UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

BRUNA STEPHANNY SANTOS NEVES

CASCA DO JAMBOLÃO: CARACTERIZAÇÃO, PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGENS BIODEGRADAVÉIS ATIVAS

Dissertação apresentada
ao Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos como requisito final à obtenção do
título de mestre em Ciência e
Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Profª Drª Alessandra Almeida Castro Pagani
Co-Orientador: Profª Drª Tatiana Pacheco Nunes

São Cristóvão /SE
2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Neves, Bruna Stephanny Santos
l Casca do jambolão: caracterização, planejamento e
518c desenvolvimento de embalagens biodegradáveis ativas / Bruna Stephanny Santos Neves; orientadora Alessandra Almeida Castro Pagani. – São Cristóvão, 2017.
139 f.: il.

Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)– Universidade Federal de Sergipe, 2017.

1. Jambolão. 2. Resíduos industriais. 3. Antioxidantes. 4. Agentes antiinfecciosos. 5. Alimentos – Embalagens. I. Pagani, Alessandra Almeida Castro, orient. II. Título.

CDU 582.776

BRUNA STEPHANNY SANTOS NEVES

CASCA DO JAMBOLÃO: CARACTERIZAÇÃO, PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGENS BIODEGRADAVÉIS ATIVAS

Dissertação de mestrado
aprovada no Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
em 10 de Abril de 2017.

BANCA EXAMINADORA

_____

Dr.ª Alessandra Almeida Castro Pagni
Orientadora/PROCTA-UFS

_____

Dr. Marcelo Augusto Gutierrez Carnelossi
1° Examinador/ UFS

_____

Dr. Gabriel Francisco da Silva
2° Examinador/ UFS

São Cristóvão/SE
2017

AGRADECIMENTOS

A DEUS primeiramente seja honra, glória e louvor para todo sempre, pela oportunidade de vida concedida a cada amanhecer, por me dar força e sabedoria para enfrentar todos os obstáculos, pela oportunidade de novos conhecimentos e por me proporcionar formação de novas amizades e grandes momentos de alegria ao longo deste percurso.

Ao meu esposo que foi quem mais vivenciou minhas ansiedades, minhas angustias, meus momentos de querer desistir e reclamações, mas também com quem foram compartilhadas minhas alegrias, minhas conquistas a cada acerto nos experimentos, minhas novas amizades. Obrigada por sempre me encorajar a continuar seguindo em frente e por tudo que representas para mim. Te amo!

Aos meus pais, pelo apoio, pelas palavras de ânimo e carinho, principalmente à minha mãe por estar sempre juntinha a mim, por sempre me apresentar em suas orações, obrigada por tudo que fez e continua fazendo em prol da minha felicidade. Meu amor por vocês é incondicional!

A minha irmã pelos momentos de alegria e por todo carinho dispensados a mim. Te amo!

Aos demais familiares pela torcida e por entender minha ausência em momentos de reunião. Amo vocês!

Às minhas orientadoras, Profª Drª Alessandra e Profª Drª Tatiana por terem confiado em mim no desenvolvimento deste projeto, por sempre me darem apoio e subsídio para sua execução, pelas experiências trocadas, pelos conselhos, pelas correções, enfim, posso dizer que nossa relação foi além de orientador-aluno, e sim de pessoas amigas. MUITO OBRIGADA!!!

À Professora Drª Jane pela ajuda e boa vontade em todos os momentos e aos Professores Dr Antônio Martins, Dr Marcelo, Dr Gabriel e Dr Narendra pela liberação dos seus laboratórios e equipamentos que foram de grande ajuda para realização dos experimentos. Obrigada!

O meu “muitíssimo” obrigada vai ao meu companheiro de bancada Lucas, por sempre me auxiliar, por ser sempre a pessoa com quem pude contar durante essa jornada, por persistir comigo naquelas análises que insistiam em não dar certo, pela mão amiga e pelos momentos de descontração.Você foi peça-chave para execução deste projeto! Obrigada mesmo!

A Tati, Dani e Carol por também fazerem parte da equipe por algum tempo e me auxiliarem. Obrigada!

A Alan pela amizade de sempre, pela disposição em me ajudar nas metodologias e sanar algumas dúvidas quando possível. Muito Obrigada!!

A equipe LAA (Camila, Jucenir, Alan, Rafaela, Anne, Ariadne) e a equipe LABIOTEC (Lucas 1, Lucas 2, Matheus, Geisse, Isadora), vocês foram essenciais na minha vida, cada um com seu jeitinho de ser, me conquistou. Em especial agradeço a Camila, Jucenir, Matheus, Geisse, obrigada por sempre me ouvirem e me alegrarem e por todo auxílio dispensados à mim. Privilegiada fui eu por fazer parte dessas duas equipes! Amo vocês!

As colegas-amigas do PROCTA, Taís, Erika, Ju Moraes, Dhulia, Tacila, Edilene, Cinthia, Ju Andrade, Romy, por todo companheirismo. Obrigada!

À Bianca, Laila e Yara que foram sempre prestativas comigo, mesmo não fazendo parte da minha turma. Obrigada!

Ao pessoal da igreja, por sempre me apresentar em suas orações, por entender minha ausência e me darem o apoio quando precisei. Muito Obrigada!

Às técnicas do DTA Patrícia, Aline, Celeste, Cris e Grazi, pela ajuda. Obrigada!

Aos professores Doutores, Marcelo e Gabriel por aceitarem fazer parte da minha banca de defesa. Obrigada!

Enfim, a TODOS que contribuiu diretamente ou indiretamente para minha formação como mestra, meu Muito Obrigada!!

NEVES, B. S. S. Casca do jambolão: caracterização, planejamento e desenvolvimento de embalagens biodegradavéis ativas. São Cristovão: Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologiade Alimentos, Universidade Federal de Sergipe; 2017.

RESUMO

A alta produção de frutos de jambolão (*Syzygium cumini*) durante a safra e a falta de informações sobre o seu processamento destacam o desenvolvimento de novas tecnologias para o processamento dessa fruta, uma vez que foi comprovado que diferentes partes desse fruto possuem propriedades funcionais. Assim, o objetivo do trabalho consistiu emcaracterizar e extrair compostos antioxidantes e antimicrobianos da casca do jambolão em pó, por meio de um planejamento experimental fatorial completo, de modo a se obter um extrato otimizado (EO), que posteriormente foi incorporado em embalagens bioegradáveis. Para tal, inicialmente o frutofoi despolpado e separado as frações polpa e casca, onde um lote de casca foi submetido à secagem a 40°C para obtenção do pó. As três amostras foram caracterizadas físico-quimicamente e quanto ao teor de compostos bioativos. Em seguida foram produzidos doze extratosa partir do pó,baseado em um planejamento experimental 3^2,os quais foramavaliados quanto à atividade antioxidante (ABTS+, DPPH, FRAP) e antimicrobiana (Disco-difusão, MIC) para sete cepas de microrganismos.Os resultados foramanalisados por metodologia de superfície de resposta,de modo a otimizar a melhor condição de extração,sobre a qualfoi analisadoo teor decompostos fenólicos totais (CFT), flavonóides totais (FT) e antocianinas monoméricas totais (TMA).Na sequênciadiferentes proporções do EO foramincorporadasem filmesde acetato de celulose e amido com quitosanae estes caracterizados quanto à cor, as propriedades antioxidantes e antimicrobianas *in vitro*.Foi visto, que os teores de CFT, FT, TMA e atividade antioxidante total da casca foi cerca de dez vezes superior aos da polpa. Além disso, foi verificado que todos os extratos produzidos com a farinha apresentaram alta atividade antioxidante e foram efetivos contra os microrganismos *Staphylococcus aureus e Listeria monocytogenes* e a melhor resposta foi obtida quando se empregou etanol 70% e proporção amostra: solvente 1:10. No EO, foram encontrados resultados de 36,50mg GAE/g para CFT, 1,94mg QE/g para FT, 1269 mgCE/100g para TMA e 40,0mg AAE/100g para Acido Ascorbico. Em relação aos filmes, observou-se que em diferentes concentrações do EO, houve diferença significativa de cor dos tratamentos quando comparado ao controle em ambas as bases. Quanto à atividade antioxidante dos biofilmes, foi visto que nos métodos DPPH e FRAP, todos os tratamentos variaram entre si, excetono método ABTS. Essa atividade foi proporcional à concentração do EO aplicado, entretanto, nos filmes de celulose foi verificado um maior aumento em relação ao controle, comparativamente aos de amido. Constatou-se também que apenas os biofilmes de amido apresentaram efeitos inibitórios, sendo obtido para *S.aureus*a partir de 20% do EO, e para *L.monocytogenes* em uma concentração igual ou superior a 40 % de EO, logo esta se mostrou mais resistente. Com isso, percebem-se a riqueza de compostos exibidos pela casca do Jamelão em pó, os quais quando aplicados em embalagens, tornou matrizes outrora normais em ativas, especialmente no que diz respeito aos aspectos antioxidantes.

Palavras-Chave: *Syzygium cumini*. Otimização. Antioxidantes. Antimicrobianos. Filmes ativos.

NEVES, B. S. S. Bark of the jambolão: characterization, planning and development of active biodegradable packaging. São Cristovão: Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologiade Alimentos, Universidade Federal de Sergipe; 2017.

ABSTRACT

The high production of fruit of jambolão (Syzygium cumini) during the harvest and the lack of information about its processing emphasize the development of new technologies for the processing of this fruit, since it has been proven that different parts of this fruit have functional properties. The objective of this work was to characterize and extract antioxidant and antimicrobial compounds from the shell of the powdered jambolão, by means of a complete factorial experimental design, in order to obtain an optimized extract (EO), which was later incorporated in bio-degradable packages. For this, initially the fruit was pulped and separated the pulp and bark fractions, where a batch of bark was submitted to drying at 40 ° C to obtain the powder. The three samples were characterized physicochemically and as to the content of bioactive compounds. Twelve extracts were produced from the powder, based on an experimental design 32, which were evaluated for anti-oxidant activity (ABTS +, DPPH, FRAP) and antimicrobial (Disk diffusion, MIC) for seven strains of microorganisms. The results were analyzed by response surface methodology, in order to optimize the best extraction condition, on which total phenolic compounds (CFT), total flavonoids (FT) and total monomeric anthocyanins (TMA) were analyzed. Different EO proportions were then incorporated into cellulose acetate and starch films with chitosan and these were characterized in terms of color, antioxidant and antimicrobial properties in vitro. It was observed that the levels of CFT, FT, TMA and total antioxidant activity of the peel were about ten times higher than those of the pulp. In addition, it was verified that all the extracts produced with the flour had high antioxidant activity and were effective against the microorganisms *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* and the best response was obtained when using 70% ethanol and 1:10 sample: solvent ratio. In the EO, results were obtained from 36.50mg GAE / g for CFT, 1.94mg QE / g for FT, 1269 mgCE / 100g for TMA and 40.0mg AAE / 100g for Ascorbic Acid.Regarding the films, it was observed that in different EO concentrations, there was a significant difference in color of the treatments when compared to the control in both bases. As for the antioxidant activity of biofilms, it was observed that in the DPPH and FRAP methods, all treatments varied among them, except in the ABTS method. This activity was proportional to the concentration of EO applied, however, in the cellulose films a greater increase was verified in relation to the control, when compared to the starch. It was also verified that only the biofilms of starch presented inhibitory effects, being obtained for S. *aureus* from 20% of the EO, and for *L.monocytogenes* in a concentration equal to or greater than 40% of EO, soon this showed itself moreresistant. Thus, the richness of compounds exhibited by Jamelão peel powder, which when applied in packages, became once normal matrices in active, especially with respect to the antioxidant aspects.

Keywords: *Syzygium cumini*.Optimization. Antioxidants. Antimicrobials. Active Films.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Jambolão (*Syzygium cumini*).....17
Figura 2 – Arvore *Syzygium cumini* (jambolão) 18
Figura 3 – Fruto do jambolão (*Syzygium cumini*).....19
Figura 4 - Estrutura dos carotenóides.....24
Figura 5 – Estrutura química dos flavonoides.....26
Figura 6 – Estrutura das principais classes de flavonóides.....27
Figura 7 - Estrutura geral das antocianinas.....28
Figura 8 - Estabilização do radica ABTS+ por antioxidante.....29
Figura 9- Representação esquemática do comportamento do radical DPPH utilizado na determinação da atividade antioxidante.....30
Figura 10 – Produção do complexo TPTZ com Fe^{3+} 31
Figura 11 - Fluxograma das etapas de desenvolvimento do trabalho.....40
Figura 12 – Amostras de Jambolão.....41
Figura 13 - Casca do jambolão em pó.....42
Figura 14 – Produção de solução filmogência a 4% de amido.....54
Figura 15 - Efeito das variáveis concentração e razão nos valores de EC50% para o radical DPPH …….....…72
Figura 16 – Gráficos de média e limites de confiança a 95% para concentração de etanol (A) e razão (B) nos valores de EC50% para o radical DPPH . …….....…….72
Figura 17- Efeito das variáveis concentração e razão nos valores de atividade antioxidante para o radical ABTS.....74
Figura 18- Superfície de reposta do efeito da concentração de etanol (%v/v) e proporção amostra: solvente (g/mL) na atividade antioxidante por ABTS.....75
Figura 19- Efeito das variáveis concentração e razão nos valores de atividade antioxidante para o método FRAP.....76
Figura 20- Superfície de reposta do efeito da concentração de etanol (%v/v) e proporção amostra: solvente (g/mL) na atividade antioxidante por FRAP.....78
Figura 21- Efeito das variáveis concentração e razão nos valores de atividade antimicrobiana dos extratos frente a *S.aureus*.....82
Figura 22- Efeito das variáveis concentração e razão nos valores da concentração mínima inibitória dos extratos frente a *S.aureus*.....82

Figura 23- Superfície de reposta do efeito da concentração de etanol (%v/v) e proporção amostra: solvente (g/mL) na atividade antimicrobiana do extratos frente a *S.aureus*.....85
Figura 24 – Superfície de resposta do efeito da concentração de etanol (%v/v) e proporção amostra: solvente (g/mL) na concentração mínima inibitória dos extratos frente à *S.aureus*.....85
Figura 25 - Efeito das variáveis concentração e razão nos valores de atividade antimicrobiana dos extratos frente a *L.monocytogenes*.....87
Figura 26- Gráficos de média e limites de confiança a 95% para concentração de etanol (A) e razão (B) nos valores da zona de inibição para o microrganismo *L.monocytogenes*.....87
Figura 27- Efeito das variáveis concentração e razão nos valores da concentração mínima inibitória dos extratos frente a *L.monocytogenes*.....88
Figura 28- Superfície de resposta do efeito da concentração de etanol (%v/v) e proporção amostra: solvente (g/mL) na concentração mínima inibitória dos extratos frente à *L.monocytogenes*.....89
Figura 29- Tentativa de Elaboração dos filmes de acetato de celulose com 40% (A) e 60% (B) do extrato otimizado.....97
Figura 30- Filmes de acetato de celulose, incorporados com 10, 15 e 20 % de EO.....97
Figura 31- Filmes de amido com 1% de quitosana, incorporados com 20, 40 e 60 % de EO.....98
Figura 32- Atividade antimicrobiana dos filmes de amido incorporados com 40% (B e D) e 60% (A e C) de extrato frente a *L.monocytogenes* (A e B) e *S.aureus* (C e D).....107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos bioativos identificados em diferentes partes do jambolão.....20
Tabela 2 - Classe de compostos fenólicos em planta.....25
Tabela 3 - Variáveis independentes avaliadas no Planejamento Experimental Fatorial Completo.....47
Tabela 4 – Planejamento experimental fatorial completo.....47
Tabela 5 - Caracterização físico-química de amostras de Jambolão.....56
Tabela 6 - Avaliação dos parâmetros de cor das amostras de Jambolão.....59
Tabela 7 - Médias das avaliações de Clorofila, Carotenóides, β-Caroteno e Vitamina C, presentes nas amostras de Jambolão.....61
Tabela 8- Média dos compostos bioativos referente aos compostos fenólicos totais (CFT), Flavonóides totais (FT) e Antocianinas monoméricas totais (TMA) da polpa e casca do jambolão.....63
Tabela 9 – Atividade antoxidante da polpa e casca *in natura* do jambolão em base seca.....67
Tabela 10 - Planejamento fatorial, com valores reais e codificados para o estudo do efeito das variáveis na capacidade antioxidante da farinha da casca de jamelão.....71
Tabela 11 - Efeitos da concentração de etanol e proporção do planejamento fatorial completo 3^2 na atividade antioxidante por ABTS.....74
Tabela 12 - Analise de variância no estudo do efeito das variáveis, concentração de etanol e proporção amostra/solvente na atividade antioxidante dos extratos pelo método ABTS.....75
Tabela 13 - Efeitos da concentração de etanol e proporção do planejamento fatorial completo 3^2 na atividade antioxidante por FRAP.....77
Tabela 14 - Analise de variância no estudo do efeito das variáveis, concentração de etanol e proporção amostra/solvente na atividade antioxidante dos extratos pelo método FRAP.....77
Tabela 15 - Planejamento fatorial, com valores reais e codificados para o estudo do efeito das variáveis na atividade antimicrobiana da farinha da casca de Jamelão frente ao microorganismo *S.aureus*.....81
Tabela 16 - Estimação de efeitos da concentração de etanol e proporção do planejamento fatorial completo 3^2 na atividade antimicrobiana por disco-difusão para *S. aureus*.....83
Tabela 17 - Estimação de efeitos da concentração de etanol e proporção do planejamento fatorial completo 3^2 na concentração mínima inibitória para *S. aureus*.....83

Tabela 18 - Analise de variância no estudo dos modelos para efeito das variáveis, concentração do etanol e razão amostra/solvente na atividade antimicrobiana dos extratos frente a *S.aureus* por métodos distintos.....84
Tabela 19 - Planejamento fatorial, com valores reais e codificados para o estudo do efeito das variáveis na atividade antimicrobiana da farinha da casca de Jamelão frente ao microorganismo *L.monocytogenes*.....86
Tabela 20-Estimação de efeitos da concentração de etanol e proporção do planejamento fatorial completo 3^2 na concentração mínima inbitória para *L.monocytogenes*.....88
Tabela 21- Analise de variância no estudo dos modelos para efeito das variáveis, concentração do etanol e razão amostra/solvente na concentração mínima inibitória dos extratos frente a *L.monocytogenes*.....88
Tabela 22- Condições otimizadas para extração de compostos com alta atividade antioxidante e antimicrobiana por meio do planejamento fatorial completo (3^2) para diferentes métodos.....93
Tabela 23- Compostos bioativos presentes no extrato escolhido para aplicação por meio do planejamento fatorial completo (3^2).....94
Tabela 24 - Valores dos parâmetros L*, a*, b*,c* ,H e ΔE médios dos filmes biopoliméricos de amido com quitosana e acetato de celulose adicionados do EO em diferentes concentrações.....98
Tabela 25- Atividade antioxidante dos filmes biopoliméricos de acetato de celulose adicionados do EO em diferentes concentrações.....102
Tabela 26- Atividade antioxidante dos filmes biopoliméricos de amido com quitosana adicionados do EO em diferentes concentrações.....103
Tabela 27- Avaliação da atividade antibacteriana dos filmes de celulose e amido controle e adicionados do EO frente aos patógenos *S.aureus e L.monocytogenes*.....106

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO.....14

2 REVISÃO DE LITERATURA.....16

2.1 Resíduos Agroindustriais.....16

2.2 Jambolão.....17

2.3 Antioxidantes.....21

2.3.1 Vitamina C.....23

2.3.2 Carotenóides.....23

2.3.3 Compostos Fenólicos.....24

2.3.3.1 *Flavonóides*.....25

2.3.3.1.1 *Antocianinas*.....27

2.3.4 Atividade Antioxidante.....28

2.3.4.1 *Método ABTS+*.....29

2.3.4.2 *Método DPPH*.....29

2.3.4.3 *Método FRAP*.....31

2.4 Antimicrobianos.....31

2.4.1 Atividade Antimicrobiana.....32

***2.4.1.1 Testes de difusão em Agar*.....32**

***2.4.1.2 Testes de diluição em caldo*.....34**

2.5 Embalagens para alimentos 35

2.5.1 Embalagens biodegradáveis ativas.....35

***2.5.1.1 Embalagens antioxidantes*.....36**

2.5.1.2 *Embalagens antimicrobianas*.....37

3 OBJETIVOS.....39

3.1 Objetivo Geral.....39

3.2 Objetivos específicos.....39

4 MATERIAIS E MÉTODOS.....40

4.1 Matéria-prima.....41

4.2 Obtenção do pó da casca do jambolão.....41

4.3 Análises físico-químicas.....42

4.3.1 Determinação de Umidade.....42

4.3.2 Determinação de Cinzas.....42

4.3.3 Determinação de lipídios.....42

4.3.4 Determinação do Potencial hidrogênionico.....42
4.3.5 Determinação da acidez total titulável.....42
4.3.6 Determinação do teor de sólidos solúveis.....43
4.3.7 Determinação da Cor.....43
4.4 Determinação dos compostos bioativos.....43
4.4.1 Determinação de clorofila, carotenóides totais e β-caroteno.....43
4.4.2 Determinação de ácido ascórbico.....44
4.4.3 Determinação dos compostos fenólicos totais (CFT), flavonóides totais (FT), antocianinas monoméricas totais (TMA).....44
***4.4.3.1 Extração da amostra*.....45**
***4.4.3.2 Determinação de compostos fenólicos*.....45**
***4.4.3.3 Determinação de Flavonoides totais*.....45**
***4.4.3.4 Determinação de Antocianinas monoméricas totais*.....45**
4.5 Otimização da produção de extratos com capacidade antioxidante e antimicrobiana.....46
4.5.1 Planejamento experimental e produção dos extratos.....46
4.5.2 Determinação da massa de extrato seco.....47
4.5.3 Determinação da capacidade antioxidante.....47
***4.5.3.1 Método de captura do radical DPPH*.....48**
***4.5.3.2 Método de captura do ABTS+*.....48**
***4.5.3.3 Método do poder redutor do ferro(FRAP)*.....49**
4.5.4 Avaliação da Atividade Antimicrobiana.....49
***4.5.4.1 Preparo do inóculo*.....49**
***4.5.4.2 Método disco-difusão*.....50**
***4.5.4.3 Concentração mínima inibitória (MIC)*.....50**
4.5.5 Análise dos resultados e Quantificação dos compostos bioativos do extrato de aplicação.....51
4.5.6 Determinação de fenólicos totais e Vitamina C do extrato otimizado.....52
***4.5.6.1 Preparo dos extratos*.....52**
***4.5.6.2 Determinação do conteúdo de compostos fenólicos e vitamina C*.....52**

4.6 Desenvolvimento e testes *in vitro* das embalagens biodegradáveis ativas.....53
4.6.1 Produção dos filmes ativos.....53
4.6.2 Análise Colorimétrica dos filmes.....54
4.6.3 Determinação da atividade antioxidante dos filmes.....54
***4.6.3.1 Método ABTS+*.....55**
4.6.3.2 *Método DPPH*.....55
4.6.3.3 *Método FRAP*.....55
4.6.4 Determinação da atividade antimicrobiana.....55
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....56
5.1 Características físico-químicas presentes nas amostras de Jamelão.....56
5.2 Compostos bioativos e atividade antioxidante presentes nas amostras de Jamelão.....60
5.3 Otimização da produção de extratos com capacidade antioxidante e antimicrobiana.....70
5.3.1 Atividade Antioxidante da farinha da casca.....70
5.3.1.1 DPPH.....72
5.3.1.2 ABTS.....73
5.3.1.3 FRAP.....76
5.3.2 Atividade Antimicrobiana da farinha da casca.....80
5.3.2.1 *Staphylococcus aureus*.....81
5.3.2.2 *Listeria monocytogenes*.....85
5.4 Determinação do extrato de aplicação e quantificação dos compostos bioativos.....93
5.5 Desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos a partir da incorporação do EO.....96
5.5.1 Obtenção e análise colorimétrica dos filmes ativos.....96
5.5.2 Atividade antioxidante dos filmes ativos.....102
5.5.3 Atividade Antimicrobiana dos filmes ativos.....105
6 CONCLUSÃO.....109
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....111

1 INTRODUÇÃO

O Brasil tem a maior biodiversidade do mundo, que inclui um grande número de espécies frutíferas (LETERME *et al.,* 2006). Essa elevada produção de diferentes variedades de frutíferas nativas ou adaptadas é decorrência da extensão do território e sua inserção, em grande parte, nas zonas de clima tropical e temperado (GRANADA *et al.,*2004). Porém, muitas espécies de frutas ainda são desconhecidas e, por conseguinte, são relativamente poucas as espécies que se encontram comercialmente disponível no Brasil (MATTIETTO *et al.,* 2010).

A alta produção de frutos de jambolão (*Syzygium cumini*) durante a safra e a falta de informações sobre o seu processamento destacam a adequação de tecnologias convencionais e o desenvolvimento de novas tecnologias para o processamento dessa fruta, de forma a promover um aproveitamento mais rentável, mediante a agregação de valor (LAGO *et al.,* 2006).

Diferentes partes do desse fruto são amplamente utilizados na medicina popular em virtude de suas propriedades funcionais. Pesquisadores identificaram a presença de elevados teores antocianinas no seu fruto, demonstrando o seu potencial antioxidante e atividade anti-diabetes, antifúngicas e antibacterianas. Além disso, apresentam outras substâncias com propriedades funcionais tais como outros compostos fenólicos, flavonóides, carotenóides e ácido elágico (AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012; SARI *et al.*, 2012).

Os benefícios à saúde atribuídos aos alimentos ricos em compostos fenólicos e outros antioxidantes (como ácido ascórbico e carotenóides) têm elevado a procura por novas espécies botânicas que possuam, além dessa propriedade, uma atividade biológica complementar relevante (CÉSPEDES *et al.,* 2008).

Sabe-se, que quando industrializada, a fruta gera um enorme volume de resíduos que, quando não se tem um local adequado para o descarte, pode provocar danos ao meio ambiente (COELHO, 2012). Com issoas indústrias das áreas farmacêutica, cosmética e de alimentos têm grande interesse na obtenção de extratos e óleos a partir desses resíduos elaborando aromatizantes, antioxidantes, corantes, além decosméticos e perfumes (MEZZOMO *et al.,* 2009).

A tecnologia de embalagens de alimentos está em constante evolução, em resposta a desafios crescentes de uma sociedade moderna mais atual. Futuros desafios para embalagens de bens de consumo incluem mudanças rápidas na legislação, mercados globais, vida útil mais

longa, conveniência, alimentos mais seguros e saudáveis, autenticidade, desperdício de alimentos e preocupações ambiental (KERRY, 2014).

Tendo em vista o impacto ambiental gerado pelos polímeros convencionais, e como forma de minimização deste, os polímeros naturais como materiais de embalagens de alimentos, vem sendo estudados, pois têm como vantagens a biodegradabilidade,a obtenção à partir de recursos renováveis e de serem potencialmente comestíveis (QUINTERO *et al.*, 2012).

Dentre os materiais biodegradáveis que podem ser utilizados em substituição aos plásticos, na embalagem de alimentos, estão os de origem biológica como os polissacarídeos, proteínas, lipídios ou suas combinações. Dos polissacarídeos estudados, o amido é um dos que vem sendo explorados para a produção de materiais termoplásticos biodegradáveis, devido ao seu baixo custo, disponibilidade e produção a partir de fontes renováveis (PELISSARI, 2009).

Outras opções são a quitosana, polissacarídeo derivado da quitina, e o acetato de celulose, obtido a partir da acetilação da celulose, os quais têm sido considerados excelentes materiais para a concepção de revestimentos de alimentos bem como estruturas de embalagens (UGALDE, 2014).

Dentre os diferentes tipos de embalagens, a embalagem ativa pode ser definida como aquela que além de funcionar como uma barreira a influências externas interage com o produto e, em alguns casos pode responderàs mudanças do ambiente. Para que um sistema seja considerado de embalagem ativa deve acumular funções adicionais, entre as quais podem ser destacadas: (a) absorção de compostos que favorecem a deterioração, (b) liberação de compostos que aumentam a vida útil, e (c) monitoramento da vida útil (AZEREDO, 2012).

Assim a incorporação de compostos bioativos presentes nos resíduos gerados pela industrialização de vegetais em filmes biodegradáveis promoveria um novo meio para a melhoria da segurança e da vida útil de alimentos prontos para o consumo, propiciando dessa forma uma importante área para novos estudos (BODINI *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar e extrair compostos antioxidantes e antimicrobianos da casca do jambolão em pó por meio de um planejamento experimental, de modo a otimizar as condições de extração e a aplicar o extrato otimizado no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis ativas.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Obter a polpa e casca do jambolão *in natura* por despolpamento e a casca em pó através da secagem da mesma a 40°C.
- ✓ Caracterizar físico quimicamente a polpa e casca do Jamelão *in natura* e a farinha por meio das análises de umidade, cinzas, lipídeos, pH, acidez e sólidos solúveis.
- ✓ Determinar os compostos bioativos, por meios dos teores de clorofila, carotenóides totais, vitamina C e β-Caroteno presentes nas amostras *in natura* e seca e os teores de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, antocianinas totais e atividade antioxidante nas amostras *in natura*.
- ✓ Otimizar as condições de extração dos compostos antioxidantes e antimicrobianos da casca do jambolão em pó, por meio de um planejamento experimental tendo como variáveis independentes proporção amostra/solvente e concentração do etanol, através da técnica assistida por ultrassom.
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante dos extratos por três métodos distintos DPPH, ABTS+ e FRAP.
- ✓ Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos pelo método disco-difusão e a concentração mínima inibitória pelo método de microdiluição em caldo.
- ✓ Avaliar os resultados por metodologia de superfície de resposta e escolher o melhor extrato para incorporação.
- ✓ Quantificar o teor de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, antocianinas e ácido ascórbico que será incorporado nos filmes ativos.
- ✓ Desenvolver filmes ativos utilizando duas bases poliméricas, acetato de celulose e amido com quitosana com variação da quantidade do extrato.
- ✓ Avaliar à cor e a atividade antimicrobiana e antioxidante in vitro das embalagens produzidas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Resíduos agroindustriais

No Brasil, resíduos de frutas e hortaliças são desperdiçados geralmente em todos os pontos de comercialização até o consumo final, aproximadamente 64% do que se planta no Brasil é perdido ao longo da cadeia produtiva, sendo: 20% na colheita, 8% no transporte e armazenamento, 15% na indústria de processamento, 1% no varejo e 20% no processamento culinário e hábitos alimentares (BERGAMASCHI, 2010).

Após o processamento, as frutas geram subprodutos, os quais muitas vezes, não possuem um destino específico, destinando-se à ração animal outornando-se contaminantes ambientais e, consequentemente, gerando custos operacionais às empresas, pois necessitam de tratamento para o descarte (INFANTE *et al.,* 2013). Sendo assim, esses resíduos poderiam ser utilizados como fontes alternativas de micronutrientes, melhorando processos fisiológicos do corpo, já que são ricos em compostos bioativos, além de diminuir o desperdício, reduzir o impacto ambiental e agregar valor aos subprodutos (ALBUQUERQUE, 2009; BERGAMASCHI, 2010).

Desta maneira, a indústria alimentícia, que até então não demonstrava maior preocupação com o reaproveitamento de resíduos, vem se mostrando aberta ao diálogo para empregar os resultados das novas pesquisas nas etapas produtivas, uma vez que estão verificando a real possibilidade de agregar valor ao seu negócio (ALENCAR, 2009).

Partindo desse contexto, estudos vêm sendo feitos para determinar a melhor forma de reciclar, tratar, reaproveitar e reutilizar os resíduos vegetais. Quando não é possível ou recomendável o aproveitamento de resíduos "*in natura*", técnicas de tratamento devem ser aplicadas com o intuito de proporcionar transformações químicas e físicas proveitosas (MATOS, 2005). Porém, para o aproveitamento desses resíduos como fonte de nutrientes para a alimentação animal e/ou humana ou como matéria-prima para a extração de aditivos antioxidantes, é necessário o conhecimento de sua composição (LU e YEAP, 2000).

Dentre as várias alternativas já existentes para evitar o descarte inapropriado e desperdício das partes usualmente não consumíveis destaca-se o aproveitamento para a produção de farinhas (AZIZ *et al.,* 2012; PELISSARI *et al.,*2012) que podem ser aplicadas em sobremesas instantâneas, panificados tais como bolos, pães e *cookie*s (AJILA *et al.,* 2010; COELHO; WOSIACKI, 2010; LOPEZ *et al.,* 2011).

Segundo Ayala-Zavala *et al*. (2011), as propriedades antioxidantes dos compostos bioativos, são capazes de inibir a oxidação de moléculas, evitando o início ou propagação das reações de oxidação em cadeia e consequentemente, o consumo de alimentos que os

contenham está diretamente relacionado a efeitos benéficos à saúde, tais como redução do risco de câncer, Alzheimer, catarata e Parkinson.

Não obstante a isso, o aumento da demanda por alimentos livres de aditivos artificiais, faz com que esses resíduos agroindustriais, ricos em antioxidantes naturais,sejam empregados em substituição aos antioxidantes sintéticos, colaborando para fins de segurança alimentar e agregando valor aos subprodutos. Garantindo dessa forma o retardo da oxidação lipídica e a inibição e crescimento de diversos microrganismos deteriorantes e patogênicos (BERNARDI *et al.*, 2008; INFANTE *et al.*, 2013).

3.2 Jambolão

Dentre inúmeras frutas, o jambolão é obtido de uma árvore pertencente à família Myrtaceae, botanicamente classificada como *Eugenia jambolana*, e, posteriormente, reclassificada, como *Syzygium cumini* (Figura 1) (LAGO *et al.*, 2006).

Figura 1- Fotografia do jambolão

Fonte:Baliga *et al*. (2011)

As mirtáceas, em grande número intertropicais, compreendem mais de 4620 espécies, agrupadas em 129 gêneros e em 5 tribos, que se dividem em duas seções: a primeira contém as *Myrteas*, as *Lepiospermeas* e as *Chamelauceas*, e a segunda pertence as *Lecythideas* e as *Puniceas*. As pertencentes à primeira seção possuem as espécimes contendo bolsas secretoras, ao contrário das pertencentes à segunda seção (DI STASI e HIRUMA-LIMA, 2002).

O gênero *Syzygium* (sinônimo: *Eugenia*) possui 14 espécies, incluindo *Eugenia uniflora L.*, *Eugenia punissifolia*, *Syzygium jambos* (L.) Alst e *Syzygium jambolanum* DC., todas possuindo comprovado efeito fisiológico em várias espécies, incluindo o homem (ALBERTON *et al.*, 2001). No Brasil, tanto o *S. jambos* (L.) Alston., como *S. jambolanum*DC. são popularmente conhecidos como jambolão (PEPATO *et al.*, 2001).

São inúmeros os efeitos reconhecidos dessas plantas, as folhas de *S. jambos* possuem ação hipotensiva, enquanto as folhas e brotos de flores da espécie *jambolanum* são considerados diuréticos. Ainda em relação à *S. jambolanum*, as cascas têm mostrado efeito antidiarréico bem como uma ação inibitória contra a atividade da protease HIV-1, enquanto as sementes têm mostrado efeito anticonvulsivante (PEPATO *et al.*,2001). E suas árvores são famosas por suas frutas e seus nomes coloquiais conhecidos popularmente, como jamelão, cereja, jalão, kambol, jambu, jambul, azeitona-do-nordeste, ameixa-roxa, azeitona, murta, baga-de-freira, guapê, jambuí, azeitona-da-terra dentre outros nomes (PEREIRA *et al*., 2015).

A espécie *Syzygium cumini* (L),é uma grande árvore nativa dos trópicos mais precisamente do subcontinente indiano, bem como da Tailândia, Filipinas e Madagascar. No entanto, atualmente estas árvores também são encontradas em todo o subcontinente asiático, e em muitos países tropicais como a África Oriental, América do Sul, e na América Latina. No Brasil, está difundida por todo litoral onde é encontrada em diversos estados das regiões Sudeste, Nordeste e Norte. Além disso, também é encontrada em algumas regiões subtropicais dos Estados Unidos da América, Argélia e Israel (LI *et al.*, 2009; SILVA S.B.N. *et al.*, 2012; SWAMI *et al.*, 2012).

Sua árvore de grande porte pode alcançar vários metros de altura (Figura 2) com folhagem abundante, ramos de coloração acinzentada-claro, com fissuras escuras e cicatrizes foliares bastante aparentes (MIGLIATO *et al.*, 2007).

Figura 2- Árvore *Syzygium cumini* (L.) (jambolão)

Fonte: Migliato *et al*. (2007)

Os frutos (Figura 3), que são carnosos do tipo baga, se assemelham bastante às azeitonas. São elípticos, apresentando cerca de 3 a 4 cm de comprimento e 2 cm de diâmetro. Sua coloração, inicialmente branca, torna-se vermelha e posteriormente roxa escura intensa

quase preta, quando maduros. Além disso, possui uma única semente, envolvido por uma polpa carnosa e comestível, mucilaginosa, com sabor ácido e doce, porém adstringente, mas sendo geralmente agradáveis ao paladar. Sua frutificação ocorre de janeiro a maio (MIGLIATO *et al.*, 2007; VIZZOTO e FETTER, 2009)

Figura 3- Frutos do jambolão

Fonte :Vizzoto e Fetter(2009)

No Brasil, o fruto é geralmente consumido *in natura*, porém esta fruta pode ser processada na forma de compotas, licores, vinhos, vinagre, geleias, tortas, doces, entre outras (AYYANAR e SUBASH-BABU, 2012). Em relação à composição química, este fruto apresenta aproximadamente 88% de água, 0,34% de cinzas, 0,30% de lipídeos, 0,67% proteínas, 5,91% de acidez (ácido cítrico), 10,7% de carboidratos totais, 1% de açúcares redutores, 0,28% de fibra alimentar, 9,0ºBrix e pH de 3,9. O principal mineral encontrado nesta fruta é o fósforo e a vitamina em maior abundância é a vitamina C (VIZZOTO e FETTER, 2009).

O fruto do jambolão (*Syzygium cumini* L.) tem sido utilizado na medicina popular por apresentar propriedades funcionais e diversos estudos têm revelado que os compostos bioativos presentes nas folhas, casca e polpa possuem uma potente ação antioxidante, que podem promover prevenção contra algumas enfermidades (ANGELO e JORGE, 2007; FARIA *et al.*, 2011). Dentre os compostos fitoquímicos encontrados nas diferentes partes da planta encontram-se os flavonóides como as antocianinas, quercetina, rutina, mirecetina com seus glicosídeos (açúcares) e os taninos hidrolisáveis. Ainda há a presença do polifenol, ácido elágico, que deve ser considerada por ser uma substância comprovadamente eficaz na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (VIZZOTO e FETTER, 2009). Na Tabela 1 são apresentados os compostos bioativos encontrados nas diferentes partes da planta.

Tabela 1-Compostos bioativos identificados em diferentes partes do jamelão.

Parte da planta	Classe de Metabólitos	Compostos identificados	Referência
Folha	Flavonóides	catequina, kaempferol, miricetina, miricetina 3 -β- D- glucopiranósido, miricetina -4- metil éter, 3- O- α-ramnopiranosídeo, miricetina 4 " - O- etilo, miricetina 4 " - O-acetil-2- O-galato, miricetina, quercetina - 3- O- α- ramno-piranósido	Mahmoud *et al.*, 2001
	Ácidos fenólicos	Ácido caféico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido ferulico, ácido gálico	Mahmoud *et al.*, 2001; Timbola *et al.*, 2002; Ruan *et al.*, 2008.
	Taninos	Nilocetina	Mahmoud *et al.*, 2001
	Terpenos	α-pineno, α-cadinol, pinocarvone, pinocarveol, α-terpineol, mirtenol, eucarbon, muurolol, myrtenal, cineol, geranilacetona	Shafi *et al.*, 2002; Mohamed *et al.*, 2013
Sementes	Flavonóides	quercetina, rutina, 3,5,7,4-tri flavanone	Bhatia and Bajaj, 1975; Karthic *et al.*, 2008.
	Ácidos fenólicos	ácido caféico, ácido elágico, ácido ferúlico, ácido gálico	Bhatia and Bajaj, 1975
	Taninos	corilagina, 3,6-HHDP glicose, glicose 4,6-HHDP, glucose 1-galloyl, 3-galloyl glicose	Bhatia and Bajaj, 1975.
	Terpenos	α-terpineol, β-pineno, β-terpineno, ácido betulínico, o eugenol	Williamson *et al.*, 2002; Karthic *et al.*, 2008
Frutas	Flavonóides	miricetina, deoxyhexose miricetina	Gordon *et al.*, 2011
	Ácidos fenólicos	Ácido elágico, ácido gálico	Reynertson *et al.*, 2008; Gordon *et al.*, 2011
	Taninos	HHDP-galloyl glicose, pentagalloylglucose	Gordon *et al.*, 2011
	Terpenos	citronelol, geraniol, hotrienol, nerol, β-feniletanol, fenilpropanal	Vernin *et al.*, 1991
	Antocianinas	Cianidina, delfinidina, petunidina	Veigas *et al.*, 2007

Flores	Flavonóides	kaempferol, miricetina, dihidromiricetina, miricetina-3-L-arabinósido, Isoquercetina, quercetina, quercetina-3-d-galactósido	Subramanian e Nair, 1972
	Ácidos fenólicos	Ácido elágico	Baliga *et al.*, 2011
	Terpenos	eugenol, ácido oleanólico	Ramya *et al.*, 2012
Casca do caule	Flavonóides	miricetina, quercetina, kaempferol	Baliga *et al.*, 2011
	Ácidos fenólicos	ácido 3,3'-di-O-metil elágico, 3,3 ', ácido elágico 4-tri-O-metilo, ácido gálico	Bhatia e Bajaj, 1975; Ramya *et al.*, 2012
	Terpenos	β-siterol, friedelina, ácido betulínico	Ramya *et al.*, 2012

Fonte: Chagas *et al* (2015, p. 259).

Além desses compostos, este fruto também conta com propriedades farmacológicas como hepaprotetora (SHARMA *et al.*, 2013), gastroprotetora, anti-neoplásica, antiflamatória, antiviral (BALIGA *et al.*, 2011), antibacteriana (MOHAMED *et al.*, 2013), antifúngica (SHAFI *et al.*, 2012) e antiparasitária (RIBEIRO *et al.*, 2014).

3.3 Antioxidantes

Os antioxidantes são compostos que atuam inibindo e/ou diminuindo os efeitos desencadeados pelos radicais livres e compostos oxidantes. São importantes no combate aos processos oxidativos, com menores danos ao DNA e às macromoléculas, amenizando assim os danos cumulativos que podem desencadear doenças como o câncer, cardiopatias e cataratas (SANTOS *et al.*, 2008).

Os radicais livres são produzidos em células normais e patológicas no metabolismo, considerando que a oxidação é indispensável para o organismo na produção de energia para alimentar os processos biológicos. As moléculas orgânicas, inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres (SOARES *et al.*, 2008)

A oxidação lipídica é uma reação química que ocorre em alimentos e ocasiona o desenvolvimento de sabor e aroma de ranço. A rancidez oxidativa por sua vez pode conduzir à formação de *off-flavors*, bem como de compostos nocivos. Ambos são considerados uma das principais causas de deterioração da qualidade dos alimentos e da rejeição de produtos.Todavia além da perda de qualidade do produto ocorre também mudança de cor e de textura com consequente diminuição da aceitação do consumidor e perdas nutricionais devido

à degradação dos ácidos graxos essenciais e vitaminas. Sendo assim, para evitar a degradação do alimento devido à oxidação, o emprego de antioxidantes tornou-se uma necessidade para produtos alimentares que são sensíveis a este tipo de transformação química (DECKER *et al.*, 2010; EMBUSCADO, 2015).

Os antioxidantes podem impedir a peroxidação lipídica utilizando os seguintes mecanismos: prevenindo a inibição da cadeia por eliminação de radicais que a iniciam, quebrando reação em cadeia, decompondo peróxidos, diminuindo as concentrações de oxigênio localizadas e catalisadores da cadeia de iniciação, como íons metálicos (DORMAN *et al.*,2003).

Há um grande número de compostos que têm sido propostos com atividade antioxidante, mas apenas algumas podem ser usadas em produtos alimentares. O uso de antioxidantes em alimentos é controlado por leis de regulamentação de um país ou normas internacionais (KARRE *et al.*, 2013).

Compostos químicos que possuem atividade antioxidante geralmente são aromáticos e contém pelo menos uma hidroxila podendo ser sintéticos ou naturais. Antioxidantes sintéticos como o butilhidroxianisol (BHA), o butilhidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e propilgalato (PG), são largamente utilizados pela indústria de alimentos (OLIVEIRA *et al.*,2007). Entretanto, estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade desses compostosapresentarem efeito carcinogênico em experimentos com animais (RAMALHO e JORGE, 2006).

Dessa forma, a busca de novos antioxidantes de origem natural presentes nos alimentos e outros materiais biológicos têm atraído grande interesse devido à sua suposta segurança, potencial nutricional e valor terapêutico (AJILA, 2007).

Os antioxidantes naturais são denominados de substâncias bioativas, as quais incluem os organosulfurados, os fenólicos (tocoferóis, flavonóides e ácidos fenólicos), os terpenos, carotenóides e o ácido ascórbico que fazem parte da constituição de diversos alimentos (OLIVEIRA *et al.*,2007).

As plantas são persistentemente a fonte generosa para fornecer ao homem essas valiosas substâncias bioativas (TAYEL e EL-TRAS, 2012) e, portanto, diferentes produtos vegetais são avaliados como antioxidantes naturais para preservar e melhorar a qualidade geral de alimentos. Estes antioxidantes naturais, sob a forma de extratos, são obtidos a partir de diferentes fontes, tais como frutas (uvas, romã, tangerina), legumes (brócolis, batata, abóbora, urtiga), ervas e especiarias (chá, alecrim, orégano, canela, sálvia, tomilho, menta, gengibre, cravo da índia), mas especial atenção tem sido dada às frutas, pois são fontes ricas

de vitamina C, carótenoides e compostos fenólicos (DAS *et al.,* 2012; DEVATKAL *et al.*, 2010; HUANG *et al*, 2011).

3.3.1 Vitamina C

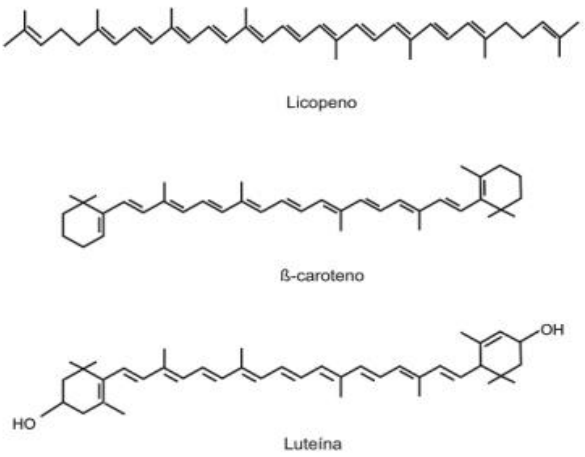
O ácido ascórbico é considerado um dos mais potentes e o menos tóxico dos antioxidantes naturais. É um sequestrador muito eficaz de radicais, tais como: o ânion superóxido, o radical hidroxila, o peróxido de hidrogênio e o oxigênio singlete. Em soluções aquosas, também combate eficientemente espécies reativas de nitrogênio, impedindo a nitrosação de moléculas. Entretanto, em algumas situações, ácido ascórbico também pode atuar como pró-oxidante. Na presença de metais com mais de um estado de valência, como o Fe2+ e o Cu+, os radicais ascorbato e hidroxila podem ser gerados, iniciando o processo de peroxidação lipídica. Entre as principais fontes de vitamina C, estão os frutos cítricos, acerola, goiaba e kiwi, além de algumas hortaliças, como brócolis, couve de Bruxelas, tomate e pimentão (SUCUPIRA *et al.,* 2012).

3.3.2 Carotenóides

Os carotenoides são pigmentos naturais lipossolúveis, amarelos, laranjas e vermelhos, presentes em muitas frutas e hortaliças e possuem papel muito importante na fisiologia dos vegetais, conferindo-lhes cor e participando da fotossíntese, conjuntamente com a clorofila. E apesar de existirem diversos tipos de carotenoides, apenas seis são detectados no sangue humano, e este grupo inclui α- e β-caroteno, licopeno, β-criptoxantina, luteína e zeaxantina, que estão regularmente presentes nos alimentos (FERNÁNDEZ-GARCÍA *et al*., 2012).

Alguns carotenoides são precursores fisiológicos da vitamina A (retinol), principalmente β- caroteno, α-caroteno, e β-criptoxantina, e possuem um ou dois anéis β-ionona. A cadeia polieno, que é um longo sistema de ligação dupla conjugada da molécula de carotenoides, influencia suas propriedades químicas, físicas e bioquímicas (Figura 4). O sistema também confere a estes pigmentos alta reatividade química e é responsável pela atividade antioxidante dos carotenoides, tanto na absorção do oxigênio singleto, que constitui uma forma altamente reativa do oxigênio molecular, quanto de radicais livres, para interromper as reações em cadeia onde eles estão envolvidos. (FERNÁNDEZ-GARCÍA et al., 2012; GULÇIN, 2012). Além disso, os carotenóides possuem caráter lipofílico, atuando como antioxidante sobre as lipoproteínas LDL e HDL (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

Figura 4- Estrutura dos carotenóides



Fonte: Sucupira *et al.* (2012)

3.3.3 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem pelo menos um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos incluindo seus grupos funcionais (MALACRIDA e MOTTA, 2005).

Trata-se de uma das maiores classes de metabólitos secundários de plantas e estão amplamente distribuídos no reino vegetal e nos micro-organismos, fazendo também parte do metabolismo animal. No entanto, os animais, em princípio, são incapazes de sintetizar o anel aromático, logo os compostos fenólicos produzidos em pequena quantidade pelos mesmos, utilizam o anel benzênico de substâncias presentes na dieta alimentar. Por outro lado, os vegetais e a maioria dos micro-organismos têm a capacidade de sintetizar esseanel benzênico, e, a partir dele, principalmente, compostos fenólicos (CARVALHO *et al.*, 2001; SOARES, 2002).

Estes compostos metabólitos secundários de plantas são um grupo muito diversificado de fitoquímicos derivados de fenilalanina e tirosina e geralmente são envolvidos na defesa contra a radiação ultravioleta, agressão por patógenos e contribuem na pigmentação (MANACH *et al.,* 2004). Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Dessa forma, dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, esses compostos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipoxigenase *in vitro*. Porém a eficácia da ação antioxidante depende da estrutura química e da concentração destes fitoquímicos no alimento. Também

depende do número e disposição dos grupos hidroxilas nas moléculas de interesse (MELO *et al.*, 2009; SANTILLO, 2011).

Os milhares de compostos fenólicos que têm sido descritos em plantas e alimentos podem ser agrupados em diferentes classes, de acordo com a sua estrutura química básica (tais como o tipo e o número de anéis fenóis), e em diferentes subclasses, de acordo com substituições específicas na estrutura básica, a associação com carboidratos e formas de polimerização (MANACH *et al.*, 2004). Ainda vale ressaltar que na maioria das vezes, os polifenóis possuem elevada polaridade e são muito reativos e suscetíveis à ação de enzimas (SOARES, 2002; NACZK e SHAHIDI, 2004; ANGELO e JORGE, 2007).

As combinações fenólicas categorizadas em várias classes, as quais englobam uma gama enorme de substâncias, podem ser visualizadas na Tabela 2.

Tabela 2- Classe de compostos fenólicos em plantas

Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzóicos	$C_6{-}C_1$
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	$C_6{-}C_2$
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	$C_6{-}C_3$
Nafitoquinonas	$C_6{-}C_4$
Xantonas	$C_6{-}C_1{-}C_6$
Estilbenos, antoquinonas	$C_6{-}C_2{-}C_6$
Flavonóides, isoflavonóides	$C_6{-}C_3{-}C_6$
Lignanas, neolignanas	$(C_6{-}C_3)_2$
Biflavonóides	$(C_6{-}C_3{-}C_6)_2$
Ligninas	$(C_6{-}C_3)_n$
Taninos condensados	$(C_6{-}C_3{-}C_6)_n$

Fonte: Angelo; Jorge (2007, p.3).

Dentre os fenólicos existentes, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, taninos e tocoferóis como os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural (ANGELO e JORGE, 2007).

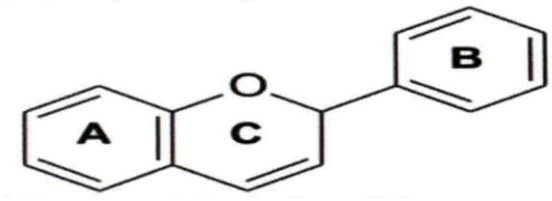
3.3.3.1 Flavonoides

Os flavonóides representam um dos grupos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal e a sua distribuição depende de diversos fatores, como o filo/ordem/família do vegetal, bem como da variação das espécies. Geralmente, flavonóides encontrados nas folhas podem ser diferentes daqueles presentes nas flores, nos galhos, raízes e frutos. O mesmo composto ainda pode apresentar diferentes concentrações, dependendo do órgão vegetal em que se encontra (MACHADO *et al*, 2008).

Na maioria dos casos, esses compostos conferem cor e sabor aos vegetais, o que justifica a sua denominação derivada de *flavor* (MARTINEZ-FLORES *et al.*, 2002).

Os compostos determinados de flavonóides são os que apresentam a estrutura química descrita como C6-C3-C6 (Figura 5). Sua grande diversidade é decorrente das modificações estruturais que sofrem em função da hidroxilação, metilação e glicosilação, entre outras, sendo assim alguns grupos podem estar livres (agliconas), metilados ou ligados a açúcares (glicosídeos). Os açúcares mais comumente ligados aos flavonóides são glicose, ramnose, galactose, xilose e arabinose (KOES *et al.*, 1994).

Figura 5 - Estrutura química dos flavonóides



Fonte: Angelo;Jorge, 2007.

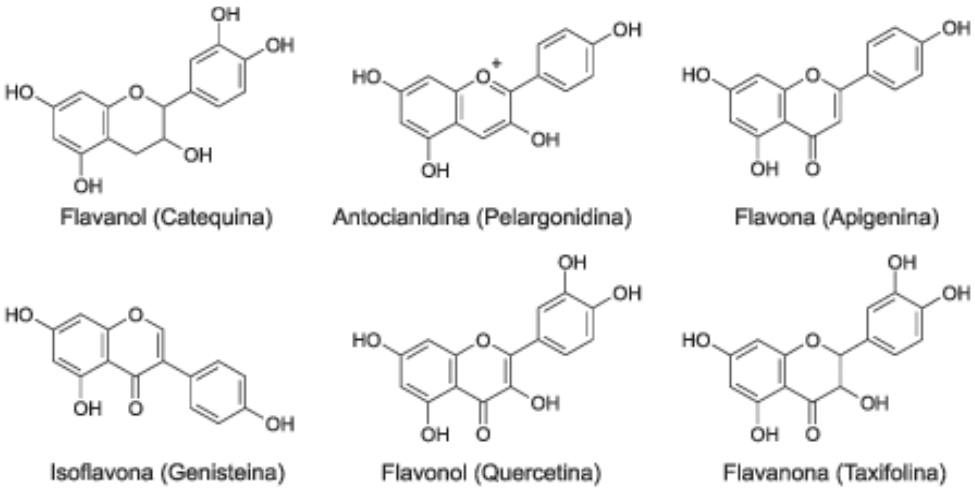
A estrutura química dos flavonóides consiste em dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado anel C (Figura 5). O anel aromático A é derivado do ciclo acetato/ malonato, enquanto o anel B é derivado da fenilalanina. Variações em substituição do anel C padrão resultam em importantes e diferentes classes de flavonóides. Já as substituições dos anéis A e B originam diferentes compostos dentro de cada classe de flavonóides (ANGELO e JORGE, 2007).

Em virtude disso, as atividades bioquímicas de flavonóides e seus metabólitos dependem de sua estrutura química e da orientação relativa das várias porções das moléculas (HAN *et al.*, 2009).

Em geral, a capacidade dos flavonóides serem antioxidantes eficazes depende de três fatores: (i) o potencial quelante de metais que é fortemente dependente do arranjo de hidroxilas e do grupo carbonila em torno da molécula, (ii) a presença de substituintes de hidrogênio / doadores de elétrons capazes de reduzir radicais livres, e (iii) a capacidade dos flavonóides para mudar a localização do elétron não emparelhado, conduzindo à formação de um radical fenoxil estável. O mecanismo preventivo ou mecanismo de quebra de cadeia, ambos são postulados como sendo responsável pela atividade elevada de flavonóides (MUSIALIK *et al.*, 2009).

Os flavonóides podem ser divididos em seis classes (Figura 6): antocianinas (cianidina e delfinidina), flavanas (catequina, epicatequina, luteoforol, procianidina e theaflavina), flavanonas (hesperidina e naringenina), flavonas (apigenina, luteolina, diomestina, tangeritina, nobiletina e tricetina), flavonóis (quercetina, rutina e miricetina) e isoflavonóides (daidzeína e genisteína) (LOPES *et al.*, 2000).

Figura 6- Estrutura das principais classes de flavonóides



Fonte: Cerqueira *et al.* (2007).

3.3.3.1.1 Antocianinas

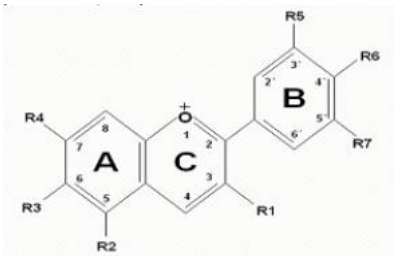
As antocianinas fazem parte de uma das classes de compostos fenólicos, nomeada de flavonóides, pigmentos naturais, que são responsáveis por uma variedade de cores atrativas das frutas, flores e folhas, que variam do vermelho ao azul. São componentes de muitas frutas vermelhas e hortaliças escuras, com grande concentração nas cascas de uvas escuras (VOLP *et al.*, 2008).

Esse pigmento encontra-se disperso nos vacúolos celulares das células vegetais (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004). Como importantes fontes de antocianinas na dieta podem ser citadas as frutas como açaí, ameixa, amora, cereja, figo, framboesa, uva, maçã, morango, acerola, jabuticaba, jambolão e os vegetais como a batata roxa, berinjela, repolho roxo e outros (EIBOND *et al.*, 2004).

São glicosídeos (Figura 7) apresentando em sua estrutura química um resíduo de açúcar na posição 3, facilmente hidrolisado por aquecimento com HCl 2N. Na hidrolização obtém-se um componente glicídico e a aglicona, denominada antocianidina. As antocianinas têm o cátion 2-fenilbenzopirilium como estrutura básica, também denominado flavilium e, nos alimentos são derivadas das agliconas pertencentes a três pigmentos básicos: pelargonidina (vermelha), cianidina (vermelho) e delfinidina (violeta). Todavia, além dos pigmentos básicos, pode-se citar a peonidina, petunidina e malvidina como exemplos de compostos químicos pertencentes às antocianinas (WU e PRIOR, 2005).

A capacidade antioxidante das antocianinas está relacionada à sua estrutura química (Figura 7) e da posição das hidroxilas e sua conjugação, bem como da presença de elétrons doadores no anel aromático da estrutura, devido à capacidade desse anel suportar o desaparecimento de elétrons. A presença de grupos hidroxilas na posição 3 e 4 do anel B conferem tal propriedade. A presença de açúcares na molécula de antocianina reduz sua capacidade antioxidante (KUSKOSKI, 2004; PRIOR, 2003).

Figura 7- Estrutura geral da antocianina.



Fonte: Lopes *et al. (*2007)

Dentre as propriedades das antocianinas pode-se citar: atividade antioxidante, anticancerígena, inibição da agregação plaquetária, propriedades vasoprotetoras, prevenção e tratamento de diabetes não insulino dependente, entre outros (MACIEL, 2012).

3.3.4 Atividade Antioxidante

Um grande número de métodos tem sido desenvolvido com a finalidade de avaliar a atividade antioxidante total (AA) de alimentos. Até agora, no entanto, não existe nenhum método padronizado oficial, devido à complexidade da composição de cada tipo de alimento e tendo em vista que antioxidantes não atuam separadamente, e, por conseguinte, a determinação da atividade antioxidante individualmente parece ser menos efetiva do que a avaliação do estado antioxidante total, duas ou mais técnicas são necessárias para determinar a atividade, uma vez que nenhum método tratado isoladamente pode refletir exatamente a capacidade antioxidante total de uma amostra (HUANG *et al.*, 2005).

Os métodos para medir a capacidade antioxidante são basicamente classificados em dois grupos, dependendo do mecanismo de reação: métodos baseados na transferência de átomos de hidrogênio (HAT) e métodos baseados na transferência de elétrons (ET) (HUANG *et al.*, 2005).

A maioria dos ensaios baseados em HAT aplicam um esquema competitivo, no qual antioxidante e o substrato competem pelos radicais peroxil termicamente gerados através da decomposição dos azo-compostos. Os ensaios baseados em ET, entretanto medem a capacidade de um antioxidante na redução de um oxidante, que muda de cor quando reduzida.

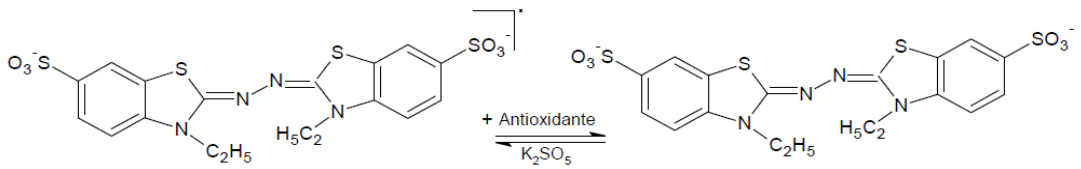
O grau de mudança de cor está correlacionado com concentrações de antioxidantes na amostra (ZULUETA *et al.*, 2009). Dentre os métodos mais utilizados para a determinação da atividade antioxidante é possível enumerar alguns, como o ABTS+ e DPPH (baseados na captura do radical orgânico), FRAP (baseado no poder de redução do Ferro), β-caroteno/ácido linoléico (baseado na inibição da peroxidação lipídica), (PRIOR *et al.*, 2003). E entre os ensaios baseados em ET, os mais popularmente usados são os da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) e da capacidade antioxidante de absorção do radical oxigênio (ORAC) (ZULUETA *et al.*, 2009).

3.3.4.1 Método ABTS+

Este método usa um espectrofotômetro de díodos para medir a perda de cor quando um antioxidante é adicionado ao cromóforo azul-verde ABTS+ (+ 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-Ácido 6-sulfónico)) (Figura 8) e osvalores de absorbância máxima se dão em 645, 734 e 815 nm. Entretanto, compostos antioxidantes presentes no meio reacional capturam tais radicais, o que se traduz em perda de coloração e, consequentemente, em redução na absorção, correspondendo, quantitativamente, à concentração de antioxidantes presentes. O antioxidante reduz ABTS+ para ABTS e descolore-o. ABTS + é um radical não estávelencontrado no corpo humano (ALAM *et al.*, 2013)

Além disso, o método ABTS●+ apresenta excelente estabilidade, sendo um dos testes mais rápidos de atividade antioxidante e que oferece resultados reprodutíveis, além de oferecer vários máximos de absorção e uma boa solubilidade, permitindo análises de compostos tanto de natureza lipofílica como hidrofílica e tem sido utilizado em vários tipos de frutos como acerola, goiaba, camu-camu, açaí, maracujá, pitanga, entre outros.

Figura 8- Estabilização do radical ABTS+ por antioxidante.



Cor: verde-escuro Cor: verde-clara

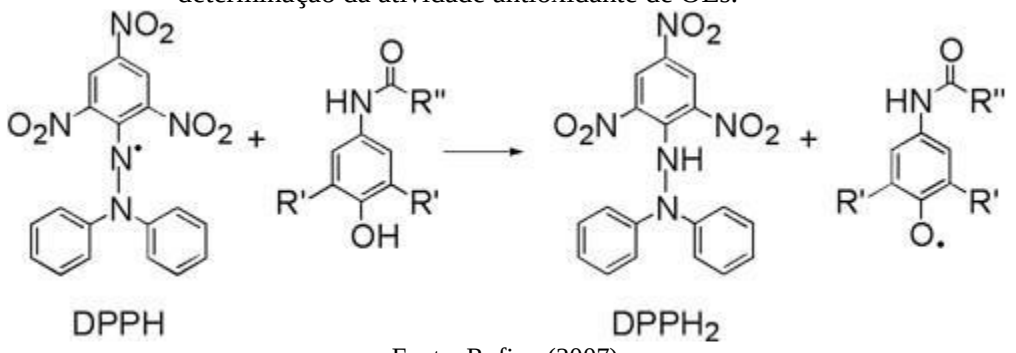
Fonte: Rufino (2007)

3.3.4.2 Método DPPH

Um dos métodos mais utilizados para verificar a atividade antioxidante de compostos puros consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

(DPPH), de coloração púrpura, que absorve em um comprimento de onda de 515 nm. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R.), o DPPH é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H), de coloração amarela (Figura 9) com consequente desaparecimento da banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorbância (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Figura 9 – Representação esquemática do comportamento do radical DPPH utilizado na determinação da atividade antioxidante de OEs.



Fonte: Rufino (2007)

Embora este radical tenha como limitação sua semelhança com radicais peroxila, este ensaio é comumente utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de farelo e grãos de trigo, legumes, ácido linoleico conjugado, ervas, sementes comestíveis, óleos e farinhas, em diferentes sistemas de solventes incluindo etanol, solução aquosa de acetona, metanol, álcool e benzeno. Comparado com outros métodos, o ensaio DPPH tem muitas vantagens tais como uma boa estabilidade, sensibilidade, simplicidade e viabilidade (UGALDE, 2015).

Os resultados do ensaio DPPH têm sido apresentados de diferentes maneiras. A maioria dos estudos exprime os resultados como o valor IC50, definido como a quantidade de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50 %, sendo utilizado para comparação da atividade antioxidante de diferentes compostos. Este valor é calculado através da representação gráfica da percentagem de inibição contra a concentração da substância utilizada (DENG *et al*., 2011).

O cálculo do valor IC50 requer a determinação da cinética da reação entre o DPPH e diferentes concentrações do antioxidante, sendo que a reação deve ser monitorada até que a concentração do DPPH atinja um valor estacionário (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995). A atividade antioxidante dos compostos é verificada medindo-se a concentração do DPPH no início da reação entre o composto/DPPH, e após um período de incubação o qual, de acordo com a literatura, pode variar de um a sessenta minutos. Deve-se salientar, no entanto, que um tempo de incubação curto frequentemente não é suficiente para atingir o estado de equilíbrio da reação (DAWIDOWICZ *et al.*, 2012). A cinética da reação antioxidante/DPPH depende do

solvente utilizado (GÜLÇIN *et al*., 2012).

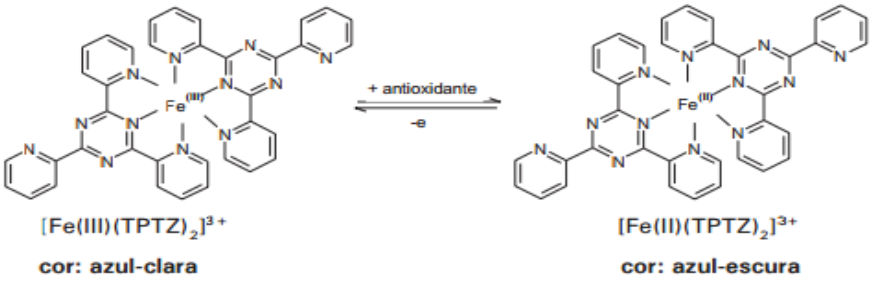
3.3.4.3 Método FRAP

Embora vários métodos sejam sido utilizados para mensurar a capacidade antioxidante de suplementos alimentares e dietéticos, extratos de plantas medicinais e compostos puros, apenas alguns deles são eficientes devido às dificuldades encontradas ao se avaliar a capacidade antioxidante destas substâncias, em função de limitações associadas a questões metodológicas e de fontes de radicais livres (SUCUPIRA *et al.*, 2012)

Pulido *et al*. (2000) descrevem o método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) como uma alternativa desenvolvida para determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas de compostos puros. O método pode ser aplicado não somente para estudos da atividade antioxidante em extratos de alimentos e bebidas, mas, também, para o estudo da eficiência antioxidante de substâncias puras, com resultados comparáveis àqueles obtidos com outras metodologias mais complexas.

Neste método, o complexo férrico-tripiridiltriazina (FeIII-TPZ) é reduzido ao complexo ferroso (FeII-TPZ), na presença de um antioxidante e em condições ácidas. O complexo formado por esta reação possui uma coloração azul intensa (Figura 10), com absorção máxima a 593 nm (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

Figura 10- Produção do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe^{3+}



Fonte: Sucupira *et al.* (2012)

3.4 Antimicrobianos

As substâncias antimicrobianas representam um imenso avanço da farmacoterapia nas últimas décadas uma vez que atuam sobre microrganismos patogênicos e oportunistas que podem levar a uma incapacitação prolongada ou mesmo levar ao óbito (SANCHES, 2004).

E assim como os compostos que atuam como antioxidantes, existe uma grande variedade de classes de substâncias que atuam como antimicrobianas, por exemplo, os ácidos orgânicos e seus sais, os ácidos graxos, os antibióticos, os peptídeos antimicrobianos e bacteriocinas, quelantes, enzimas, parabenos e metais (KUPLENNIK *et al.*, 2015).

O controle de bactérias patogênicas e da deterioração dos alimentos é principalmente

obtido através do controle químico, mas o uso de conservantes químicos sintéticos tem sido limitado devido a aspectos indesejáveis, incluindo carcinogenicidade, toxicidade aguda, teratogenicidade e períodos de degradação lenta, o que poderialevar a problemas ambientais, como a poluição (FALEIRO, 2011).

Dessa forma, nos últimos anos, esforços consideráveis têm sido feitos para encontrar agentes antimicrobianos naturais que podem inibir o crescimento bacteriano e fúngico em alimentos, a fim de melhorar sua qualidade e vida útil. Como resultado, há uma crescente demanda por produtos naturais que possam servir como conservantes de alimentos alternativos (TAJKARIMI *et al.*,2010).

Entre os vários compostos derivados de plantas, compostos polifenólicos têm grande diversidade estrutural e variações na composição química, e, sua atividade antimicrobiana é uma das mais estudadas (STOJKOVI *et al.,* 2013).A ação antimicrobiana dos compostos fenólicos está relacionada com a inativação das enzimas celulares, além de mudanças na permeabilidade das membranas celulares (CARPES, 2008).

Assim, os compostos bioativos presentes em *Syzygium cumini* (Jambolão), além de apresentarem atividade antioxidante, como descrito anteriormente, também tem sido estudado quanto à atividade antimicrobiana, uma vez que alguns autores demonstraram efeitos antibacterianos na folha (DE OLIVEIRA *et al.,* 2007; KANERIA *et al*., 2009; SATISH et al., 2008), no óleo essencial da folha (SHAFI *et al*., 2002), nas sementes (ACHARYYA *et al*.,2009) e no pó do fruto (MIGLIATO *et al.*, 2011).

3.4.1 Atividade antimicrobiana

Atualmente, existem vários métodos para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos vegetais. Os métodos Padrões clínicos e laboratoriais Instituto (CLSI) para a avaliação dos compostos antimicrobianos são amplamente aceitos pelos órgãos reguladores em todo o mundo (DAS *et al.,* 2010). Dentre os métodos os mais conhecidos, pode-se citar o método de difusão em ágar, como o teste disco-difusão, e ométododе diluição em caldo como os testesde macrodiluição e microdiluição.

3.4.1.1 Testes de difusão em ágar

O teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método físico, no qual um microrganismo é desafiado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo desafiado com a concentração da substância ensaiada (PINTO*et al.*, 2003).

A aplicação do método de difusão se limita a microrganismos de crescimento rápido, sendo eles aeróbios ou anaeróbios facultativos. A avaliação é comparativa frente a um padrão biológico de referência (controle positivo) e a zona ou o halo de inibição de crescimento é medida partindo-se da circunferência do disco ou poço, até a margem onde há crescimento de microrganismos (BARRY; THORNSBERRY, 1991). Como controle positivo do teste, emprega-se um quimioterápico padrão, e como controle negativo o solvente utilizado para a dissolução dos extratos (KARAMAN *et al.*, 2003).

O teste de difusão em disco é aceito pelo *Food and DrugAdministration*(FDA) e estabelecido comopadrão pelo *National Committe for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (BARRY e THORNSBERRY, 1991).

Neste processo bem conhecido, as placas com Agar são inoculadas com um inóculo padronizado do microrganismo teste,com diferentes cargas microbianas,10^8 UFC (Unidade Formadora de colônia)/mL parabactérias, 10^6 UFC/mL para leveduras e 10^4 para esporos/mL (KARAMAN*et al.*, 2003). Em seguida, os discos de papel de filtro (cerca de 6 mm de diâmetro), contendo o composto de ensaio com a concentração desejada, são colocadas sobre a superfície do ágar.As placas de Petri são incubadas sob condições adequadas. Geralmente, o agente antimicrobiano difunde-se para o ágar e inibe a germinação e o crescimento do micro-organismo de teste e, em seguida, os diâmetros das zonas de inibição de crescimento são medidos (BALOUIRI *et al.*, 2015).

A disposição dos discos deve ser tal que sua distância atéa lateral da placa seja maior que 15 mm e de modo anãosobrepor as zonas de inibição. O pH do meio de culturadeve estar entre 7,2 e 7,4 e a profundidade recomendadaé de aproximadamente 4 mm (BARRYe THORNSBERRY,1991).

Antibiograma fornece resultados qualitativos por categorizar bactérias sensíveis, intermediários e resistentes. No entanto, uma vez que a sensibilidade de um micro-organismo a um antibiótico significa que a sua inibição do crescimento e a sua morte incerta, este método não é capaz de distinguir bactericida e efeito bacteriostático (JORGENSEN *et al.*, 2009).

Além disso, o método de disco-difusão em ágar não é apropriado para determinar a mínimaconcentração inibidora (MIC), não é possível quantificar a quantidade de agente antimicrobiano difunde para o meio de cultura. No entanto, uma MIC aproximados podem ser calculados para alguns micro-organismos e antibióticos, por comparação das zonas de inibição com os algoritmos armazenados (NIJS *et al.*, 2003).

Porém, o ensaio de disco-difusão oferece muitas vantagens sobre outros métodos: simplicidade, baixo custo, a capacidade de testar um número enorme de micro-organismos e

agentes antimicrobianos, ea facilidade para interpretar os resultados previstos (BALOUIRI *et al.,* 2015).

3.4.1.2 Testes de diluição em Caldo

Os métodos de diluição são os mais adequados para a determinação de valores de MIC, uma vez que oferecem a possibilidade de estimar a concentração do agente antimicrobiano no ágar testado (diluição de ágar) ou meio de cultura (macro ou microdiluição). Qualquer caldo ou métodos de diluição de em ágar podem ser usadas para medir quantitativamente a atividade antimicrobiana *in vitro* contra bactérias e fungos (FALLER *et al.*,2004).

Valor MIC é definido como a concentração mais baixa de agente antimicrobiano ensaiado que inibe o crescimento visível do micro-organismo testado, e é normalmente expressa em μg / mL ou mg / L (CLSI, 2012). Há muitas diretrizes aprovadas para testes de susceptibilidade antimicrobiana de diluição com bactérias exigentes ou não-exigentes, leveduras e fungos filamentosos. Os padrões mais reconhecidos são fornecidos pelo Instituto de Padrões clínicos e laboratoriais (CLSI) eo Comitê Europeu de Avaliação de Susceptibilidade Antimicrobiana (EUCAST) (FALLER *et al.,* 2004).

O método de diluição em caldo considera a relaçãoentre a proporção de crescimento do microrganismo desafiado no meio líquido e a concentração da substânciaensaiada. A avaliação é comparada frente a um padrãobiológico de referência. Entende-se por proporção adensidade da turbidez provocada pelo crescimentomicrobiano (PINTO *et al.,* 2003).

Ométodo de macrodiluiçãotem como principais desvantagens do o risco de erros na preparação das soluções antimicrobianas para cada teste, e a quantidade comparativamente grande de reagentes e espaço necessário (JORGENSEN *et al.,* 2009). Assim, a reprodutibilidade e a economia de espaço e reagentes que ocorre devido à miniaturização do teste são as principais vantagens do método de microdiluição. Além disso, este é considerado 30 vezes mais sensível queoutros métodos usados na literatura. No entanto, o resultado final é influenciado significativamente pela abordagem, que deve ser cuidadosamente controlada, se os resultados reprodutíveis e entre laboratórios (intralaboratorial) estão a ser atingido (CLSI, 2012).

Tendo em vista todas as propriedades já citadas, alguns autores afirmam que há um crescente interesse pela incorporação desses compostos naturais em embalagens para alimentos pois atendem a demandam do consumidor por alimentos com menos aditivos sintéticos, além do que, uma vez incorporados, ocorre a migração lenta dos compostos para a superfície do produto, de modo que atividade se prolongue e ocorra onde se faz necessário.

Esta é a principal vantagem em relação a adição por outros meios como por imersão ou spray (COMA, 2008; PÉREZ-PÉREZ, 2006).

3.5 Embalagens para alimentos

Embalagem para alimentos é o artigo que está em contato direto com alimentos, destinado a contê-los desde a sua fabricação até a sua entrega ao consumidor, com a finalidade de protegê-los de agentes externos, de alterações e de contaminações, assim como de adulterações (ANVISA, 2012).

Porém materiais de embalagem utilizados para produtos alimentares, como qualquer outro tipo de recipiente de armazenamento, para curtos períodos de tempo são um problema ambiental sério, assim a utilização de polímeros biodegradáveis nesta área representa uma alternativa interessante (PIZZOLI *et al*., 2014).

Os materiais de embalagem biodegradáveis ideais são obtidos a partir de recursos renováveis biológicos, sendo chamados de biopolímeros (RHIM *et al*., 2013). Dentre os materiais pesquisados, os biopolímeros naturais, como os polissacarídeos e as proteínas, são os mais promissores, devido ao fato de serem abundantes, renováveis, e capazes de formar uma matriz contínua. E entre os polissacarídeos estudados, o amido e o acetato de celulose, têm sido considerados excelentes materiais para a concepção de revestimentos de alimentos bem como estruturas de embalagens (PELISSARI, 2009).

Contudo, apesar destes avanços, ainda existem algumas desvantagens que impedem sua comercialização mais ampla. Isto se deve principalmente ao desempenho e preço, quando comparado com os polímeros convencionais, o que continua a ser um desafio significativo para os polímeros de base biológica (BABU *et al.,* 2013). Desta forma torna-se interessante o reaproveitamento de resíduos agroindustriais buscando o aumento do desempenho e redução do custo destes materiais.

A técnica de *film casting* é utilizada amplamente em escala laboratorial para produção de filmes de diferentes biopolímeros como isolado proteico de soja (GONZÁLEZ *et al.,* 2015), multicamadas de isolado proteico de soja e poli(ácido lático) (GONZÁLEZ, 2013), etc. A produção de filmes por meio da técnica consiste em verter uma solução filmogênica em pequenas placas ou moldes (FREITAS, 2015).

3.5.1 Embalagens biodegradáveis ativas

A tecnologia de embalagens de alimentos está em constante evolução, em resposta a desafios crescentes de uma sociedade moderna mais atual. As embalagens ativas têm várias funções adicionais em relação às embalagens passivas, que são limitadas a proteger os alimentos de condições externas. As embalagens ativas alteram as condições do produto,

aumentando sua vida útil, segurança e qualidade e, ou melhorando suas características sensoriais (SOARES *et al*, 2009).

A embalagem ativa pode atuar por liberação de agentes ativos, comoagentes antimicrobianos, antioxidantes e aromas progressivamente para a atmosfera circundante ou por absorção dos compostos que deterioram os alimentos, tais como o oxigênio ou radicais livres,etileno, umidade e odor (MONTERO-PRADO *et al.*, 2011).

Essas técnicas de atuação consistem na incorporação e, ou imobilização de certos aditivos à embalagem em vez da incorporação direta no produto (KERRY *et al.*, 2006).

As preocupações crescentes com problemas ambientais causados por embalagens têm renovado o interesse em camadas superficiais protetoras comestíveis ativas. Estes revestimentos comestíveis possui a vantagem de poderem ser consumidos, o que os tornam ambientalmente corretos, além das propriedades anteriormente citadas (CUQ *et al.*, 1995).

A tecnologia de embalagem ativa é uma área promissora da tecnologia de alimentos, que pode conferir vários benefícios de preservação numa larga escala de produtos. No entanto, pesquisas devem ser conduzidas para diferentes aplicações, a fim de se avaliar a potencialidade tecnológica, econômica e, principalmente, de segurança alimentar. Além disso, precisa-se familiarizar o consumidor com o conceito e com as aplicações de embalagens ativas, e esperar que haja boa aceitação, visando-se os inúmeros benefícios possíveis (AZEREDO, 2012).

Dentre os principais ramos das embalagens ativas, as embalagens antimicrobianas e antioxidantes, por exemplo, podem controlar o desenvolvimento de espécies específicas de microrganismos e aumentar a estabilidade oxidativa dos produtos embalados, respectivamente (KECHICHIAN *et al.*, 2010; PELISSARI *et al.*, 2009; WEN-XIAN *et al.*, 2011).

3.5.1.1 Embalagens antioxidantes

A oxidação lipídica é um dos principais contribuintes para a deterioração da qualidade em alimentos de origem animal, pois resulta em uma variedade de produtos indesejáveisque produzem odores e sabores desagradáveis (ranço) e altera a qualidade nutritiva (perda de vitaminas e ácidos graxos essenciais) dos alimentos, além disso a oxidação resulta em compostos reativos e tóxicos que representam um perigo para os consumidores (LEE, 2005).

O sistema de embalagens antioxidantes consiste na incorporação de substâncias antioxidantes em filmes plásticos, papéis ou sachês, de onde serão liberadas para proteger os alimentos da degradação oxidativa, inibindo as reações de oxidação ao reagirem com radicais livres e peróxidos e, consequentemente, estendendo a sua vida de prateleira (LEE *et al.*, 2004; MINe KROCHTA, 2007).

Contini *et al.* (2014) estudaram o efeito de embalagem ativa com extrato de citrus na oxidação lipídica e qualidade sensorial de carne de peru cozida, os resultados mostraram que as embalagens antioxidantes foi eficaz na redução da oxidação de lipídios da carne durante o armazenamento e na manutenção de suas características sensoriais, particularmente textura e aceitação global e dentre os componentes do extrato adicionado o ácido cítrico foi o principal impulsionador atividade antioxidante.

Nerín *et al.* (2006) desenvolveram embalagens ativas, que consistiram de filmes de polipropileno (PP) imobilizados com extrato natural de alecrim e testaram as suas propriedades antioxidantes em mioglobina pura e bifes de carne bovina fresca. Os filmes aumentaram a estabilidade tanto da mioglobina quanto dos bifes contra processos oxidativos, sendo uma maneira promissora de estender a vida de prateleira da carne fresca. O mesmo grupo testou filmes de PP imobilizados com várias substâncias derivadas do alecrim contra compostos oxidáveis como ácido ascórbico, ferro (II) e ácidos graxos, demonstrando a eficácia desses modelos.

As embalagens antioxidantes apresentam potencial para aplicações comerciais, entretanto é necessário que elas satisfaçam critérios de segurança alimentar. A difusão dos antioxidantes sintéticos para os alimentos causa preocupações aos consumidores no que diz respeito à sua segurança (VERMEIREM *et al.*, 1999). Por essa razão, existe crescente preferência pelo uso de substâncias naturais. Alguns antioxidantes naturais que podem ser utilizados em embalagens para alimentos incluem ácidos fenólicos (α-tocoferol), ácidos orgânicos (ácido ascórbico), extrato de plantas (alecrim, chá etc.) e poliaminas (espermina e espermidina). As substâncias naturais são normalmente caras, logo o desenvolvimento de novas embalagens ativas empregando quantidades mínimas destes compostos é desejável para aplicações práticas (SOARES *et al.*, 2008).

3.5.1.2 Embalagens antimicrobianas

Nos últimos anos, vários estudos têm sido realizados com o objetivo de desenvolver películas de embalagem com propriedades antimicrobianas (HAUSER eWUNDERLICH, 2011).

A embalagem antimicrobiana é um tipo de embalagem ativa que apresenta substância antimicrobiana incorporada e, ou imobilizada no material da embalagem e é capaz de eliminar ou inibir microrganismos deterioradores e, ou patogênicos. O princípio básico de atuação dessa embalagem é a adição de uma barreira extra (microbiológica) às barreiras físicas (oxigênio e umidade) (HAN *et al.*, 2005).

Os agentes antimicrobianos podem ser incorporados diretamente à matriz polimérica em rótulos, etiquetas ou estar contidos em sachês (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2004). Sua adição nos filmes poliméricos pode ser feita de duas maneiras: incorporação e imobilização. No primeiro caso, há liberação do agente antimicrobiano para o alimento, enquanto na imobilização o composto atua somente em nível de superfície (HAN *et al.,* 2005).

O uso de embalagens contendo agentes antimicrobianos tem como vantagem a difusão desses compostos da embalagem para a superfície do alimento de maneira gradual controlada ao invés de adicioná-los diretamente na matriz alimentar (MOURA *et al.,* 2012; OTONI *et al.,* 2014).

Essa migração se dá através de difusão e evaporação a partir do filme ou através de reação química ou enzimática, como resultado disso, a cinética de crescimento microbiano e a atividade antimicrobiana na superfície do produto podem ser equilibradas (AZEREDO, 2012; SUET-YEN *et al.,* 2013).

Alguns fatores podem afetar a efetividade da embalagem antimicrobiana, como as características do antimicrobiano (solubilidade e tamanho da molécula) e do alimento, condições de estocagem e distribuição (tempo e temperatura), método de preparo do filme (extrusão ou casting) e interação entre antimicrobiano e polímero (DAWSON *et al.,* 2003).

Melo (2010) incorporou óleo essencial de alecrim em filmes a base de acetato de celulose, e avaliou a atividade antimicrobiana dos filmes utilizados como embalagens de carne de frango resfriada. O óleo essencial foi adicionado nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50%. Os resultados sugeriram que os filmes tiveram atividade antimicrobiana sobre os micro-organismos avaliados, sendo que não houve diferença significativa entre os resultados obtidos para filmes nas concentrações de 20, 30, 40 e 50% de óleo

Costa (2013) estudou a eficiência de filme ativado com extrato de própolis na conservação de queijo coalho e verificou que o filme antimicrobiano provocou a redução de 1 ciclo logarítmico na contagem de estafilococos coagulase positiva nos períodos de 4, 12, 20 e 28 dias, quando comparados com filmes não-ativos e filmes de polietileno.

De acordo, com os trabalhos já citados e inúmeros outros encontrados na literatura, verifica-se que o uso de embalagens antimicrobianas pode ser aplicado pela indústria, garantindo a segurança durante a distribuição dos alimentos eassima vida de prateleira significativamente aumentada (AZEREDO, 2012; SUET-YEN *et al,* 2013).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido majoritariamente nos laboratórios de Análises de Alimentos (LAA), de Processamento de Produtos de Origem Vegetal (LPPOV), de Biotecnologia (LABIOTEC) e de Embalagens (LEMB) do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), em parceria com o Laboratório de Flavor (LAF) e Laboratório de Tecnologias Alternativas (LTA) da Universidade Federal de Sergipe (UFS).

4.1 Matéria-prima

As matérias-primas utilizadas como base do experimento foram os frutos do jambolão, os quais foram adquiridos no mercado central da cidade de Aracaju-SE, o acetato de celulose, o amido de milho e a quitosana adquiridos comercialmente.

Após serem adquiridos, os frutos foram acondicionados em plásticos de polietileno, transportados para o DTA- UFS e congelados a -18°C até o momento do uso.

Antes de serem utilizados, os frutos foram descongelados a 5°C e sanitizados com hipoclorito de sódio a 200ppm por 30 minutos com subseqüente enxágue por 10 minutos. Em seguida, foram descascados manualmente e a sua polpa e sementes foram despolpados em despolpadeira mecânica e coletados separadamente (Figura 12), armazenados em sacos de polietileno e congelados a -18°C para uso posterior.

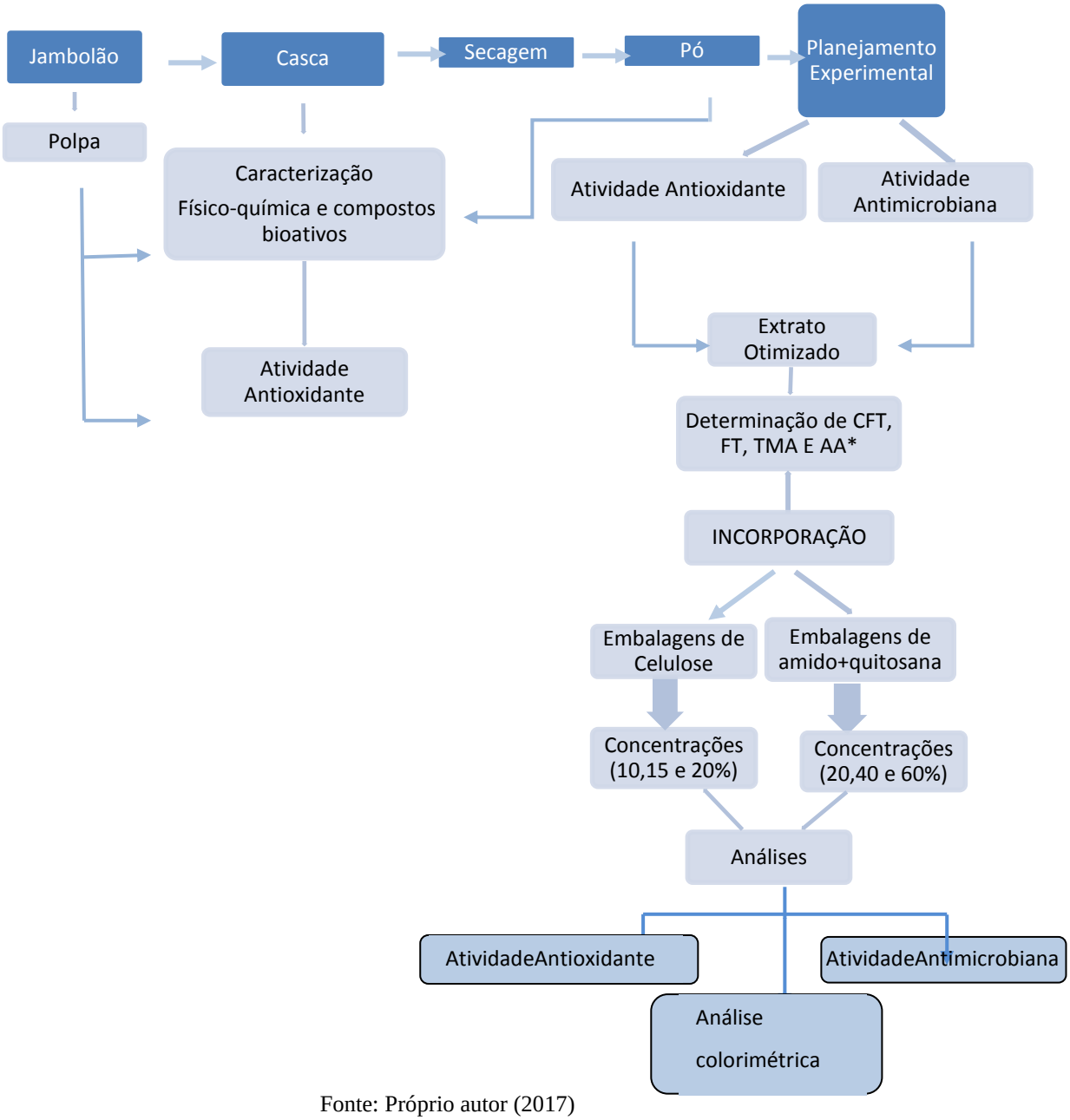
No momento do uso, a polpa e a casca foram descongeladas em temperatura ambiente e a casca foi então dividida em dois lotes, um deles compôs a casca *in natura* e o outro foi utilizado para secagem, totalizando três amostras (polpa, casca e casca seca), as quais foram utilizadas nas análises consecutivas.

Figura 12- Amostras de Jamelão: A) fruto, B) polpa e C) casca.

Fonte: Próprio autor (2017)

Assim, as etapas do processo de desenvolvimento do experimento encontram-se na Figura 11.

Figura 11- Fluxograma das etapas desenvolvidas na presente pesquisa*.



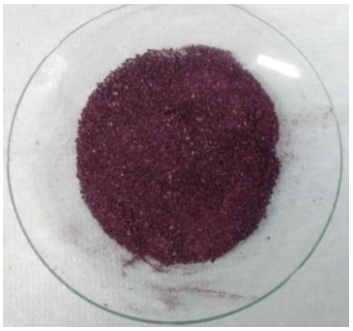
Fonte: Próprio autor (2017)

*CFT= compostos fenólicos totais; FT= flavonóides totais; TMA= antocianinas monoméricas totais; AA=ácido ascórbico

4.2 Obtenção do pó da casca de jambolão

As cascas do jambolão *in natura* foram pesadas, acondicionadas em placas de petri e secas em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 40°C por aproximadamente 20 horas, até umidade final em torno de 7-10%. As cascas secas foram então trituradas emmoinho para obtenção do pó (Figura 13), o qual foi armazenado em embalagem laminada e sob vácuo.

Figura 13- Casca do jambolão em pó



Fonte: Próprio autor (2017)

4.3 Análises físico-químicas

As amostras de Jamelão *in natura* (polpa e casca) e a farinha, foram avaliadas quanto aos valores de umidade, cinzas, lipídeos, pH, sólidos solúveis, acidez titulável cor. As análises foram realizadas em triplicata, de acordo com os métodos analíticos do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005),2008) ou AOAC (1995).

4.3.1 Determinação de Umidade

O teor de umidade foi determinado pelo método de secagem direta em estufa a 105ºC até peso constante, seguindo o método 012/IV do Instituto Adolfo Lutz (2005). O resultado foi expresso em porcentagem de água (%H_2O).

4.3.2 Determinação de cinzas

A determinação de cinzas foi realizada pelo método de incineração a 550ºC em mufla, utilizando dois gramas de cada amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005). O resultado foi expresso em porcentagem de cinzas.

4.3.3 Determinação de lipídios

O teor de lipídios foi determinado segundo o método 032/IV das normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), o qual consistiu na extração dos lipídios de 2,5 g das amostras adicionas em papel filtro e em seguida acondicionadas em extrator Soxhlet se empregando hexano como solvente extrator, a extração ocorreu durante aproximadamente 8 horas. Após esta etapa foi removido o excesso do solvente e o balão levado à estufa para esterilização e secagem- Biopar para a remonção total do solvente. O teor de lipídios foi expresso em % de lipídeos.

4.3.4 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Para determinação do pH foi utilizado o método Potenciométrico, onde o pHmetro foi previamente calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e 7,0, seguindo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005, 017/IV).

4.3.5 Determinação da Acidez Total Titulável

O teor de acidez foideterminado pelo método de acidez titulável por volumetria potenciométrica, por titulação com NaOH 0,1M o qual se aplica a soluções fortemente coloridas, onde o ponto de equivalência é determinado pela medida do pH da solução (IAL, 2008, 311/IV) e os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico por 100g de amostra.

4.3.6 Determinação do Teor de Sólidos Solúveis

Os sólidos solúveis totais (a 25°C) foram quantificados por leitura direta, com uso de um refratômetro portátil *(MOD TR-30 ATC)* de acordo com o método 315/IV proposto pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e os resultados foram expressos °Brix .

4.3.7 Determinação da Cor

Para determinação da cor foi empregado o sistema CIELAB (COMISSÃO INTERNACIONAL DE ILUMINANTES), onde as leituras da cor foram obtidas através do colorímetro Color Meter Minolta 200b, por meio dos parâmetros L* (luminosidade [claro/escuro]); a* (cromaticidade no eixo da cor verde [-] para vermelha [+]); b* (cromaticidade no eixo da cor azul [-] para amarela [+]). Foram avaliados também os parâmetros c* (chroma) que representa a saturação (0º no centro, aumentando de intensidade à medida que se distancia desse) e h* (hue) que representa ângulo de tonalidade (iniciando em 0º, que seria +a* [vermelho], 90º seria +b* [amarelo], 180º seria –a* [verde] e 270º seria –b* [azul]) (ZHANG *et al*., 2007).

4.4 Determinação dos compostos bioativos

4.4.1 Determinação de clorofila, carotenóides totais e β-caroteno

As determinações desses compostos foramfeitassegundo o método LICHTENTHALER (1987). Para tal, forampesados dois gramas da amostra e transferidos para um almofariz, em seguida foiadicionado 0,2g de carbonato de cálcio e 7 ml de acetona a 80% o qual foi homogeneizado e filtrado em um balão volumétrico de 25mL envolto de papel alumínio. O resíduo do papel filtro foi lavado duas vezes com acetona 80% e posteriormente completadas o volume com acetona a 80%.

O teor de clorofila total (Equação 1) foi estimado a partir da leitura do extrato filtrado em espectrofotômetro a 646,8 e 663,2 nm.

Clorofila a (Ca) = $12{,}25 \times A_{663{,}2} - 2{,}79 \times A_{646{,}8}$

Clorofila b (Cb) = $21{,}50 \times A_{646{,}8} - 5{,}10 \times A_{663{,}2}$

Clorofila T = $7{,}15 \times A_{663{,}2} + 18{,}71 \times A_{646{,}8}$ (Equação 1)

Os teores de carotenóides e beta-caroteno foram estimados a partir da leitura do extrato filtrado em espectrofotômetro a 470; 646,8; 663,2nm e 454 nm, respectivamente. As concentrações foram estimadas de acordo com as seguintes equações:

Carotenóides = [1000 x A_{470} – (1,82 x Ca – 104,96 x Cb)]/ 198 (Equação 2)

Beta caroteno = 4,0A454 (Equação 3)

4.4.2 Determinação de ácido ascórbico

A determinação de ácido ascórbico será foi feita por método colorimétrico segundo AOAC (1995).

As soluções para extração do ácido ascórbicoforam preparadasseguindo o procedimento a seguir:

- *Solução de extração (Ácido oxálico 2%)*

Foram pesados 2g de ácido oxálico e diluídos para 100mL de água destilada.

- *Solução padrão de ácido ascórbico (Padrão)*

Foram pesados 50mg de ácido ascórbico e diluídos para 50 mL de ácido oxálico 2%.

- *Solução de 2,6-Diclorofenol indofenol (DCPIP) (Solução corante)*

Foram dissolvidos 50mg de DCPIP em aproximadamente 30mL de água destilada quente, contendo 42mg de bicarbonato de sódio. Em seguida, o volume foi completado para 50mL com água destilada fria.

Antes, de analisar a amostra foi necessário realizar a padronização do corante (DCPIP), e para isso foi coletado uma alíquota de 2mL da solução padrão de ácido ascórbico em um erlenmeyer de 50mL contendo 5mL da solução de extração, em seguida a mistura foititulada com a solução de DCPIP até a mudança da coloração, ficando rósea. O fator do DCPIP foicalculado através da fórmula:

$$\text{Fator do DCPIP} = \frac{\text{mg de A.A.}}{\text{Vol. de DCPIP gasto na titulação}}$$

Onde: mg de A.A. = 2mg, já que 1mg de A.A. ~ 1ml de solução padrão.

Para análise da amostra, foram pesados cinco gramas desta, a qual foi triturada em almofariz, homogeneizada com a solução de ácido oxálico a 2%, filtrada em um balão de 50mL e completadoseu volume. Em seguida foram coletados 7 mL desta solução e titulados com DCPIP. O cálculo da porcentagem de Vitamina C (mg de A.A./100g de amostra) foi efetuado conforme a equação 4:

Vitamina C = (100 *($V_{titulação}$*F_{DCPIP})) / ((Massa*$V_{aliquota}$)/$V_{balão}$) (Equação 4)

Onde,

V= volume utilizado

$F_{DCPIP=}$ fator do DCPIP

4.4.3 Determinação de compostos fenólicos totais (CFT), flavonóides totais (FT), antocianinas monoméricas totais (TMA).

4.4.3.1 Extração da amostra

Para extração da amostra, foram pesados 5g de cada uma delas (polpa ou casca *in natura*) em um bequer envolto com alumínio, de modo a evitar interferência da luz, os quais foram misturados com 50 mLde etanol 70% e cobertos. Em seguida a mistura foi submetida a banho de ultrassom por 60 minutos e logo após a extração, os extratos foram filtrados a vácuo, concentrados em evaporador rotativo (Buchi modelo R-3) a 40°C e avaliados quanto ao teor de CFT, FT, TMA.

4.4.3.2 Determinação de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos totais foram determinados de acordo com o procedimento convencional espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu adaptado por Swain e Hillis (1965) modificado por Thaipong *et al*. (2006). Esta análise consistiu da de adição de 150 μL dos extratos da polpa e da casca *in natura*, 2400 μL de água destilada, e 150 μL de reagente de Folin-Ciocalteu 0,25 N em tubo de ensaio, em seguida, foram homogeneizados com Vortex. A mistura foi deixada a reagir durante 3min, em seguida, 300 μL de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 1N foi adicionada e homogeneizada. A solução foi incubada à temperatura ambiente em no escuro, durante 2 h. A absorbância a 725nm foi medida utilizando um espectrofotômetro (Rayleígh modelo UV-2601) e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes em ácido gálico (mg GAE / g de extrato seco), calculados por meiode uma curva padrão de ácido gálico,a qual foi construída nas concentrações de (20-160 mg/L) para comparação dos resultados. Diluições adicionais do extrato foram realizadas quando o valor de absorbância não estava dentro do intervalo da curva.

4.4.3.3 Determinação de Flavonoides Totais (FT)

O teor de flavonóides foi determinado conforme o método descrito por Boroski *et al.*(2015) com algumas modificações. Esta análise consistiu da adição de 500 μL de cada extrato em 250 μL de uma solução de cloreto de alumínio 5,0% em etanol (v/v) e 4,25 mL de etanol 70,0%. Essa mistura foi homogeneizada e mantida em temperatura ambiente, no escuro por 30 min, em seguida foi realizada a leitura da absorbância em 425 nm utilizando um

espectrofotômetro (Rayleígh modelo UV-2601). O branco foi preparado conforme as etapas citadas anteriormente em substituição da adição do extrato por etanol. Foi construída uma curva padrão de quercetina (0,0-100 mg / L) (diluída em etanol 70,0%) para comparação.

4.4.3.4 Determinação de antocianinas monoméricas totais (TMA)

O teor de antocianina monomérica total (TMA) foi determinado utilizando o método de pH diferencial citado por Santos *et al*. (2010) e descrito por Giusti e Wrolstad (2001) com algumas modificações, o qual se baseia na transformação estrutural do cromóforo de antocianina em função do pH. Foi utilizado espectrofotómetro (Rayleígh modelo UV-2601) para medições espectrais no comprimento de onda de absorbância máxima (aproximadamente 512-520 nm) e 700 nm, utilizando água destilada como um branco. Para este efeito, foram preparadas duas diluições da amostra: uma com tampão de ácido clorídrico / cloreto de potássio pH = 1,0 e a outra com tampão acetato de sódio / ácido acético pH = 4,5. Os valores de pH dos tampões foram medidos utilizando-se um medidor de pH (Digimed, modelo DM-22, São Paulo, Brasil) calibrado com tampões a pH 4,01 e 6,86 e ajustados com HCl (99,5% Ecibra, Santo Amaro, Brasil). Alíquotas de 0,5 mL de extrato foram colocadas em balões volumétricos de 25 ml, e estes foram completados com os tampões de pH1,0 e 4,5; 15 min mais tarde, a absorbância de cada solução equilibrada foi medida no comprimento de onda de absorção máximo (512 ou 520 nm) e 700 nm utilizando células de vidro de comprimento de trajecto de 1 cm (l). Diluições adicionais do extrato foram realizadas quando o valor de absorbância foi maior que 1,0. Determinou-se o fator de diluição (DF) (volume final sobre o volume da amostra original). A diferença nos valores de absorvância a pH 1,0 e 4,5 é directamente proporcional à concentração de TMA. O teor de antocianina foi calculado como cianidina-3-glicósido (PM = 449,2 g / mol e € = 26,900 L / mol.cm) e os resultados foram expressos como mg de 3-cy-glicósideo/g de material seco. A absorvância da amostra diluída (A) e da TMA foram calculadas com as Eqs. (5) e (6):

$$A = (A_{máx} - A_{700})pH1,0 - (A_{máx} - A_{700})pH4,5 \quad \text{(Equação 5)}$$

$$TMA = (A*MW*DF*1000)/ (€ *l) \quad \text{(Equação 6)}$$

4.5 Otimização da produção de extratos com capacidade antioxidante e antimicrobiana

Para se obter um melhor resultado em relação à extração de compostos antioxidantes e antimicrobianos, um planejamento experimentalfoi realizado com a farinha da casca, tendo como finalidade a otimização do processo.

4.5.1 Planejamento experimental e preparo dos extratos

O delineamento experimental utilizado foi o fatorial completo 3^2 com pontos centrais para duas variáveis independentes variando em 3 níveis (Tabela 3), que tem por objetivo a avaliação dos principais efeitos decorrentes da variação dos fatores concentraçãode solvente e razão amostra/solvente. Foram feitas três repetições no ponto central, totalizando 12 ensaios (Tabela 4). O tratamento dos dados foi realizado, utilizando o software Statistica 7.0 .

Os extratos produzidos com a farinha da casca foram executados seguindo procedimento descrito no item 4.3.3.1, no entanto, variou-se a concentração de etanol (90,80 e 70 %) e da amostra (1/5, 2/15 e 1/10), de acordo com o planejamento experimental (Tabela 4). Após serem obtidos eles foram mantidos ao abrigo de luz e congelados a -18°C até o momento do uso, não ultrapassando a prazo máximo de um mês.

Tabela 3- Variáveis independentes avaliadas no Planejamento Experimental Fatorial Completo.

Fatores Independentes	Níveis		
	-1	0	+1
Concentração de Etanol (%)	70	80	90
Razão Amostra: Solvente	1/5	2/15	1/10

Tabela 4- Planejamento Experimental Fatorial Completo.

Ensaio	Concentração de Etanol (%)	Razão Amostra:Solvente	Concentração de Etanol (%)	Razão Amostra:Solvente
1	-1	-1	70	1/5
2	-1	0	70	2/15
3	-1	+1	70	1/10
4	0	-1	80	1/5
5	0	0	80	2/15
6	0	+1	80	1/10
7	+1	-1	90	1/5
8	+1	0	90	2/15
9	+1	+1	90	1/10
10	0	0	80	2/15
11	0	0	80	2/15
12	0	0	80	2/15

4.5.2 Determinação da massa de extrato seco

A massa de extrato seco foi feita a partir da secagem de 1,0 mL dos extratos em estufa de esterilização a 60 °C, até a obtenção de massa constante. Esse valor foi empregado para adicionalmente a base úmida, determinar os resultados das análises de antioxidantes, CFT, FT, TMA e AA em base seca.

4.5.3 Determinação da capacidade antioxidante

Os extratos produzidos com a farinha de jambolão conforme planejamento e o das amostras *in natura* (polpa e casca) foram avaliados quanto à atividade antioxidante pelos métodos de captura dos radicais DPPH, ABTS+, e pelo potencial redutor do ferro (FRAP) de acordo com metodologias descritas a seguir.

4.5.3.1 Método de captura do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

A captura do radical DPPH foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Boroski *et al*. (2015), no qual inicialmente os extratos foram diluídos em metanol de forma a perfazerem uma concentração final de 2mg/ml, e a partir destes foram pipetados volumes iniciaisde 25, 50, 75 e 100 μL (diluições) para tubos de ensaio em triplicata e ao abrigo da luz foi adicionado 2,0 ml da solução metanólica do radical DPPH (previamente preparada). A mistura foi mantida em repouso por 30 minutos até a estabilização, e em seguida foi feita a leitura da absorbância em espectofotômetro (Rayleígh modelo UV-2601) à 517nm contra o branco (metanol). Também foi feita a medida da solução controle de DPPH.

Para cálculo dos resultados, primeiramente foram construídas curvas dos valores das % de inibição do radical (equacão 7) versus a concentração do extrato empregada.

$$\% \text{ Inibição do DPPH} = \frac{(ABS_{DPPH} - ABS_{AMOSTRA})}{ABS_{DPPH}} * 100 \qquad \text{(equação 7)}$$

Em seguida foi determinada a concentração necessária para inibir 50% do radical ($EC_{50\%}$) por meio da regressão linear obtida nas curvas de inibições. Os valores de $EC_{50\%}$ foram expressos em μg/g de extrato.

4.5.3.2 Método de captura do ABTS+ (2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfonico)

Esse método é utilizado com base nacapacidade de uma amostra para inibir o radical ABTS (ABTS+) comparandocom um padrão de referência antioxidante (Trolox).

O radical ABTS+foi gerado por reação química com o persulfato de potássio (K2S2O8). Para este efeito, 5 ml de ABTS (7 mm) foi misturado com 88μL de $K_2S_2O_8$ (140 mM) e deixada em repouso na escuridãoà temperatura ambiente durante 16 h (o tempo necessário para reagirem e formarem o radical).

A solução de trabalho foi preparada tomando-se um uma alíquota de 1mL da solução anterior e diluindo-o em etanol até que a suaabsorbância a 734nm fosse de 0,70±0,05.

Assim que ajustado, 30 μL dos extratos previamente diluídos (3 diluições) foram colocados para reagir com 3,0mL da solução de trabalho e homogeneizados. Após 6,0 min, fez-se a leitura da absorbância em 734 nm usando o espectrofotômetro UV (Rayleígh modelo UV-2601). As curvas padrões foram feitas com Trolox nas concentrações de 100 - 2000μmol/L, onde o trolox foi dissolvido em etanol nas concentrações de 70, 80 e 90% respectivamente Os resultados obtidos foram expressos em μmol equivalente de Trolox (TE) / g extrato seco em comparação as curvas padrões. Cada uma das amostrasfoi analisada em triplicata.

4.5.3.3 *Método do poder redutor do Ferro (FRAP)*

O potencial redutor dos extratos foi avaliado pelo teste FRAP (*Ferric Reducing Ability Power*), seguindo o procedimento descrito por Boroski *et al*. (2015) com algumas adaptações. A solução de trabalho (FRAP) foi obtida a partir da mistura das soluções estoque de acetato de sódio 300mmolL^{-1}, cloreto férrico 20 mmol/L e TPTZ 10 mmol/L nas proporções 10:1:1(v/v/v) respectivamente. Posteriormente, uma alíquota de 3,0 mL do reagente FRAP recém-preparado (que representa o branco) foi misturada com 100 μL de cada extrato e 300 μL de água destilada. A mistura foi homogeneizada e incubada em banho maria a 37 °C por 20 min e em seguida foi realizado a leitura da absorbância em 593nm, o reagente FRAP foi empregado para calibrar o espectrofotômetro (Rayleígh modelo UV-2601). Diluições adicionais foram necessárias quando o valor medido não se encontrava dentro do intervalo da curva (abs >1,2). Para construção da curva de calibração foi utilizado uma solução de sulfato ferroso (FeSO4•7H2O) nas concentrações de 500-2000 μmol/L. Os resultados foram expressos em μmol de sulfato ferroso/ g de extrato seco em comparação a curva padrão. As amostras foram analisadas em triplicata.

4.5.4 Avaliação da Atividade Antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobianados extratos produzidos conforme planejamento experimental (Farinha) e da casca*in natura*foi realizada pelos métodosde disco-difusão em agar e concentração mínima inibítoria em caldo, que estão descritas a seguir.

4.5.4.1 Preparo do inóculo

Para avaliação da atividade inibitória dos extratos etanólicos da farinha da casca de jambolão, foram utilizadas sete cepas de microrganismos variando entre bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*) e gram-negativas (*Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli e Pseudomonas aeruginosa*)

Para tal, os inóculos foram preparados a partir de 1 mL das culturas padrão dos microrganismos (previamente descongeladas), as quais foram ativadas em 5 mL de caldo *TriptonaSoyaBroth* (TSB- Oxoid) a 37°C *overnight*. A turbidez de crescimento ativo da suspensão bacteriana foi ajustada para coincidir com o padrão de turvação de 0,5 unidades da escala Mc Farland (previamente preparada) correspondente a 10^8 UFC/mL.

4.5.4.2 Método de difusão em disco

Para avaliação antimicrobiana foi escolhido o método de disco-difusão proposto por Jing-En *et al.* (2015), no qual 100 µL da suspensão bacteriana foram semeados em placas contendo 20 mL de Agar Mueller Hilton (KASVI), previamente preparado, esterilizado, dispensado sobre as mesmas e solidificado. Após a semeadura, quatro discos de papel de filtro de 6mm foram alocados na superfície do meio, no qual um discofoi adicionado do controle positivo (clorexidina 0,12%), e um do controle negativo(tampão pH 7) e em dois deles foram adicionados de 10 µL dos extratos com concentração variando de 100 a 200mg/mL,conforme descrição do planejamento experimental. A zona de inibição (ZI) do crescimento microbiano foi avaliada pelo diâmetro dohalo de inibição em mm ao redor dos discos após 24 horas de incubação a 37 ± 1 °C. Os ensaios foram realizados em triplicatas, e os resultados expressos pela média aritmética dosvalores dos halos obtidos nas repetições.

4.5.4.3 Método da Concentração mínima inibitória (MIC)

O teste de concentração inibitória mínima foi realizado de acordo com a técnica previamente descrita na literatura com adaptações (Manetti *et al*., 2010), somente para as cepas que apresentaram sensibilidade ao extrato no teste de disco difusão. Para a determinação da MIC, o inóculo foi preparado de acordo com item 4.4.1.1, e rediluído em solução salina 0,85% numa proporção de 1:1000 (v/v) para obter a concentração padrão utilizada (10^5 UFC/mL). A MIC foi realizada em microplacas de poliestireno estéreis de 96 poços de fundo plano, com 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H) em que todos os orifícios a partir da linha A foram preenchidos com 100 µL de caldo Brain Heart Infusion (2x concentrado). Um volume de 100 µL da solução estoque na concentração de 2.000 µg/mL (0,002g do extrato/1 mL do solvente Dimetilsulfóxido/ DMSO) dos extratos foi inoculado, em triplicata, nas colunas de 1 a 3 da linha A.

Em seguida, uma alíquota de 100 µL do conteúdo de cada orifício da linha A foi transferido para os orifícios da linha B, e após homogeneização o mesmo volume foi transferido para a linha C, repetindo-se este procedimento até a linha H. Obtendo-se as concentrações decrescentes em µg/mL de 1.000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 e 15,62.

Posteriormente, em cada orifício foi adicionado 10 µL de inóculo microbiano. Para o controle positivo da viabilidade bacteriana utilizou-se o caldo BHI (concentração dupla) e o inóculo microbiano (10 µL); o controle negativo foi avaliado por meio da atividade inibitória do diluente (DMSO); e para o controle de esterilidade utilizou-se apenas o caldo, dessa forma em cada placa foram analisadas duas cepas de microrganismos para cada extrato.

As placas foram incubadas em BOD a 37ºC por 18 horas. Após este período, foram adicionados 20 µL de TTC (Trifeniltetrazolio-2,3,5 Cloreto) a 0,5% (v/v) em cada poço, em seguida as placas foram reincubadas por mais 2 horas. A mudança de incolor para coloração vermelha indica a presença de microrganismos, e assim a menor concentração para a qual não houve crescimento das bactérias foi definida como a MIC. O valor MIC foi registrado como a concentração média da triplicata.

4.5.5 Análise dos resultados e quantificação dos compostos bioativos do extrato de aplicação.

A comparação de médias das amostras para cada análise foi realizada através do teste Tukey a 5% de significância, utilizando delineamento inteiramente casualizado por meio do software Assistat 7.7.

Após obtenção dos resultados do planejamento experimental, para todos os ensaios em cada análise foi realizada a análise estatística dos dados, empregando o software Statistica (StatSoft, versão 7, Tulsa, EUA), em que no planejamento fatorial utilizou-se o método de regressão dos quadrados mínimos para ajustar os dados ao modelo quadrático. O modelo quadrático para cada resposta foi obtido pela Equação 8:

$$z = \beta 0 + \beta xX + \beta xx\ X^2 + \beta yY + \beta yyY^2 + \beta xyXY \qquad \text{(Equação 8)}$$

Onde Z é a resposta predita; β0é uma constante; βx e βy são coeficientes lineares; βxx e βyy são coeficientes quadráticos; β_{XY}é o coeficiente de interação da variável X,Y; X e Y são as variáveis independentes. A adequação do modelo foi determinada pela avaliação do coeficiente de determinação (R^2) e o valor do teste de Fisher (valor F), obtidos da analise de variância (ANOVA) que foi gerado pelo software. As Superfícies de Resposta foram determinadas para as análises das capacidades antioxidante (DPPH, ABTS+, FRAP) e antimicrobiana (Disco-difusão e MIC/microrganismo) e a significância estatística do modelo foram determinadas a 5,0% de probabilidade ($\alpha = 0{,}05$).

Após análise estatística,foi escolhido o extrato que apresentou melhores propriedades antioxidantes e antimicrobianas, para seu posterior uso, o qual foi denominado de extrato otimizado (EO).

A quantificação de flavonóides totais e antocianinas foram realizadas nesse extrato, conforme procedimentos descritos no item 4.4.3. Enquanto que para determinaçãodo teor de fenólicos totais e acido ascórbico (AA) do EO, o método de extração foi modificado, tendo em vista que a polpa e casca de Jamelão *in natura* apresentaram um alto conteúdo de vitamina C, e como o mesmo pode se tratar de um interferente e de modo a não ocorrer resultados superestimados, foi necessária sua extração. Dessa forma, para realização da analise de CFT foi necessária à obtenção de extrato bruto, lavado e lavado aquecido a partir do EO para os quaiso procedimento utilizado está descrito no item seguinte.

4.5.6 Determinação de fenólicos totais e vitamina C do extrato otimizado.

4.5.6.1 Preparo dos extratos

Os extratos para avaliação foram realizados conforme metodologia proposta por George *et al.* (2005).Para tal, 1 mL do extrato otimizado foi colocado em balão volumétrico de 10 mL e completado o volume com acetona 70%. Em seguida, 1 mL desta solução foi transferido para outro balão e o seu volume foi completado com água destilada, de forma que a concentração de acetona na solução fosse 7%. Essa solução foi chamada de extrato bruto (EB). Em seguida uma alíquota de 2 mL do extrato bruto foi passada pelo cartucho Oasis HLB; onde o mesmo foi lavado, duas ou três vezes, com 2 mL de água destilada. O filtrado será recolhido e anotado o volume final. Essa solução será chamada de extrato lavado (EL). Posteriormente, em um tubo de ensaio com tampa de rosca, serão adicionados 3 mL do extrato lavado o qual será colocado em banho maria a 85°C por duas horas, para a eliminação da vitamina C. Essa solução será chamada de extrato lavado aquecido (ELQ).

4.5.6.2 Determinação do conteúdo de compostos fenólicos e vitamina C

O conteúdo de compostos fenólicos e vitamina C foi determinado segundo metodologia descrita por Thaipong *et al*. (2006) seguindo procedimento descrito no item 4.4.3.2 associado com a descrita por George (2005). Os valores das absorbâncias dos EB e EL foram utilizados para quantificação de CFT, enquanto que as absorbâncias referentes aos EL e ELQ foram utilizadas para quantificação de AA. Sendo assim, para este método foram construídas duas curvas padrões de calibrações, uma curva de ácido gálico nas concentrações de (20-160 mg/L) para comparação dos resultados dos compostos fenólicos e outra curva padrão de ácido ascórbico (10-100 mg/L) para comparação dos resultados da vitamina C. Os resultados de fenólicos totais foram expressos em (mg GAE / g de extrato seco), os quais foram obtidos através da Equação 9 e os resultados de ácido ascórbico em (mg AAE / g de extrato seco) obtidos através da Equação 10.

$$CFT = ((CEBD \times DEB/m) - (CEL \times DEL/m)) \quad \text{(equação 9)}$$

$$\text{Ácido Ascórbico} = ((CEL - CELA) \times (DEL/m)) \quad \text{(equação 10)}$$

Onde,

CEBD = concentração de ácido gálico na solução de amostra (mg/L) referente ao extrato bruto (EB) obtido por meio da regressão linear da curva padrão de ácido galico;

m = massa seca de extrato, expressa em gramas;

DEB = diluição da amostra, em litros, referente ao extrato bruto (EB);

CEL = concentração de ácido gálico na solução de amostra (mg/L) referente ao extrato lavado (EL) obtido por meio da regressão linear da curva padrão de ácido galico;

DEL = diluição da amostra, em litros, referente ao extrato lavado (EL); levando-se em consideração a diluição no extrator SPE;

CELA = concentração de ácido ascórbico na solução de amostra (mg/L) referente ao extrato lavado aquecido (ELA);

4.6 Desenvolvimento e testes *in vitro* das embalagens biodegradáveis e comestíveis ativas.

4.6.1 Produção dos filmes ativos

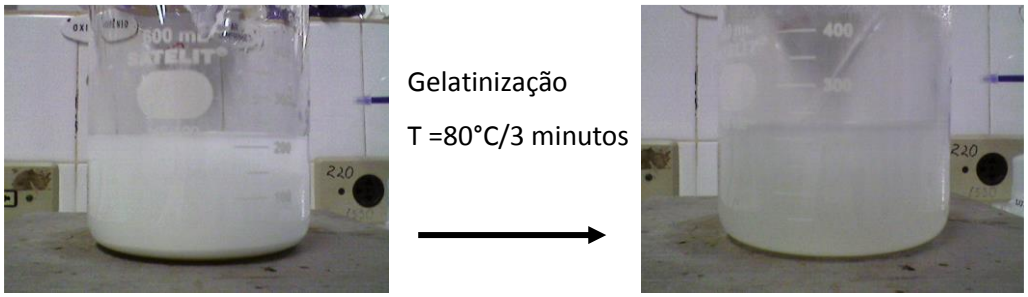
Os filmes ativos foram elaborados com acetato de celulose eamido de milho mais quitosana e processados utilizando o método *casting*, descrito por Santiago-Silva *et al*. (2009) onde a solução filmogênica foiespalhada em placas de vidro (previamente higienizados com álcool a 70%) para a formação do filme.

Para produção dos filmes de celulose foi empregado método de Santiago-Silva *et al* .(2009) e de acordo com esta metodologia, o acetato de celulose foi dissolvido em solução de acetona P.A., de modo a obter concentração de 3% de celulose (p/v) e 1% de glicerol (previamente testado com concentrações variando de 0,5 a 1,0) em seguida a solução foi incorporada do extrato ativo em diferentes concentrações, e mantidas por 48 h para dissolução completa do acetato de celulose.

Os filmes de amido incorporados com 1% de quitosana foram produzidos seguindo metodologia de Ugalde (2014) com modificações. Inicialmente, foram preparadas três soluções de amido em água destilada (3, 4, e 5%), e misturadas com plastificante glicerol (1 e 5%) as quais foram geleificada através do aquecimento da mesma a 80°C por 3 min em placa de aquecimento, posteriormente nestas soluções foram adicionados 1% de quitosana, misturados, e quando necessários reaquecidos. Aproximadamente 20 gdessas soluções foram despejadas em placas de petri e colocadas para secar em estufa com circulação de ar por intervalo de 2-5 dias, de modo a avaliar quais as melhores condições.

Após essa etapa, foi escolhida para reprodução as películas com 4 % de amido e 5% de glicerol, secas por 48 h, pois a mesma apresentou-se com maior elasticidade e visualmente melhor. A nova solução filmogênica foi obtida conforme Figura 14 e adicionada do extrato ativo antes da secagem a 40°C por 48 horas.

Figura 14- Produção de solução filmogênica a 4 % de amido (v/p).



Fonte: Próprio autor (2017)

O extrato ativo otimizado, selecionado de acordo com os resultados obtidos no delineamento experimentalfoi incorporado nas emulsões de modo a testar sua concentração variando de 20 a 60% (v/p) em ambos os tipos de filmes. Depois da completa evaporação dos solventes (acetona), à temperatura ambiente (24 ± 1 ºC), e (água) 40°C /48h para as bases de acetato de celulose e amido respectivamente, as películas foram removidas das placas de vidro e acondicionadas num dessecador.

Para ambas as bases, também foram produzidos filmes sem a incorporação do extrato, os quais foram denominados de filme controle. Todos os filmes obtidos foram analisados quanto a cor, atividade antioxidante e antimicrobiana.

4.6.2 Análise Colorimétrica dos filmes

A determinação da cor foi realizada de acordo com Clarke e*t al.* (2016). Um colorímetro foi usado para determinar a cor da superfície das películas por meio das parâmetros L *, a * b *, c e h . A diferença de cor total entre a amostra e o controle (ΔE *) será calculada de acordo com a equação 12:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \qquad \text{(Equação 12)}$$

A escala de classificação para diferença de cor total relatado pelo Cruz-Romero *et al.* (2007) foi usada para classificar os filmes de acordo com a diferença de cor total. Os resultados baseiam-se numa média de 5 repetições.

4.6.3 Determinação da atividade antioxidante dos filmes

A determinação da atividade antioxidante dos filmes foi mensurada pelos métodos ABTS+, DPPH e FRAP.

4.6.3.1 Método ABTS+

Para avaliar a atividade antioxidante das amostras de filmes pelo método ABTS foi adotada a metodologia de TongNuanchan *et al*.(2012) modificada, onde os cortes das películas (1cmx 1cm) a partir de diferentes partes das películas foram adicionados em 2,0 ml de solução diluída de radical ABTS (7 mM de ABTS e persulfato de potássio 140mM, A734 = 0,7 ± 0,1). Os filmes sem extrato foram utilizados como controle. A atividade antioxidante foi expressa em μmol de equivalentes de trolox por grama de filmes usando curva padrão.

4.6.3.2 Método DPPH

A capacidade antioxidante dos filmes produzidos, analisada por meio da capacidade em sequestrar o radical DPPH, foi executada de acordo com Brand-Williams *et al.* (1995) com modificações. Para quantificação nos filmes foram recortados pedaços de 1cm² e adicionados 3,9 mL de solução de radical DPPH 0,06 mM, deixando reagir por 45 minutos e em seguida foi realizada a leitura das absorbâncias a 515nm. Os resultados foram expressos em % de inibição do radical.

4.6.3.3 Método FRAP

O método empregado foi o mesmo descrito no item 4.5.3.3., no entanto ao invés de se utilizar 100μL de extrato, foram utilizados os filmes variando seus pesos entre 1 e 30 mg de modo que os valores da aborbâncias não ficassem fora do intervalo da curva padrão.

4.6.4 Determinação da atividade antimicrobiana dos filmes

Para determinação da atividade antimicrobiana, primeiramente os filmes de acetato de celulose e amido foram mantidos sob luz ultravioleta (UV) por 15 minutos de cada lado, em câmara de fluxo laminar, visando à descontaminação inicial dos mesmos.

A atividade antimicrobiana *in vitro* dos filmes foi realizada de acordo com o teste de difusão em disco utilizando quadrados de filmes de 1,0x1,0 cm de diâmetro,seguindo as metodologias descritas por CLSI (2011) e Gelinski *et al*. (2007) com adaptações.

O inoculo e a semeadura em placas de petri com as culturas dos micro-organismos para os testes de difusão dos filmes foram obtidas conforme descrito no item 4.5.4.1 e 4.5.4.2, no entanto foi verificada a ação somente sobre as bactérias que foram sensíveis ao extrato.

A leitura dos testes foi realizada com auxílio de uma régua milimetrada, utilizando-se a medida do tamanho do diâmetro dos halos de inibição em volta de cada filme, sendo incluído na medição o próprio filme. Foram considerados com ação antimicrobiana os filmes que apresentaram formação de um halo de inibição superior a 10mm de diâmetro (GELINSKI *et al.*, 2007).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Características físico-químicas presentes nas amostras de Jamelão.

Os resultados referentes aos valores de umidade, cinzas, lipídeos, pH, acidez,sólidos solúveis encontram-se na Tabelas 5.

Tabela 5- Caracterização físico-química de amostras de jamelão.

Amostra*	Umidade (%H_20)	Cinzas (% de cinzas)	Lipídeos (% de lipídeos)	pH	Acidez (g /100g de ác.cítrico)	Sólidos Solúveis (°brix)
Polpa	84,25±0,24a	0,44±±0,0b	0,8±0,2a	4,04±0,11a	7, 38±0,01b	10,67±0,21b
Casca	68,88±8,07b	0,38±0,01c	0,5±0,1b	3,73±0,04b	5, 80±0,17c	11,67±0,32b
Pó da casca	7,92±0,76c	3,14±0,02a	0,82±0,0a	3,56±0,04b	23, 81±0,18a	51,67±0,58a

*Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma coluna não diferem estatisticamente a 5 % de significância.

De acordo com a Tabela 5 é possível observar que houve uma redução significativa ($p<0,05$) no teor de umidade, entre todas as três amostras estudadas, principalmente quando comparadas as amostras *in natura* com o pó da casca. Fato esse já esperado, devido ao processo de secagem se utilizar de temperatura e consequentemente remover a água do produto.

Araujo (2014) e Bezerra (2015) em seus estudos encontraram valores semelhantes ao obtido neste trabalho, em torno de 84% para a polpa do fruto. Para a fração comestível (polpa+casca) do jambolão os valores de umidade relatados por Mussi *et al*. (2015) e Branco *et al*. (2016) foram em torno de 86% e Tavares *et al.* (2016) encontrou valor médio de 87%, assim como Soares (2015) que também verificou que os valores variavam de 86 a 90% para a polpa deste fruto a depender da região de colheita. Dessa forma, pode-se dizer que os valores verificados aqui estão bem próximos aos dos trabalhos citados, porém em relação aos últimos autores encontra-se apenas um pouco inferior, o que sugere-se que seja devido ao fato de nessa situação se ter separado a pele da polpa.

A casca *in natura* por sua vez continha um teor de água menor comparativamente a polpa, porém este foi próximo ao obtido por Mussi *et. al*. (2015) que observou para o resíduo úmido um valor intermediário de 62%, e para o resíduo seco valores variavam de 4 a 9 %, e embora a técnica de secagem utilizada por este autor tenha sido diferente (*spray drier*) os valores aqui encontrados se encaixa entre os valores citados.

Os resultados das cinzas variaram significativamente entre si, sendo o maior valor obtido para a farinha da casca e o menor para casca *in natura*. Ayyanar e Subash-Babu (2012)

relatou em sua revisão que os valores de cinzas do fruto jamelão variam entre 0,3 e 0,4, sendo estes compatíveis aos obtidos para polpa e casca do fruto.

Pereira *et al*. (2015) na avaliação deste mesmo fruto, encontrou 0,41 g/100g de cinzas, e esse valor foi semelhante ao obtido aqui para a polpa. Em contrapartida Kapoor e Ranote (2015) e Lago (2006) verificaram valores de 0,34 %, para polpa, os quais se aproximaram do valor aqui encontrado para a casca.

Ainda na Tabela 5 é possível observar um aumento no teor de cinzas da farinha da casca em relação a casca *in natura*, e sugere-se que esse aumento pode ser justificado pelo aumento na concentração de minerais, tendo em vista a remoção de água presente. Esse mesmo efeito também foi verificado por Constancio (2015) que relatou em seu trabalho valor de 3,46% de cinzas para a casca do jambolão liofilizada, o qual foi bem próximo ao encontrado neste trabalho, apesar do método de secagem ser diferente.

Os valores aqui encontrados para os lipídeos (Tabela 5) variaram de 0,5 a 0,82, sendo, portanto, estatisticamente diferentes. Porém tendo em vista que o jambolão não é uma grande fonte desses compostos, a variação verificada não foi consideravelmente importante.

Contudo, os valores aqui obtidos ainda foram superiores aos de alguns trabalhos encontrados, a saber, nos de Ayyanar e Subash-Babu (2012), Pereira *et al*. (2015), Lago *et al.* (2006) e Santos (2014) que verificaram em seus trabalhos valores de lipídeos que variavam entre 0,15 e 0,35, em polpa e fruto do jambolão.

Soares (2015) por sua vez encontrou valores de 0,04 g/100g de lipídeos para a polpa, 0,1 para o néctar e 0,8 para o sherbets, mostrando que mesmo se tratando de produtos da mesma fruta, vai haver variação, a depender do restante da composição.

Além disso, valores foram semelhantes aos relatados aqui, foram verificados na literatura por Sá (2008) e Baliga *et al.* (2011) que encontraram em seus trabalhos valores de 0,55% e 0,6% na fração comestível e fruto do jambolão respectivamente.

O valor de pH obtido não diferenciou significativamente entre a casca *in natura* e sua farinha, apenas a polpa apresentou valor um pouco maior e todas as amostras ficaram em torno de 3,5- 4.

Valores próximos aos obtidos neste trabalho foram relatados na literatura por Branco *et al.* (2016), Mussi *et al*. (2015) e Pereira *et al.* (2015) que em seu estudos verificaram valores de pH que variavam de 3,63- 4,15 para a polpa e parte comestível (casca +semente) do jambolão. Essa faixa de valores de pH, caracteriza este fruto como um alimento ácido e pode favorecer o crescimento de leveduras, com isso, a secagem pode ser uma boa alternativa para a estabilização do produto, uma vez que a redução na atividade de água em alimentos

ácidos se torna um aliado importante nos processos conservação desses frutos (CHITARRA e CHITARRA, 2005; PEREIRA, 2011).

A acidez total titulável representa o somatório das concentrações dos ácidos presentes na amostra, de acordo com o ácido predominante no alimento que está sendo analisado (ADOLFO LUTZ, 2008), que em questão é o ácido cítrico. A acidez total foi maior para a farinha da casca que para a polpa e casca *in natura*, e assim como observado para o teor de cinzas, a remoção da água, promoveu a concentração dos compostos presentes.

Valores superiores de acidez foram encontrados por Mussi (2014) para fração comestível (12%) em relação à polpa (9%), extraída mecanicamente, diferentemente do relatado por Lago *et. al*. (2006) que encontraram 5,91%,semelhante ao obtido aqui para a casca.

O teor de sólidos solúveis totais é indicativo da quantidade de açúcares existentes no fruto e é um importante atributo para determinação do seu sabor. Os teores encontrados neste trabalho para as diferentes amostras, foram de 10,67% e 11,67 % para a polpa e casca *in natura* respectivamente, os quais foram compatíveis com os verificados por Mussi (2014) e inferiores aos reportados por Branco *et al.* (2016) e Pereira *et al*. (2015) para a polpa e por Pacheco (2015) para o fruto que foram de 17,9%, 33% e 14,3 % respectivamente e superiores ao relatado por Vizzotto e Fetter (2009) que encontraram 9% para a fração comestível.

Em relação à farinha o valor dos sólidos soluveis foi aumentado em quase cinco vezes, devido ao fato já mencionado para os teores de cinzas e acidez.

Borges *et al*. (2011) explica que a variação na composição química centesimal dos frutos pode ser dada as características ambientais a que estes frutos foram submetidos, ao estádio de maturação, aa disponibilidade de nutrientes nos diferentes solos, as variedades das árvores de jambolão de cada região, além da quantidade de chuva durante a safra .

Na Tabela 6 é possível verificar os resultados da análise colorimétrica, a qual mostra que houve diferença significativa entre as amostras estudadas, para todos os parâmetros de cor analisados. No entanto a polpa e a casca *in natura* apresentaram valores mais próximos quando comparados à farinha, certamente em função da secagem aplicada à mesma.

Pode-se afirmar que quando a coordenada a* é positiva, o fruto apresenta tom mais próximo do vermelho e quando negativa apresenta o tom mais próximo do verde e que o aumento dessa coordenada pode ser explicado pelo teor de pigmento de antocianina presente. (CHITARRA e CHITARRA, 2005; PATHARE *et al*., 2013).

A coordenada b* por sua vez quanto mais negativa indica tom mais próximo do azul, característica de frutos que contém pigmentos antociânicos. E amostras que apresentam

maiores resultados de croma (c*) indicam maior pureza ou intensidade da cor. O parâmetro L* por sua vez é uma medição da luminosidade da amostra, avaliado de maneira a estabelecer uma escala de cinza, com valores entre preto (0) e branco (100) e os graus hue (H) variam de 0º a 360º e indicam a tonalidade da amostra onde 0º ou 360° possui tom vermelho; 90º amarelo; 180º o verde e 270º o azul (PATHARE *et al*., 2013).

Tabela 6- Avaliação dos parâmetros de cor das amostras de Jamelão.

Amostra	Parâmetros				
	a*	b*	c*	L	H
Polpa	6,000±0,900b	7,675±0,153a	9,575±0,611b	29,675±0,709b	53,950±3,943a
Casca	2,275±0,419c	3,225±0,411b	3,975±0,171c	45,175±0,713a	58,266±2,460a
Farinha da Casca	16,775±0,618a	0,250±0,251c	16,775±0,618a	23,575±0,478c	1,133±0,750b

*Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma coluna não diferem estatisticamente a 5 % de significância.

Sendo assim, os valores apresentados na Tabela 6 indicam que para a luminosidade (L) a casca e a polpa *in natura* apresentaram valores maiores tendo em vista o percentual de água contido nas mesmas, no entanto esse valor foi reduzido quase em 50% com a retirada de água da casca, justificando assim à tonalidade mais escura da farinha. O mesmo pode ser observado em relação à coordenada b* uma vez que como amostra perdeu luminosidade e escureceu com a desidratação, deixou de tender para o amarelo, para ser direcionada para o azul.

Entretanto para os parâmetros a* e c*, que indicam direção para o vermelho e intensidade da cor, respectivamente, houve uma inversão, onde os maiores valores foram observados para a farinha, tendo em vista que a secagem a baixas temperaturas promoveu a retirada da água e um acúmulo dos pigmentos antociânicos, característico do fruto. Esses resultados confirmam os relatos de Severo *et al.* (2010) que concluíram que a coloração dos frutos de jambolão (*Syzygium cumini*, Lamark) varia do verde, quando imaturo, ao roxo-azulado, quando maduro.

Valores próximos de luminosidade para as presentes amostras foram relatados por Jampani *et al.* (2014) e por Barcia *et al.* (2012) em polpa e fruto de jambolão respectivamente, os quais variavam de 23 a 25. Todavia, Soares (2015) reportou valores superiores para a polpa os quais variaram de 31,46 a 34,59 , a depender do local de coleta.

Eichholz *et al.* (2011) também encontrou em mirtilo (*Vaccinium Myrtillus*), valores de L* próximos ao deste trabalho (24,55), e sugere-se que isso ocorreu devido a esse fruto também ser conhecido pela quantidade de antocianinas presente em sua composição.

Para a coordenada a*, Barcia *et al.* (2012) e Soares (2015) relataram valores superiores aos obtidos no presente estudo para a polpa e casca *in natura*, os quais variaram de (8,41 a 12,29) e de (7,86 a 10,49) respectivamente, enquanto que para a coordenada b*, os valores verificados por esses autores foram inferiores e variaram de (-6,57 a -7,22) e (-3,36 a -5,29) a depender da região e local de coleta. No entanto, os valores de chroma (c*) obtidos por eles (8,76 a 11,58) foram equivalentes aos constatados aqui.

Logo, apesar de as intensidades da cores verificadas por esses autores terem sido próximas deste trabalho, a coloração foi diferente. Essas diferenças naturais possivelmente ocorrem devido às diversas procedências destes frutos.

Os valores de graus hue (H) encontrados neste trabalho para polpa e casca foram em torno de 55°, enquanto que para farinha se aproximou de 0°. E segundo Soares (2015) valores que se distanciam de 360º indicam maior presença da tonalidade azul. Dessa forma, pode-se afirmar que os frutos de jambolão possuem tonalidade vermelha-azulada e que essa é indicadora de que esses possuem antocianinas em sua composição.

Foi verificado no trabalho de Mussi *et al.* (2015) que obtiveram à farinha do Jamelão por meio de secagem do mesmo em leite de Jorro, valores próximos de luminosidade ao relatado aqui para o pó da casca os quais variaram de 14,6 a 23,8 a depender do tempo de secagem. Quanto ao parâmetro a*, seus valores foram inferiores uma vez que ficaram entre 7,2 e 9,2 e em relação ao parâmetro b* esses autores observaram que ocorreu um aumento ao longo do tempo de secagem e as amostras ficaram com coloração mais clara e os valores ficaram entre -0,2 e 1,0, sendo estes superiores ao nosso, logo a farinha aqui obtida foi de uma tonalidade mais escura.

Uma vez que baixos valores de luminosidade associados a altos valores da coordenada a* indicam que a tonalidade está mais próxima do preto, que é confirmada pela cor característica dos frutos de jambolão que apresentam coloração entre roxa a azul, devido à presença de pigmentos de antocianinas (AYYANAR e BABU, 2012).

As diferenças nos valores dos parâmetros colorimétricos entre os trabalhos, podem ser associadas a variações climáticas e nutricionais do solo, ponto de colheita, estádio de maturação, entre outras, resultando em diferenças na quantidade de pigmento acumulados (SILVA *et al*., 2011).

5.2 Compostos bioativos e atividade antioxidante presentes nas amostras de Jamelão.

Os resultados dos compostos biativos referentes aos valores de clorofila total, carotenóides, β-Caroteno e Vitamina C podem ser vistos na Tabela 7.

Nessa tabela é possível observar que não houve diferença significativa nas análises de clorofila total, β-caroteno e vitamina C para a casca *in natura* e para a farinha, no entanto estas diferiram significativamente da polpa do jamelão, apresentando a polpa valores menores para os mesmos. Entretanto, nos valores de carotenóides totais houve diferença entre as três amostras estudadas.

Tabela 7- Médias das avaliações de Clorofila, Carotenóides, β-Caroteno e Vitamina C, presentes nas amostras de Jamelão.

Amostra	Clorofila Total (mg/100g)	Carotenóides (mg/100g)	β-Caroteno (mg/100g)	Vitamina C (mg/100g)
Polpa	1,24 ±0,04b	1,09±0,02c	0,52±0,00b	47,71±3,73b
Casca	5,39±0,81a	7,71±1,55a	3,48±0,57a	20,33±6,00a
Farinha da casca	5,46±0,53a	5,03±0,61b	2,59±0,34a	20,91±3,60a

*Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma coluna não diferem estatisticamente a 5 % de significância.

De acordo com Rai *et al.* (2011), os frutos maduros de jamelão são considerados como desprovidos de cor verde, ou seja, de cloroplastos, uma vez que basicamente eles são de cor roxa. No entanto, seu estudo indicou a presença de clorofila na fruta com teor inicial de 13,88 mg / 100 g de frutas. Sendo este superior aos verificados neste trabalho para todas as amostras estudadas (1,24 a 5,4mg/100g). Já Rufino *et al*. (2010) reportaram teores de 0,9 mg/100g, semelhantes aos relatados para a polpa na presente pesquisa.

Os valores de carotenóides totais aqui expostos para polpa e casca respectivamente foram próximos aos obtidos por Barcia *et al.* (2012) que relatou em seu trabalho valor em torno de 0,91 mg/100g de jambolão, a depender do local de colheita.

Contudo, outros autores verificaram valores inferiores ao deste, a saber, Faria *et al*. (2011), Rufino *et al*. (2010) e Vizzoto e Pereira (2008) que obtiveram em seus trabalhos na avaliação da polpa deste fruto, teores de 0,089mg /100g, de 0,51mg/100g e de 0,43 mg equivalente de α-caroteno /100g, respectivamente.

Para a casca do jambolão não foram encontrados trabalhos que avaliassem o teor de carotenóides totais. No entanto Matietto *et al.* (2010) em avaliação desse teor em frutos de cajá com e sem casca verificou que o valor obtido para para cajá com casca foi superior ao da cajá sem casca (38 e 28 µg/g respectivamente), logo de acordo com este trabalho e com os resultados obtidos aqui, verifica-se que a casca pode ser considerada como grande fonte desses compostos.

Em relação ao teor de β-caroteno, Paul e Shaha (2004) encontraram valores de 50mg/100g de polpa do jamelão, diferentemente da presente pesquisa, onde os valores variaram entre 0,5 e 3,4mg/100g.

Silva L.M.R. *et al.* (2014) identificaram presença de β-caroteno em diferentes frutas tropicais cultivadas no Brasil e observaram que acerola, caju, mamão e pitanga são excelentes fontes deste carotenóide cujos teores foram de 2,623 2,024 e 1,564 mg/ 100g, respectivamente. Como os teores obtidos para a casca do jamelão na presente pesquisa foram superiores aos reportados por Silva *et al.* (2014), pode-se afirmar que a casca deste fruto é uma ótima fonte de β-caroteno.

Relacionado à vitamina C, Vizzoto e Fetter (2009) afirma que essa é a vitamina em maior abundância no jamelão. Neste trabalho observou-se que não houve diferença estatística entre os teores presentes na casca *in natura* e na farinha, mostrando que independente da secagem a vitamina manteve-se na amostra. No entanto estas amostras diferiram da polpa, uma vez que a mesma apresentou maiores teores (47,71mg/100g) quando comparados as outras (aproximadamente 20mg/100g).

Pacheco (2015) estudando a polpa de jambolão reportou para o teor de vitamina C, valor semelhante ao da presente pesquisa, o qual foi de 43,98mg/100g.

Todavia, encontram-se na literatura alguns trabalhos onde os teores de vitamina C do jamelão foram superiores aos encontrados nessa pesquisa como o de Brandão *et al*. (2011) que verificaram valores entre 6,51mg/100g a 50,1 mg/100g a depender do estágio de maturação do fruto; o de Rai *et al.* (2011) que reportaram teor de 55,50mg/100g, bem como o de Soares (2015) que relatou valores de 146,37mg/ 100g.

No entanto, há também alguns trabalhos que reportaram teores inferiores como o de Baliga *et al*. (2011) que encontraram valor de 30 mg/100g de fruta , o de Ayannar e Subash-Babu (2012) que constataram teores que variavam de 5,7 a 18mg/100g de polpa e o de Kapoor *et al.* (2015) que reportaram teores de 21,77 e 18,29 para o fruto e a polpa processada, respectivamente.

Em relação a pó da casca do jambolão, não foram verificados na literatura trabalhos referentes ao teor de ácido ascorbico. Entretanto, foram encontrados trabalhos com o pó da polpa, os quais reportaram valores superiores (BORGES, 2011 e GORDON *et al.* 2011) e inferiores (KUBOLA *et al.* 2011) ao da presente pesquisa. Assim, o tipo de amostra (polpa) e a técnica de secagem (*spray drier* e liofilização) utilizada por esses autores, foram os fatores que possivelmente podem ter contribuído para tal resultado.

Mas além do ácido ascórbico, o jamelão possui alto teor de outros compostos funcionais, como os compostos fenólicos, flavonóides e antocianinas, os quais estão respresentados na Tabela 8.

Tabela 8- Média dos compostos bioativos referente aos compostos fenólicos totais (CFT), Flavonóides totais (FT) e Antocianinas monoméricas totais (TMA).

Amostra	Fenólicos (mg GAE.g/g)	Flavonóides (mg QE/g)	Antocianina (mg CE/100g)
Polpa	14,81±1,13b	1,74+1,15b	113,25±0,85b
Casca	173,09±3,92a	10,54±0,53a	1040,2±2,52a

*Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma coluna não diferem estatisticamente a 5 % de significância. GAE= equivalente ao ácido gálico; QE= equivalente a quercetina; CE= equivalente a cianidina.

O conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT) expressos para a polpa na referida tabela foi de 14,81 mg EAG/g enquanto que na casca verificou-se neste trabalho que seu valor foi cerca de dez vezes maior (173,08 mg EAG/g) ao relatado para a polpa, diferindo portanto estatisticamente entre si.

Valores próximos ao obtido na presente pesquisa para a polpa, foram relatados por Rai *et al.* (2011) que ao avaliar o jambolão encontrou teor de CFT de 1175,18 mg/100g de fruta fresca e por Singh *et al*. (2016) que relatou para extrato da polpa deste fruto teor de 11,74 mg GAE / g.

Entretanto, diversos autores que também avaliaram a polpa e/ou fruto do jambolão reportaram valores de CFT inferiores aos deste, a saber, Soares (2015), Faria *et al.* (2011), Brandão *et al.* (2011) e Reynertson *et al.* (2008) que verificaram em seus trabalhos valores de 150 a 195mg/100g; 148,3 mgGAE/100g; 208mg/100g e 995 mg GAE / 100g respectivamente.

Em outros frutos roxos, como o mirtilo (AABY *et al.* 2013) também foi encontrado teor inferior ao do presente trabalho (564mg GAE/ 100g), apesar desse fruto ser reconhecidamente rico em CFT.

Todavia, Pereira (2011), Bezerra (2015) e Kapoor *et al. (*2015) em avaliação da polpa de *Syzygium Cumini* L , reportaram valores superiores ao deste estudo, os quais variaram de 19,27 mg GAE/g a 22,50 mg GAE/g

No trabalho de Pacheco (2015) por sua vez, ele percebeu que ao analisar 10 tipos de frutos, o Jamelão, foi o que dentre eles possuiu o maior valor de CFT, confirmando a funcionalidade deste fruto.

Em relação ao teor de CFT da casca não foram encontrados na literatura trabalhos que analisem especificamente essa parte do fruto, o único relato encontrado diretamente com a casca foi de uma infusão feita a partir da pele desse fruto, a qual mostrou à presença de cerca de 100 mg / g de fenóis (BANERJEE *et al.*, 2005), e foi inferior ao obtido neste estudo.

Apesar de não se encontrar relatos de trabalhos com a casca seca deste fruto, o valor de CFT obtidos para essa amostra foi próximo ao encontrado por Peixoto e Freitas (2013) (143 mg GAE / g) em avaliação de sementes secas de *S. cumini*.

Mediante a essa afirmação percebe-se a necessidade de trabalhos com essa parte do fruto, em contrapartida, de acordo com os resultados aqui obtidos e os inúmeros trabalhos citados também se pode afirmar que todas as partes de *S. cumini*, têm um alto conteúdo polifenólico e que ainda numa mesma fruta os teores de compostos fenólicos totais presentes podem variar devido à diversos fatores, como, a umidade, o tipo de solo, o clima durante o desenvolvimento (DJERIDANE *et al.*, 2013), variação na maturidade (BIEGELMEYER *et al.*, 2011), diferenças genéticas e condições de armazenamento na pós-colheita (PINTO *et al*., 2010) e diferente localização geográfica dos frutos. (MARTINS *et al*., 2011;CHENG *et al*., 2012). Além disso, o método de preparo do extrato, diferenças no solvente de extração, tempo de extração e a base utilizada para medir (g extrato ou g material) também são fontes de variação (CROZIER *et al.*, 2009).

Os flavonóides é o maior grupo entre os fenólicos das plantas, que têm sido descritos como tendo muitos benefícios para a saúde devido às suas propriedades antioxidantes, cardio-protetoras e anti-cancerígenas (CELLI *et al.*, 2011).

Os teores de flavonóides obtidos para a polpa e casca neste trabalho (Tabela 8) também diferiram entre si a 5% de significância e estes foram de 1,74 e 10,54 mgQE/g, respectivamente.

Rai *et al*. (2011) e Bezerra (2015), reportaram em seus trabalhos valores semelhantes ao obtidos neste para a polpa, os quais foram de 115mg /100g para o fruto e 165,4 mg /100g para a polpa respectivamente, onde os flavonóides encontrados foram mirecetina e cianidina.

Enquanto que valores superiores aos deste trabalho foram relatados por Benherlal e Arumughan (2007), que observou para a polpa e sementes 30 e 25,30 mg QE / g e por Singh *et al.* (2016) que encontrou total de flavonóides de 5,73 mg QE / g para extrato polifenolico do fruto jambolão, o que se deveu principalmente à presença de antocianinas (uma classe de compostos flavonóides).

Faria *et al.* (2011) e Branco *et al*. (2016) por sua vez , neste mesmo fruto verificaram valores de 94,2 mg de catequina/100g e 25,29 mg QE/ 100g para o teor de flavonóides, os quais foram inferiores ao desta pesquisa.

E ainda em avaliação do teor de flavonoides do Jamelão, agora utilizando diferentes solventes, Pacheco (2015) verificou que os melhores valores em ordem decrescente foram obtidos quando utilizados, os solventes acetona, etanol e metanol, os quais apresentaram respectivamente valores de 94,5; 86,7 e 131mg QE/100g, porém todos estes resutados foram inferiores aos relatados neste trabalho.

Segundo Biegelmeyer *et al.* (2011) a composição das amostras interfere diretamente na qualidade e atividade biológica das mesmas, e com isso foi possível constatar que a casca apresentou resultados bem superiores à polpa, mas, bem como nas demais análises, para esta também não foram relatados trabalhos na literatura, utilizando essa matéria-prima.

Neste trabalho foram verificados valores de antocianinas de 113,25 e 1040,2 mg/100g (Tabela 8) para polpa e casca respectivamente, sendo estas diferentes entre si ($p<0,05$), uma vez que a ultima foi cerca dez vezes maior que a primeira.

Resultados semelhantes ao obtido para a polpa, foram verificados por Barcia (2009), Benherlal e Arumughan (2007), Rufino *et al.,* (2010), Faria *et al.,* (2011), Araújo (2014) e Kapoor *et al.* (2015) que constataram teores de antocianinas que variavam de 93 mg / 100g - 134 mg / 100 g em polpa de jambolão a depender da região coletada e do solvente utilizado. De igual modo, Jampani *et al.,* (2014), Chowdhury e Ray (2007) e Vizzoto e Pereira (2008) também obtiveram valores semelhantes porém, para avaliação dos frutos de *S.cumini*, os quais variaram de 123,7mg/100g - 141 mg/100 g.

No entanto, outros autores como Sá *et al*. (2008) e Mussi (2014) encontraram para a polpa de *S. cumini (L.),* valores inferiores aos relatados aqui para antocianinas, sendo estes de 68,5 mg/100 g e 63mg/100g de amostra, respectivamente, contudo no trabalho de Sá o teor encontrado para este fruto foi superior aos encontrados para os frutos de açaí, camu-camu, uva e amora.

Valores superiores, porém, foram relatados para polpa por Branco *et al*. (2016), por Bezerra (2015), por Veigas *et al.* (2007) e por Brito *et al*. (2007) que verificaram respectivamente valores de 216mg/100g ; 624mg/100g ; 230mg/100g ; 771 mg EC/ 100 g a depende do tipo de solvente utilizado e da base utilizada para expressar o resultado.

Ao comparar o teor de antocianinas presente na polpa de jambolão com outras frutas vermelhas como: mirtilo da variedade (Powder blue) (140mg/ 100g e 29mg/100g) (SOUZA *et al*., 2014; YOU *et al*., 2011), açaí (22,8mg/100g), amora preta (58mg/100g), cereja (26

mg/100g) (SOUZA *et al*., 2014), morango (23,7mg/100g) (KUSKOSKI et al., 2006) e camu-camu (30-54mg/100g), sendo este último pertencente à mesma família do jambolão, observa-se que o teor presente no jambolão é comparável com o do mirtilo, fruta reconhecida por essa riqueza, podendo também ser recomendada como fonte deste composto, tanto para o consumo *in natura* quanto para utilização na indústria de alimentos ou farmacêutica.

Em relação à casca do jamelão, poucos trabalhos foram encontrados, a saber, o de Sari *et al.* (2012) que estudou a estabilidade das antocianinas do jamelão em um sistema modelo de bebidas, o de Mussi *et al.* (2015) que avaliou o efeito da secagem sobre a atividade antioxidante e antocianinas do resíduo de jambolão e o de Tavares *et al.* (2016) que estudou os compostos fenólicos presentes na polpa e casca de jamelão.

No estudo de Sari *et al.* (2012) foi verificado teor de 4370 mg EC /L de antocianinas e no de Mussi *et al*. (2015) foram reportados valores que variavam de 6,2 a 6,5 g/100g. Estes valores foram superiores ao obtido no presente trabalho em vitude das diferentes condições utilizadas.

Todavia, no estudo de Tavares *et al.* (2016) foram encontrados valores inferiores uma vez que os teores de antocianinas relatados por esses autores para a polpa e casca do fruto foram de 59,42 e 210,58 mg / 100g de peso seco respectivamente.

Para casca de outros frutos, como o jambo, Augusta (2011), verificou menores teores, os quais variaram entre 116,25 a 300,54mg/100g a depender do método utilizado.

Com isso, mediante aos resultados encontrados e os trabalhos mencionados , constata-se que os valores de antocianinas, flavonoides e fenólicos variam bastante entre os estudos, uma vez que há uma gama de fatores intrísecos e extrínsecos que podem atuar na composição e determinação dos mesmos. Contudo, os valores encontrados aqui para as amostras, principalmente para a casca, mostra que as mesmas são ricas em compostos funcionais bioativos.

Neste trabalho ainda foram utilizados os ensaios DPPH, ABTS e FRAP para avaliar a capacidade antioxidante da polpa e casca do fruto Jamelão. E de acordo com a Tabela 9 pode-se perceber que para todos os métodos analisados, a casca apresentou atividade antioxidante superior a polpa, logo os resultados de ambas foram diferentes entre-si ($p<0,05$).

Para os ensaios DPPH e ABTS, quanto maior é a quantidade de antioxidantes na amostra, maior é a inibição dos radicais livres. No entanto, a atividade antioxidante dos compostos, pode também ser dada pelo valor de EC50, que significa a concentração necessária para redução de 50% da concentração inicial dos radicais, as quais geralmente são

aplicadas ao ensaio DPPH. Ressalta-se ainda, que quanto menor o valor de EC50, maior a atividade antioxidante do composto analisado.

Tabela 9- Atividade Antioxidante da polpa e casca do Jamelão *in natura* em base seca.

Amostra	DPPH (EC 50 %) (µg/ g de extrato b.s.	ABTS (µmol de TE) / g de extrato b.s.	FRAP (µmol de Fe (II)/ g de extrato b.s.
Polpa	246,85± 59,90 a	159,32±13,24b	2485,17±75,90b
Casca	55,05±8,39b	1705,69±139,84a	4681,19±167,21a

*Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma coluna não diferem estatisticamente a 5 % de significância.

Os valores de EC50, obtidos por regressão linear, para os extratos de jambolão da polpa e da casca, mostraram elevados coeficiente de determinação, que foi $R^2 = 0,995$. Além disso, foi verificado que a percentagem de inibição do DPPH variou de 6 a 23% ao variar o volume de extrato utilizado de 25 a 100 microlitros e que o valor necessário para inibir 50% do radical foi 246,85 e 55,05µg/ g de extrato b.s (Tabela 9) para a polpa e casca respectivamente.

Sheik *et al.* (2011) ao avaliar atividade antioxidante de diversos produtos de jamelão verificou que a percentagem de inibição do radical DPPH variou de 15 a 95 % a depender do produto, logo as porcetangens de inibição aqui obtidas se enciaxam dentro dessa faixa.

Todavia, valores de percentagens superiores foram relatados por Kapoor *et al.* (2015) que encontraram em seu trabalho para jamelão fresco e para a polpa processada, 91,83% e 88,6% de atividade antioxidante frente ao radical DPPH, por Rai *et al.* (2011) que verificou percentagem de inibição de 61,56% em extrato da fruta Jamelão frente ao DPPH e por Pacheco (2015) que encontrou percentuais de inibição dos radicais DPPH e ABTS para o fruto *Szygium cumini* em extratos metanolicos 80%, etanolicos 80% e acetonicos 80% respectivamente de 94,53% e 64,54%; 95,3% e 53,5%; 93,7% e 61,5% E apesar desses autores obterem maiores percentagens de inibição, a linearidade dos dados aqui obtidos aplicando diferentes concentrações do extrato proporcionaram uma boa atividade antioxidante (baixos valores de EC 50%) por este método.

Não obstante a esses, há na literatura inúmeros trabalhos que também avaliaram a atividade antioxidante do jamelão por diferentes métodos. Como no de:

Soares (2015) que relatou em seu trabalho que a concentração de EC50 variou de 756 a 954 µg. ml^{-1} para extrato aquoso e de 639 a 1138 µg. ml^{-1} para extratos etanólicos da polpa.

Branco *et al*. (2016) que avaliando a polpa de Jamelão *in natura* e pasteurizada constatou valores de EC50 de 53, 225 e 83,16 g de fruta/g DPPH respectivamente.

Plaza *et al*. (2007) que observou valor de EC50 dos radicais DPPH seqüestrados,a partir de diferentes frações de extrato de Jamelão valores que variavam de 0,038-0,45 mg/mL.

Em avaliação feita Benherlal e Arumughan (2007), foram constatados que os extratos etanólicos de polpa, sementes e casca de sementes apresentaram valores de EC50 de 158,0, 8,6 e 48,0 µg / mL, respectivamente .

Bezerra (2015) por sua vez verificou para a fruta atividade antioxidante de 163,34 µmol de TE/g para o radical do DPPH.

Ao analisar frutos verdes de *Syzygium cumini* secas a 40°C em estufa , Veber *et al*. (2015) encontraram diferenças entre a capacidade antirradical livre (DPPH) em relação ao tipo de extrato utilizado, tendo em vista queos valores variaram entre 2270 a 3750 µg.mL-1 para extrato aquoso e hidroetanolicos à 25% e 50 % (v/v), respectivamente.

Em relação à casca:

Veigas *et al*. (2007) perceberam que a concentração necessária para inibir o radical DPPH,a partir do extrato rico em antocianina extraído da casca do jamelão foi dependente da dose aplicada. A uma concentração de 2,5 ppm, a atividade do extrato foi de 78,2%, enquanto que o padrão BHA exibiu apenas 41,6% de atividade na mesma concentração, comprovando assim que o extrato da casca da fruta é mais potente eliminador de radicais livres do que o antioxidante sintético BHA amplamente utilizado. Além disso, eles notaram que concentrações tão baixas quanto 1,39 µg / ml foram suficientes para inibir cerca de 50% do DPPH.

Banerjee *et al.* (2005) por sua vez, encontraram valor de EC50 de 168 µg / ml para extrato de casca de Jamelão preparado a partir de infusão por 5 minutos em água em ebulição, sendo este superior ao obtido no presente trabalho, o que possivelmente ocorreu pelo fato de o extrato ter entrado em contato com elevadas temperaturas.

Na avaliação das propriedades antioxidantes de extratos de antocianina natural e co-pigmentada da casca do jamelão em um sistema modelo de bebida, Sari *et al.* (2012) verificaram que os valores de DPPH variaram entre 47,54 e 354,58 µg Equivalente de Ác. Ascórbico / mL e concluíram que a adição de co-pigmentos em bebidas aumentou a atividade de remoção de radicais.

Os radicais ABTS são mais reativos do que os radicais DPPH e, ao contrário da reação com os radicais DPPH, que envolvem transferência de átomos H, as reações com radicais ABTS + envolvem um processo de transferência de elétrons.

No estudo de Singh *et al.(*2016) verificou-se que as atividades de eliminação de radicais livres de DPPH a partir de extrato polifenólico de jamelão (JPFE) foram 6,7 mM TE / g de extrato seco enquanto que para o radical ABTS foi de 8,2 mM TE / g de peso seco. No método FRAP o valor encontrado por esse autor para JPFE foi de 7,5 mM TE / g de peso seco. Os mesmos relatam ainda que as altas atividades antioxidantes do JFPE podem ser atribuídas à presença de polifenóis com alta atividade antioxidante e efeitos sinérgicos. Além disso, constatou-se neste trabalho que o melhor método para avaliar a atividade antioxidante foi o ABTS, por ser ele o que exibiu maior valor de atividade.

E assim como Singh *et al.(*2016), Aquil *et al*. (2012) também verificou que o método ABTS foi o que se destacou dentre os métodos utilizados para avaliar a atividade antioxidante de extratos de jamelão, uma vez que concentrações muito mais baixas de antioxidantes, foi suficiente para eliminar 50% dos radicais ABTS (11,8 μg / ml e 17,2 μg / ml) em comparação com DPPH (79 μg. ml^{-1} e 90μg. ml^{-1}) e com o método FRAP (52 μg / ml e 80 μg / ml) em extratos da polpa hidrolisada e não hidrolisada, respectivamente.

Contudo, diferente dos trabalhos acima, nesse estudo, foi visto que o método que exibiu maiores valores foi o FRAP.

E assim como presente trabalho, Zhang e Lin (2009) em avaliação de antioxidantes dos taninos extraídos da casca do Jamelão verificaram que para inibir 50% do radical DPPH era necessário uma concentração de 165 μg / mL . Enquanto que a atividade antioxidante reportada para o método FRAP exibiu maior valor, o qual foi de 3250μmol eq. de Ác.Ascorbico/g,

Todavia, Rufino *et al*. (2010) encontrou valores de atividade antioxidante para DPPH, valor de EC50% de 938g/g DPPH , de ABTS de 125 μmol TE/g e de FRAP de 173,9 μmol de FE_2SO_4 $_{/g}$ para o fruto Jamelão, os quais foram inferiores aos obtidos no presente trabalho.

No trabalho de Sá *et al.* (2008) os valores médios de antioxidantes da fração comestível do fruto do jamelão quantificados através do método ABTS foram de 262,13 ±8,02 μmol. Eq Trolox / 100g de amostra, estando estes valores muito acima da média dos valores encontrados em frutos como amora, de 4,3 ± 0,2, para polpa de uva 7,0 ± 0,3, para polpa de açaí de 6,9 ± 0,2, para polpa de goiaba de 5,9 ± 0,9, para polpa de morango de 9,2 ± 0,01, para polpa de acerola de 53,2 ± 5,3, para polpa de manga de 12,9 ± 0,2, para polpa de graviola 2,88 ± 0,2, para polpa de cupuaçu 0,73 ± 0,2 e para polpa de maracujá de 0,9 ± 0,2,

segundo Kuskoski *et al*. (2006), destacando-se mais uma vez o potencial antioxidante deste fruto.

Os polifenóis têm sido comprovadamente antioxidantes fortes contra a oxidação de biomoléculas em sistemas alimentares (YU e AHMEDNA, 2013). Em geral, o número e a posição de hidrogênios doados pelo anel aromático dos polifenóis determinam diretamente as suas capacidades antioxidantes. Banerjee, *et al*. (2005) relataram que compostos fenólicos diferentes das antocianinas podem ser os principais contribuintes para a atividade antioxidante da casca do fruto de jambolão.

Em contrapartida, alguns autores sugerem que outros flavonoides e ácidos fenólicos são tão importantes como antocianinas para a eliminação de radicais livres a partir de *S.cumini*. Alguns estudos sobre o potencial antioxidante de compostos fenólicos em alimentos ou frutas têm demonstrado a existência de sinergia ou efeitos antagônicos entre os diversos antioxidantes presentes na matriz de alimentos; assim, atividade depende não só a estrutura dos flavonoides e/ou fenóis, mas também sobre o local que disse são encontrados (BRANCO *et al.*, 2016; PALAFOX-CARLOS *et a*l., 2012; IOANNOU *et al*., 2012).

Dessa forma, a alta atividade antioxidante encontrada no jamelão pode ser devido a esses compostos acima citados, uma vez que neste fruto contém todos estes, além disso, o clima da região pode ter influenciado diretamente na quantidade dos compostos presentes no fruto, uma vez que sob temperaturas mais elevadas, as plantas tendem a sofrermais estresse e para combater esse fator é gerado maiores quantidades de compostos funcionais já que os mesmos também funcionam como barreira de proteção ao elas .

5.3 Otimização da produção de extratos com capacidade antioxidante e antimicrobiana

De acordo com Herrera e De Castro (2005) diversas variáveis experimentais, tais como amplitude do ultra-som, tempo e temperatura de extração, composição do solvente e relação sólido-líquido determinam a eficácia global de extratos assistidos por ultrassom.

Dessa forma neste trabalho optou-se por avaliar a influência da composição do solvente (etanol) e relação sólido-líquido por meio de um desenho experimental, na concentração de compostos antioxidantes e antimicrobianos inerentes à casca de jamelão em pó.

5.3.1 Atividade Antioxidante da Farinha da casca

Na Tabela 10 estão apresentados os valores reais e codificados das variáveis independentes e a quantificação da atividade antioxidante pelos métodos DPPH E ABTS e potencial de redução de ferro (FRAP) obtida para cada ensaio. Em todas as respostas para

cada extrato, foi realizada a analise de variância dos dados, e na seqüência gerada a superfície de resposta.

Tabela 10 - Planejamento fatorial, com valores reais e codificados para o estudo do efeito das variáveis na capacidade antioxidante da farinha da casca de jamelão.

Ensaio	Concentração de Etanol (%)	Razão Amostra:Solvente	DPPH-EC 50%	ABTS (µmol de TE/g)	FRAP (µmol de FE (II)/g)
1	70 (-1)	1/5 (-1)	14,162	434,8731	4212,757
2	70 (-1)	2/15 (0)	38	872,0577	6608,58
3	70 (-1)	1/10 (+1)	**9,96**	**921,0317**	**7042,063**
4	80 (0)	1/5 (-1)	31,48	429,2376	3502,839
5	80 (0)	2/15 (0)	31,89	245,4934	3116,407
6	80(0)	1/10 (+1)	26,83	300,6487	5386,394
7	90 (+1)	1/5 (-1)	20,67	191,9192	3242,115
8	90 (+1)	2/15 (0)	34,47	295,5061	3542,465
9	90 (+1)	1/10(+1)	15,67	161,5131	2910,122
10*	80 (0)	2/15(0)	9,87	370,3358	2058,302
11*	80 (0)	2/15(0)	14,56	219,6214	2612,689
12*	80 (0)	2/15(0)	20,99	201,0744	3282,299

*Repetições no ponto central

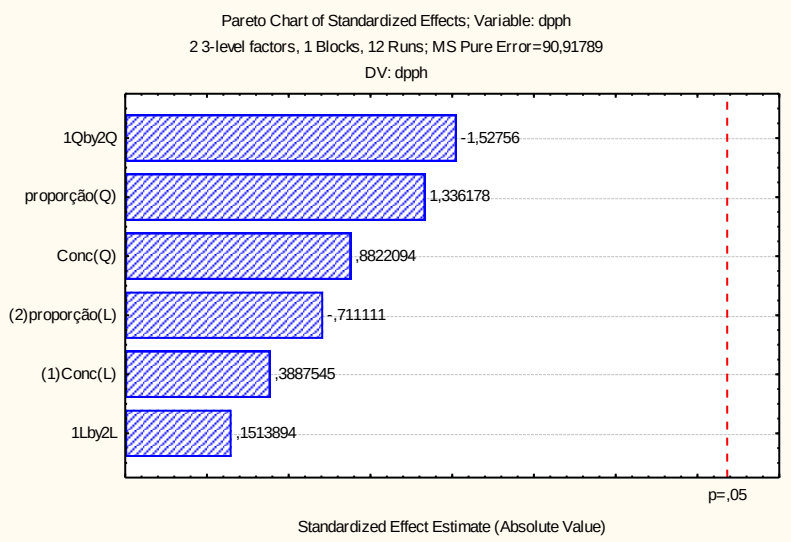
De acordo com a Tabela 10, pode-se perceber que o ensaio 3 (concentração de etanol de 70% e razão 1/10) foi o tratamento que apresentou maior atividade antioxidante e poder redutor, entre todos os ensaios analisados, para avaliação por ABTS, DPPH e FRAP, logo esta combinação entre os parâmetros, foi a que melhor possibilitou a extração de substâncias com propriedade antioxidante. Entretanto na análise por DPPH, os ensaios 3 e 10 (ponto central 1) não diferiram entre si e com isso apresentaram um maior potencial antioxidante. Em contrapartida o mesmo não foi verificado para as menores atividades antioxidantes, já que estas foram exibidas no ensaio 8 para o método DPPH, no ensaio 9 para avaliação por ABTS e no ensaio 10 para o poder redutor . O ensaio 5 por sua vez, apesar de se tratar das mesmas condições dos pontos centrais, apresentou maior valor em comparação aos mesmos (ensaios 10, 11 e 12) provelmente em função de alguma deficiência nas análises.

Apesar do tratamento 3 ter sido o que melhor extraiu os compostos antioxidantes, apenas o fator concentração de etanol influenciou significativamente na resposta, enquanto a razão amostra:solvente não exerceu influência significativa ($p<0,05$) como pode-se observar nas próximas tabelas e figuras. Entretanto, Sahin e Samli (2013) observaram que a relação sólido:líquido foi significativa para a atividade antioxidante de extratos obtidos a partir de folhas de oliveira.

5.3.1.1 DPPH

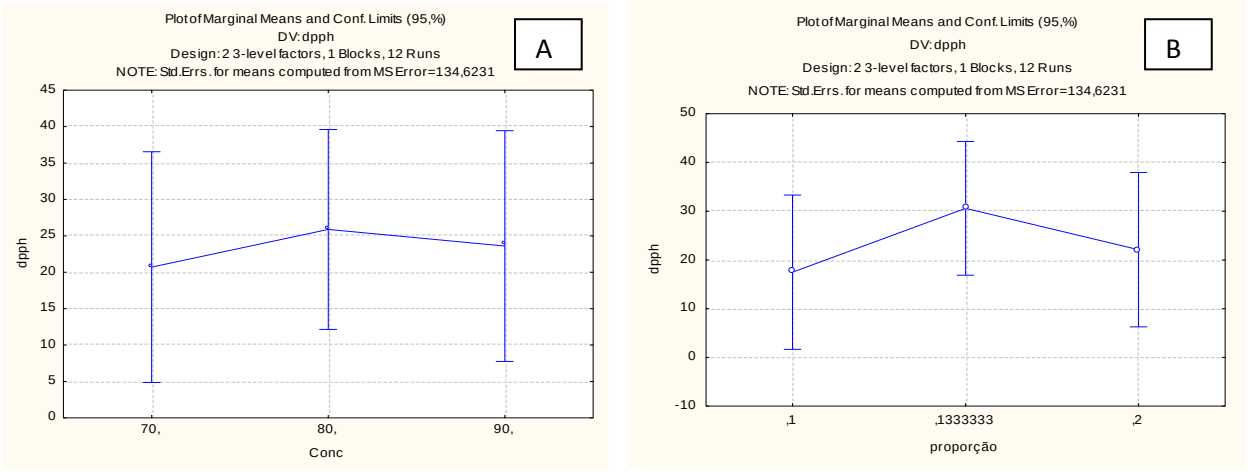
Os modelos quadráticos gerados para análise da concentração necessária para inibir 50% do radical DPPH não foram significativos (p>0,05). Isso pode ser observado através do gráfico de pareto (Figura 15), o qual mostra claramente que nenhum dos fatores estudados, nem a interação linear (L) ou quadrática (Q) entre eles, tiveram influência significativa na resposta. Com isso, a equação gerada não pode ser aplicada uma vez que os fatores não tiveram influência e os valores observados ficaram distante dos preditos. Além disso, devido ao fato de o modelo não se adequar as faixas, o R^2 gerado foi baixo (0,34), logo não se fez necessário exibir a superfície de resposta. No entanto, de acordo com a Figura 16 pode-se observar que as menores concentrações de extratos foram obtidas quando utilizado o etanol 70 % (A) e a razão 1:10 (B), o que confirma os valores obtidos na Tabela 10.

Figura 15 – Efeito das variáveis concentração e razão nos valores de EC50% para o radical DPPH .



Fonte: Próprio autor (2017)

Figura 16 – Gráficos de média e limites de confiança a 95% para concentração de etanol (A) e razão (B) nos valores de EC50% para o radical DPPH .



Fonte: Próprio autor (2017)

Alguns autores relataram valores semelhantes aos encontrados neste estudo, como Peixoto e Freitas (2013) que avaliaram extratos de sementes de *Syzygium cumini* liofilizadas e secas por pulverização e encontraram IC50 de 9,99 e 10,74 μg / mL, respectivamente.

Zekovic *et al.* (2017) em avaliação da influência dos fatores temperatura, tempo de extração e potência de ultrassom em método assistido por ultrassom (EAU) e concentração de etanol , tempo de extração e relação sólido-liquido em método assistido por microondas (MAE) para extratos de sálvia, verificaram que os fatores temperatura (para EAU) e concentração de etanol (para MAE) foram os mais influentes parâmetros de extração, e que as maiores atividades antioxidantes dos extratos (9,02 μg / mL e 10,40 μg / mL para EAU e MAE, respectivamente) foram obtidas quando aplicada maiores temperaturas (EAU) e menores concentração de etanol e maiores proporções sólido:liquido (MAE), os quais foram equivalentes com os resultado aqui obtidos tanto para os parâmetros de influência como para as atividades exibidas.

Borges (2011) ao analisar a atividade antioxidante dos bagaços de acerola, caja-umbu, pitanga e Jamelão por DPPH em extratos aquosos e etanólicos 70,80 e 100%, observou que os maiores valores foram obtidos para o Jamelão, para a pitanga e acerola nos sistemas etanol 70 e 100% e o menor para o cajá-umbu em todos os sistemas. E Chanioti e Tzia (2017) encontraram valores de antioxidantes por DPPH que variavam de 162 a 209 μmol de TE/g para extrato de óleo de bagaço de azeitona. Onde seu melhor sistema extrator se deu no ponto central (Temperatura de 50°C, Proporção solido:liquido de 1:8 e tamanho da partícula de 1mm).

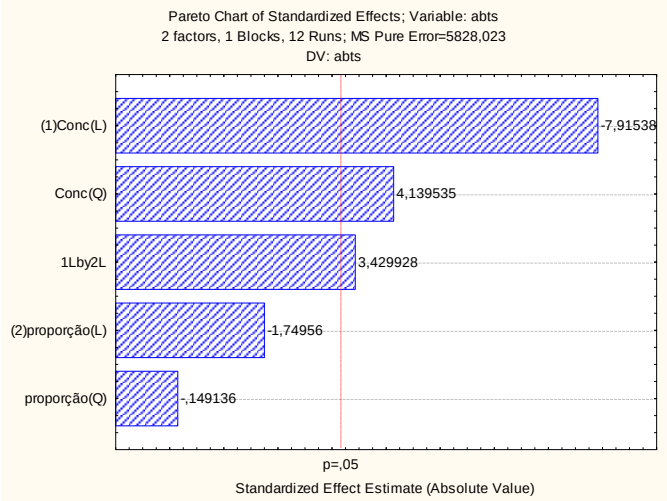
Dessa forma, é possível verificar nos trabalhos citados acima, que quando utilizada a menor proporção de solvente (BORGES, 2011; ZEKOVIC *et al.* 2017) e a maior razão soluto: solvente (ZEKOVIC et al., 2017; CHANIOTI E TZIA, 2017) foi possível extrair uma melhor quantidade de antioxidantes por esse método, assim como no presente estudo.

5.3.1.2 ABTS

Ao analisar a Figura 17 é possível verificar que a variável concentração de etanol em função quadrática (Q) ou linear (L) e a interação linear entre os fatores concentração de etanol e razão amostra:solvente (1x2) foram significativos a 95% de nível de confiança. Além disso, a função (Q) e (L) apresentaram efeito positivo e negativo, respectivamente, o que indica que um aumento da variável (Q) pode acarretar em um aumento na atividade antioxidante e em contrapartida uma redução na variável concentração (L) também poderia ocasionar em um aumento na atividade antioxidante por ABTS, respectivamente. Porém devido o valor da

concentração linear ser maior que o valor da variável concentração (Q), e da concentração linear apresentar um efeito significativo a p <0,05 enquanto que a quadrática mostrou ser a p =0,0054 (Tabela 11), pode-se considerar que se reduzirmos a concentração de etanol, acarretará no aumento da atividade antioxidante.

Figura 17 – Efeito das variáveis concentração e razão nos valores de atividade antioxidante para o radical ABTS .



Fonte: Próprio autor (2017)

Tabela 11- Efeitos da concentração de etanol e proporção do planejamento fatorial completo 3^2 na atividade antioxidante por ABTS.

Fatores	Efeito	Erro	t (6)	p	-95%	95%
Interação*	285,558	68,8342	4,14849	0,006021	117,127	453,989
(1)Conc (L) *	-497,772	109,3509	-4,55206	0,003883	-765,344	-230,200
Conc (Q)	387,042	162,5812	2,38061	0,054723**	-10,780	784,864
(2) Proporção (L)	-109,055	108,3875	-1,00615	0,353179	-374,269	156,160
Proporção (Q)	-16,070	187,3656	-0,08577	0,934442	-474,537	442,397
1 x 2 (L)	257,128	130,3550	1,97252	0,096015	-61,840	576,095

*Fatores Significativos a 95% de confiança, **p=0,054, L= Linear, Q=Quadrático

A Tabela 12 apresenta a análise de variância (ANOVA) empregada para validação estatística e verificação da adequação do modelo. Conforme observado o valor do F calculado foi 11,5 vezes superior ao tabelado indicando que o modelo de segunda ordem é estatisticamente significativo e preditivo e descreve as respostas em função das variáveis analisadas.

O valor do coeficiente de regressão (R^2) relaciona os valores observados e preditos, e quanto mais for próximo de 1,0 indica que o valor observado apresentou um bom ajuste em relação ao valor predito. Sendo assim, como o valor de R^2 foi igual a 0,85 indicando um bom ajuste do modelo para os ensaios, a equação (15) gerada foi utilizada para plotar a superfície de resposta (Figura 18).

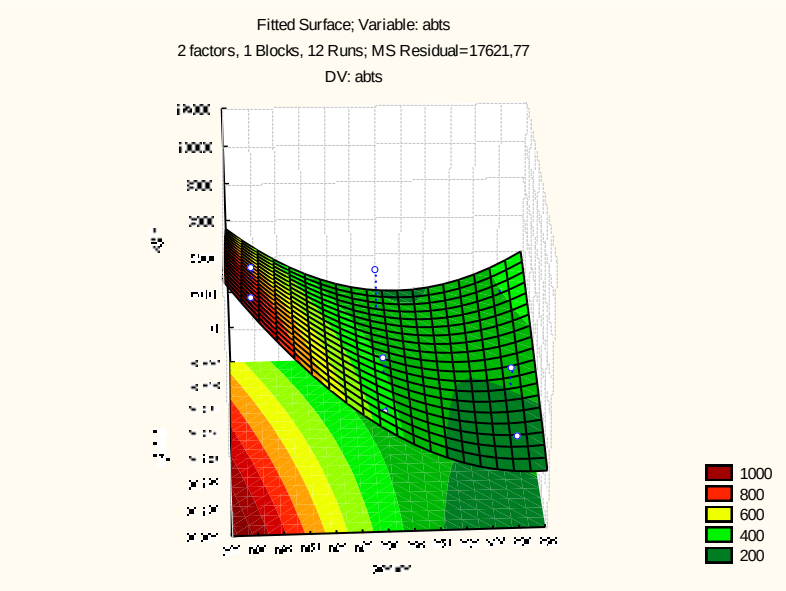
Tabela 12- Analise de variância no estudo do efeito das variáveis, concentração de etanol e proporção amostra/solvente na atividade antioxidante dos extratos pelo método ABTS.

Fontes de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média Quadratica	valor F
Regressão	1	516397	516397	57,35618
Resíduo	10	90033,36	9003,336	
Total	11	606430,4		

Coeficiente de determinação (R^2): 0,85
F tabelado (regressão/ resíduo) 1;10 = 4,96; F calc/F tab =11,56

Atividade Antioxidante por ABTS (µmol (TE) /g de extrato seco) = 17838,78 - 373,09*x + 1,94*x^2 - 20696,56*y - 3213,95*y^2 +257,13*x*y. (Equação 15)

Figura 18 – Superfície de reposta do efeito da concentração de etanol (%v/v) e proporção amostra: solvente (g/mL) na atividade antioxidante.



Fonte: Próprio autor (2017)

Pela análise da superfície de resposta e gráfico de contorno verifica-se que o extrato com maior atividade antioxidante é obtido quando é empregado etanol na concentração entre 68,0-70,0%, conforme apresentado na Figura 19 e apesar dos valores da razão amostra:solvente não terem influenciado significativamente, observa-se na figura que o pico de maior concentração se deu nas razões entre (1/8 e 1/12), a qual está incluída a proporção estudada na presente pesquisa (1/10).

Comportamento similar ao deste trabalho foi encontrado por Oldoni (2010), que estudou a influência da concentração do solvente na atividade antioxidante total dos extratos de engaço de uva, película e bagaço de amendoim, e constatou que há influência da

concentração de diferentes solventes na atividade antioxidante e que em concentrações de 70% ocorre elevada atividade.

Constancio (2015), no entanto, verificou em seu estudo valores inferiores de atividade antioxidante por ABTS, que foi de 71,58 µmol de TE/g para polpa de jamelão liofilizada.

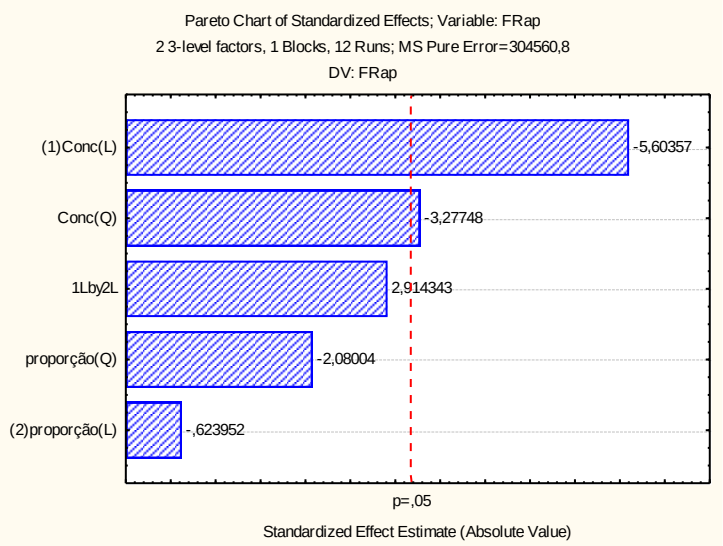
Relatos de Dong-Ping *et al.* (2017) mostararam que as atividades antioxidantes de flores de Liminum aumentaram de 267,12 µmol Trolox / g de peso seco para 439,00 µmol Trolox / g de peso seco quando a concentração de etanol mudou de 10% para 40%. No entanto, observou-se uma tendência descendente quando a concentração de etanol aumentou de 50% (431,94 µmol Trolox / g bs) para 90% (361,77 µmol Trolox / g bs).

Segundo Yang *et al.*(2010) e Zhang *et al.*(2007), de acordo com o princípio de similaridade e intermiscibilidade, quando as polaridades de solvente e soluto são semelhantes, o soluto é facilmente dissolvido a partir de células vegetais.Dessa forma, quando a concentração de etanol atingiu 70%, a polaridade do solvente de extração foi mais próxima da polaridade dos antioxidantes, e as atividades antioxidantes alcançaram um valor máximo.

5.3.1.3 FRAP

Ao analisar a Figura 19 é possível verificar que para avaliação da atividade antioxidante pelo poder redutor do Ferro (FRAP), a variável concentração de etanol em função linear (L) e quadrática (Q) e a média da interação entre os dois fatores independentes (1x2) foram significativos na faixa estudada a 5% de significância. E Tanto a concentração (L) como a (Q), ambas apresentaram efeitos negativos, com isso pode-se concluir que sua redução ocasiona em um aumento na atividade antioxidante por FRAP (Tabela 13).

Figura 19 – Efeito das variáveis concentração e razão nos valores de atividade antioxidante para o método FRAP .



Fonte: Próprio autor (2017)

Tabela 13-Estimação de efeitos da concentração de etanol e proporção do planejamento fatorial completo 3^2 na atividade antioxidante por FRAP.

Fatores	Efeito	Erro	t (3)	p	-95%	95%
Média/Interação*	4562,74	289,1900	15,77766	0,000553	3642,41	5483,07
Conc (L)*	-2547,42	454,6056	-5,60357	0,011230	-3994,17	-1100,66
Conc (Q)*	-1107,62	337,9501	-3,27748	0,046514	-2183,13	-32,12
Proporção (L)	-380,14	609,2483	-0,62395	0,576885	-2319,04	1558,76
Proporção (Q)	-1080,15	519,2910	-2,08004	0,128997	-2732,76	572,47
(1)x (2) L	1579,36	541,9258	2,91434	0,061779	-145,29	3304,01

*Fatores Significativos a 95% de confiança, L= Linear, Q=Quadrático

Além disso, verifica-se nas Tabelas 13 e 14 que os altos valores de F (Tabela 14) associados a um baixo valor de p (<0,05) (Tabela 13) confirmam que os modelos desenvolvidos são significativos. E associado a esse fato, observa-se que o valor do F calculado foi nove vezes superior ao tabelado, o que mostra que o modelo de segunda ordem é também estatisticamente preditivo e descreve as respostas em função das variáveis analisadas uma vez que a comprovação dessa teoria está no valor do coeficiente de regressão (R^2) que para este método foi igual a 0,82, logo os valores observados foram próximos dos valores preditos (Tabela 14).

Tabela 14- Analise de variância no estudo do modelo para efeito das variáveis, concentração do etanol e proporção amostra/solvente na atividade antioxidante dos extratos por FRAP.

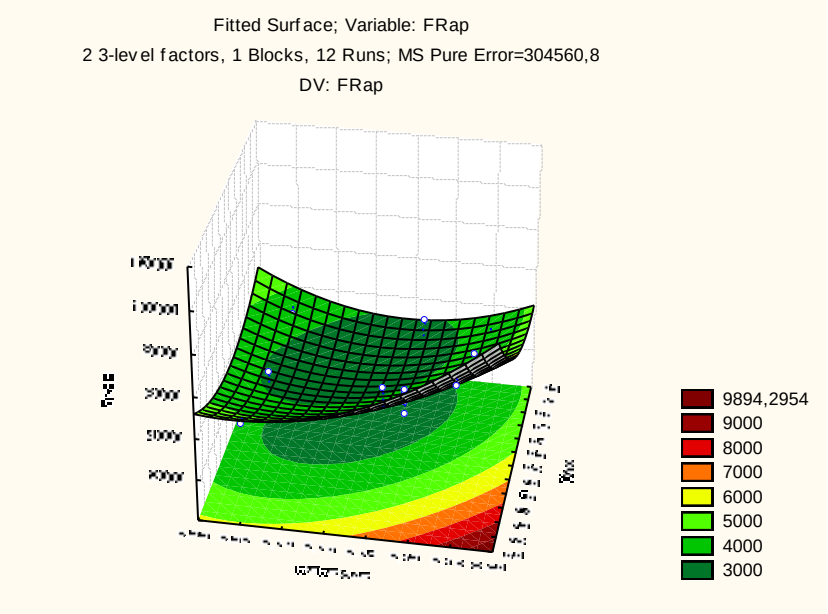
Fontes de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média Quadratica	valor F
Regressão	1	18312877,08	18312877	45,64379908
Resíduo	10	4012128,142	401212,8	
Total	11	22325005,22		

Coeficiente de determinação (R^2): 0,82 ; F tabelado (regressão/ resíduo) 1;10 = 4,96; F calc/F tab =9,2

Sendo assim, a equação (16) pôde ser gerada de modo à plotar a superfície de resposta (Figura 20).

Atividade Antioxidante pelo método do poder redutor FRAP(µmol (Fe II) /g de extrato seco) =112345,46 -2136,47*x + 11,08*x^2 -238164,78*y + 324044,24*y^2 + 1579,356*x*y (Equação 16)

Figura 20 – Superfície de reposta do efeito da concentração de etanol (%v/v) e proporção amostra: solvente (g/mL) na atividade antioxidante por FRAP.



Em relação à capacidade redutora dos extratos consegue-se observar através da análise da superfície de resposta (Figura 20) que o extrato com maior capacidade redutora é obtido quando é empregado etanol na concentração entre 68 e 72%, havendo uma maior capacidade redutora dos extratos a partir de 0,11 g/mL de proporção.

A influência da concentração de solvente foi similar ao relatado por Rockenbach *et al*. (2008) para extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*, uma vez que estes constataram que extratos obtidos com etanol na concentração entre 50-70% apresentam capacidade redutora mais acentuada e por Bewal *et al*. (2016) que também verificaram que a concentração do solvente metanol influenciou diretamente nas respostas de FRAP em avaliação das melhores condições de extração do conteúdo fenólico e atividade antioxidante em *Berberis vulgaris* (fruta asiática) usando a metodologia de superfície de resposta (RSM) .

Balyan e Sarkar (2016) por sua vez, em avaliação das condições ótimas de extração de compostos antioxidantes de semente de Jamelão, verificaram que o melhor valor de FRAP de 720,42 µmol de FE (II)/L, foi obtido quando utilizada maiores proporções soluto:solvente, o que também foi verificado neste estudo. Todavia suas respostas foram bem inferiores as deste trabalho. Assim, sugere-se que esta diferença ocorreu em virtude da amostra e do método de extração.

Zekovic *et al.* (2017) verificaram que os valores de FRAP, obtidos em extratos de sálvia por metodologia de ultrassom (EAU) variou entre 124,1-221 mg de Equivalente ao Ácido Ascórbico/g de b.s e foi aproximadamente duas vezes superior comparado ao extratos obtidos por microondas (MAE), os quais variaram entre 68,2-92,6 mg AAE/g b.s. E apesar de não se poder comparar os resutados obtidos por esses autores com os aqui obtidos, em virtude do padrão utilizado ser diferente, foi constatado que seus melhores valores foram verificados quando aplicados (T=60°C, t=60m , P= 42WL) para EAU e (Concentração de etanol = 60%, t= 20m, razão= 30ml/g) para MAE, ou seja em concentrações de etanol próximas as deste trabalho e quando aumentado suas proporções amostra:solvente

Outros trabalhos que também utilizaram planejamento experimental, observaram respostas próximas às obtidas na presente pesquisa, como no caso de Rezende (2016) que utilizou um delineamento fatorial para produzir extratos de resíduo e polpa de acerola em diferentes concentrações de etanol (0%; 20,10%; 49,75%; 79,40%; 67 % e 99,50%), em proporções que variaram de 1:1 a 10:1 (v:m) e tempo de extração variando de 10 a 60 minutos, a fim de determinar o melhor sistema de extração dos compostos bioativos das amostras. A maior extração dos compostos de interesse se deu com o uso do etanol a 49,75% na proporção 8,6:1 (v:m) e tempo de extração de 49,29 minutos, com banho de ultrassom.

Xi e Yan (2017) em avaliação da otimização sobre a extração de flavonóides observou que a concentração de etanol apresentou influência na resposta. Uma vez que quando a percentagem de volume de etanol no solvente era inferior a 75%, os rendimentos de extração de flavonóides aumentaram com o aumento da concentração de etanol. Quando a percentagem de volume de etanol no solvente era superior a 75%, os rendimentos de extração de flavonóides diminuíram lentamente com o aumento adicional da concentração de etanol, o que também foi verificado neste estudo. Logo, estes resultados sugerem que a adição da quantidade de água pode melhorar a eficiência de extração. Isto pode ser devido ao fato que a proporção de água presente no solvente etanol 75% ser a que proporciona a polaridade mais adequada para o extrato enriquecido com flavonóides. Outra razão possível pode ser devido aoentumecimento do material vegetal pela água, o que aumentou a área de superfície de contato entre a matriz vegetal e o solvente (JAE-HYUN, 2016; ZHAO, 2015).

Além disso, esses mesmos autores perceberam também que houve um aumento significativo no rendimento de flavonóides com o aumento da razão líquido para sólido até a proporção 30 mL/g. Guedes (2012) também verificou que um aumento no volume de extração de 20mL para 40 mL em 5g de amostra (proporção 4:1 para 8:1) proporcionou uma melhor extração do compostos fenólicos de polpa de jabuticaba. Assim como Hayat *et al*. (2009) que

relataram que uma alta proporção de líquido para sólido poderia proporcionar uma boa mistura de amostra e solvente e aumentar o rendimento de compostos de cunho antioxidantes.

Em virtude de não se encontrar na literatura trabalhos de avaliação das condições ótimas para produção de extratos com alta atividade antioxidante feitos com polpa e principalmente com casca de jamelão os resultados obtidos foram comparados com outros tipos de amostras. No entanto, os resultados dos autores citados corroboraram com os encontrados neste trabalho já que foi notado que com a diminuição da concentração de etanol para níveis em torno de 70% e o aumento da proporção solvente:sólido para 10:1, obteve-se os melhores resultados para concentração de antioxidantes por todos os métodos avaliados.

Além disso, verificou-se que a farinha da casca mostrou-se rica quanto a concentração desses compostos uma vez que ocorreu aumento das atividades após a secagem da mesma. Outros investigadores também verificaram o aumento nos antioxidantes (compostos fenólicos e flavonoides) emresíduos de fruta após secagem, em comparação com o resíduo fresco (DUZZIONI *et al*., 2013 e SILVA, 2013). Assim como resíduos de outras frutas, o resíduo de jambolão mostra ser um potente antioxidante que pode ser aproveitado para diversos fins, considerando-o como uma fonte de compostos bioativos, evitando o descarte de forma indevida para o meio ambiente.

5.3.2 Atividade Antimicrobiana da Farinha da casca

Sabe-se que com a necessidade de novos agentes que sejam eficazes contra cepas de bactérias patogênicas e seguros para o consumo humano, alguns estudos já foram realizados com plantas, frutas e seus resíduos, e para *Syzygium cumini* (jamelão), alguns autores mostraram que extratos hidroalcoólicos, metanólicos, de acetato de etilo e aquosos da folha (DE OLIVEIRA *et al*., 2007; KANERIA *et al.*, 2009; SATISH *et al*., 2008), extratos metanólicos e de acetato de etilo de sementes (ACHARYYA *et al.*, 2009), extratos hidroetanólicos do pó do fruto (MIGLIATO *et al.,* 2011) e o óleo essencial da folha (SHAFI *et al.*, 2002) dessa planta todos demonstraram possuir efeitos antibacterianos.

Com isso, neste estudo foi realizada a avaliaçãoda atividade antimicrobiana da casca em pó deste fruto, cujo experimento foi realizado em 3 blocos, onde cada bloco, continha 2 repetições do extrato, 1 controle positivo (clorexidina 0,12%) e 1 negativo (tampão pH 7), esse procedimento foi executado para cada ensaio em sete cepas de microrganismos variando entre gram-positivos e gram-negativos, totalizando 504 resultados para os extratos e 252 para o controle positivo, no entanto verificou-se que todas as amostras testadas utilizando o método disco- difusão em Agar, mostraram zonas de inibição (ZI) apenas para

Staphylococcus aureus e *Listeria monocytogenes*, enquanto que para as cepas de *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Salmonella Enteritidis, Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* não houve formação de halo, independente do ensaio utilizado, apenas o controle positivo foi efetivo para todas as cepas de microrganismos avaliados. De acordo com a literatura em geral, as bactérias Gram-positivas são mais sensíveis do que as Gram-negativas, (ALBOOFETILEH *et al.*, 2014; AQUINO *et al.*, 2015; AZEVEDO *et al.*, 2014; SAMAMBAIA *et al*., 2014; SANCHEZ-GONZALEZ *et al.*, 2011) devido a presença de uma membrana externa envolvendo a parede celular das gram-negativas, o que restringe a difusão de compostos hidrofóbicos através de sua cobertura lipopolissacarídica (BURT, 2004).

Com isso, a análise estatística e o teste da concentração mínima inibitória (MIC) foram realizados somente com *S.aureus e L.monocytogenes* que se mostraram sensíveis. Tendo em vista que para as demais na maior concentração já não foi verificado qualquer inibição.

E os resultados das zonas de inibição e concentração mínima inibitória dessas bactérias encontram-se nas tabelas 15 e 19.

5.3.2.1 Staphylococcus aureus

Tabela 15- Planejamento fatorial, com valores reais e codificados para o estudo do efeito das variáveis na atividade antimicrobiana da farinha da casca de Jamelão frente ao microorganismo *S.aureus*.

Ensaio	Concentração de Etanol (%)	Razão Amostra:Solvente	ZI (mm)	MIC (mg/ml)
1	70	1/5	10,75	1,00
2	70	2/15	11,13	1,34
3	70	1/10	10,63	1,00
4	80	1/5	11,25	1,00
5	80	2/15	10,00	0,67
6	80	1/10	9,75	0,50
7	90	1/5	10,75	1,00
8	90	2/15	**11,50**	**0,34**
9	90	1/10	9,75	0,50
10	80	2/15	9,83	0,67
11	80	2/15	9,75	0,67
12	80	2/15	10,13	0,67

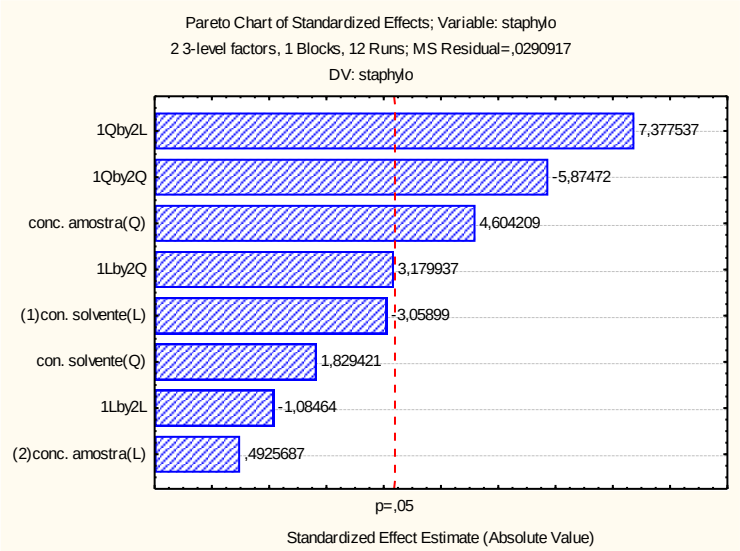
ZI=zona de inibição; MIC= concentração mínima inibitória

Para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos frente a *S.aureus*, verifica-se com a Tabela 15, que o ensaio 8 (concentração de etanol de 90% e razão 2/15) foi o tratamento que apresentou maior zona de inibição e menor concentração mínima inibitória entre todos os ensaios analisados, logo esta combinação entre os parâmetros, foi a que melhor possibilitou a extração de substâncias com propriedades antimicrobianas para este microrganismo. As mesmas coerências não foram observadas para as menores atividades

antimicrobianas, as quais variaram entre o ensaio 6, 9 e 11 os quais obtiveram menores e iguais zonas de inibição, e para o valor de MIC o ensaio menos eficiente foi o 2.

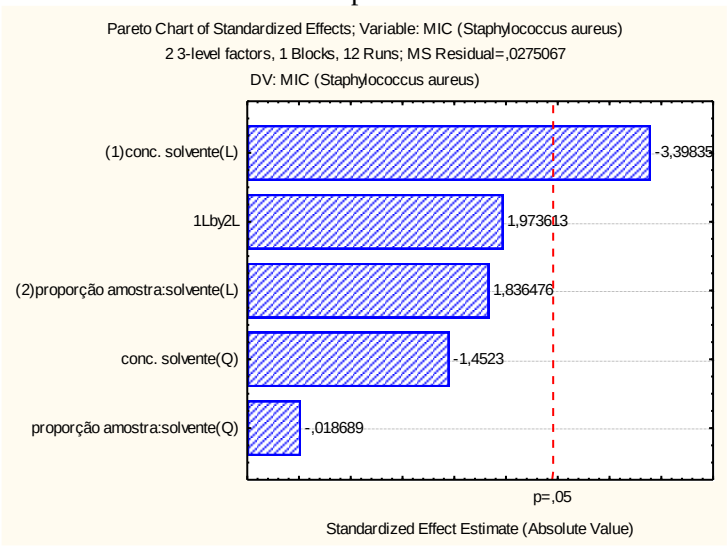
Na Figura 21 é possível verificar que a função quadrática (Q) da variável razão sólido: solvente, a interação entre a concentração de etanol e a razão (Q), e a interação entre a função Q da concentração do solvente e linear da razão, foram significativos na faixa estudada a p <0,05. Já em relação à concentração mínima inibitória observa-se que o fator que influenciou significativamente na resposta a p <0,05 foi à concentração de etanol (L) (Figura 22)

Figura 21 – Efeito das variáveis concentração e razão nos valores da atividade antimicrobiana dos extratos frente a *S. aureus.*



Fonte: Próprio autor (2017)

Figura 22 – Efeito das variáveis concentração e razão nos valores da concentração mínima inibitória dos extratos para *S. aureus.*



Fonte: Próprio autor (2017)

Além disso, em relação à estimação dos efeitos (Tabela 16) verifica-se que a função quadrática da razão apresentou efeito positivo, entretanto a interação quadrática entre os fatores apresentou efeito negativo e a interação quadrática da concentração com a linear da razão apresentou efeito positivo. Esses resultados indicam que um aumento na variável razão (Q) poderia ocasionar em um aumento na atividade antimicrobiana para o método disco-difusão para *S.aureus*, o mesmo efeito pode ser verificado quando se aumenta a concentração de etanol a nível quadrático e a razão a nível linear. Todavia, em relação à interação quadrática entre as variáveis, ocorre uma relação inversa, em que o aumento na atividade antimicrobiana, só é visto quando há a diminuição de ambas.

Tabela 16-Estimação de efeitos da concentração de etanol e proporção do planejamento fatorial completo 3^2 na atividade antimicrobiana por disco-difusão para *S. aureus*.

Fatores	Efeito	Erro	t (3)	p	-95%	95%
Interação*	10,35049	0,089801	115,2605	0,000001	10,06470	10,63627
(1) Conc (L)	-0,67917	0,222023	-3,0590	0,055037**	-1,38574	0,02741
Conc (Q)	0,34521	0,188698	1,8294	0,164765	-0,25531	0,94573
(2) Proporção (L)	0,09625	0,195404	0,4926	0,656113	-0,52561	0,71811
Proporção (Q)*	0,77708	0,168777	4,6042	0,019265	0,23996	1,31421
(1) Q x (2)L*	1,41563	0,191883	7,3775	0,005149	0,80497	2,02628
(1)Q x (2) Q*	-0,94562	0,160965	-5,8747	0,009839	-1,45789	-0,43336

*Fatores Significativos a 95% de confiança, **p=0,055, L= Linear, Q=Quadrático

Na atividade antimicrobiana pela análise da concentração mínima inibitória (MIC), observa-se que à concentração de etanol (L), apresentou efeito negativo e significativo, ou seja, quanto menor a concentração maior os valores obtidos, no entanto como esse método avalia a mínima concentração necessária para inibir o microorganismo, os melhores resultados foram verificados na concentração de solvente a 90 % de etanol (Tabela 17).

Tabela 17-Estimação de efeitos da concentração de etanol e proporção do planejamento fatorial completo 3^2 na concentração mínima inibitória para *S. aureus*.

Fatores	Efeito	Erro	t (3)	p	-95%	95%
Interação*	0,833819	0,086909	9,59414	0,000073	0,621160	1,046479
Conc (L)*	-0,464286	0,136621	-3,39835	0,014525	-0,798585	-0,129986
Conc (Q)	-0,147500	0,101563	-1,45230	0,196628	-0,396016	0,101016
Proproção (L)	0,336250	0,183095	1,83648	0,115943	-0,111768	0,784268
Proporção (Q)	-0,002917	0,156061	-0,01869	0,985695	-0,384783	0,378950
(1)L X(2) L	0,321429	0,162863	1,97361	0,095869	-0,077083	0,719940

*Fatores Significativos a 95% de confiança, L= Linear, Q=Quadrático

Ademais, a ANOVA (Tabela 18) foi realizada para verificar a significância estatística dos termos do modelo e avaliar a precisão pelos valores de coeficiente de determinação R^2(Tabela 18) e valores de F. Os valores elevados de F (514,07 para ZI, 44,89 para MIC) e valores p baixos associados (p <0,0001) demonstram que os modelos desenvolvidos são significativos, uma vez $F_{calc}>F_{tab}$ para ambos os métodos , no entanto o método disco-difusão apresentou uma melhor precisão dos resultados, tendo em vista que para este método o R^2 foi igual a 0,98 o qual foi muito próximo do valor de R^2 ajustado (0,97) no presente estudo e indica satisfatórias ilustrações dos processos pelo modelo. Enquanto que para concentração inibitória mínima o coeficiente de regressão representou 81% da resposta.

Mas como ambos foram maiores que 0,7, a modelagem e análise estatística de regressões lineares múltiplas foram realizadas utilizando modelos polinomiais de segunda ordem (Equação 17 e Equação 18), que demonstram a relação entre os valores de resposta e os parâmetros de extração de concentração de etanol (X) e razão Sólido: Líquido (Y), por meios dos quais os dados experimentais foram utilizados para prever a eficiência de extração de diferentes conjuntos de combinações de variáveis de processo e para plotar os gráficos de superfícies de resposta.

Tabela 18 - Análise de variância no estudo dos modelos para efeito das variáveis, concentração do etanol e razão amostra/solvente na atividade antimicrobiana dos extratos frente a *S.aureus* por métodos distintos.

Fontes de Variação	Zona de Inibição (mm)[a]				Concentração mínima inibitória (mg/mL)[b]			
	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média Quadratica	valor F	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média Quadratica	valor F
Regressão	1	4,401015	4,401015	514,08	1	0,605983	0,605983	44,89
Resíduo	10	0,08561	0,008561		10	0,134976	0,013498	
Total	11	4,486625			11	0,74096		

a=Coeficiente de determinação (R^2): 0,980; R-ajust :0,97 ; F calc/F tab =103; b= Coeficiente de determinação (R^2): 0,81; R-ajust :0,77 ; F calc/F tab = 9,05

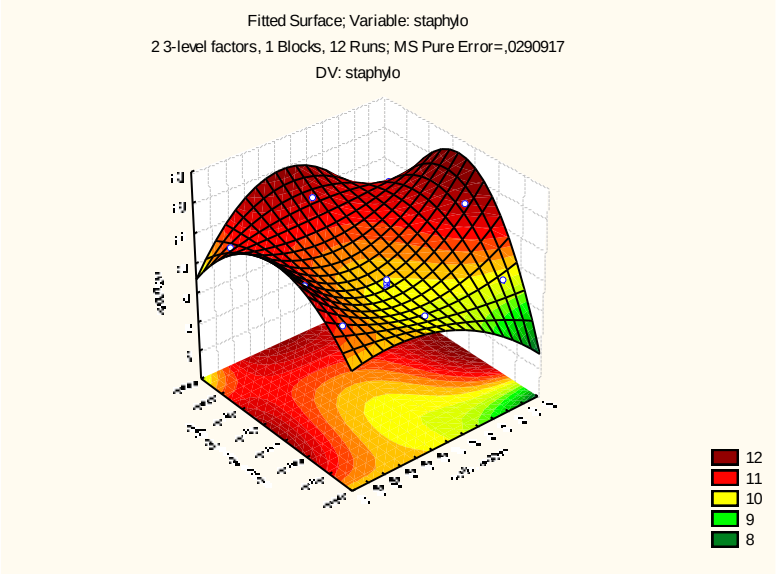
Atividade Antimicrobiana frente a *S. aureus* (mm) = -585, 29+15,43*x -0,099*x^2 +9711,66*y -34444,88*y^2 -250,40*x*y+886,28*x*y^2+1,61*x^2*y -5,67*x^2*y^2. (Equação 17)

Concentração mínima inibitória frente a *S. aureus* (mg/ml)=15,41-0,31*x+0,0015*x^2-22,64*y+0,875*y^2+,3214*x*y. (Equação 18)

Na análise da superfície de resposta (Figura 23) se consegue observar que houve três pontos de máxima obtenção de zona de inibição, um quando foram empregadas proporções

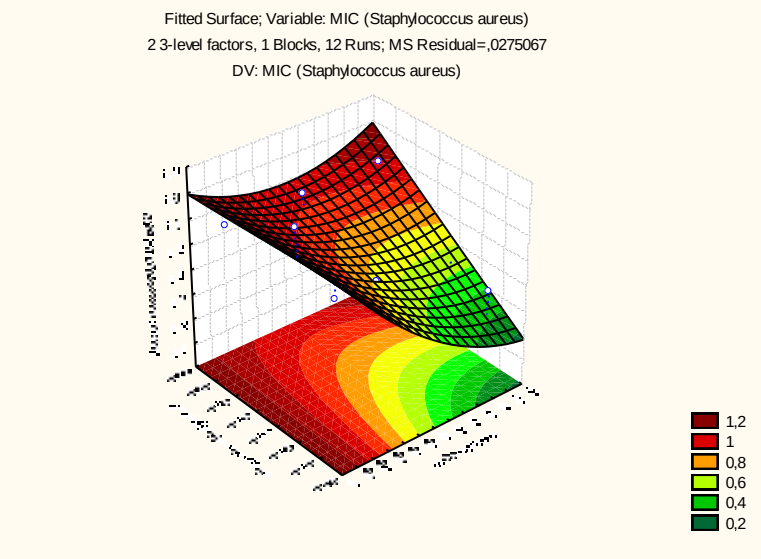
entre 2/15 e 1/5 com etanol 70 %, outro quando foi empregado etanol 80% e proporção 1/5 e quando foi empregada a faixa entre 2/15 e 1/5 para as concentrações de etanol de 90%, em que nessa última foi verificada maior capacidade antimicrobiana para *S.aureus*. Logo nota-se que o fator que realmente influenciou na resposta para este método foi a razão amostra:solvente. Enquanto que para o MIC, só foi obtido um ponto de mínimo (Figura 24), no qual os menores valores foram obtidos para concentração de 90% de etanol nas faixas variando entre 2:15 e 1:10.

Figura 23 – Superfície de reposta do efeito da concentração de etanol (%v/v) e proporção amostra: solvente (g/mL) na atividade antimicrobiana dos extratos frente a *S.aureus*.



Fonte: Próprio autor (2017)

Figura 24 – Superfície de resposta do efeito da concentração de etanol (%v/v) e proporção amostra: solvente (g/mL) na concentração mínima inibitória dos extratos frente à *S.aureus*.



Fonte: Próprio autor (2017)

5.3.2.2 Listeria monocytogenes

Para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos frente a *L.monocytogenes*, pode-se verificar na Tabela 19, que o ensaio 5 (concentração de etanol de 80% e razão 2/15) foi o tratamento que apresentou maior zona de inibição, entretanto a menor concentração inibitória foi notada nos ensaios 6 e 9 (razão 1/10 e concentrações de 80 e 90 % de etanol) .

Esses resultados indicam que apesar de nas condições do ensaio 5 ter sido observada uma melhor atividade (considerando a ZI), seria necessária uma maior concentração (mg/mL) para que se alcançasse a inibição. Enquanto que nos ensaios 6 e 9 com uma pequena concentração já poderia ser verificado inibição ainda que não fosse em grandes proporções, logo estes ensaio, foram os que melhor possibilitou a extração de substâncias com propriedades antimicrobiana para este microrganismo.

Tabela 19- Planejamento fatorial, com valores reais e codificados para o estudo do efeito das variáveis na atividade antimicrobiana da farinha da casca de Jamelão frente ao microorganismo *Listeria monocytogenes*.

Ensaio	Concentração de Etanol (%)	Razão Amostra:Solvente	ZI (mm)	MIC (mg/ml)
1	70	1/5	11,00	2,0
2	70	2/15	11,25	1,34
3	70	1/10	10,75	1,00
4	80	1/5	11,67	1,00
5	80	2/15	**23,50**	0,67
6	80	1/10	13,17	**0,50**
7	90	1/5	15,58	1,00
8	90	2/15	8,75	0,67
9	90	1/10	8,63	**0,50**
10	80	2/15	11,00	0,67
11	80	2/15	12,50	0,67
12	80	2/15	13,25	0,67

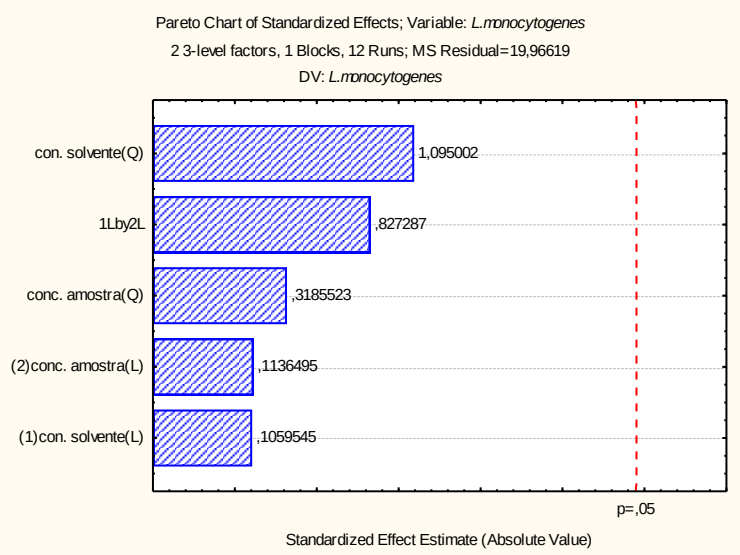
ZI= zona de inibição ; MIC = concentração mínima inibitória

Em relação ao estudo de otimização do processo, pode-se verficar através do gráfico de pareto (Figura 25) que os modelos quadráticos e a interação linear (L) ou quadrática (Q) entre os fatores, gerados para análise da atividade antimicrobiana frente a *L.monocytogenes* por meio da zona de inibição não tiveram influência significativa na resposta ($p>0,05$), ou seja, as faixas estudadas não provocaram diferença significativa entre os termos.

Dessa forma não foi possível obter o modelo matemático de inibição para esse microrganismo, porque o coeficiente de determinação da análise de regressão foi muito baixo ($R^2<0,7$). Com isso, a equação gerada não pode ser aplicada uma vez que os valores

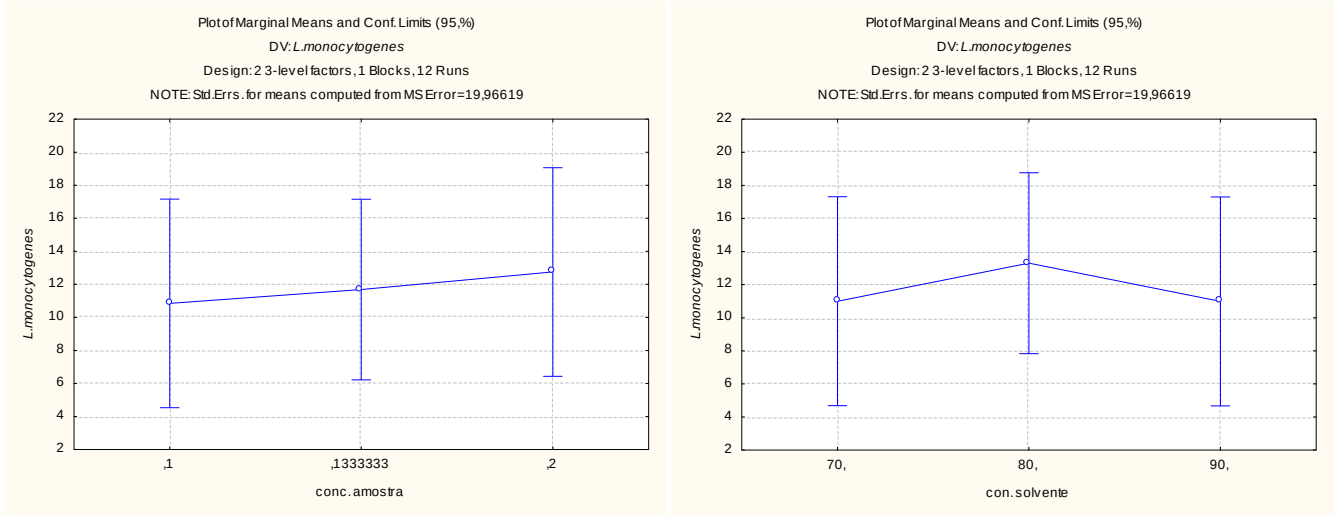
observados ficaram distante dos preditos, logo não se fez necessário exibir a superfície de resposta. Mas, de acordo a Figura 26 pode-se observar que as maiores inibições foram obtidas quando utilizado as maiores proporções amostra: solvente (A) e etanol 80 % (B).

Figura 25 – Efeito dos fatores concentração e razão nos valores da atividade antimicrobiana dos extratos frente a *L.monocytogenes.*



Fonte: Próprio autor (2017)

Figura 26 – Gráficos de média e limites de confiança a 95% para concentração de etanol (A) e razão (B) nos valores da zona de inibição para o microrganismo *L.monocytogenes*.



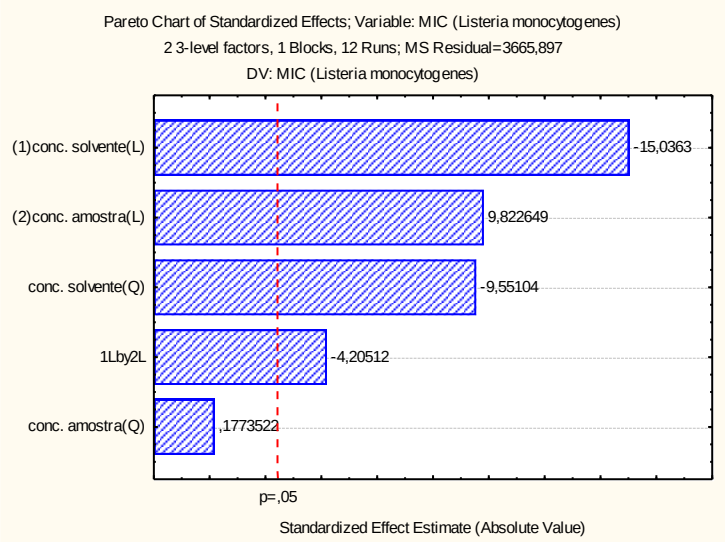
Fonte: Próprio autor (2017)

Contudo, em relação à concentração mínima inibitória observa-se que ambos os fatores (concentração de etanol e razão amostra: solvente) foram significantes na resposta a $p<0,05$ (Figura 27).

E de acordo com a Tabela 20, é possível notar que para os valores de MIC, a concentração de etanol (L) e (Q), apresentaram efeitos negativos e significativos, ou seja,

quanto menor a concentração de etanol maior os valores obtidos, enquanto que a variável proporção amostra:solvente (L) apresentou efeito positivo, logo quanto maior a proporção, maior o valor de MIC, no entanto como esse método avalia a mínima concentração necessária para inibir o microorganismo, os melhores resultados foram verificados quando ocorreu o oposto, ou seja maiores concentrações de etanol e menores proporções.

Figura 27 – Efeito das variáveis concentração e razão nos valores da concentração mínima inibitória dos extratos para *S. aureus.*



Fonte: Próprio autor (2017)

Tabela 20-Estimação de efeitos da concentração de etanol e proporção do planejamento fatorial completo 3^2 na concentração mínima inbitória para *L.monocytogenes.*

Fatores	Efeito	Erro	t (6)	p	-95%	95%
Interação*	0,997222	0,031661	31,4966	0,000000	0,919750	1,074695
Conc (L)*	-0,751071	0,049771	-15,0904	0,000005	-0,872858	-0,629285
Conc (Q)*	-0,355000	0,037000	-9,5947	0,000073	-0,445535	-0,264465
Proporção (L)*	0,650000	0,066702	9,7448	0,000067	0,486786	0,813214
Proporção (Q)	0,016667	0,056853	0,2932	0,779281	-0,122448	0,155782
(1)L X L(2)*	-0,249643	0,059331	-4,2076	0,005638	-0,394822	-0,104464

*Fatores Significativos a 99% de confiança, L= Linear, Q=Quadrático

Dessa forma, o modelo proposto para os valores de MIC foi significativo, já que $F_{calc} > F_{tab}$ (valor de F = 914 e p <0,0001), e precisos (R^2 =0,989).Como o valor de R^2 ajustado (0,988) foi muito próximo ao do R^2, o modelo possibilita satisfatórias ilustrações dos processos (Tabela 21).

Tabela 21- Analise de variância no estudo do modelo para efeito das variáveis, concentração do etanol e razão amostra/solvente na concentração mínima inibitória dos extratos frente a *L.monocytogenes*.

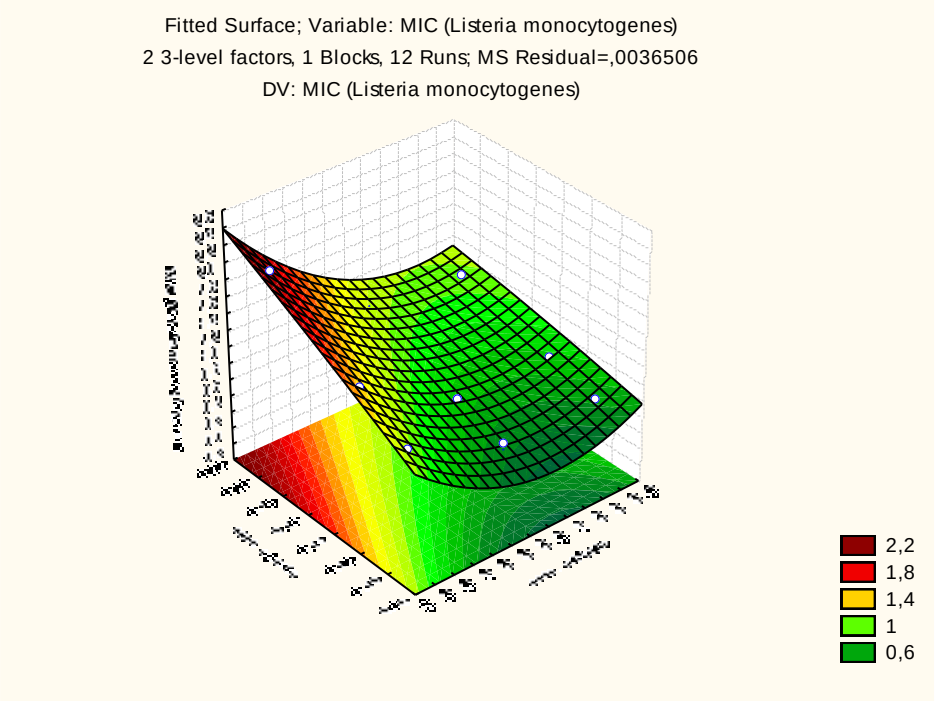
Fontes de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média Quadratica	valor F	valor p
Regressão	1	1974842	1974842	907,7347	3,8E-11
Resíduo	10	21755,71	2175,571		
Total	11	1996597			

Coeficiente de determinação (R^2): 0,989; R-ajust :0,988 ; F calc/F tab =182,86

Logo, o modelo empírico foi desenvolvido utilizando modelo polinomial de segunda ordem (Eq. 19), por meios dos quais haverá a demonstração da relação entre os valores de resposta e os parâmetros de extração de concentração de etanol (X) e razão sólido:líquido (Y) por meio da criação da superfície de resposta (Figura 28).

Concentração mínima inibitória frente a *L. monocytogenes*(mg/ml) = 22,39-0,568*x+ 0,004*x^2+28,138*y-5,00*y^2-0,249*x*y. (Equação 19)

Figura 28 – Superfície de resposta para os efeitos da concentração de etanol (%v/v) e proporção amostra: solvente (g/mL) na concentração mínima inibitória dos extratos frente à *L.monocytogenes*.



Fonte: Próprio autor (2017)

Através da análise da superfície de resposta para os valores de MIC (Figura 29) se consegue observar que os extratos com melhores propriedades antimicrobianas foram obtidos para faixa de concentração de etanol entre 80 e 86% próximo a 90% nas proporções de 1:10 de amostra:solvente, onde se obteve menores valores.

Outros autores também utilizaram o planejamento experimental como ferramenta para estudo de otimização do processo. Como nos trabalhos de :

Migliato *et al.* (2011) que avaliaram a otimização de extração de compostos com atividade antimicrobiana do pó do fruto jamelão, com dois fatores independentes (concentração de etanol e tipo de extração) frente a *S. aureus, S. epidermidis, P. aeruginosa,Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Candida albicans, Candida parapsilosis* e *Candida krusei*, e verificaram que não foi encontrada atividade antimicrobiana frente à concentração utilizada de extrato para os micro-organismos *E. faecalis, E. coli, C. albicans e C. parapsilosis*, e que a atividade foi bem reduzida frente a *P. aeruginosa*, todasbactérias Gram-negativas e que as maiores inibições foram para os microrganismos gram-positivos,com valores dos halos de inibição frente a *S. aureus* variando de 0 a 4,8 mm, enquanto que a concentração bactericida mínima (CBM) do melhor extrato para o mesmo foi de 1250 µg/100 µL.. Esses autoresafirmam que a não inibição de alguns microrganismos pode ser justificada ao se considerar uma possível ação dos taninos frente à membrana dos microrganismos e à complexidade da membrana celular apresentada pelo mesmo, principalmente no que se refere a bactérias gram-negativas. Os mesmos ainda relataram que o fator concentração de etanol (50, 70 e 96°GL) foi o que mais influenciou na resposta e quanto menor sua concentração maior foi atividade antibacteriana. Logo, verifica-se que apesar de os halos de inibição e CBM deste estudo serem inferiores e superiores aos obtidos no presente trabalho respectivamente, o fator significativo foi o mesmo.

Silva M.C *et al.* (2014) que utilizaram um planejamento experimental para produção de pigmentos naturais em pó a partir de extratos aquosos de resíduos de jabuticaba, e dentre todos ensaios planejados, ele escolheu os 4 melhores para retenção de antocianina e analisou as atividades antioxidante e antimicrobiana e percebeu que dentre os quatro, todos apresentaram zonas de inibição para *S. aureus*, as quais variaram de 9 a 12 mm, enquanto que, para *L.monocytogenes* e *E.coli* apenas 3 e 2 ensaios, respectivamente, apresentaram inibição. As zonas de inibição para esses dois microrganismos variaram entre 9,8-10,7 mm e 10-10,5 mm, respectivamente. Com isso foi notório que as ZI obtida por esses autores foram semelhantes as obtidas aqui para *Staphylococcus* e inferiores quando comparados com os de *L.monocytogenes.* Além disso, esses autores revelaram que o ensaio que apresentou melhores inibições para todos os microrganismos avaliados, foi também o que apresentou maior concentração de CFT, observando assim uma relação entre estes. No entanto os valores de MIC relatados no trabalho deles para os dois primeiros microrganismos foi de 12,5mg/ml, os quais foram bem superiores aos obtidos neste trabalho, dessa forma pode-se afirmar que a

otimização realizada neste estudo, mostrou que os extratos precisariam de uma menor concentração para alcançar o efeito desejado.

Fujita *et al.* (2013) que avaliaram o impacto da secagem da polpa de camu-camu por spray-dryer em diferentes temperaturas (60, 80, 90 e 110ºC) e concentrações de maltodextrina (0,3 e 6%) sobre a atividade antimicrobiana dos pós frente as bactérias *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Listeria monocytogenes, Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis e observaram que os pós mostraram atividade apenas para *S.aureus* independente das condições avaliadas. Eles ainda verificaram que as ZI variaram entre 17-19mm e os valores de MIC de 0,16 -0,31 mg/ml a depender da variação efetuada, esses resultados foram semelhantes ao obtido na presente pesquisapara concentração inibitória mínima (0,34mg/ml).

Não obstante a esses, Singh *et al.* (2016) em avaliação das propriedades antioxidantes e antimicrobianas de extrato polifenólico da polpa de jamelão liofilizada, observaram que esse extrato foi efetivo contra *S. aureus, S. aureus* resistente a meticilina, *Klebsiella pneumoniae, E. coli e Candida albicans* com maiores zonas de inibição e menores valores de CIM para *S. aureus* 23mm e 0,5 mg/mL, respectivamente, e apesar da zona de inibição desse microrganismo ser maior do que as verificadas no presente estudo, o valor da concentração mínima inibitória também foi maior, mostrando que seria necessária uma maior concentração para verificação da inibição do mesmo.

Bag *et al.* (2012) por sua vez, avaliando a atividade antibacteriana *in vitro* de sementes de jamelão frente a *S. aureus, K. pneumoniae, P. aeruginosa* e *E. coli*, observaram atividade contra todos, mas as maiores zonas de inibição (24mm) foram obtidas para *S.aureus* em extrato etanólico a 70% quando comparados a extratos aquosos e acetonicos, com valores de MIC variando de 0,16 a 1,69 mg/mL.

Esses resultados demonstram que o etanol realmente vem sendo verificado como um ótimo solvente para avaliação da atividade antimicrobiana, entretanto no presente estudo verificou-se que as melhores respostas foram dadas em etanol 90% contrariando os autores acima.

Além disso, outros estudos foram realizados no tocante a avaliação de propriedades antimicrobianas com extratos de outros tipos de resíduos e também de folhas, como no trabalho de Prado *et. al.* (2014) que ao avaliarem a atividade antimicrobiana de extratos de casca de noz-pecã obtidos por diferentes processos (infusão, infusão+*spray-dryer* e extrato etanólico) sobre *L. monocytogenes, S. aureus, Vibrio parahaemolyticus e B.cereus*, verificaram que apenas o extrato etanólico exerceu atividade contra todos os microrganismos,

enquanto que os demais processos exerceram atividade somente contra 3 e 2 cepas, respectivamente e as maiores zonas de inibição foram observadas para *L.monocytogenes* (12-16mm).

Martin (2014) por sua vez, ao avaliar a atividade antimicrobiana de 20 tipos de resíduos agroindustriais observou que apenas os resíduos de película de amendoim, bagaços de uva Pinot Noir e Petit Verdor, de goiaba e sementes de uva P. Verdot apresentaram inibição sobre *S.aureus* com zonas de inibição de 20, 10, 10, 10, 10 e 14 mm respectivamente. Dentre os quais a menor MIC obtida foi 0,78 mg/Ml para película de amendoim e as demais foram acima de 3mg/mL. Assim, os valores aqui obtidos para ZI se encaixam dentre os valores citados, contudo os valores de MIC obtidos por esse autor foram superiores ao deste.

Na pesquisa de Arbos *et al.* (2013), eles verificaram que os extratos da farinha da casca e da amêndoa de manga apresentaram atividade antimicrobiana frente aos quatro microrganismos avaliados (*E. coli* 25922, *Salmonella* sp., *P. aeruginosa* e *S.aureus*) e que os halos de inibição pra *S.aureus* foram 19,0 mm para a casca e 14,2 mm para a amêndoa, sendo estes superior aos deste trabalho.

Em relação à atividade antimicrobiana de folhas, Silva *et al.* (2015) verificou que extratos aquosos de frutos e folhas de mirtilo americano exerceram efeito sobre duas cepas de *S.aureus*, no entanto, diferenças significativas foram encontradas entre as amostras e o mesmo ocorreu para os valores de MIC, os quais foram respectivamente 50 e 25 mg/ml. E Pereira *et. al.* (2013) constatou que o melhor extrato de folhas de *Myrtus communis* L. obtido por metodologia de superfície de resposta, exerceram atividade frente *S.aureus*, *S. epidermidis* e *B.subtilis* enquanto que para *E.coli* e *P.aeruginosa* não foram verificadas ZI e os valores de MIC foram respectivamente 0,195, 0,195 e 1,56, 6,25 e 12,5 mg/ml . Logo, as concentrações requeridas para inibição encontradas por Silva *et al.* (2015) foram bem superiores as relatados neste trabalho. Todavia Pereira *et. al.* (2013) apresentou resultados melhores com maiores ZI e menores MIC.

Além disso, pode-se citar o trabalho de Silva M.G.F. (2012) que ao avaliar atividade antibacteriana de extratos e óleos essênciais de manjericão e manjerona, perceberam que os extratos etanólicos não apresentaram inibição contra as bactérias *Salmonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Klebsiella pneumoniae*, porém os óleos essenciais das duas plantas em questão inibiram o crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus* com halos de inibição de 8 e 10 mm respectivamente, os quais foram semelhantes aos encontrados no presente estudo.

As diferenças observadas entre as zonas de inibição e valores de MIC entre os trabalhos ocorrem principalmente em função dos tipos amostras, volume e concentração de extratos aplicados e da metodologia utilizada. Contudo, ao comparar este trabalho com diversos outros relatados na literatura, verifica-se que os extratos do pó da casca de jamelão podem ser considerados com boas propriedades antimicrobianas frente as bactéria *S.aureus* e *L.monocytogenes*, uma vez que exibiram resultados semelhantes quando comparados a outras matrizes em diferentes trabalhos.

5.4 Determinação do extrato de aplicação e quantificação dos compostos bioativos.

O intuito desta etapa foi determinar qual a concentração do solvente, sobre determinadas proporções amostra:solvente, promoveria a maior extração de compostos antioxidantes e antimicrobianos da casca do jamelão em pó.

Tabela 22-Condições otimizadas para extração de compostos com alta atividade antioxidante e antimicrobiana por meio do planejamento fatorial completo (3^2) para diferentes métodos.

Análises	Métodos	Solvente	Razão amostra:solvente
Atividade Antioxidante	DPPH	Etanol 70%	1:10
	ABTS	Etanol 70%	1:10
	FRAP	Etanol 70%	1:10
Atividade Antimicrobiana			
S.aureus	Disco-difusão	Etanol 90%	2:15
	MIC	Etanol 90%	2:15
L. monocytogens			
	Disco-difusão	Etanol 80%	2:15-1:5
	MIC	Etanol 80-90%	1:10

Analisando os resultados da Tabela 22, observa-se o etanol 70% como sendo o de maior obtenção de compostos antioxidantes para todos os métodos avaliados. Entretanto para atividade antimicrobiana foi notado que ocorreu variação entre etanol 80 e 90% a depender do método e do microrganismo avaliado, da mesma forma aconteceu no fator proporção em que o para os métodos de avaliação de antioxidantes todos apontaram a razão amostra: solvente 1:10 como sendo a melhor, enquanto que para inibição microbiana essa proporção só foi considerada a melhor para a concentração mínima inibitória de *L.monocytogenes*.

Dessa forma, como as respostas da atividade antimicrobiana teve relevante alternância, e para facilitação do trabalho, optou-se por escolher como extrato de aplicação o ensaio 3(etanol 70% e razão 1:10) por ser este coerentes em todos os métodos avaliados para os antoxidantes e está de acordo com grande parte dos trabalhos, uma vez que o uso do etanol 70%, tem se mostrado muito eficiente para melhor extração de compostos bioativos

(BEWAL *et al*. 2016; XI e YAN *et al.* ; 2017; ROCKENBACH *et al*., 2008; MUSSI, 2014; BORGES, 2011).

E assim como no presente trabalho, Mussi (2014) determinou o uso de etanol 70% como melhor solvente para extração de compostos da polpa do jambolão. E Borges *et al*. (2011b), ao determinarem o melhor sistema de extração de compostos da polpa de juçara, perceberam que a relação sólido-líquido foi a variável mais significativa do estudo, apresentando melhores valores quando aplicada as maiores faixas de 1:30 a 1:50.

O extrato do pó da casca do jambolão obtido sob as condições anteriormente determinadas como a de melhor extração dos compostos antioxidantes foi caracterizado quanto ao teor de bioativos, cujos resultados encontram-se na Tabela 23.

Nesta tabela verifica-se que altos valores para todos os compostos bioativos avaliados foram obtidos para o extrato otimizado, se comparados à casca *in natura* ou até mesmo para a farinha (Tabelas 7 e 8) como no caso do teor de vitamina C antes de passar pelo processo de otimização de extração, e ainda foi verificado que em base seca os valores foram aumentados cerca de nove vezes.

Tabela 23- Compostos bioativos presentes no extrato escolhido para aplicação por meio do planejamento fatorial completo (3^2).

Compostos bioativos	Extrato de aplicação otimizado	
	Base seca	Base úmida
Compostos fenólicos totais(mg GAE/g)	331,85	36,50
Flavonoides Totais (mg QE/g)	17,62	1,94
Antocianinas Totais (mg CE/100g)	11539,43	1269,34
Vitamina C (mg AAE/100g)	365,34	40,00

GAE= equivalente ao ácido gálico; QE= equivalente a quercetina; CE= equivalente a cianidina; AAE= equiavalente ao ácido áscorbico.

O teor de compostos fenólicos do extrato otimizado apresentou valor igual a 331,85 ou 36,50 mgGAE/g extrato em base seca ou úmida, respectivamente. É importante ressaltar que a metodologia usada neste estudo para a quantificação de compostos fenólicos utilizou uma etapa de purificação, a fim de retirar os interferentes da amostra. De acordo com Sánchez-Rangel *et al*. (2013), extratos vegetais possuem substâncias interferentes (vitamina C e açúcares redutores) que reagem com o *Folin-Ciocalteu*, superestimando o resultado obtido.

Maran *et al.* (2014) no seu trabalho, estudou a otimização de extração de compostos fenólicos totais (CFT) e flavonoides totais (FT) da polpa liofilizada de jamelão e encontraram para seu extrato otimizado valores de 1330,76 mg GAE/100g para CFT e 109,08mg QE/100g para FT. Por outro lado,Araujo (2014) em avaliação dos compostos bioativos presentes em

jambolão desidratado por liofilização e por secagem em leite de Jorro encontrou valores deCFT de 534 e 468 mg/100g em base seca, respectivamente.

Todos estes resultados obtidos pelos autores acima foram inferiores aos obtidos no presente estudo, e propõe-se que este fato ocorreu por nesses estudos os autores avaliarem a polpa, na qual foi verificado no presente trabalho menor índices de compostos bioativos quando comparados a casca (Tabelas 7 e 8) ou ainda pelo método de secagem utilizado pelos mesmos.

Além disso, os resultados do presente trabalho também foram superiores aos relatados para outras frutas desidratadas, tais como figo, damasco, uvas-passas e ameixas (KAMILOGLU *et al.*, 2014; OUCHEMOUKH *et al.*, 2012), cambuci e graviola (GONÇALVES *et al.*, 2010) e resíduos de jabuticaba (SILVA M.C, *et al.*, 2014) as quais também são consideradas fontes de compostos bioativos.

Resultados semelhantes à presente pesquisa foram reportados por Kapoor e Ranote (2016) para compostos fenólicos em pó da polpa de jamelão, seco em bandejas a 40 °C (3670mgGAE/100g), bem como por. Borges (2011) que relatou teor de 2880,7 mg GAE /100g para bagaço de jambolão desidratado em leite de jorro obtido com etanol 70%, ambos na base úmida.

Elevados teores também foram constatados para uva (1044 mg/L), groselha vermelha (884,1 mg/L) e preta (6135, 7 mg/L) para extratos etanólicos a 70 % quando comparados com extratos aquosos (178,3; 696,4 e 3219,2 mg/L, respectivamente) (LAPORNIK, 2005).

Com isso, por meio da classificação de Vasco *et al.* (2008) o valor de CFT obtido para o extrato otimizado classificou-se como sendo de alta concentração dos mesmos, uma vez que esses autores sugeriram valores baixos como sendo <100mg de GAE/100g, valores intermediários de 200 a 460 mgGAE/100g e valores altos para acima de 1000mgde GAE/100g.

Além disso, foi verificado no extrato otimizado que o teor de flavonoides totais (FT) foi de 194mg/100g em base úmida, o qual foi superior aos resultados encontrados por Balyan e Sarkar (2016) que relataram para extrato de semente de jamelão valor de 153 mg/L e por Marquetti (2014) que relatou 110,97mg equivalente a catequina /100g para farinha da casca de jabuticaba, porém próximo ao obtidos por Casarim *et al*. (2016) que encontraram 180mg/100g e 181,8 mg equivalente a catequina 100g para farinha de amora-preta.

Ainda para o teor de flavonóides, resultados muito inferiores aos reportados nesse estudo foram relatados por Bewal *et al.* (2016) para polpa de *berries* desidratada (0,82mg/100g), por Costa *et al.* (2012) para a farinha de araticum secas a 40°C

(13mg/100g),por Silva P.B. (2014) em sementes de acerola desidratada em secador roto-aerado (3,42 mg rutina/100g) e por Gardusi *et al.* (2014) para a casca seca e *in natura* da mexerica (4,60 e 3,07 mg de rutina/100 g , respectivamente).

Com isso, pode-se dizer que o jamelão é um fruto com bom potencial de flavonóides. E assim como neste trabalho, Silva *et al.* (2013) estudaram o resíduo de abacaxi e observaram um aumento no teor de flavonoides após a secagem.

Em relação ao teor de antocianinas, Araujo (2014) verificou teores de 649,6 e 438,9 mg CE/100g para jambolão liofilizado e seco em leito de jorro respectivamente. Enquanto que nos estudos de Borges (2011), Kappor e Ranote (2016) e no de Mussi (2014), os teores de antocianina relatados foram de 396,6 mg/100g, 259,89 e 305,47mg/100g e 26mg/100g, respectivamente, todos inferiores ao constatado na presente pesquisa.

Não obstante a isso, observa-se também que o teor de antocianinas encontrado para o pó de jambolão supera os valores reportados para jabuticaba atomizada com maltodextrina (7 a 21,6 mg CE100g) (SILVA *et al.*, 2014) e para a polpa de camu-camu atomizada em spray dryer (19,63mg/100g) (FRACASSETI et *al.*,2013), isso significa que processo de secagem associado ao processo de otimização conseguiu produzir pó com elevado teor antociânico

Ao comparar o teor de vitamina C do extrato otimizado do pó da casca obtido neste estudo (40,0 mg/100g b.u.e 365,34mg/100g b.s.) com outros trabalhos da literatura que também estudaram jambolão,e verificou-separa base úmida valores superiores (93,5mg/100g e 62,21 mg/100g) para jambolão liofilizados e resíduo do jambolão desidratados em leite de jorro, respectivamente (GORDON *et al.*, 2011; CORREIA *et al.*, 2012) e inferiores (1,03 mg/100g; 36,95 mg/100g; 25,61 mg/100g) para polpa liofilizada e seca em bandeja, respectivamente(KUBOLA *et al.*, 2011; KAPPOR e RANOTE, 2016). Quanto aos teores encontrados e reportados em base seca, Araújo (2014) relatou resultados inferiores (180,2 e 139,6 mg/100g) para os pós da polpa obtida por liofilização e leite de jorro, respectivamente, contudo esse autor observou, assim como na presente pesquisa, um aumentou no teor do acido ascórbico após o processo de secagem.

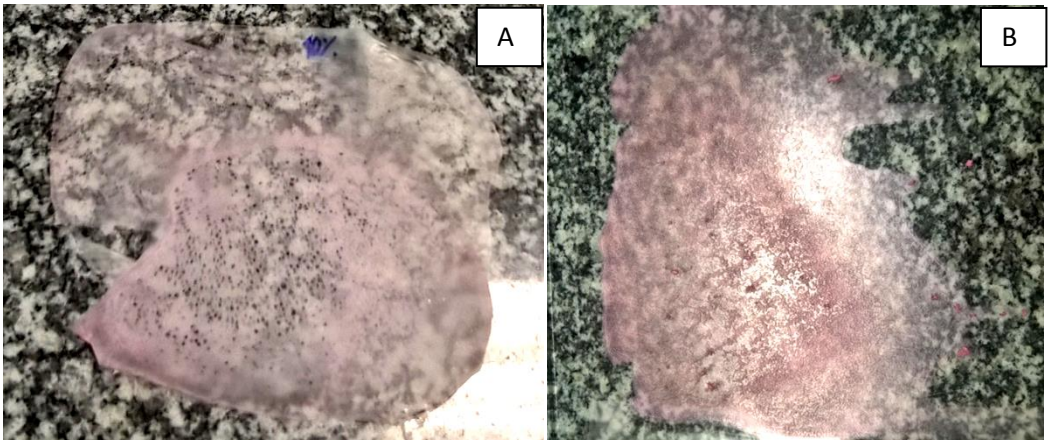
Em relação a outros frutos, o valor aqui obtido foi superior ao relatado para o caju (38,33 mg/100g) e goiaba (19,57mg/100g) desidratados em estufa a vácuo (COSTA *et al.*, 2009).

5.5 Desenvolvimentode filmes biodegradáveis ativos a partir da incorporação do EO.

5.5.1 Obtenção e análise colorimétrica dos filmes ativos

Na elaboração dos filmes de acetato de celulose, foi observado que à medida que a concentração de extrato na solução era aumentada (de 20 para 60%) aumentava também a irregularidade dos filmes com formação de furos (Figura 29A), ao ponto que a partir da concentração de 40% não ocorreu formação dos filmes para essa base polimérica (Figura 29B) uma vez que não houve total dissolução do acetato de celulose mesmo este ficando em contato com a solução por vários dias. Esse fato observado possívelmente ocorreu devido à polaridade da acetona diferir da polaridade da mistura água e acetona, tendo em vista que EO estava em meio aquoso, o qual foi transferido para o solvente de dissolução (Acetona). Logo, foi necessário dimnuir as concentrações do EO para incorporação nesses filmes, e essas variaram entre 10 e 20 %.Todavia nos filmes de amido a dissolução ocorreu normalmente já que o solvente base era o mesmo contido no extrato, dessa forma foi mantida a concentração de 20 a 60%.

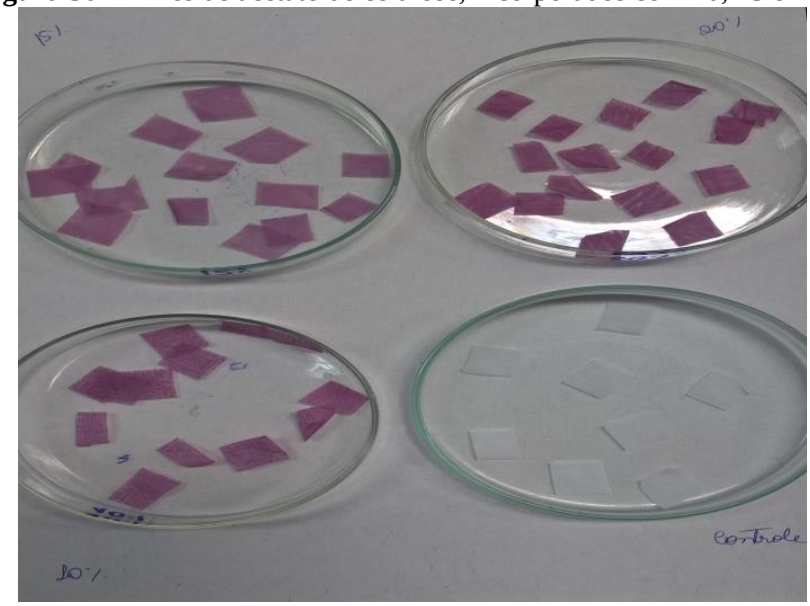
Figura 29- Tentativa de Elaboração dos filmes de acetato de celulose com 40% (A) e 60% (B) do extrato otimizado.



Fonte: Próprio autor (2017)

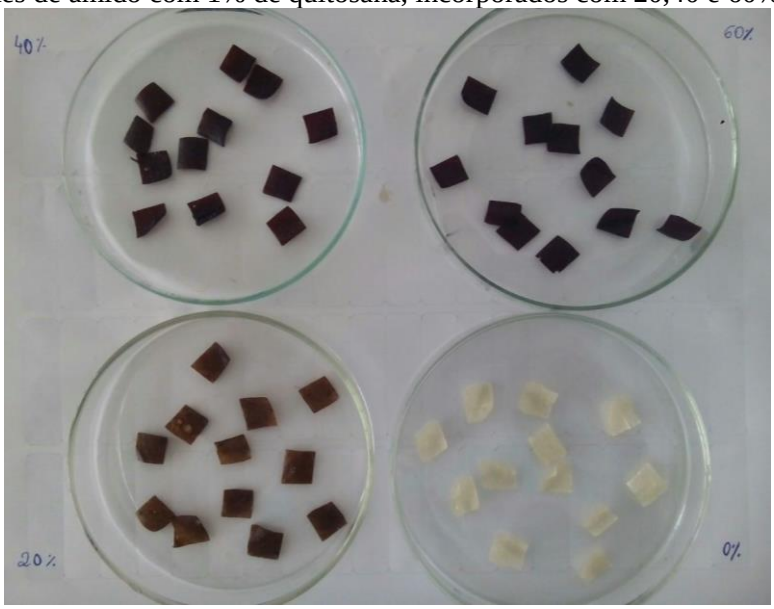
Também foi notório que as películas de filmes controle produzidas por fundição foram uniformes, sem formar agregados e sem cor visível específica para ambos os tipos de filmes e que à medida que o EO foi adicionado em suas diferentes concentrações, houve uma mudança na aparência e flexibilidade dos filmes, os quais se tornaram coloridos, como podem ser vistos nas Figuras 30 e 31.

Figura 30- Filmes de acetato de celulose, incorporados com 10, 15 e 20 % de EO.



Fonte: Próprio autor (2017)

Figura 31- Filmes de amido com 1% de quitosana, incorporados com 20,40 e 60% de EO.



Fonte: Próprio autor (2017)

Dessa forma, todos os filmes produzidos foram caracterizados quanto aos parâmetros colorimétricos e diferença de cor quando comparados ao controle, tendo em vista que a cor da embalagem de alimentos é um fator importante em termos de aparência geral e aceitação do consumidor, os quais estão descritos na Tabela 24.

Tabela 24 -Valores dos parâmetros L*, a*, b*,c* ,H e ΔE médios dos filmes biopoliméricos de amido com quitosana e acetato de celulose adicionados do EO em diferentes concentrações.

Filmes	Acetato de Celulose					
	L	a*	b*	c*	H	ΔE
FC	54,8±5,3a	1,65±0,07b	9,9±0,6a	10,05±0,64b	80,65±0,22a	----
F10%	39,9±0,4b	21,80±3,11a	7,3±1,8ab	25,15±5,02a	19,65±7,20b	25,7±0,8a
F15%	43,9±1,2b	26,75±2,30a	6,6±0,3ab	27,45±0,07a	13,80±0,57b	27,4±1,4a
F20%	38,2±1,6b	25,30±1,05a	5,5±0,3b	26,00±1,15a	13,10±0,44b	28,9±1,6a
Filmes	Amido					
	L	a*	b*	c*	H	ΔE
FC	61,7±0,7a	2,7±0,1c	18,2±0,8b	18,4±0,8a	81,6±0,2a	--
F20%	32,2±0,1b	2,4±0,5c	9,8±0,3a	9,9±0,4c	76,0±2,9b	30,3±0,3a
F40%	32,6±0,6b	5,1±0,3b	9,6±0,2a	10,8±0,8bc	61,9±4,6c	31,1±1,2a
F60%	33,1±0,5b	7,4±0,4a	9,4±0,1a	11,8±0,2b	52,6±1,6d	30,9±1,1a

*Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma coluna para uma mesma base não diferem estatisticamente a 5 % de significância. FC= filme controle; F10% a F60% = filmes adicionados de extrato nas proporções variando de 10 a 60 % (v/p).

Os valores de L apresentados pelos filmes de acetato de celulose variaram entre 38,2 e 54,75, sendo o maior valor obtido para a amostra controle, a qual diferiu estatisticamente das amostras adicionadas do extrato.

Os valores do filme controle foram mais elevados devido à ausência de cor do mesmo tendendo a ser esbranquiçado-transparente, tendo em vista que quanto mais próximo de 100, mais clara é a superfície da amostra. Os filmes adicionados do extrato, no entanto não diferiram entre si independentemente da concentração utilizada, todavia esses se mostraram com menor luminosidade tendendo a tonalidade mais escura, o que confirma a característica do extrato adicionado, uma vez que o mesmo foi produzido com a farinha da casca do jamelão, no qual foi verificado alto teor de antocianinas.

Valores superiores ao deste trabalho foram relatados por Ugalde (2014) que em avaliação colorimétrica de filmes de celulose incorporados com óleos essenciais encontrou para o parâmetro L valores que variaram de 71,00 a 79,74, indicando uma boa transparência. Bem comopor Lúcio *et al.* (2011) que avaliando filmes de acetato de celulose incorporados com OE de orégano, obteve valores maiores ainda de L*, média de 92,51, sendo que este parâmetro foi afetado significativamente pela adição do OE, diferentemente ao observado na presente pesquisa, em virtude de na mesma se tratar de extrato de casca de fruta.

Os valores de L* apresentados pelos filmes de amido de milho com quitosana variaram entre 32,2 e 61,7, sendo o maior valor encontrado para o filme controle, o que indica uma transparência razoável, que pode ser explicada pela cor amarelada característica do polímero. Semelhante ao observado com os filmes de base celulósica houve redução da

luminosidade na medida em que o extrato foi incorporado, certamente pela cor característica dos mesmos.

Mehdizadeh *et al.* (2012) verificaram que em filmes comestíveis produzidos com amido e quitosana, a adição de OE de tomilho (*Thymus kotschyanus*) afetou a cor e a transparência dos mesmos. Observações semelhantes também foram obtidas em outras pesquisas com filmes incorporados com OEs (OJAGH *et al.* 2010, PRANOTO *et al.,* 2005; ARCE, 2011). Moradi *et al*. (2012) por sua vez, caracterizando filmes de quitosana incorporados com OE de tomilho e extrato de semente de uva, encontrou valores de L* entre 35 e 77, essa grande variação para esse parâmetro foi semelhante a este trabalho, provavelmente por esses autores também terem adicionado um extrato colorido. Enquanto que Caetano (2016) encontrou valores superiores a este, entre 85-88para o parâmetro L* em filmes elaborados com amido contendo de 0 a 3% de extrato de abobora e de 0 a 2% de óleo de orégano e embora esse sejam maior, a variação constatada entre os filmes é menor, possivelmente em função da baixa concentração de extrato colorido (abóbora adicionado), mesmo assim, verificou-se que luminosidade aumentou a medida que se aumentou a concentração destes extratos, certamente em função das cores caracteristicas dos mesmos.

Os dados de a* foram positivos para as duas bases poliméricas, indicando dessa forma a presença do componente vermelho. Quando foi utilizado o acetato de celulose, os resultados variaram entre 1,65 - 26,5 e houve um aumento e pouca variação dos valores entre os diferentes tratamentos, logos estes não diferiram entre si a $p < 0,05$, diferindo apenas da amostra controle, uma vez que nesta o valor foi significativamente menor.

Entretanto em relação aos filmes de amido, verificou-se que os valores obtidos para a* foram menores, apesar de se ter adicionado maior proporção de extrato nesses, os quais variaram entre 2,4 - 7,35. De acordo com a Tabela percebeu-se também que o tratamento com 20% de extrato não diferiu significativamente do filme de amido controle (sem adição), ainda que visuamente tenha sido visto o contrário. Além disso, foi constatado que à medida em que se aumentou a concentração do EO no filme, o valor de a^* também foi aumentado, ou seja, houve maior presença de tonalidade escura.

Em relação ao parâmetro b* foi notável uma variação significativa entre os tratamentos, tendo em vista que nos filmes de celulose, os valores constatados entre o filme controle e o filme adicionado de 20 % do extrato foi reduzido de 9,9 para 5,3, e nas demais concentrações os valores obtidos foram intermediários entre esses. No filme de amido com quitosana verificou-se também uma diminuição no valor de b* de 18,16 para valores entre 9,3-9,8, porém os valores dos tratamentos com extrato não diferiram a 5% de significância.

Os valores obtidos para as amostras padrões indicam o componente amarelo, principalmente nos filmes que contém quitosana, pois a cor amarelada é característica desses. Porém à medida que foi sendo adicionado o extrato em maiores proporções foi observada uma variação nos parametros ainda que não tenha sido significativa, e isso ocorreu devido à cor característica do extrato, uma vez que este contém alto teor de pigmentos antociânicos, logo as amostras deixaram de tender para o amarelo para tenderem para o azul.

Takeuchi *et al.* (2011) avaliando as propriedades óticas e mecânicas de filmes ativos a base de acetato de celulose adicionados de curcumina, obtiveram valores médios de 93,6; 140 e 1,39 e para os parâmetros L*, a* e b* respectivamente, nos filmes controle (sem curcumina), observando-se uma grande diferença em relação ao presente estudo, em particular para o croma b*.

Abdollahi *et al.* (2012) relataram que as coordenadas de cor a* e b* aumentaram significativamente à medida em que incorporou-se OE de alecrim em filmes à base de quitosana e argila, além de ocasionar redução nos valores de L*, esses resultados estão de acordo aos obtidos aqui para os valores de a e L, diferindo apenas para b em que neste trabalho houve redução. Pereda *et al.* (2011), para o parâmetro b* também obtiveram valores superiores aos encontrados na presente pesquisa (44,67), em filmes com 2 % de quitosana. Esse autor ainda afirma que a presença da cor amarelada, nos filmes de quitosana, pode ser interessante se o mesmo for utilizado com o objetivo de proteger alimentos sensíveis a reações de deterioração catalisadas pela luz.

E assim como observado neste trabalho, Espitia *et al.* (2014) em avaliação de parametros de cor de filmes comestíveis desenvolvidos à base de açaí-pectina verificaram média colorimétrica (L * = 26,96, a * = 7,17, b * = 2,66), estreitamente relacionado com os relatados para a polpa de açaí, com tons de cor variando de vermelho a amarelo-laranja.

Os ângulos Hue (H) dos filmes diferiram significativamente entre as amostras controle e os filmes adicionados do extrato, para ambas a as bases. Os valores dos filmes controle foram de 80,65 e 81,60 para acetato de celulose e amido com quitosana, respectivamente. Esses valores indicam tonalidade amarela, característica dos filmes normais. Foi verificado ainda, que à medida que o extrato foi adicionado em diferentes quantidades ocorreu uma diminuição diretamente proporcional nos valores de H, alcançando níveis em torno de 13 no filme de celulose e de 52,5 no de amido quando utilizado as maiores proporções do EO.

Esses menores valores observados devem-se ao fato do escurecimento dos biofilmes, os quais deixaram de tender para o amarelo (transparente) para tender para o vermelho – arroxeado.

Os valores de ΔE calculados também confirmam a diferença de cor promovida pela adição do extrato nos filmes, principalmente para os filmes de amido, que apresentaram maiores valores de ΔE (aproximadamente 32) em função das diferenças existentes entre estes e os biofilmes controle, principalmente nos valores dos cromas L*, a* e b*.

No entanto não foi verificada diferença estatística nos valores do parâmetro diferença total de cor (ΔE) entre os diferentes tratamentos, os quais variaram entre 25-28 nos filmes de celulose e 30-31,1 nos de amido, ou seja, o ΔE foi semelhante entre os filmes (Tabela 24), isso confirma o que foi relatado anteriormente quando não ocorreu diferença entre um mesmo parâmetro para os três níveis de extrato.

Comportamento semelhante a este foi obtido por Carvalho *et al.* (2016) em estudo sobre a adição de curcumina na forma de mistura simples (MS) e nanosuspensão (NS) em filmes de acetato de celulose, no qual foi verificado que o parâmetro L* foi igual para as amostras com curcumina, diferenciando-se significativamente do controle. O parâmetro ΔE, que representa a diferença de cor entre as amostras, também foi igual para MS e NS (83,5 e 83,1) , logo não houve diferença significativa entre os tratamentos com curcumina, mostrando que a redução do tamanho das partículas não influenciou os parâmetros analisados.

Caetano (2016) em avaliação de filmes de amido de mandioca incorporados de extratos de abobora e óleo essencial de orégano relatou para análise de cor, que as formulações que possuiram maior quantidade de extrato e óleo de orégano foram as que apresentaram maiores valores de ΔE e com isso os filmes mais escuros.

No entanto Yoshida e Antunes (2009) e Lúcio *et al.* (2011) verificaram que filmes emulsionados apresentaram uma diferença total de cor (ΔE) mais acentuada em relação ao filme padrão, relacionada à incorporação de lipídios e oléo essencial de orégano respectivamente, o que promoveu um aumento no parâmetro b* e uma redução nos parâmetros a* e L*, diferentedo que ocorreu no presente estudo para os parametros a e b, uma vez que a relação foi inversa.

5.5.2 Atividade Antioxidante dos filmes ativos

Os resultados da atividade antioxidante (AA) dos filmes pelos diferentes métodos e nas diferentes bases poliméricas estão apresentados nas Tabelas 25 e 26.

Tabela 25- Atividade antioxidante dos filmes biopoliméricos de acetato de celulose adicionados do EO em diferentes concentrações.

Filmes	FRAP(μmol Fe II/g)	ABTS (μmol TE/g)	DPPH (% de Inibição)
Filme Controle	32, 30±2,80c	4,00±1,873b	1,75±0,63d
Filme com 10%	117, 34±23,74bc	129,28±1,956a	28,48±1,83c
Filme com 15%	217, 44±10,13b	129,69±2,45a	52,87±3,22b
Filme com 20%	380, 62±28,11a	131,35±1,940ª	70,70±1,79ª

*Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma coluna para uma mesma base não diferem estatisticamente a 5 % de significância.

Verifica-se na Tabela 25 que a atividade antioxidante dos biofilmes de acetato de celulose variou significativamente ($p<0,05$) entre a amostra controle e os três tratamentos para todos os métodos. E que os tratamentos também variaram entre si a $p<0,05$, nos métodos de inibição do radical DPPH e FRAP, excetuando-se apenas no método ABTS. Além disso, foi possível constatar que à medida que se aumentava a concentração do extrato aplicado aumentava-se também a atividade antioxidante, ainda que esta não tenha sido significativa a 5% de probabilidade para ABTS, chegando a níveis de aproximadamente 12; 33 e 40 vezes maior que o controle quando comparados aos filmes de celulose com 20% de extrato, para os métodos FRAP, ABTS e DPPH, respectivamente.

Martelli *et al.* (2017) estudaram a preparação, caracterização, liberação *in vitro* e capacidade antioxidante de filmes comestíveis de carboximetilcelulose contendo a-tocoferol (TC) e uma mistura de polissorbato 80 (T80) e lecitina, e verificaram que os valores mais elevados de atividade antioxidante foram encontrados nos filmes que continham maiores proporções de lecitina e TC em comparação aos filmes contendo apenas T80. Eles afirmaram ainda, que isso ocorreu devido à lecitina adicionada às películas proprorcionar uma maior quantidade de liberação e estabilização de TC no meio.

Tabela 26- Atividades antioxidantes dos filmes biopoliméricos de amido com quitosana adicionados do EO em diferentes concentrações.

Filmes	FRAP(μmol Fe II/g)	ABTS (μmol TE/g)	DPPH (% de Inibição)
Filme Controle	453,48±5,51c	17,36±1,87c	19,36±1,10c
Filme com 20%	1770,53±12,9ab	85,59±1,96b	88,44±1,0a
Filme com 40%	2046,51±51,4ab	107,69±2,45a	88,37±0,11a
Filme com 60%	3807,34±52,8a	103,35±1,94a	82,63±0,42b

*Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma coluna para uma mesma base não diferem estatisticamente a 5 % de significância.

Nos biopolímeros à base de amido (Tabela 26), semelhante ao observado com os filmes de acetato, os tratamentos diferiram do controle e variaram entre si a $p<0,05$. No entanto, nota-se que foram obtidos maiores valores de atividade tanto para o controle como para os tratamentos. No filme controle, sugere-se que esse aumento ocorreu, devido a formulação conter 1 % de quitosana,sobre a qual diversos estudos têm reportado sua habilidade antioxidante (KANATT *et al*., 2008; FAI *et al.*, 2008), sobretudo no que diz respeito ao método FRAP, já que o mecanismo de ação antioxidante da quitosana é atribuído à sua capacidade de quelar íons metálicos, tais como o ferro, ligados às moléculas de hemoglobina e mioglobina, o qual age como catalisador da reação (FAI et al., 2008). Nos tratamentos com o EO, aliado à presença de quitosana, os filmes de amido possuíam maiores concentrações de EO quando comparados com os filmes a base de celulose.

Resultados semelhantes foram obtidos por Yen *et al.* (2008) que também observaram atividade antioxidante pelo método DPPH para a película controle de quitosana valores entre 7,44 – 22,4 %, bem como por Moradi *et al*. (2012), que avaliaram o efeito do OE de tomilho e extrato de semente de uva na atividade antioxidante de filmes de quitosana e perceberam que as películas que não foram suplementadas apresentaram uma AA de 12 %.

Ainda no que se refere aos biofilmes de amido, notou-se (Tabela 26) um aumento nas atividades com aumento da proporção do extrato em níveis de 9, 6 e 4 vezes para FRAP, ABTS e DPPH, respectivamente.

Todavia, para os métodos ABTS e DPPH as maiores inibições foram obtidas nos filmes que continham 40% do extrato, o qual conseguiu sequestrar até 88 % dos radicais livres. Apesar desse aumento, também foi verificado para os mesmos métodos que ocorreu uma diminuição quando foi incorporado 60% de extrato nesses filmes. Essa diminuição do teor antioxidante nos filmes com 60% de EO deve-se ao fato que o extrato em questão é rico em açúcares redutores e quanto maior sua quantidade, maior também o teor de açucares do meio, promovendo dessa forma a interação direta destes com os compostos bioativos, reduzindo com isso a atividade exibida pelo mesmo (SOUSA *et al.*, 2007).O mesmo resultado não foi constatado para o método FRAP, o qual exibiu os melhores valores e aumentou gradativamente.

A avaliação da atividade antioxidante de biofilmes de amido, quitosana e acetato de celulose, incorporados com diferentes óleos essenciais (OE) (orégano e cravo-da-índia) e a mistura entre eles foi realizada por Ugalde (2014), no entanto avaliando somente pelo método DPPH. Esse autor verificou que nos filmes de quitosana e acetato de celulose, os resultados

foram semelhantes, tendo em vista que ocorreu um aumento proporcional a quantidade OE aplicado, alcançando níveis em torno de 90 % de inibição nas maiores proporções dos OEs (5%), tanto aplicado isoladamente como combinados, com a diferença de que, nos de quitosana houve atividade antioxidante no tratamento controle. Os resultados desse autor corroboram com os obtidos no presente trabalho para os filmes de celulose, entretanto diferem para os de amido.

Bonilla *et al.* (2013) avaliando os efeitos da incorporação de compostos antioxidantes nas propriedades físico-químicas e antioxidantes de filmes de amido-quitosano de trigo, verificaram, assim como no presente estudo,que os filmes mostraram uma capacidade antioxidante mais baixa do que os compostos puros, uma vez que a sua fração de massa nos sólidos da película foi relativamente baixa e, ainda explicaram que uma possível oxidação durante a formação do filme e as interações com a matriz de película reduziram a capacidade esperada. Além disso, igualmente a este trabalho, esses autores também constataram que quanto maior o poder antioxidante do extrato puro, maior sua atividade nos filmes.

Genskowsky *et al*.(2015) avaliando as propriedades antibacterianas e antioxidantes de filmes comestíveis de quitosana incorporados com extratos de bagaço de maqui (*Aristotelia chilensis*) verificaram que os valores de atividade antioxidante para ABTS ($p < 0,05$) foram 2,06 e 2,80 mg TE / g de filme, quando adicionada concentrações de 0,5 e 1%, respectivamente. O mesmo comportamento ocorreu no ensaio Frap, já que houve aumento das propriedades antioxidantes das películas quando adicionado o extrato e que este aumento dependia da concentração utilizada, uma vez que foram encontradas diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

A avaliação da influência da incorporação de extratos (bagaço de uva) em filmes compostos apenas por quitosana também foi realizada por Ferreira *et al.* (2014), e semelhante a este estudo, eles perceberam que os filmes controle exibiram atividade antioxidante frente ao radical ABTS e que a incorporação de todos os extratos afetou positivamente as propriedades antioxidantes dos filmes em todos os métodos avaliados. Contudo, as percentagens de inibição verificadas por esses autores variaram de 5 - 36%, especialmente quando utilizados filmes com cera de extrato da casca e óleo da semente nos métodos DPPH e ABTS e filme com extrato aquoso no método FRAP, as quais foram inferiores às obtidas nesta pesquisa.

Não obstante a esses, outros autores também reportaram resultados inferiores aos do presente trabalho, como Hafza *et al.* (2016) que verificaram que a incorporação de óleo essencial de eucalipto em filmes de quitosana provocou um aumento de sequestro de radicais

DPPH quando comparados a filmes controle, e este variou de 23,03% a 43,62%,bem como por Moradi *et al.* (2012) que mostrou que filmes de quitosana incorporados com 1% e 2% de óleos essenciais de tomilho apresentaram inibição de 33,98% e 37,77% da atividade de DPPH.

De acordo com os trabalhos citados e mediante ao que foi verificado neste trabalho foi possível constatar que biofilmes que outrora não exibiam atividades antioxidantes, após a incorporação do extrato da farinha de jamelão passaram a ter esses compostos presentes, uma vez que as porcentagens de inibição aqui obtidas foram sempre iguais ou superior aos trabalhos referenciados, logo estes podem ser considerados então como biopolímeros antioxidantes. Além disso, verificou-se também que a capacidade antioxidante dos filmes, varia com a concentração do extrato aplicado e com o método de análise utilizado uma vez que foi possível perceber que o método FRAP foi o que exibiu maiores atividades, supostamente em virtude do extrato se encontrar em meio aquoso, o qual foi compatível com as reações utilizadas nesse método.

5.5.3 Atividade Antimicrobiana dos filmes ativos

Para avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes foram utilizadas somente as cepas de *S.aureus e L.monocytogenes*, tendo em vista que no teste *in vitro* dos extratos, os mesmos só foram efetivos contra essas bactérias, cujos resultados encontram-se na Tabela 27.

Tabela 27- Avaliação da atividade antibacteriana dos filmes de celulose e amido controle e adicionados do EO frente aos patógenos *S.aureus e L.monocytogenes*.

Base polimérica	Filmes	*S.aureus*	*L.monocytogenes*
Acetato de Celulose	Filme Controle	-	-
	Filme com 10%	-	-
	Filme com 15%	-	-
	Filme com 20%	-	-
Amido com Quitosana	Filme Controle	-	-
	Filme com 20%	+	-
	Filme com 40%	++	+
	Filme com 60%	++	++

(-) sem halo de inibição; (+) halos de inibição entre 10 - 12 mm; (++) halos de inibição > 14 mm

Na Tabela 27 podem ser vistos os resultados do teste de difusão em ágar para os filmes produzidos à base de acetato de celulose e amido com quitosana. Verifica-se que para os filmes de acetato, os resultados foram negativos, ou seja, não houve formação de halo de inibição frente a nenhuma das bactérias testadas, independentemente da concentração de extrato aplicado. Tais resultados podem ser explicados, em função da quantidade de extrato adicionado, ou até mesmo em virtude do polímero. Uma vez que, observou-se a alta

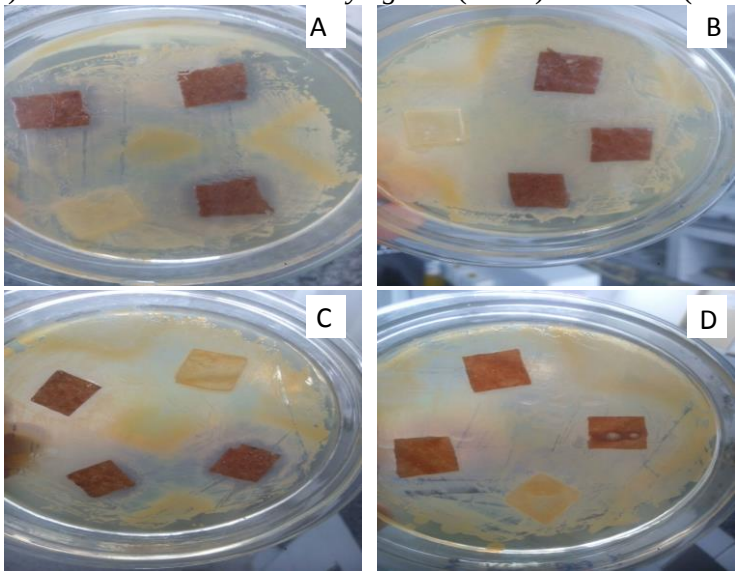
capacidade que este polímero possuiu de incorporar o extrato otimizado a ele adicionado. Sendo assim, associando este fato com o baixo desempenho obtido por estes filmes em comparação com os filmes de amido com quitosana, pode-se dizer que este polímero dificulta a difusão dos compostos bioativos para o ágar, não ocorrendo consequentemente inibição microbiana. Tal fato foi justificado por Cagri *et al.* (2001), que afirmaram que pode ocorrer uma interação entre grupamentos do polímero e dos compostos ativos do agente incorporado, reduzindo ou até mesmo impedindo a migração desses compostos para o sistema.

Ademais, outros fatores como a taxa de crescimento do microrganismo e a composição do ágar também podem influenciar na difusão do fator antimicrobiano (ALMEIDA *et al*., 2013)

Por outro lado, para os filmes de amido, foi constatada a formação do halo para as duas bactérias testadas quando utilizado o EO. Além disso, foi verificado que à medida que se aumentou a concentração do extrato,aumentou-se também os tamanhos dos halos de inibição, tendendo posteriormente a ficar constante quando se atingia um limite de concentração.

Ainda na Tabela 27, foi visto que, para a bactéria *L.monocytogenes* esse resultado só foi evidente a partir da incorporação de 40% do EO e os valores dos halos de inibição desses filmes frente a este microrganismo foi de 12 mm com 40 % do EO e de 15 mm com 60 % (Figura 32), de toda forma, essa inibição foi menor quando comparada as do microrganismo *S.aureus*, que foi de 12mm para incorporação de 20% de EO, e de (16- 17 mm) a partir da proporção de 40% (Figura 32). Dessa forma pode-se afirmar que *L.monocytogenes* se mostrou mais resistente e consequentemente esses filmes foram mais efetivos contra *S.aureus*.

Figura 32- Atividade antimicrobiana dos filmes de amido incorporados com 40% (B e D) e 60% (A e C) de extrato frente a *L.monocytogenes* (A e B) e *S.aureus* (C e D).



Fonte: Próprio Autor (2017)

.

Vale a pena ressaltar, que este é o primeiro estudo a avaliar a atividade antibacteriana de filmes comestíveis incorporados com extratos do pó da casca de jamelão. Contudo outros trabalhos já foram realizados com óleos essenciais e extratos de outras matrizes.

Ugalde (2014) em avaliação da atividade antibacteriana de filmes de amido, quitosana e celulose incorporados com diferentes óleos essenciais (OE) e a mistura entre eles frente à 6 bactérias diferentes, verificou que os filmes de amido de milho apresentaram halos maiores, na medida em que uma maior percentagem de OEs (5%) foi incorporada ao mesmo, para todas as bactérias testadas,especialmente quando utilizado o OE de orégano.

Em relação aos filmes de acetato de celulose esse autor também constatou que na concentração de 1 % dos OEs de cravo-da-índia, orégano e sua combinação binária 1:1, não houve formação de halo frente a nenhuma das bactérias testadas. E quando foi utilizada a concentração 2,5 %, o OE de orégano formou halos frente às bactérias *Micrococcus luteus*, *E. coli* e *Salmonella Cholerasuis*, não sendo observados halos para o OE de cravo-da-índia e combinações. Somente na concentração 5,0 % houve formação de halos para todas as bactérias testadas, nos OEs utilizadosAssim, os resultados desse autor corroboram com a presente pesquisa, tendo em vista que ele necessitou de uma maior porcentagem de OE para que fosse verificada inibição dos microrganismos nos filmes de celulose, enquanto que nos filmes de amido na menor proporção ele já verificou efeito positivo.

Todavia, Botre *et al.* (2010) em avaliação da atividade inibitória de filmes de celulose contendo 25 e 50 % de OE de orégano verificou que os mesmos foram efetivos contra *Penicillium sp. e S.aureus*, e conforme aumentava-se a concentração do óleo e o tempo de contato do filme com os microrganismos nas placas (cerca de 4 dias), aumentava também a inibição. Essa efetividade encontrada por esses autores para essa base, diferentemente dos resultados encontrados na presente pesquisa, pode ser explicada pela quantidade de OE utilizado e pela maior difusão dos compostos antimicrobianos presentes no filme em virtude do tempo.

Contraditoriamente a este trabalho, Araújo (2014) e Freitas (2015) em avaliação da atividade antimicrobiana de filmes de amido e zeina incorporados com extrato de própolis (EP) e extrato de casca de pinhão, respectivamente, verificaram que em todas as formulações de filmes produzidas, não houve halos de inibição frente à *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, e Freitas (2015) afirmou que isso ocorreu em virtude da concentração de EP utilizada.

Espitia *et al.* (2014), por sua vez, em estudo da otimização da produção de filmes comestíveis de base açaí- pectina incorporados com polifenóis de casca de maçã e OE de timol, verificaram zonas de inibição frente a *L.monocyotgenes* em todas as formulações utilizadas e perceberam que o aumento da concentração de ambos os antimicrobianos permitiu alta atividade antimicrobiana, especialmente para o OE de Timol, devido as frações voláteis contidas neste.

Por outro lado, Genskowsky *et al.* (2015) revelaram que a película comestível contendo apenas quitosana (controle) foram eficazes contra duas das oito bactérias testadas (*Shewanella putrefaciens e Pseudomonas fluorescens*) e no que se refere aos filmes com extrato de bagaço de maqui, estes mostraram efeito sobre 7 das 8 bactérias ensaiadas, sobre o qual ocorreu influência da concentração ($p < 0,05$), tendo em vista que as maiores halos foram obtidos obtidos quando utilizada a maior concentração do extrato e apenas a bactéria *Listeria innocua* mostrou resistência contra todos os filmes avaliados.

6 CONCLUSÃO

Em virtude do que foi proposto e mediante aos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- ✓ As diferentes amostras do jambolão (polpa, casca e casca em pó) apresentaram parâmetros físico–químicos variavéis entre si. E a secagem da casca, proporcionou um aumento nos valores de cinzas, lipídios, acidez e sólidos solúveis para nível sempre maior ou igual aos da polpa;
- ✓ A farinha da casca obteve tonalidade mais escura que as demais amostras, o que foi comprovado mediante analise colorimétrica, nos parâmetros L, b*e a*, uma vez que a mesma apresentou menor luminosidade e intensidade de cor amarela e maior intensidade de cor vermelha/azul;
- ✓ A casca do jambolão *in natura* ou em pó apresentou maiores teores de compostos bioativos (aproximadamente 10 vezes) quando comparados com a polpa, especialmente para os Compostos Fenólicos Totais (CFT), Flavonóides Totais (FT) e Antocianinas Monoméricas Totais (TMA), exceto para o teor de ácido ascórbico;
- ✓ A atividade antioxidante total mensurada pelos três metódos (ABTS+, DPPH E FRAP) evidenciou que a casca é maior fonte desses compostos comparada à polpa;
- ✓ As respostas (atividade antioxidante e antimicrobiana) do planejamento fatorial 3^2, cujas variáveis independentes foram: concentração de solvente e razão amostra: solvente, revelaram que o fator que mais influenciou nas mesmas foi à concentração do solvente etanol;
- ✓ Todos os ensaios produzidos com a farinha da casca conforme planejamento experimental apresentaram alta altividade antioxidante e exerceram atividade antimicrobiana frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*em todos os métodos avaliados;
- ✓ Apesar dos doze ensaios exibirem boas propriedades, na definição do melhor sistema extrator de compostos antioxidantes e antimicrobianos por meio da metodologia de superfície de resposta, foi verificado que os melhores resultados foram obtidos quando se empregou etanol 70% e razão 1:10;
- ✓ O extrato otimizado (EO) obtido pela condição citada anteriormente, demonstrou quantidades bastante consideráveis de antocianinas, compostos fenólicos, flavonóides e vitamina C nessa respectiva ordem;

✓ Em relação aos filmes, a adição do EO provocou uma redução na luminosidade da amostra e com isso uma diferença significativa de cor e apesar de não se ter verificado diferença estatística entre as diferentes proporções de EO, constatou-se que estas diferiram do controle em ambas as bases poliméricas;

✓ As atividades antioxidantes dos biofilmes variaram significativamente entre a amostra controle e os tratamentos com adição do EO para todos os métodos. E os tratamentos também variaram entre si para os métodos DPPH e FRAP, excetuando-se apenas para o método ABTS. Além disso, foi possível constatar que o aumento da atividade foi proporcional à concentração do extrato aplicado para as duas bases estudadas;

✓ Nos biopolímeros à base de amido, foram obtidos maiores valores de atividades antioxidantes em todas as amostras. Entretanto, nos filmes de celulose houve um maior aumento da atividade dos tratamentos quando comparados ao filme controle;

✓ Os biofilmes de acetato de celulose e de amido com quitosana incorporados com o EO da casca do jambolão em pó em diferentes proporções mostraram-se como alternativas viáveis na obtenção de biopolímeros antioxidantes;

✓ Os biopolímeros de celulose não apresentaram atividade antimicrobiana para nenhuma das bactérias independente do tratamento aplicado, enquanto que, os biofilmes de amido apresentaram efeitos inibitórios para *S.aureus* a partir de 20% do EO, e para *L.monocytogenes*a partir de 40 % de EO;

✓ Apenas os biofilmes de amido incorporados com o EO da casca do jambolão em pó com proporção igual ou superior a 40 %, podem ser considerados biopolímeros antimicrobianos;

✓ Logo, verifica-se que a casca do jambolão pode ser utilizada como alternativa viável para obtenção de extratos bioativos ricos em compostos antioxidantes e antimicrobianos, uma vez que no uso industrial esse subproduto certamente seria descartado. Além disso, pode-se dizer que a secagem a baixas temperaturas associada à otimização do processo de extração favorece a obtenção desses compostos, aumentando seus níveis. Com isso, o uso de extratos provenientes da casca seca do jambolão pode tornar matrizes outrora normais em ativas, especialmente no que diz respeito aos aspectos antioxidantes.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Aplicar outras concentrações do extrato nos filmes
- Analisar as propriedades físico-mecânicas dos filmes ativos
- Analisar as propriedades térmicas dos filmes ativos
- Aplicar os filmes ativos em um alimento e avaliar a vida de prateleira do mesmo por meio de análises físico-qumicas e microbiológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AABY, K., GRIMMER, S., HOLTUNG, L. Extraction of phenolic compounds from bilberry (Vaccinium myrtillus L.) press residue: Effects on phenolic composition and cell proliferation. **LWT - Food Science and Technology,** v. 54, n. 1, p. 257–264, 2013.

ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. **Journal of Food Engineering**, vol. 111: 343–350, 2012.

ACHARYYA, S.; PATRA, A.; BAG, P. K. Evaluation of antimicrobial activity of some medicinal plants against enteric bacteria with particular reference to multi-drug resistant *vibrio cholera*. **Trop J Pharm Res.,** v.8, p. 231-237, 2009.

AJILA, C. M., NAIDU, K. A., BHAT, S. G., PRASADA RAO, U. J. S. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 982−988, 2007.

AJILA, C. M.; AALAMI, M.; LEELAVATHI, K.; RAO, U. J. S. P. Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdan, v.11, n.1, p.219–224, 2010.

ALAM , M. D. N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, M.D. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal,** v. 21, p. 143–152, 2013.

ALBERTON, J. R.; RIBEIRO, A.; SACRAMENTO, L. V. S.; FRANCO, S. L. Caracterização farmacognóstica do jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels)**. Rev. Bras. Farmacog.**, v. 11, n.1, p. 37 - 50, 2001.

ALBOOFETILEH, M.; REZAEI, M.; HOSSEINI, H.; ABDOLLAHI, M. Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. **Food Control**, v. 36, p. 1-7, 2014.

ALBUQUERQUE, C., *Aproveitamento de resíduos traz ganhos econômicos ambientais*. Assessoria de Comunicação da Esalq, USP-Universidade de São Paulo SP, 2009.

ALENCAR, S. M. *Esalq desenvolve pesquisa para reduzir resíduos da agroindústria*, Agrosoft, Universidade Estadual de São Paulo – USP, São Paulo SP, Brasil, 2009.

ALMEIDA, G.W. R.; SOARES,N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; SOARES, R. F.; BOTTI, L. C. M.; MELO, N. R.;. In vitro antimicrobial efficiency of celullose based nanocomposites against food born pathogens. **Higiene Alimentar**, v. 27, p. 2058-2062, 2013.

ALONSO-SALCES,R.M.; GUYOT,S.; HERRERO, C.; BERRUETA, L. A.; DRILLEAU, J.F.; GALO, B.; VICENTE, F. Chemometric classification of Basque and French ciders bsed on their total polyphenol contents and CIELAB parameters. **Food Chemistry**, Easton, v.91, n.1, p.91-98, 2005.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz,** v. 66, p.1-9, 2007.

ANVISA – **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/embalagens.htm. Acesso em 11 de setembro de 2012.

AQIL, F.; GUPTA, A.; MUNAGALA, R.; JEYABALAN, J.; KAUSAR, H.; SHARMA, R.; SINGH, I. P.;GUPTA, R. C. Antioxidant and antiproliferative activities of anthocyanin/ ellagitannin-enriched extracts from *Syzygium cumini* L. (‘jamun’,the Indian Blackberry). **Nutr Cancer,** v. 64, n.3, p. 428–438, 2012.

ARAÚJO, A. L. M. **Polpa de jambolão (*syzygium cumini*) desidratada por liofilização e secagem em leito de jorro: caracterização físico-química e funcional e impacto da secagem**. Natal, RN: UFRN. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

ARAÚJO, G. K. P. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis de amido incorporados com extrato de própolis.** 2014. 43 p. (Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação do Curso Superior de Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Campo Mourão, 2014.

ARBOS, K.A.; STEVANI, P. C.; CASTANHA, R. DE F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga.**Rev. Ceres**, Viçosa, v. 60, n.2, p. 161-165, mar/abr, 2013.

ARCE, C.C.A. **Caracterización de peliculas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales.** 33 p.Trabajo de grado (Especialista 127 em Ciencia y Tecnología de Alimentos) – Departamento de Química – Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16.ed. AOAC, Washington, DC.

AUGUSTA, I. M. **Extração e secagem da casca de jambo vermelho (Syzygium malaccensis, (L.) Merryl et Perry) para obtenção de corante**. 137p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, 2011.

AYALA-ZAVALAA, J. F.; VEGA-VEGAA, V.; ROSAS-DOMÍNGUEZA, C.; PALAFOX-CARLOSA, H.; VILLA-RODRIGUEZA, J. A.; WASIM SIDDIQUIB, MD.; DÁVILA-AVIÑAA, J. E.; GONZÁLEZ-AGUILARA, G. A. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **FoodRes. Int.**, v. 44, p. 1866-1874, 2011.

AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: a review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.2, p. 240-246, 2012.

AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de Estabilidade de Alimentos**. 2 ed. Brasília, DF: Embrapa, Ed. Técnica, 2012.

AZIZ, N. A. A. ; WONG, L. M.; BHAT, R. ; CHENG, L. H. Evaluation of processed green and ripe mango peel and pulp flours (Mangifera indica var. Chokanan) in terms of chemical composition, antioxidant compounds and functional Properties. **Journal of Science Food of Agriculture**, London, v. 92, n. 92, p. 557–563, 2012.

BABU, R. P.; O'CONNOR, K.; SEERAM, R. Current progress on bio-based polymers and their future trends**. Prog. Biomaterials**, v. 2, p. 1–16, 2013.

BAG, A. et al. In vitro antibacterial potential of Eugenia jambolana seed extracts against multidrug-resistant human bacterial pathogens. **Microbiological Research**, v. 167, n. 6, p. 352-357, 2012.

BALIGA, M.S., BHAT, H.P., BALIGA, B.R.V., WILSON, R., PALATTY, P.L. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of Eugenia jambolana Lam. (black plum): a review. **Food Research International**, v.44, p. 1776–1789, 2011.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 15, p.2095-1779, 2015.

BALYAN, U.; SARKAR, B. Integrated membrane process for purification and concentration of aqueous *Syzygium cumini*(L.)seed extract.**Food and bioproducts processing**, v.98, p. 29–43, 2016.

BANERJEE, A., DASGUPTA, N., DE, B. In vitro study of antioxidant activity of Syzygium cumini fruit. **Food Chemistry**v. 90, p.727-733, 2005.

BARCIA, M. T**. Composição centesimal e de fitoquímicos em Jambolão (Syzygium cumini).** Dissertação (Mestrado) –Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. - Pelotas, 2009.

BARCIA, M. T.; PERTUZATTI, P. B.; JACQUES, A. C.; GODOY, H. T.; ZAMBIARI, R. Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Percent Composition of Jambolão Fruits (Syzygium cumini). **The Natural Products Journal**, Saif Zone, v. 2, n.2, p. 129-138, 2012.

BARRY, A.L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility tests: Diffusion Test Procedures. In: Balows A, Hauser WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shamody HJ 1991. **Manualof clinical microbiology.** 5.ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991. p. 1117-1125.

BASTOS , M. S. R.; LAURENTINO, L. S.; CANUTO, K.M.; MENDES, L.G.; MARTINS, C. M.; SILVA, S. M. F.; FURTADO, R. F.; KIM, S.; BISWAS, A.; CHENG, H.N. Physical and mechanical testing of essential oil-embedded cellulose ester films. **Polymer Testing**, v.49, p. 156-161, 2016.

BELWAL,T.; DHYANI,P.; BHATT, I.D.; RAWAL, R. S.; PANDE, V. Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in Berberis asiatica fruits using response surface methodology (RSM). **Food Chemistry**, v.207, p.115–124, 2016.

BENHERLAL, P.S. ; ARUMUGHAN, C.. Chemical composition and in vitro antioxidant studies on Syzygium cumini fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture** , v.87, n.14, p. 2560-2569, 2007.

BERGAMASCHI, K. B. **Capacidade Antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. 2010. 97p. Dissertação (Mestrado e Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura "Luiz Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

BERNARDI, S.; OETTERER, M.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J. Embutidos Cárneos: Melhoramento no valor nutritivo e aplicação de antioxidantes naturais. **Revista Nacional da carne,** São Paulo, v.32, n 378, p. 30-38, ago, 2008.

.

BEZERRA, M. F. **Polpa de jambolão (*Eugenia jambolana* Lam.) fresca e desidratada: características físico-químicas, bioativas e funcionais, efeitos biológicos em *Caenorhabditis elegans* e uso para produção de *frozen yogurt* caprino probiótico**. Natal, RN: UFRN. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do RioGrande do Norte, Natal, 2015.

BIEGELMEYER, R., ANDRADE, J. M. M., ABOY, A. L., APEL, M. A., DRESCH, R. R., MARIN, R., RASEIRA, M. C. B., & HENRIQUES, A. T. Comparative analysis of the chemical composition and antioxidant activity of red (Psidium cattleianum) and yellow (Psidium cattleianum var. lucidum) strawberry guava fruit. **Journal of Food Science**, v.76, p.991-996, 2011.

BIRBEN, E.; SAHINER, U.M.; SACKESEN, C.; ERZURUM, S.; KALAYCI, O. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organ J**, v. 5; n. 1, p. 9-19, 2012.

BODINI, R. B**. Desenvolvimento de filmes de desintegração oral incorporados com os extratos de erva baleeira (*Cordia verbenácea*) e cúrcuma (*Curcuma longa*)**. 2015. 170f. Tese de Doutorado- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de São Paulo, Pirassununga- SP, 2015.

BODINI, R. B.; SOBRAL, P. J. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; CARVALHO, R. A. Properties of gelatin-based films with added ethanol-propolis extract. **Food science and technology**, v. 51, n. 1, p. 104-110, 2013.

BONILLA, J.; TALÓN, E.; ATARÉS, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch–chitosan films.**Journal of Food Engineering**, v.118, p. 271–278, 2013.

BORGES, G. D. S. C; VIEIRA, F. G. K; COPETTI, C; GONZAGA, L. V; FETT, R. Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. **Food Research International**, v. 44, p. 708-715, 2011b.

BORGES, G. D. S. C; VIEIRA, F. G. K; COPETTI, C; GONZAGA, L.V; ZAMBIAZI, R. C; MANCINI-FILHO, J; FETT, R. Chemical characterization, bioactive compounds, and

antioxidant capacity of jussara (Euterpe edulis) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2128–2133, 2011a.

BORGES, K. C. Estudo das características físico-químicas e funcionalidade de bagaços de frutas tropicais desidratadas em leito de jorro. 156f. Dissertação. (Mestrado em Engenharia Química).Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 2011.

BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. M. de. **Antioxidantes princípios e métodos analíticos**. Curitiba: Appris, 2015. 1°ed.

BOTRE, D. A.; SOARES, N. F. F.; ESPITIA, P. J. P.; SOUSA, S. DE.; RENHE, I. R. T.Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Rev. Ceres,** v. 57, n.3, p. 283-291, 2010.

BRANCO, I.G.; MORAES, I.C.F.; ARGANDÕNA, E. J.S.; MADRONAD, G.S.; DOS SANTOS, C.; RUIZE, A.L.T.G.; DE CARVALHO, J.E.; HAMINIUK, C. W.I. Influence of pasteurization on antioxidant and in vitroanti-proliferative effects of jambolan (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) fruit pulp. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 225–230, 2016.

BRANDÃO, T. S. O.; SENA, A. R.; TESHIMA, E.; DAVID, J. M.; ASSIS, S.A. Alterações enzimáticas, compostos fenólicos, taninos e vitamina C em diferentes estádios de maturação do fruto Jamelão *(Syzygium cumini Lamark)*. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, Campinas, v. 31, n.4, p. 849-855, 2011.

BRITO, E, S.; ARAÚJO, M. C. P.; ALVES, R. E.; CARKEET, C. C.,;CLEVIDENCE, B.; NOVOTNY, J. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jambolão, jussara e guarabiju. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,v. 55, p. 9389-9394, 2007.

BUELGA, C. S.; SCALBERT, A. Proantocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **J. Sci. Food Agr.,**London, v. 80, p. 1094 - 1117, 2000.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foodsa review. **International Journal of Food Microbiology,** v.94, p.223-253, 2004.

CAETANO, K. S. **Utilização de amido, óleo de orégano e extrato de resíduo de abóbora para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Tecnologia de Alimentos). Universidade federal do rio grande do sul, Porto Alegre, 2016.

CAGRI, A.; USTUNOL, Z.; RYSER, E.T. Antimicrobial, mechanical, and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing p-aminobenzoic or sorbic acids. **Journal of Food Science**, vol. 66, n. 6, p. 865–870, 2001.

CAO, G.; ALESSIO, H. M.; CUTLER, R. G. Oxygen-radical absorbance capacity
CARPES, S. T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de Apis mellifera L. da região Sul do Brasil.** 2008. 255 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), UFPR, Curitiba, 2008.
CARVALHO, A. A.T.; SAMPAIO, M.C.C.; SAMPAIO, F.C. DE MELO, A.F.M. DE SENA, K.X.F.R.; CHIAPPETA, A. A.; HIGINO, J.S.Atividade Antimicrobiana in vitro de Extratos

Hidroalcoólicos de Psidium guajava L. sobre Bactérias Gram-Negativas.**Acta Farm. Bonaerense** , v.21 , n.4, p.255-8 , 2002.

CARVALHO, D. D. M.; TAKEUCHI, K. P.; GERALDINE, R. M.; MOURA, C.J. DE.; SILVEIRA, M. F. A. Filme ativo de acetato de celulose incorporado com nanosuspensão de curcumina. Polímeros [online]. In press. . Epub Jan 16, 2017. ISSN 0104-1428.Disponivel em :http://dx.doi.org/10.1590/0104-1428.2232.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P.. Compostos Fenólicos Simples e Heterocíclicos. In: SIMÕES, M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVIK, P. R.. **Farmacocnosia**: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. da UFSC, 2001.

CASARIN, F.; MENDES, C. E.; LOPES, T. J; MOURA, N. F. Experimental design of blackberry (Rubus sp.) drying process for production of flour enriched with bioactive compounds.**Brazilian Journal of food technology**, v. 19, p.2016-025, 2016.

CELLI, G. B., PEREIRA-NETTO, A. B., & BETA, T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidante activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (Eugenia uniflora L.) throughout the fruit developmental stages**. Food Research International**, v.44, p. 2442-2451. (2011).

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G. de; AUGUSTO O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CÉSPEDES, C.L.; EL-HAFIDI, M.; PAVON, N.; ALARCON, J. Antioxidant and cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry Aristotelia chilensis (Elaeocarpaceae), Maqui. **Food Chemistry**, v.107, p.820- 829, 2008.

CHAGAS, V.T.; FRANÇA, L.M.; MALIK, S.; PAES, A.M.A. Syzygium cumini (L.) skeels: a prominent source of bioactive molecules against cardiometabolic diseases. **Front. Pharmacol**., v. 6, p.259, 2015.

CHANIOTI, S.; TZIA, C. Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from olive pomace using response surface technology: Oil recovery, unsaponifiable matter, total phenol content and antioxidant activity.**LWT - Food Science and Technology,** v.79, p.178- 189, 2017.

CHEN, CHENG-PEI; WANG, BE-JEN; WENG, YIH-MING. Physiochemical andantimicrobial properties of edible aloe⁄gelatin composite films**. International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.45, p.1050–1055, 2010.

CHENG V. J., BEKHIT A. E.-D. A., MCCONNELL M., MROS S., ZHAO J. Effect of extraction solvent, waste fraction and grape variety on the antimicrobial and antioxidant activities of extracts from wine residue from cool climate. **Food Chemistry**, v.134, n.1, p.474–482, 2012.

CHITARRA, M.I.F e CHITARRA, A.B. (2005).**Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª Ed. Lavras, UFLA.

CHOWDHUR, P.; RAY, R. C. Fermentation of jamun (Sysgium cumini L.) fruits to form red wine. ASEAN Food Journal, v. 14, n. 1, p. 15-23, 2007.

CLARKE, D.; MOLINARO, S.; TYUFTIN, A.; BOLTON, D.; FANNING, S.; KERRY, J.P. Incorporation of commercially-derived antimicrobials into gelatin based films and assessment of their antimicrobial activity and impact on physical film properties. **Food Contro**l, v. 64, p. 202-211, 2016.

CLSI, **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**; Approved Standard—Eleventh Edition. CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2012a.

CLSI. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-First informational supplement.** CLSI document M100-S21, Vol. 31, nº 1, replaces M100-S20 and M100-S20-U, Vol.30, nº.1 and Vol. 30, nº.15. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2011.

COELHO, E.M., AZEVEDO, L.C. Comparação entre técnicas de secagem para obtenção de farinha a partir da casca de manga cv. Tommy Atkins; **VII CONNEPI**, 2012.

COELHO, L. M.; WOSIACKI, G. Avaliação sensorial de produtos panificados com adição de farinha de bagaço de maçã. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 3, p. 582- 588, 2010.

COMA, V. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. **Meat Science**, v.78, p. 90–103, 2008.

CONSTANCIO, V. S., **Efeito da jabuticaba (Myrciaria cauliflora), do fruto da palmeira juçara (Euterpe edulis Martius) e do jambolão (Syzygium cumini) sobre o perfil lipídico, a glicemia e a endotoxemia em camundongos submetidos à dieta de cafeteria**. 84 f. 2015. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre- ES, 2015.

CONTINI, C.; ÁLVAREZ, R.; O'SULLIVANA, M.; DOWLING, D. P.; ÓG GARGAN, S.; MONAHAN, F. J. Effect of an active packaging with citrus extract on lipid oxidation and sensory quality of cooked turkey meat. **Meat Science**, v.96, p. 1171–1176, 2014.

CORREIA, R. T. P.; BORGES, K.C.; MEDEIROS, M. F.; GENOVESE, M. I. Bioactive compounds and phenolic –linked functionality of powdered tropical fruit residues. **Food Science and Technology**, v. 18, n. 6, p. 539-547, 2012.

COSTA, A. M. ; SOARES, F. L.; ROQUE-SPECHT, V. F.; BARBOSA-SILVA, D.; LIMA, H. C.; DINIZ, J. D. A.S.**Estabilidade de antioxidantes na farinha de araticum processada a diferentes temperaturas.** In : XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura, RS, 2012.

COSTA, J.; FELIPE, E.; MAIA, G.; HERNANDEZ, F.; BRASIL, I. Production and characterization of the cashew palle *(Anacardium occidentale L.)* and Guava *(Psidium Guajava L*) fruit powders. **Journal of Food Processing and Preservation,** v. 33, p. 299-312, 2009.

COSTA, S. S. **Filmes de fécula de mandioca e glicerol,reforçados com nanocelulose e ativados comprópolis vermelha**. 2013. Dissertação. (Mestrado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

CROZIER, A., JAGANATH, I. B., & CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Products Report**, v.26, p.1001-1043, 2009.

CRUZ-ROMERO, M. C.; KELLY, A. L.; KERRY, J. P. Effects of high-pressure and heat treatments on physical and biochemical characteristics of oysters (Crassostrea gigas). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.8, n.1, p.30-38, 2007.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In: Rooney, M.L. **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, 1995. p. 111- 142.

DAS, A. K.; RAJKUMAR, V.; VERMA, A. K.; SWARUP, D. Moringa oleifera leaves extract: a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in cooked goat meat patties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.47, p.585–591. 2012.

DAS, K.; TIWARI, R.K.S.; SHRIVASTAVA, D.K. Techniques for the evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. **Journal of Medicinal Plant Research,** v. 4, n.2, p. 104–111, 2010.

DAWIDOWICZ, A.L.; WIANOWSKA, D.; OLSZOWY, M. On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH_method (Problems in estimation of antioxidant activity). **Food Chemistry**, vol. 131, p. 1037–1043, 2012.

DAWSON, P.L.; HIRT, D.E.; RIECK, J.R.; ACTON, J.C.; SOTTHIBANDHU, A. Nisin release from films is affected by both protein type and film-forming method. **Food Research International**, v.36, p.959-968, 2003.

DECKER, E. A., ELIAS, R. J., MCCLEMENTS, D. J. **Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications**. Oxford: Woodhead Publishing. (2010).

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidante de compostos fenólicos. **VisãoAcadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DENG, J.; CHENG, W.; YANG, G. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. **Food Chemistry**, vol. 125, p. 1430–1435, 2011.

DEOLIVEIRA, G.F.; FURTADO, N. A. J. C.; DASILVA-FILHO, A. A.; MARTINS, C. H. G.; BASTOS, J. K.; CUNHA, W. R. Antimicrobial activity of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) leaves extract. **Braz J. Microb.,** v.38, p. 381-384, 2007.

DEVATKAL, S. K. NARSAIAH, K.; BORAH, A. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powder in cooked goat meat patties. **Meat Science**, v.85, p. 155–159, 2010.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2 ed. São Paulo: Ed. UNESP, 2002. p. 323 - 324.

DJERIDANE, A., HAMDI, A., BENSANIA, W., CHEIFA, K., LAKHDARI, I., & YOUSFI, M. The in vitro evaluation of antioxidative activity, α-glucosidase and α-amylase enzyme 54 inhibitory of natural phenolic extracts. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. (2013). In Press. http://dx.doi.org/10.1016/j.dsx.2013.10.007.

DONG-PING, X. JIE, Z.; YUE, Z.; YA, L.; SHA, L.; HUA-BIN, L. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of Limonium sinuatum: Optimization and comparison with conventional methods. **Food Chemistry**, v. 217, p. 552–559, 2017.

DORMAN, H. J.D.; PELTOKETO, A.; HILTUNEN, R.; TIKKANEN, M. J. Characterisation of the antioxidant properties of deodourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. **Food Chemistry**, v.83, p.255–262., 2003.

DUZZIONI, A. G., LENTON, V. M., SILVA, D. I. S.; BARROZO, M. A. S. Effect of drying kinetics on main bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (Malpighia Área temática: Engenharia e Tecnologia de Alimentos 7 emarginata D.C.) residue. **International Journal of Food Science & Techonology**, v. 48, p.1041-1047, 2013.

EIBOND, L. S. et al., Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**., v. 84, n. 1, p. 23. 2004.

EICHHOLZ, I.; HUYSKENS-KEIL, S.; KELLER, A.; ULRICH, D.; KROH, L. W.; ROHN, S. UV-B-induced changes of volatile metabolites and phenolic compounds in blueberries (*Vaccinium corymbosum L.*). **Food Chemistry**, Kidlington, v. 126, n. 1, p. 60-64, 2011.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review.**Journal of functional foods**, v.18, p. 811–819, 2015.

ESPITIA, P. J. P.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; DU, W.X.; TEÓFILO, R.F.; SOARES, N.F.F. MCHUGH, T. M. Optimal antimicrobial formulation and physical–mechanical properties of edible films based on açaí and pectin for food preservation.**Food packaging and shelf life**, v. 2, p. 38 –49, 2014.

FAI, A.E.C.; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L.M. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, vol.9, n. 5, p. 435-451, 2008.

FALEIRO, M. L. The mode of antibacterial action of essential oils. Science **Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances**, v.2, p. 1143-1156, 2011.

FALLER, M.A.P.; SHEEHAN, D.J.; REX, J.H. Determination of Fungicidal Activities against Yeasts and Molds M : Lessons Learned from Bactericidal Testing and the Need for Standardization, **Clin. Microbiol. Rev**, v.17, p.268–280, 2004.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry,**v. 126, p. 1571-1578, 2011.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E., CARVAJAL-LÉRIDA, I., JARÉN-GALÁN, M., GARRIDO FERNÁNDEZ, J., PÉREZ-GÁLVEZ, A., HORNERO-MÉNDEZ, D. Carotenoids bioavailability from foods: from plant pigments to efficient biological activities. **Food Research International,** v. 46, n. 2, p. 438- 450, 2012.

FERREIRA, A. S.; NUNES, C.; CASTRO, A.; FERREIRA, P.; COIMBRA, M. A. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosanfilms properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 490–499, 2014.

FRACASSETTI, D; COSTA, C; MOULAY, L; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v. 139, p. 578–588, 2013.

FREITAS, T. B. **Produção e caracterização de filmes de zeína adicionados de casca e extrato da casca de pinhão**. 34 f. Trabalho de conclusão de curso – Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2015.

FREITAS, T. B. **Produção e caracterização de filmes de zeína adicionados de casca e extrato da casca de pinhão**. 34 f. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2015.

FUJITA, A.; BORGES, K.; CORREIA, R.; FRANCO, R. D. G. DE M.; GENOVESE, M. I.Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (Myrciaria dubia Mc. Vaugh). **Food Research International,** v.54, p.495–500, 2013.

GARDUSI, F.; MENDES, L. G.; NOGUEIRA, G. D. R; SILVA, D. I. S.; BARROZO3, M. A. S.Secagem da casca da mexirica por irradiação infravermelha e comparação dos compostos bioativos desta *in natura* e após a secagem. **Blucher Chemical Engineering** Proceedings, v.1, n.1, 2014.

GELINSKI, J. M. L. N.; ROSA, J. C. D.; DUQUESNE, E. F. A. P.; BARATO, C. M. Atividade antibacteriana do óleo essencial de Bacchris dracunculifolia DC. E de seu composto ativo nerolidol em combinação ao EDTA ou lisozima. **Evidênica**, v. 7, n. 2, p. 131-144, 2007.

GENSKOWSKY, E. ; PUENTE, L.A.; PEREZ-ALVAREZ, J.A.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; MUNOZ, L.A. ; VIUDA-MARTOS, M.. Assessment of antibacterial and antioxidantproperties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (Aristotelia chilensis).**LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p.1057-1062, 2015.

GEORGE, S.; BRAT, P.; AMIOT, M. J.; Rapid determination poliphenols and vitamin C in plant derived products. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.5, p.1370-1373, 2005.

GIUSTI, M., WROLSTAD, R.E., 2001. **Characterization and measurement of Anthocyanins by UV–visible spectroscopy.** In: Wrolstad, R.E. (Ed.), Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, New York.

GONÇALVES, A. E. S. S., LAJOLO, F. M., & GENOVESE, M. I. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 4666-4674, 2010.

GONZÁLEZ, A.; IGARZABAL, C. I. Soy protein – Poly (lactic acid) bilayer films as biodegradable material for active food packaging. **Food Hydrocoll,** v. 33, p. 289–296, 2013.

GONZÁLEZ, A.; TÁRTARA, L.I.; PALMA, S.D.; IGARZABAL, C.I. Crosslinked soy protein films and their application as ophthalmic drug delivery system. **Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.**, v. 51, p. 73–79, 2015.

GORDON, André; JUNGFER, Elvira; SILVA, Bruno Alexandre da; MAIA, José Guilherme S. e MARX, Friedhelm. Phenolic Constituents and Antioxidant Capacity of Four Underutilized Fruits from the Amazon Region. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 59, p. 7688–7699, 2011.

GRANADA, G. G.; ZAMBIAZI, R. C.; MENDONÇA, C. R. B. Abacaxi: produção, mercado e subprodutos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 405-422, 2004.

GUEDES, A. R. **Levantamento do Potencial Antioxidante e Antimicrobiano de Frutas Nativas da Mata Atlântica no Estado do Paraná.** 2012. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2012.

GÜLÇIN, I.; ELMASTAS, M.; ABOUL-ENEIN, H.Y. Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source. **Arabian Journal of Chemistry**, vol. 5, p. 489–499, 2012.

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

HAN, J.H. Antimicrobial packaging systems. In: Han JH (Ed.) **Innovations in food packaging**. Baltimore, Elsevier Science & Technology Books. 2005, p. 80-107.

HAN, R. M.; TIAN, Y. X.; LIU, Y.; CHEN, C. H.; AI, X. C.; ZHANG, J. P.; SKIBSTED, L. H. Comparison of flavonoids and isoflavonoids as antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 3780–3785, 2009.
HAUSER, C.; WUNDERLICH, J. Antimicrobial packaging films with a sorbic acid based coating. **Procedia Food Science**, v.1, p. 197-202, 2011.

HAYAT, K.; HUSSAIN, S.; ABBAS, S. ; FAROOQ, U.; DING, B.; XIA, S. ; JIA, C.; ZHANG, X. ; XIA, W. Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro, **Sep. Purif.Technol., v.**70, p. 63–70, 2009.

HUANG, B., HE, J., BAN, X., ZENG, H., YAO, X., & WANG, Y. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts fromedible lotus (Nelumbo nucifera) rhizome knot and leaf. **Meat Science**, v.87, p. 46–53, 2011.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food chemistry,** v.53, p.1981-1856, 2005.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** v. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*, 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

INFANTE, J.; SELANI, M. M.; TOLEDO, N. M. V.;SILVEIRA-DINIZ, M. F.; ALENCAR, S. M.; SPOTO, M. H. F. Antioxidant activity of agroindustrial residues from tropical fruits. **Alim. Nutr. Braz. J. Food Nutr.,**Araraquara, v. 24, n. 1, p. 87-91, 2013.

IOANNOU, I., HAFSA, I., HAMDI, S., CHARBONNEL, C., GHOUL, M. of theeffects of food processing and formulation on flavonol and anthocyaninbehavior. **J. Food Eng**., v.111, p. 208–217, 2012.

JAE-HYUN, K.; SUNA, K.; BOKYUNG, M. Optimization by response surface methodology of lutein recovery from paprika leaves using accelerated solvent extraction. **Food Chem**., v. 205, p. 140–145, 2016.

JAMPANI, C; NAIK, A; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Purification of anthocyanins from jamun (Syzygium cumini L.) employing adsorption. **Separation and Purification Technology**. v. 125, p. 170–178, 2014.

JIMENEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. **Food Hydrocolloids**, v.26, n.1, p.302-310, 2012.

JING-EN, L.; SONG-TAO, F.; ZENG-HUI, Q.; CHANG, L.; SHAO-PING, N. Total flavonoids content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru.**LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p.1022-1027, 2015.

JORGE, F. C.; BRITO, P.; PEPINO, L.; PORTUGAL, A.; GIL, H.; DA COSTA, R. P. Aplicações para as Cascas de Árvores e para os Extractos Taninosos: Uma Revisão. **Silva Lusitana**,v. 9, n.2, p. 225 - 236, 2001.

JORGENSEN, J.H.; FERRARO, M.J. Antimicrobial Susceptibility Testing: a review of General Principles and Contemporary Practices, **Clin. Infect. Dis**., v. 49, p. 1749–1755, 2009.

KAMILOGLU, S.; PASLI, A. A.; OZCELIK, B.; CAPANOGLU, E. Evaluation the *in vitro* bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity during consumption of dried fruits with nuts. **LWT- Food Science and Technology**, v. 56, n.2, p. 284-289, 2014.

KANATT, S.R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Chitosan and mint mixture: A new

KANERIA, M.; BARAVALIA, Y.; VAGHASIYA, Y.; CHANDA, S. Determination of Antibacterial and Antioxidant Potential of Some Medicinal Plants from Saurashtra Region, India. **Indian J Pharm Sci**, v.71, n.4, p.406–412, 2009.

KAPOOR S.; RANOTE, P S. Antioxidant Potentials and Quality of Blended Pear-Jamun(*Syzygium cumini L.*) Juice.**International Research Journal of Biological Sciences**, v. 4, n.4, p. 30-37, 2015.

KAPOOR, S.; RANOTE, P.S. Antioxidant components and physico-chemical characteristics of jamun powder supplemented pear juice. **J Food Sci Technol**, v.53, n.5, p. 2307–2316, 2016.

KAPOOR, S.; RANOTE, P.S.; SHARMA, S. Antioxidant potentials and quality aspects of *Jamun* (*Syzygium cumini* L.) supplemented unleavened flat bread (*Indian chapatti*).**Journal of Applied and Natural Science**, v.7, n.1, p. 309 – 315, 2015.

KARAMAN, İ.; ŞAHIN, F.; GÜLLÜCE, M.; ÖĞÜTÇÜ, H.; ŞENGÜL, M.; ADIGÜZEL, A. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. **J Ethnopharmacol**, v.85, p. 231-235, 2003.

KARRE, L.; LOPEZ, K.; GETTY, K. J. K. Natural antioxidants in meat and poultry products. **Meat Science**, v.94, p. 220–227, 2013.

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

KERRY, J. P. New packaging technologies, materials and formats for fast-moving consumer products. In J. H. Han (Ed.), **Innovations in food packaging,**2nd ed., San Diego, USA: Academic Press., 2014, p. 549–584.

KERRY, J.P.; O'GRADY, M.N.; HOGAN, S. A. Past, current and potential utilisation of active and intelligient packaging systems for meat and muscle-based products: A review. **Meat Science**, v.74, p.113–130, 2006.

KOES, R. E.; QUATTROCCHIO, F.; MOL, J. N. M. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. **Bioessays**, v. 16, p. 123-132, 1994.
KUBOLA, J.; SIRIAMORNPUN, S.; MEESO, N. Phytochemicals, vitamina C and sugar content of Thai wild fruits. **Food Chemistry**, p.972-981, 2011.

KUPLENNIK, N.; TCHOUDAKOV, R.; ZELAS, Z. B.B.; SADOVSKI, A.; FISHMAN, A. NARKIS, M. Antimicrobial packaging based on linear low density polyethylene compounded with potassium sorbate. **LWT - Food Science and Technology,** v.62, p. 278- 286, 2015.

KUSKOSKI, E. M. ASUERO, A. G.; GARCÍA-PARILLA, C. M.; TRONCOSO, A. M.; FETT, R. Actividade antioxidante de pigmentos antociànicos. **CiencTecnol Aliment**, v. 24, n. 4, p. 691-693, 2004.

KUSKOSKI, E. M; ASUERO, A. G; MORALES, M. T; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, jul-ago, 2006.

LAGO, E.S.; GOMES, E.; SILVA, R. Produção de geléia de jambolão (*Syzygium cumini Lamarck*): Processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, p. 847-852, 2006.

LAPORNIK, B.; PROŠEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extract prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, London, v. 71, p. 214-501, 2005.

LEE, C.H.; AN, D.S.; LEE, S.C.; PARK, H.J.; LEE, D.S. A coating for use as an antimicrobial and antioxidative packaging material incorporating nisin and á-tocopherol. **Journal of Food Engineering**, v.62, p.323-329, 2004.

LEE, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of Pigment Analyses in Cranberries. **HortScience,** Stanford, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.

LEE, D.S. Packaging containing natural antimicrobial or antioxidant agents. In: Han JH (Ed.) **Innovations in food packaging**. Baltimore, Elsevier Science and Technology Books, 2005, p. 108-123.

LETERME, P.; BULDGEN, A.; ESTRADA, F.;. LONDOÑO, A. M. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. **Food Chemistry**, v.95, n.4, p. 644–652, 2006.

LI, C.; FENG, J.; HUANG, W. Y.; AN, X. T. Composition of polyphenols and antioxidant activity of rabbiteye blueberry (Vaccinium ashei) in Nanjing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, n.3, p. 523-531, 2013.

LI, L.; ADAMS, L. S.; CHEN, S.; KILLIAN, C.; AHMED, A.; SEERAM, N. P. Eugenia jambolana Lam. berry extract inhibits growth and induces apoptosis of human breast cancer but not non-tumorigenic breast cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57, p. 826−831, 2009.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in enzymology**, San Diego, v. 148, p. 362-385, 1987.
LOPES, R. M. et al. Flavonóides. **Revista Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**. São Paulo, v. 17, p. 18-22, 2000.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade.**R. Bras. Agrociência**, Pelotas, v.13, n.3, p. 291-297, 2007.

LOPEZ, M. R. R.; DIAZ, P. O.; PEREZ, L. A. B.; TOVAR, J.; NICANOR, A. B. Fiber concentrate from orange (Citrus sinensis L.) bagase: Characterization and application as bakery product ingredient. **International journal of molecular sciences**, Basel, v. 12, n. 4, p. 2174-2186, 2011.

LU, Y.; YEAP, F. L. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace-vegetable. **Food Chemistry**, Barking, v. 68, n. 1, p. 81-85, 2000.

LÚCIO, L.M. de F.; SILVEIRA, M.F.A.; GERALDINE, R.M.; TAKEUCHI, K.P.; TORRES, M.C.L.; MOURA, C.J. de. Uso de filmes ativos antimicrobianos incorporados com óleo essencial de orégano (O*riganum vulgare* l.) na conservação de massa fresca. **Anais:** 63a Reunião Anual da SBPC. Goiânia: UFG. 2011.

MACHADO, H.; NAGEM, T.J.; PETERS, V.M.; FONSECA, C.S.; OLIVEIRA, T.T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia Reprodução**, UFJF, v. 26, p. 33-39, 2008.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Total phenolics and anthocyanins in grape juice. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** , Campinas, v. 25, n. 4, 2005.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MANETTI, L.M.; TURRA, A.F.; TAKEMURA, O.S.; SVIDZINSKI, T.I.E.; LAVERDE JUNIOR, A. Avaliação das atividades antimicrobiana, citotóxica, moluscicida e antioxidante de Bromelia antiacantha Bertol. (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.12, p. 406-413, 2010.

MARAN, J. P.; SIVAKUMAR, V. ; THIRUGNANASAMBANDHAM, K.; SRIDHAR, R. Extraction, Multi-response Analysis, and Optimization of Biologically Active Phenolic Compounds from the Pulp of Indian Jamun Fruit. **Food Sci. Biotechnol**., v. 23, n.1, p. 9-14 2014.

MARQUETTI, C. **Desenvolvimento e obtenção de farinha de casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) para adição em biscoito tipo *cookie***. 2014. 116f.Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Tecnologia de Alimentos) -Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2014.

MARTELLI, S. M.; MOTTA, C.; CAON, T.; ALBERTON, J.; BELLETTINI, I. C.; PRADO, A. C. P.; BARRETO, P. L. M.; SOLDI,V. Edible carboxymethyl cellulose films containing natural antioxidant and surfactants: a-tocopherol stability, in vitro release and film properties.**LWT - Food Science and Technology**, v. 77 p.21-29, 2017.

MARTIN, J. G. P. **Atividade Antimicrobiana de produtos naturais: erva-mate e resíduos agroindustriais.** 100f. Dissertação. (Mestrado em Ciências). Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2011.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J. M. TUÑÓN, M.ª J. Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria.** v. 17, n. 6, p. 271-278, 2002**.**

MATOS, A.T. **Tratamento de resíduos Agroindustriais.** Fundação Estadual do Meio Ambiente, 2005.

MATTIETTO, R. A., LOPES, A. S., MENEZES, H. C. Physical and physicochemical characterization of caja fruit (*Spondias mombin L.*) and its pulp, obtained using two types of extractor. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 156–164, 2010.

MEDA, A.; LAMIEN, C. E.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOULMA, O. G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity.**Food Chemistry, v.** 91, p. 571–577, 2005.

MEHDIZADEH, T.; TAJIK, H.; ROHANI, S.M.R.; OROMIEHIE, A.R. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *Thymus kotschyanus* essential oil. **Veterinary Research Forum**, vol. 3, n. 3, p. 167 – 173, 2012.

MELO, A.A.M. **Efeito de filme ativo incorporado com óleo essencial de alecrim (Rosmarinus Officinalis L.) na conservação de carne de frango resfriada**. 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Goias , Goiania, 2010.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; SANTANA, A. P. M. Capacidade antioxidante de hortaliças submetidas a tratamento térmico. **Nutrire*:* revista da Sociedade Brasileira de Alimentos e Nutrição.** São Paulo, SP, v. 34, n. 1, p. 85-95, 2009.

MEZZOMO, N.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus pérsica*) almond oil: Kinetics, mathematical modeling and scale-up. **J. of Supercritical Fluids**, v. 51, p. 10-6, 2009.

MIGLIATO, K. F.; Mello, J. C. P.; Higa, O. Z.; Rodas, A. C. D.; Correa, M. A.; MendesGiannini, M. J. S.; Fusco-Almeida, A. M.; Pizzolitto, A. C.; Salgado, H. R. N. Antimicrobial and cytotoxic activity of fruit extract from *Syzygium cumini* Skeels. **Latim American Journal of Pharmacy.** n. 29, p. 725–730, 2010.
MIGLIATO, K. F.; MOREIRA, R. R. D.; MELLO, J. C. P.; et al. (2007). Controle da qualidade do fruto de Syzygium cumini (L.) Skeels. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 94-101.

MIN, S.; KROCHTA, J.M. Ascorbic acid-containing whey protein film coatings for control of oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p.2964-2969, 2007.

MOHAMED, A. A.; ALI, S. I.; EL-BAZ, F. K. Antioxidant and antibacterial activitiesof crude extracts and essential oils of *Syzygium cumini* leaves. **PlosOne**, v.8, n.4, 2013.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v.28, p.892-896, 2005.

MONTERO-PRADO, P.; RODRIGUEZ-LAFUENTE, A.; NERIN, C. Active label-based packaging to extend the shelf-life of "Calanda" peach fruit: changes in fruit quality and enzymatic activity. **Postharvest Biology and Technology**, v.60, n.3, pp. 211–219, 2011.

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

MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C.; ZUCOLOTTO, V. Development of a cellulose based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. **Journal of Food Engineering**, v.109, p.520-524, 2012.

MÜLLER, C.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. Evaluation of effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 82-87, 2008.

MUSIALIK, M.; KUZMICZ, R.; PAWŁOWSKI, T. S.; LITWINIENKO, G. Acidity of hydroxyl groups: An overlooked influence on antiradical properties of flavonoids.**Journal of Organic Chemistry**, v.74, p. 2699–2709, 2009.

MUSSI, L. P. **Secagem do resíduo de jambolão em leito de jorro**. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2014.

MUSSI, L. P; GUIMARÃES, A. O; FERREIRA, K. S; PEREIRA, N. R. Spouted bed drying of jambolão (*Syzygium cumini*) residue: Drying kinetics and effect on the antioxidant activity, anthocyanins and nutrients contentes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, p. 80-88, 2015.

NACZK M, SHAHIDI F. Extraction and analysis of phenolics in food. **J ChromatogrA**; v. 1054 (1/2): p. 95-111, 2004.

NERÍN, C.; TOVAR, L.; DJENANE, D.; CAMO, J.; SALAFRANCA, J.; BELTRAN, J.A.; RONCALÉS, P. Stabilization of beef meat by a new active packaging containing natural antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p. 7840-7846, 2006.
NIJS, A.; CARTUYVELS, R.; MEWIS, A. Comparison and Evaluation of Osiris and Sirscan 2000 Antimicrobial Susceptibility Systems in the Clinical Microbiology Laboratory, **J. Clin. Microbiol.** v.41, p. 3627–3630, 2003.

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

OJAGH, S.M.; REZAEI, M.; RAZAVI, S.H; HOSSEINI, S.M. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. **Food Chemistry**, vol. 120, p. 193–198, 2010.

OLIVEIRA, A.C. de; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; SILA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; TERVISAN, M.T.S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, vol. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, L. M.; OLIVEIRA, P. A. P. L. V. Revisão: Principais agentes antimicrobianos utilizados em embalagens plásticas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.7, p.161-165, 2004.

OLIVEIRA, M.S.; DORS, G. C.; SOUZA-SOARES, L. A.; BADIALE-FURLONG**,** E. Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.18, n.3, p. 267-275, 2007.

OSZMIANSKI, J.; WOJDYLO, A.; LAMER-ZARAWSKA, E.; SWIADER, K.; Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. **Food Chem**, v.100, n.2, p. 579-83, 2007.

OTONI, C. G.; SOARES, N.F.F.; SILVA, W.A.; MEDEIROS, E.A.A.; BAFFA- JUNIOR, J.C. Use of allyl isothiocyanate-containing sachets to reduce Aspergillus flavus sporulation in peanuts. **Packaging Technology and Science**, v.27, n.7, p. 549–558, 2014.

OUCHEMOUKH, S.; HACHOUD, S.; BOUDRAHAM, H.; MOKRANI, A.; LOUAILECHE, H. Antioxidant activities os some dried fruits consumed in Algeria. LWT-**Food Science and Technology**, v. 49, p. 329-332, 2012.

PACHECO, S.M. **Frutos da família *Myrtaceae*: Caracterização físico-química e potencial inibitório da atividade das enzimas digestivas**. 2015. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) –Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

PALAFOX-CARLOS, H.; GIL-CHÁVEZ, J.; SOTELO-MUNDO, R.R.; NAMIESNIK, J., GORINSTEIN, S.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A. Antioxidant interactions between major phenoliccompounds found in 'Ataulfo' mango pulp: chlorogenic, gallic protocatechuicand vanillic acids. **Molecules, v.**17, p. 12657–12664, 2012.

PATHARE, P. B; OPARA, U. L; AL-SAID, F. A-J. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 36–60, 2013.

PAUL, D. K.; SHAHA, R. K. Nutrients, vitamins and mineral content in common citrus fruits in the northern region of Bangladesh. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.7, p. 238−242, 2004.

PEIXOTO, M. P. G.; FREITAS, L. A.P.Spray-dried extracts from *Syzygium cumini* seeds: physicochemical and biological evaluation.**Rev. Bras. Farmacogn**, v.23, n.1, 2013.

PELISSARI, F. M. **Produção e caracterização de filmes de amido de mandioca, quitosana e glicerol com incorporação de óleo essencial de orégano**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009. 124 p.

PELISSARI, F. M.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F.; PINEDA, E. A. G. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starchechitosan films incorporated with orégano essential oil. **Journal of Agricultural and FoodChemistry**, v.57, p.7499-7504, 2009.

PELISSARI, F. M.; MAHECHA, M. M. A.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Isolation and characterization of the flour and starch of plantain bananas (Musa paradisiaca). Starch/Stärke, **Weinheim**, v. 64, n. 5, p. 382–391, 2012.

PEPATO, M. T.; FOLGADO, V. B. B.; KETTELHUT, I. C.; BRUNETTI, I. L. Lack of antidiabetic effect of *Eugenia jambolana* leaf decoction on rat streptozotocin diabetes. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** v. 34, n. 3, p. 389 – 395, 2001.

PEREDA, M.; PONCE, A.G.; MARCOVICH, N.E.; RUSECKAITE, R.A.; MARTUCCI, J.F. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, vol. 25, p. 1372-1381, 2011.

PEREIRA, P.; BERNARDO-GILA,M. G.; CEBOLA, M. J. ; MAURICIO, E.; ROMANO, A. Supercritical fluid extracts with antioxidant and antimicrobialactivities from myrtle (Myrtus communis L.) leaves. Response surface optimization.**J. of Supercritical Fluids,** v. 83, p. 57–64, 2013.

PEREIRA, R. J. **Composição centesimal, aspectos fitoquímicos, atividades antioxidante, hipoglicemiante e antihiperlipidêmica de frutos do gênero *syzygium***. Lavras, MG: UFLA. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M.G.; VILAS BOAS, E. V. B. PEREIRA, R. J. Aspectos de qualidade e composição centesimal dos frutos de syzygium cumini (l.) Skeels e syzygium paniculatum gaertn**.Rev. Cereus,** v. 7, n. 1, p.60-74, 2015**.**

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G.; GOMES, M.S.; ANDRADE, M.A., ANDRADE, J.; PEREIRA, R. J. Potencial antioxidante de frutos de duas espécies de jambolão: *syzygium cumini (l.)* Skeels e *syzygium paniculatum* gaertn.**Revista spcna**, v. 18 n. 3, 2012.

PÉREZ-PÉREZ, C.; REGALADO-GONZÁLEZ, C.; RODRÍGUEZ- RODRÍGUEZ,C. A.; BARBOSA-RODRÍGUEZ, J. R.; VILLASENOR-ORTEGA, F. Incorporation of antimicrobial agents in food packaging films and coatings. **Advances in Agricultural and Food Biotechnology**, p.193-216, 2006.

PIMENTEL, C. V. D. M. B.; RANCKI, V. M.; GOLLUCKE, A. P. B. **Alimentos Funcionais**: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos. São Paulo, Livraria Varela, 2005.

PINTO, M. DA S., KWON, Y., APOSTOLIDIS, E., LAJOLO, F. M., GENOVESE, M. I., & SHETTY, K. Evaluation of red currants (Ribes rubrum L.), black currants (Ribesnigrum L.), red and green gooseberries (Ribes uva-crispa) for potential management of type 2 diabetes and hypertension using in vitro models. **Journal of Food Biochemistry,** v.34, p. 639-660, 2010.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003, 325 p.

PIZZOLI, A. P. O. **Produção e caracterização de laminados biodegradáveis e antimicrobianos para embalagens de alimentos**. 73 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

PLAZA, C.V. **Investigação fitoquímica e avaliação da atividade antioxidante das folhas e frutos de *Eugenia jambolana* Lam. (Myrtaceae).**108f. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

PRADO, A.C.P; SILVA, H.S; SILVEIRA, S.M; VIEIRA, C.R.W; MARASCHIN, M; FERREIRA, S.R.S; BLOCK, J.M. Effect of the extraction process on the phenolic

compounds profile and the antioxidant and antimicrobial activity of extracts of pecan nut [Carya illinoinensis (Wangenh) C. Koch] shell. **Industrial Crops & Products**, v. 52C, p. 552-561, 2014.

PRANOTO, Y.; RAKSHIT, S. K.; SALOKHE, V. M. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. **LWT – Food Science and Technology**, vol. 38, p. 859-865, 2005.

PRIOR, R. L. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage.**Am J ClinNutr**, v. 78, n. suppl, p. 57O-578, 2003.

PRIOR, R.L., HOANG, H., GU, L., Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC (FL)) of plasma and other biological and food samples. **J. Agric. Food Chem**., v. 51, p. 3273–3279, 2003.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. Journal Agriculture and **Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

QIUMIN, M.; YUE, Z.; QIXIN, Z.Physical and antimicrobial properties of chitosan films incorporated with lauric arginate, cinnamon oil, and ethylenediaminetetraacetate.**LWT - Food Science and Technology,** v. 65, p. 173-179, 2016.

RAI, D. R. ; CHADHA, S.; KAUR, M.P.; JAISWAL , P.; PATIL, R.T. Biochemical, microbiological and physiological changes in Jamun (Syzyium cumini L.) kept for long term storage under modified atmosphere packaging.**J Food Sci Technol** v.48, n.3, p.357–365, 2011.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RE, ROBERTA; PELLEGRINI, NICOLETTA; PROTEGGENTE, ANNA; PANNALA, ANANTH; YANG, MIN; RICE-EVANS, CATHERINE. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radicals Biology and Medicinal**, v.26, n.9/10, p.1231-1237, 1999.

REYNERTSON, K. A.; Yang, H.; Jiang, B,; Basile, M. J.; Kennelly, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 109, p. 883-890, 2008**.**

REZENDE, Y. R. R. S. **Otimização da extração e obtenção de microcápsulas de compostos bioativos da polpa e resíduo agroindustrial de acerola**. São Cristóvão, SE: UFS. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2016.

RHIM, J. W.; PARK, H. M.; HA, C. S. Bio-nanocomposites for food packing applications. **Progress in Polymer Science**, v. 38, p. 1629-1652, 2013.

RIBEIRO, T.G.; CHÁVEZ-FUMAGALLI, M. A.; VALADARES, D.G; FRANCA, J.R.; LAGE, P.S.; DUARTEB, M.C.; ANDRADE, P.H.R.; MARTINS, V.T.; COSTA, L.E.; ARRUDA, A.L.A.; FARACO, A.A.G.; COELHO, E.A.F.; CASTILHO, R.O. Antileishmanial activity and cytotoxicity of Brazilian plants. **Experimental Parasitology**, v. 143, p.60-68, 2014.

ROCKENBACH, I. I. SILVA; G. L. da, RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v.28, p.238-244, 2008.

ROTTA, J.; OZORIO, R. A.; KEHRWALD, A. M.; DE OLIVEIRA BARRA, G. M.; AMBONI, R. D. D. M. C.; BARRETO, P. L. M. Parameters of color, transparency, water solubility, wettability and surface free energy of chitosan/hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) films plasticized with sorbitol. **Materials Science and Engineering: C**, v.29, n.2, p. 619-623, 2009.

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

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS● +.** Comunicado Técnico128. Embrapa, 2007.

SA, A. P. C. da S.**. Potencial antioxidante e aspectos químicos e físicos das frações comestíveis (polpa e cascas) e sementes de Jamelão (*Syzygium cumini,* L. Skeels).** 2008. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Institutode Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

SAHIN, F.; KARAMAN, I.; GÜLLÜCE, M.; OGÜTÇÜ, H.; SENGÜL, M.; ADIGÜZEL, A. Evaluation of antimicrobial activities of Satureja hortensis L. **Journal of Ethnopharmacology,** v.87, p. 61-65, 2003.

SANCHES, A. C. C. **Estudo farmacognóstico das cascas de Stryphnodendron obovatum Benth., atividade antioxidante, antimicrobiana e da ação cicatrizante dos seus extratos.**2004. p. 61 – 63, 167 - 168. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2004.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; PASTOR, C.; VARGAS, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHÁFER, M. Effect of Hydroxypropylmethylcellulose and Chitosan Coatings with and Without Bergamot Essential Oil on Quality and Safety of Cold-Stored Grapes. **Postharvest Biology and Technology,** Amsterdam, v. 60, n. 1, p. 57-63, 2011.

SÁNCHEZ-RANGEL, J. C; BENAVIDES, J; HEREDIA, J. B; CISNEROS-ZEVALLOS, L; JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A. The Folin-Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. **Analytical Methods**, v. 5, n. 21, p. 5990, 2013.

SANTIAGO-SILVA, P.; SOARES, N.F.F.; NÓBREGA, J.E.; JÚNIOR, M.A.W.; BARBOSA, K.B.F.; VOLP, A.C.P.; ZERDAS, E.R.M.A.; WÜRLITZER, N.J. Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA®2351) on preservation of sliced ham. **Food Control**, v.20, p. 85–89, 2009.

SANTILLO, A. G. **Efeitos da radiação ionizante nas propriedades nutrcionais de uvas de mesas Benitaka e uvas passas escuras**. 2011 Dissertação (Mestrado em ciências na área de tecnologia nuclear- aplicações). Instituto de pesquisas energéticas e nucleares - Autarquia associada à Universidade São Paulo, Villavicencio: São Paulo, 2011.

SANTOS, DIEGO T.; VEGGI, PRISCILLA C.; MEIRELES, M. ANGELA A. Extraction of antioxidant compounds from Jabuticaba (Myrciaria cauliflora) skins: Yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 101, n. 1, p. 23-31, 2010.

SANTOS, E. L. V. B. **Avaliação da toxicidade da polpa dos frutos de jambolão (*Syzygium cumini Lamarck Skeels*) em roedores para a elaboração e análise sensorial do jambolão-passa**. 2014. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Tocantins, Palmas-TO, 2014.

SANTOS, G. M. dos; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M. de; COSTA, J. M. C. da C.; FIGUEIREDO, R. W. de; PRADO, G. M. do. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**. v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

SARI, P.; WIJAYA, C. H.; SAJUTHI, D.; SUPRATMAN, U. Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (Syzygium cumini) fruit anthocyanins in a beverage model system: natural and copigmented anthocyanins. **Food Chemistry**, v. 132, n.4, p. 1908-1914, 2012.

SATISH, S.; RAGHAVENDRA, M.P.; RAVEESHA, K. A. Evaluation of the antibacterial potential of some plants against human pathogenic bacteria. **Adv. in Biol. Res**., v. 2, p. 44−48, 2008.

SEVERO, J.; DOS SANTOS, R. S.; CASARIL, J.; TIECHER, A.; SILVA, J. A.; ROMBALDI, C. V. Detannization and conservation of Jambolan fruit. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 4, p. 976-982, 2010.

SHAFI, P.M.; ROSAMMA, M.K.; JAMIL, K.; REDDY, P.S.Antibacterial activity of *Syzygium cumini* and *Syzygium travancorium* leaf essential oils. **Fitoterapia**, Milão, v.73, n.4, p.414-416, 2002.

SHARMA, B.; SIDDIQUI, M.S.;KUMAR, S.S.; RAM, G.;CHAUDHARY, M. Liver protective effects of aqueous extract of *Syzygium cumini* in swiss albino mice on alloxan induced diabetes mellitus. **Journal of Pharmacy Research**, v.6, p. 853-858, 2013.

SHEIKH, S. A.; SHAHNAWAZ, M.; NIZAMANI, S. M.; BHANGER, M. I.; AHMED, E. Phenolic Contents and Antioxidants Activities in Jamman Fruit(Eugenia jambolana) Products.**Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences**, v.1, p.41-47, 2011.

SILVA, D. I. S.; NOGUEIRA, G. D. R.; DUZZIONI, A. G. Changes of antioxidant e constituents in pineapple (Ananas comosus) residue during process. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 557-562, 2013.

SILVA, J. A. A. D.; GRIZOTTO, R. K.; MIGUEL, F. B.; BÁRBARO, I. M. Physical and chemical characterization of fruits of dovyalis clones (Dovyalis abyssinica Warb). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n.spe., p .466-472, 2011.

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

SILVA, M. C.; DE SOUZA, V.B.; THOMAZINI, M.; DA SILVA, E. R.; SMANIOTTO, T.; DE CARVALHO, R. A.; GENOVESE, M .I.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Use of the jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties.**LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 203-209, 2014.

SILVA, M. G. F. Potencial **Antioxidante e Antimicrobiano de Óleos Essenciais e Extratos Hidroalcóolicos de Manjerona (Origanum majorana L.) e Manjericão (Ocinum basilicum L.)**. In: XVII Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica, 2012, Curitiba. XVII SICITE, 2012. v. único.

SILVA, P. B. **Secagem de resíduos de frutas em secador roto-aerado**. 107f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química).Universidade Fderal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2014.

SILVA, S. D. N., ABREU, I. C., SILVA, G. F. C., RIBEIRO, R. M., LOPES, A. D. S., CARTÁGENES, M. D. S. D. S. The toxicity evaluation of Syzygium cumini leaves in rodents. **Rev. Bras. Farm**, v.22, p.102–108, 2012.

SILVA, S.; COSTA, E. M.; COSTA, M. R.;. PEREIRA, M. F.; PEREIRA, J. O.; SOARES, J. C.; PINTADO, M. M. Aqueous extracts of Vaccinium corymbosum as inhibitors of Staphylococcus aureus. **Food Control**, v. 51, p. 314-320, 2015.

SINGH, J. P.; KAUR, A.; SHEVKANI, K.; SINGH, N. Influence of jambolan (*Syzygium cumini*) and xanthan gum incorporation on the physicochemical, antioxidant and sensory properties of gluten-free eggless rice muffins. **International Journal of Food Science & Technology,** v.50, n. 5, p.1190-1197, 2015.

SINGH, J. P.; KAUR, A.; SINGH, N.; NIM, L.; SHEVKANI, K.; KAUR, H.; ARORA, D. S. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 1025-1030, 2016.

SOARES N. F.F, SILVA A.W., PIRES A.C.S.,CAMILLOTO G.P., SILVA P.S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, v. 56, n.4, p. 370-378, 2009.

SOARES, J. C. Compostos bioativos e valor nutricional de polpa de jambolão. In: **Aproveitamento Alimentar de jambolão**. Parte 2, p. 85-105. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015

SOARES, J. J. **Avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo de extratos preparados a partir das folhas de Syzygium cumini (L.)** Skeels. 82f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica).Universidade Federal do Pampa,Uruguaiana-RS, 2013.

SOARES, M.; WELTER, L.; GONZAGA, L.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Aliment**os, v. 28, n. 3, p. 727-732, 2008.

SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, M. B., CURADO, T., VASCONCELLOS, F. N., & TRIGO, M. J. **Mirtilo – Qualidade de pós-colheita**, Vol. 556, 2007.

SOUZA, V.R.; PEREIRA, P. A. P.; SILVA, T. L. T.; LIMA, L. C. O; PIO, R.; QUEROZ, F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. **Food Chemistry**, v.156, p.362-368, 2014.

STOJKOVIC, D.; PETROVIC, J.; SOKOVIC, M.; GLAMOCLIJA, J.; KUKIC-MARKOVIC, J.; PETROVIC, S. In situ antioxidant and antimicrobial activities of naturally occurring caffeic acid, p-coumaric acid and rutin, using food systems. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.93, p. 3205-3208, 2013.

SUCUPIRA, N.R.; DA SILVA, A.B; PEREIRA, G.; DA COSTA, J.N.Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos.**UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**; v.14, n.4, p.263-9, 2012.

SUET-YEN, S.; LEE, T. S.; TIAM-TING, T.; SOO-TUEEN, B.; RAHMAT, A.R.; RAHMAN, W.A.W.A.; ANN-CHEN, T.; VIKHRAMAN, M. Antimicrobial agents for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 33, p. 110-123, 2013.

SWAIN, T., HILLIS, W.E. The phenolic constituents of Prunus domestica I—the quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of Science of Food and Agriculture. v.**10, p.63–68, 1959.

SWAMI , SB.; THAKOR, N. S. J..; PATIL, M. M..; HALDANKAR, P. M. Jamun. (*Syzygium cumini* (L.)): A review of its Food and Medicinal uses. **Food and Nutrition Sciences**, v. 3, p. 1100-1117, 2012.

TAJKARIMI, M. M.; IBRAHIM, S. A.; CLIVER, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food Control**, v.21, n.9, p. 1199-1218, 2010.

TAKEUCHI, A.P.; GERALDINE, R.M., SILVEIRA, M.F.A.; MOURA, C.J. de. Efeito de diferentes concentrações de curcumina nas propriedades ópticas e mecânicas de filmes ativos de acetato de celulose. **Anais**: 63a Reunião Anual da SBPC. Goiânia: UFG. 2011.

TAVARES, I. M. C.; LAGO-VANZELA, E. S.; REBELLO, L. P. G.; RAMOS, A.M.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E. ;DA-SILVA , R.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Comprehensive study of the phenolic composition of the edible parts of jambolan fruit (*Syzygium cumini* (L.) Skeels).**Food Research International**, v. 82, p. 1–13 2016.

TAYEL, A. A.; EL-TRAS, W. F. Plant extracts as potent biopreservatives for *Salmonella* typhimurium control and quality enhancement in ground beef. **Journal of Food Safety**, 32, 115–121, 2012.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K; CISNEROSZEVALLOS, L.; BYRNE, D.H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.669-675, 2006.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRON, T. Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. **Food Chemistry**, v.134, p.1571-1579, 2012.
UGALDE, M. L.**Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais.**2014.168f. Tese (Doutorado em Engenharia de alimentos). Universidade Regional Integrada - URI erechim, Erechim-RS, 2014.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador**. Food Chemistry**, v. 111, n. 4, p. 816-823, 2008.

VEBER, J.; PETRINI, L.A.; ANDRADE, L.B.; SIVIERO, J.Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão (*Syzygium cumini*L.).**Rev. Bras. Pl. Med.,** Campinas, v.17, n.2, p.267-273, 2015.

VEIGAS, J. M; NARAYAN, M. S; LAXMAN, P. M; NEELWARNE, B. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry**, v. 105, p. 619−627, 2007.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHERE, F.; VAN-BEEST, M.; DEVEBERE, J .Developments in the active packaging of foods. **Trends in Food Science and Technology**, v.10, p.77-86, 1999.

VIZZOTO, M.; PEREIRA, M. C. Caracterização das propriedades funcionais do jambolão. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. 26p.1ed. Pelotas : Embrapa Clima Temperado, RS, 2008.

VIZZOTTO, M.; FETTER, R. Jambolão: o poderoso antioxidante. 2009. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/imprensa/artigos/2009/jambolao_Marcia.pdf>. Acesso em 17 abril 2010.

VOLP, A. C. P. et al. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Rev. Bras Clin.,** v.23, n. 2, p. 141-149, 2008.

WEN-XIAN, D.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; SUI SHENG, T. H.; TARA, M. Antimicrobial volatile essential oils in edible films for food safety. **Scienceagainst microbial pathogens,** v.1, p.1124-1134, 2011.

WU, X.; PRIOR, R. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/ MS in common foods in the United States: fruits and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 7, p. 2589-2599, 2005.

XI, J.; YAN, L. Optimization of pressure-enhanced solid-liquid extraction of flavonoids from Flos Sophorae and evaluation of their antioxidant activity. **Separation and Purification Technology**, v.175, p. 170–176, 2017.

YANG, L., CAO, Y. L., JIANG, J. G., LIN, Q. S., CHEN, J., & ZHU, L. Response surface optimization of ultrasound-assisted flavonoids extraction from the flower of Citrus aurantium L. var. amara Engl. **Journal of Separation Science**, v.33, n.9, p.1349–1355, 2010.

YEN, M.; YANG. J.; MAU, J. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. **Carboydrate Polymers**, vol.74, p. 840-844. 2008.

YOSHIDA, C.M.P.; ANTUNES, A.J. Aplicação de filmes proteicos à base de soro de leite. **Ciência e Tecnolologia de Alimentos**, vol. 29, n. 2, p. 420-430, 2009.

YOU, Q.;WANG, B.; CHEN, F.;HUANG, Z.; WANG, X.; LUO, P. G. Comparison of anthocyanins and phenolics in organically and conventionally grown blueberries in selected cultivars. **Food Chem**, v. 125, n. 1, p. 201-208, Mar, 2011.

YU, J.; AHMEDNA, M. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. **Int J Food Sci Tech**, v.48, p. 221–37, 2013.

ZEKOVIC, Z.; PINTAC, D.; MAJKIC, T.; VIDOVIC, S.; MIMICA-DUKIC, N.; TESLIC, N.; VERSARI, A.; PAVLIC, B. Utilization of sage by-products as raw material for antioxidants recovery—Ultrasound versus microwave-assisted extraction.**Industrial Crops and Products,** v. 99, p.49–59, 2017.

ZHANG, L. L.; LIN, Y. M. Antioxidant tannins from *Syzygium cumini* fruit. **African Journal of Biotechnology,** Vol. 8, n.10 , p. 2301-2309, 2009.

ZHANG, Z. S., LI, D., WANG, L. J., OZKAN, N., CHEN, X. D., MAO, Z. H., & YANG, H. Z. Optimization of ethanol-water extraction of lignans from flaxseed. Separation and Purification Technology, v.57, n.1, p.17–24, 2007.

ZHAO, Z.Y.; ZHANG, Q.; LI, Y.F.; DONG, L.L.; LIU, S.L. Optimization of ultrasound extraction of Alisma orientalis polysaccharides by response surface methodology and their antioxidant activities, **Carbohyd. Polym**., v.119, p.101–109, 2015.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M.J.; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**, v.114, p.310–316, 2009.