIM= concentração inibitória mínima; CBM = concentração bactericida mínima. Nd = não detectada.

Os extratos de *J. pectoralis* Jacq. testados apresentaram-se mais efetivos contra as bactérias Gram-positivas. O extrato aquoso apresentou melhores atividades antimicrobianas, sendo necessárias concentrações de 1 mg/mL e 10 mg/L, respectivamente, para inibição e inativação de *S. aureus* e *L. monocytogenes*. Estas bactérias são consideradas mais sensíveis para a atuação de antimicrobianos devido à constituição da sua parede celular, que é majoritariamente de peptidoglicano, facilitando a permeabilidade das substâncias (YIN *et al.*, 2013). Enquanto que, quantidades superiores, cerca de 25 mg/L, foram necessárias para a inibição das bactérias Gram-negativas, *S. Enteritidis* e *E. coli*.

Os extratos aquoso e etanólico 50% de *J. pectoralis* Jacq apresentaram as mesmas concentrações inibitórias e bactericidas (25 mg/mL), para a bactéria *S. Enteritidis*. O extrato aquoso foi mais eficiente, frente ao uso de etanol a 50%, no teste realizado com *E. coli*. Segundo Yin *et al.* (2013) as bactérias Gram-negativas são mais resistentes aos antimicrobianos do que as gram-positivas, visto que a parede celular dos microrganismos Gram-negativos possui uma membrana externa, formada por lipopolissacarídeos e lipoproteínas. Além disso, as bombas de fluxo removem ativamente moléculas nocivas das células, aumentando assim, ainda mais, a tolerância em relação ao tratamento antimicrobiano.

No entanto, alguns autores encontraram comportamento diferente para o extrato de *J. pectoralis* Jacq frente às bactérias Gram-negativas. Furtado *et al.* (2015) estudaram a atividade antimicrobiana de extrato aquoso de *J. pectoralis* pela técnica de poços por difusão em ágar e verificaram que o extrato em estudo não foi eficiente contra as bactérias *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ambas Gram-negativas. Tal fato pode ser justificado por ter sido utilizadas técnicas diferentes de determinação da atividade antimicrobiana, métodos diferentes de obtenção do

extrato e origem distinta das plantas.

A relevância desta etapa reside na importância de se conhecer as características específicas do extrato a ser utilizado como agente antimicrobiano, uma vez que a sua composição vai delinear a atuação deste como aditivo de preservação em alimentos. Certas características do agente antimicrobiano a ser aplicado no alimento podem limitar a ação destes. Alguns metabólitos com poder antimicrobiano possuem propriedades hidrofóbicas que podem dificultar a dissolução em água, limitando assim o uso destes como aditivos alimentares. Os limites de concentração requeridos para inibição ou inativação de microrganismos estão intrinsicamente ligados aos alvos específicos do agente antimicrobiano, uma vez que dependem da estrutura da célula microbiana alvo e da maquinaria genética específica de cada microrganismo (NEGI, 2012).

A atividade antimicrobiana dos extratos de *C. jacobinensis* Baill está expressa na Tabela 6. Todos os extratos apresentaram ação contra as bactérias Gram-positivas testadas (*S. aureus* e *L. monocytogenes*). Apenas o extrato elaborado com 70% de etanol apresentou ação inibitória e bactericida contra as duas bactérias gram-negativas. O extrato elaborado com 50% de etanol foi efetivo apenas para a *S. Enteritidis*.

Tabela 6 - Atividade antimicrobiana dos extratos de *C. jacobinensis* Baill.

<i>C. jacobinensis</i> Baill.		Aquoso (mg/mL)	50% etanol (mg/mL)	70% etanol (mg/mL)
<i>S. aureus</i>	CIM	0,5	1	1,5
	CBM	1	2	1,5
<i>L. monocytogenes</i>	CIM	8	6,25	3
	CBM	12,5	25	6
<i>S. Enteritidis</i>	CIM	Nd	25	25
	CBM	Nd	25	25
<i>E. coli</i>	CIM	Nd	Nd	25
	CBM	Nd	Nd	30

CIM= concentração inibitória mínima; CBM = concentração bactericida mínima. Nd = não detectada.

Singh *et al.* (2011) avaliaram o potencial antimicrobiano de extratos aquoso, metanólico e com éter de petróleo de *C. bonplandianum* nas concentrações de 50 a 125 mg/mL pelo método de difusão em ágar frente as bactérias *Bacillus macerans*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *P. striata*. Os autores verificaram que o extrato aquoso teve ação apenas contra a bactéria *P. aeruginosa* com 37,5% de inibição na concentração de 100 mg/mL. O extrato metanólico foi o

que apresentou melhor potencial antimicrobiano, não sendo efetivo apenas para *S. aureus*.

Dentre os extratos das duas plantas estudadas, o extrato aquoso de chambá e o extrato hidroalcoólico 70% de marmeleiro preto apresentaram os melhores potenciais antimicrobianos, sendo o extrato de marmeleiro preto considerado o mais eficiente.

5.1.4 Citotoxicidade frente a células epiteliais humanas

Para o teste de toxicidade, foram utilizados os extratos com maior potencial de inibição microbiano, segundo experimentos realizados na etapa anterior. A toxicidade dos extratos em células epiteliais humanas, expressos através da absorvância a 570 nm, estão expostos na Tabela 7.

Tabela 7- Absorbâncias das culturas celulares expostas ao extrato aquoso de *J. pectoralis* Jacq e ao extrato hidroalcoólico 70% de *C. jacobinensis* Baill.

Concentração do extrato	Extrato aquoso	Extrato hidroalcoólico 70%
	<i>J. pectoralis</i> Jacq.	<i>C. jacobinensis</i> Baill.
	Absorbância (570 nm)	Absorbância (570 nm)
6,25%	0,307 ± 0,050	0,326 ± 0,071
12,5%	0,269 ± 0,144	0,333 ± 0,046
25%	0,326 ± 0,025	0,433 ± 0,080
50%	0,415 ± 0,029	0,419 ± 0,053
75%	0,477 ± 0,087	0,503 ± 0,114
100%	0,744 ± 0,147	0,637 ± 0,197
Controle (+)	0,069 ± 0,027	0,069 ± 0,027
Controle (-)	0,263 ± 0,064	0,263 ± 0,064

C(+): Controle positivo: Cultura celular e toxina A do *Clostridium difficile*; C(-): Controle negativo – Células e meio de cultura; Células epiteliais (cultura IEC 6) expostas a extratos contendo concentração de 6,25, 12,5, 25, 50, 75 e 100% de extrato aquoso seco de chambá. Resultados apresentados em média e desvio padrão pelo teste de Bonferroni's.

Utilizando o método de redução do tetrazólio MTT, foi investigado o efeito dos extratos estudados em diferentes concentrações sobre a integridade da membrana de células epiteliais. Comparando com o controle positivo, a ação da toxina bacteriana nas células epiteliais, os resultados não demonstraram efeito citotóxico em todas as concentrações investigadas. A presença dos extratos nas diferentes concentrações estudadas manteve a viabilidade das células epiteliais em cultura em todos os intervalos investigados, quando comparado aos dados de

absorbância dos controles.

De acordo com Brighenti *et al.* (2014), a identificação e separação da fração ativa do extrato bruto de cada planta pode reduzir o potencial de citotoxicidade das concentrações estudadas. Os autores também ressaltam que o uso do MTT possui limitações metodológicas fazendo-se necessário estudos mais acurados utilizando modelos animais. De acordo com Leal, Silva e Barros Viana (2017), o extrato sintetizado por *J. pectoralis* não é caracterizado como tóxico, segundo as conformidades do sistema de classificação e rotulagem de produtos químicos da Organização das Nações Unidas.

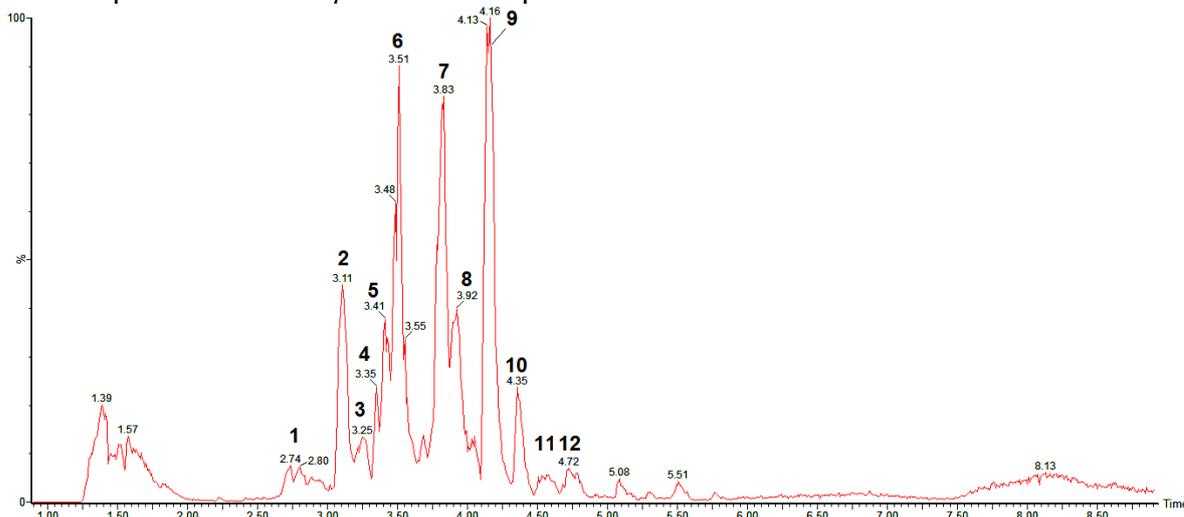
Ramos *et al.* (2009) estudaram as propriedades citotóxicas de várias espécies do gênero *Croton*, incluindo a *C. jacobinensis* e não encontraram efeito tóxico para o extrato elaborado com as folhas.

5.1.5 Perfil de substâncias por cromatografia líquida e espectrometria de massas

Na análise com UPLC-QToF-MS^E, os extratos aquoso de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.) e hidroalcoólico 70% de marmeleiro preto (*Croton jacobinences* Ball.) foram analisados no modo negativo de ionização. Os compostos foram tentativamente identificados comparando-se as fórmulas moleculares obtidas com aquelas contidas na literatura de família, gênero e espécie.

O resultado do extrato aquoso de *Justicia pectoralis* Jacq. mostrou a presença de doze picos (Figura 9 e Tabela 8).

Figura 9 – Cromatograma obtido no sistema UPLC-QToF-MS em modo negativo (ESI-) do extrato aquoso de *Justicia pectoralis* Jacq.



O pico 1 [m/z 503,1406 Da [M – H] ($C_{21}H_{27}O_{14}$)] exibe a fragmentação no MS^2 com os íons fragmentos m/z 341,0875 Da [M – H]⁻; m/z 315,1050 Da [M – H]⁻; m/z 179,0343 Da [M – H]⁻; m/z 135,0444 Da [M – H]⁻. Este composto foi tentativamente identificado como dihexosídeo de ácido cafeico (SPÍNOLA; CASTILHO, 2017).

No pico 2 encontrou-se o valor de massa do íon desprotonado igual a m/z 341,0881 Da [M – H], e no espectro MS^2 tem-se os fragmentos m/z 179,0325 Da [M – H]⁻, relativo a perda de uma unidade de hexose e também um fragmento m/z 135,0416 Da [M – H]⁻. Correlacionando a fórmula molecular $C_{15}H_{17}O_9$ obtida com os valores de fragmentos MS^2 na literatura, foi possível identificar o composto como hexosídeo de ácido cafeico (SPÍNOLA; CASTILHO, 2017).

O pico 3 [m/z 355,0658 Da [M – H] ($C_{15}H_{15}O_{10}$)] foi tentativamente identificado como sendo glucuronídeo de ácido cafeico a partir dos valores de massa em seu perfil de fragmentação MS^2 , sendo os valores observados m/z 179,0370 Da [M – H]⁻ e m/z 135,0440 Da [M – H]⁻ (BRESCIANI *et al.*, 2017).

O pico 4 ($tr = 3,35$) apresentou fórmula molecular $C_{14}H_{17}O_8$ e massa molecular do íon desprotonado m/z 313,0923 Da [M – H]⁻ com fragmentação MS^2 de m/z 137,0607 Da [M – H]⁻. Este composto foi tentativamente identificado como glucoronídeo de 2-Metoxi-4-metilfenol (VENNILA; RAJANGAM, 2015).

Para o composto presente no pico 5 ($tr = 3,41$) foi obtido a fórmula molecular $C_{14}H_{17}O_8$ a partir do software MassLynx e massa do íon desprotonado m/z 329,0973 Da [M – H]. No entanto não foi possível identificar este composto na literatura consultada.

O pico 6 [m/z 325,0916 ($C_{15}H_{17}O_8$)] exibe a fragmentação no MS^2 de m/z 163,0361 Da [M – H]⁻ e m/z 119,0514 Da [M – H]⁻. Este composto foi tentativamente identificado como *p*-Coumaroil glicosídeo (SIMIRGIOTIS *et al.*, 2017).

O pico 7 [m/z 327,1068 ($C_{27}H_{30}O_{13}$)] exibe a fragmentação no MS^2 com o íon fragmento m/z 165,0520 Da [M – H]⁻. Este composto foi tentativamente identificado como o ácido feniláctico-O-glucosídeo (SIMIRGIOTIS *et al.*, 2017).

O pico 8 ($tr = 3,92$) apresentou massa do íon desprotonado de m/z 325,0909 Da [M – H]⁻ e exibe com os íons fragmentos m/z 163,0358 Da [M – H]⁻; 119,0483 Da [M – H]⁻ no MS^2 . Este composto foi tentativamente identificado como *p*-Coumaroil galactosídeo (SIMIRGIOTIS *et al.*, 2017).

Os picos 9, 10, 11 e 12 apresentaram fórmulas moleculares $C_{23}H_{39}O_{21}$, $C_{24}H_{39}O_{11}$, $C_{23}H_{47}O_{28}$ e $C_{28}H_{53}O_{20}$, respectivamente, e massas do íon desprotonado m/z 651,1984 Da [M –

H], m/z 503,2480 Da [M – H], m/z 771,2230 Da [M – H] e m/z 709,3126 Da [M – H], respectivamente. No entanto não foi possível identificar estes compostos na literatura consultada.

Em relação aos compostos encontrados, os derivados do ácido cafeico (dihexosídeo de ácido cafeico, hexosídeo de ácido cafeico e glucuronídeo de ácido cafeico) são reportados na literatura associados a potencial antioxidante e anti-inflamatório (SOUSA, 2008). Além disso, apresentam atividade antimicrobiana (ARAUJO, 2017). As substâncias *p*-Coumaroil glucosídeo e *p*-Coumaroil galactosídeo são derivados de compostos fenólicos com atividade antioxidante conforme descrito por Tang *et al.* (2001).

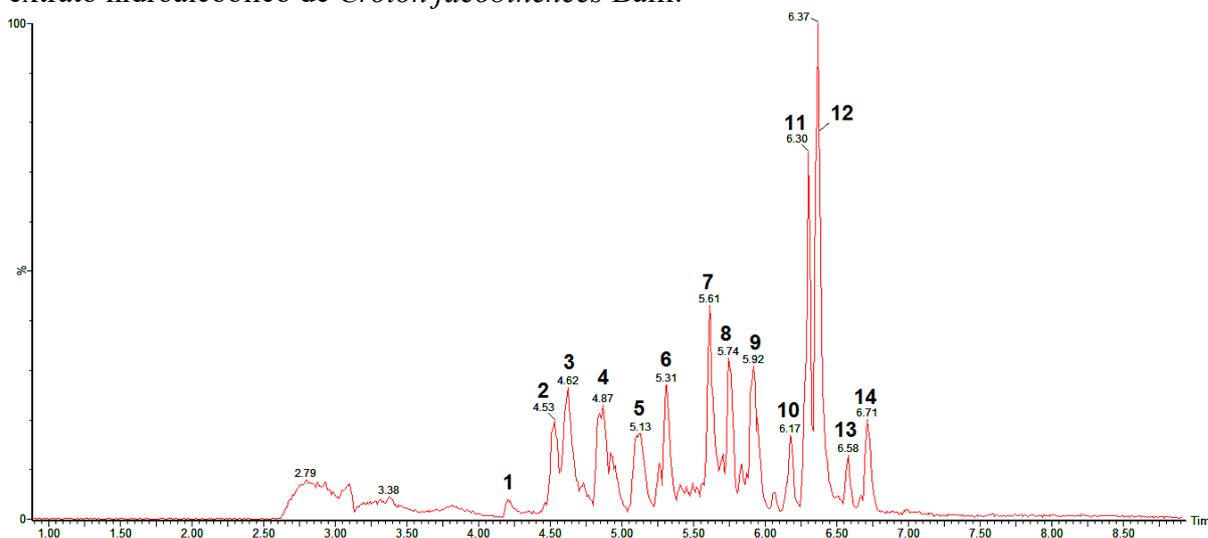
Tabela 8 - Compostos identificados no extrato aquoso de *Justicia pectoralis* Jacq.

Pico	T _R (min)	[M-H] ⁻ Observado	[M-H] ⁻ Calculado	Fragmentos dos íons (MS/MS)	Fórmula Empírica	Erro	Tentativa de identificação	Referência
1	2,74	503,1406	503,1401	341,0875; 315,1050; 179,0343; 135,0444	C ₂₁ H ₂₇ O ₁₄	1,0	Dihexosídeo de ácido cafeico	(Spínola; Castilho, 2017)
2	3,11	341,0881	341,0873	179,0325; 135,0416	C ₁₅ H ₁₇ O ₉	2,3	Hexosídeo de ácido cafeico	(Spínola; Castilho, 2017)
3	3,25	355,0658	355,0665	179,0370; 135,0440	C ₁₅ H ₁₅ O ₁₀	-2,0	Glucuronídeo de ácido cafeico	(Bresciani et al., 2017)
4	3,35	313,0923	313,0923	137,0607	C ₁₄ H ₁₇ O ₈	0,0	Glucoronídeo de 2- Metoxi-4-metilfenol	(Vennila; Rajangam, 2015)
5	3,41	329,0973	329,0973	135,0333; 72,9945	C ₁₄ H ₁₇ O ₉	0,0	Não identificado	-
6	3,51	325,0916	325,0923	163,0361; 119,0514	C ₁₅ H ₁₇ O ₈	-2,2	<i>p</i> -Coumaroil glucosídeo	(Simirgiotis et al., 2017)
7	3,82	327,1068	327,1080	165,0520	C ₁₅ H ₁₉ O ₈	-3,7	Ácido feniláctico-O- glucosídeo	(Simirgiotis et al., 2017)
8	3,92	325,0909	325,0923	163,0358; 119,0483	C ₁₅ H ₁₇ O ₈	-4,3	<i>p</i> -Coumaroil galactosídeo	(Simirgiotis et al., 2017)
9	4,13	651,1984	651,1984	-	C ₂₃ H ₃₉ O ₂₁	0,0	Não identificado	-
10	4,35	503,2480	503,2492	429,1721; 161,0344	C ₂₄ H ₃₉ O ₁₁	-2,4	Não identificado	-
11	4,57	771,2230	771,2254	637,2074; 327,1073	C ₂₃ H ₄₇ O ₂₈	-2,4	Não identificado	-
12	5,08	709,3126	709,3130	223,0609; 165,0626	C ₂₈ H ₅₃ O ₂₀	-0,6	Não identificado	-

Fonte: Autora (2019)

O resultado do extrato hidroalcoólico 70% de *Croton jacobinences* Baill mostrou a presença de quatorze picos (Figura 10 e Tabela 9).

Figura 10 – Cromatograma obtido no sistema UPLC-QToF-MS em modo negativo (ESI-) do extrato hidroalcoólico de *Croton jacobinences* Baill.



O pico 1 [m/z 191,0195 Da [M – H] ($C_6H_7O_7$)] exibe a fragmentação no MS^2 com o íon fragmento m/z 111,0121Da [M – H] -. Este composto foi tentativamente identificado como ácido cítrico (JIMÉNEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2015).

Os picos 2 (tr = 4,53) e 3 (tr = 4,62) apresentaram os mesmos valores de fórmula molecular ($C_{15}H_{15}O_{11}$) e massa molecular do íon desprotonado, respectivamente m/z 371,0613 Da [M – H]- e m/z 371,0612 Da [M – H]-. Estes dois isômeros foram identificados como sendo os isômero de ácido cafeoilglicarico com base no perfil de fragmentação MS^2 apresentado (sendo m/z 209,0265 Da [M – H]- e m/z 191,0194 Da [M – H]- para o pico 2; m/z 209,0256 [M – H]- e m/z 191,0215 Da [M – H]- para o pico 3 e no tempo de retenção já relatados na literatura (RUIZ *et al.*, 2013).

O pico 4 (tr = 4,87) apresentou fórmula molecular $C_{21}H_{19}O_{12}$ e massa molecular do íon desprotonado m/z 463,0892 Da [M – H]- com fragmentação MS^2 de m/z 301,0330 Da [M – H]- e m/z 300,0279 Da [M – H]-. Este composto foi tentativamente identificado como isoquercitrina através da utilização do padrão.

O pico 5 (tr = 5,13) apresentou massa do íon desprotonado de m/z 593,1479 Da [M – H]-) e exibe com o íon fragmento m/z 285,0401 Da [M – H]- no MS^2 . Este composto foi tentativamente identificado como kaempferol-*O*-rutinosideo (NAVARRO *et al.*, 2017).

Para o composto presente no pico 6 (tr = 5,31) foi obtido a fórmula molecular $C_{17}H_{23}O_4$

com erro de 1,4 ppm e massa do íon desprotonado m/z 291,1600Da [M – H]. No entanto não foi possível identificar este composto na literatura consultada.

A literatura mostra diversas classes de diterpenos associados as fórmulas moleculares dos compostos referentes aos picos 7 a 14 (XU; LIU; LIANG, 2018). No entanto, devido ao grande número de isômeros, não foi possível estabelecer a identificação de cada substância e foram tentativamente identificadas como diterpenos.

O ácido cítrico é conhecido na literatura como antioxidante natural (LUIZA; JORGE, 2010; ANDREO; JORGE, 2006; RYAN *et al.*, 2019) e tem efeito antimicrobiano por modificar o pH do meio (BRAZ *et al.*, 2011).

Os diterpenos são reportados com várias atividades biológicas, com larvicida (GERIS *et al.*, 2008), inseticida (VIEGAS JUNIOR, 2003), leishmanicida (CANDIDO *et al.*, 2016), antiulcerogênica e anti-inflamatória (CORDEIRO, 2017) e antimicrobiana (FERREIRA, 2016; FIRMINO *et al.*, 2019).

A isoquecitrina exerce efeito positivo sobre a osteogênese (LI *et al.*, 2019), atividade antibacteriana (YUN; WOO; LEE, 2018), fungicida (YUN *et al.*, 2015) e antioxidante (SILVA *et al.*, 2009).

O kaempferol-*O*-rutinosídeo é relatado na literatura com efeito hepatoprotetor (WANG; TANG; ZHANG, 2015), além disso, juntamente com outros compostos fenólicos apresentam atividade antioxidante e anti-inflamatória (MA *et al.*, 2019; GABR *et al.*, 2018).

Tabela 9 - Compostos identificados no extrato hidroalcoólico de *Croton jacobinences* Baill.

Pico	T _R (min)	[M-H] ⁻ Observado	[M-H] ⁻ Calculado	Fragmentos dos íons (MS/MS)	Fórmula Empírica	Erro	Tentativa de identificação	Referência
1	4,21	191,0195	191,0192	111,0121	C ₆ H ₇ O ₇	1,6	Ácido cítrico	(Jiménez-Sánchez et al., 2015)
2	4,53	371,0613	371,0614	209,0265; 191,0194	C ₁₅ H ₁₅ O ₁₁	-0,3	Isômero de ácido cafeoilglicarico	(Ruiz et al., 2013)
3	4,62	371,0612	371,0614	209,0256; 191,0215	C ₁₅ H ₁₅ O ₁₁	-0,5	Isômero de ácido cafeoilglicarico	(Ruiz et al., 2013)
4	4,87	463,0892	463,0877	301,0330; 300,0279	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	3,2	Isoquercitrina	Padrão
5	5,13	593,1479	593,1506	285,0401	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₅	-4,6	kaempferol- <i>O</i> -rutinosideo	(Navarro et al., 2017)
6	5,31	291,1600	291,1596	273,1513	C ₁₇ H ₂₃ O ₄	1,4	Não identificado	-
7	5,61	331,1904	331,1909	201,1284; 71,0183	C ₂₀ H ₂₇ O ₄	-1,5	Diterpeno	(Xu; Liu; Liang, 2018)
8	5,74	357,1326	357,1338	-	C ₂₀ H ₂₁ O ₆	-3,4	Diterpeno	(Xu; Liu; Liang, 2018)
9	5,92	347,1846	347,1858	329,0634; 314,0413; 299,0165	C ₂₀ H ₂₇ O ₅	-3,5	Diterpeno	(Xu; Liu; Liang, 2018)
10	6,17	339,1216	339,1232	295,1371; 116,0312;109,0322	C ₂₀ H ₁₉ O ₅	-4,7	Diterpeno	(Xu; Liu; Liang, 2018)
11	6,30	315,1949	315,1960	225,1668	C ₂₀ H ₂₇ O ₃	-3,5	Diterpeno	(Xu; Liu; Liang, 2018)
12	6,37	325,1441	325,1440	281,1558; 265,1228; 235,1138	C ₂₀ H ₂₁ O ₄	0,3	Diterpeno	(Xu; Liu; Liang, 2018)
13	6,58	329,1761	329,1753	285,1899; 116,9326	C ₂₀ H ₂₅ O ₄	2,4	Diterpeno	(Xu; Liu; Liang, 2018)
14	6,71	327,1598	327,598	283,1722; 163,1791	C ₂₀ H ₂₃ O ₄	0,6	Diterpeno	(Xu; Liu; Liang, 2018)

5.2 2ª etapa – desenvolvimento e caracterização de revestimentos comestíveis à base dos polissacarídeos goma do cajueiro gelana

5.2.1 Reologia

A compreensão das características reológicas de alimentos fluidos é fundamental para o controle de qualidade, controle de processo, projeto de equipamentos de processamento de alimentos, desenvolvimento de novos produtos e na determinação da sua vida de prateleira. Alguns fatores podem influenciar o comportamento reológico dos fluidos, como: concentração de sólidos e tamanho das partículas da matriz alimentar, além de condições do processamento, como a temperatura (RODRIGUES *et al.*, 2016).

Segundo Masson (2010), os fluidos podem ser divididos em newtonianos e não-newtonianos, sendo os newtonianos caracterizados por uma relação linear entre tensão de cisalhamento e a taxa de deformação aplicada, dependendo apenas da temperatura e da composição do fluido, comportamento encontrado principalmente nos líquidos “puros” (tais como óleos ou soluções salinas) e nas soluções poliméricas diluídas ou emulsões e suspensões diluídas. Enquanto os não-newtonianos são definidos como aqueles que não apresentam viscosidade constante, típico dos sistemas de dispersões mais concentradas, coloidal ou não-coloidal.

Dentre os três modelos matemáticos utilizados para descrever o comportamento reológico dos revestimentos de gomas do cajueiro e gelana, o que apresentou ajuste aos dados experimentais foi o modelo de Casson (não-newtoniano), apresentando maior valor de R^2 .

O modelo de Casson, modelo não newtoniano, é utilizado principalmente com o objetivo de determinar a tensão inicial (Koc) e viscosidade plástica (Kc) dos revestimentos. A Tabela 10 mostra os valores da tensão inicial e viscosidade plástica de Casson para os 11 tratamentos estudados. Para o parâmetro tensão inicial, foram obtidos valores na faixa -0,819 a -1,696 Pa. Para o parâmetro reológico viscosidade plástica de Casson, foram obtidos resultados variando na faixa de 0,355 a 0,448 Pa.s^{0,5}.

Tabela 10 - Parâmetros reológicos do modelo de Casson para tratamentos com diferentes concentrações de goma do cajueiro (%) e glicerol (%).

Tratamento	Goma do cajueiro (%)	Glicerol (%)	Casson		
			K _{oc} (Pa)	K _c (Pa.s ^{0,5})	R ²
1	11,50	3,45	-1,004 ^a	0,397 ^{ab}	0,986
2	11,50	5,55	-1,696 ^c	0,448 ^a	0,979
3	18,50	3,45	-1,089 ^a	0,378 ^{ab}	0,784
4	18,50	5,56	-1,056 ^a	0,424 ^{ab}	0,973
5	10,05	4,50	-0,985 ^a	0,382 ^{ab}	0,971
6	19,95	4,50	-0,819 ^a	0,355 ^b	0,956
7	15,00	3,00	-1,159 ^b	0,403 ^{ab}	0,983
8	15,00	6,00	-1,053 ^a	0,405 ^{ab}	0,963
9	15,00	4,50	-1,456 ^c	0,379 ^{ab}	0,966
10	15,00	4,50	-1,506 ^c	0,406 ^{ab}	0,980
11	15,00	4,50	-1,527 ^c	0,419 ^{ab}	0,976

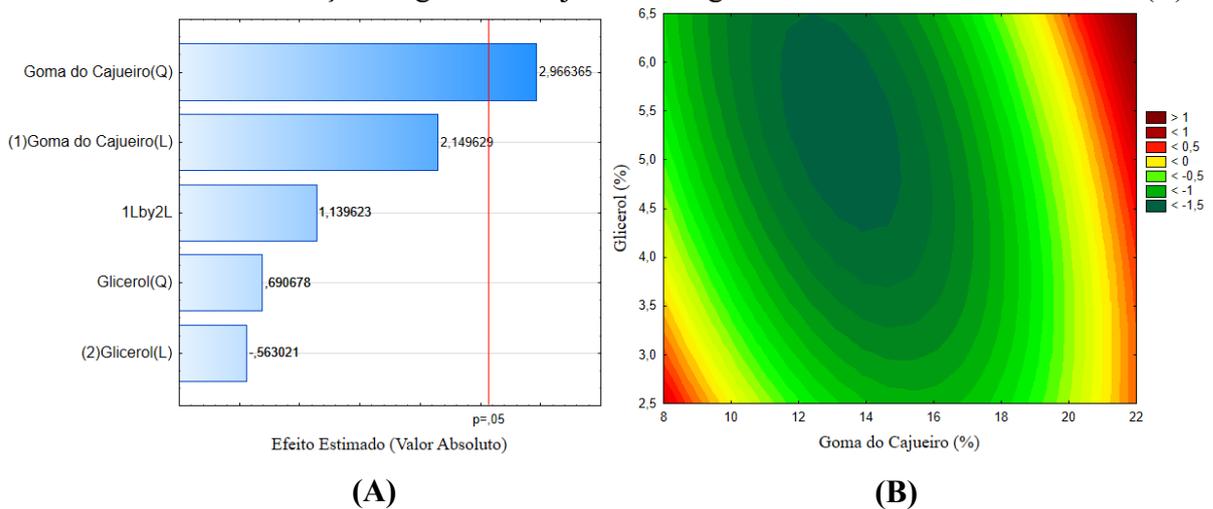
K_{oc} = tensão inicial de Casson, K_c = viscosidade plástica de Casson, R² = índice de correlação. Concentração de goma gelana fixa (0,3%). Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância para o teste de Tukey.

Mothé e Rao (1999) estudaram o comportamento reológico de dispersões aquosas elaboradas com gomas de cajueiro e arábica variando entre 4 e 50% (m/v), e concluíram que ambas as gomas apresentaram características de fluido não-Newtoniano, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

O tratamento 2 apresentou comportamento significativamente igual ao ponto central (9, 10 e 11), apresentando menores valores de tensão inicial. Deve-se levar em consideração que esses tratamentos possuíam valores intermediários de goma de cajueiro e de glicerol.

Verificou-se que o aumento no teor de goma de cajueiro nos revestimentos, resultou em aumento dos valores de tensão inicial (Figura 11) até a concentração de 15%. Concentrações acima de 15% apresentaram diminuição na tensão inicial. Soluções de goma de cajueiro foram consideradas viscosas em concentrações acima de 16% por Gyedu-Akoto *et al.* (2007). Segundo Mothé e Rao (1999) e Owusu *et al.* (2005), a goma de cajueiro apresenta viscosidade dependente da sua concentração em solução. Ofori-Kwakye *et al.* (2012) observaram aumento significativo da viscosidade em concentrações entre 10 e 20% (m/v) de goma de cajueiro, porém nenhum aumento significativo da viscosidade foi observado em concentrações entre 5 e 10%.

Figura 11 - Diagrama de Pareto da variável da tensão inicial (A) e superfície de resposta sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol na variável tensão inicial (B).



Conforme a Figura 11, somente o coeficiente quadrático associado a variável goma do cajueiro para a resposta de tensão inicial (K_{oc}) foi significativo ($p \leq 0,05$) para o modelo.

Segundo Azeredo (2012) para adequada formação de filmes ou revestimentos com goma de cajueiro, torna-se necessário a combinação desta com outros polissacarídeos com alta viscosidade. No presente estudo associou-se a goma do cajueiro com goma gelana, justamente com o objetivo de proporcionar um aumento na viscosidade do revestimento.

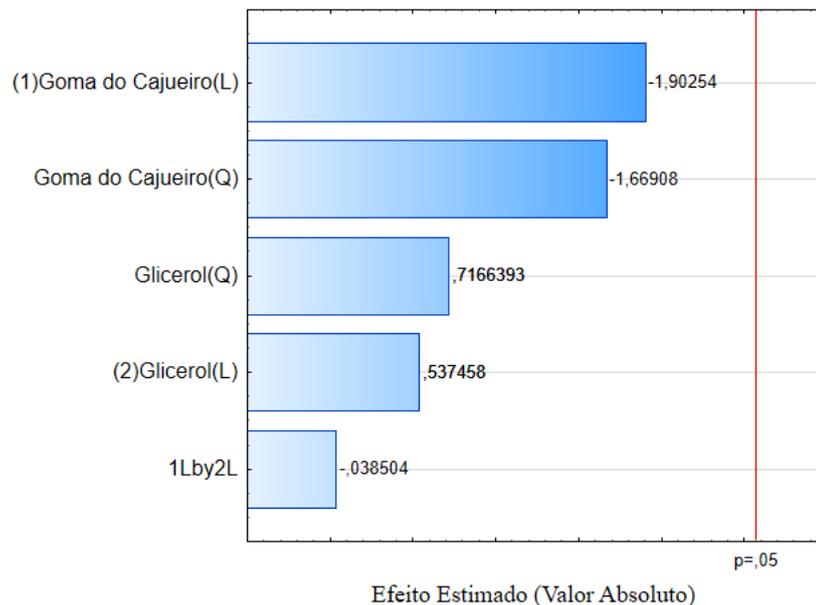
Em relação as concentrações de glicerol testadas, foi possível observar que em torno de 5,5% proporcionou a maior tensão inicial (Tabela 10 e Figura 11). O glicerol é um dos agentes plastificantes mais utilizados, pois melhora a flexibilidade e a resistência do revestimento (VERSINO *et al.*, 2016). Ele atua nas pontes de hidrogênio, reduzindo as forças intermoleculares ao longo das cadeias do polímero, melhorando na embalagem suas propriedades mecânicas, como flexibilidade, força e resistência (McHUGH; KROCHTA, 1994). Tendo em vista a importância do glicerol, é necessário conhecer a concentração ideal para cada matriz.

O teor de glicerol, assim como a associação deste com a goma do cajueiro não apresentaram interferência significativa na tensão inicial dos revestimentos estudados. Somente o coeficiente quadrático associado a variável goma do cajueiro para a resposta de tensão inicial (K_{oc}) foi significativo ($p \leq 0,05$) para o modelo.

O modelo resultante para a tensão inicial corresponde: tensão inicial (K_{oc}) = $-1,40942 + 0,74039 \times [\text{goma do cajueiro}]^2$. O coeficiente de determinação foi 0,85. Dessa forma, observa-se que a tensão inicial dos revestimentos é influenciada apenas pela concentração de goma de cajueiro, sendo essa relação quadrática.

Para o parâmetro viscosidade plástica de Casson, os coeficientes obtidos não foram considerados significativos, conforme Figura 12. Logo, as concentrações de goma do cajueiro e glicerol testados não influenciaram esse parâmetro.

Figura 12 - Diagrama de Pareto da variável viscosidade plástica de Casson sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol.



5.2.2 Cor

Para os parâmetros de cor (TABELA 11), em análise geral, não foi observado grandes variações nos valores determinados, com luminosidade (L^*) de 31,68 a 32,41, valores de a^* de -1,07 a -0,89 e b^* de -14,32 a -13,78. Dessa forma, a adição de goma de cajueiro, assim como de glicerol, em diferentes proporções não apresentou influência nesse parâmetro.

O valor L^* expressa a luminosidade ou claridade da amostra, estando relacionado ao brilho da superfície, sendo representado numa escala de 0 (preto) a 100 (branca), em que os valores maiores indicam maior brilho, e quanto mais próximo de 100 mais clara é a amostra. Assim, a partir da Tabela 11, foi observado que todas as amostras estudadas apresentaram valores acima de 30, porém com um máximo em torno de 32,41, mostrando uma luminosidade intermediária.

As medidas demonstraram valores de a^* negativos apresentando menor tendência de coloração vermelha. Os valores de b^* , para todos os revestimentos, foram negativos, demonstrando tendência para o azul.

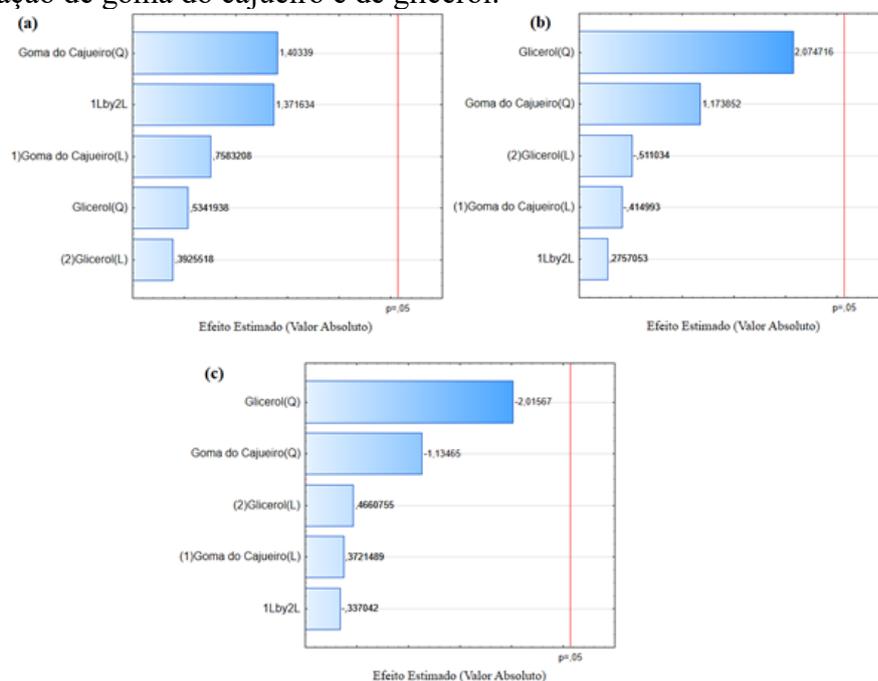
Tabela 11 - Parâmetros de cor dos tratamentos com diferentes concentrações de goma do cajueiro (%) e glicerol (%), com concentração de goma gelana fixa (0,3%).

Tratamento	Goma do cajueiro (%)	Glicerol (%)	L*	a*	b*
1	11,50	3,45	31,37 ^d	-0,89 ^a	-13,78 ^a
2	11,50	5,55	32,05 ^{abc}	-0,97 ^a	-13,84 ^a
3	18,50	3,45	31,77 ^{bcd}	-0,97 ^a	-13,99 ^a
4	18,50	3,45	31,80 ^{bc}	-0,90 ^a	-13,97 ^a
5	10,05	4,50	32,37 ^a	-0,97 ^a	-14,13 ^a
6	19,95	4,50	31,68 ^{cd}	-0,88 ^a	-14,01 ^a
7	15,00	3,00	32,15 ^{ab}	-0,99 ^a	-13,90 ^a
8	15,00	6,00	32,23 ^a	-0,94 ^a	-14,02 ^a
9	15,00	4,50	32,37 ^a	-0,95 ^a	-14,08 ^a
10	15,00	4,50	32,35 ^a	-0,93 ^a	-14,06 ^a
11	15,00	4,50	32,41 ^a	-1,07 ^a	-14,32 ^a

Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância para o teste de Tukey.

Para os parâmetros da cor, os coeficientes obtidos não foram considerados significativos, conforme Figura 13.

Figura 13 - Diagrama de Pareto dos parâmetros de cor L*(a), a*(b) e b*(c) sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol.



5.2.3 Potencial zeta

Os valores de potencial zeta para os 11 tratamentos estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Potencial zeta dos tratamentos com diferentes concentrações de goma do cajueiro (%) e glicerol (%). A concentração de goma gelana é 0,3%.

Tratamento	Concentração de goma do cajueiro (%)	Concentração de glicerol (%)	Potencial Zeta (mV)
1	11,50	3,45	-5,10 ^d
2	11,50	5,55	-2,37 ^{ab}
3	18,50	3,45	-2,50 ^{ab}
4	18,50	3,45	-4,81 ^{cd}
5	10,05	4,50	-1,45 ^a
6	19,95	4,50	-3,38 ^{bc}
7	15,00	3,00	-3,67 ^{bcd}
8	15,00	6,00	-3,72 ^{bcd}
9	15,00	4,50	-5,17 ^{cd}
10	15,00	4,50	-4,92 ^{cd}
11	15,00	4,50	-5,00 ^{cd}

Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância para o teste de Tukey.

O potencial zeta permite avaliar a estabilidade das dispersões coloidais. Em módulo, um valor de potencial zeta relativamente alto é importante para uma boa estabilidade físico-química da suspensão coloidal. Segundo a literatura, os sistemas são considerados estáveis quando possuem um valor absoluto maior que 25 mV, positivos ou negativos, devido à repulsão entre as partículas, que previne sua agregação (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Segundo HOSSEINI *et al.* (2015) quanto maiores os valores de potencial zeta, mais fortes são as repulsões e mais estável o sistema se torna. Valores inferiores a - 30 mV indicam que as partículas suspendem bem em soluções aquosas. Contrariamente, valores próximos a 0 mV favorece a aglomeração de partículas (WONGSAGONSUP *et al.*, 2005).

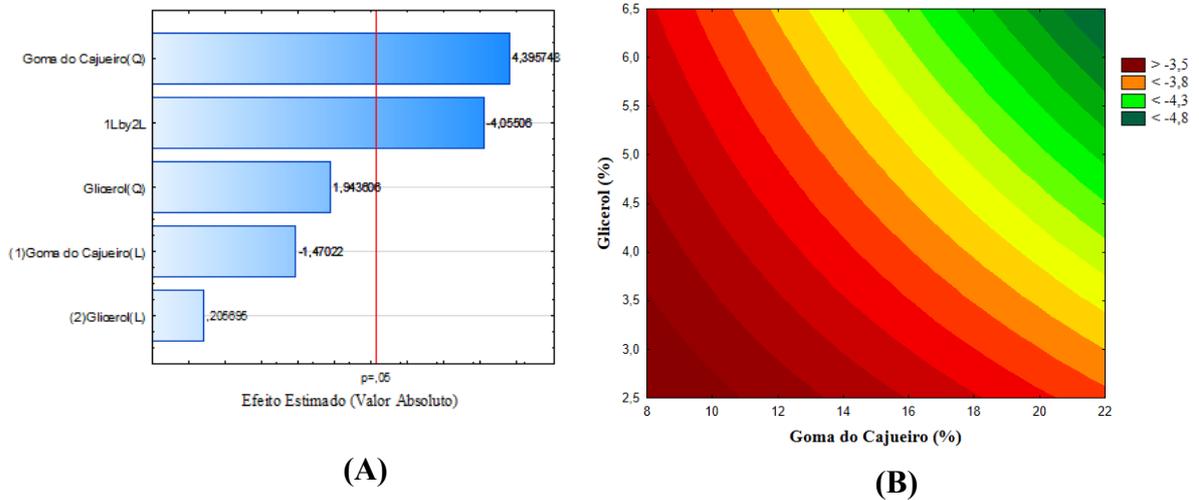
Os resultados para o potencial zeta variaram de -1,45 a -5,17 mV (Tabela 12), expressivamente inferiores ao valor considerado estável (25mV), sendo portanto, classificados como instáveis e, com tendência a aglomeração. Os tratamentos que apresentaram valores maiores de potencial zeta, foram o T1 e T9.

De acordo com Zambrano-Zaragoza *et al.* (2013), soluções com valores de 30 mV em

módulo, são mais adequadas para serem usadas como revestimentos.

Apesar dos valores obtidos não estarem próximos aos considerados ideais para revestimentos, verificou-se que o aumento do teor de goma de cajueiro influenciou positivamente para um maior valor de potencial zeta (Figura 14).

Figura 14 - Diagrama de Pareto (A) e superfície de resposta (B) do potencial zeta sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol.



A variação de glicerol nas amostras, isoladamente não apresentou relação com o potencial zeta. Porém, o coeficiente quadrático associado a variável goma do cajueiro e a interação linear entre as variáveis goma do cajueiro e glicerol para a resposta de potencial zeta foi significativo ($p \leq 0,05$) para o modelo.

O modelo resultante para o potencial zeta corresponde a seguinte equação: potencial zeta = $-4,55225 + 1,99745 \times [\text{goma do cajueiro}]^2 - 2,51667 [\text{glicerol}] \times [\text{goma do cajueiro}]$. O coeficiente de determinação foi 0,75 ($R^2 = 0,75$).

5.2.4 Ângulo de contato

O ângulo de contato foi medido de duas formas: primeiro gotejando água deionizada na barra de açaí revestida, no qual se obteve a molhabilidade e, gotejando a solução do revestimento na barra de açaí, obtendo a espalhabilidade.

5.2.4.1 Molhabilidade

Os valores do ângulo de contato relacionados à molhabilidade dos 11 tratamentos estudados variaram de 25,0 a 47,40° (Tabela 13 e Figura 15). Segundo Lazghab *et al.* (2005), baixos ângulos de contato indicam que o líquido se espalhou bem no sólido, enquanto que altos ângulos de contato indicam que o espalhamento não foi acentuado. No caso desse teste conduzido com água, é possível classificar o sólido em hidrofílico para ângulo de contato menor que 90°, ou hidrofóbico, para ângulos de contato maiores que 90°. A hidrofobicidade ou super-hidrofobicidade, por exemplo, é recomendada quando a integridade de um material deve se manter mesmo em contato com o fluido em questão, como é o caso dos revestimentos.

Tabela 13 - Molhabilidade dos tratamentos com diferentes concentrações de goma do cajueiro (%) e glicerol (%) com concentração de goma gelana fixa (0,3%).

Tratamento	Concentração de goma do cajueiro (%)	Concentração de glicerol (%)	Molhabilidade
1	11,50	3,45	35,57 ^{ab}
2	11,50	5,55	41,60 ^a
3	18,50	3,45	36,03 ^{ab}
4	18,50	3,45	42,37 ^a
5	10,05	4,50	44,03 ^a
6	19,95	4,50	47,40 ^a
7	15,00	3,00	40,97 ^a
8	15,00	6,00	36,90 ^a
9	15,00	4,50	25,00 ^b
10	15,00	4,50	26,73 ^b
11	15,00	4,50	25,00 ^b

Concentração de goma gelana fixa (0,3%). Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância para o teste de Tukey.

Os revestimentos elaborados apresentaram ângulo de contato referente à molhabilidade inferior à 90°, portanto, estando associados a um caráter mais hidrofílico. Os tratamentos menos hidrofílicos foram T1 a T8, variando de 35,57 a 47,70, sem diferença significativa ($p < 0,05$).

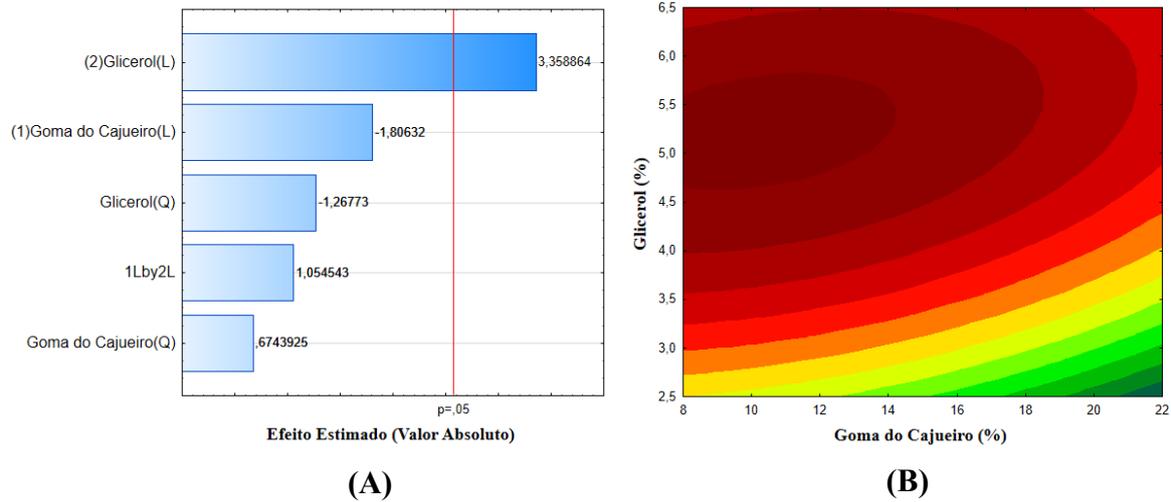
Figura 15 - Ângulo de contato referente à molhabilidade de revestimentos de gomas do cajueiro e gelana.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

Somente o coeficiente linear associado a variável goma do cajueiro para a resposta de molhabilidade foi significativo ($p \leq 0,05$) para o modelo, conforme Figura 16.

Figura 16 - Diagrama de Pareto (A) e Superfície de resposta (B) para a molhabilidade sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol.



O modelo resultante para a molhabilidade corresponde a seguinte equação: molhabilidade = $18,15082 + 3,60357 \times [\text{glicerol}]$. O coeficiente de determinação foi 0,78 ($R^2 = 0,78$).

5.2.4.2 Espalhamento

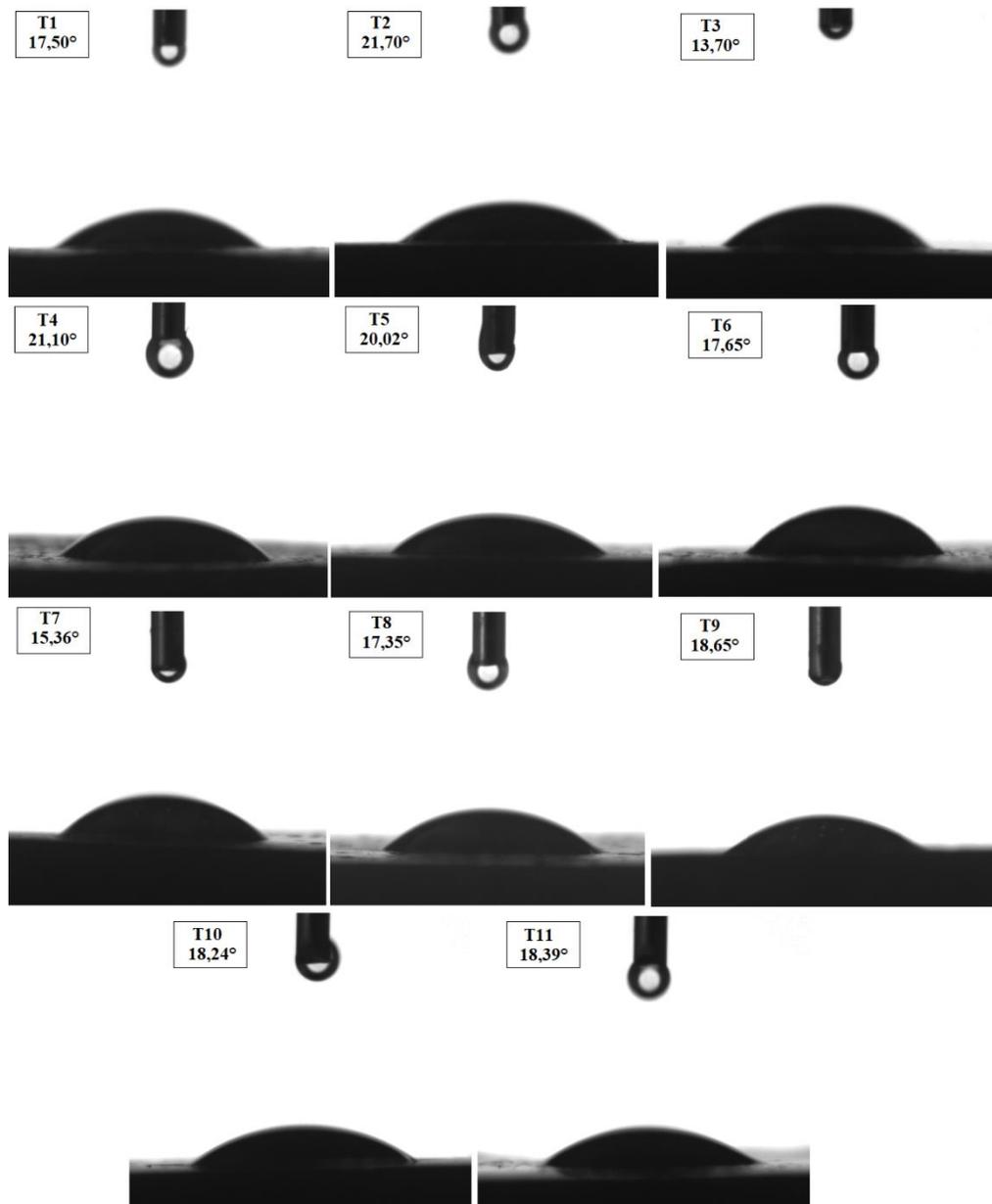
Os valores do ângulo de contato relacionados ao espalhamento dos 11 tratamentos elaborados variaram de $13,70$ a $20,02^\circ$ (Tabela 14 e Figura 17). Quanto menor o ângulo formado, maior é a capacidade do revestimento se espalhar na superfície. Portanto, mais promissora é a formulação. Os menores ângulos foram obtidos nos tratamentos 1, 6, 7 e 8.

Tabela 14 - Espalhamento dos tratamentos com diferentes concentrações de goma do cajueiro (%) e glicerol (%) com concentração de goma gelana fixa (0,3%).

Tratamento	Concentração de goma do cajueiro (%)	Concentração de glicerol (%)	Espalhamento
1	11,50	3,45	17,50 ^{bc}
2	11,50	5,55	21,70 ^a
3	18,50	3,45	13,70 ^d
4	18,50	3,45	21,10 ^a
5	10,05	4,50	20,02 ^{ab}
6	19,95	4,50	17,65 ^{bc}
7	15,00	3,00	15,36 ^{cd}
8	15,00	6,00	17,35 ^{bc}
9	15,00	4,50	18,65 ^b
10	15,00	4,50	18,24 ^b
11	15,00	4,50	18,39 ^b

Concentração de goma gelana fixa (0,3%). Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância para o teste de Tukey.

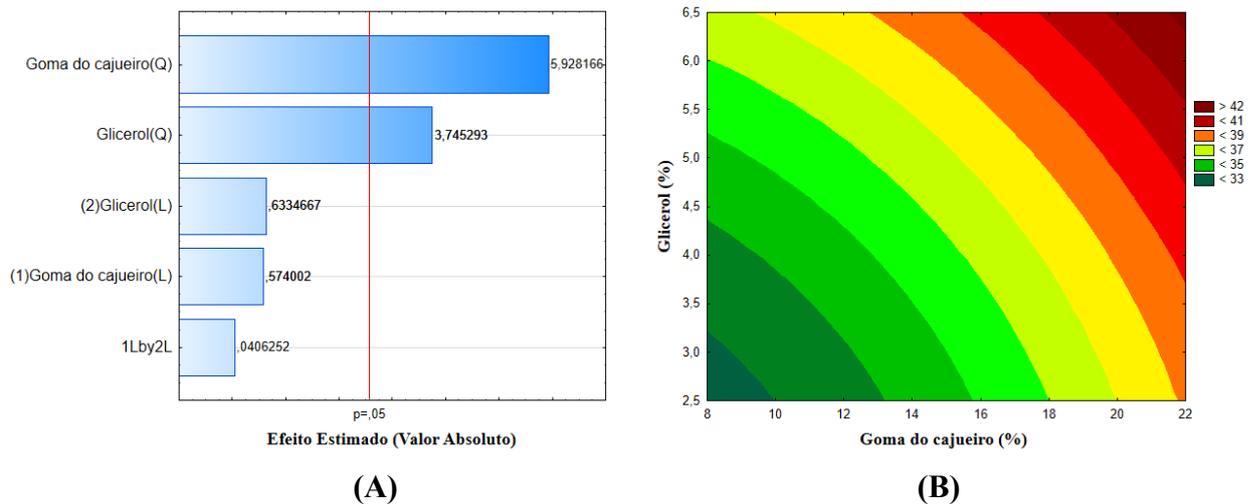
Figura 17 - Ângulo de contato referente ao espalhamento de revestimentos de gomas do cajueiro e gelana.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

Os coeficientes quadráticos associados as variáveis goma do cajueiro e glicerol para a resposta de espalhamento foram significativos ($p \leq 0,05$) para o modelo (Figura 17).

Figura 18 – Gráfico de Pareto (A) e Superfície de resposta (B) sobre a influência da concentração de goma do cajueiro e de glicerol no espalhamento.



O modelo resultante para o espalhamento corresponde a seguinte equação: $\text{espalhamento} = 25,57807 + 18,42193 \times [\text{goma do cajueiro}]^2 + 11,63860 \times [\text{glicerol}]^2$. O coeficiente de determinação foi 0,87 ($R^2 = 0,87$).

5.2.5 Escolha da formulação mais promissora

A molhabilidade e o espalhamento são os parâmetros de maior influência para a eficiência do revestimento de gomas de cajueiro e gelana. Em relação à molhabilidade, é ideal que o revestimento apresente um caráter mais hidrofóbico e dessa forma, quanto maior o ângulo de contato maior a hidrofobicidade. Logo, os ângulos de contato foram observados nos tratamentos de 1 a 8, não apresentando diferença estatística entre si ($p < 0,05$). Em relação ao espalhamento, quanto menor o ângulo de contato maior é o espalhamento e, portanto, mais eficiente o revestimento. Os tratamentos 3 e 7 apresentaram os menores ângulos e não diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Os tratamentos 1, 6 e 8 não diferiram estatisticamente entre si e com o tratamento 7.

Diante da análise, a formulação referente ao tratamento 1 foi indicada como a mais promissora para utilizar em alimentos, tendo em vista que enquadrou-se na zona de maior ângulo de contato para a molhabilidade e menor ângulo de contato para o espalhamento, sendo necessário menores quantidades de goma do cajueiro (11,50%) e glicerol (3,45%), proporcionando menores custos ao revestimento. Além disso, obteve um maior potencial zeta, demonstrando uma melhor estabilidade da dispersão.

5.3 3ª etapa – revestimento comestível à base de goma do cajueiro e gelana incorporado de extrato de folha de melhor atividade antimicrobiana para avaliar a estabilidade de barra de açaí

5.3.1 Análises físico-químicas e químicas

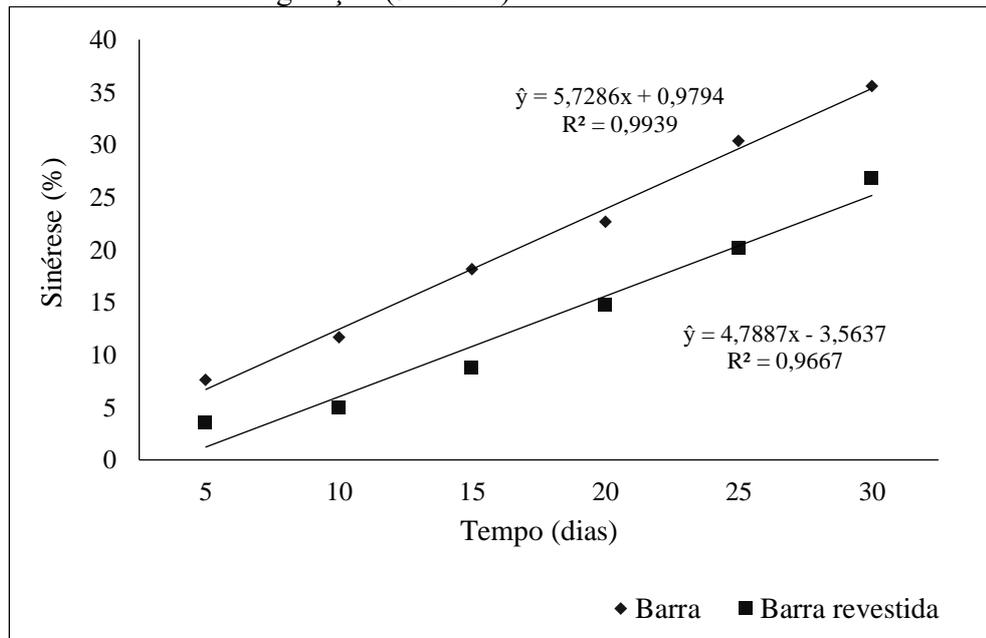
Analisando as características químicas e físico-químicas através do teste de variância foram observadas interações significativas ($p \leq 0,05$) entre as formulações de barras de açaí não revestidas e revestidas e, o tempo de armazenamento (0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias) para as análises de susceptibilidade à sinérese, compostos fenólicos totais e parâmetro de cor a^* . Portanto, para estes parâmetros realizou-se a análise de regressão para cada tratamento separadamente.

Por outro lado, as análises de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, parâmetros de cor L^* e b^* , antocianinas totais e atividade antioxidante pelo método do ABTS, não foram verificadas interações significativas ($p > 0,05$) entre as formulações de barra de açaí e tempo de armazenamento, dessa forma, foram realizadas as diferenças entre as formulações pelo teste de médias (Tukey) e avaliação do comportamento dos parâmetros com o tempo de armazenamento por análise de regressão.

5.3.1.1 Análise de susceptibilidade a sinérese (Perda de peso)

Para a análise de susceptibilidade a sinérese houve interação estatística das formulações com o tempo de armazenamento. Podemos observar que as formulações com e sem revestimento apresentaram perda de peso durante os 30 dias de armazenamento, entretanto, as amostras não revestidas (controle) mostraram maior tendência a sinérese (FIGURA 19). Assim, podemos sugerir que o revestimento desenvolvido com as gomas de cajueiro e gelana proporcionou maior capacidade de reter o líquido das amostras de barra de açaí. Portanto, a formulação da barra de açaí revestida tem tendência a menor desidratação que a formulação controle, sem a presença do revestimento.

Figura 19 - Perda de peso das barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob refrigeração ($5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

Os autores Forato *et al.* (2015) avaliaram o efeito do revestimento com goma de cajueiro em goiabas cortadas e frescas, e concluíram que as formulações revestidas apresentaram menor perda de peso em comparação as não revestidas, que apresentaram degradação mais rápida. Segundo os mesmos autores, o uso do revestimento propicia uma maior conservação do produto, inibindo a perda de peso.

5.3.1.2 pH

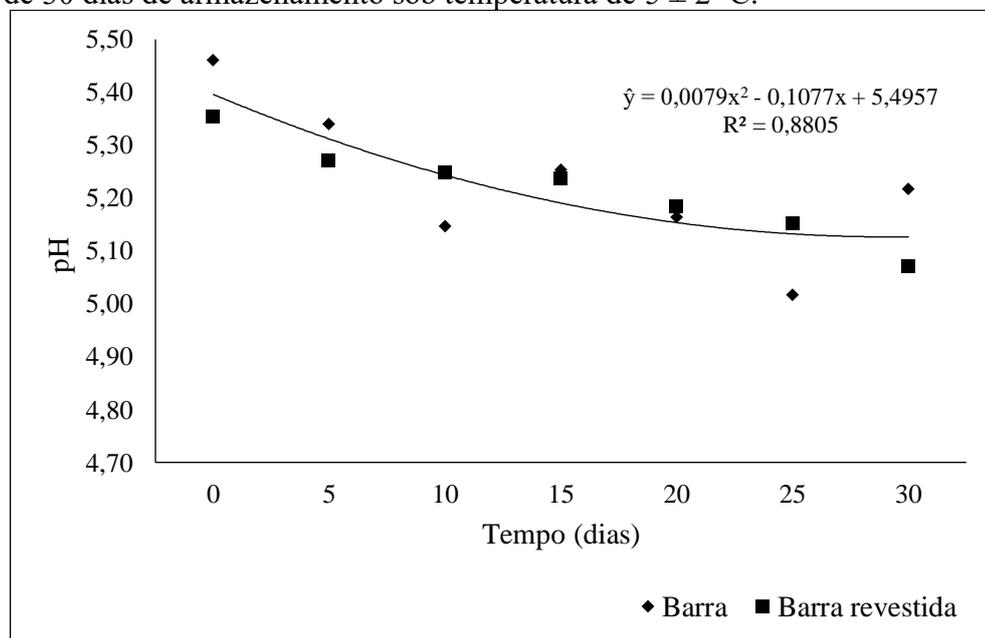
Os valores médios de pH foram iguais estatisticamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) (TABELA 15), sendo possível um ajuste ao modelo quadrático (FIGURA 20). Porém, durante o tempo de armazenamento ocorreu uma redução dos valores de pH até o 25º dia de estocagem, variando de 5,41 a 5,14. O processo de estruturação com hidrocolóides pode favorecer a produtos com pH mais elevado, visto que em polpa *in natura* de açaí os valores são menores, fato observado pelos autores Tibério de Jesus, Leite e Cristianini (2018) ao analisarem polpa de açaí *in natura* e, encontraram valores de pH de 4,78.

Tabela 15 – Valores de pH das barras de açaí revestidas e não revestidas conforme tempo de armazenamento.

Tempo (dias)	Barra de açaí	Barra de açaí revestida
0	5,46	5,35
5	5,34	5,27
10	5,15	5,25
15	5,25	5,24
20	5,16	5,18
25	5,02	5,15
30	5,22	5,07
Média	5,23 ^a	5,22 ^a

Médias seguidas de uma letra igual na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 20 - Média dos valores de pH das barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

Durante o experimento, observou-se que a partir do 20º dia ambas as barras começaram a apresentar deterioração com notável presença de fungos e bactérias. A presença desses microorganismos pode estar associada a produção de ácidos e conseqüentemente redução do pH, justificando o decréscimo desse parâmetro, sendo semelhante em ambas formulações.

Nos estudos de Silva (2013) com mamões minimamente processados revestidos com matriz de goma do cajueiro e carboximetilcelulose incorporado de um composto ativo do

óleo essencial da canela, também foram observadas redução do pH durante o armazenamento por 15 dias sob refrigeração a 8 °C. Segundo o autor a redução foi mais evidente nas amostras com revestimento.

5.3.1.3 Sólidos Solúveis Totais (°Brix)

Os resultados médios de sólidos solúveis totais (SST) apresentaram diferença estatística pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) entre as barras de açaí revestidas e não revestidas. Conforme a Tabela 16, a amostra de barra de açaí revestida apresentou maiores valores de SST (14,71). Assim, podemos inferir que a presença das gomas no revestimento possivelmente influenciou no aumento dos resultados dessa variável. Por outro lado, não foi observada interação significativa ($p > 0,05$) entre as barras e o tempo de armazenamento.

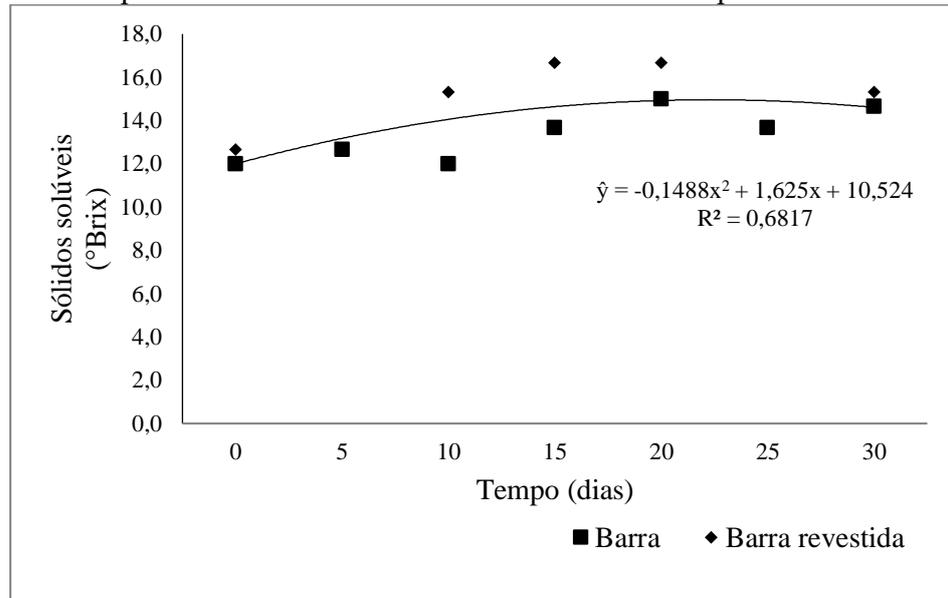
Tabela 16 – Valores de sólidos solúveis totais (SST), em °Brix, das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.

Tempo (dias)	Barra de açaí	Barra de açaí revestida
0	12,0	12,7
5	12,7	12,7
10	12,0	15,3
15	13,7	16,7
20	15,0	16,7
25	13,7	13,7
30	14,7	15,3
Média	13,4 ^b	14,7 ^a

Médias seguidas de uma letra igual na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

A análise de regressão dos SST mostrou variação com o tempo de armazenamento, sendo possível um ajuste ao modelo quadrático (FIGURA 21). Foi observado que os valores de SST aumentaram até o último dia de armazenamento (30º dia). Esse aumento pode ter ocorrido devido a degradação de polissacarídeos em açúcares simples pelos microrganismos contaminantes.

Figura 21 - Média dos valores de sólidos solúveis totais (SST) das barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

5.3.1.4 Acidez Total Titulável (ATT)

Para os resultados da acidez total titulável (ATT) houve diferença significativa pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) entre as formulações de barras de açaí analisadas (TABELA 17), nos quais as amostras com revestimento apresentaram maiores valores.

Tabela 17 – Valores de acidez total titulável em % de ácido cítrico das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.

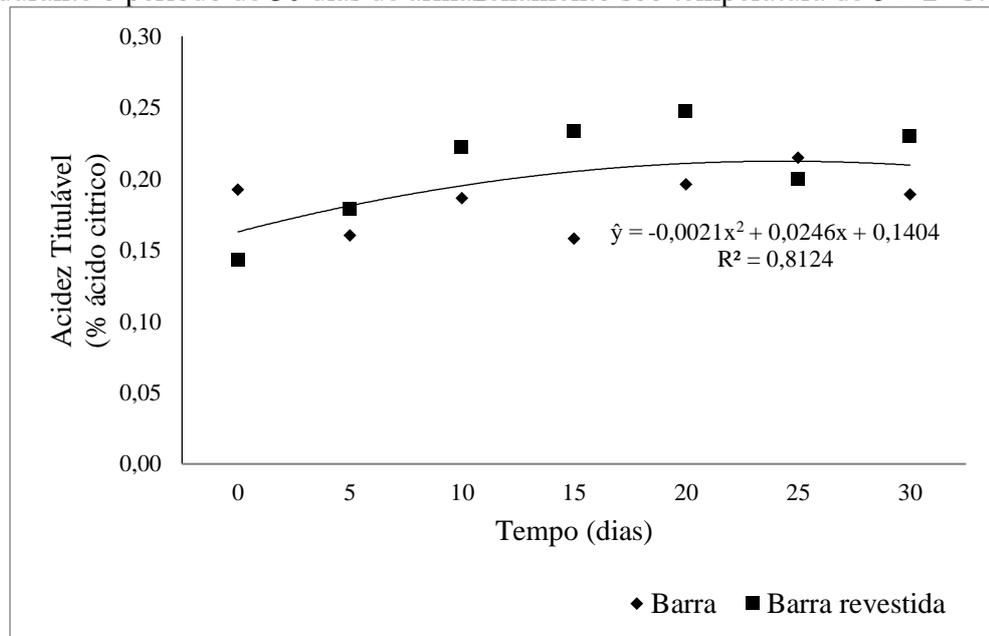
Tempo (dias)	Barra de açaí	Barra de açaí revestida
0	0,19	0,14
5	0,16	0,18
10	0,19	0,22
15	0,16	0,23
20	0,20	0,25
25	0,22	0,20
30	0,19	0,23
Média	0,18 ^b	0,21 ^a

Médias seguidas de uma letra igual na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

A análise de regressão identificou variação com o tempo de armazenamento, na qual houve um pequeno aumento da acidez com pequenas oscilações até o último dia de estocagem, variando de 0,17 a 0,21 g de ácido cítrico/100g de barra de açaí. Possivelmente, o aumento da acidez está relacionado com a redução do pH e o processo degradativo das amostras de barra de açaí que visualmente apresentaram crescimento de fungos.

A análise de regressão da acidez titulável mostrou variação com o tempo de armazenamento, sendo possível um ajuste ao modelo quadrático, com aumento nos seus valores (FIGURA 22).

Figura 22 - Média dos valores de acidez total titulável das barras de açaí revestidos e não revestidos durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

5.3.1.5 Cor

O parâmetro de cor L^* varia de 0 (preto) a 100 (branco), e é um indicador de escurecimento, no qual expressa a luminosidade ou claridade da amostra, sendo observado que o seu valor é inversamente proporcional à sua coloração, ou seja, quanto mais escuro o produto, mais baixo será o valor encontrado para L^* . Portanto, as amostras que possuem brilho superficial elevado (quão clara é a amostra) apresentam valor próximo a 100.

A luminosidade (L^*) não apresentou diferença estatística entre as amostras e o tempo ($p > 0,05$) (TABELA 18) pelo teste de Tukey. Portanto, não houve relação da presença de revestimento com o aumento do brilho das amostras. Foi observado que as amostras

apresentaram valores médios na faixa entre 8,52 a 10,76, conseqüentemente com tendência a serem mais opacas.

Tabela 18 – Valores da coordenada L* das barras de açaí revestidas e não revestidas conforme tempo de armazenamento.

Tempo (dias)	Barra de açaí	Barra de açaí revestida
0	10,50	9,99
5	8,52	9,75
10	9,22	9,63
15	8,55	10,17
20	8,91	9,66
25	9,40	9,22
30	9,35	10,76
Média	9,21 ^a	9,89 ^a

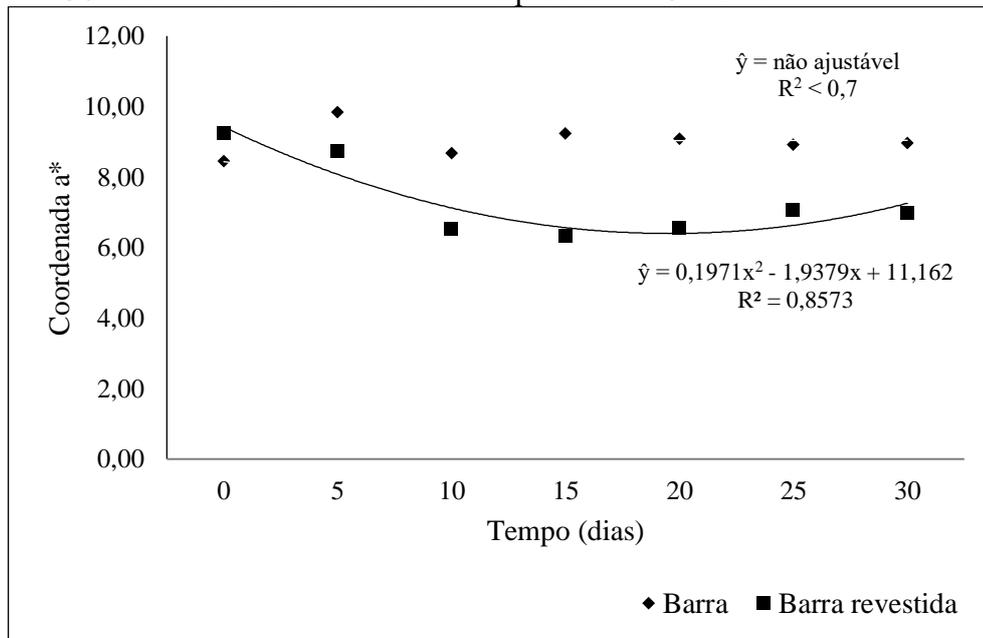
Médias seguidas de uma letra igual na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Estatisticamente, para a coordenada a* foram constatadas interações significativas ($p \leq 0,05$) entre as formulações das barras e o tempo de armazenamento. As amostras com e sem revestimento apresentaram valores característicos de cor vermelho escuro-esverdeado.

De acordo com a Figura 23, houve redução dos valores de cromaticidade para as amostras revestidas durante os 30 dias de armazenamento, reduzindo de 9,25 a 6,99. Em contrapartida, as amostras não revestidas mantiveram valores estáveis com pequeno aumento, variando de 8,45 a 8,97.

A análise estatística dos valores obtidos para a coordenada a* em função do tempo de armazenamento apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$), ajustando-se a um modelo quadrático para a formulação de barra de açaí revestida, enquanto que para a formulação sem revestimento não foi possível ajustar os dados a nenhum modelo.

Figura 23 - Valores de cromaticidade (a*) das barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

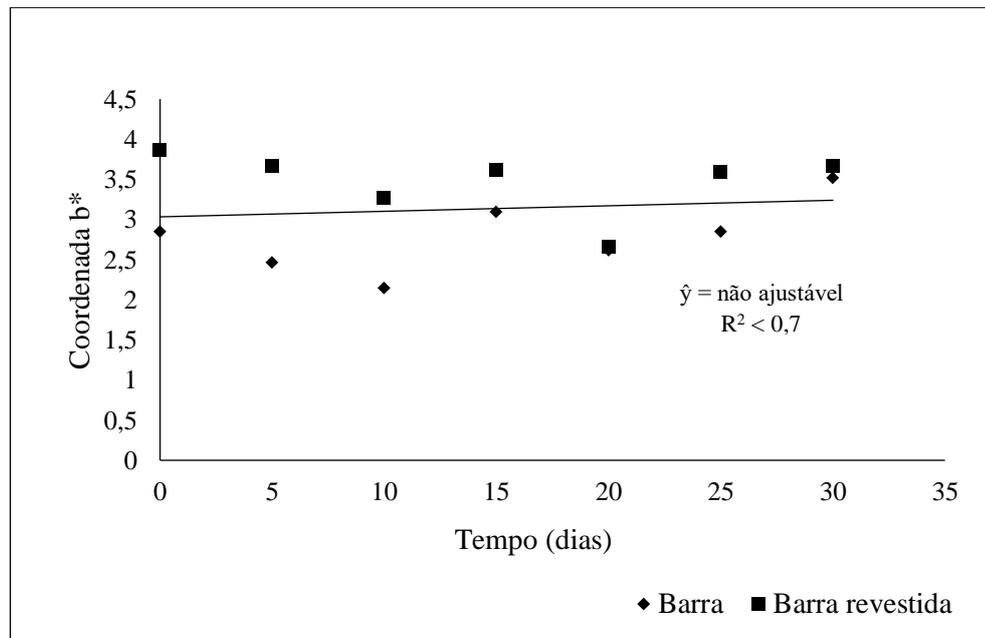
Valores de b* mais positivos expressam maior intensidade de amarelo e mais negativos, maior intensidade de azul. Esta variável apresentou diferença estatística pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) entre as formulações de barras de açaí analisadas (TABELA 19). Porém, não foi observada essa variação com o tempo de armazenamento para o valor b*, sendo este representado pelo valor médio do tempo, no entanto, na análise de regressão não foi possível ajustar a nenhum modelo testado (FIGURA 24).

Tabela 19 – Valores da coordenada b* das barras de açaí revestidas e não revestidas conforme tempo de armazenamento.

Tempo (dias)	Barra de açaí	Barra de açaí revestida
0	2,85	3,86
5	2,47	3,67
10	2,15	3,27
15	3,10	3,62
20	2,62	2,66
25	2,85	3,59
30	3,52	3,67
Média	2,79 ^a	3,47 ^a

Médias seguidas de uma letra igual na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 24 - Valores de b^* das barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.



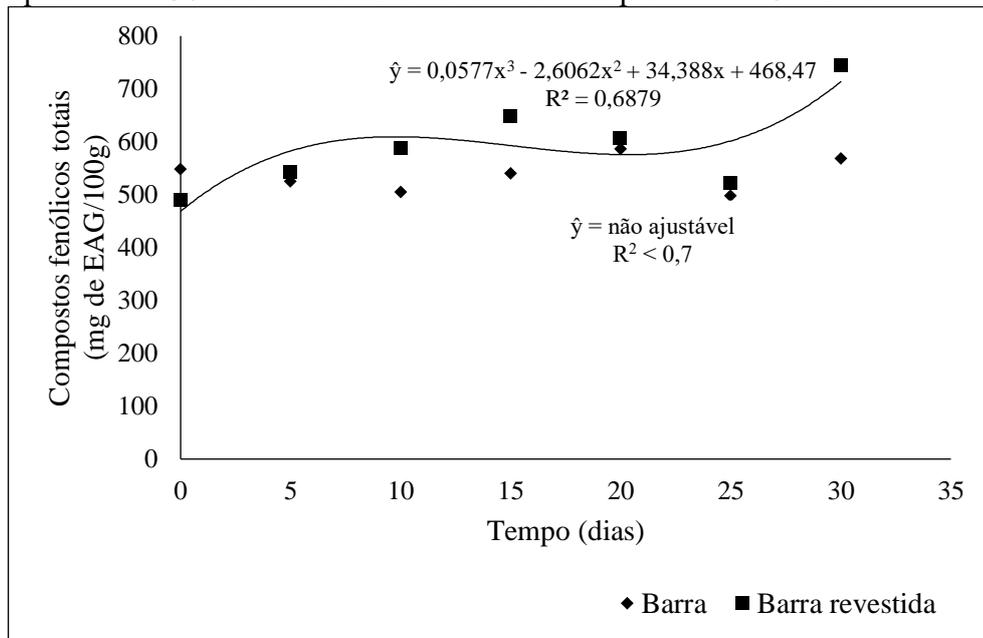
Fonte: Elaborada pela autora (2019).

5.3.1.6 Compostos fenólicos totais

De acordo com a análise de regressão observou-se que o conteúdo de compostos fenólicos totais variou com o tempo de armazenamento nas formulações com revestimento e sem revestimento de maneira semelhante, demonstrando discrepância apenas no início e término do tempo de armazenamento (FIGURA 25).

A análise estatística dos valores de compostos fenólicos totais em função do tempo de armazenamento apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$), ajustando-se a um modelo terciário para a formulação de barra de açaí revestida, enquanto que para a formulação sem revestimento não foi possível ajustar os dados a nenhum modelo.

Figura 25 - Valores de compostos fenólicos totais de barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

As barras sem revestimento mantiveram valores estáveis durante a estocagem sendo constatado valores na faixa de 548,55 a 569,10 mg EAG/100g. As amostras com revestimento apresentaram aumento dos valores no fim da estocagem, 489,12 a 744,82 mg EAG/100g.

5.3.1.7 Atividade Antioxidante Total

As médias da atividade antioxidante total das barras revestidas e não revestidas apresentaram diferença estatística pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) (TABELA 20). As amostras revestidas apresentaram, maiores teores, porém não foi observada interação significativa entre os tratamentos e o tempo de armazenamento, sendo representado pelo valor médio do tempo (FIGURA 26). Os valores se ajustaram ao modelo linear.

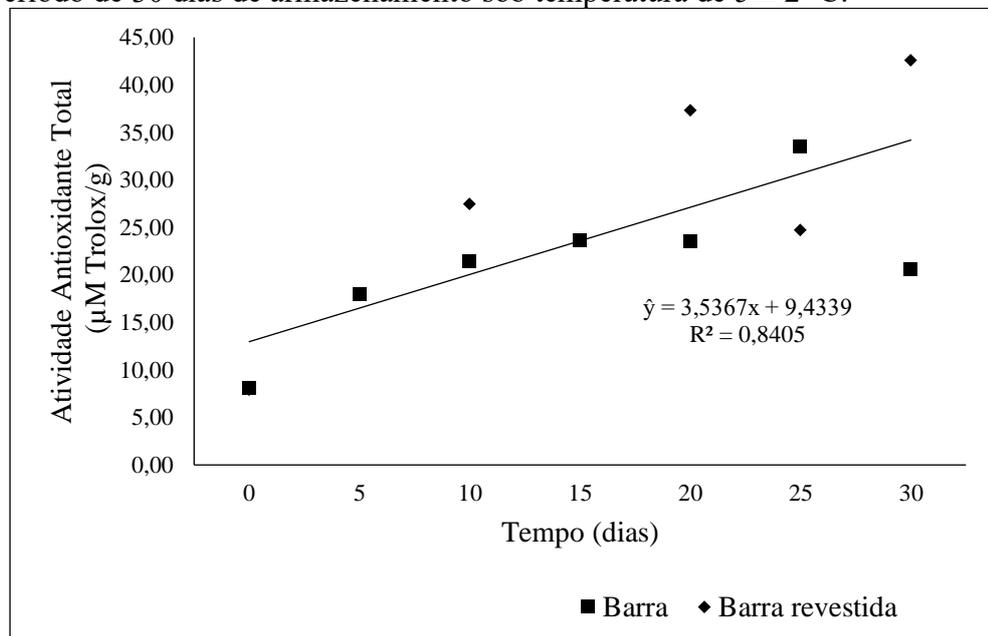
De forma geral, ocorreu aumento na atividade antioxidante total durante todo o armazenamento, com alguns valores discrepantes nos tempos T30 para a barra não revestida e T15 e T25 para as barras revestidas. O aumento mais expressivo desse parâmetro na barra revestida pode ser justificado pelo mesmo motivo do aumento do teor de compostos fenólicos totais, visto que as substâncias fenólicas são responsáveis pela atividade antioxidante.

Tabela 20 – Valores da atividade antioxidante total em μM de Trolox/g das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.

Tempo (dias)	Barra de açaí	Barra de açaí revestida
0	8,04	7,92
5	17,92	17,95
10	21,37	27,47
15	23,62	23,69
20	23,54	37,30
25	33,52	24,69
30	20,52	42,56
Média	21,22 ^b	25,94 ^a

Médias seguidas de uma letra igual na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Figura 26 - Valores de atividade antioxidante total de barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

5.3.1.8 Antocianinas totais

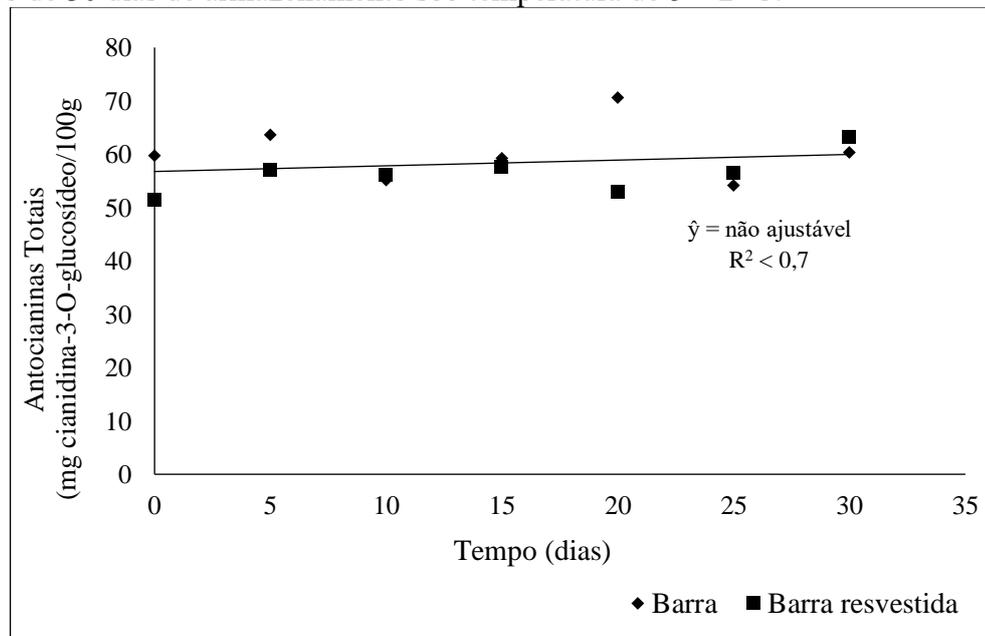
Para os resultados das antocianinas totais houve diferença significativa pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) entre as formulações de barras de açaí analisadas (TABELA 21), nos quais as amostras sem revestimento apresentaram maiores valores.

Tabela 21 – Valores de antocianinas totais em mg de equivalente cianidina-3-O-glucosídeo/100g das barras de açaí revestidas ou não conforme tempo de armazenamento.

Tempo (dias)	Barra de açaí	Barra de açaí revestida
0	59,70	51,33
5	63,62	56,86
10	55,08	56,07
15	59,21	57,55
20	70,61	52,94
25	54,14	56,45
30	60,34	63,12
Média	60,44 ^a	56,27 ^b

Estatisticamente, os valores obtidos para a variação do teor de antocianinas totais apresentaram diferença significativa durante todo o tempo de armazenamento ($P \leq 0,05$), porém, não foi possível ajustar os dados em nenhum modelo (FIGURA 27).

Figura 27 - Valores de antocianinas totais de barras de açaí revestidas e não revestidas durante o período de 30 dias de armazenamento sob temperatura de 5 ± 2 °C.



Fonte: Elaborada pela autora (2019).

5.3.2 Análises microbiológicas

5.3.2.1 Presença ou ausência de *E. coli*, *Salmonella sp.* e *Listeria sp.* nas barras de açaí

As boas práticas de produção aplicadas foram satisfatórias, não tendo sido detectado a presença de *E. coli*, *Salmonella sp.* e *Listeria sp.*, em 25g das barras de açaí com e sem revestimento, conforme Tabela 22.

Tabela 22 - Resultado do teste de ausência ou presença de *E. coli*, *Salmonella sp.* e *Listeria sp.* nas barras de açaí revestidas e não revestidas.

Tratamento	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Listeria sp.</i>
Barra	Ausência	Ausência em 25g	Ausência em 25g
Barra revestida	Ausência	Ausência em 25g	Ausência em 25g

Fonte: Elaborada pela autora (2019).

5.3.2.2 Contagens de bactérias aeróbias mesófilas, psicrófilas, bolores e leveduras

Os resultados das contagens de bactérias mesófilas, psicrófilas e bolores e leveduras das barras de açaí com e sem revestimento estão apresentados na Tabela 23.

Tabela 23 - Efeito do revestimento de gomas de cajueiro e gelana incorporado de extrato de marmeleiro preto sob o crescimento das bactérias mesófilas e psicrófilas, bolores e leveduras em barra de açaí armazenada a 5°C durante 30 dias.

Tempo de armazenamento	UFC/g Bactérias mesófilas		UFC/g Bactérias psicrófilas		UFC/g Bolores e leveduras	
	Barra	Barra revestida	Barra	Barra revestida	Barra	Barra revestida
	0	1,1x10 ²	1,1x10 ²	1,0x10 ²	1,1x10 ²	1,0x10 ²
5	1,3x10 ²	3,5x10 ²	1,2x10 ²	1,5x10 ²	1,1x10 ²	1,2x10 ²
10	1,6x10 ²	4,7x10 ³	1,4x10 ²	2,5x10 ²	1,3x10 ²	2,0x10 ²
15	1,7x10 ²	1,3x10 ⁴	1,7x10 ²	4,0x10 ³	1,6x10 ²	4,0x10 ²
20	1,9x10 ²	1,2x10 ⁵	2,0x10 ²	3,2x10 ⁴	1,9x10 ²	5,0x10 ²
25	2,3x10 ²	8,8x10 ⁶	1,7x10 ⁴	6,5x10 ⁵	2,0x10 ²	1,5x10 ⁵
30	3,2x10 ⁵	2,9x10 ⁸	3,2x10 ⁷	2,0x10 ⁸	9,5x10 ³	2,7x10 ⁵

Analisando todos os micro-organismos quantificados é possível observar um aumento no número de unidades formadoras de colônias com o tempo de armazenamento, sendo esse aumento mais expressivo nas barras revestidas. Logo, a presença do revestimento não inibiu o crescimento de bactérias mesófilas, psicrófilas e bolores e leveduras causando aumento da vida útil das barras de açaí, pelo contrário, foi observado um acentuado crescimento. Segundo Khairallah *et al.* (2018) alguns microrganismos convertem os polifenóis alimentares em metabólitos ativos e biodisponíveis, sendo, portanto, utilizados por eles como nutriente. Diante disso, os compostos fenólicos presentes no extrato de marmeleiro preto incorporado ao revestimento, podem ter sido utilizados pelos micro-organismos, favorecendo o seu crescimento.

Segundo Tomás-Barberán, Selma e Espín (2016), taninos condensados e hidrolisáveis, que podem estar presentes no extrato de marmeleiro preto, podem promover o crescimento de lactobacilos e bifidobactérias. Esse efeito prebiótico foi comprovado em diferentes modelos *in vitro* e estudos pré-clínicos e clínicos com alimentos ricos em polifenóis, como cacau, uva, romã, nozes e chás.

Além disso, os próprios polissacarídeos utilizados para elaboração do revestimento, podem ter sido utilizados como fonte de energia pelos microrganismos.

5.3.3 *Teste de Bioacessibilidade in vitro (Digestão gastrointestinal simulada in vitro) de barras de açaí revestidas ou não*

Os valores médios encontrados para os compostos fenólicos e a atividade antioxidante total antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro* para as barras de açaí com e sem revestimento estão apresentados nas Tabelas 24 e 25, respectivamente.

Tabela 24 - Valores das médias para os teores de compostos fenólicos totais para as barras de açaí revestidas e não revestidas antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Fenólicos totais (mg EAG 100g⁻¹)	Barra de açaí não revestida	Barra de açaí revestida
Antes da DGS <i>in vitro</i>	642,03 ^{aA} ± 6,53	662,26 ^{aA} ± 18,57
Após da DGS <i>in vitro</i>	202,96 ^{bB} ± 15,24	197,37 ^{bB} ± 8,49
Bioacessibilidade (%)	31,61%	29,80%

Letras maiúsculas na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5 % de probabilidade ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5 % de probabilidade ($p \leq 0,05$). EAG: Equivalente de Ácido gálico. DGS: Digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Tabela 25 - Valores das médias da atividade antioxidante total para as barras de açaí revestidas e não revestidas antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Atividade antioxidante total (em $\mu\text{M Trolox g}^{-1}$)	Barra de açaí não revestida	Barra de açaí revestida
Antes da DGS <i>in vitro</i>	36,58 ^{aa} \pm 2,06	39,67 ^{aa} \pm 1,98
Após a DGS <i>in vitro</i>	8,31 ^{bb} \pm 0,17	9,21 ^{bb} \pm 0,54
Bioacessibilidade (%)	22,72%	23,22%

Letras maiúsculas na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5 % de probabilidade ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5 % de probabilidade ($p \leq 0,05$). DGS: Digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

O teor de compostos fenólicos totais das barras de açaí sem e com revestimento não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Mesmo comportamento foi observado para atividade antioxidante total. Os teores constatados antes e após a digestão gastrointestinal *in vitro* apresentaram diferença estatística entre si, com redução no teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante total para ambas barras de açaí.

Deve-se considerar que, estruturas polifenólicas que apresentam elevada atividade antioxidante *in vitro*, não necessariamente terão esta mesma atividade após a ação das enzimas gastrointestinais durante a digestão (LIMA *et al.*, 2014). O que pode ser constatado comparando os valores antes e após a digestão simulada de 31,61% e 29,80% para as barras sem e com revestimento, respectivamente.

Segundo Bouayed, Hoffmann e Bohn (2011) a diminuição nos teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante após a digestão gastrointestinal *in vitro*, se deve ao fato de que alguns polifenóis estarem ligados a compostos macromoleculares que são não dialisáveis, ou ainda que possam formar complexos minerais, diminuindo ainda mais sua solubilidade.

Em estudo avaliando a bioacessibilidade de compostos fenólicos totais em barra de goiaba foi encontrado percentual bioacessível de cerca de 30% (COSTA, 2018), valor semelhante ao encontrado no presente estudo.

A composição da matriz do alimento e a proporção das formas ligadas e livres dos compostos fenólicos são importantes fatores que devem ser considerados para compreender a baixa recuperação destes compostos na digestão gastrointestinal em comparação com o seu conteúdo em extratos hidroalcolóico (MOSELE *et al.*, 2016). No estômago, os polifenóis são expostos a fortes condições ácidas e a presença de pH baixo (em torno de 2,0) também pode influenciar a sua estabilidade (TOMAS *et al.*, 2017).

Em estudo sobre a polpa de açaí na prevenção de danos oxidativos utilizando a atividade de enzimas e biomarcadores de oxidação proteica em mulheres, os autores sugerem em seus resultados que a ingestão de açaí na dieta modula a capacidade antioxidante/pró-oxidante em mulheres saudáveis. Os efeitos antioxidantes do açaí podem resultar da neutralização de radicais livres, impedindo o seu ataque a outras moléculas, e / ou a partir da modulação de enzimas envolvidas no stresse oxidativo (BARBOSA *et al.*, 2016).

Estudando a bioacessibilidade da atividade antioxidante total de barra de goiaba, Costa (2018) relatou porcentagem bioacessível de 28,61% de atividade antioxidante total pelo método do ABTS, neste trabalho observamos valores da faixa de 22,72 e 23,22% para barras sem e com revestimento, respectivamente.

Segundo Dantas *et al.* (2019) a atividade antioxidante pode ser alterada durante os estágios gástrico e intestinal da digestão simulada, pois as amostras alimentícias são expostas a variação de pH, como condições de pH ácido e alcalino.

O processo de digestão afeta a capacidade antioxidante devido à diminuição do teor de compostos fenólicos e/ou a transformação destes em diferentes formas estruturais com outras propriedades químicas (SCHULZ *et al.*, 2017).

6 CONCLUSÃO

O uso de etanol 70% mostrou-se mais eficaz para expressão de maiores quantidades de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Os extratos orgânicos mostraram atividade antimicrobiana diante de *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. enteritidis* e *E. coli*. para os extratos de *J. pectoralis* Jacq., o aquoso foi mais eficiente e para os extratos de *C. jacobinensis* Baill o elaborado com 70% de etanol.

Os revestimentos comestíveis de gomas do cajueiro e gelana apresentaram comportamento não-newtoniano, onde os dados foram ajustados ao modelo de Casson. Quanto à cor, não foi observado grandes variações, apresentando luminosidade intermediária, menor tendência de apresentar coloração vermelha e tendência para o azul. Quanto ao potencial zeta, as formulações mostraram um caráter instável. A medida do ângulo de contato demonstrou que os revestimentos apresentaram caráter hidrofílico.

A formulação contendo 11,50% de goma do cajueiro e 3,45% de glicerol foi a mais promissora por se enquadrar na zona de maior ângulo de contato para a molhabilidade e menor ângulo de contato para o espalhamento, sendo necessário menores quantidades de goma do cajueiro e glicerol, proporcionando menores custos à embalagem. Além disso, obteve maior potencial zeta, mostrando-se menos instável que as demais formulações.

Quanto as características químicas e físico-químicas das barras de açaí revestidas e não revestidas, foram observadas interações significativas entre as formulações e o tempo de armazenamento apenas para as análises de susceptibilidade à sinérese, compostos fenólicos totais e o parâmetro de cor a^* . O revestimento com as gomas de cajueiro e gelana proporcionou maior capacidade de reter o líquido das amostras de barra de açaí.

Quanto as características microbiológicas, as barras apresentaram ausência de *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* e *Listeria sp.* Houve um crescimento maior de mesófilas, psicrófilas e bolores e leveduras nas barras revestidas.

Quanto à bioacessibilidade, houve diminuição nos teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante após a digestão gastrointestinal *in vitro* para ambas as barras (com e sem revestimento).

O conjunto de dados associados às propriedades antioxidantes e antimicrobianas apresentadas neste trabalho, com a ausência de toxicidade em ambos os materiais vegetais estudados, tornam os extratos de *J. pectoralis* Jacq. e *C. jacobinensis* Baill. potenciais candidatos para uso no desenvolvimento de novos produtos alimentícios. Porém, sua incorporação em revestimentos precisa ser mais estudada, embora apresentem potencial para serem utilizados como embalagens para alimentos.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinais and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 1, p. 114-140, jan./mar. 2007.
- ALENCAR COSTA, E.; BRITO, S. A.; DE SOUSA, P. H. M.; SIQUEIRA, A. C. P.; CUNHA, E. C. B. C.; NASCIMENTO, L. G. L. Estruturado de murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth) a base de hidrocoloide: elaboração e caracterização físico-química. **Arquivos Brasileiros de Alimentação**, Recife, v. 1, n. 1, p. 174-191, jul./dez. 2017.
- ALVAREZ, M. V.; PONCE, A. G.; MOREIRA, M. R. Influence of polysaccharide-based edible coatings as carriers of prebiotic fibers on quality attributes of ready-to-eat fresh blueberries. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.l.] v. 98, n. 7, p. 2587-2597, out. 2018.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. [s.n], Washington, 2001.
- ANDRADE, K. C. S.; CARVALHO, C. D.; TAKEITI, C. Y.; AZEREDO, H. D.; CORRÊA, J. D. S.; CALDAS, C. M. Goma de Cajueiro (*Anacardium occidentale*): Avaliação das Modificações Químicas e Físicas por Extrusão Termoplástica. **Polímeros**, [S.l.], v. 23, n. 5, p. 667-671, 2013.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, jul./dez. 2006.
- ANDREWS, W. H.; WANG, H.; JACOBSON, A.; HAMMACK, T. **Salmonella**. In: **FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA)**. Bacteriological Analytical Manual. 8. ed. Revision A. 1998. ch. 5. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>. Acesso em: 8 nov. 2019.
- ARAÚJO, L. L. N.; FARIA, M. J. M.; SAFADI, G. M. V. V. Prospecção fitoquímica da espécie *Justicia pectoralis* Jacq. var. *stenophylla* Leonard pertencente à família *Acanthaceae*. **Revista Eletrônica de Ciências Humanas, Saúde e Tecnologia**, [S.l.], v. 3, n. 2, p. 4-14, 2014.
- ARAÚJO, M. O. **Preparação de derivados do ácido caféico e avaliação das suas atividades antimicrobianas**. 2017. 177f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2017.
- ARAUJO, S.; SOUSA, I. J. O.; GONÇALVES, R. L. G.; DE SOUSA FRANÇA, A. R.; DOS SANTOS NEGREIROS, P.; DA SILVA BRITO, A. K.; DE SOUSA LIMA, E. B. Aplicações Farmacológicas e Tecnológicas da Goma do Cajueiro (*Anacardium Occidentale* L.) –um Produto Obtido da Flora Brasileira. **Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias**, Aracaju, v. 8, n. 1, p. 4292-4305, jan./fev./mar. 2018.

ARNON, H.; GRANIT, R.; PORAT, R.; POVERENOV, E. Development of polysaccharides-based edible coatings for citrus fruits: A layer-by-layer approach. **Food chemistry**, [S.l], v. 166, p. 465-472, 2015.

ARTEAGA, J. J. M.; PEREA, E. M.; VARÓN, E. Y. Climate influence on chemical composition and antioxidant activity of *Justicia pectoralis* Jacq. **Revista Cubana de Farmacia**, [S.l], v. 45, n. 1, p. 88-100, 2011.

ASTM. ASTM D2244: **standard practice for calculation of color tolerances and color differences from instrumentally measured color coordinates**. ASTM Standard D2244. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2009.

AZARAKHSH, N.; OSMAN, A.; GHAZALI, H. M.; TAN, C. P.; MOHD-ADZAHAN, N. Optimization of alginate and gellan-based edible coating formulations for fresh-cut pineapples. **International Food Research Journal**, Selangor, v. 19, n. 1, p. 279-285, 2012.

AZEREDO, C. H. M. **Edible Coatings**. Advances in fruit processing technologies, CRC Press Inc, Boca Raton, p. 345-361, 2012.

BANERJEE, S.; BHATTACHARYA, S. Compressive textural attributes, opacity and syneresis of gels prepared from gellan, agar and their mixtures. **Journal of Food Engineering**, [S.l], v. 102, n. 3, p. 287-292, fev. 2011.

BAQUEIRO-PEÑA, I.; GUERRERO-BELTRÁN, J. Á. Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. **Food chemistry**, [S.l], v. 218, p. 305-312, mar. 2017.

BARBOSA, P. O.; PALA, D.; SILVA, C. T.; DE SOUZA, M. O.; DO AMARAL, J. F.; VIEIRA, R. A. L.; DE FREITAS, R. N. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women. **Nutrition**, [S.l], v. 32, n. 6, p.674680, jun. 2016.

BASTOS, M.; FEUGA, R.; QUEIROZ, W. D. O.; Furtado, R. F. Revestimento de goma de cajueiro modificada na vida útil de goiabas. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2018.

BEMILLER, J.N.; HUBER, K.C. Carbohidratos. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4th ed. Artmed, Porto Alegre, p. 611-658. 2010.

BERNARDINO, A. C. S. S.; TEIXEIRA, A. M. R.; DE MENEZES, J. E. S. A.; PINTO, C. C. C.; SANTOS, H. S.; FREIRE, P. T. C.; BRAZ-FILHO, R. Spectroscopic and microbiological characterization of labdane diterpene 15, 16-epoxy-4-hydroxy-labda-13 (16), 14-dien-3, 12-dione isolated from the stems of *Croton jacobinensis*. **Journal of Molecular Structure**, [S.l], v. 1147, p. 335-344, nov. 2017.

BOUAYED, J.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, [S.l], v. 128, p. 14–21, sep. 2011.

- BRANDT, A. L.; CASTILLO, A.; HARRIS, K. B.; KEETON, J. T.; HARDIN, M. D.; TAYLOR, T. M. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by food antimicrobials applied singly and in combination. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 75, n. 9, p. 557-563, nov. 2010.
- BRANEN, J. K.; DAVIDSON, P. M. Enhancement of nisin, lysozyme, and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lactoferrin. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 90, p. 63-74, jan. 2004.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Resolução-RDC nº12, de 02/01/01.– Anvisa, 2001. Diário Oficial da União, Brasília, 10/01/01, nº 7, seção I, p. 45-53, 2001.
- BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, [S.l.], v. 56, n. 11, p. 317-333, nov. 1998.
- BRAZ, D. B.; COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B.; TSE, M. L. P.; ALMEIDA, V. V.; MIYADA, V. S. Acidificantes como alternativa aos antimicrobianos promotores do crescimento de leitões. **Archivos de zootecnia**, [S.l.], v. 60, n. 231, p. 745-756, 2011.
- BRESCIANI, L.; MARTINI, D.; MENA, P.; TASSOTTI, M.; CALANI, L.; BRIGATI, G.; DEL RIO, D. Absorption profile of (poly) phenolic compounds after consumption of three food supplements containing 36 different fruits, vegetables, and berries. **Nutrients**, [S.l.], v. 9, n. 3, p. 194-211, fev. 2017.
- BRIGHENTI, F. L.; SALVADOR, M. J.; DELBEM, A. C. B.; DELBEM, A. C. B.; OLIVEIRA, M. A. C.; SOARES, C. P.; FREITAS, L. S. F.; KOGA-ITO, C. Y. Systematic screening of plant extracts from the Brazilian Pantanal with antimicrobial activity against bacteria with cariogenic relevance. **Caries Research**, [S.l.], v. 48, n. 5, p. 353-360, sep. 2014.
- BRIONES-LABARCA, V.; VENEGAS-CUBILLOS, G.; ORTIZ-PORTILLA, S.; CHACANA-OJEDA, M.; MAUREIRA, H. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 128, p. 520–529, set. 2011.
- BURT, S. A. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods— A review. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 94, n. 3, p. 223-253, aug. 2004.
- CABRAL, L. C.; PINTO, V. F.; PATRIARCA, A. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 166, p. 1-14, aug. 2013.
- CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control**, [S.l.], v. 54, p. 111-119, aug. 2015.
- CAMPOS, D. A.; RIBEIRO, A. C.; COSTA, E. M.; FERNANDES, J. C.; TAVARIA, F. K.; ARARUNA, F. B.; EIRAS, C.; EATON, P.; LEITE, J. R. S. A.; PINTADO, M. M. Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 90, n. 1, p. 270-274, sep. 2012.

CANDIDO, A. C. B. B.; SOUZA, J. M.; PAGOTTI, M. C.; BORGES, C. H. G.; AMBROSIO, S. R.; VENEZIANI, R. C. S.; MAGALHÃES, L. G. Avaliação da atividade leishmanicida do diterpeno ácido caurenóico contra *Leishmania amazonensis*. **Investigação**, [S.l.], v. 15, n. 6, 2016.

CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; SOUZA, M. P.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Physical properties of edible coating and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale*. **Journal of Food Engineering**, [S.l.], v. 95, p. 379-385, dec. 2009.

CARVALHO, A. V.; MATTIETTO, R. A.; ASSIS, G. T.; LOURENÇO, L. F. H. Avaliação do efeito da combinação de pectina, gelatina e alginato de sódio sobre as características de gel de fruta estruturada a partir de "mix" de polpa de cajá e mamão, por meio da metodologia de superfície de resposta. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 41, n. 2, p. 267-274, jun. 2011.

CARVALHO, A. V.; MATTIETTO, R. A.; SILVA, P. A.; ARAÚJO, E. A. F. Otimização dos parâmetros tecnológicos para produção de estruturado a partir de polpa de açaí. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 4, p. 232-241, out./dez. 2010.

CARVALHO, A.; NOGUEIRA, J.; DE ARAUJO, F. P.; DA MATTA, V. M. Fruta estruturada mista de umbu e maracujá do mato. **Comunicado Técnico 248**, Embrapa. Belém-PA, Junho, 2014.

CAZON, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J. A.; VÁZQUEZ, M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, [S.l.], v. 68, p. 136-148, jul. 2017.

CHANFRAU, J. E. R.; LÓPEZ HERNÁNDEZ, O. D.; FIGUEREDO, Y. N.; FERRADA, C. R.; NOGUEIRA MENDOZA, A. Obtention of dry extract from aqueous extracts of *Justicia pectoralis* Jacq. (tilo). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, [S.l.], v.18, n.4, p.543-554, 2013.

CHARIANDY, C. M.; SEAFORTH, C. E.; PHELPS, R. H.; POLLARD, G. V.; KHAMBAY, B. P. S. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v. 64, n. 3, p. 265-270, mar. 1999.

CHISTÉ, R. C.; GODOY, H. T.; PRADO, M. A. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. **Food research international**, [S.l.], v. 53, n. 2, p. 875-881, oct. 2013.

CORDEIRO, K. W. **Atividade antiulcerogênica e anti-inflamatória da casca de croton urucurana (euphorbiaceae) e seus diterpenos clerodanos**. 2017. Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) - Universidade Federal do Mato Grosso. 2017.

CORRÊA, G. M.; ALCÂNTARA, A. F. C. Chemical constituents and biological activities of species of *Justicia* - a review. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Curitiba, v. 22, n. 1, p.220-238, jan./feb. 2012.

CORTEZ-VEGA, W. R.; PIOTROWICZ, I. B. B.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; BORGES, C. D. Conservação de mamão minimamente processado com uso de revestimento comestível à base de goma xantana. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1753-1764, jul./ago. 2013.

COSTA, J. N. **Desenvolvimento e caracterização de estruturados de goiaba (*Psidium guajava* L.) utilizando hidrocoloides ágar e goma gelana**. 2018. 210f. Tese (Doutorado em em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ce, 2018.

CUTRIM, C. S.; CORTEZ, M. A. S. A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. **Dairy Technology**, [S.l.], v. 1, n. 3, p. 564-578, may. 2018.

DANALACHE, F.; BEIRÃO-DA-COSTA, S.; MATA, P.; ALVES, V. D.; MOLDAO-MARTINS, M. Texture, microstructure and consumer preference of mango bars jellified with gellan gum. **LWT-Food Science and Technology**, [S.l.], v. 62, n. 1, p. 584-591, jun. 2015a.

DANALACHE, F.; CARVALHO, C. Y.; ALVES, V. D.; MARTINS, M. M.; MATA, P. Optimisation of gellan gum edible coating for ready-to-eat mango (*Mangifera indica* L.) bars. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 84, p. 43-53, mar. 2016.

DANALACHE, F.; MATA, P.; MOLDAO-MARTINS, M.; ALVES, V. D. Novel mango bars using gellan gum as gelling agent: Rheological and microstructural studies. **LWT-Food Science and Technology**, [S.l.], v. 62, n. 1, p. 576-583, jun. 2015b.

DANTAS, A. M.; MAFALDO, I. M.; DE LIMA OLIVEIRA, P. M.; DOS SANTOS LIMA, M.; MAGNANI, M.; BORGES, G. D. S. C. Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 274, p. 202–214, feb. 2019.

DEHGHANI, S.; HOSSEINI, S. V.; REGENSTEIN, J. M. Edible films and coatings in seafood preservation: A review. **Food chemistry**, [S.l.], v. 240, p. 505-513, feb. 2018.

DEMETZOS, C.; DIMAS, K. S. Labdane-type diterpenes: chemistry and biological activity. **Studies in Natural Products Chemistry**, [S.l.], v. 25, p. 235-292, 2001.

DEY, P.; CHAUDHURI, D.; CHAUDHURI, T. K.; MANDAL, N. Comparative assessment of the antioxidant activity and free radical scavenging potential of different parts of *Nerium indicum*. **International Journal of Phytomedicine**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 54-69, 2012.

DHALL, R. K. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. **Critical reviews in food science and nutrition**, [S.l.], v. 53, n. 5, p. 435-450, feb. 2013.

DICASTILLO, C. L.; BUSTOS, F.; VALENZUELA, X.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; VILARIÑO, J. M.; GALOTTO, M. J. Chilean berry *Ugni molinae* Turcz. fruit and leaves extracts with interesting antioxidant, antimicrobial and tyrosinase inhibitory properties. **Food Research International**, [S.l.], v. 102, p.119-128, dec. 2017.

DOLAN, L. C.; MATULKA, R. A.; LEBEAU, A. L.; BOULET, J. M. Two new nontoxic, non-pathogenic strains of *Sphingomonas elodea* for gellan gum production. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [S.l], v. 78, p. 37-44, jul. 2016.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMÉNEZ, A.; MUÑOZ, J. A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l], v. 22, n. 6, p. 292-303, jun. 2011.

FERREIRA, L.; PINTO, L. S. R. C. Estruturados de cajá-manga (*Spondias dulcis*) com diferentes hidrocolóides. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 14, n. 25, p. 32-41, jun. 2017.

FERREIRA, M. D. L. **Substâncias fenólicas e diterpênica de *Casearia arborea* (rich.) urb.(Salicaceae) e avaliação antimicrobiana do seu diterpeno.** 2016. 97f. Dissertação. (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Departamento de Farmacologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 2016.

FIRMINO, N. C. S.; ALEXANDRE, F. S. O.; DE VASCONCELOS, M. A.; PINHEIRO, A. A.; ARRUDA, F. V. S.; GUEDES, M. L. S.; SILVEIRA, E. R.; TEIXEIRA, E. H. Diterpenes isolated from *Croton blanchetianus* Baill: Potential compounds in prevention and control of the oral *Streptococci* biofilms. **Industrial Crops and Products**, [S.l], v. 131, p. 371-377, may. 2019.

FORATO, L. A.; DE BRITTO, D.; DE RIZZO, J. S.; GASTALDI, T. A.; ASSIS, O. B. Effect of cashew gum-carboxymethylcellulose edible coatings in extending the shelf-life of fresh and cut guavas. **Food Packaging and Shelf Life**, [S.l], v. 5, p 68-74, sep. 2015.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. **Food Science**, [S.l], v. 33, n. 1, p. 78-83, apr. 1968.

FURTADO, J. M.; DA SILVA AMORIM, Á.; DE MACEDO FERNANDES, M. V.; OLIVEIRA, M. A. S. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Eucalyptus globulus*, *Justicia pectoralis* e *Cymbopogon citratus* frente a bactérias de interesse. **Journal of Health Sciences**, [S.l], v. 17, n. 4, p. 233-237, set. 2015.

FURTADO, R. F.; RIBEIRO, F. MENDES, L.; MARIANO, A.; ALVES, C.; BASTOS, M.; COSTA, J. M. C. Modificação Química de Goma de Cajueiro: Novas Características e Potencialidades de Aplicações. **Embrapa Agroindústria Tropical-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2013.

GABR, S.; NIKLES, S.; WENZIG, E. M. P.; ARDJOMAND-WOELKART, K.; HATHOUT, R. M.; EL-AHMADY, S.; BAUER, R. Characterization and optimization of phenolics extracts from *Acacia* species in relevance to their anti-inflammatory activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, [S.l], v. 78, p. 21-30, jun. 2018.

GALUS, S.; KADZIŃSKA, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l], v. 45, n. 2, p. 273-283, oct. 2015.

GERIS, R.; SILVA, I. G. D.; SILVA, H. H. G. D.; BARISON, A.; RODRIGUES-FILHO, E.; FERREIRA, A. G. Diterpenos de *Copaifera reticulata* Ducke com atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 50, n. 1, p. 26-28, jan./feb. 2008.

GOWTHAMARAJAN, K.; KUMAR, G. K. P.; GAIKWAD, N. B.; SURESH, B. Preliminary study of *Anacardium occidentale* gum as binder in formulation of paracetamol tablets. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 83, p.506-511, jan. 2011.

GRIZOTTO, R. K.; AGUIRRE, J. M.; MENEZES, H. C. Frutas estruturadas de umidade intermediária obtidas de polpas concentradas de abacaxi, manga e mamão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 691-697, out./dez. 2005.

GYEDU-AKOTO, E.; ODURO, I.; AMOAH, F. M.; OLDHAM, J. H.; ELLIS, W.O.; OPOKU-AMEYAW, K. Rheological properties of aqueous cashew tree gum solutions. **Scientific Research and Essays**, [S.l.], v. 2, n. 10, p. 458-461, oct. 2007.

HEALTH CANADA, **Listeria monocytogenes Challenge Testing of Ready-to-Eat refrigerated foods**, v. 1, 2010. Disponível em: http://www.hcsc.gc.ca/fcan/alt_formats/pdf/legislation/pol/listeira-monocytogenes-eng.pdf. Acesso em: 1 fev. 2018.

HOSSEINI, S. F.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. **Food Hydrocolloid**, [S.l.], v. 44, p. 172-182, feb. 2015.

HUANG, W. H.; LI, G. Q.; LI, J. G. Two new clerodane diterpenoids from *Croton crassifolius*. **Heterocycles**, [S.l.], v. 89, n. 7, p. 1585-1593, 2014.

IAL- Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 6. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1020p, 2008.

IMESON, Alan (Ed.). **Food stabilisers, thickeners and gelling agents**. John Wiley & Sons, 2011.

JAVANMARD, M. Shelf-life of apples coated with whey protein concentrate-gellan gum edible coatings. **Journal of Food Biosciences and Technology**, Teran, v. 1, n. 1, p. 55-62, mar. 2011.

JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, C.; LOZANO-SÁNCHEZ, J.; GABALDÓN-HERNÁNDEZ, J. A.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. RP-HPLC-ESI-QTOF/MS² based strategy for the comprehensive metabolite profiling of *Sclerocarya Birrea* (Marula) bark. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 71, p. 214-234, sep. 2015.

KAJJARI, P. B.; MANJESHWAR, L. S.; AMINABHAVI, T. M. Novel pH-and temperature-responsive blend hydrogel microspheres of sodium alginate and PNIPAAm-g-GG for controlled release of isoniazid. **AAPS PharmSciTech**, [S.l.], v. 13, n. 4, p. 1147-1157, dec. 2012.

KEERTHANA, G.; KALAIVANI, M. K.; SUMATHY, A. *In Vitro* alpha amylase inhibitory and anti-oxidant activities of ethanolic leaf extract of *Croton bonplandianum*. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 32-36, jul. 2013.

KHAIRALLAH, J.; SADEGHI EKBATAN, S.; SABALLY, K.; ISKANDAR, M. M.; HUSSAIN, R.; NASSAR, A.; SLENO, L.; RODES, L.; PRAKASH, S.; DONNELLY, D. J.; KUBOW, S. Microbial biotransformation of a polyphenol-rich potato extract affects antioxidant capacity in a simulated gastrointestinal model. **Antioxidants**, [S.l.], v. 7, n. 3, p.43-54, mar. 2018.

KULKARNI, R. R.; SHURPALI, K.; PURANIK, V. G.; SARKAR, D.; JOSHI, S. P. Antimycobacterial labdane diterpenes from *Leucas stelligera*. **Journal of natural products**, [S.l.], v. 76, n. 10, p. 1836-1841, oct. 2013.

KUMAR, A.; MOIN, A.; AHMED, A.; SHIVAKUMAR, H. Cashew gum a versatile hydrophylic polymer: a review. **Current Drug Therapy**, [S.l.], v. 7, n. 1, p. 2-12, mar. 2012.

KUMAR, S.; KAUR, P.; BERNELA, M.; RANI, R.; THAKUR, R. Ketoconazole encapsulated in chitosan-gellan gum nanocomplexes exhibits prolonged antifungal activity. **International journal of biological macromolecules**, [S.l.], v. 93, p. 988-994, dec. 2016.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 45, n. 4, p. 1390-1393, apr. 1997.

LAZGHAB, M.; SALEH, K.; PEZRON, I.; GUIGON, P.; KOMUNJER, L. Wettability assessment of finely divided solids. **Powder Technology**, [S.l.], v. 157, n. 1-3, p. 79-91, sep. 2005.

LEAL, L. K. A. M.; SILVA, A. H.; BARROS VIANA, G. S. *Justicia pectoralis*, a coumarin medicinal plant have potential for the development of antiasthmatic drugs?. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.l.], v. 27, n. 6, p. 794-802, nov./dez. 2017.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal of AOAC international**, [S.l.], v. 88, n. 5, p. 1269-1278, sep. 2005.

LEE, M.; CHEN, H.; TSAO, S. Preparation, characterization and biological properties of Gellan gum films with 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide cross-linker. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 82, n. 3, p. 920-926, oct. 2010.

LI, J.; WANG, X.; WANG, Y.; LU, C.; ZHENG, D.; ZHANG, J. Isoquercitrin, a flavonoid glucoside, exerts a positive effect on osteogenesis in vitro and in vivo. **Chemico-biological interactions**, [S.l.], v. 297, p. 85-94, jan. 2019.

LIMA, A. C. S.; SOARES, D. J.; DA SILVA, L. M. R.; DE FIGUEIREDO, R. W.; DE SOUSA, P. H. M.; DE ABREU MENEZES, E. In vitro bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale* L.) following simulated gastro-intestinal digestion. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 161, p.142-147, out. 2014.

LIMA, E. O. Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (Orgs.). **Plantas medicinais: sob a óptica da química medicinal moderna**. Chapecó: ARGOS, p. 483-501, 2001.

LIU, C. P.; XU, J. B.; ZHAO, J. X.; XU, C. H.; DONG, L.; DING, J.; YUE, J. M. Diterpenoids from *Croton laui* and their cytotoxic and antimicrobial activities. **Journal of natural products**, [S.l.], v. 77, n. 4, p. 1013-1020, apr. 2014.

LIZCANO, L. J.; BAKKALI, F.; RUIZ-LARREA, M. B.; RUIZ-SANZ, J. I. Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 119, n. 4, p. 1566-1570, apr. 2010.

LORENZO, G.; ZARITZKY, N.; CALIFANO, A. Rheological analysis of emulsion-filled gels based on high acyl gellan gum. **Food Hydrocolloids**, [S.l.], v. 30, n. 2, p. 672-680, mar. 2013.

LUZIA, M. D. M.; JORGE, N. Potencial antioxidante de extratos de sementes de limão (*Citrus limon*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 2, p. 489-493, 2010.

LV, F.; LIANG, H.; YUAN, Q.; LI, C. *In vitro* antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. **Food Research International**, [S.l.], v. 44, p.3057-3064, nov. 2011.

MA, X.; MOILANEN, J.; LAAKSONEN, O.; YANG, W.; TENHU, E.; YANG, B. Phenolic compounds and antioxidant activities of tea-type infusions processed from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) leaves. **Food chemistry**, [S.l.], v. 272, p. 1-11, jan. 2019.

MAITI, S.; RANJIT, S.; MONDOL, R.; RAY, S.; SA, B. Al⁺³ ion cross-linked and acetalated gellan hydrogel network beads for prolonged release of glipizide. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 85, n.1, p. 164-172, apr. 2011.

MAK, Y. W.; CHUAH, L. O.; AHMAD, R.; BHAT, R. Antioxidant and antibacterial activities of hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and Cassia (*Senna bicapsularis* L.) flower extracts. **Journal of King Saud University – Science**, [S.l.], v. 25, n.4, p.275-282, oct. 2013.

MARTINS, C. S.; MORGADO, D. L.; ASSIS, O. B. G. Cashew gum-chitosan blended films: Spectral, mechanical and surface wetting evaluations. **Macromolecular Research**, [S.l.], v. 24, n. 8, p. 691-697, aug. 2016.

MASSON, L. M. P. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada submetida ao processamento térmico e/ou à homogeneização à ultraalta pressão**. 2010. 123f. Tese. (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

MAZZUCA, C.; MICHELI, L.; LETTIERI, R.; CERVELLI, E.; COVIELLO, T.; CENCETTI, C.; SOTGIU, S. IANNUCELLI, G.; PALLESCHI, A. How to tune a paper cleaning process by means of modified gellan hydrogels. **Microchemical Journal**, [S.l.], v. 126, p. 359-367, may. 2016.

McHUGH, T.H.; KROCHTA, J. M. Sorbitol- vs Glycerol-Plasticized Whey Protein Edible Films: Integrated Oxygen Permeability and Tensile Property Evaluation Sorbitol vs Glycerol-Plasticized tree gum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 42, n. 4, p. 841-845, apr. 1994.

MORRIS, E. R.; NISHINARI, K.; RINAUDO, M. Gelation of gellan—a review. **Food Hydrocolloids**, [S.l.], v. 28, n. 2, p. 373-411, aug. 2012.

MOSELE, J. I. MACIÀ, A.; ROMERO, M. P.; MOTILVA, M. J. Stability and metabolism of *Arbutus unedo* bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under *in vitro* digestion and colonic fermentation. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 201, p. 120-130, jun. 2016.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, [S.l.], vol. 65, p. 55-63, dec. 1983.

MOTHÉ, C. G.; RAO, M. A. Rheological behavior of aqueous dispersions of cashew gum and gum arabic: effect of concentration and blending. **Food Hydrocolloid**, [S.l.], v. 13, n. 6, p. 501-506, nov. 1999.

MOURA, C. T.; BATISTA-LIMA, F. J.; BRITO, T. S.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. C.; ROQUE, C. R.; ARAGAO, K.S.; HAVT, A.; FONSECA, N. F.; LEAL, L. K. A. M.; MAGALHÃES, P. J. Inhibitory effects of a standardized extract of *Justicia pectoralis* in an experimental rat model of airway hyperresponsiveness. **Journal of Pharmacy And Pharmacology**, [S.l.], v. 69, p.722-732, feb. 2017.

MOURA, N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 270-276, 2006.

MURMU, S. B.; MISHRA, H. N. The effect of edible coating based on Arabic gum, sodium caseinate and essential oil of cinnamon and lemon grass on guava. **Food chemistry**, [S.l.], v. 245, p. 820-828, apr. 2018.

NASTIC, N.; SVARC-GAJIC, J.; DELERUE-MATOS, C.; BARROSO, M. F.; SOARES, C., MOREIRA, M. M.; RADOSEVIC, K. Subcritical water extraction as an environmentally-friendly technique to recover bioactive compounds from traditional Serbian medicinal plants. **Industrial Crops & Products**, [S.l.], v. 111, p. 579-589, jan. 2018.

NATH, R.; ROY, S.; DE, B.; CHOUDHURY, M. D. Anticancer and antioxidant activity of croton: a review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [S.l.], v. 5, n. 2, p. 63-70, feb. 2013.

NAVARRO, M.; MOREIRA, I.; ARNAEZ, E.; QUESADA, S.; AZOFEIFA, G.; VARGAS, F.; CHEN, P. Flavonoids and ellagitannins characterization, antioxidant and cytotoxic activities of *Phyllanthus acuminatus* Vahl. **Plants**, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 62-80, dec. 2017.

NEGI, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 156, n. 1, p. 7-17, may. 2012.

NEVES, I. A.; CAMARA, C. A. Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and essential oil composition of four *Croton* species from Caatinga biome in northeastern Brazil. **Naturals Products Community**, [S.l.], v. 6, n. 6, p.893-899, jun. 2011.

NOVELLO, C. R.; MARQUES, L. C.; PIRES, M. E.; KUTSCHENCO, A. P.; NAKAMURA, C. V.; NOCCHI, S.; MELLO, J. C. Bioactive Indole Alkaloids from *Croton echioides*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 27, n. 12, p. 2203-2209, dec. 2016.

OFORI-KWAKYE, K.; AMEKYEH, H.; EL-DUAH, M.; KIPO, S. L. Mechanical and tablet coating properties of cashew tree (*Anacardium occidentale* L) gum-based films. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, [S.l.], v. 5, n. 4, p.62-68, sep. 2012.

OLIVEIRA, J. A. R.; CARVALHO, A. V.; MOREIRA, D. K. T.; MARTINS, L. H. D. S. Elaboração e caracterização de estruturado obtido de polpa concentrada de cupuaçu. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v. 53, n. 2, p. 164-170, jul/dez. 2010.

OSMAŁEK, T.; FROELICH, A.; TASAREK, S. Application of gellan gum in pharmacy and medicine. **International journal of pharmaceutics**, [S.l.], v. 466, n. 1-2, p. 328-340, may. 2014.

OU, J.; WANG, M.; ZHENG, J.; OU, S. Positive and negative effects of polyphenol incorporation in baked foods. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 284, p. 90-99, jun. 2018.

OWUSU, J.; OLDHAM, J. H.; ODURO, I.; ELLIS, W. O.; BARIMAH, J. Viscosity studies of cashew gum. **Tropical Science**, [S.l.], v. 45, p. 86-89, jan. 2005.

PACHÚ, C. O. **Processamento de plantas medicinais para obtenção de extratos secos e líquidos**. 2007. 102f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2007.

PAULA, H. C.; SOMBRA, F. M.; DE FREITAS CAVALCANTE, R.; ABREU, F. O.; DE PAULA, R. C. Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil. **Materials Science and Engineering: C**, [S.l.], v. 31, n. 2, p.173-178, mar. 2011.

PINTO, A. M. B.; SANTOS, T. M.; CACERES, C. A.; LIMA, J. R.; ITO, E. N.; AZEREDO, H. M. C. Starch-cashew tree gum nanocomposite films and their application for coating cashew nuts. **LWT - Food Science and Technology**, [S.l.], v. 62, n. 1, p. 549-554, jun. 2015.

PINTO, N. C. C.; CAMPOS, L. M.; EVANGELISTA, A. C. S.; LEMOS, A. S. O.; SILVA, T. P.; MELO, R. C. N.; LOURENCO, C. C.; SALVADOR, M. J.; APOLONIO, A. C. M.; SCIO, E.; FABRI, R. L. Antimicrobial *Annona muricata* L. (soursop) extract targets the cell membranes of Gram-positive and Gram-negative bacteria. **Industrial Crops & Products**, [S.l.], v. 107, p.332-340, nov. 2017.

PONTES, W. T.; OLIVEIRA, J. C.; DA CÂMARA, C. A.; DE ASSIS, C. P.; DE OLIVEIRA, J. V.; JÚNIOR, M. G. G.; BARROS, R. Effects of the ethanol extracts of leaves and branches from four species of the genus *Croton* on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: *Tetranychidae*). **Bio Assay**, [S.l.], v. 6, n. 3, p. 3-14, 2011.

PRAJAPATI, V. D.; JANI, G. K.; ZALA, B. S.; KHUTLIWALA, T. A. An insight into the emerging exopolysaccharide gellan gum as a novel polymer. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 93, n. 2, p. 670-678, apr. 2013.

PREMPRASERT, C.; TEWTRAKUL, S.; PLUBRUKARN, A.; WUNGSINTAWEEKUL, J. Anti-inflammatory activity of diterpenes from *Croton stellatopilosus* on LPS-induced RAW264. 7 cells. **Journal of natural medicines**, [S.l.], v. 67, n. 1, p. 174-181, jan. 2013.

PROFICE, S. R. KAMEYAMA, C.; CÔRTEZ, A. L. A.; BRAZ, D. M.; INDRIUNAS, A.; VILAR, T.; PESSOA, C.; EZCURRA, C.; WASSHAUSEN, D. *Acanthaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. (2015). Disponível em:<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB33>. Acesso em: 04 fev. 2017.

RAMESHKUMAR, A.; SIVASUDHA, T. In vitro Antioxidant and Antibacterial Activity of Aqueous and Methanolic Extract of *Mollugo nudicaulis* Lam. Leaves. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, [S.l.], v. 2, n. 2, p.5825-5900, feb. 2012.

RAMOS, S. C. S.; OLIVEIRA, J. C. S.; CAMARA, C. A. G.; CASTELAR, I.; CARVALHO, A. F. F. U.; LIMA-FILHO, J. V. Antibacterial and cytotoxic properties of some plant crude extracts used in Northeastern folk medicine. **Revista brasileira de farmacognosia**, João Pessoa, v. 19, n. 2a, p. 376-381, apr./jun. 2009.

REDDY, Y. S.; CHINNALA, K. M.; NATH, K. V.; MOHAN, E. M.; PREETHI, B.; NARENDER, B. *In vitro* evaluation of anti-oxidant activity of different extracts of *Justicia gendarussa* leaf. **School Research Library Pharmaceutical Chemistry**, [S.l.], v. 7, p. 21-24, 2015.

REHM, B. H. A. Bacterial polymers: biosynthesis, modifications and applications. **Nature Reviews Microbiology**, [S.l.], v. 8, n. 8, p. 578-592, jun. 2010.

RIBEIRO, A. J.; DE SOUZA, F. R. L.; BEZERRA, J. M.; OLIVEIRA, C.; NADVORNY, D.; MONICA, F.; SOBRINHO, J. L. S. Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivatives. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 147, p. 188-200, aug. 2016.

RODRIGUES, A. M. C.; BEZERRA, C. V.; SIVA, I. Q.; SILVA, L. H. M. Rheological properties of buriti juice (*Mauritia flexuosa*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 38, n. 1, p. 176-186, jan./fev. 2016.

RODRIGUES, E. C. N.; RIBEIRO, S. D. C. A.; DA SILVA, F. L. Influência da cadeia produtiva do açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.) Na geração de renda e fortalecimento de unidades familiares de produção, Tomé Açu-PA. **Observatorio de la Economía Latinoamericana**, n. 210, 2015.

RODRIGUES, R. C.; CACERES, C. A.; RIBEIRO, H. L.; ABREU, R. F. A.; CUNHA, A. P.; AZEREDO, H. M. C. Influence of cassava starch and carnauba wax on physical properties of cashew tree gum-based films. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 38, p. 47-51, jul. 2014.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; TAPIA, M. S.; RODRÍGUEZ, F. J.; CARMONA, A. J.; MARTIN-BELLOSO, O. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apples. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 118-127, jan. 2007.

ROSAS-FLORES, W.; RAMOS-RAMÍREZ, E. G.; SALAZAR-MONTOYA, J. A. Microencapsulation of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus delbrueckii* using alginate and gellan gum. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 98, n. 1, p. 1011-1017, oct. 2013.

RUELAS-CHACON, X.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; MONTAÑEZ, J.; AGUILERA-CARBO, A. F.; REYES-VEGA, M. L.; PERALTA-RODRIGUEZ, R. D.; SANCHÉZ-BRAMBILA, G. Guar Gum as an Edible Coating for Enhancing Shelf-Life and Improving Postharvest Quality of Roma Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of Food Quality**, [S.l.], v. 2017, p. 1-9, aug.2017.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 121, n. 4, p. 996-1002, aug. 2010.

RUIZ, A.; MARDONES, C.; VERGARA, C.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; VON BAER, D.; HINRICHSEN, P.; DOMINGUEZ, E. Analysis of hydroxycinnamic acids derivatives in calafate (*Berberis microphylla* G. Forst) berries by liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**, [S.l.], v. 1281, p. 38-45, mar. 2013.

RYAN, E. M.; DURYEE, M. J.; HOLLINS, A.; DOVER, S. K.; PIRRUCCELLO, S.; SAYLES, H.; MIKULS, T. R. Antioxidant properties of citric acid interfere with the uricase-based measurement of circulating uric acid. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, [S.l.], v. 164, p. 460-466, feb. 2019.

SAHA, A.; TYAGI, S.; GUPTA, R. K.; TYAGI, Y. K. Natural gums of plant origin as edible coatings for food industry applications. **Critical reviews in biotechnology**, [S.l.], v. 37, n. 8, p. 959-973, apr. 2017.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (*Euphorbiaceae*). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 11-33, 2007.

SALGADO, P.R.; ORTIZ, C.M.; MUSSO, Y.S.; DI GIORGIO, L.; MAURI, A.N. Edible films and coatings containing bioactives. **Current Opinion Food Science**, [S.l.], v. 5, p. 86-92, oct. 2015.

SÁNCHEZ-ORTEGA, I.; GARCÍA-ALMENDÁREZ, B.E.; SANTOS-LÓPEZ, E.M.; AMARO-REYES, A.; BARBOZA-CORONA, J.E.; REGALADO, C. Antimicrobial edible films and coatings for meat and meat products preservation. **The Scientific World Journal**, [S.l.], v. 2014, jun. 2014.

SCHAFFAZICK, S.R., GUTERRES, S.S., FREITAS, L.L., POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, [S.l.], v. 26, n. 5, p. 726-737, fev. 2003.

SCHULZ, M.; BILUCA, F. C.; GONZAGA, L. V.; BORGES, G. D. S. C.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; COSTA, A. C. O. Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 228, p. 447-454, aug. 2017.

SESSA, M.; FERRARI, G.; DONSI, F. Novel edible coating containing essential oil nanoemulsions to prolong the shelf life of vegetable products. **Chemical Engineering Transactions**, [S.l.], v. 43, p. 55-60, may. 2015.

SHAH, M. A.; BOSCO, S. J. D.; MIR, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat science**, [S.l.], v. 98, n. 1, p. 21-33, sep. 2014.

SILVA, C. G.; RAULINO, R. J.; CERQUEIRA, D. M.; MANNARINO, S. C.; PEREIRA, M. D.; PANEK, A. D.; SILVA, J. F. M.; MENEZES, F. S.; ELEUTHERIO, E. C. A. *In vitro* and *in vivo* determination of antioxidant activity and mode of action of isoquercitrin and *Hyptis fasciculata*. **Phytomedicine**, [S.l.], v. 18, n. 8, p. 761-767, aug. 2009.

SILVA, D. R. **Obtenção e caracterização de micropartículas utilizando goma de cajueiro**. 2013. 109 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013a.

SILVA, M. S. **Revestimento comestível a base de goma do cajueiro e de carboximetilcelulose adicionada de trans-cinamaldeído na qualidade de mamões minimamente processados**. 2013. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ceará, 2013.

SIMIRGIOTIS, M. J.; QUISPE, C.; MOCAN, A.; VILLATORO, J. M.; ARECHE, C.; BÓRQUEZ, J.; ECHIBURU-CHAU, C. UHPLC high resolution orbitrap metabolomic fingerprinting of the unique species *Ophryosporus triangularis* Meyen from the Atacama Desert, Northern Chile. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 27, n. 2, p. 179-187, mar./apr. 2017.

SINGH, B.; DUTT, N.; KUMAR, D.; SINGH, S.; MAHAJAN, R. Taxonomy, ethnobotany and antimicrobial activity of *Croton bonplandianum*, *Euphorbia hirta* and *Phyllanthus fraternus*. **Journal of Advances in Developmental Research**, v. 2, n. 1, p. 21-29, jun. 2011.

SOMIT, D.; PRIYANKAR, D.; KUMAR, C. T. Quantification and correlation of the bioactive phytochemicals of *Croton bonplandianum* leaves of Sub-Himalayan region of West Bengal. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, [S.l.], v. 6, n. 3, p. 142-147, jun. 2013.

SOUSA, J. B. A. S. **Actividade Biológica de derivados do Ácido Cafeico: Efeito antioxidante e anti-inflamatório**. 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade) - Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Portugal, 2008.

SOUZA, M. P. **Desenvolvimento e otimização de revestimentos comestíveis a base do polissacarídeo da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) para melhorar a qualidade pós-colheita de frutas**. 2010. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

SOUZA, M. P.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. E.; TEIXEIRA, J. E.; PORTO, A. L. F.; VICENTE, A. A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. tree gum (Policaju) as a coating for Tommy Atkins mangoes. **Chemical Papers**, [S.l.], v. 64, n. 4, p. 475-481, 2010.

SPÍNOLA, V.; CASTILHO, P. C. Evaluation of Asteraceae herbal extracts in the management of diabetes and obesity. Contribution of caffeoylquinic acids on the inhibition of digestive enzymes activity and formation of advanced glycation end-products (*in vitro*). **Phytochemistry**, [S.l.], v. 143, p. 29-35, nov. 2017.

TAGLIARI, M. S.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Efeito de extratos de plantas na mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (j. E. Smith)(Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 2, p. 259-264, abr./jun. 2010.

TANG, Y.; LOU, F.; WANG, J.; LI, Y.; ZHUANG, S. Coumaroyl flavonol glycosides from the leaves of *Ginkgo biloba*. **Phytochemistry**, [S.l.], v. 58, n. 8, p. 1251-1256, dec. 2001.

TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 137, p. 360-374, feb. 2016.

TIBÉRIO DE JESUS, A. L.; LEITE, T. S; CRISTIANINI, M. High isostatic pressure and thermal processing of açai fruit (*Euterpe oleracea Martius*): Effect on pulp color and inactivation of peroxidase and polyphenol oxidase. **Food Research International**, Ottawa, v. 105, p. 853-862, dec. 2018.

TOMAS, M.; BEEKWILDER, J.; HALL, R. D.; SAGDIC, O.; BOYACIOGLU, D.; CAPANOGLU, E. Industrial processing versus home processing of tomato sauce: Effects on phenolics, flavonoids and *in vitro* bioaccessibility of antioxidants. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 220, p. 51-58, apr. 2017.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; SELMA, M. V.; ESPÍN, J. C. Interactions of gut microbiota with dietary polyphenols and consequences to human health. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, [S.l.], v. 19, p. 471-476, nov. 2016.

TORQUATO, D. S.; FERREIRA, M. L.; SÁ, G. C.; BRITO, E. S.; PINTO, G. A. S.; AZEVEDO, E. H. F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S.l.], v. 20, n. 5, p. 505-507, jul. 2004.

VALDÉS, A.; RAMOS, M.; BELTRÁN, A.; JIMÉNEZ, A.; GARRIGÓS, M. State of the art of antimicrobial edible coatings for food packaging applications. **Coatings**, [S.l.], v. 7, n. 4, p. 56-78, apr. 2017.

VALOTTO, C. F. B. SILVA, H. H. G. D.; CAVASIN, G.; GERIS, R.; RODRIGUES-FILHO, E.; SILVA, I. G. D. Alterações ultraestruturais em larvas de *Aedes aegypti* submetidas ao diterpeno labdano, isolado de *Copaifera reticulata* (Leguminosae), e à uma fração rica em taninos de *Magonia pubescens* (Sapindaceae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.l.], v. 44, n. 2, p. 194-200, nov. 2011.

VENNILA, V.; RAJANGAM, U. GC-MS analysis of leaf, fruits and latex of Croton bonplandianum baill. **International Journal of Biochemistry Research and Review**, [S.l.], v. 5, n. 3, p. 187-197. 2015.

VERSINO, F.; LOPEZ, O. V.; GARCIA, M. A.; ZARITZKY, N. E. Starch based films and food coatings: an overview. **Starch**, [S.l.], v. 68, p. 1-12, may. 2016.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, [S.l.], v. 26, n. 3, p. 390-400, out. 2003.

VIJAN, V.; KAITY, S.; BISWAS, S.; ISAAC, J.; GHOSH, A. Microwave assisted synthesis and characterization of acrylamide grafted gellan, application in drug delivery. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 90, n. 1, p. 496-506, sep. 2012.

VILLAMIZAR, J.; PITTELAUD, J. P.; RODRIGUES, J. R.; GAMBOA, N.; CANUDAS, N.; TROPPER, E.; FUENTES, J. Synthesis and antimalarial activities of optically active labdane-type diterpenes. **Natural product research**, [S.l.], v. 23, n. 10, p. 891-902, oct. 2009.

WANG, Y.; TANG, C.; ZHANG, H. Hepatoprotective effects of kaempferol 3-O-rutinoside and kaempferol 3-O-glucoside from *Carthamus tinctorius* L. on CCl₄-induced oxidative liver injury in mice. **Journal of food and drug analysis**, [S.l.], v. 23, n. 2, p. 310-317, jun. 2015.

WONGSAGONSUP, R.; SHOBSNGOB, S.; OONKHANOND, B.; VARAVINIT, S. Zeta potential (ζ) and pasting properties of phosphorylated or crosslinked rice starches. **Starch-Stärke**, [S.l.], v. 57, n. 1, p. 32-37, dec. 2005.

XU, W.; LIU, W.; LIANG, Q. Chemical constituents from Croton species and their biological activities. **Molecules**, [S.l.], v. 23, n. 9, p. 2333-2370, sep. 2018.

YIN, R.; DAI, T.; AVCI, P.; JORGE, A. E. S.; DE MELO, W. C.; VECCHIO, D.; HAMBLIN, M. R. Light based anti-infectives: ultraviolet C irradiation, photodynamic therapy, blue light, and beyond. **Current Opinion In Pharmacology**, [S.l.], v. 13, n. 5, p.731-762, oct. 2013.

YOUSUF, B.; QADRI, O. S.; SRIVASTAVA, A. K. Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. **LWT-food science and technology**, [S.l.], v. 89, p. 198-209, mar. 2017.

YUN, J.; LEE, H.; KO, H. J.; WOO, E. R.; LEE, D. G. Fungicidal effect of isoquercitrin via inducing membrane disturbance. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, [S.l.], v. 1848, n. 2, p. 695-701, feb. 2015.

YUN, J.; WOO, E. R.; LEE, D. G. Effect of isoquercitrin on membrane dynamics and apoptosis-like death in *Escherichia coli*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1860, n. 2, p. 357-363, feb. 2018.

ZAMBRANO-ZARAGOZA, M. L.; MERCADO-SILVA, E. ; RAMIREZ-ZAMORANO, P.; CORNEJO-VILLEGAS, M. A.; GUTIÉRREZ-CORTEZ, E.; QUINTANAR-GUERRERO, D. Use of solid lipid nanoparticles (SLNs) in edible coatings to increase guava (*Psidium guajava* L.) shelf-life. **Food Research International**, [S.l.], v. 51, n. 2, p. 946-953, may. 2013.

ZHANG, N.; XU, J.; GAO, X.; FU, X.; ZHENG, D. Factors affecting water resistance of alginate/gellan blend films on paper cups for hot drinks. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 156, p. 435-442, jan. 2017.

ZIA, K. M.; TABASUM, S.; KHAN, M. F.; AKRAM, N.; AKHTER, N.; NOREEN, A. ZUBER, M. Recent trends on gellan gum blends with natural and synthetic polymers: A review. **International journal of biological macromolecules**, [S.l.], v. 109, p. 1068-1087, abr. 2018.