



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

MANOELY VIRGINIA DUARTE DE BARROS SILVA

**ESTUDO PRELIMINAR DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE EXTRATOS  
DA MACROALGA *PADINA PAVONICA* (LINNAEUS) THIVY 1960 E SUA  
INCORPORAÇÃO NA PRODUÇÃO DE REVESTIMENTO COMESTÍVEL  
ATIVO PARA A CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS *TOMMY  
ATKINS***

Recife

2022

MANOELY VIRGINIA DUARTE DE BARROS SILVA\*

**ESTUDO PRELIMINAR DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE EXTRATOS  
DA MACROALGA *PADINA PAVONICA* (LINNAEUS) THIVY 1960 E SUA  
INCORPORAÇÃO NA PRODUÇÃO DE REVESTIMENTO COMESTÍVEL  
ATIVO PARA A CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS *TOMMY  
ATKINS***

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito final para obtenção do título de Doutora em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientador (a): Professor Doutor Severino Alves Júnior

\*Bolsista CNPQ

Recife

2022

Catálogo na fonte  
Bibliotecária Nataly Soares Leite Moro, CRB4-1722

S586e Silva, Manoely Virgínia Duarte de Barros  
Estudo preliminar de propriedades biológicas de extratos da macroalga *Padina pavonica* (linnaeus) thivy 1960 e sua incorporação na produção de revestimento comestível ativo para a conservação pós-colheita de mangas *Tommy atkins* / Manoely Virgínia Duarte de Barros Silva. – 2022.  
144 f.: il., fig., tab.

Orientador: Severino Alves Júnior.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Química, Recife, 2022.  
Inclui referências.

1. Química inorgânica. 2. Algas marinhas. 3. Atividade biológica. 4. Filme ativo. 5. Qualidade pós-colheita. I. Alves Júnior, Severino (orientador). II. Título.

546 CDD (23. ed.) UFPE- CCEN 2023 - 128

MANOELY VIRGINIA DUARTE DE BARROS SILVA

**ESTUDO PRELIMINAR DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE EXTRATOS DA  
MACROALGA *PADINA PAVONICA* (LINNAEUS) THIVY 1960 E SUA  
INCORPORAÇÃO NA PRODUÇÃO DE REVESTIMENTO COMESTÍVEL ATIVO  
PARA A CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS *TOMMY ATKINS***

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito final para obtenção do título de Doutora em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovado em: 24/10/2022

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr Severino Alves Júnior (Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Dra. Dayane Kelly Dias do Nascimento (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

---

Profa. Dra. Janaína Versiani dos Anjos (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

---

Profa. Dra. Gloria Maria Vinha (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

---

Profa. Dra. Viviane Lansky Xavier de Souza Leão (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela sua infinita graça, tudo é dEle e para a glória dEle;

A minha mãe Sheila Duarte, minha avó Marise Duarte, meus irmãos Gabriel, Mayara e Arthur por todo o amor, compreensão e cuidado.

A minha bisavó Aurélia Duarte (*in memoriam*) por todas as orações feitas em meu favor.

Ao meu pai Fábio Canto (*in memoriam*) por sempre valorizar os meus estudos.

A meu esposo e melhor amigo Rhimon Souza por tamanha compreensão, cuidado, ajuda e paciência em todo o tempo.

A Dona Noemia e Seu Francisco, que sempre intercedem por mim em oração, além de todo o acolhimento e cuidado.

As minhas amigas Alessandra Pedrosa, Karla Laís, Raquel Ramos e Samila Crystielle por se manterem presente mesmo a longas distancias.

A todos os colegas que conheci durante essa etapa, Dani, Ewerton, Atha, Ever, Marci, Michel, Atírio, Francisco, Ana e Kati.

As professoras Falba, Viviane, Jamylle, Ivone, Janaina por me receber em seus laboratórios e por todos os ensinamentos.

Ao meu orientador Severino Alves Júnior pela oportunidade e pela sua contribuição em minha formação científica.

Ao programa de Pós-graduação em Química da UFPE;

Aos órgãos de fomento CAPES e CNPq pelo auxílio financeiro para a realização desse trabalho.

## RESUMO

A presença de metabólitos secundários é responsável por uma variedade de propriedades biológicas identificadas em algas marinhas. Inicialmente, este estudo identificou através de teste qualitativo, a presença de metabólitos (alcaloides, terpenóides, esteroides, saponinas, flavonoides, cumarinas e quinonas) em extratos aquoso (EAq), alcóólico (EEtOH) e hidroalcóólico (EHA) de *Padina pavonica*. O potencial antioxidante de EAq foi verificado a partir do teor de compostos fenólicos equivalente a 736,17 mg EAG/g extrato; e de seu IC50, que na concentração de 116,10 µg/mL foi responsável por diminuir a atividade inicial do radical livre DPPH em 50 %. EAq também apresentou potencial antimicrobiano, com IC50 de 500; 250; 250; 125 e 62,50 µg/mL frente as bactérias *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente. A concentração responsável por inibir 100 % do crescimento de fungos do gênero *Alternaria*, *Colletotrichum* e *Fusarium* variou de <4 a 2048 µg/mL para os extratos da alga. A viabilidade celular dos extratos foi avaliada em células de fibroblasto de pele humana (HFF-1), com EAq nas concentrações 0,5 e 5 µg/mL apresentando-se como não citotóxico. A morfologia característica da célula, em seu formato espreado, e o seu volume celular também foram mantidos após o tratamento. A análise quantitativa da resposta migratória de fibroblastos apresentou níveis basais de fechamento por arranhão em 48 horas de 92,61 % para o grupo tratado com EAq (0,5 µg/mL). O tratamento com EAq (50 mg/Kg) reduziu a dor dos animais em 89,4 %. Atividade anti-inflamatória equivalente a 95,5 % na primeira hora do teste foi identificada para o grupo tratado com EAq (50 mg/Kg). A partir da avaliação de toxicidade aguda, os extratos de *P. pavonica* classificaram-se, segundo o protocolo da OECD, na categoria 5 (dose > 200 mg/Kg). Explorando o potencial biológico de EAq, a segunda etapa do trabalho consistiu no estudo da eficácia do biopolímero alginato de sódio incorporado com *P. pavonica* no desenvolvimento de revestimento comestível com propriedades mecânicas, antioxidantes e antimicrobianas importantes para a manutenção da qualidade sensorial e nutricional de mangas *Tommy Atkins* armazenadas a 10 °C por 20 dias. Os filmes obtidos a partir do revestimento foram caracterizados através das técnicas de espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e análise termogravimétrica (TGA). As micrografias obtidas utilizando a microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostraram a eficácia do revestimento desenvolvido em recobrir a superfície da fruta, ao se observar a presença de uma matriz com baixa porosidade. Por fim, a avaliação dos parâmetros cor da casca e polpa, firmeza e índice de perda de massa, sólidos solúveis totais e potencial hidrogeniônico mostraram redução no processo respiratório das mangas revestidas, apontando uma alternativa eficaz para a preservação da manga.

**Palavras-chave:** algas marinhas; atividade biológica; filme ativo; qualidade pós-colheita.

## ABSTRACT

The presence of secondary metabolites is responsible for a variety of biological properties identified in seaweeds. Initially, this study identified through qualitative test, the presence of metabolites (alkaloids, terpenoids, steroids, saponins, flavonoids, coumarins and quinones) in aqueous (EAq), alcoholic (EEtOH) and hydroalcoholic (EHA) extracts of *Padina pavonica*. The antioxidant potential of EAq was verified from the content of phenolic compounds equivalent to 736.17 mg EAG/g extract; and its IC<sub>50</sub>, which at the concentration of 116.10 µg/mL was responsible for decreasing the initial activity of the DPPH free radical by 50 %. EAq also showed antimicrobial potential, with IC<sub>50</sub> of 500; 250; 125 and 62.50 µg/mL against the bacteria *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, respectively. The concentration responsible for inhibiting 100 % of the growth of fungi of the genus *Alternaria*, *Colletotrichum* and *Fusarium* ranged from <4 to 2048 µg/mL for the algae extracts. The cell viability of the extracts was assessed in human skin fibroblast cells (HFF-1), with EAq at concentrations 0.5 and 5 µg/mL presenting as non-cytotoxic. The characteristic morphology of the cell, in its spreading shape, and its cell volume were also maintained after treatment. Quantitative analysis of fibroblast migratory response showed baseline levels of scratch closure at 48 hours of 92.61 % for the EAq-treated group (0.5 µg/mL). Treatment with EAq (50 mg/Kg) reduced the animals' pain by 89.4 %. Anti-inflammatory activity equivalent to 95.5 % in the first hour of the test was identified for the group treated with EAq (50 mg/Kg). From the acute toxicity assessment, *P. pavonica* extracts were classified, according to the OECD protocol, in category 5 (dose > 200 mg/Kg). Exploring the biological potential of EAq, the second stage of the work consisted in studying the effectiveness of the sodium alginate biopolymer incorporated with *P. pavonica* in the development of edible coating with mechanical, antioxidant and antimicrobial properties important for maintaining the sensory and nutritional quality of *Tommy Atkins* mangoes stored at 10 °C for 20 days. The films obtained from the coating were characterized using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermogravimetric analysis (TGA) techniques. The micrographs obtained using scanning electron microscopy (SEM) showed the effectiveness of the developed coating in covering the fruit surface, by observing the presence of a matrix with low porosity. Finally, the evaluation of the parameters peel and pulp color, firmness and mass loss index, total soluble solids and hydrogenic potential showed a reduction in the respiratory process of the coated mangoes, pointing out an effective alternative for the preservation of mango.

**Keywords:** seaweed; biological activity; active film; post-harvest quality.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 –</b>	Alga marinha marrom <i>Padina pavonica</i> coletada na praia de Serrambi – PE	24
<b>Figura 2 –</b>	Estrutura química dos resíduos de ácido D-glucurônico, L-fucose, D-xilose, D-manose, D-glicose e D – galactose, na ordem da esquerda para a direita e de cima para baixo	25
<b>Figura 3 –</b>	a) Alga vermelha <i>Amansia multifida</i> ; b) Alga verde <i>Codium isthmocladum</i> ; c) Alga marrom <i>Dictyopteris delicatula</i>	26
<b>Figura 4 –</b>	Estrutura química para o polissacarídeo florotanino isolado de algas marrons	29
<b>Figura 5 –</b>	Estrutura química do cicloeudesmo isolado de alga marinha	30
<b>Figura 6 –</b>	Estrutura química para o polissacarídeo fucoidano isolado de algas do gênero <i>Padina</i>	31
<b>Figura 7 –</b>	Estrutura química para a) lopoforinas A e b) lopoforinas B isoladas de algas marrons	32
<b>Figura 8 –</b>	Estrutura química para o diterpeno bifurcadiol isolado de algas marrons	33
<b>Figura 9 –</b>	Fluxograma do protocolo da toxicidade aguda de acordo com o guia da OECD	46
<b>Figura 10 –</b>	Efeito dos extratos aquoso (EAq), alcóolico (EEtOH) e hidroalcóolico 30:70 (EHA) de <i>P. pavonica</i> na viabilidade celular de fibroblastos de pele humana (HFF-1). As células foram semeadas e tratadas com o veículo (tween 80 – 50 µg/mL), triton-x (1 %) e os extratos (0,5; 5; 25 e 50 µg.mL <sup>-1</sup> ) por 48 h. A viabilidade celular foi medida pelo ensaio MTT. As barras representam a média ± desvio padrão (DP) do experimento realizado em triplicata	54
<b>Figura 11 –</b>	Efeito dos extratos aquoso (EAq), alcóolico (EEtOH) e hidroalcóolico 30:70 (EHA) de <i>P. pavonica</i> na morfologia celular de fibroblastos de pele humana (HFF – 1). Os fibroblastos foram fixados com metanol e corados com o corante giemsa. (A) Imagens obtidas para os fibroblastos tratados com os extratos nas concentrações 0,5; 5; 25 e 50 µg.mL <sup>-1</sup> , morte (triton-x 1 %) e veículo (tween 80 – 0,0008 %). (B) Imagens ampliadas para a morfologia das células tratadas com EAq 0,5 e 5 µg.mL <sup>-1</sup>	56
<b>Figura 12 –</b>	Efeito do extrato aquoso (EAq) de <i>P. pavonica</i> na migração celular de fibroblastos de pele humana (HFF – 1). Os fibroblastos foram tratados com 0,5 e 5 µg.mL <sup>-1</sup> de extrato. As imagens foram capturadas para calcular o fechamento do risco. O experimento foi feito em triplicata. (A) Imagens de fotomicrografias representativas mostrando a área de risco de células dos grupos controle (mitomicina - 4 µg.ml <sup>-1</sup> ), 0 µg.mL <sup>-1</sup> (tween 80 – 0,008 %),	58

0,5 e 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (EAq de *P. pavonica*) e a migração celular para a área livre de células após 24 e 48 h. (B) A porcentagem de arranhão coberto foi medida pela quantificação da distância total que as células se moveram da borda do arranhão em direção ao centro do arranhão, usando o software ImageJ, seguido pela conversão para uma porcentagem da ferida coberta. As barras representam a média  $\pm$  SD do experimento realizado em triplicata. (\*)  $P < 0,05$ , (\*\*)  $P < 0,01$  em comparação com células tratadas com veículo nos respectivos pontos de tempo

- Figura 13** – Efeito antinociceptivo causado pela administração oral do extrato aquoso de *P. pavonica* (EAq 50 e 100  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) e indometacina (20  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) sobre as contorções abdominais induzidas pela injeção de ácido acético (0,8 % i.p.) em camundongos. Cada grupo representa a média de 6 animais. ANOVA, seguida pelo teste de *Tukey* a 5 % de probabilidade 60
- Figura 14** – Efeito do extrato aquoso de *P. pavonica* (EAq 50  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) sobre a formação do edema de orelha de camundongos comparado ao grupo controle negativo (veículo – salina 0,9 %) e positivo (indometacina 20  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) após 1 e 4 h do tratamento. Cada grupo representa a média de 6 animais. ANOVA, seguida pelo teste de *Tukey* a 5 % de probabilidade 61
- Figura 15** – Imagens obtidas para os órgãos e tumores retirados de camundongos submetidos ao tratamento com a) metotrexato (2,5  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ), b) extrato aquoso de *P. pavonica* (100  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) e c) extrato alcoólico de *P. pavonica* (100  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) 63
- Figura 16** – a) Mangueira; b) flores da *Mangifera indica* L. e c) cultivar *Tommy Atkins* 67
- Figura 17** – Evolução da antracnose em mangas pós-colheita 72
- Figura 18** – Podridão peduncular por *A. alternata* 73
- Figura 19** – Sequência ilustrativa da formação de uma cobertura comestível. a) imersão do fruto em solução filmogênica; b) atração entre o adsorvato (composto diluído na solução filmogênica) e o adsorvente (casca) por um dos possíveis mecanismos; c) cobertura formada após o fruto ser removido da solução a partir da evaporação do solvente e consequente reticulação do polímero 78
- Figura 20** – a) Palmeira *Copernicia prunifera*; b) cera de carnaúba obtida a partir da palmeira; c) solução aquosa da cera de carnaúba submetida a testes por imersão em frutas 80
- Figura 21** – Estrutura do alginato: cadeia de resíduos de a) ácido manurônico (M); b) ácido glucurônico (G); c) ácidos manurônicos e glucurônicos alternados 82

<b>Figura 22 –</b>	Representação da reticulação iônica entre os cátions $\text{Ca}^{2+}$ e as cadeias de alginato, formando estruturas no modelo “caixa de ovo”	85
<b>Figura 23 –</b>	Estrutura do glicerol	86
<b>Figura 24 –</b>	Soluções de a) cera de carnaúba 6%, b) alginato de sódio 1,0 % e c) alginato de sódio 1,0 % + <i>Padina pavonica</i> 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	94
<b>Figura 25 –</b>	Filmes de alginato de sódio 0,5 % m/m + cloreto de cálcio 12,5 % m/m total de alginato + glicerol 6,25 % v/v + <i>Padina pavonica</i> 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	97
<b>Figura 26 –</b>	Filmes de alginato de sódio 1,0 % m/m + cloreto de cálcio 10,0 % m/m total de alginato + glicerol 5,0 % v/v + <i>Padina pavonica</i> 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	97
<b>Figura 27 –</b>	Filmes de alginato de sódio 1,5 % m/m + cloreto de cálcio 7,5 % m/m total de alginato + glicerol 3,75 % v/v + <i>Padina pavonica</i> 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	98
<b>Figura 28 –</b>	Espectro de infravermelho do polímero alginato de sódio (preto), da alga marinha <i>Padina pavonica</i> (vermelho), filme de alginato com cloreto de cálcio e glicerol – A2SP (azul) e filme de alginato com cloreto de cálcio, glicerol e <i>Padina pavonica</i> – A2CP (verde)	100
<b>Figura 29 –</b>	Curvas de análise termogravimétrica (TG) e análise térmica diferencial (DTA) obtidas para o alginato de sódio, <i>P. pavonica</i> , filme de alginato com cloreto de cálcio e glicerol (A2SP); e filme de alginato com cloreto de cálcio, glicerol e <i>P. pavonica</i> (A2CP).	102
<b>Figura 30 –</b>	Micrografias obtidas para a superfície da casca da manga <i>Tommy Atkins</i> sem aplicação de revestimento comestível. a) 204 x, b) 354 x, c) 802 x e d) 5,82 kx de aproximação	105
<b>Figura 31 –</b>	Micrografias obtidas para o filme de alginato de sódio (A2CP) à a) 233 x, b) 726 x, c) 2,03 kx e d) 3,88 kx de aproximação	106
<b>Figura 32 –</b>	Micrografias obtidas para a superfície da casca da manga <i>Tommy Atkins</i> revestida com cera de carnaúba 6 % à a) 93 x, b) 524 x, c) 1,11 kx e d) 2,10 kx de aproximação	106
<b>Figura 33 –</b>	Micrografias obtidas para a superfície da casca da manga <i>Tommy Atkins</i> revestida com filmes de alginato de sódio incorporados com <i>P. pavonica</i> (A2CP) à a) 83 x, b) 561 x, c) 1,83 kx e d) 3,61 kx de aproximação	107
<b>Figura 34 –</b>	À esquerda manga <i>Tommy Atkins</i> aspergida com a solução de alginato de sódio 1,0 % m/m + cloreto de cálcio 7,5 % m/m total de alginato + glicerol 3,75 % v/v + <i>Padina pavonica</i> 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (A2CP) e a direita manga não revestida	108
<b>Figura 35 –</b>	Imagens das mangas <i>Tommy Atkins</i> a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com	109

*Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup> nos períodos 0, 10 e 20 dias de armazenamento, respectivamente

- Figura 36 –** Imagens das mangas *Tommy Atkins* e de suas polpas a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup> no dia 5 de armazenamento 111
- Figura 37 –** Imagens das mangas *Tommy Atkins* e de suas polpa a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup> no dia 10 de armazenamento 112
- Figura 38 –** Imagens das mangas *Tommy Atkins* e de suas polpa a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup> no dia 15 de armazenamento 113
- Figura 39 –** Imagens das mangas *Tommy Atkins* e de suas polpa a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup> no dia 20 de armazenamento 114

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 –</b>	Reagentes e solventes utilizados nos ensaios envolvendo <i>Padina pavonica</i>	34
<b>Tabela 2 –</b>	Meios de cultura utilizados nos ensaios envolvendo <i>Padina pavonica</i>	35
<b>Tabela 3 –</b>	Bactérias e fungos utilizados para os ensaios de atividade antimicrobiana de extratos de <i>P. Pavonica</i>	35
<b>Tabela 4 –</b>	Equipamentos utilizados nos estudos envolvendo <i>P. pavonica</i> .	36
<b>Tabela 5 –</b>	Resumo do método utilizado para a triagem fitoquímica de extratos de <i>P. pavonica</i>	37
<b>Tabela 6 –</b>	Resultados obtidos para a análise qualitativa de metabólitos secundários em extratos de <i>P. pavonica</i>	49
<b>Tabela 7 –</b>	Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do extrato aquoso de <i>P. pavonica</i> contra bactérias	52
<b>Tabela 8 –</b>	Concentração responsável por inibir 100 % do crescimento de fungos submetidos a tratamento com extratos de <i>P. pavonica</i>	53
<b>Tabela 9 –</b>	Efeitos comportamentais observados durante o teste de toxicidade aguda nos camundongos dos grupos controle, G1, G2 e G3 administrados com soro fisiológico 0,9 %, extrato aquoso, alcoólico e hidroalcoólico de <i>P. pavonica</i> , respectivamente	62
<b>Tabela 10 –</b>	Resultados obtidos para os parâmetros bioquímicos e hematológicos do sangue de camundongos submetidos ao teste de toxicidade aguda. Os grupos controle, G1, G2 e G3 foram administrados com água, extrato aquoso, alcoólico e hidroalcoólico de <i>P. pavonica</i> , respectivamente	65
<b>Tabela 11 –</b>	Reagentes e solventes utilizados nos ensaios envolvendo os revestimentos comestíveis	89
<b>Tabela 12 –</b>	Equipamentos utilizados nos estudos envolvendo os revestimentos comestíveis	90
<b>Tabela 13 –</b>	Constituição dos revestimentos à base de alginato de sódio	91
<b>Tabela 14 –</b>	Características relacionadas à aparência dos filmes formados a partir de diferentes concentrações de alginato de sódio e <i>Padina pavonica</i>	98
<b>Tabela 15 –</b>	Propriedades mecânicas dos revestimentos comestíveis	99
<b>Tabela 16 –</b>	Números de onda (cm <sup>-1</sup> ) das principais bandas de absorção no infravermelho do alginato de sódio, alga marinha <i>Padina pavonica</i> , filme de alginato com cloreto de cálcio e glicerol	100

(A2SP); e filme de alginato com cloreto de cálcio, glicerol e *Padina pavonica* (A2CP).

<b>Tabela 17 –</b>	Dados da análise de decomposição térmica do alginato de sódio, <i>Padina pavonica</i> , filme de alginato com cloreto de cálcio e glicerol (A2SP); e filme de alginato com cloreto de cálcio, glicerol e <i>Padina pavonica</i> (A2CP)	103
<b>Tabela 18 –</b>	Valores médios dos parâmetros “L”, “a” e “b” em mangas <i>Tommy Atkins</i> armazenadas sob refrigeração a $10 \pm 0,5$ °C por 20 dias.	115
<b>Tabela 19 –</b>	Valores médios dos parâmetros de qualidade físico-química em mangas <i>Tommy Atkins</i> armazenadas sob refrigeração a $10 \pm 0,5$ °C por 20 dias	118

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- a** = intensidade da cor verde ou vermelha
- AINE** = drogas anti-inflamatórias esteróides
- ANOVA** = análise de variância
- ASTM** = *American Society for Testing and Material*
- ATP** = adenosina trifosfato
- AR** = alongamento na ruptura
- b** = intensidade da cor azul ou amarela
- BDA** = batata-dextrose-ágar
- BHA** = butilhidroxianisol
- BOD** = *Biochemical Oxygen Demand*
- BPA** = boas práticas agrícolas
- CBM** = concentrações inibitórias bactericidas
- CIM** = concentrações inibitórias mínimas
- CHCM** = concentração da hemoglobina corpuscular média
- DDPH** = (2,2- difenil-1-picrilhidrazila)
- DMEM** = *Dulbecco's modified eagle medium*
- DMSO** = dimetilsulfóxido
- DNA** = ácido desoxirribonucleico
- DP** = desvio padrão
- DTA** = Análise térmica diferencial
- EDTA** = ácido etilenodiaminotetracético
- F** = firmeza
- FTIR** = espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier
- G** =  $\alpha$ -L glicurônico
- GAGS** = glicosaminoglicanos
- HAV** = vírus da hepatite A
- HCM** = hemoglobina corpuscular média
- HFF-1** = fibroblasto de pele humana
- HSV** = vírus da herpes simplex
- IC<sub>50</sub>** = Concentração inibitória necessária para inibir *in vitro* o processo biológico em 50 %
- I.P.** = intraperitoneal

**L** = luminosidade

**LCMS** = cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas

**L9L29** = cultura de fibroblastos de camundongo

**M** =  $\beta$ -D manurônico

**MDR** = Multidrug resistance

**MEV** = microscopia eletrônica de varredura

**MOPS** = ácido morfolino propano sulfônico

**MTT** = [3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio]

**MTX** = metrotexato

**NO** = óxido nítrico

**OECD** = Organização para a Cooperação Econômica e Desenvolvimento

**PBS** = Tampão fosfato-salino

**pH** = potencial hidrogeniônico

**PM** = perda de massa

**PMA** = Forbol miristato acetato

**RNA** = ácido ribonucleico

**RS** = resistência à tração

**SBF** = soro fetal bovino

**SNA** = sistema nervoso autônomo

**SNC** = Sistema nervoso central

**SST** = sólidos solúveis totais

**TGA** = análise termogravimétrica

**UR** = umidade relativa

**UV** = Ultravioleta

**VCM** = volume corpuscular médio

## LISTA DE CODIFICAÇÃO E COMPONENTES

**A1CP** = alginato de sódio 0,5 % reticulados com cloreto de cálcio 12,5 % utilizando-se o glicerol 6,25 % como agente plastificante com a presença de *Padina pavonica* 1000 mg.mL<sup>-1</sup>

**A2CP** = alginato de sódio 1,0 % reticulados com cloreto de cálcio 10,0 % utilizando-se o glicerol 5,0 % como agente plastificante com a presença de *Padina pavonica* 1000 mg.mL<sup>-1</sup>

**A3CP** = alginato de sódio 1,5 % reticulados com cloreto de cálcio 7,5 % utilizando-se o glicerol 3,75 % como agente plastificante com a presença de *Padina pavonica* 1000 mg.mL<sup>-1</sup>

**A2SP** = alginato de sódio 1,0 % reticulados com cloreto de cálcio 7,5 % utilizando-se o glicerol 5,0 % como agente plastificante

**EC1** = alginato de sódio 1 % m/m

**EAq** = extrato aquoso de *Padina pavonica*

**EEtOH** = extrato alcoólico (etanólico) de *Padina pavonica*

**EHA** = extrato hidroalcoólico (30:70, água:etanol) de *Padina pavonica*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E OBJETIVOS</b>	<b>19</b>
1.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
<b>2</b>	<b>ESTUDO PRELIMINAR DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE EXTRATOS DA MACROALGA <i>PADINA PAVONICA</i> (LINNAEUS) THIVY 1960</b>	<b>23</b>
2.1	REFERENCIAL TEÓRICO	23
<b>2.1.1</b>	<b>Algas marinhas</b>	<b>23</b>
2.1.1.1	Gênero <i>Padina</i>	23
2.1.1.2	<i>Padina pavonica</i> (Linnaeus) Thivy 1960	24
<b>2.1.2</b>	<b>Metabólitos primários e secundários de algas marinhas e suas atividades biológicas</b>	<b>25</b>
2.1.2.1	Atividade antioxidante	27
2.1.2.2	Atividade antimicrobiana	29
2.1.2.3	Atividade cicatrizante	30
2.1.2.4	Atividade analgésica e anti-inflamatória	32
2.1.2.5	Atividade antitumoral	33
2.2	MATERIAIS E MÉTODOS	34
<b>2.2.1</b>	<b>Reagentes e solventes</b>	<b>34</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Meios de cultura</b>	<b>35</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Bactérias e fungos</b>	<b>35</b>
<b>2.2.4</b>	<b>Equipamentos</b>	<b>36</b>
<b>2.2.5</b>	<b>Coleta de <i>P. pavonica</i></b>	<b>36</b>
<b>2.2.6</b>	<b>Produção de extratos de <i>P. pavonica</i></b>	<b>36</b>
<b>2.2.7</b>	<b>Análise qualitativa de substâncias fitoquímica em extratos de <i>P. pavonica</i></b>	<b>37</b>
<b>2.2.8</b>	<b>Determinação do teor de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais</b>	<b>38</b>
<b>2.2.9</b>	<b>Estudo preliminar de propriedades biológicas de extratos de <i>P. pavonica</i></b>	<b>39</b>
2.2.9.1	Atividade antioxidante	39
2.2.9.2	Atividade antimicrobiana	39
2.2.9.2.1	<i>Determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) e bactericidas (CBM) para as bactérias avaliadas</i>	40
2.2.9.2.2	<i>Teste de sensibilidade antifúngica</i>	40
2.2.9.3	Atividade cicatrizante	41
2.2.9.3.1	<i>Cultura celular</i>	41
2.2.9.3.2	<i>Diluição dos extratos</i>	42
2.2.9.3.3	<i>Ensaio de viabilidade celular</i>	42
2.2.9.3.4	<i>Análise morfológica celular</i>	43
2.2.9.3.5	<i>Ensaio de migração celular – Scratch Wound healing</i>	43
2.2.9.4.	Ensaio de atividade biológicas <i>in vivo</i>	44
2.2.9.4.1	<i>Atividade analgésica e anti-inflamatória</i>	44
2.2.9.4.2	<i>Toxicidade aguda</i>	45
2.2.9.4.3	<i>Avaliação antitumoral</i>	47
2.2.9.5	Coleta de sangue: Parâmetros hematológicos e bioquímicos	47
2.2.9.6	Coleta de órgãos	48
2.2.9.7	Análise estatística	48
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
<b>2.3.1</b>	<b>Estudo fitoquímico de extratos de <i>P. pavonica</i></b>	<b>49</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Determinação do teor de compostos fenólicos totais flavonoides totais</b>	<b>50</b>

<b>2.3.3</b>	<b>Estudo preliminar de propriedades biológicas de extratos de <i>P. pavonica</i></b>	51
2.3.3.1	Atividade antioxidante	51
2.3.3.2	Atividade antimicrobiana	51
2.3.3.2.1	<i>CIM e CBM</i>	51
2.3.3.2.2	<i>Sensibilidade antifúngica</i>	52
2.3.3.3	Atividade cicatrizante	53
2.3.3.3.1	<i>Efeito dos extratos obtidos de <i>P. pavonica</i> sob a viabilidade celular de fibroblastos de pele humana</i>	53
2.3.3.3.2	<i>Efeito dos extratos obtidos de <i>P. pavonica</i> sob a morfologia de fibroblastos de pele humana</i>	55
2.3.3.2.3	<i>Efeito do extrato aquoso de <i>P. pavonica</i> sob a migração de fibroblastos de pele humana</i>	57
2.3.3.4	Ensaio de atividades biológicas <i>in vivo</i>	59
2.3.3.4.1	<i>Atividade analgésica e anti-inflamatória</i>	59
2.3.3.4.2	<i>Toxicidade aguda de extratos obtidos de <i>P. pavonica</i> em camundongos albinos Swiis (<i>Mus musculus</i>) fêmeas</i>	61
2.3.3.4.3	<i>Efeito dos extratos obtidos de <i>P. pavonica</i> sob a redução do tumor Sarcoma -180 em camundongos albinos Swiis (<i>Mus musculus</i>) machos.</i>	63
2.3.3.4.4	<i>Parâmetros bioquímicos e hematológicos do sangue</i>	64
<b>3</b>	<b>INCORPORAÇÃO DE <i>P. PAVONICA</i> NA PRODUÇÃO DE REVESTIMENTO COMESTÍVEL ATIVO PARA A CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS TOMMY ATKINS</b>	66
3.1	REFERENCIAL TEÓRICO	66
3.1.1	<b>Cultivar manga (<i>Mangifera indica</i> L.)</b>	66
3.1.2	<b>Perdas pós-colheita em frutas</b>	68
3.1.3	<b>Estudo da qualidade e conservação pós-colheita de mangas</b>	73
3.1.4	<b>Revestimentos comestíveis</b>	76
3.1.5	<b>Biopolímeros utilizados na produção de revestimentos comestíveis</b>	79
3.1.5.1	Alginato de sódio	81
3.1.6	<b>Aditivos incorporados aos revestimentos comestíveis</b>	83
3.1.6.1	Agentes reticulantes	84
3.1.6.2	Agentes plastificantes	85
3.1.6.3	Agentes antioxidantes	87
2.1.6.4	Agentes antimicrobianos	87
3.2	MATERIAIS E MÉTODOS	89
3.2.1	<b>Reagentes e solventes</b>	89
3.2.2	<b>Equipamentos</b>	89
3.2.3	<b>Produção dos revestimentos comestíveis</b>	90
3.2.3.1	Revestimentos à base de alginato de sódio	90
3.2.4	<b>Avaliação das características relacionadas com a aparência dos filmes</b>	91
3.2.5	<b>Estudo das propriedades mecânicas dos filmes</b>	92
3.2.6	<b>Caracterizações químicas e avaliação microscópica dos filmes e superfície das mangas revestidas</b>	92
3.2.6.1	Espectroscopia do Infravermelho com Transformada de Fourier	92
3.2.6.2	Análise Termogravimétrica (TGA)	93
3.2.6.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	93

<b>3.2.7</b>	<b>Estudo da qualidade e conservação pós-colheita de mangas <i>Tommy Atkins</i> não revestidas e submetidas à aplicação de cera de carnaúba e revestimentos de alginato de sódio incorporados ou não com <i>P. pavonica</i></b>	93
3.2.7.1	Avaliação dos efeitos dos revestimentos comestíveis sobre os parâmetros de aparência, cor da casca e polpa, firmeza, perda de massa, sólidos solúveis totais e potencial hidrogeniônico de mangas	94
3.2.7.1.1	<i>Cor da casca e da polpa</i>	95
3.2.7.1.2	<i>Firmeza</i>	95
3.2.7.1.3	<i>Perda de massa</i>	96
3.2.7.1.4	<i>Sólidos Solúveis Totais</i>	96
3.2.7.1.5	<i>Potencial hidrogeniônico (pH)</i>	96
3.3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	97
3.3.1	<b>Aparência dos filmes</b>	97
3.2.2	<b>Estudo das propriedades mecânicas dos filmes</b>	99
3.3.3	<b>Caracterizações químicas e avaliação microscópica dos filmes e superfície das mangas revestidas</b>	99
3.3.4	<b>Estudo da qualidade e conservação pós-colheita de mangas <i>Tommy Atkins</i> não revestidas e submetidas à aplicação da cera de carnaúba e revestimentos à base de alginato de sódio incorporadas ou não com <i>P. pavonica</i></b>	108
3.3.3.1	Avaliação dos efeitos dos revestimentos comestíveis sobre os parâmetros de aparência, cor da casca e polpa, firmeza, perda de massa, sólidos solúveis totais e potencial hidrogeniônico de mangas	108
3.3.3.1.1	<i>Aparência</i>	108
3.3.3.1.2	<i>Cor da casca e da polpa</i>	111
3.3.3.1.3	<i>Características físico-químicas</i>	117
4	<b>CONCLUSÃO</b>	121
5	<b>PERSPECTIVAS</b>	122
	<b>REFERÊNCIAS</b>	123

## 1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Utilizadas há séculos na medicina tradicional, as algas marinhas têm sido vistas por indústrias alimentícias e farmacêuticas como fonte valiosa de compostos ativos importantes no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas naturais.<sup>1</sup> Dentre esses compostos destaca-se a presença de metabólitos primários como as proteínas, peptídeos e aminoácidos; lipídios e ácidos graxos; esteróis, polissacarídeos, compostos fenólicos; vitaminas e minerais<sup>2</sup>. Tais compostos são responsáveis por uma diversidade de efeitos terapêuticos (anti-inflamatório, antinociceptivo<sup>3</sup>, antiviral, antimicrobiano, antioxidante, anticoagulante, anticonvulsivante<sup>4</sup>, antitumoral<sup>5</sup>, antiúlcera e cicatrizante<sup>6</sup>) identificados em diferentes gêneros de algas.

Estudos envolvendo extratos da macroalga marrom *Padina pavonica* têm identificado a presença de atividades biológicas, a exemplo de antioxidante, antibacteriana<sup>7</sup>, antifúngica, antiviral<sup>8</sup> e anticarcinogênica<sup>9</sup>. A presença de compostos como os polissacarídeos (ácido D-glucurônico, L-fucose, D-xilose, D-manose, D-glicose e D-galactose), ácidos graxos (ácido palmítico, oleico e mirístico), compostos fenólicos e terpenóides,<sup>10</sup> justificam a variedade das atividades identificadas.

Diversos esforços têm sido realizados para identificar o potencial farmacológico de compostos naturais, e por isso, a primeira etapa do estudo em questão explorou a realização de ensaios preliminares importantes para a identificação da atividade

<sup>1</sup>SHALABY, E.A. Algae as promising organisms for environment and health, **Plant Signal. Behav.**, v. 6, p. 1338 – 1350, 2011.

<sup>2</sup>HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; ÖZOGUL, Y.; REGENSTEIN, J.M. Marine Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.** v. 14, p. 446–465, 2015.

<sup>3</sup>DELGADO, N.G.; VAZQUEZ, A.I.; SANCHEZ, C.H.; SOTO DEL VALLE, R.M. GOMEZ, Y.S.; ALFONSO, A.M.S. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of methanolic extract from red seaweed *Dichotomaria obtusata*. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 49, p. 65 – 74, 2013.

<sup>4</sup>DANG, H.T.; LE, H.J.; YOO, E.S.; SHINDE, P.B.; LEE, Y.M.; HONG, J.; KIM, D.K.; JUNG, J.H. Anti-inflammatory constituents of the red alga *Gracilariaverrucosa* and their synthetic analogues, **J. Nat. Prod.**, v. 71, p. 232 –240, 2008.

<sup>5</sup>LAKMAL, H.H.C.; SAMARAKOON, K. W.; LEE, W.; LEE, J. Anticancer and antioxidant effects of selected Sri Lankan marine algae, **J. Sci. Found**, v. 42, p. 315 – 323, 2014.

<sup>6</sup>NAGAOKA, M.; SHIBATA, H.; KIMURA-TAKAGI, I. Antiulcer effects and biological activities of polysaccharides from marine algae. **Biofactors**, v.12, p. 267 – 274, 2000.

<sup>7</sup>FAYADA, S.; NEHMÉA, R.; TANNOURY, M.; LESELLIER, E.; PICHONC, C.; MORIN, P. Macroalga *Padina pavonica* water extracts obtained by pressurized liquid extraction and microwave-assisted extraction inhibit hyaluronidase activity as shown by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 1497, p. 19-27, 2017.

<sup>8</sup>OMEZZINE, F.; HAOUALA, R.; AYEB, A. E.; BOUGHANMI, N. Allelopathic and antifungal potentialities of *Padina pavonica* (L.) extract. **Journal of Plant Breeding and Crop Science**, v. 1.p. 94-203, 2009.

<sup>9</sup>AL-ENAZI, N. M.; AWAAD, A.; ZAIN, M. E.; ALQASOUMI, A. I. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Laurencia catarinensis*, *Laurencia majuscula* and *Padina pavonica* extracts. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 26, p. 44-52, 2018.

<sup>10</sup>SMITHSONIAN MARINE STATION AT FORT PIERCE. Indian River Lagoon Species Inventory. Disponível em: <[https://www.sms.si.edu/irlspec/Padina\\_pavoni.htm](https://www.sms.si.edu/irlspec/Padina_pavoni.htm)> Acesso em: jan. 2019.

antioxidante, antimicrobiana, cicatrizante, analgésica, anti-inflamatória e antitumoral de extratos de *P. pavonica*. Uma vez que a constituição química e conseqüentemente o potencial biológico de algas marinhas varia de acordo com a localização e período da coleta, bem como com a metodologia e solventes escolhidos para a obtenção dos extratos; o estudo descrito se faz imprescindível para a identificação da viabilidade dos extratos. Estes destacam-se ainda por terem sido obtidos a partir de processos de extração considerados de custo e tempo de obtenção baixos. Além disso, algumas das avaliações foram inéditas para a espécie estudada, como o caso dos ensaios antimicrobianos, e inéditos para o gênero *Padina*, a exemplo do potencial cicatrizante.

Explorando o potencial antioxidante e antimicrobiano do extrato aquoso de *P. pavonica*, a segunda etapa do trabalho consistiu no desenvolvimento de um novo revestimento comestível ativo à base de alginato de sódio incorporado com *P. pavonica*. O estudo avaliou a influência do revestimento na conservação pós-colheita de mangas *Tommy Atkins* armazenadas a 10 °C por 20 dias.

A manga, caracterizada por sua aparência, aroma e sabor atraentes; composição rica em fibras, vitaminas, minerais, polifenóis e terpenóides, o que lhe confere propriedades nutricionais e antioxidantes, é a fruta mais demandada pela exportação brasileira<sup>11</sup>. No entanto, por ser uma fruta altamente perecível, métodos que atuem no combate a fenômenos que limitem seu potencial de armazenamento, manuseio e transporte e, conseqüentemente, reduzam a taxa de perda pós-colheita que é de cerca de 28 %<sup>12</sup> devem ser avaliados.

Métodos como a refrigeração, uso de atmosfera modificada e de radiação gama, têm sido utilizados por fazendas produtoras de manga<sup>13,14</sup>. A cera de carnaúba também tem sido utilizada, no entanto sua eficiência é limitada pela ausência de compostos ativos em sua formulação, o que não confere à cera propriedades biológicas importantes para a manutenção da qualidade pós-colheita da fruta.<sup>15</sup> A

<sup>11</sup>SILVA, L. A. **Revestimentos comestíveis em mangas: Propriedades e efeitos sobre a qualidade e conservação pós-colheita da fruta**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 30. 2015.

<sup>12</sup>EMBRAPA, **Perdas na Cadeia de Comercialização da Manga**. Disponível em: <[www.infoteca.cnptia.embrapa.br/](http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/)>. Acesso em: 21 de mar. de 2020.

<sup>13</sup>FIGUEIREDO NETO, A.; ALMEIDA, F. A. C.; CAVALCANTE, I. H. L. **Manga: Maturação, colheita e conservação**. Juazeiro: Fundação Univasf, 2017.

<sup>14</sup>DURIGAN, J. F.; TEIXEIRA, G. H. de A.; CASTANHARO, N. M.; DOMARCO, R. E. Postharvest conservation of "Tommy Atkins" mango fruit influenced by gamma radiation, wax, hot water, and refrigeration. **Acta Horticulturae**, p.601-604, 2004.

<sup>15</sup>ASSIS, O. G.; BRITTO, D.; FORATO, L. A. **O Uso de Biopolímeros como Revestimentos Comestíveis Protetores Para Conservação de Frutas in natura e Minimamente Processadas**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009.

busca por alternativas comprometidas com as questões ambientais e a segurança alimentar do consumidor final, com preços mais acessíveis, disponíveis em toda a etapa de distribuição e que atuem inibindo a proliferação de bactérias e fungos, aumentando a vida útil da manga torna os revestimentos comestíveis ativos uma alternativa valiosa.

Na conservação de mangas *Tommy Atkins*, os revestimentos à base do biopolímero alginato de sódio reduziu a taxa respiratória das frutas revestidas, com aumento de seu tempo de prateleira.<sup>16</sup> Além disso, estudos recentes sobre a incorporação de algas marinhas em revestimentos aplicados em mangas apresentou menor alteração na coloração da casca e menores índices de perda de massa em mangas armazenadas à temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C) durante 3 semanas.<sup>17</sup>

Assim, o objetivo geral do trabalho é avaliar a partir de ensaios preliminares o potencial biológico (antioxidante, antimicrobiano, cicatrizante, analgésico, anti-inflamatório e antitumoral) de extratos de alga marinha *Padina pavonica*, incorporando o extrato aquoso da alga em filmes à base de alginato de sódio para o desenvolvimento de revestimento comestível ativo utilizado na conservação pós-colheita de mangas *Tommy Atkins*.

## 1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar, a partir de avaliação qualitativa, os principais metabólitos secundários presentes em extratos aquoso, alcoólico e hidroalcoólico de *Padina pavonica*;
- Determinar o conteúdo fenólico e flavonoide total nos extratos de *Padina pavonica*;
- Avaliar as propriedades biológicas de extratos de *Padina pavonica* a partir de ensaios *in vitro* [capacidade de sequestro de radical antioxidante; determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Bactericida (CBM); sensibilidade antifúngica; viabilidade, morfologia e migração celular] e *in vivo* (contorções abdominais; edema de orelha; toxicidade aguda e avaliação antitumoral);

<sup>16</sup>CHIUMARELLI, M.; FERRARI, C. C.; SARANTOPOULOS, C. I. G. L.; HUBINGER, M. D. Fresh cut "Tommy Atkins" mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch or sodium alginate. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, v. 12, p. 381 – 387, 2011.

<sup>17</sup>EBRAHIMI, F.; RASTEGAR, S. Preservation of mango fruit with guar-based edible coatings enriched with *Spirulina platensis* and *Aloe vera* extract during storage at ambient temperature. **Sci. Hortic.**, v. 265, 2020.

- Produzir revestimentos comestíveis à base de alginato de sódio incorporados com *Padina pavonica*;
- Avaliar as características relacionadas com a aparência dos filmes produzidos;
- Estudar as propriedades mecânicas dos filmes;
- Caracterizar os filmes por meio de espectroscopia de infravermelho, análise termogravimétrica e microscopia eletrônica de varredura.
- Verificar o efeito dos revestimentos comestíveis na conservação pós-colheita de mangas *Tommy Atkins*.

## 2 ESTUDO PRELIMINAR DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE EXTRATOS DA MACROALGA PADINA PAVONICA (LINNAEUS) THIVY 1960

### 2.1 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 2.1.1 Algas marinhas

As algas marinhas ou macroalgas referem-se a milhares de espécies, essencialmente aquáticas, capazes de tolerar inúmeras alterações ambientais, inclusive antrópicas, auxiliando na recuperação de ambientes aquáticos. Geralmente encontram-se ancoradas no fundo do mar ou em outras estruturas sólidas por “fixações” semelhantes a raízes.<sup>18</sup>

O termo inclui as algas verdes (*Chlorophyta*), vermelhas (*Rhodophyta*) e marrons (*Phaeophyta*). As algas verdes compreendem entre 9.000 e 12.000 espécies, com a maioria delas presentes em ambientes de água doce, geralmente presa a rochas e madeira submersas ou como espuma em água estagnada. As vermelhas detêm cerca de 6.000 espécies, predominantemente marinhas e frequentemente encontradas ligadas a outras plantas costeiras. Já as algas marrons, com cerca de 1.500 espécies, podem ser encontradas ao longo das costas rochosas continentais.<sup>19</sup>

##### 2.1.1.1 Gênero *Padina*

O gênero *Padina* pertencente à família *Dictyotaceae*, ordem *Dictyales*, classe *Phaeophyceae*, contém 75 espécies, e foi descoberto em 1763. É encontrado principalmente em recifes rochosos de águas marinhas tropicais e subtropicais.<sup>20</sup>

Seu talo é ereto ou prostrado, preso por um suporte rizoidal, com até 20 cm de comprimento, flabelado ou lacerado frequentemente na base. Seus segmentos têm 1 – 5 cm de largura, calcificados em uma ou ambas as superfícies. O talo é composto por 2 – 8 células espessas em fase jovem e possui uma estrutura em forma de leque com uma margem arredondada lisa coberta por pelos feoficoteanos.<sup>20</sup>

---

<sup>18</sup>VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 139-145, 2004.

<sup>19</sup>Britannica, T. Editors of Encyclopaedia. "kelp." Encyclopedia Britannica, February 27, 2020. <https://www.britannica.com/science/kelp>.

<sup>20</sup>RUSHDI, M. I.; ABDEL-RAHMAN, I. A. M.; SABER, H. ATTIA, E. Z.; M. H. A.; ABDELMOHSEN, U. R. A review on the pharmacological potential of the genus *Padina*. **South African Journal of Botany**, v. 141, p. 37 – 48, 2021.

As espécies de *Padina* são utilizadas em muitas aplicações populares na nutrição humana e são consideradas uma rica fonte de vitaminas, carotenoides, proteínas e minerais.<sup>20</sup>

#### 2.1.1.2 *Padina pavonica* (Linnaeus) Thivy 1960

A alga marinha marrom *Padina pavonica*, representada na Figura 1, também conhecida como cauda do pavão, é amplamente encontrada em ambientes de climas temperados a tropicais, a exemplo da costa brasileira no Oceano Atlântico e do Mar Mediterrâneo.<sup>7</sup>

**Figura 1** – Alga marinha marrom *Padina pavonica* coletada na praia de Serrambi – PE.



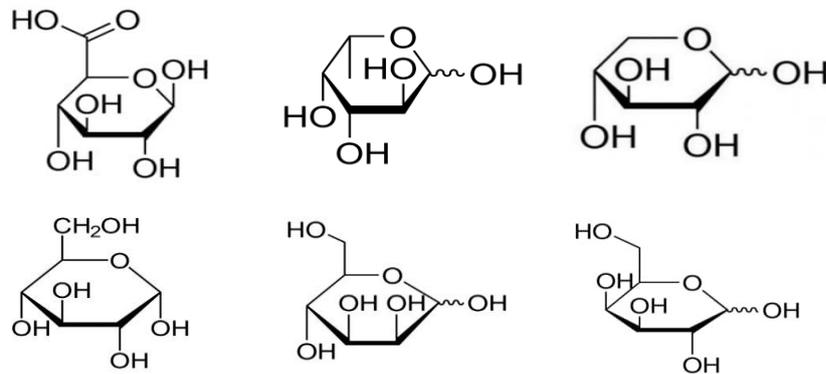
Fonte: A autora (2022)

Pode ser vista em fragmentos de conchas e rochas, em leitos de ervas marinhas e recifes de coral, em planícies de maré e ligadas a raízes de manguezais. O seu tálus ou corpo é de coloração amarronzada, formando grupos em forma de leque com dimensões que atingem até 22 cm de altura e 37 cm de largura. Sua lâmina é calcificada, mais fortemente acima e levemente abaixo, e se enrola para dentro, perto das bordas. Ambas as superfícies superior e inferior da lâmina apresentam pêlos minúsculos, dispostos em uma série de faixas com uma distância de aproximadamente 1,5 a 6 mm. As lâminas se prendem ao substrato por meio de uma fixação segura, que geralmente é emaranhada.<sup>7,10</sup>

*P. pavonica* é uma macroalga marrom pertencente ao Filo *Phaeophyta*, Classe *Phaeophyceae*, Ordem *Dictyotales*, Família *Dictyotaceae*. Sua composição se dá de polissacarídeos que consistem em resíduos de ácido D-glucurônico, L-fucose, D-xilose, D-manose, D-glicose e D – galactose (Figura 2); ácidos graxos (ácido palmítico,

oleico e mirístico), além de compostos fenólicos e terpenóides<sup>10</sup>, o que justifica sua diversidade de atividades biológicas.

**Figura 2** – Estrutura química dos resíduos de ácido D-glucurônico, L-fucose, D-xilose, D-manose, D-glicose e D – galactose, na ordem da esquerda para a direita e de cima para baixo.



Fonte: Google imagens (2022)

### 2.1.2 Metabólitos primários e secundários de algas marinhas e suas atividades biológicas

Por viverem em habitats complexos, as algas estão expostas a condições extremas, o que faz com que elas produzam uma grande variedade de substâncias ativas específicas e potentes biologicamente. Dentre essas substâncias destacam-se metabólitos primários e secundários como proteínas, peptídeos e aminoácidos; lipídios e ácidos graxos; esteróis, polissacarídeos, compostos fenólicos; vitaminas e minerais.<sup>2</sup> Essa variedade de metabólitos fez com que as algas marinhas, utilizadas há séculos na medicina tradicional, ganhasse a atenção de indústrias farmacêuticas e alimentícias, principalmente como fonte de compostos bioquimicamente ativos importantes no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas naturais.<sup>1</sup>

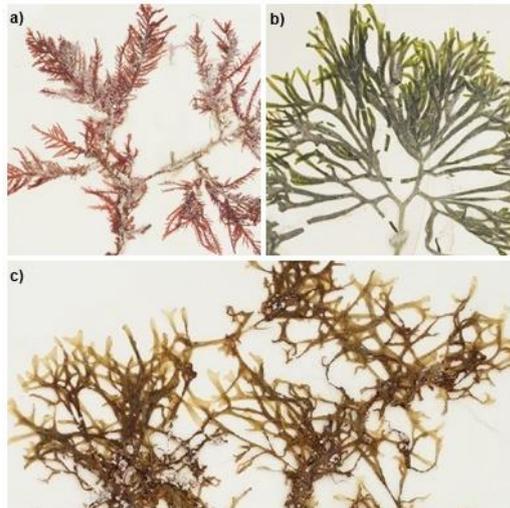
Durante as últimas décadas, as algas marinhas têm demonstrado efeitos terapêuticos promissores como anti-inflamatório, antinociceptivo<sup>3</sup>, antiviral, antimicrobiano, antioxidante, anticoagulante, anticonvulsivante<sup>4</sup>, antitumoral<sup>5</sup>, antiúlcera e cicatrizante<sup>6</sup>.

Nas algas marrons (*Phaeophyta*), por exemplo, são encontradas fucanas sulfatadas e nas vermelhas (*Rhodophyta*) galactanas sulfatadas, ambos polissacarídeos com atividades biológicas importantes. Já nas verdes (*Chlorophyta*),

encontram-se polissacarídeos sulfatados mais heterogêneos ricos em galactose, manose, xilose, arabinose, glicose e ácidos urônicos.<sup>21</sup>

A exemplo (Figura 3) tem-se a alga vermelha *Amansia multifida* J.V. Lamouroux 1809 caracterizada por apresentar atividade antimicrobiana, antiviral e anticoagulante.<sup>22</sup> A alga verde *Codium isthmocladum* Vickers 1905 com sua atividade anti-inflamatória e antinociceptiva.<sup>22</sup> E as algas marrons com atividade anticoagulante, anti-inflamatória, antitrombótica, antioxidante e antitumoral, como por exemplo a alga *Dictyopteris delicatula* J.V.Lamouroux 1809 que apresentou atividade anticoagulante e antioxidante.

**Figura 3** – a) Alga vermelha *Amansia multifida*; b) Alga verde *Codium isthmocladum*; c) Alga marrom *Dictyopteris delicatula*.



Fonte: Macroalgal Herbarium Portal (2020)

Diversas atividades já foram relacionadas ao potencial de extratos de *P. pavonica*. A uma concentração de 5,59 mg.mL<sup>-1</sup>, o percentual de atividade antioxidante para o extrato etanólico da alga foi de 77,6 %; que também apresentou eficácia contra bactérias do tipo *Bacillus subtilis* (21,7 ± 1,5 mm; 1,95 mg.mL<sup>-1</sup>), *Staphylococcus aureus* (21,7 ± 0,58 mm; 1,95 mg.mL<sup>-1</sup>), *Streptococcus pyogenes* (20,7 ± 1,2 mm; 1,95 mg.mL<sup>-1</sup>) e *Acinetobacter baumannii* (20,1 ± 1,2 mm; 3,9 mg.mL<sup>-1</sup>). O extrato alcoólico da alga também foi eficaz contra células do carcinoma de pulmão, intestino, cólon, cervical, laringe, hepatocelular e mama, com respectivas

<sup>21</sup>CORDEIRO, S. L. **Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória de uma fração rica em heterogalactana sulfatada extraída da alga *Codium isthmocladum* (VICKERS 1905)**. 2013. 87 f. Tese (Pós-graduação em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2013.

<sup>22</sup>SOUZA, L. A. R., AZAVEDO, T. C. G., SILVA, F. R. F., CARDOSO, M. L., XAVIER, C. A. C., ROCHA, H. A. O., DORES, C. M. P. G., LEITE, E. L. Caracterização química e ação farmacológica de polissacarídeos sulfatados extraídos da alga marinha *Amansia multifida*. **Revista Infarma**, v. 19, n. 3/4, p. 1-5, 2013.

concentração inibitória necessária para inibir *in vitro* o processo biológico em 50 % (IC<sub>50</sub>) de 58,9; 115,0; 54,5; 59,0; 101,0; 101,0 e 97,6 mg.mL<sup>-1</sup>.<sup>9</sup> Sua atividade citotóxica contra células de carcinoma epidérmico bucal humano também foi avaliada, com resultados que mostraram que uma dose de 0,01 mg.mL<sup>-1</sup> do extrato diclorometano de *P. pavonica* foi suficiente para obter 100 % de inibição da sobrevivência das células tumorais.<sup>7</sup> Resultados positivos também foram observados para a atividade antiviral contra o vírus da herpes simplex (HSV) e o vírus da hepatite A (HAV), mostrando uma atividade antiviral entre 72 e 73 % a uma concentração de 0,02 mg.mL<sup>-1</sup> da alga em seu extrato etanólico.<sup>7</sup>

Também se observou uma melhora no tom e textura da pele, reduzindo rugas devido à sua capacidade de restaurar o metabolismo do cálcio na epiderme. Este promove a renovação dos polissacarídeos glicosaminoglicos (GAGS), aumentando a sua ação protetora de modo a fornecer hidratação para suportar a flexibilidade e elasticidade. Observou-se ainda auxílio na saúde de ossos e cartilagens.<sup>10</sup>

Outros estudos têm mostrado a viabilidade em utilizar *P. pavonica* em sistemas agrícolas. Um exemplo, é a sua utilização como fertilizante eficaz que promove o crescimento das culturas enquanto retarda o crescimento de fungos prejudiciais. Outro, é a eficiência do extrato aquoso da alga em inibir o crescimento de fungos como *Fusarium graminearum*, *Penicillium expansum* e *Alternaria alternata* em 95,83; 80,76 e 63,33 %, respectivamente.<sup>8</sup>

Somado às atividades biológicas, as algas apresentam a vantagem de possuir elevada disponibilidade e potencial para o cultivo, o que motiva o desenvolvimento de novas terapias que utilizem dos compostos bioquímicos ativos presentes nessas substâncias.<sup>23</sup>

#### 2.1.2.1 Atividade antioxidante

A atividade metabólica normal produz constantemente radicais livres, ou seja, átomos ou moléculas que apresentam um ou mais elétrons não pareados, constituindo-se espécies instáveis, com meia-vida muito curta e que reagem rapidamente com diversos alvos celulares a partir da transferência de elétrons em

---

<sup>23</sup>CÂMARA, R. B. G. **Atividade anticoagulante e antioxidante de extratos brutos ricos em polissacarídeo sulfatados das macroalgas marinhas marrons *Canistrocarpus cervicornis*, *Dictyota mertensii* e *Dictyopteris delicatula* e de heterofucanas de *Canistrocarpus cervicornis***. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2010.

várias reações bioquímicas. Os radicais livres possuem diferentes funções no organismo, como a produção de energia, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes.<sup>24,25</sup>

O excesso de radicais livres pode acarretar efeitos deletérios, tais como danos ao ácido desoxirribonucleico (DNA), proteínas e organelas celulares, como mitocôndrias e membranas, provocando alterações na estrutura e funções celulares. Assim, encontram-se envolvidos em diversas patologias a exemplo do câncer, doenças cardiovasculares, degenerativa, neurológicas e anti-inflamatórias; choque hemorrágico; catarata e disfunções cognitivas.<sup>24,25,26</sup> O aumento na produção de radicais livres pode ocorrer devido à hiperóxia (aumento na quantidade de oxigênio em tecidos e órgãos) e à exposição das células ou indivíduos a certos componentes químicos, à radiação ou à inflamação tecidual local, resultando em estresse oxidativo, caracterizado por um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, no qual ocorre predominância de radicais livres.<sup>27</sup>

Como consequência, os organismos vivos produzem uma rede complexa de metabólitos e enzimas que juntos regeneraram ou previnem os danos resultantes da oxidação em componentes celulares como o DNA, proteínas e lipídios, exercendo seu papel como agentes antioxidantes.<sup>25</sup> Assim, os antioxidantes são substâncias que impedem a formação de radicais livres ou a etapa de propagação dessas reações, doando hidrogênio de forma que a molécula alvo fique estável. Os antioxidantes podem também ser de origem sintética, a exemplo do butilhidroxianisol (BHA) ou de origem natural como os terpenos e compostos fenólicos, encontrados em plantas terrestres, aquáticas e algas marinhas, por exemplo.<sup>28</sup>

As algas marinhas, como outras plantas fotossintetizantes, são expostas à luz e ao oxigênio, que induzem a formação de radicais livres e outros agentes oxidantes fortes. Mas a falta de dano oxidativo nos componentes estruturais das algas marinhas

---

<sup>24</sup>SILVA, T. C. L.; ALMEIDA, C. C. B. R.; VERAS FILHO, J.; PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; AMORIM, E. I. C.; COSTA, E. P.; ARAÚJO, J. M. Atividades antioxidante e antimicrobiana de *Ziziphus joazeiro* mart. (Rhamnaceae): avaliação comparativa entre cascas e folhas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 2, p. 193-199, 2011.

<sup>25</sup>ACHKAR, M. T.; NOVAES, G. M.; SILVA, M. J. D.; VILEGAS, W. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 2, p. 398-406, 2013.

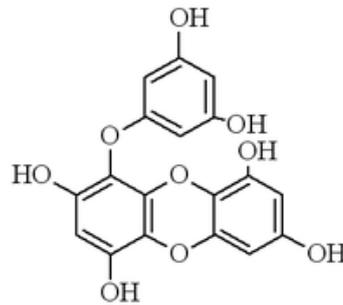
<sup>26</sup>ARDESTANI, A.; YAZDANPARAST, R. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. **Food chemistry**, v. 104, n. 1, p. 21-29, 2007.

<sup>27</sup>EL-HABIT, O. H. M.; SAADA, H. N.; AZAB, Kh. Sh.; ABDEL-RAHMAN, M.; EL-MALAH, D. F. The modifying of beta-carotene on gamma radiation-induced elevation of oxidative reactions and genotoxicity in males. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 466, n. 2, p. 179-185, 2000.

<sup>28</sup>FOOD INGREDIENTS BRASIL. Os antioxidantes, n. 6, p. 16-30. Disponível em: <www.revista-fi.com>. Acesso em: mar. de 2019.

e sua estabilidade à oxidação durante o armazenamento sugerem que suas células possuem sistemas de defesa antioxidante.<sup>29</sup> Potencial antioxidante foi verificado para taninos como o florotanino (Figura 4) isolado de algas marrons do gênero *Fucaceae*, *Sargassaceae*, *Cystoseiraceae* e *Laminariaceae*.<sup>30</sup>

**Figura 4** – Estrutura química do florotanino isolado de algas marrons.



Fonte: A autora (2022)

#### 2.1.2.2 Atividade antimicrobiana

Bactérias, fungos e vírus são responsáveis por uma série de doenças humanas. A invasão microbiana e sua virulência podem causar danos às células hospedeiras.<sup>31</sup>

Antimicrobianos eficazes foram desenvolvidos ao longo dos anos; no entanto, foi observado um aumento na resistência a esses agentes. A resistência a esses medicamentos tornou-se um dos grandes desafios das infecções, condicionando a necessidade de busca de novos agentes para esse fim.<sup>32</sup>

Os produtos naturais ainda são uma das principais fontes de novas moléculas de agentes ativos. E podem ser derivados de substâncias como bactérias procarióticas, microrganismos eucarióticos, plantas e algas marinhas.<sup>32</sup> Atividade antimicrobiana<sup>33</sup> foi confirmada, por exemplo, para o cicloeudesmol (Figura 5) isolado da alga *Chondria oppositoclada* E.Y.Dawson, 1945, que apresentou atividade contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

<sup>29</sup>IMÉNEZ-ESCRIG, A.; JIMÉNEZ-JIMÉNEZ, I.; SAURA-CALIXTO, P. R. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *J Sci Food Agric*, v. 81, p. 530 – 534, 2001.

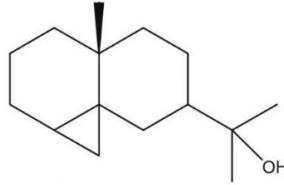
<sup>30</sup>SHIBATA, T.; KAWAGUCHI, S.; HAMA, Y.; INAGAKI, M.; YAMAGUCHI, K.; NAKAMURA, T. Local and chemical distribution of phlorotannins in brown algae. *J Appl Phycol*, v. 16, p. 291 – 296, 2004.

<sup>31</sup>ANGIOLELLA, L.; SACCHETTI, G.; EFFERTH, T. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Naturak Compounds. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.

<sup>32</sup>BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, A. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 6, p. 71 – 79, 2016.

<sup>33</sup>FENICAL, W.; SIMS, J.J. Cycloeudesmol, an antibiotic cyclopropane conatinnin sesquiterpene from the marine alga, *Chondria oppositoclada* Dawson. *Tetrahedron Lett.*, v. 13, p. 1137 – 1140, 1974.

**Figura 5** – Estrutura química do cicloeudesmol isolado de alga marinha.



Fonte: A autora (2022)

### 2.1.2.3 Atividade cicatrizante

A ferida resulta de uma abertura ou ruptura da pele.<sup>34</sup> A cicatrização anormal de feridas pode afetar milhões de pessoas em todo o mundo e levar a complicações graves, como feridas crônicas e fibrose.<sup>35</sup> As feridas crônicas são o resultado de um processo de reparo tecidual desregulado para restaurar uma barreira cutânea estrutural e funcionalmente intacta.<sup>36</sup> Elas são frequentemente associadas a condições subjacentes que incluem doenças vasculares, diabetes e envelhecimento.<sup>37</sup> Esses fatores sistêmicos múltiplos e variáveis, juntamente com deficiências teciduais locais, tornam difícil modelar e replicar o tecido.<sup>36</sup>

O processo de cicatrização de feridas envolve esforços coordenados de vários tipos de células, incluindo queratinócitos, fibroblastos, células endoteliais, macrófagos e plaquetas. A migração, infiltração, proliferação e diferenciação dessas células causam uma resposta inflamatória, que é essencial para a formação de novo tecido e leva ao fechamento da ferida.<sup>38</sup>

Os fibroblastos desempenham papéis críticos na cicatrização de feridas. Eles proliferam e migram para a área da ferida, auxiliando na formação de um tecido de granulação vascular resistente que protege o leito da ferida através da síntese de nova matriz extracelular, auxiliando na migração e remodelação dos queratinócitos.<sup>39</sup> À

<sup>34</sup>TRIVEDI, M. K.; BRANTON, A.; TRIVEDI, A.; NAYAK, G.; GANGWAR, M.; JANA, S. Wound Healing Activity of Consciousness Energy Healing Treatment on HFF-1 Cells and DMEM Using Scratch Assay. **Investigative Dermatology and Venereology Research**, v. 4, p. 50 – 54, 2018.

<sup>35</sup>JONES, R. E.; FOSTER, D. S.; LONGAKER, M. T. Management of chronic wounds-2018. **J Am Med Assoc**, v. 14, p. 1481 – 1482, 2018.

<sup>36</sup>PASTAR, I.; LIANG, L.; SAWAYA, A. P.; WIKRAMANAYAKE, T. C.; GLINOS, G. D.; DRAKULICH, S.; CHEN, V.; STOJADINOVIC, O.; DAVIS, S. C.; TOMIC-CANIC, M. Preclinical models for wound-healing studies. **Skin Tissue Models**, p. 223 – 253, 2018.

<sup>37</sup>EMING, S. A.; MARTIN, P.; TOMIC-CANIC, M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. **Science Translational Medicine**, v. 6, 2014.

<sup>38</sup>KANAZAWA, S.; FUJIWARA, T.; MATSUZAKI, S.; SHINGAKI, K.; TANIGUCHI, A.; MIYATA, S.; TOHYAMA, M.; SAKAI, Y.; YANO, K.; HOSOKAWA, K.; KUBO, T. bFGF Regulates PI3-Kinase-Rac1-JNK Pathway and Promotes Fibroblast Migration in Wound Healing. **PLoS ONE**, v. 5, 2010.

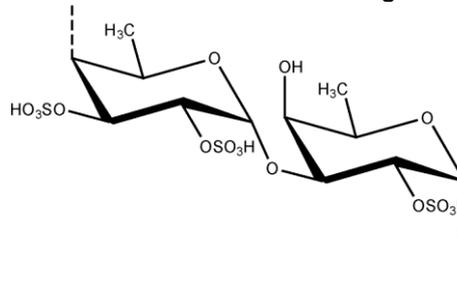
<sup>39</sup>SCHAFFER, M.; WERNER, S. Transcriptional control of wound repair. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 23, p. 69 – 92, 2007.

medida que os fibroblastos migram, eles também criam tensão na ferida; que faz com que eles se diferenciem em miofibroblastos, que auxiliam no fechamento da ferida.<sup>40</sup>

Metabólitos secundários como taninos, triterpenóides e alcalóides, encontrados em algas marinhas, foram identificados como responsáveis por afetar uma ou mais fases do processo de cicatrização de feridas.<sup>41,42</sup>

Polissacarídeos, como o fucoidano (Figura 6) obtidos em algas do gênero *Padina*, como a *P. tetrastromatica* Hauck, 1887 e *P. boergesenii* Allender & Kraft, 1983 foram usados para preparar uma pomada tópica a 2 % no modelo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, mostrando a melhora em alguns sinais de cicatrização, incluindo angiogênese, formação de fibras de colágeno e formação de epiderme.<sup>43</sup>

**Figura 6** – Estrutura química para o fucoidano isolado de algas do gênero *Padina*.



Fonte: A autora (2022)

#### 2.1.2.4 Atividade analgésica e anti-inflamatória

A dor é uma sensação importante, pois é através dela que o Sistema Nervoso Central (SNC) sinaliza um processo de agressão ao organismo com risco para a sua integridade física.<sup>44</sup> Este alerta desencadeia um conjunto de reações de adaptação, de ordem psicológica, autonômica e motora, visando afastar o organismo da causa da agressão, preservando-o.<sup>45</sup>

<sup>40</sup>GOFFIN, J.M.; PITTET, P.; CSUCS, G.; LUSSI, J.W.; MEISTER, J.J.; HINZ, B. Focal adhesion size controls tension-dependent recruitment of alpha-smooth muscle actin to stress fibers. **Journal of Cell Biology**, v. 172, p. 259 – 268, 2006.

<sup>41</sup>HENSHAW, F.R.; BOUGHTON, P.; LO, L.; MCLENNAN, S.V.; TWIGG, S.M. Topically applied connective tissue growth factor/CCN2 improves diabetic preclinical cutaneous wound healing: potential role for CTGF in human diabetic foot ulcer healing. **J. Diabetes Res**, p. 1 – 10, 2015.

<sup>42</sup>MISIC, A.M.; GARDNER, S.E.; GRICE, E.A. The wound microbiome: modern approaches to examining the role of microorganisms in impaired chronic wound healing. **Adv. Wound Care (New Rochelle)**, v. 3, p. 502 – 510, 2014.

<sup>43</sup>KORDJAZI, M., SHABANPOUR, B., ZABIHI, E., FARAMARZI, M.A., AHMADI GAVLIGHI, H., FEGHHI, S.M.A., HOSSEINI, S.A. Investigation of effects of fucoidan polysaccharides extracted from two species of *Padina* on the wound-healing process in the rat. **Turk. J. Vet. Anim. Sci**, v. 41, p. 106 – 117, 2017.

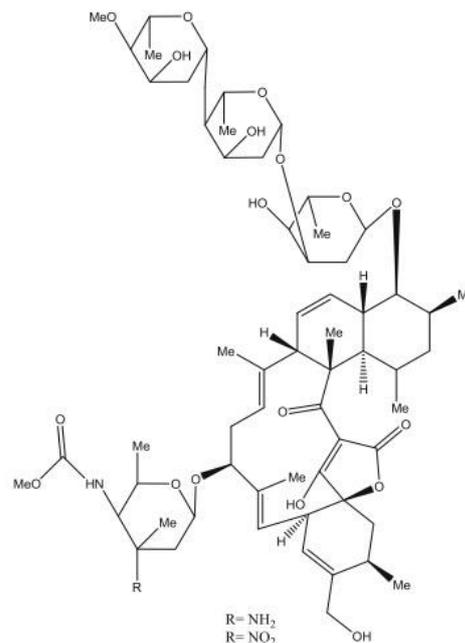
<sup>44</sup>OLIVEIRA, L. F. Dor: fisiopatologia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 28, p. 227 – 288, 1979.

<sup>45</sup>VITOR, A. O.; PONTE, E. L.; SOARES, P. M.; CARVALHO, K. de M.; RODRIGUES, M. E. de S.; PATROCÍNIO, M. C. A.; LIMA, R. C. de S.; VASCONCELOS, A. M. M. Psicofisiologia da dor: uma revisão bibliográfica. **RECIIS**, v. 2, p. 86 – 97, 2008.

No aspecto inflamatório, a dor pode ocorrer em resposta à lesão tecidual e resposta inflamatória subsequente, através de mudanças que ocorrem na tentativa de proteger o corpo contra um estímulo potencialmente nocivo e envolve a participação de mediadores inflamatórios no local da lesão. Estes mediadores incluem bradicinina, substância P, prostaglandinas, óxido nítrico (NO), citocinas e quimiocinas.<sup>46</sup>

Compostos como alcaloides e polissacarídeos sulfatados isolados de algas já foram apresentados como moléculas potentes com ações anti-inflamatórias.<sup>47,48</sup> Dois novos anti-inflamatórios, lopoforinas A e B (Figura 7 “a” e “b”), foram isolados da alga marinha marrom *Lobophora variegata* (J.V.Lamouroux) Womersley ex E.C.Oliveira 1977 e mostraram-se ser potentes inibidores do edema induzido por forbol miristato acetato (PMA) no ensaio de orelha de camundongos quando administrados por via tópica e intraperitoneal.<sup>49</sup>

**Figura 7** – Estrutura química para a) lopoforinas A e b) lopoforinas B isoladas de algas marrons.



Fonte: A autora (2022)

<sup>46</sup>LINLEY, J. E.; ROSE, K.; OOI, L.; GAMPER, N. Understanding inflammatory pain: ion channels contributing to acute and chronic nociception. **European Journal Physiology**, v. 459, p. 657 – 669, 2010.

<sup>47</sup>BAMIAS, G.; COMINELLI, F. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts. **Current opinion in gastroenterology**, v 23, p. 365 – 369, 2007.

<sup>48</sup>CARNEIRO, J. G.; RODRIGUES, J. A., DE SOUSA, O. V. E.; SOUZA, R. B.; QUINDERÉ, A. L.; COURA, C. O.; DE ARAÚJO, I. W.; CHAVES, H. V.; BEZERRA, M. M.; BENEVIDES, N. M. Peripheral antinociception and anti-inflammatory effects of sulphated polysaccharides from the alga *Caulerpa mexicana*. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, v. 115, p. 335 – 42, 2014.

<sup>49</sup>JIANG, Z. D.; JENSEN, P.R., FENICAL, W. Lobophorins A and B, new antiinflammatory macrolides produced by a tropical marine bacterium. **Biog. Med. Chem. Lett.**, v. 9, p. 2003 – 2006, 1999.

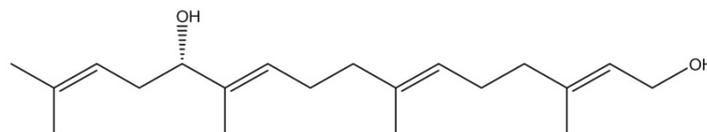
### 2.1.2.5 Atividade antitumoral

O câncer pode ser definido como sendo a expansão clonal de células malignas e mutantes, resultantes de um crescimento desordenado das células e/ou do escape a apoptose celular,<sup>50</sup> o que acaba promovendo a invasão de tecidos e órgãos, fazendo-os perder suas funcionalidades normais. Também conhecido como neoplasia maligna, que significa novo crescimento,<sup>51</sup> o câncer é considerado uma doença multifatorial e heterogênea. Heterogênea porque se desenvolve a partir de células saudáveis alteradas; e multifatorial, pois os eventos hereditários ligados ao genoma e aos fatores externos contribuem para o desequilíbrio homeostático na célula, favorecendo a ocorrência de eventos como as modificações cromossômicas e alterações genéticas.<sup>50</sup>

O desenvolvimento de agentes antitumorais alternativos vai além da busca por novos compostos biologicamente ativos. É preciso que esses possam ultrapassar barreiras, como por exemplo, ao mecanismo de resistência associados à sua administração, fenômeno conhecido como Resistência a múltiplas drogas, do inglês *Multidrug Resistance* (MDR), reduzindo ou eliminando também, efeitos colaterais como hematomas e sangramentos, perda de cabelo, náusea, vômitos e fadiga.<sup>52</sup>

Produtos naturais como as algas marinhas têm apresentado resultados positivos quanto ao potencial antitumoral. O bifurcadiol (Figura 8), um diterpeno citotóxico linear isolado da alga marrom *Bifurcaria bifurcata* R. Ross, 1958 exibiu citotoxicidade contra células tumorais epiteliais basais alveolares humanas adenocarcinômicas (A-549) e células de câncer de ovário.

**Figura 8** – Estrutura química para o diterpeno bifurcadiol isolado de algas marrons.



Fonte: A autora (2022)

<sup>50</sup>WU, S.; POWERS, S.; ZHU, W.; HANNUN, Y.A. Substantial contribution of extrinsic risk factors to cancer development. London: *Nature*, v. 529, n. 7584, p. 43-47, jan. 2016.

<sup>51</sup>BELIZÁRIO, J. E. O próximo desafio reverter o câncer. *Ciência Hoje*, São Paulo, v. 31, n. 184, p. 51-57, jul. 2002.

<sup>52</sup>AMERICAN CANCER SOCIETY. How Chemotherapy Drugs Work. Disponível em: <<https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/chemotherapy/how-chemotherapy-drugs-work.html#references>> Acesso em: 21 fev. 2018.

## 2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.2.1 Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes utilizados nos ensaios seguem listados na Tabela 1.

**Tabela 1** – Reagentes e solventes utilizados nos ensaios envolvendo *Padina pavonica*.

REAGENTES/SOLVENTES	PROCEDÊNCIA
Acetona (C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O)	Dinâmica
Ácido acético (CH <sub>3</sub> COOH)	Sigma Aldrich
Ácido ascórbico (C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> )	ANIDROL
Ácido clorídrico (HCl)	VE TEC
Ácido gálico (C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub> )	ANIDROL
Ácido sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Dinâmica
Água destilada	-
Bicarbonato de sódio (NaHCO <sub>3</sub> )	Vetec
Cloreto de alumínio (AlCl <sub>3</sub> )	Química Moderna
Cloreto de ferro III (FeCl <sub>3</sub> )	Êxodo
Cloreto de sódio (NaCl)	Dinâmica
Clorofórmio (CHCl <sub>3</sub> )	Dinâmica
2,2- difenil-1-picrilhidrazila (DPPH)	Química Moderna
Dimetilsulfóxido (DMSO)	ANIDROL
Etanol (C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O)	Dinâmica
Folin-Ciocalteu	NEON
Hidróxido de sódio (NaOH)	Synth
Hidróxido de amônio (NH <sub>4</sub> OH)	Synth
Indometacina	-
Metrotexato (MTX)	Sigma-Aldrich
Mitomicina C	Merck
[3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio] (MTT)	Sigma Aldrich
Metanol	Química Moderna
Penicilina/estreptomicina	Merck
Quercetina	Vetec
Resazurina	Neon
Soro fetal bovino (SBF)	BNB
Tampão fosfato-salino livre de Ca e Mg (PBS)	Gibco
Triton X- 100	NEON
Tween 20 e 80	Dinâmica
Violeta de metila	Sigma-Aldrich
Xilasina:Quetamina	-
Xilol	Dinâmica

Fonte: A autora (2022)

### 2.2.2 Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados nos ensaios envolvendo *P. pavonica* seguem listados na Tabela 2.

**Tabela 2** – Meios de cultura utilizados nos ensaios envolvendo *P. pavonica*.

MEIOS DE CULTURA	PROCEDÊNCIA
Ágar Mueller-Hinton	Vetec
Ágar Batata Dextrose (BDA)	Sigma Aldrich/Acumedica
Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)	LGC Biotecnologia
RPMI 1640	Sigma Aldrich

Fonte: A autora (2022)

### 2.2.3 Bactérias e fungos

As bactérias e fungos utilizados para os ensaios de atividade antimicrobiana estão listadas na Tabela 3. As bactérias foram provenientes da coleção do Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), enquanto os fungos foram provenientes da Micoteca URM do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da UFPE.

**Tabela 3** – Bactérias e fungos utilizados para os ensaios de atividade antimicrobiana de extratos de *P. Pavonica*.

	MICROORGANISMOS	CÓDIGO
<b>BACTÉRIAS</b>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	(ATCC 19606)
	<i>Escherichia coli</i>	(ATCC 25922)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(ATCC 700603)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(ATCC 27853)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	(ATCC 29213)
<b>FUNGOS</b>	<i>Alternaria alternata</i>	(URM 5642)
	<i>Alternaria tenuissima</i>	(URM 5646)
	<i>Colletotrichum theobromicola</i>	(URM 8228)
	<i>Fusarium hainanense</i>	(URM 5456)
	<i>Fusarium pernambucanum</i>	(URM 5912)
	<i>Fusarium sp. nov.</i>	(URM 2695)
	<i>Fusarium sulawesiense</i>	(URM 5844)
<i>Fusarium verticillioides</i>	(URM 3681)	

Fonte: A autora (2022)

### 2.2.4 Equipamentos

Os equipamentos utilizados para o processo de obtenção de extratos de *P. pavonica* e estudo da atividade biológica da alga estão listados na Tabela 4.

**Tabela 4** – Equipamentos utilizados nos estudos envolvendo *P. pavonica*.

<b>EQUIPAMENTOS</b>	<b>MARCA/MODELO</b>
Agitador vórtex	TECNAL/AP56
Balança semi analítica	SHIMADZU/AUY 220
Cabine de segurança biológica	Pachane/PA 410
Câmera digital	Nikon/Eclipse TS100
Compressor a vácuo	FISHER SCIENTIFIC/MAMIMADRY
Estufa	QUIMIS/Q314M242
Estufa incubadora BOD	TECNAL/TE-371
Leitor de microplacas	BIOTEK UQuant/MQX 200
Liquidificador	PHILCO
Liofilizador	LIOTOP/L101
Microscópio invertido	Olympus/IX 70
Rotaevaporador	BUCHI/V-700
Sonicador de ultrassom	Elma/EASY 10H

Fonte: A autora (2022)

### 2.2.5 Coleta de *P. pavonica*

A alga marinha *P. pavonica* foi coletada na praia de Serrambi, situada no município de Ipojuca (8°33'21" S e 35°00'21" W) no litoral Sul do Estado de Pernambuco, Brasil. As coletas foram realizadas no período da manhã durante a maré baixa (0,1 m), no período de estiagem (outubro – novembro) em 2018. O material botânico foi armazenado em sacos de polietileno sob refrigeração.

### 2.2.6 Produção de extratos de *P. pavonica*

Em laboratório, a alga *P. pavonica* foi lavada em água corrente e depois em água destilada para que materiais indesejados como areia, sal e epífitas fossem retirados. Em seguida, foi levada a estufa a 40 °C por 36 h, pesadas, trituradas em um liquidificador e então armazenada em potes fechados sob temperatura ambiente ( $\cong$  25 °C). Água destilada e etanol PA foram utilizados como solventes. Dez gramas

de alga foram adicionados a 100 mL do respectivo solvente, para a produção de extratos aquoso (EAq), alcóolico (EEtOH) e hidroalcóolico 30:70 (água:álcool) (EHA). Os extratos foram levados para o sonicador de ultrassom em 3 intervalos, separados pela etapa de filtração à vácuo, de 60 minutos à temperatura ambiente ( $\cong 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Os EEtOH e EHA foram submetidos ao processo de rotaevaporação. Os extratos foram congelados e liofilizados. O pó resultante foi armazenado em tubos tipo Falcon à temperatura ambiente ( $\cong 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

### 2.2.7 Análise qualitativa de substâncias fitoquímicas em extratos de *P. pavonica*

A triagem fitoquímica para identificação dos principais metabólitos secundários de diferentes extratos de *P. pavonica* foi avaliada por método padrão<sup>53</sup>, conforme mostra a Tabela 5. Para tal, 10 mg do pó final obtido para os extratos foi ressuspensão em 1 mL de seus respectivos solventes. Os produtos das reações gerais indicaram a presença/ausência desses compostos nos extratos avaliados.

**Tabela 5** – Resumo do método utilizado para a triagem fitoquímica de extratos de *P. pavonica*.

<b>Metabólitos Secundários (MS)</b>	<b>Reações</b>	<b>Produto (Presença do MS)</b>
<b>Alcaloides</b>	2 mL de HCl concentrado + 2 mL de extrato de alga + gotas do reagente de Mayer	Presença de cor verde ou precipitado branco
<b>Terpenóides</b>	2 mL de clorofórmio + 2 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 0,5 mL do extrato de alga	Coloração marrom avermelhada na interface
<b>Esteroides</b>	2 mL de clorofórmio + 1 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 0,5 mL do extrato de alga	Formação de anel marrom avermelhado na interface
<b>Taninos</b>	1 mL de FeCl <sub>3</sub> (5%) + 1 mL do extrato de alga	Formação de cor azul escuro ou preto esverdeado
<b>Saponinas</b>	2 mL de água destilada + 2 mL de extrato de alga (Agitados por 15 minutos)	Formação de uma camada de 1 cm de espuma

<sup>53</sup>SAVITHRAMMA, N.; RAO, M. L.; SUHRULATHA, D. Screening of traditional medicinal plants for secondary metabolites. *Middle-East Journal of Scientific Research*, v.8, p. 579 – 784, 2011.

<b>Flavonoides</b>	1 mL de NaOH (2N) + 2 mL de extrato de alga	Formação de cor amarela
<b>Fenóis</b>	2 mL de água destilada + gotas de FeCl <sub>3</sub> (10%) + 1 mL do extrato de alga	Formação de cor azul/verde
<b>Cumarinas</b>	1 mL de NaOH (10 %) + 1 mL de extrato de alga	Formação de cor amarela
<b>Quinonas</b>	1 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado + 1 mL de extrato de alga	Formação de cor vermelha
<b>Glicosídeos</b>	3 mL de clorofórmio + 3 mL de NH <sub>4</sub> OH (10 %) + 2 mL do extrato de alga	Formação de cor rosa

Fonte: Adaptado de Savithramma (2022)

### 2.2.8 Determinação do teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais

Os níveis de compostos fenólicos totais foram estimados pelo método de Folin-Ciocalteu<sup>54</sup> com algumas modificações. Amostras de 20 µL do extrato (1 mg.mL<sup>-1</sup>) foram misturadas com 100 µL do reagente Folin Ciocalteu. Após 3 minutos à temperatura ambiente, foram adicionados 80 µL de uma solução de bicarbonato de sódio (0,7 M). A reação foi mantida no escuro por 2 h à temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 735 nm usando um leitor de microplacas. Metanol foi usado como controle negativo. O ácido gálico foi utilizado como padrão e os resultados foram calculados com base na curva de calibração do ácido gálico (10 – 100 µg.mL<sup>-1</sup>) e expressos em mg equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g).

O teor de flavonoides foi determinado de acordo com o método colorimétrico de cloreto de alumínio.<sup>55</sup> O extrato foi testado na concentração de 1 mg.mL<sup>-1</sup>, e a quercetina foi utilizada para obter a curva de calibração padrão (10 – 100 µg.mL<sup>-1</sup>). 100 µL dos extratos foram adicionados a 100 µL de AlCl<sub>3</sub> a 2 % em metanol. Após 1 h em ambiente escuro à temperatura ambiente ( $\cong$  25 °C), a absorbância foi lida contra um branco de metanol mais reagente a 420 nm. Os resultados obtidos foram expressos em mg equivalentes de quercetina por grama de extrato (mg EQ/g extrato).

<sup>54</sup>SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

<sup>55</sup>WOISKY, R, G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of apicultural research*, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

## 2.2.9 Estudo preliminar de propriedades biológicas de extratos de *P. pavonica*

### 2.2.9.1 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante para o extrato aquoso de *P. pavonica* foi determinada através do ensaio de sequestro de DDPH (2,2-Difenil-1 picril-hidrazil).

Para a avaliação da capacidade de sequestrar o radical DPPH, alíquota de 40 µL do extrato em diferentes concentrações (31,25 a 1000 µg.mL<sup>-1</sup>) foi adicionada a 250 µL da solução de DPPH 1 mM (em metanol) por 25 min à temperatura ambiente e protegida da luz. O ácido ascórbico foi o padrão utilizado como controle positivo e o metanol foi o controle negativo. A absorbância de cada solução foi medida a 517 nm usando um leitor de microplacas.

A porcentagem de inibição (I%) foi calculada usando a Equação 1.<sup>56</sup> As concentrações das amostras responsáveis por 50% de diminuição da atividade inicial do radical livre DPPH (IC50) foram calculadas por meio de regressão linear.

Equação 1

$$I\% = [(Ac-As) / (Ac)] \times 100$$

Onde:

Ac = absorbância do controle

As = absorbância da amostra

### 2.2.9.2 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos extratos de *P. pavonica* foram avaliados utilizando-se de testes de determinação da concentração inibitória mínima e bactericida e teste de sensibilidade antifúngica.

---

<sup>56</sup>BRAND, W. W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

### 2.2.9.2.1 Determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) e bactericidas (CBM) para as bactérias avaliadas

A determinação da concentração inibitória mínima foi realizada em uma placa de cultura de 96 poços, utilizando um leitor de microplacas disponível no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Bioquímica da UFPE.

Os microrganismos testados foram: *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. As concentrações bacterianas finais foram ajustadas a  $5 \times 10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup> pela escala de *McFarland*. O meio de crescimento Mueller-Hilton foi adicionado a cada poço, juntamente com microrganismos previamente preparados e diferentes concentrações do extrato aquoso de *P. pavonica* (7,812 – 1.000 µg.mL<sup>-1</sup> em DMSO 1 %). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h e, em seguida a solução de resazurina (0,01 %) foi utilizada como indicador por visualização de mudança de cor: qualquer mudança de azul para rosa foram registradas como crescimento bacteriano. A concentração mais baixa na qual nenhuma alteração de cor ocorreu foi tomada como CIM.

20 µL da suspensão dos poços antes da adição de resazurina foi transferida para placas de Ágar Mueller-Hinton e incubadas por outras 24 h a 37 °C. O CBM foi determinado como a menor concentração capaz de impedir o crescimento bacteriano, conforme metodologia disponível na literatura.<sup>57</sup>

### 2.2.9.2.1 Teste de sensibilidade antifúngica

O método utilizado seguiu as condições descritas no documento em M38-A2.<sup>58</sup> O meio de cultura utilizado foi o RPMI 1640 com L-glutamina e sem bicarbonato de sódio, pH 7,0 ± 0,1, com ácido morfolino propano sulfônico (MOPS; 0,165 mol.L<sup>-1</sup>). O meio de cultura foi esterilizado em membranas de 0,22 µm (Kasvi®).

Para a preparação dos inóculos, isolados de fungos filamentosos dos gêneros *Alternaria*, *Colletotrichum* e *Fusarium* foram repicados em meio de cultura Ágar Batata

<sup>57</sup>dos SANTOS, B. S.; BEZERRA FILHO, C. V.; do NASCIMENTO JUNIOR, J. A. A.; BRUST, F. R.; BEZERRA-SILVA, P. C.; da ROCHA, S. K. L.; KROGFELT, K. A.; NAVARRO, D. M. do A. F.; CORREIA, M. T. dos S.; NAPOLEÃO, T. H.; da SILVA, L. C. N.; MACEDO, A. J.; da SILVA, M. V. PAIVA, P. M. G. Anti-staphylococcal activity of Syagrus coronata essential oil: Biofilm eradication and in vivo action on Galleria mellonella infection model. *Microbial Pathogenesis*, v. 131, p. 150 – 157, 2019.

<sup>58</sup>**Clinical and Laboratory Standards Institute.** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard, 2nd ed. CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.

Dextrose (BDA) em tubos e incubados em estufa incubadora BOD - *Biochemical Oxygen Demand* a 27 °C até esporularem.

Sequencialmente, 5 mL de solução salina esterelizada a 0,85 % contendo Tween 20 foi adicionada às colônias fúngicas, e a suspensão foi homogeneizada com uma pipeta. Posteriormente, a mistura resultante foi transferida para tubos de ensaio esterilizados. Após cinco minutos de repouso, o sobrenadante foi transferido para outro tubo esterilizado e agitado por 15 segundos em vórtex. A densidade da suspensão foi ajustada por espectrofotômetro a 530 nm para obter uma densidade óptica de 0,25 a 0,3 para *Alternaria sp.* e 0,15 a 0,17 para *Fusarium sp* e *Colletotrichum sp.* Em seguida, as suspensões foram diluídas (1:50) em RPMI 1640, obtendo-se uma concentração final aproximada de  $0,4 \times 10^4$  a  $5 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup>.

Para os testes, foram utilizadas placas de microtitulação de fundo chato com 96 poços (Kasvi®), nas quais foram dispostos 100 µL de cada uma das diluições dos extratos EAq, EEtOH e EHA de *P. pavonica* nas colunas de 1 a 10. Os extratos de *P. pavonica* foram diluídos em RPMI. Em seguida, 100 µL de meio RPMI 1640 foram distribuídos nas colunas 11 e 12, as quais foram utilizadas como controle de esterilização e de crescimento, respectivamente. Posteriormente, 100 µL do inóculo padronizado foram adicionados aos poços das colunas 1 a 10, e 12, sendo as microplacas incubadas a 35 °C por 48 horas para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). As CIMs para os extratos foram obtidas como a menor concentração capaz de inibir o crescimento dos fungos em 100 %. Todo o teste foi realizado em triplicata, e ocorreram no Laboratório de Imunodiagnóstico de Micoses Sistêmicas (LIMS) do Departamento de Micologia da UFPE.

### 2.2.9.3 Atividade cicatrizante

Os ensaios de cicatrização foram realizados no Laboratório de Biologia Celular do Setor de Histologia e Embriologia da Universidade Federal de Alagoas.

#### 2.2.9.3.1 Cultura celular

Linhagem celular de fibroblasto de pele humana (HFF – 1), obtida do Banco de Células do Rio de Janeiro, foi cultivada em DMEM *high* glicose (4,5 g.L<sup>-1</sup>) suplementado com 15 % de SBF, 4 mM de L-glutamina, 4500 mg.L<sup>-1</sup> de glicose, 1

Mm de piruvato de sódio, 1500 mg.L<sup>-1</sup> de bicarbonato de sódio e penicilina/estreptomicina (1 %), em uma atmosfera umedecida contendo 5 % de CO<sub>2</sub> a 37 °C em garrafas de 25 cm<sup>3</sup>. O crescimento celular foi acompanhado por meio de observação em microscópio invertido. Os ensaios foram realizados utilizando células entre as passagens 30 a 34.

#### 2.2.9.3.2 Diluição dos extratos

Os extratos de *P. pavonica* foram dissolvidos em tween-80 (1 %) e então diluídos com DMEM. A concentração final de tween-80 durante os tratamentos não excedeu 0,0084 % (v/v) em culturas de células. DMEM contendo tween-80 (0,0084 %) foi utilizado como controle veículo e um outro grupo DMEM sem tratamento como controle de células.

#### 2.2.9.3.3 Ensaio de viabilidade celular

O efeito de EAq, EEtOH e EHA de *P. pavonica* foi avaliado pelo ensaio MTT (3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)<sup>59</sup>, que baseia-se na redução do MTT, um sal amarelo solúvel em água, pelo efeito da atividade metabólica da enzima desidrogenase mitocondrial, formando cristais insolúveis de formazan, de coloração azul ou roxa.<sup>60</sup>

Fibroblastos HFF – 1 (3,5 × 10<sup>3</sup>/poço) foram plaqueados em placas de 96 poços e tratados com veículo (controle negativo) ou extratos de *P. pavonica* em concentrações de 0,5; 5; 25 e 50 µg.mL<sup>-1</sup> por 48 h. As células lisadas por Triton-X-100 a 1 % foram usadas como controle positivo e um grupo sem tratamento foi utilizado como controle do experimento. Em seguida, foi adicionado o sal MTT (5 mg.mL<sup>-1</sup>) diluído em 1X PBS livre de cálcio e magnésio. As placas foram incubadas ao abrigo da luz por 3 h em uma estufa com atmosfera umedecida contendo 5 % de CO<sub>2</sub> a 37 °C. O sobrenadante de cultura resultante foi removido e DMSO (150 µL/poço) foi adicionado a cada poço da cultura. Após a incubação à temperatura ambiente

---

<sup>59</sup>MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, p. 55-63, 1983.

<sup>60</sup>NILES, A. L.; MORAVEC, R. A.; WORZELLA T. J.; EVANS, N.J.; RISS, T. L. High-Throughput Screening Assays for the Assessment of Cytotoxicity. In P. Steinberg (Ed.), *High-throughput screening methods in toxicity testing* (pp. 107–127). Wiley, 2013.

protegido da luz durante 15 min, a absorbância do produto cristais de formazan solubilizado foi medida no espectrofotômetro de microplaca a 540 nm. O experimento foi realizado em triplicata e a porcentagem de viabilidade em relação à amostra de controle foi determinada como:

Equação 2:

$$\frac{\text{Absorbância de células tratadas}}{\text{Absorbância de células não tratadas}} \times 100 \%$$

#### 2.2.9.3.4 *Análise morfológica celular*

Para avaliação qualitativa das alterações morfológicas dos fibroblastos HFF-1, após 48h de tratamento com o grupo controle (célula HFF-1), controle positivo (triton x – 1 %), controle veículo (tween 80 – 0,008 %), EAq, EEtOH e EHA de *P. pavonica* (0,5; 5; 25 e 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), as células foram fixadas com metanol PA (300  $\mu\text{L/poço}$ ). Após 10 minutos foi feita a coloração com cristal violeta a 2 % por 2 minutos. Posteriormente, os poços foram lavados com PBS 1X e as microfotografias foram adquiridas utilizando o programa BSW com o microscópio óptico.

#### 2.2.9.3.5 *Ensaio de migração celular – Scratch Wound healing*

O ensaio de migração celular foi aplicado conforme descrito anteriormente.<sup>61</sup> Fibroblastos de pele humana HFF - 1 ( $4,5 \times 10^4$ ) foram semeados em placas de 24 poços e mantidas na estufa de CO<sub>2</sub> até atingirem 90 % de confluência. Para prevenir a proliferação celular foi utilizado o fármaco mitomicina C ( $4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) por 2 horas. Em seguida, uma ponta de pipeta estéril de 200  $\mu\text{L}$  foi utilizada para criar um arranhão reto sem células. Os poços foram lavados com PBS para remover células mortas e detritos e, em seguida, submetidos ao tratamento com 0,5 e 5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  de EAq em DMEM à 2 % de SBF. Após 24 e 48 h de tratamento com EAq, as células que migraram para a região riscada foram fotografadas em microscópio invertido com câmera digital. A migração celular foi analisada usando o software ImageJ e foi expressa como:

<sup>61</sup> SUVARNA, K; HONDA, K; KONDOH, Y; OSADA, H; WATANABE, N. Identification of a smallmolecule ligand of beta-arrestin1 as an inhibitor of stromal fibroblast cell migration accelerated by cancer cells. **Canc Med**, v. 7, p. 883–93, 2018.

Equação 3:

$$\frac{(\text{Largura do risco no tempo 0 h} - \text{Largura do risco no tempo 24/48 h})}{\text{Largura do risco no tempo 0 h}} \times 100 \%$$

O grupo experimental foi comparado com o grupo controle (mitomicina) e o grupo 0  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (tween 80 – 0,008 %). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

#### 2.2.9.4 Ensaios de atividades biológicas *in vivo*

Os procedimentos experimentais *in vivo* ocorreram de acordo com as Leis brasileiras para experimentação animal e foram submetidos ao Comitê de Ética Animal da Universidade Federal de Pernambuco, recebendo parecer favorável de acordo com o protocolo CAAE: 23076.019264/2008-14

Camundongos adultos albinos *Swiis* (*Mus musculus*) pesando entre 25 e 35 g com idades entre 8 e 10 semanas, obtidas a partir do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) foram criados em condições padrão (12 h claro/escuro,  $22 \pm 2$  °C e 50 – 55 % de umidade) com alimentação adequada e água.

Previamente aos experimentos, todos os animais foram marcados para que fossem distinguidos individualmente dentro de cada grupo. As gaiolas também foram devidamente identificadas.

Os testes de atividade anti-inflamatória e antinocicepção foram realizados no Laboratório de Lipídeos localizado no Departamento de Bioquímica da UFPE. Já os testes de atividade antitumoral foram realizados no Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental localizado no Departamento de Antibióticos da UFPE.

##### 2.2.9.4.1 Atividade analgésica e anti-inflamatória

A atividade analgésica foi avaliada através do ensaio prévio de contorções abdominais descrito por Collier<sup>62</sup> com algumas modificações. Esse modelo químico de nocicepção se baseia na contagem das contorções da parede abdominal seguidas

<sup>62</sup>COLLIER, H. O.; DINNEEN, L. C.; JOHNSON, C. A.; SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British Journal Pharmacology Chemother**, v. 32, p. 295-310, 1968.

de torção do tronco e extensão dos membros posteriores, como resposta reflexa à irritação peritoneal e à peritonite produzidas pela injeção intraperitoneal de uma solução de ácido acético 0,9 %.<sup>63</sup>

Os camundongos foram divididos em quatro grupos com seis animais cada. A nocicepção foi induzida por ácido acético via intraperitoneal (i.p.) em um volume de 0,1 mL.10g<sup>-1</sup> a 0,8 %. Os animais foram tratados com salina 0,9 % (veículo), EAq de *P. pavonica* (50 ou 100 mg.Kg<sup>-1</sup>), ou indometacina (20 mg.Kg<sup>-1</sup>) administrados por via oral 1 hora antes do agente nociceptivo. Após a injeção do ácido acético, o número de contorções abdominais foi registrado entre 5 e 15 minutos após a administração.<sup>64</sup>

A atividade anti-inflamatória foi avaliada utilizando o ensaio de edema de orelha induzido por xilol a partir de sua capacidade em inibir a formação do edema na orelha de camundongos.

Os camundongos foram divididos em três grupos com seis animais cada. O grupo 1 foi tratado por via oral com veículo salina 0,9 % (controle negativo); o grupo 2 foi tratado com indometacina 20 mg.Kg<sup>-1</sup> diluídos em salina 0,9 % (controle positivo); e o grupo 3 com EAq de *P. pavonica* 50 mg.Kg<sup>-1</sup> diluídos em salina 0,9 %. Os animais tiveram a espessura da orelha medida com paquímetro digital 30 minutos antes da aplicação. A superfície interna da orelha direita foi tratada com 20 µL de uma solução de *P. pavonica* 2,5 % (v/v em acetona), enquanto a mesma região da orelha esquerda foi tratada com o mesmo volume de acetona. Após 1 e 4 horas do tratamento, foi feita a avaliação da espessura da orelha. A porcentagem de inibição do edema foi calculada pela subtração da média dos pesos das orelhas do controle negativo, pela média da espessura das orelhas direitas pelas esquerdas (orelha D – orelha E).<sup>65</sup>

#### 2.2.9.4.2 Toxicidade aguda

O ensaio de toxicidade aguda foi realizado de acordo com o protocolo experimental 423 da Organização para a Cooperação Econômica e Desenvolvimento

---

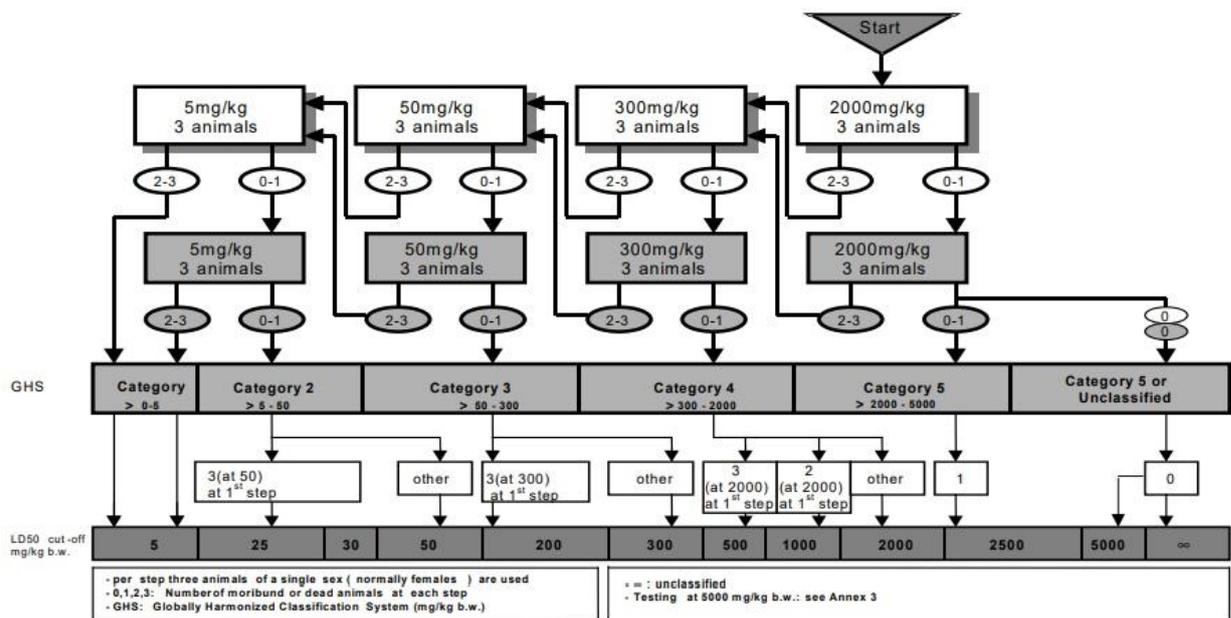
<sup>63</sup>WHITTLE, B. A. Release of a kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. *Int. Jou. Of Neuropharmacology*, v. 3, p. 369 – 378, 1964.

<sup>64</sup>QUEIROZ, A. C.; LIRA, D. P.; DIAS, T. L. M. F.; SOUZA, E. T.; MATTA, C. B. B.; AQUINO, A. B.; SILVA, L. H. A. C.; SILVA, D. J. C.; MELLA, E. A. C.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; ARAÚJO JÚNIOR, J. X.; SANTOS B. V. O.; ALEXANDRE MOREIRA, M. S. The antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Piptadenia stipulacea* Benth. (Fabaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 128, p. 377-383, 2010.

<sup>65</sup>ROCHA, F. F.; NEVES, E. M. N.; COSTA, E. A.; MATOS, L. G.; MÜLLER, A. H.; GUILHON, G. M. S. P.; CORTES, W. S.; VANDERLINDE, F. A. Evaluation of antinociceptive and antiinflammatory effects of *Croton pullei* var. *glabrior* Lanj. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 3, p. 344-49, 2008.

(OECD)<sup>66</sup>, que estabelece 4 níveis de dose (2000,300, 50 e 5 mg.Kg<sup>-1</sup>). Quando as informações disponíveis sugerem que a mortalidade é improvável no nível de dose inicial mais alto (2000 mg.Kg<sup>-1</sup> de peso corporal), deve ser realizado um teste de limite. De acordo com a mortalidade e/ou estado de morbidez dos animais, em média, 2 ou 4 etapas podem ser necessárias para permitir avaliar a toxicidade aguda da substância de ensaio, conforme esquematizado na Figura 9.

**Figura 9** – Fluxograma do protocolo da toxicidade aguda de acordo com o guia da OECD.



Fonte: Guia da OECD (2001)

Foram utilizados 12 camundongos fêmeas nulíparas e não grávidas, distribuídas em 4 grupos de 3 animais. O grupo controle recebeu soro fisiológico 0,9 %, enquanto os grupos G1, G2 e G3 receberam por via de administração oral, 2000 mg.Kg<sup>-1</sup> de EAQ, EEtOH e EHA diluídos em salina 0,9 %, respectivamente.

O ensaio teve duração total de 15 dias, contabilizados desde o dia 1 (aplicação) até o dia 15 (eutanásia e coleta de sangue e órgãos). Fatores comportamentais estimulantes e depressores do sistema nervoso central (SNC) e autônomo (SNA) dos animais durante os intervalos de 30 e 60 minutos após a aplicação dos tratamentos foram observados. Os animais tiveram o controle de seus pesos e consumos de água

<sup>66</sup>ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Oecd guideline for testing of chemicals. Disponível em: <[https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/fedddocs/oecd/oecd\\_gl423.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/fedddocs/oecd/oecd_gl423.pdf)>. Acessado em: 21 nov. 2021.

e ração monitorados durante o experimento. O experimento foi repetido nas mesmas condições.

#### 2.2.9.4.3 Avaliação antitumoral

Para a avaliação da atividade antitumoral foram utilizados 40 camundongos fêmeas nulíparas e não grávidas, distribuídas em 6 grupos de 5 animais. Os experimentos foram realizados para o tumor do tipo Sarcoma 180.

No dia 1 do experimento, todos os animais foram pesados e inoculados na região axilar com células tumorais numa concentração de  $10^6$  células.mL<sup>-1</sup>. O implante das células tumorais nos camundongos procedeu-se com a retirada do fluido ascítico, o qual continha as células tumorais, a partir de camundongos cancerosos.

Após 48 h da indução, os grupos controle (-), controle (+), G1, G2, G3, G4, G5 e G6 foram tratados diariamente durante 7 dias, por via de administração oral, com água, metrotexato – MTX ( $2,5 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ), EAq ( $100 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ), EAq ( $200 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ), EEtOH ( $100 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ), EEtOH ( $200 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ), EHA ( $100 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) e EHA ( $200 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ), respectivamente. Os animais tiveram o controle de seus pesos e consumos de água e ração monitorados durante o experimento. No dia 10 do experimento, os animais foram eutanasiados e seus sangue, órgãos e tumor coletados. A inibição do crescimento do tumor (TWI%) foi calculada.

Equação 4:

$$\text{TWI\%} = [(A-B)/A] \times 100$$

Onde:

A = média das massas dos tumores retirados dos animais do grupo controle negativo.

B = média das massas dos tumores do grupo tratado com os extratos.

#### 2.2.9.5 Coleta de sangue: Parâmetros hematológicos e bioquímicos

Amostras de sangue foram coletadas no 15<sup>o</sup> e 10<sup>o</sup> dia dos experimentos de toxicidade aguda e avaliação da atividade antitumoral, respectivamente.

Antecedendo a eutanásia, os animais foram submetidos à sedação com xilasina:quetamina ( $0,5:0,7 \text{ mL.Kg}^{-1}$ ), via intraperitoneal com seringa descartável de

1 mL. Após sedação foram contidos para coleta de sangue, através do método de punção cardíaca, para exames bioquímico e hematológico.

Foi coletado, com o auxílio de uma seringa, cerca de 1 mL de sangue para cada camundongo. Do volume total de sangue de cada amostra, aproximadamente 0,6 mL foi armazenado em todo coletor hematológico (tipo Vacuete da Horibe Medical®) para realização de hemograma. Os parâmetros hematológicos [hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), leucócitos, segmentados, linfócitos típicos e monócitos] foram quantificados. O sangue restante foi armazenado em tubo coletor, contendo o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), para a realização dos testes bioquímicos. Para o teste, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm durante 10 minutos para obtenção do soro livre hemólise. Após centrifugação, as amostras foram acondicionadas em tubos de eppendorf de 1,5 mL e congeladas a -20 °C, até a realização dos exames, quando foram descongeladas à temperatura ambiente. O soro obtido foi analisado em utilizando kits bioquímicos para os parâmetros ureia e creatinina.

#### 2.2.9.6 Coleta de órgãos

Os órgãos (fígado, baço, rins, coração e pulmão) foram retirados e limpos em água destilada. Em seguida, pesados e acondicionados em uma solução de formalina a 10 % (tampão fosfato pH = 7,2).

#### 2.2.9.7 Análise estatística

A análise estatística para verificação dos efeitos biológicos utilizou-se do delineamento experimental inteiramente casualizado com três ou cinco repetições. A Análise de Variância (ANOVA) foi aplicada quando os efeitos de tratamentos apresentarem diferença significativa ( $p < 0,05$ ), as médias foram comparadas por meio do teste de *Tukey*, fixando um nível de significância de 5 %. Foi utilizada regressão linear simples (softwares SPSS 15.0; BioEstat 4.0).

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 Estudo fitoquímico de extratos de *P. pavonica*

Os metabólitos secundários identificados preliminarmente através de teste qualitativo em extratos de *P. pavonica* seguem listados na Tabela 6. Entre os extratos, o EEtOH apresentou o maior número de metabólitos (6), seguido pelo EHA com 4 e por fim pelo EAq com 2 metabólitos.

**Tabela 6** – Resultados obtidos para a análise qualitativa de metabólitos secundários em extratos de *P. pavonica*.

Metabólitos Secundários	Resultados		
	EAq	EEtOH	EHA
Alcaloides	++	++	++
Terpenóides	-	++	++
Esteroides	-	++	++
Taninos	-	-	-
Saponinas	++	-	+
Flavonoides	-	+	-
Fenóis	-	-	-
Cumarinas	-	+	-
Quinonas	-	+	-
Glicosídeos	-	-	-

EAq: extrato aquoso, EEtOH: extrato alcoólico e EHA: extrato hidroalcoólico (30:70)

+: presente, ++: intensamente presente, -: ausente

Fonte: A autora (2022)

A presença ou ausência dos fitoquímicos depende do solvente usado para extração. Estudos<sup>67</sup> de identificação qualitativa envolvendo extratos da alga marrom *Dictyota dichotoma* (Hudson) JV Lamouroux, 1809, coletada na costa do Egito, por exemplo, identificou a presença de um maior número de compostos ao utilizar os solventes acetato de etila (9 compostos) e metanol (7 compostos). Por outro lado, ao utilizar a acetona como solvente, apenas 4 compostos foram identificados.

Embora testes mais sensíveis de identificação e quantificação de compostos químicos, a exemplo da cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (LCMS) devam ser realizados, a análise fitoquímica das algas marinhas enquadra-se

<sup>67</sup>DEYAB, M.; ELKATONY, T.; WARD, F. Qualitative and Quantitative Analysis of Phytochemical Studies on Brown Seaweed, *Dictyota dichotoma*. **International Journal of Engineering Development and Research**, v. 4, p. 674 – 678, 2016.

como uma boa abordagem preliminar para revelar seus metabólitos secundários e os valores medicinais resultantes.<sup>53</sup>

As algas marinhas são uma fonte conhecida de compostos bioativos, uma vez que são capazes de produzir uma grande variedade de metabólitos secundários caracterizados por um amplo espectro de atividades biológicas, o que tem levado a um enorme interesse da indústria farmacêutica.<sup>1,2</sup> Solventes com polaridades diferentes levam a extração de compostos ativos específicos, e conseqüentemente a atividades biológicas diversas.

A presença de alcaloides em algas marinhas pode estar relacionada com a atividade citotóxica, por exemplo, que devido a presença de agentes interferentes nos microtúbulos que podem se ligar à beta-tubulina, inibem a formação da fibra do fuso mitótico necessária para a divisão celular. Os terpenóides apresentam atividade antitumoral, sedativa e antinociceptiva. Já os esteroides são importantes agentes inseticidas, antimicrobianos e antiparasitários. E as saponinas importantes para o aumento da resposta imune. Os flavonoides possuem atividade antioxidante, antimicrobiana e antiviral. As cumarinas apresentaram-se como importantes anticoagulantes para o tratamento de linfedema. Enquanto as quinonas conferem atividade citotóxica através da interferência da replicação do DNA e ácido ribonucleico (RNA) e das vias oxidativas mitocondriais, bem como através da formação de radicais peróxido, superóxido e hidroxila na célula.<sup>67</sup>

### **2.3.2 Determinação do teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais**

Testes qualitativos como os de triagem fitoquímica podem ser limitados quanto a sensibilidade na identificação dos metabólitos, e por isso, testes quantitativos devem ser realizados para a confirmação do resultado.

Dessa maneira, a partir de ensaios quantitativos foi possível identificar a presença de compostos fenólicos no extrato aquoso de *P. pavonica*, que apresentou um teor de 736,17 mg GAE/g. Este resultado foi superior ao obtido para o extrato etanólico da mesma alga (10,55 mg GAE/g) e extratos etanólicos de algas do mesmo gênero (*P. antillarum* (Kützinger) Piccone, 1886: 12,4 mg GAE/g e *P. sp.*: 124,65 mg GAE /g).<sup>68</sup> Em relação aos flavonoides, o valor encontrado foi de 27,40 mg

---

<sup>68</sup>MEKINIĆ, I. G., SKROZA, D., ŠIMAT, V., HAMED, I., ČAGALJ, M.; & PERKOVIĆ, Z. P. Phenolic Content of Brown Algae (Pheophyceae) Species: Extraction, Identification, and Quantification. **Biomolecules**, v. 9, 2019.

QE/g, semelhante ao obtido na extração de *P. pavonica* utilizando acetona como solvente (27,0 mg GAE/g).<sup>25</sup> Solventes polares geralmente extraem compostos fenólicos e flavonoides em maior quantidade quando em comparação com solventes apolares. Além disso, o local e horário de coleta também influenciam diretamente na concentração de compostos ativos presentes nas algas marinhas

A presença de compostos fenólicos e flavonoides tem sido associada à atividade antioxidante por atuarem inibindo o estresse oxidativo que está relacionado ao aparecimento de doenças como o câncer, a inflamação e neurodegeneração.<sup>24,25,26</sup>

### 2.3.3 Estudo preliminar de propriedades biológicas de extratos de *P. pavonica*

#### 2.3.3.1 Atividade antioxidante

O extrato aquoso de *Padina pavonica* apresentou alta atividade antioxidante. O resultado para o percentual de inibição de DPPH encontrado foi de 98,20 % para a concentração de EAq de *P. pavonica* de 1000 µg.mL<sup>-1</sup>. Esse maior percentual de atividade antioxidante pode estar relacionado à alta concentração de compostos fenólicos encontrados no extrato.<sup>25</sup> Outros estudos geralmente encontram percentuais de inibição abaixo de 40 % para o extrato aquoso de algas<sup>69</sup> e valores mais altos para extratos etanólicos (I% = 77,6%)<sup>9</sup> e extratos hidroalcoólicos de *P. pavonica* (I% = 59,42 %; 50 % água: 50 % etanol).<sup>69</sup> Já o IC50 encontrado para EAq foi de 116,10 µg.mL<sup>-1</sup> e de 12,74 µg.mL<sup>-1</sup> para o ácido ascórbico. O que mostra um potencial antioxidante inferior ao do padrão, mas de potencial válido.

#### 2.3.3.2 Atividade antimicrobiana

##### 2.3.3.2.1 CIM e CBM

O estudo da atividade antibacteriana de EAq de *P. pavonica*, segundo os testes de CIM e CBM, apresentados na Tabela 7, mostra a eficácia do extrato contra todas as bactérias testadas.

---

<sup>69</sup>CAGALI, M.; SKROZA, D.; TABANELLI, G.; ÖZOGUT, F.; SIMAT, V. Maximizing the Antioxidant Capacity of *Padina pavonica* by Choosing the Right Drying and Extraction Methods. **Processes**, v. 9, 2021.

**Tabela 7** – Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do extrato aquoso de *P. pavonica* contra bactérias.

BACTÉRIAS	Concentrações ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	
	CIM	CBM
<i>Acinetobacter baumannii</i>	500	1000
<i>Escherichia coli</i>	250	500
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	250	1000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	125	250
<i>Staphylococcus aureus</i>	62,50	250

Fonte: A autora (2022)

Os valores encontrados para CIM indica a menor concentração de extrato necessária para inibir 100 % do crescimento microbiano. Esta variou de 62,5 a 500  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , com destaque para os resultados obtidos para *Staphylococcus aureus* (62,5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e *Pseudomonas aeruginosa* (125  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), que tiveram seu crescimento inibido nas menores concentrações de EAq. Maiores concentrações de extrato de algas marinhas do gênero *Padina* foram necessárias para inibir o crescimento de algumas dessas bactérias. Estudos mostram valores de CIM para *P. gyminospora Sonder* de 25000 e 12500  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e de 833 e 417  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para *P. australis Hauck* contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente.<sup>70,71</sup>

Os valores de CBM, por sua vez, variam de 250 a 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , e indicam que o crescimento bacteriano visível pode ser impedido em concentrações até 2 vezes maiores que cada CIM respectiva, confirmando o efeito bactericida do extrato bruto da alga.

#### 2.3.3.2.2 Sensibilidade antifúngica

Os resultados da CIM responsável pela inibição de 100 % do crescimento dos fungos avaliados e submetidos a tratamento com os extratos de *P. pavonica* seguem listados na Tabela 8.

<sup>70</sup>ALVES, R. C. C.; das MERCÊS; P. F. F.; de SOUZA, I. R. A.; de ALMEIDA, C. M. A.; da SILVA, A. P. S.; LIMA, V. L. de M.; CORREIA, M. T. dos S.; da SILVA, M. V.; da SILVA, A. G. Antimicrobial activity of seaweeds of Pernambuco, northeastern coast of Brazil. **Afr. J. Microbiol. Res.**, v.10, p. 312 – 318, 2016.

<sup>71</sup>CHIAO-WEI, C.; SIEW-LING, W.; CHING-LEE, W. Antibacterial activity of *Sargassum polycystum* C. Agardh and *Padina australis* Hauck (*Phaeophyceae*). **Afr. J. Biotechnol.**, v. 10, p. 14125 – 14131, 2011.

**Tabela 8** – Concentração responsável por inibir 100 % do crescimento de fungos submetidos a tratamento com extratos de *P. pavonica*.

FUNGOS	CIM ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )		
	EAq	EEtOH	EHA
<i>Alternaria alternata</i>	1024	1024	< 4
<i>Alternaria tenuissima</i>	1024	512	< 4
<i>Colletotrichum theobromicola</i>	512	512	128
<i>Fusarium hainanense</i>	512	512	256
<i>Fusarium pernambucanum</i>	256	256	256
<i>Fusarium sp. nov.</i>	512	2048	256
<i>Fusarium sulawesiense</i>	1024	512	128
<i>Fusarium verticillioides</i>	512	2048	256

EAq: extrato aquoso, EEtOH: extrato alcoólico e EHA: extrato hidroalcoólico (30:70)

Fonte: A autora (2022)

Os extratos apresentaram-se eficientes em concentrações que variaram de <4 a 1024  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Com menores valores de CIM para o EHA, que em concentração inferior a 4  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  inibiu o crescimento dos isolados do gênero *Alternaria* avaliados. A eficácia em inibir o crescimento de fungos em menores concentrações para o extrato hidroalcoólico de *P. pavonica* pode estar relacionado a presença de metabólitos como os esteroides que tem sua importância como agente antimicrobiano já estabelecida.<sup>67</sup> Ensaio disponível na literatura também apontaram a eficiência do extrato aquoso de *P. pavonica* em inibir o crescimento de fungos como *Fusarium graminearum*, *Penicillium expansum* e *Alternaria alternata* em 95,83; 80,76 e 63,33 % respectivamente.<sup>8</sup>

### 2.3.3.3 Atividade cicatrizante

#### 2.3.3.3.1 Efeito dos extratos obtidos de *P. pavonica* sob a viabilidade celular de fibroblastos de pele humana

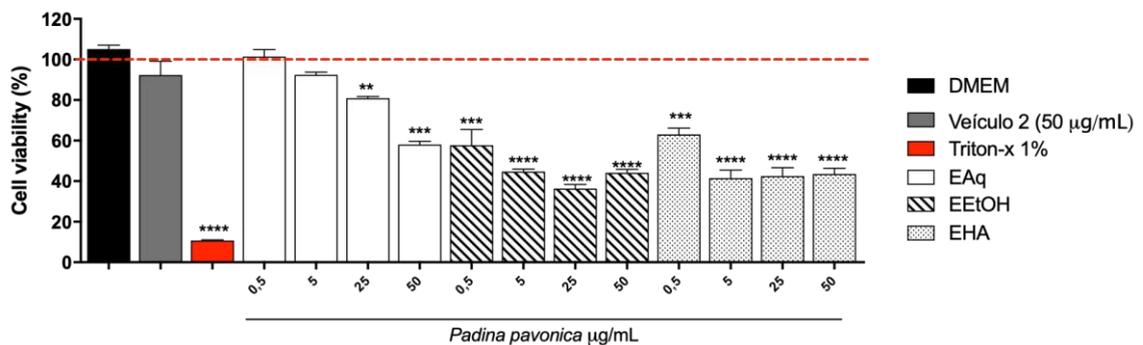
A avaliação preliminar da segurança, toxicologia e eficácia de uma substância e sua dose-resposta é um ponto indispensável no estudo do potencial biológico de novos compostos. O ensaio de MTT, por exemplo, tem sido amplamente utilizado em pesquisas experimentais para avaliar a viabilidade celular<sup>72</sup>, com vantagens que

<sup>72</sup>KUMAR, P.; NAGARAJAN, A.; UCHIL, P. D. Analysis of cell viability by the MTT assay. **Cold Spring Harb Protoc**, 2018.

incluem a facilidade e rapidez de desempenho, reprodutibilidade dos resultados e correlação clínica observada entre testes *in vitro* e *in vivo*.<sup>73</sup> Nesse sentido, o potencial efeito citotóxico de EAq, EEtOH e EHA de *P. pavonica* nas concentrações 0,5; 5; 25 e 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  em fibroblastos de pele humana (HFF-1) foram avaliados a partir do ensaio de MTT.

Percentuais de viabilidade celular entre 80 e 60 %, 60 e 40 % e abaixo de 40 % são considerados como de citotoxicidade fraca, moderada e forte, respectivamente<sup>72</sup>. E por isso, pode-se dizer, como mostra a Figura 10, que a viabilidade celular dos fibroblastos foi afetada pelo tratamento por 48 horas com os extratos EEtOH e EHA em todas as concentrações avaliadas. No entanto, a viabilidade celular dos fibroblastos tratados com EAq nas concentrações 0,5 e 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  apresentaram-se superiores a 80 %, indicando que não houve efeitos significativos na viabilidade celular, havendo a redução da viabilidade apenas nas maiores concentrações avaliadas (25 e 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Outros diferentes estudos também têm mostrado que extratos aquosos de *P. pavonica* em baixas doses não causam mudanças na viabilidade celular.<sup>74</sup>

**Figura 10** – Efeito dos extratos aquoso (EAq), alcóólico (EEtOH) e hidroalcóólico 30:70 (EHA) de *P. pavonica* na viabilidade celular de fibroblastos de pele humana (HFF-1). DMEM: *Dulbecco's modified eagle medium*. As células foram semeadas e tratadas com o veículo (tween 80 – 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), triton-x (1 %) e os extratos (0,5; 5; 25 e 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) por 48 h. A viabilidade celular foi medida pelo ensaio MTT. As barras representam a média  $\pm$  desvio padrão (DP) do experimento realizado em triplicata. (\*) 0,05 (\*\*) 0,01 (\*\*\*) 0,001, (\*\*\*\*) < 0,001.



Fonte: A autora (2022)

<sup>73</sup>SASAKI, T.; TAMAKI, J.; NISHIZAWA, K.; KOJIMA, T.; TANAKA, R.; MORIYA, R.; SASAKI, H.; MARUYAMA, H. Evaluation of cell viability and metabolic activity of a 3D cultured human epidermal model using a dynamic autoradiographic technique with a PET radiopharmaceutical. *Scientific reports*, v. 9, 2019.

<sup>74</sup>GÜNER, A. In vitro risk assessment of *Padina pavonica* (Linnaeus) (Brown algae). *Food and Health*, v. 7, p. 31 – 38, 2021.

Diferentes percentuais de viabilidade celular para os extratos avaliados, apontam que diferentes substâncias foram extraídas, de acordo com a escolha do solvente utilizado durante o processo de extração. O EAq apresentou ainda relação dose-dependente, quando à medida que as doses eram aumentadas, menores percentuais de viabilidade celular eram encontrados.

#### 2.3.3.3.2 *Efeito dos extratos obtidos de P. pavonica sobre a morfologia de fibroblastos de pele humana*

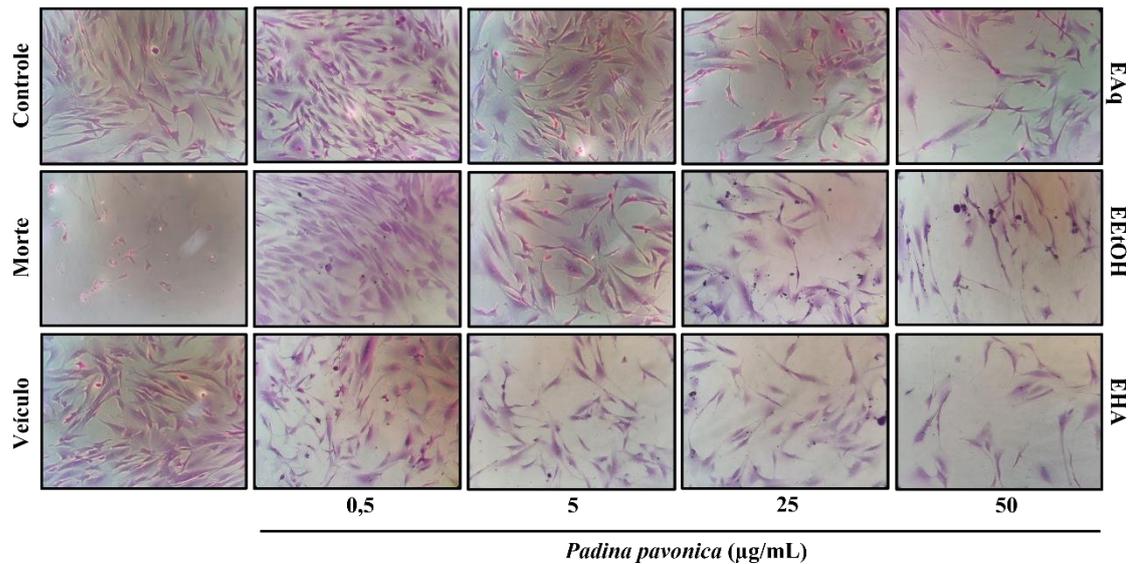
A morfologia dos fibroblastos de pele humana foi avaliada para os grupos controle (célula HFF-1), morte (triton x – 1 %), veículo (tween 80 – 0,008 %), EAq, EEtOH e EHA de *P. pavonica* (0,5; 5; 25 e 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

Conforme mostra a Figura 11A, é possível observar uma diminuição no número de células e alterações morfológicas celulares à medida que a concentração dos extratos aumentava, corroborando com os resultados obtidos para o ensaio MTT. Dentre essas alterações destacam-se a perda da característica da célula (espraiada) para o aparecimento de algumas células no formato arredondado, perda de volume celular e redução do citoplasma celular. Entretanto a Figura 11B mostra que nas concentrações 0,5 e 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de EAq não houve alteração na morfologia das células, com manutenção de sua morfologia normal (células grandes dispostas em formato espraiado).

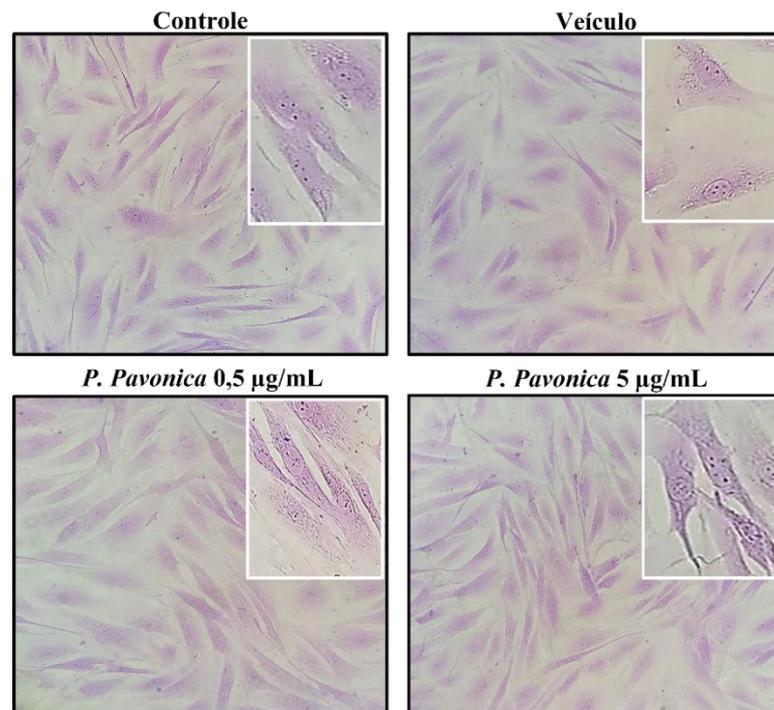
Em conjunto, os resultados de manutenção da morfologia e da viabilidade das células submetidas ao tratamento com o extrato aquoso de *P. pavonica* nas concentrações 0,5 e 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , justificaram a sua escolha para o prosseguimento dos ensaios, excluindo assim as demais concentrações de EAQ, EEtOH e EHA, devido à redução em grau moderado da viabilidade celular, bem como a interferência na morfologia normal da célula.

**Figura 11** – Efeito dos extratos aquoso (EAq), alcóólico (EEtOH) e hidroalcólico 30:70 (EHA) de *P. pavonica* na morfologia celular de fibroblastos de pele humana (HFF – 1). Os fibroblastos foram fixados com metanol e corados com o corante giemsa. **(A)** Imagens obtidas para os fibroblastos tratados com os extratos nas concentrações 0,5; 5; 25 e 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , morte (triton-x 1 %) e veículo (tween 80 – 0,0008 %). **(B)** Imagens ampliadas para a morfologia das células tratadas com EAq 0,5 e 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

**A)**



**B)**



Fonte: A autora (2022)

### 2.3.3.3.3 Efeito do extrato aquoso de *P. pavonica* sobre a migração de fibroblastos de pele humana

A proliferação e migração de células, a exemplo dos fibroblastos, é uma etapa importante durante o processo de restauração da integridade estrutural do tecido e na manutenção de sua funcionalidade, e por isso ensaios de cicatrização de feridas *in vitro*, como o “*scratch wound healing*” são úteis na investigação do efeito de um novo agente terapêutico em tipos celulares específicos importantes durante esse reparo.<sup>75</sup> Dessa maneira, o efeito do extrato aquoso de *P. pavonica* na atividade migratória de fibroblastos de pele humana (HFF-1) foi avaliado.

É possível observar, de acordo com a Figura 12A, que os fibroblastos tratados com o EAq na concentração  $0,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$  apresentaram uma taxa de fechamento da área mais rápida quando comparada aos grupos controle (mitomicina C -  $4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e veículo ( $0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ).

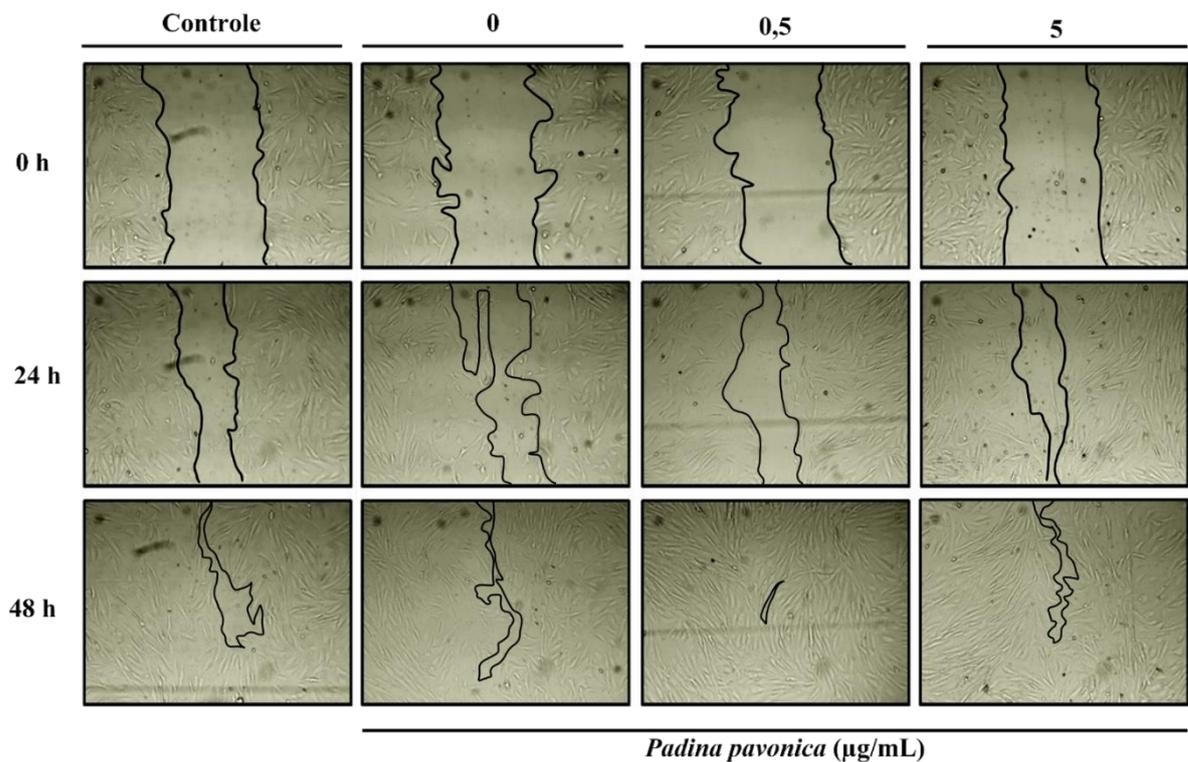
A análise quantitativa da resposta migratória de fibroblastos tratados com mitomicina e expostos ao EAq ( $0,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) apresentou também um aumento significativo na migração total em 48 h após o risco, como mostra a Figura 12B. Os níveis basais de fechamento por arranhão depois de 24 e 48 h de cultura, nas células tratadas com o controle e o veículo foram de 65,21 e 82,44 % e de 67,18 e 85,37 %, respectivamente. Enquanto os fibroblastos cultivados na presença de EAq ( $0,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) exibiram um aumento na migração de 71,07 e 92,61 % em 24 e 48 horas, respectivamente. No entanto, a resposta migratória dos fibroblastos de EAq ( $5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) nas primeiras 24 h foi inferior aos outros grupos, não apresentando diferença significativa para o tempo de 48h após o risco.

---

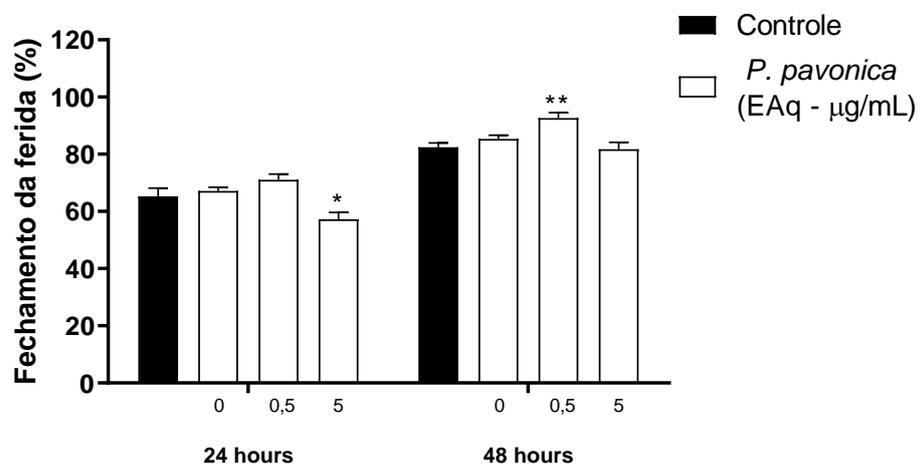
<sup>75</sup>PASTAR, I.; LIANG, L.; SAWAYA, A. P.; WIKRAMANAYAKE, T. C.; GLINOS, G. D.; DRAKULICH, S.; CHEN, V.; STOJADINOVIC, O.; DAVIS, S. C.; TOMIC-CANIC, M. 10 - Preclinical models for wound healing studies. **Skin Tissue Models**, p. 223 – 253, 2018.

**Figura 12** – Efeito do extrato aquoso (EAq) de *P. pavonica* na migração celular de fibroblastos de pele humana (HFF – 1). Os fibroblastos foram tratados com 0,5 e 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de extrato. As imagens foram capturadas para calcular o fechamento do risco. O experimento foi feito em triplicata. **(A)** Imagens de fotomicrografias representativas mostrando a área de risco de células dos grupos controle (mitomicina - 4  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (tween 80 – 0,008 %), 0,5 e 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (EAq de *P. pavonica*) e a migração celular para a área livre de células após 24 e 48 h. **(B)** A porcentagem de arranhão coberto foi medida pela quantificação da distância total que as células se moveram da borda do arranhão em direção ao centro do arranhão, usando o software ImageJ, seguido pela conversão para uma porcentagem da ferida coberta. As barras representam a média  $\pm$  DP do experimento realizado em triplicata. (\*)  $p < 0,05$ , (\*\*)  $p < 0,01$  em comparação com células tratadas com veículo nos respectivos pontos de tempo.

**A)**



**B)**



Fonte: A autora (2022)

Diversos relatos de estudos *in vitro* e *in vivos* já apontam o potencial cicatrizante de diferentes gêneros de algas marinhas. A exemplo, tem-se que para o ensaio de “*scratch wound healing*”, o extrato aquoso de *Sargassum illicifolium* na concentração de  $1,06 \mu\text{g}.\mu\text{L}^{-1}$  apresentou um percentual de migração de cerca de 92 % das células de fibroblasto de camundongos (L9L29) após 24 h do tratamento.<sup>76</sup> Ensaios de cicatrização de feridas no modelo de rato diabético utilizando extratos de *Gracillaria crassa* e *G. L. papillosa* promoveram a contração da ferida, reduzindo o seu tempo de fechamento com a indução da proliferação de fibroblastos, bem como a angiogênese e a reepitelização<sup>77</sup>.

Metabólitos secundários como taninos, triterpenóides e alcalóides, e a presença de polissacarídeos como o fucoidano, comumente encontrados em algas marinhas, foram identificados como responsáveis por afetar uma ou mais fases do processo de cicatrização de feridas.<sup>78,79</sup> Estudos mostraram que constituintes fitoquímicos como flavonoides<sup>80</sup> e triterpenóides<sup>81</sup> são conhecidos por promover o processo de cicatrização de feridas principalmente devido às suas propriedades adstringentes e antimicrobianas, que parecem ser responsáveis pela contração da ferida e aumento da taxa de epitelização.

#### 2.3.3.4 Ensaio de atividades biológicas *in vivo*

##### 2.3.3.4.1 Atividade analgésica e anti-inflamatória

O teste de contorção abdominal induzida por ácido acético é utilizado para avaliar a atividade analgésica inespecífica para várias substâncias de ação central e periférica, pois ativam diretamente nociceptores viscerais e somáticos que ineram o

<sup>76</sup>PREMARATHNA, A. D.; RANAHEWA, T. H.; WIJSEKERA, S. K.; WIJESUNDARA, R. R. M. K. K.; JAYASOORIYA, A. P.; WIJEWARDANA, V.; RAJAPAKSE, R. P. V. J. Wound healing properties of aqueous extracts of *Sargassum illicifolium*: An *in vitro* assay. **Wound Medicine**, v. 24, p. 1- 7, 2019.

<sup>77</sup>SENTHIL, K. A.; MURUGAN, A. Antiulcer, wound healing and hepatoprotective activities of the seaweeds *Gracillaria crassa*, *Turbinaria ornata* and *Laurencia papillosa* from the southeast coast of India. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 49, 2013.

<sup>78</sup>NAYAK, B. S.; PEREIRA, L.M.P. Catharanthus roseus flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. **BMC Complement. Altern. Med.**, v. 6, 2006.

<sup>79</sup>KUMAR, B.; VIJAYAKUMAR, M.; GOVINDARAJAN, R.; PUSHANGADAN, P. Ethnopharmacological approaches to wound healing exploring medicinal plants of India. **J. Ethnopharmacol**, v. 114, p. 103 – 113, 2007.

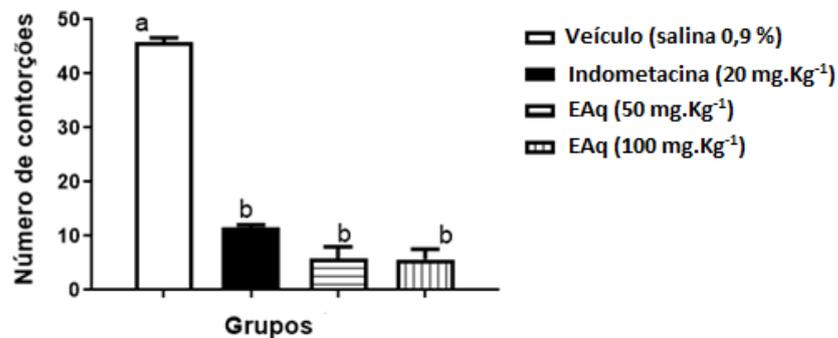
<sup>80</sup>TSUCHIYA, H.; et al. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillinresistant *Staphylococcus aureus*. **J. Ethnopharmacol**, v. 50, p.27 – 34, 1996.

<sup>81</sup>SCORTICHINI, M.; Rossi, P. M. Preliminary *in vitro* evaluation of the antimicrobial activity of terpenes and triterpenoids towards *Erwinia amylovora* (Burrill). **J. Appl Bacteriol**, v. 71, p.109 – 112, 1991.

fênio e induzem inflamação e que são sensíveis às classes terapêuticas de drogas anti-inflamatórias esteróides (AINE) e opioides.<sup>82</sup>

Conforme mostra a Figura 13, o número de contorções abdominais foi reduzido nos camundongos quando tratados com EAq de *P. pavonica* (50 e 100 mg.Kg<sup>-1</sup>) em comparação com os camundongos tratados com o veículo (salina 0,9 %), com resultado que se assemelha ao obtido para o grupo de camundongos tratados com indometacina (20 mg.Kg<sup>-1</sup>). O extrato EAq apresentou redução da dor dos animais tratado em percentuais de 89,4 e 89,7 % nas concentrações de 50 e 100 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente, cerca de 10 % a mais quando comparado ao grupo de camundongos tratados com o fármaco controle indometacina (20 mg.Kg<sup>-1</sup>), que apresentaram percentual de resposta equivalente a 79 %.

**Figura 13** – Efeito antinociceptivo causado pela administração oral do extrato aquoso de *P. pavonica* (EAq 50 e 100 mg.Kg<sup>-1</sup>) e indometacina (20 mg.Kg<sup>-1</sup>) sobre as contorções abdominais induzidas pela injeção de ácido acético (0,8 % i.p.) em camundongos. Cada grupo representa a média de 6 animais. ANOVA, seguida pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.



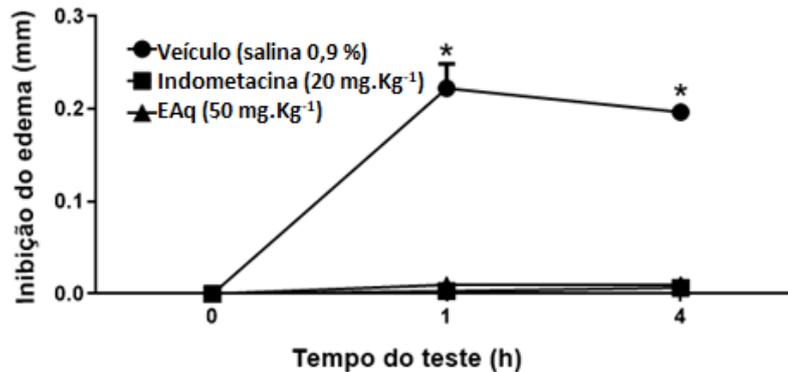
Fonte: A autora (2022)

O estudo preliminar do potencial anti-inflamatório de EAq de *P. pavonica* foi realizado utilizando o teste de edema de orelha induzido por xilol, que conforme a Figura 14, mostra a redução do tamanho do edema formado na orelha dos camundongos tratados com EAq (50 mg.Kg<sup>-1</sup>) quando comparado com o grupo veículo (salina 0,9 %). Mostra ainda, resultado semelhante ao obtido para os camundongos tratados com indometacina (20 mg.Kg<sup>-1</sup>). Em percentual, a atividade anti-inflamatória de EAq foi equivalente a 95,5 % na primeira hora do teste, mantendo-se em 94,7 %

<sup>82</sup>STEPANOVIĆ-PETROVIĆ, R.M.; TOMIĆ, M.A.; VUČKOVIĆ, S. M.; PARANOS, S.; UGREŠIĆ, N. D.; PROSTRAN, M. Š.; MILOVANOVIĆ, S.; BOŠKOVIĆ, B. The Antinociceptive Effects of Anticonvulsants in a Mouse Visceral Pain Model. *Anesthesia & Analgesia*, v. 106, p.1897 – 1903, 2008.

após 4 horas. O controle realizado com indometacina, por sua vez, apresentou redução de 98,5 e 96,84 % após 1 e 4 horas do tratamento, respectivamente.

**Figura 14** – Efeito do extrato aquoso de *P. pavonica* (EAq 50 mg.Kg<sup>-1</sup>) sobre a formação do edema de orelha de camundongos comparado ao grupo controle negativo (veículo – salina 0,9 %) e positivo (indometacina 20 mg.Kg<sup>-1</sup>) após 1 e 4 h do tratamento. Cada grupo representa a média de 6 animais. ANOVA, seguida pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.



Fonte: A autora (2022)

Ambos os resultados preliminares sugerem perspectivas promissoras, uma vez que reduziu a inflamação no edema de orelha e apresentou ação antinociceptiva na contorção abdominal, apontando assim para o potencial anti-inflamatório com ação analgésica de EAq de *P. pavonica*.

A presença de polissacarídeos como os ácidos algínicos, fucoidanos e laminaranos em algas do gênero *Padina* foram apontados como sendo responsáveis por diferentes atividades biológicas, como a anti-inflamatória e antinociceptiva.<sup>83</sup>

#### 2.3.3.4.2 Toxicidade aguda de extratos obtidos de *P. pavonica* em camundongos albinos Swiis (*Mus musculus*) fêmeas

O método de classificação da toxicidade aguda baseia-se na avaliação biométrica de doses fixas, devidamente separadas para permitir uma substância ser classificada quanto aos efeitos de classificação e avaliação de risco. É um procedimento reprodutível que utiliza poucos animais.

<sup>83</sup>MEN'SHOVA, R.V.; ERMAKOVA, S.P.; RACHIDI, S.M.; AL-HAJJE, A. H.; ZVYAGINTSEVA, T. N.; KANAAN, H. M. Seasonal Variations of the composition, structural features, and antitumor properties of polysaccharides from *Padina pavonica* (LEBANON) as a function of composition. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 47, n.6, p. 870 – 875, 2011.

A partir desse teste foi possível realizar uma triagem toxicológica e farmacológica dos extratos avaliados, identificando os principais efeitos comportamentais (Tabela 9) apresentados pelos camundongos dos grupos controle e tratados com os extratos de *P. pavonica* (2000 mg.Kg<sup>-1</sup>).

**Tabela 9** – Efeitos comportamentais observados durante o teste de toxicidade aguda nos camundongos dos grupos controle, G1, G2 e G3 administrados com soro fisiológico 0,9 %, extrato aquoso, alcoólico e hidroalcoólico de *P. pavonica*, respectivamente.

<b>Grupos/ Parâmetros</b>	<b>Controle</b>	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>
Agitação	X	X	X	X
Agressividade	X	X	X	X
Aumento da frequência respiratória	X	-	-	-
Ereção de cauda	X	X	X	X
Expansão do pavilhão auricular	X	X	X	X
Movimento circular	X	-	X	X
Movimento estereotipado	X	X	X	X
Ondulação de cauda	X	X	-	-
Piloereção	X	X	X	X
Postura em garra	X	X	X	X
Tremores finos/grosseiros	-	-	-	X
Fotofobia	-	X	-	X
Defecação	X	X	X	X
Diurese	X	X	X	X
Reação de fuga	-	X	X	X
Postura estática	X	X	-	-
Abdução das patas do trem posterior	-	X	-	X
Ambulação	-	X	-	X
Autolimpeza	X	X	X	X
Contorções abdominais	-	-	-	X
Escalar	X	X	X	X

X= efeito observado; - = efeito não observado

Fonte: A autora (2022)

Os efeitos comportamentais observados foram de modo geral comum a todos os grupos de camundongos avaliados. No entanto, foi observado aumento da frequência respiratória apenas para os camundongos do grupo controle. Por outro lado, apenas os camundongos submetidos ao tratamento com os extratos de *P. pavonica* apresentaram fotofobia, reação de fuga, abdução das patas do trem posterior e ambulação.

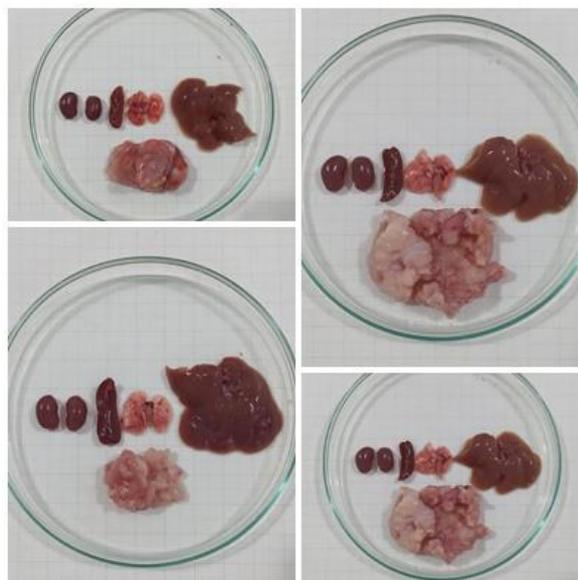
Para a dose de 2000 mg.Kg<sup>-1</sup> utilizada não houve óbito em nenhum dos grupos testados, classificando os extratos de *P. pavonica* na categoria 5 ou não classificado.

#### 2.3.3.4.3 Efeito dos extratos obtidos de *P. pavonica* sob a redução do tumor Sarcoma-180 em camundongos albinos Swiis (*Mus musculus*) machos

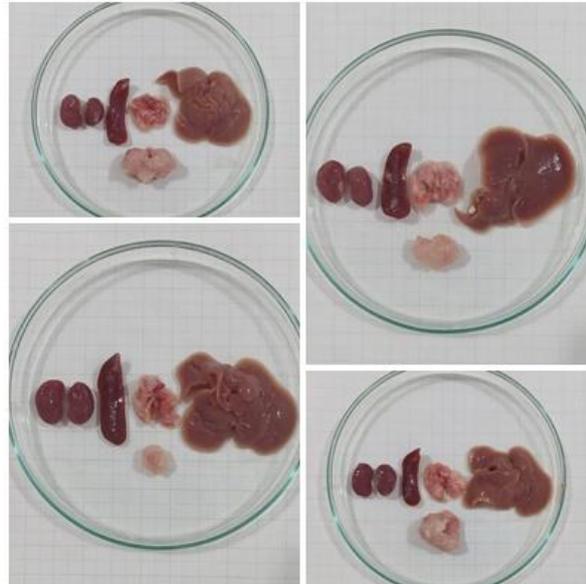
Os ensaios utilizando o Sarcoma-180 sugerem uma redução do tamanho do tumor (Figura 15 a,b e c) ao comparar os animais dos grupos tratado G1 e G2 com os extratos aquoso e alcoólico de *P. pavonica* na dose de 100 mg.Kg<sup>-1</sup> com o grupo controle (+), tratado com MTX (2,5 mg.Kg<sup>-1</sup>).

**Figura 15** – Imagens obtidas para os órgãos e tumores retirados de camundongos submetidos ao tratamento com a) metotrexato (2,5 mg.Kg<sup>-1</sup>), b) extrato aquoso de *P. pavonica* (100 mg.Kg<sup>-1</sup>) e c) extrato alcoólico de *P. pavonica* (100 mg.Kg<sup>-1</sup>).

A)



B)



C)



Fonte: A autora (2022)

No entanto, não foi possível calcular o percentual real de redução do tumor, uma vez que os 5 camundongos do grupo controle (-) vieram a óbito durante o experimento. Para os grupos controle (+), G1 e G2 também houve morte, de 1, 1 e 2 animais, respectivamente. Todos os animais vieram a óbito 6 ou 7 dias após a indução do tumor.

#### 2.3.3.4.4 *Parâmetros bioquímicos e hematológicos do sangue*

Os resultados obtidos para os parâmetros bioquímicos e hematológicos do sangue dos animais submetidos ao teste de toxicidade aguda (Tabela 10) mostram que não houve diferença estatística ao comparar o grupo controle e os grupos tratados

com os extratos de *P. pavonica*. Encontraram-se assim dentro dos valores apresentados pelo grupo controle. No entanto, análise histopatológica dos órgãos são necessárias para a avaliação completa da saúde dos camundongos tratados.

**Tabela 10** – Resultados obtidos para os parâmetros bioquímicos e hematológicos do sangue de camundongos submetidos ao teste de toxicidade aguda. Os grupos controle, G1, G2 e G3 foram administrados com água, extrato aquoso, alcoólico e hidroalcoólico de *P. pavonica*, respectivamente.

Grupos/ Parâmetros	Controle		G1		G2		G3	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Uréia	59,37	11,18	59,00	6,84	62,50	4,84	70,07	23,75
Creatinina	0,50	0,28	0,57	0,42	0,36	0,22	2,72	3,06
Hemácias	8,83	0,33	9,32	1,45	9,21	0,18	9,42	0,34
Hemoglobina	14,77	0,65	15,43	1,93	15,10	0,36	15,58	0,53
Hematócrito	49,50	1,13	51,70	7,12	50,37	1,98	52,30	0,36
VCM	55,77	1,25	55,47	2,93	54,63	1,17	56,50	0,75
HCM	15,93	1,50	16,60	0,87	16,40	0,17	16,97	0,05
CHCM	29,34	0,96	29,90	0,46	30,00	0,66	29,87	0,75
Leucócitos	2366,6		2233,3		1766,6		2933,34	
Segmentados	18,67	10,26	14,00	5,57	28,00	13,1	16,67	7,57
Linf. Típico	78,00	13,11	81,67	4,04	66,67	13,0	78,00	8,71
Monócitos	4	2,83	4	2	5	1	4	2

DP: desvio padrão; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração da hemoglobina corpuscular média. Os resultados obtidos foram analisados empregando – se o teste de análise de variância (ANOVA) one way, seguido do teste de *Tukey*, no qual os valores são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m), e os resultados considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

Fonte: A autora (2022)

### 3 INCORPORAÇÃO DE EXTRATO AQUOSO DE *P. PAVONICA* NA PRODUÇÃO DE REVESTIMENTO COMESTÍVEL ATIVO PARA A CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS *TOMMY ATKINS*

#### 3.1 REFERENCIAL TEÓRICO

##### 3.1.1 Cultivar manga (*Mangifera indica* L.)

O Brasil, embora já ocupe posição de destaque dentre os maiores produtores mundiais de frutas, possui ainda enorme aptidão para a produção agrícola que apresenta cada vez mais produtividade por área cultivada, com consideráveis perspectivas de crescimento junto aos 2,5 milhões de hectares já utilizados. Nessas condições, o Brasil é atualmente considerado o 3º maior produtor mundial de frutas, atrás somente da China e Índia, e o 23º maior exportador.<sup>84</sup> Em um bom cenário, sua exportação ultrapassou os 980 milhões de toneladas em 2019, o que representa um aumento de 16 % no volume das exportações de frutas quando comparado ao ano de 2018.<sup>85</sup>

Dentre as frutas mais demandadas para a exportação, destaca-se a manga em 1º posição, com cerca de 222 milhões de toneladas exportadas em 2019, o que representa um crescimento de 30 % quando comparado ao ano anterior.<sup>85</sup> Atualmente, a área brasileira destinada para o seu cultivo é de 70 mil hectares, dos quais 69 %, ou seja, 49 mil hectares encontram-se na região Nordeste, em especial no Semiárido com destaque para a região do Vale do São Francisco.<sup>13</sup>

Por possuir condições climáticas favoráveis, caracterizadas pela intensa insolação durante todo o ano e boa aptidão do solo em relação à irrigação, agregado aos altos rendimentos alcançados e a qualidade da manga produzida, o Vale do São Francisco é atualmente o principal polo frutícola de manga do País.<sup>13</sup> Explorando a janela de exportação que começa em agosto e termina em outubro, a região aproveita o período de entressafra de outros países exportadores para exportar cerca de 90 % do total de mangas exportadas pelo Brasil, o que gera 200 mil empregos diretos.<sup>85</sup> Em números, as vendas para o mercado estrangeiro, especialmente para a Holanda,

---

<sup>84</sup>Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo, diz Abrafrutas. **ABRAFRUTAS**, 2018. Disponível em: <<https://abrafrutas.org/dados-estatisticos/>>. Acesso em: 20 de mar. de 2020.

<sup>85</sup>Exportação de frutas cresce 16% em 2019. **ABRAFRUTAS**, 2018. Disponível em: <<https://abrafrutas.org/dados-estatisticos/>>. Acesso em: 20 de mar. de 2020.

Reino Unido e Estados Unidos, alcançou um total de US\$ 227,5 milhões em mangas no ano de 2019.<sup>86</sup>

Originária da Índia, a mangueira foi introduzida no Brasil na época das grandes navegações, ocupando inicialmente o litoral, desde o Rio de Janeiro até Belém do Pará, expandindo-se em seguida para o interior brasileiro. As cultivares *Tommy Atkins*, *Palmer*, *Keitt* e *Haden* foram trazidas ao Brasil anos depois e destacaram-se pelos seu maior tempo de prateleira quando comparadas com as cultivares de introdução mais antiga como a espada e rosa.<sup>13</sup>

É uma árvore frondosa, de porte médio a alto, podendo atingir até 30 metros, com copa simétrica e folhas verdes. Sua inflorescência geralmente é ramificada, piramidal e terminal. O fruto da mangueira é uma drupa, com tamanho e peso variando de poucos gramas a 2 Kg, cujo formato varia de arredondado a alongado, e casca com diferentes variações das cores verde, amarelo e vermelho. (Figura 16). Sua polpa é de coloração amarela com ou sem fibras a depender da variedade. No interior da polpa encontra-se o caroço ou semente, que é fibroso e apresenta diferentes formas e tamanhos.<sup>87</sup>

**Figura 16** – a) Mangueira; b) flores da *Mangifera indica* L. e c) cultivar *Tommy Atkins*.



Fonte: Google imagens (2020)

<sup>86</sup> Exportações de manga e uva crescem, mas receita diminui e acende alerta no Vale do São Francisco. **ABRAFRUTAS**, 2018. Disponível em: <<https://abrafrutas.org/>>. Acesso em: 20 de mar. de 2020.

<sup>87</sup> EMBRAPA, **Características da planta**. Disponível em: <[www.agencia.cnptia.embrapa.br](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br)>. Acesso em: 21 de mar. de 2020.

Caracterizada por sua composição rica em fibras, vitaminas, minerais, polifenóis e terpenóides, o que lhe confere propriedades nutritivas e antioxidantes, a manga tem alcançado grande espaço no mercado exterior.<sup>11</sup> A cultivar *Tommy Atkins*, por exemplo, com sua coloração avermelhada atraente, sabor agradável, de tamanhos médios a grande com até 13 cm de comprimento e uma massa que varia de 400 a 600 g com poucas fibras, aliado a sua alta produtividade, resistência ao traslado e alto valor nutricional, tem alcançado grande parte do mercado Europeu.<sup>13</sup>

A manga, por ser climatérica, ou seja, continua a amadurecer rapidamente após colhida, visto a continuidade de processos respiratórios e de produção de etileno, necessita de práticas adequadas para a manutenção de sua qualidade.<sup>11</sup> Práticas estas que atuem no combate de fenômenos limitantes a seu armazenamento, manuseio e potencial de transporte e, que conseqüentemente diminuam os índices de perda pós-colheita da fruta.

### 3.1.2 Perdas pós-colheita em frutas

Embora o Brasil possua um alto poder produtivo para a cadeia de frutas, à medida que esse número cresce, aumenta-se também seu índice de perda e desperdício. Desde o ano de 2008, o país tem registrado uma das maiores taxas de perdas pós-colheita de frutas do mundo, resultando em um percentual de cerca de 30 a 40 % de frutas produzidas não comercializadas.<sup>88</sup> Estas por sua vez, perdem o valor de mercado, visto que não são visualmente atrativas ao consumidor final, o que gera ao País prejuízos econômicos de cerca de 112 bilhões de reais anuais.<sup>89</sup> Os danos dessa perda se estendem aos consumidores, que irão ter à sua disposição menos produto, maiores preços e frutas com qualidade mercadológica inferior.

Esses números continuam a ser preocupantes a nível mundial, quando se estima que quase um terço de toda a comida produzida mundialmente está sendo desperdiçada atualmente, e que apenas um quarto dessa comida desperdiçada poderia alimentar 795 milhões de pessoas com fome crônica em todo o mundo. Todos os anos, 1,3 bilhão de toneladas de comida apodrecem ou são jogadas fora, com os

<sup>88</sup>MARCHETTO, A. M. P.; ATAIDE, H. H.; MASSON, M. L. F.; PELIZER, L. H.; PEREIRA, C. H. C.; SENDÃO, M. C. Avaliação das partes desperdiçadas de alimentos no setor de hortifrutis visando seu aproveitamento. **Revista Simbio-Logias**, v.1, n.2, nov. 2008.

<sup>89</sup>TOCHETTO, C. C.; FERRARI, M. R.; BERGAMO, M. M. C.; VANCIM, V. Estudo sobre as perdas físicas e financeiras decorrentes da produção, transporte, armazenagem e comercialização de hortifrutigranjeiros no município de Erechim/RS. **Revista Perspectiva**, v. 34, n. 123, p.7-17, jun. 2010.

resíduos de frutas e legumes representando 45 % do total.<sup>88</sup> Destes, cerca de 54 % de todos os resíduos são perdidos nos processos de produção, como resultado da ineficiência de países em desenvolvimento durante a colheita, manuseio pós-colheita e processamento, enquanto os outros 46 % são desperdiçados nas fases de processamento, distribuição e consumo.<sup>90</sup>

A taxa de perda pós-colheita também tem atingido as mangas produzidas no Brasil, em um índice médio de 28 %, que pode variar entre 20 e 40 %.<sup>12</sup> O estágio de maturação em que as mangas são colhidas é determinante para o seu amadurecimento, podendo manifestar-se em deficiências pós-colheita que refletem na cor, firmeza, conteúdo de açúcares e na acidez; quando colhidos prematuramente, ou na obtenção de frutos mais sensíveis a danos mecânicos e a ataques de microrganismos, quando colhidos tardiamente. Além disso, práticas inadequadas de manuseio e acondicionamento também atuam diretamente na redução da vida pós-colheita da fruta, o que limita a sua distribuição para mercados consumidores mais distantes.<sup>13</sup>

Atualmente, o principal modal utilizado nas exportações das mangas produzidas na região do São Francisco é o marítimo, o que requer um maior tempo, quando comparada ao transporte aéreo, até que esteja disponível para o seu consumidor final.<sup>13</sup> Além disso, a manga ainda é transportada diversas vezes, por transportes rodoviários até que chegue aos portos e ainda aos armazéns do importador ou ao cliente varejista. É sabido que quanto maior for a cadeia de abastecimento, maior é o número de etapas que podem interferir na qualidade da fruta, o que leva a sua deterioração.

Após a colheita, os vegetais continuam a respirar, transpirar e produzir hormônios de amadurecimento, alterando o equilíbrio inicial, o que resulta em variações nas concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), oxigênio (O<sub>2</sub>), água (H<sub>2</sub>O) e etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) ao longo da estocagem. Sob condições ideais, a maioria das plantas, incluindo seus frutos, respira aerobiamente. A respiração aeróbica envolve a quebra de moléculas de carboidratos obtidos durante a fotossíntese. A queima lenta desses compostos ricos em energia, como a glicose, constitui atividades metabólicas que são usadas na formação de adenosina trifosfato (ATP). Durante o processo respiratório normal, a planta usa o O<sub>2</sub> da atmosfera como um aceptor de elétrons no processo de

---

<sup>90</sup>Food and Agriculture Organization of the United Nations. Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention. Roma, 2011.

fosforilação e libera CO<sub>2</sub>. Quando o fruto é colhido, há uma interrupção neste balanço gasoso, ocorrendo um alto influxo de O<sub>2</sub> com proporcional perda do CO<sub>2</sub>. Nessa nova condição, as células internas não são renovadas e a respiração aumenta, o que provoca uma queda metabólica levando o fruto ao amadurecimento gradual.<sup>13,15</sup>

Para as mangas, o mecanismo é o mesmo, de modo que, após ser colhida, apresenta um rápido amadurecimento e deterioração. Por isso, métodos que atuam diminuindo sua taxa respiratória, como a refrigeração e o uso de atmosfera modificada têm sido utilizados por fazendas produtoras de mangas.<sup>13</sup>

O controle de temperatura através do armazenamento refrigerado é utilizado para diminuir o calor do produto ou do ambiente onde este se encontra, visto que a atividade respiratória da fruta pode quadruplicar a cada aumento de 10 °C na temperatura. O calor acelera a respiração provocando o consumo de carbono do produto, comprometendo sua qualidade.<sup>11</sup> O uso de refrigeração além de diminuir a transpiração do fruto com uma menor perda em sua massa, atua também evitando a presença e a proliferação de microrganismos. Dentre os modos de resfriamento mais utilizados para as mangas, destaca-se o uso de câmara fria, resfriamento com ar forçado e resfriamento com água.<sup>13</sup>

A alteração da atmosfera de armazenamento, que faz uso de altas concentrações de CO<sub>2</sub> por períodos curtos de exposição, por sua vez, além de reduzir a taxa respiratória do fruto e o desenvolvimento de microrganismos, atua também na regulação da biossíntese do etileno.<sup>13</sup> Duas técnicas têm sido utilizadas para tal: a atmosfera modificada e controlada. Em armazenamentos sob atmosfera modificada, a composição gasosa é modificada inicialmente e as mudanças dependem da taxa de respiração do produto e da permeabilidade da embalagem, enquanto que sob atmosfera controlada, a atmosfera gasosa é continuamente controlada por todo o período de armazenamento.<sup>91</sup> O uso de atmosfera modificada<sup>92</sup> pode ser obtido utilizando revestimentos comestíveis que promovam alterações na permeação e, por conseguinte, alterem a atmosfera interna da fruta, que em conjunto podem preservar a qualidade nutricional e promover maior segurança e tempo de conservação a fruta.

---

<sup>91</sup>JAYAS, D. S.; JEYAMKONDAN, S. PH- Postharvest Technology: Modified Atmosphere Storage of Grains Meats Fruits and Vegetables. **Biosystems Engineering**, v. 82, n.3, p. 235-251, jul. 2002.

<sup>92</sup>TURHAN, K. N. Is edible coating an alternative to MAP for fresh and minimally processed fruits? **Acta Horticulturae**, v. 876, n. 1, p. 299-305, 2010.

Além desses tratamentos, vale salientar a existência de outros, tais como o tratamento hidrotérmico<sup>93</sup>, o uso de inibidores da síntese do etileno<sup>94</sup>, e uso de radiação gama<sup>14</sup>, geralmente associados ao armazenamento sob refrigeração. No entanto, o uso de refrigeração que é uma técnica simples e muito utilizada para prolongar a vida útil das mangas, estendendo seu período de comercialização e transporte, não é uma condição trivial a todas as etapas de cadeia até o consumidor final.

A fim de potencializar a vida útil pós-colheita das mangas produzidas no Vale do São Francisco destinadas à exportação, algumas destas técnicas ainda têm sido exploradas, a exemplo da refrigeração associada ao uso da cera de carnaúba. A problemática é que uma vez que a cera de carnaúba não apresenta propriedades antimicrobianas, as mangas por ela revestidas continuam suscetíveis ao ataque de microrganismos, assim como as mangas não revestidas.<sup>15</sup>

As perdas causadas pela proliferação de microrganismos podem ser quantitativas, quando há redução na produção, e qualitativas, quando afeta a aparência e a qualidade dos frutos. Perdas na qualidade de frutos podem prejudicar a credibilidade de empresas exportadoras, principalmente quando problemas de podridões de manga causadas por doenças ocorrem em pós-colheita, prejudicando a comercialização da fruta. Sua exportação exige controle de qualidade físico, químico e biológico, pelos compromissos firmados com os importadores quanto às exigências de normas de Boas Práticas Agrícolas (BPA), e por isso técnicas adequadas para o combate da proliferação dos principais fungos que atacam a cultura são necessárias.<sup>95</sup> Dentre as principais doenças que atacam a qualidade pós-colheita das mangas produzidas no Vale do São Francisco, destacam-se a antracnose e as podridões pedunculares em frutos.

A antracnose é um dos principais problemas fitossanitários na exportação de mangas oriundas de regiões produtoras que apresentam altos índices pluviométricos, onde predominam elevada umidade relativa (UR) e temperaturas próximas aos 28°C. Causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides sensu lato*, a antracnose é

---

<sup>93</sup>HRIBAR, J.; PLESTENJAK, A.; VIDRIH, R.; SIMCIC, M. Influence of CO<sub>2</sub> shock treatment and ULO storage on apple quality. In: International Symposium on Postharvest. **Acta Horticulturae** 368, vol. 2, 1994, p. 634-640

<sup>94</sup>GOLDING, J.; SATIAN, S.; RATH, A. C.; JOBLING, J.; JAMES, H. Re-Tain maintains "Pink Lady" fruit quality during long term storage. In: International Symposium on Postharvest. MENCARELLI, F.; TONUTTI, P. (Eds) **Acta Horticulturae** 682, v. 1, p. 119-125.

<sup>95</sup>EMBRAPA, Doenças da Mangueira, 2008. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/142180/doencas-da-mangueira>>. Acesso em: 22 de ago. de 2019.

responsável pelas maiores perdas econômicas em áreas produtoras de manga no mundo<sup>96</sup>, exigindo pulverizações periódicas com fungicidas nos pomares e tratamentos pós-colheita. O patógeno pode ficar quiescente, de modo que frutos colhidos com aparência sadia possam desenvolver sintomas da antracnose apenas durante o seu amadurecimento, ou seja, quando já se encontram no mercado consumidor.<sup>97</sup> No início do amadurecimento, manchas marrom escuras a pretas, geralmente arredondadas e levemente deprimidas podem se desenvolver em qualquer parte do fruto. É comum apresentarem um padrão de escorrimento (mancha em lágrima), conforme Figura 17, quando várias lesões se distribuem a partir do pedúnculo para a base do fruto, consequência da infecção do fruto a partir de esporos presentes em água livre que escorreu sobre o fruto em formação. Com a evolução dos sintomas, as manchas se tornam maiores e mais deprimidas, às vezes com pequenas rachaduras, levando ao apodrecimento.<sup>95,97</sup>

**Figura 17** – Evolução da antracnose em mangas pós-colheita.



Fonte: EMBRAPA (2020)

As podridões pedunculares da manga, outra das doenças limitantes da mangicultura do São Francisco, aparecem geralmente no período pós-colheita, quando a fruta inicia o seu amadurecimento. Em condições favoráveis à infecção como por exemplo, temperaturas altas (27 a 32 °C) e umidade relativa acima de 80 %, o desenvolvimento da doença acarreta perdas econômicas durante as etapas de produção, armazenamento, transporte e comercialização da fruta.<sup>95,97</sup>

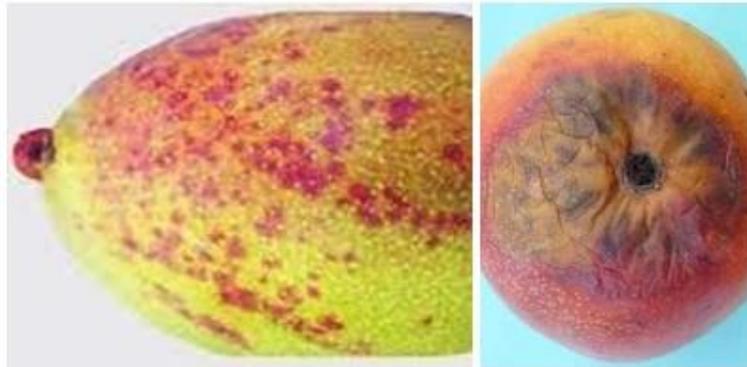
<sup>96</sup>EMBRAPA, Cultivo da Mangueira, 2010. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-geral/-/busca/Cultivo%20da%20Mangueira?buscaPortal=Cultivo+da+Mangueira>>. Acesso em: 12 de abr. de 2020.

<sup>97</sup>KIMATI, H. AMORIM, L. BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. v.2. Ceres. São Paulo, 1997.

Os sintomas das podridões do fruto variam com o fungo envolvido na infecção, mas tem como origem a região do pedúnculo. A infecção em frutos jovens provoca sua podridão e queda. Em frutos maduros, o patógeno causa uma podridão de aspecto mole, deixando os frutos impróprios para consumo, levando a perda pós-colheita.

No Semiárido Nordestino, os principais fungos responsáveis pelas podridões são *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum parvum*, *Aspergillus sp.* e *Alternaria alternata*.<sup>95,97</sup> Os sintomas de infecções por *A. alternata*, por exemplo, ocorrem na forma de irritação das lenticelas, que adquirem coloração avermelhada característica, progredindo para pequenas lesões encharcadas que coalescem (Figura 18). Inicialmente a lesão possui uma profundidade de apenas 1 a 2 mm sem apresentar amolecimento. No entanto, sob condições de umidade, a lesão desenvolve-se, tomando-se deprimida, com reprodução do patógeno no centro da lesão.<sup>95,97</sup>

**Figura 18** – Podridão peduncular por *A. alternata*.



Fonte: EMBRAPA (2020)

### 3.1.3 Estudo da qualidade e conservação pós-colheita de mangas

A manga, por apresentar padrão respiratório climatérico, necessita de técnicas pós-colheita que retardem o seu amadurecimento, aumentando assim sua vida útil.<sup>11</sup> A eficiência dessas técnicas, por sua vez, devem ser ter sua viabilidade avaliadas.

O retardo de alterações em atributos como a cor da casca e da polpa, odor desagradável, firmeza (F), perda de massa (PM), sólidos solúveis totais (SST) e potencial hidrogeniônico (pH) resultam no adiamento do processo de senescência de frutas, ou seja, no seu processo de amadurecimento, aumentando sua vida útil, fator tão desejado por produtores e comerciantes. Menores variações nestes atributos são

indicativos da manutenção da qualidade dos frutos, e por isso devem ser estudados a fim de se avaliar a eficiência do tratamento pós-colheita adotado.<sup>13</sup>

As variações na cor da casca representam um fator importante tanto para a determinação do grau de maturidade da fruta quanto da sua atração ao consumidor. A cor da casca em mangas geralmente apresenta inicialmente a coloração verde, mudando para amarela, podendo ainda existir pontos vermelho-arroxeados, à medida que amadurece.

A aplicação de revestimentos associada à refrigeração pode ser eficiente em retardar a evolução da cor da casca e da polpa.<sup>98</sup> Estes atuam reduzindo a degradação da clorofila que evolui com o tempo de armazenamento.<sup>99</sup> Além desta degradação, a síntese de carotenoides também é um dos fatores responsáveis pela produção de etileno que, por consequência, atua na perda da cor verde das frutas.<sup>100</sup> Assim, o atraso na evolução da cor da casca e pigmentação não uniforme nas mangas ocorre como consequência do impedimento das trocas gasosas a partir das películas formadas na superfície das frutas, favorecendo a redução drástica do seu metabolismo.

Odores atípicos em mangas poderiam ser consequência do processo de anaerobiose, que ocorre quando a concentração de oxigênio é limitada ou ausente, ocorrendo o processo fermentativo, por meio do qual o ácido pirúvico é convertido a dióxido de carbono e acetaldeído e este, posteriormente é transformado em etanol, que em níveis tóxicos, resulta no desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis.<sup>101</sup>

Frutas climatéricas, como a manga, tem seu processo de amadurecimento desencadeado pelo etileno, que por sua vez, resulta na ativação de várias hidrolases da parede celular, que levam ao amaciamento da fruta, ou seja, ao decréscimo de sua firmeza ao longo do armazenamento. Em mais detalhes, as modificações sofridas nas paredes celulares através da ação de várias enzimas, como pectinametilesterase,

---

<sup>98</sup>SANTOS, D. B. dos, **Conservação pós-colheita de manga (*Mangifera indica* L.) “Tommy Atkins” com revestimentos comestíveis**. Cruz das Almas, 2006, 66p. (Dissertação de mestrado, Escola de Agronomia – UFBA).

<sup>99</sup>RIBEIRO, V. G.; ASSIS, J. S. de; SILVA, F. F.; SIQUEIRA, P. P. X.; VILARONGA, C. P. P. Armazenamento de goiabas “Paluma” sob refrigeração e em condição ambiente, com e sem tratamento com cera de carnaúba. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, SP, v. 27, n. 2, p. 203-206, agosto 2005.

<sup>100</sup>ZERBINI, P. E.; VANOLI, M.; RIZZOLO, A.; GRASSI, M.; PIMENTEL, R. M. de A.; SPINELLI, L.; TORRICELLI, A. Optical properties, ethylene production and softening in mango fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 101, p. 58–65, 2015.

<sup>101</sup>CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. ver. e ampl. Lavras: UFLA, 2005.

poligalacturonase, celulase, atuam atacando os carboidratos estruturais responsáveis pela firmeza dos tecidos vegetais, havendo decomposição de macromoléculas como pectinas, celulose, hemicelulose e amido. O teor de água também tem relação direta com a textura do vegetal, uma vez que ela é responsável pelo turgor e, conseqüentemente, pela firmeza<sup>102</sup>.

Frutos revestidos que continuam a perder massa durante os dias de armazenamento indicam que, embora estejam revestidos, estes continuam respirando e ativando processos metabólicos após colheita.<sup>96</sup> A utilização de revestimentos associadas à refrigeração provavelmente pode manter uma maior umidade ao redor do fruto, reduzindo a movimentação da água do interior do produto para o ambiente através de poros existentes na superfície.<sup>100</sup> Ocasionalmente assim, menores perdas de massa fresca, o que contribui para o aumento da qualidade externa dos frutos.

Revestimentos que apresentam características semipermeáveis com as menores perdas de massa durante o período de armazenamento são películas que atuam na proteção dos frutos contra a perda excessiva de água por transpiração para a atmosfera. Dessa maneira, tratamentos que resultam em menores valores de perda de massa são os mais indicados como tratamento pós-colheita de frutas, desde que não interrompam por completo o processo metabólico destas. Perdas de massa próximas a 5 % ainda são aceitáveis pelo consumidor, mas podem comprometer a consistência, promovendo o enrugamento e o murchamento da manga. Valores de perdas de massa acima de 10 % já são consideradas impróprias para o consumo.<sup>98</sup>

A faixa de valor de SST (açúcares) para o consumo de mangas deve estar entre 11 e 14° Brix.<sup>103</sup> O aumento do seu teor em função do tempo é consequência da degradação ou biossíntese de polissacarídeos como o amido devido à ação, principalmente, das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -amilase<sup>104</sup>, com sua posterior transformação em açúcares solúveis, o que eleva a concentração de sólidos solúveis totais.<sup>101</sup> Ou ainda, como consequência da maior perda de umidade que acaba proporcionando o acúmulo de açúcares nos tecidos durante o processo de

---

<sup>102</sup>GUADARRAMA, A.; PEÑA, Y. Actividad respiratoria vs. Variaciones físicas y químicas en la maduración de frutos de naranjita china (*Citrus x microcarpa* Bunge). **Bioagro**, Barquisimeto, v. 25, n. 1, p. 57-63, 2013.

<sup>103</sup>JERONIMO, E. M.; BRUNINI, M. A.; de ARRUDA, M. C.; CRUZ, J. C. S.; FISCHER, I. H.; GAVA, G. J. de C. Conservação pós-colheita de mangas 'Tommy Atkins' armazenadas sob atmosfera modificada. **Ciências Agrárias**, v. 28, n.3, p. 417-426, 2017.

<sup>104</sup>PERONI, F. H. G. A.; KOIKE, C.; LOURO, R. P.; PURGATTO, E.; NASCIMENTO, J. R. O. do; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Mango starch degradation. II. The binding of  $\alpha$ -amylase and  $\beta$ -amylase to the starch granule. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 56, p. 7416-7421, 2008.

amadurecimento dos frutos.<sup>105</sup> Os açúcares encontrados na manga são glicose, frutose e predominantemente a sacarose.<sup>106</sup>

O valor de pH por sua vez, é aumentado com o amadurecimento dos frutos, devido ao consumo dos ácidos orgânicos durante o processo respiratório, sendo este o principal responsável pela diminuição da acidez.<sup>13</sup>

### 3.1.4 Revestimentos comestíveis

Revestimento comestível é uma fina camada de material biopolimérico comestível, geralmente não superior a 0,3 mm, aplicada à superfície dos alimentos em busca de preservá-los. Eles são capazes de formar uma barreira contra a umidade, oxigênio, luz ultravioleta (UV), movimento de solutos dos alimentos e microrganismos.<sup>107</sup>

Resultam da aplicação direta das soluções biopoliméricas na superfície das frutas, a partir dos métodos de imersão ou aspersão. Na imersão, a fruta é imersa na solução biopolimérica, enquanto na aspersão, a solução é aspergida nas frutas. Em ambos os processos, a solução escoa livremente sobre a superfície da fruta seca em condições ambiente, ou seja, sem o auxílio de ventilação forçada ou aquecimento.<sup>108</sup> A formação espontânea da película se dá como consequência da evaporação do solvente e agregação das moléculas do polímero, processo conhecido como automontagem do inglês *self assembly*.<sup>109</sup>

Em frutas, as trocas gasosas podem ocorrer principalmente através da cutícula e lenticelas, órgãos epidérmicos de arejamento e formato poroso. Com a aplicação de revestimentos em frutas, tem-se a formação de uma cobertura com preenchimento parcial dessas regiões, reduzindo, dessa forma, a transferência de umidade (transpiração) e as trocas gasosas (respiração). Como o início do processo de

<sup>105</sup>LEMOS, O. L.; REBOUÇAS, T. N. H.; SÃO JOSÉ, A. R.; VILAS, M.T.R.; SILVA, K.S. Utilização de biofilme comestível na conservação de pimentão 'Magali R' em duas condições de armazenamento. **Bragantia**, v.66, n.4, p.693-699, 2007.

<sup>106</sup>SILVA, A. P. F. B.; NASCIMENTO, J. R. O. do; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI. Starch mobilization and sucralose accumulation in the pulp of Keitt mangoes during postharvest ripening. **Journal of Food Biochemistry**, v. 32, p. 384-395, 2008.

<sup>107</sup>MCHUGH, T. H.; SENESI, E. Apple wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. **Journal of Food Science**, v. 65, p. 480 – 485, 2000.

<sup>108</sup>BESINELA JUNIOR, E.; MONARIM, M. M. S.; CAMARGO, M.; MAHL, C. E. A.; SIMÕES, M. R.; SILVA, C. F. Efeito de diferentes biopolímeros no revestimento de mamão (Carica papaya L) minimamente processado. **Revista Varia Scientia Agrárias**, v.1. n. 1, p. 131-142, 2010.

<sup>109</sup>PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; OLIVEIRA JUNIOR, O. N. Ultrathin polymeric films produced by self-assembly: preparation, properties and applications. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 228-235, 2001.

maturação está estreitamente associado ao aumento na produção de etileno e, considerando que o O<sub>2</sub> é necessário para a sua produção, a redução da permeação do O<sub>2</sub> para o interior do fruto gerará uma correspondente redução na produção do etileno, que é responsável pelo amadurecimento, o que permite, em princípio, prolongar a vida do fruto.<sup>15,110</sup>

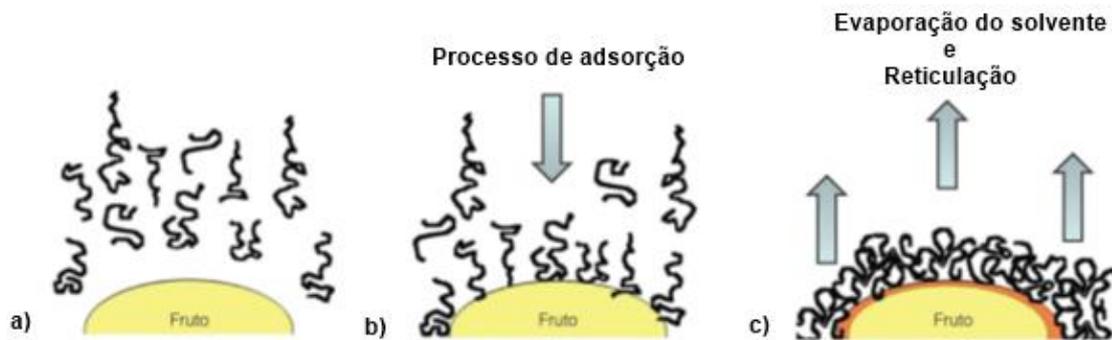
Ao imergir uma fruta em uma solução biopolimérica, ligações fracas e fortes são estabelecidas pela deposição das espécies poliméricas dissolvidas no meio com a superfície da fruta. O tipo de mecanismo predominante na formação do revestimento vai depender das características do adsorvente, nesse caso, a casca das frutas e do adsorvato, compostos diluídos na solução filmogênica. De modo geral, pode-se destacar 5 interações passíveis de ocorrência durante esse processo, são elas: ligações de hidrogênio, interação hidrofóbica, interação por forças dispersivas, polarização de elétrons e interação eletrostática.

A ligação de hidrogênio é predominante em superfícies hidrofílicas ou em materiais com alta densidade de grupos polares, como a amina (-NH<sub>2</sub>) e a hidroxila (-OH). Já a interação hidrofóbica ocorre por afinidade entre grupos hidrofóbicos das moléculas em ambiente aquoso e os presentes na superfície sólida. A interação por forças dispersivas ocorre via forças intermoleculares, como as de *Van der Waals*, a partir de interações fracas e de curto alcance entre moléculas de adsorvato e adsorvente. A polarização de elétrons por sua vez, ocorre quando o adsorvato contém um núcleo aromático e a superfície possui sítios carregados positivamente. A interação eletrostática ocorre devido à interação de espécies iônicas carregadas permanentemente de cargas opostas; é considerada no caso em que o polímero em solução apresenta grupos salinos aniônicos (-COO e Na<sup>+</sup>) ou catiônicos (-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>). Embora, em função das características dos materiais em solução e da superfície, haja a predominância de um mecanismo, na prática todos os tipos de interações podem ocorrer simultaneamente e em intensidades variadas.<sup>110</sup> Pode-se generalizar a formação do recobrimento através da evaporação do solvente e consequente auto-organização do material polimérico depositado, segundo a sequência ilustrativa da Figura 19.

---

<sup>110</sup>ASSIS, O.B. G.; BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87-97, abr. 2014.

**Figura 19** – Sequência ilustrativa da formação de uma cobertura comestível. a) imersão do fruto em solução filmogênica; b) atração entre o adsorvato (composto diluído na solução filmogênica) e o adsorvente (casca) por um dos possíveis mecanismos; c) cobertura formada após o fruto ser removido da solução a partir da evaporação do solvente e consequente reticulação do polímero.



Fonte: Adaptado de Assis e Britto (2014)

Durante o processo de reticulação, tem-se (i) a etapa de gelificação, na qual a deposição passa de um líquido viscoso a um gel elástico e (ii) a etapa de evaporação contínua do solvente, que ocorre mais lentamente, o que leva a um aumento na densidade das ligações e um enrijecimento da matriz.<sup>111</sup> Um processo de evaporação do solvente acelerada leva à formação de microbolhas, podendo resultar em uma cobertura porosa com propriedades de barreira reduzidas. Por outro lado, em deposições com evaporação espontânea, tem-se a formação de uma matriz de baixa porosidade, com superfície exterior ondulada.<sup>112</sup> Poros com diâmetro médio próximo a 12 nm permitem a passagem de oxigênio estabelecendo uma respiração aeróbica mínima, o que é desejável.<sup>113</sup> Um bloqueio total da permeação de oxigênio levaria a uma respiração anaeróbica, o que resultaria em um processo de fermentação interna com alterações significativas de aroma e sabor, em curto espaço de tempo. Por fim, na condição ideal, se tem uma membrana delgada fortemente reticulada e aderida sobre a cutícula (para frutos intactos), ou sobre as estruturas celulósicas da polpa (para faces fatiadas), configurando uma camada adicional e de permeabilidade diferenciada.<sup>110</sup>

<sup>111</sup> MANSON, J. A.; SPERLING, L. N. **Polymer blends and composites**. Plenum Press, 1976.

<sup>112</sup> STEWARD, P. A.; HEARN, J.; WILKINSON, M. C. An overview of polymer latex film formation and properties. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 86, n. 3, p. 195-267, 2000.

<sup>113</sup> SALUNKHE, D. K.; BOLIN, H. R.; REDDY, N. R. **Storage methods**. In: SALUNKLE, D. K. Storage, processing and nutritional quality of fruits and vegetables. Boca Raton: CRC Press, p. 243-294, 1991.

### 3.1.5 Biopolímeros utilizados na produção de revestimentos comestíveis

Os revestimentos comestíveis geralmente são feitos de materiais biodegradáveis, como materiais à base de biopolímeros (proteínas, lipídios e polissacarídeos), que possuem ciclos de vida mais curtos quando comparado aos polímeros sintéticos, sendo degradados mais facilmente, o que justifica a vantagem em seu uso.<sup>114</sup>

A principal classe de proteínas avaliadas para a produção de revestimento comestível é a classe das zeínas, que são proteínas de reserva do milho. No entanto, o glúten, o colágeno e a gelatina também têm tido sua viabilidade testada.<sup>115</sup> O uso da gelatina, por exemplo, apresentou redução na permeação do oxigênio, podendo ainda funcionar como carreadora de agentes antioxidantes e antimicrobianos.<sup>116</sup> Entretanto, as proteínas por si só formam filmes frágeis e com baixa flexibilidade, tornando-se quebradiços principalmente com alterações de umidade e temperatura.<sup>117</sup> Por isso, para essas formulações há quase sempre a necessidade da adição de plastificantes como os poli álcoois, que aumentam sua plasticidade, gerando materiais com propriedades mecânicas mais adequadas.

Entre as substâncias lipídicas geralmente aplicadas como revestimento comestível, podem-se citar as ceras naturais e os monoglicerídeos acetilados. As ceras são classificadas como o revestimento lipídico eficiente para as frutas, não só por reduzir a perda de água, a taxa respiratória e a atividade metabólica, mas também por retardar o enrugamento. Os revestimentos a base de lipídios são utilizados principalmente para limitar o transporte de umidade em função de sua baixa polaridade, podendo ainda diminuir a incidência de queimaduras na casca das frutas.<sup>118</sup> Entretanto, concentrações altas destes componentes podem ser prejudiciais

---

<sup>114</sup>LUVIELMO, M. M.; LAMAS, S. V. Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 1, p. 8-15, jan. 2012.

<sup>115</sup>TRIGO, J. M.; ALBERTINI, S.; SPOTO, M. H. F.; SARMENTO, S. B. S.; LAI REYES, A. E.; SARRIÉS, G. A. Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 125-133, abr. 2012.

<sup>116</sup>BERTAN, L.C. **Desenvolvimento e caracterização de filmes simples e compostos à base de gelatina, ácidos graxos e breu branco**. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, p. 148. 2003.

<sup>117</sup>BRITTO, D.; CAMPANA FILHO, S. P.; ASSIS, O. B. G. Mechanical Properties of N,N,N-trimethylchitosan Chloride Films. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 2, p. 129-132, 2005.

<sup>118</sup>KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v.40, n.12, p. 47-59, 1986.

ao criar condições de anaerobiose nas frutas, induzindo alterações indesejáveis de sabor e odor, por serem susceptíveis a oxidação.<sup>119</sup>

Uma das ceras já utilizadas durante a formulação de revestimento comestível é a cera de carnaúba (Figura 20).

**Figura 20** – a) Palmeira *Copernicia prunifera*; b) cera de carnaúba obtida a partir da palmeira; c) solução aquosa da cera de carnaúba submetida a testes por imersão em frutas.



Fonte: Google imagens (2020)

Proveniente das folhas da palmeira *Copernicia prunifera* (Miller) H. E. Moore, a cera de carnaúba é uma planta nativa do Brasil que cresce facilmente em clima tropical, mas que se encontra em condições de exploração econômica apenas no ambiente seco das caatingas do Nordeste, principalmente nos estados Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte.<sup>120</sup>

No ramo agrícola, a cera de carnaúba tem sido aplicada em mangas produzidas em fazendas da região do Vale do São Francisco que buscam aumentar o tempo de conservação e reduzir o desperdício de suas frutas. Para tal, a formulação mais utilizada consiste em uma emulsão aquosa de grau alimentício à base da cera, que é aplicada em frutos limpos e secos, por meio da imersão ou de bicos de aspersão, à

<sup>119</sup>DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. A.; VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Reviews in Food Science*, v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.

<sup>120</sup>SILVA, J.B. **Revestimento comestível para manga (*Mangifera Indica*, L.) à base de cera de carnaúba com antimicrobianos.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, p. 32. 2009.

medida que os frutos passam por uma esteira.<sup>11,13</sup> Após a secagem, em temperatura ambiente, uma película protetora é formada, com resultados eficientes para a redução da taxa respiratória e da perda de firmeza.<sup>121</sup> No entanto, os revestimentos formados por soluções de cera de carnaúba não apresentam ação contra microrganismos.<sup>15</sup>

Como principais exemplos de biomoléculas derivadas de polissacarídeos utilizadas na preparação de recobrimentos comestíveis destacam-se o alginato de sódio, pectina, quitosana, amido e derivados da celulose como a carboximetilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose e metilcelulose.<sup>15</sup> Características estruturais como a presença de grupos polares, a exemplo da carboxila (-COOH), hidroxila (-OH) e amino (N-H), fazem dos polissacarídeos materiais naturalmente hidrofílicos, possibilitando o rearranjo das moléculas de água em torno dos sítios.

Pesquisas mostram que a película formada pelo revestimento a base de polissacarídeos apresenta baixa permeabilidade a gases, ou seja, abrandam as trocas respiratórias das frutas, reduzindo, principalmente, a taxa de escurecimento enzimático, que ocorre devido a ação das polifenoloxidasas, prolongando a vida de prateleira delas. A utilização de revestimentos de polissacarídeos em frutos pode contribuir para uma melhoria no aspecto visual, conferindo brilho, transparência e homogeneidade, resultante da melhor dispersão do soluto no meio aquoso.<sup>122</sup>

### 3.1.5.1 Alginato de sódio

O alginato de sódio é um copolímero binário linear de alta massa molecular composto por ácidos de  $\alpha$ -L gulurônico (G) e  $\beta$ -D manurônico (M) com ligações glicosídicas do tipo 1 $\rightarrow$ 4, presentes em proporções e sequência variáveis na parede celular e espaço intercelular de algas marrons da classe *Phaeophyceae*.<sup>123</sup> Os monômeros podem encontrar-se organizados em cadeias consecutivas de resíduos G, de resíduos M, ou em cadeias com resíduos alternados de M e G<sup>124</sup>, conforme mostra a Figura 21.

---

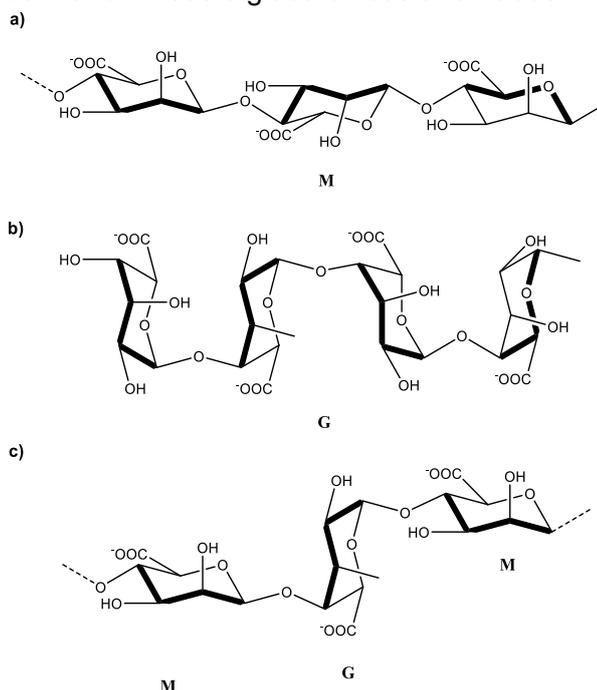
<sup>121</sup>DANG, K. T. H.; SINGH, Z.; SWINNY, E. E. Edible coatings influence fruit ripening, quality, and aroma biosynthesis in mango fruit. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 56, p. 1361–1370, 2008.

<sup>122</sup>DOMÍNGUEZ, R.; BARBA, F. J.; GÓMEZ, B.; PUTNIK, P.; KOVAČEVIĆ, D.B.; PATEIRO, M.; SANTOS, E. M.; LORENZO, J.M. Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food Research International**, v. 113, p. 93-101, jul. 2018.

<sup>123</sup>DRAGET, K. I., SKJÅK-BRÆK, G., SMIDSRØD, O. Alginate based new materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.21, p.47-55, 1997.

<sup>124</sup>ONSØYEN, E. **Alginates**. In: IMENSON, A. **Thickening and gelling agents for food**. Cap.11. 2 ed. London: Blackie Academic & Professional. p.230-260. 1997.

**Figura 21** – Estrutura do alginato: cadeia de resíduos de a) ácido manurônico (M); b) ácido glucurônico (G); c) ácidos manurônicos e glucurônicos alternados.



Fonte: Adaptado de Onsoyen (1999)

Além de ser produzido a partir de algas que podem ser cultivadas em fazendas, das quais até 40% de sua massa seca é alginato, este pode ainda ser obtido por fermentação utilizando bactérias do gênero *Pseudomonas* e *Azotobacter*. Neste último caso, é possível garantir a produção de biopolímeros de alta qualidade com características específicas e pré-determinadas. A diferença na estrutura polimérica do alginato resulta em géis com propriedades finais diferentes. Os géis produzidos a partir de alginatos com maior porcentagem de blocos-G são mais rígidos e quebradiços, enquanto o alginato cuja porcentagem de blocos-M é maior são mais elásticos.<sup>125</sup>

Devido a sua biocompatibilidade, baixa toxicidade e biodegradabilidade, aliada a propriedades únicas, como a de retenção de água, geleificação, aumento da viscosidade e estabilizante, o alginato tem sido um polissacarídeo largamente utilizado em indústrias alimentícia, têxtil, gráfica, médica, odontológica e farmacêutica.<sup>126</sup>

Recentemente, o alginato tem tido suas propriedades avaliadas para uso como recobrimentos comestíveis em frutas, a exemplos de mangas, cerejas, uvas e

<sup>125</sup>GARCIA-CRUZ, C. H.; FOGGETTI, U.; SILVA, A. N. Alginato bacteriano: aspectos tecnológicos, características e produção. *Química nova*, v.31, p.1800-1806, 2008.

<sup>126</sup>ERSTVÁG, H., VALLA, S. Biosynthesis and applications of alginates. *Polymer Degradation and Stability*, v.59, n.1, p.85-91, 1998.

mamões. Na conservação de mangas *Tommy Atkins*, cerejas e uvas, os resultados mostraram diminuição na respiração da fruta, com o aumento do seu período de conservação.<sup>16,127,128</sup> Já em mamões, observou-se uma redução no número de coliformes. A ação antimicrobiana de polissacarídeos como o alginato de sódio tem sido explicada a partir da ideia de que as moléculas do polímero se entrelaçam no entorno das bactérias, gerando uma barreira física para a penetração de nutrientes essenciais ao crescimento microbiano.<sup>129</sup>

### 3.1.6 Aditivos incorporados aos revestimentos comestíveis

Com mercados consumidores que procuram por frutas com boa aparência – coloridas e aspecto brilhante, sem a presença de manchas ou rachaduras, as películas formadas além de serem de fácil remoção devem possuir aderência suficiente para que não sejam removidas durante o manuseio, comestíveis e por assim serem atóxicas e seguras para o uso em alimento, devem ainda ser invisíveis e conferir aspecto brilhante na fruta, não introduzindo alterações nas características organolépticas, preservando o gosto ou os odores originais da fruta.<sup>13</sup>

Nesse sentido, os revestimentos comestíveis devem contribuir para a manutenção da qualidade pós-colheita das frutas revestidas, a fim de preservar sua cor, textura e valor nutricional. Para tal, estes devem possuir excelentes propriedades de barreira, principalmente a gases e vapor de água, de modo a controlar a redução das trocas gasosas superficiais e a perda ou ganho excessivo de água, reduzindo a perda de massa fresca e conseqüentemente retardando o amadurecimento e a deterioração dos frutos. Devem reter componentes voláteis constituintes do sabor e odor de cada fruto. Além disso, as propriedades mecânicas dos revestimentos comestíveis, como por exemplo resistência à tração e alongamento devem ser consideradas. Geralmente, os revestimentos devem ser resistentes à quebra e abrasão, protegendo a fruta contra injúrias e danos físicos; e flexíveis para que

<sup>127</sup>DÍAZ-MULA, H. M.; SERRANO, M.; VALERO, D. Alginate coatings preserve fruit quality and bioactive compounds during storage of sweet cherry fruit. **Food Bioprocess Technology**, v. 5, p. 2990–2997, 2012.

<sup>128</sup>MIGUEL, A. C. A.; DIAS, J. R. P. S.; ALBERTINI, S.; SPOTO, M. H. F. Postharvest of grape involved with films of sodium alginate and cold storage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n. 2, p. 277-282, 2009.

<sup>129</sup>TRIGO, J. M.; ALBERTINI, S.; SPOTO, M. H. F.; SARMENTO, S. B. S.; LAI REYES, A. E.; SARRIÉS, G. A. Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 125-133, abr. 2012.

possam se adaptar à possível deformação do alimento sem se romperem, garantindo assim um maior tempo de prateleira para as frutas.<sup>13,110</sup>

Para que os recobrimentos comestíveis sejam funcionais é preciso que aditivos que atuem como reticulantes e plastificantes sejam adicionados a formulação das soluções biopoliméricas, garantindo propriedades de barreira e mecânicas adequadas para a conservação das frutas. Somado a isso, atividades biológicas como atividade antioxidante e antimicrobiana são de grande importância, e vem sendo exploradas com a introdução de moléculas biologicamente ativas.

### 3.1.6.1 Agentes reticulantes

A modificação da estrutura química de biopolímeros com o objetivo de conferir-lhes propriedades funcionais adicionais ou simplesmente melhorar atributos já característicos deles é o motivo de se adicionar os agentes reticulantes em suas formulações. Agentes de reticulação são substâncias que apresentam baixa massa molar e grupos funcionais reativos capazes de permitir a formação de ligações entre as cadeias poliméricas.<sup>130</sup> A partir das reações de reticulação é possível garantir a estabilidade química e térmica, rigidez estrutural, permeabilidade, cor, eficiência em quelação e capacidade de imobilização proteica e celular necessárias.<sup>131</sup>

Para as várias aplicações do alginato de sódio, como espessantes, estabilizantes de emulsões e de espuma, agentes de encapsulação, agentes de geleificação, agentes de formação de filmes e de fibras sintéticas; sua capacidade de formar géis tem sido fundamental.<sup>132</sup> Para tal, faz-se necessário, o uso de reticulantes, a exemplo do cátion divalente cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), que através da reticulação iônica, forma estruturas diméricas, no formato conhecido como “modelo caixa de ovo”, como mostra a Figura 22. Nesse modelo<sup>133</sup>, os cátions ficam nos interstícios entre as cadeias de alginato a partir de interações eletrostáticas com o ânion carboxilato ( $\text{COO}^-$ ) e com os grupos hidroxila (-OH).

---

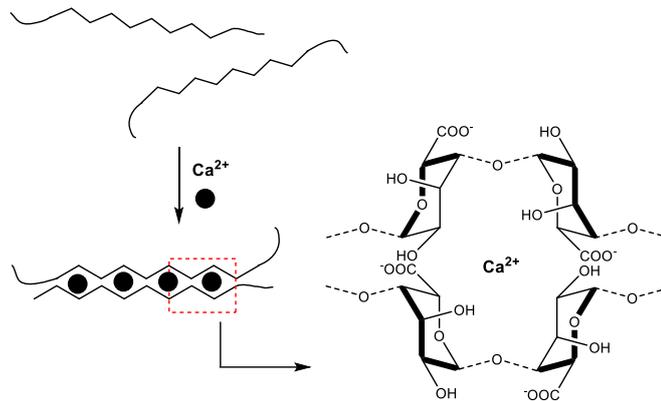
<sup>130</sup>BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J. M.; FELT, O.; PEPPAS, N. A.; GURNY, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 19-34, 2004.

<sup>131</sup>NETO, C. G. T.; DANTAS, T. N. C.; FONSECA, J. L. C.; PEREIRA, M. R. Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly(ethylene oxide) addition. **Carbohydrate Research**, v. 340, n. 17, p. 2630-2636, 2005.

<sup>132</sup>FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Os alginatos e suas múltiplas aplicações**, n. 26, p. 34-38. Disponível em: <www.revista-fi.com>. Acesso em: ago. de 2019.

<sup>133</sup>BRACCINI, I., PÉREZ, S. Molecular Basis of  $\text{Ca}^{2+}$  - Induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. **Biomacromolecules**, v.2, n.4, p.1089-1096, 2001.

**Figura 22** – Representação da reticulação iônica entre os cátions  $\text{Ca}^{2+}$  e as cadeias de alginato, formando estruturas no modelo “caixa de ovo”.



Fonte: Adaptado de Braccini e Pérez (2001)

Quanto ao uso do alginato como revestimento comestível, o íon  $\text{Ca}^{2+}$  proveniente de seu sal de cloro é o reticulante mais efetivo. Pois, além de estabelecer ligações entre as cadeias de alginato, através de interações iônicas e ligações de hidrogênio, liga-se seletivamente aos blocos G do polímero, visto que a distância entre os grupos  $\text{COOH}$  e  $\text{OH}^-$  do alginato nestes blocos acomoda bem os íons  $\text{Ca}^{2+}$ . Assim, é responsável por aperfeiçoar não apenas a resistência mecânica, mas também a propriedade de barreira a gases, diminuindo ainda sua solubilidade em água.<sup>134</sup>

### 3.1.6.2 Agentes plastificantes

A formação de um revestimento biopolimérico envolve forças coesivas que dependem de propriedades como massa molecular, polaridade e estrutura da cadeia, podendo resultar em filmes quebradiços.<sup>135</sup> No entanto, esta limitação pode ser superada com a adição de agentes plastificantes na formulação das soluções biopoliméricas. Esses, por sua vez, diminuem as forças intermoleculares, aumentando a mobilidade das cadeias, conferindo maior flexibilidade e adesão do revestimento na superfície da fruta.<sup>136</sup>

Caracterizados por apresentarem moléculas pequenas, que podem ser facilmente incorporadas entre as cadeias poliméricas, o uso de plastificante provoca

<sup>134</sup>ALLEN, L.; NELSON, A I.; STEINBERG, M. P.; MCGILL, J. N. Edible corn carbohydrate food coatings. I. Development and physical testing of a starch-alginate coating. **Food Technology**, v.17, p. 1437, 1963.

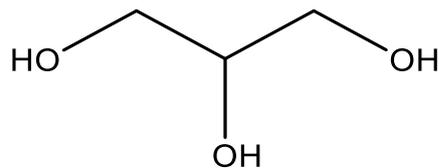
<sup>135</sup>BIERHALZ, A. C. K. **Confecção e caracterização de biofilmes ativos à base de pectina btm e de pectina btm/alginato reticulados com cálcio**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, p. 1. 2010.

<sup>136</sup>SOTHORNVIT, R., KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. **Innovations in Food Packaging**, 2005.

mudanças na temperatura de transição vítrea e, conseqüentemente, nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos revestimentos.<sup>137</sup> Como a fruta é um órgão vivo e, ao longo do armazenamento passa por processos fisiológicos que geram pequenas alterações de volume e textura, os revestimentos devem apresentar flexibilidade mínima para acompanhar essas pequenas alterações sem geração de danos estruturais, como destacamentos.<sup>110</sup> Os plastificantes comumente adicionados em revestimentos e em embalagens são polióis (glicerol e sorbitol), lipídios (ácidos graxos e tensoativos), monossacarídeos e oligossacarídeos (glicose, frutose e sacarose)<sup>138</sup>.

No entanto, a adição de um plastificante deve ser feita com parcimônia, considerando-se que a presença de moléculas com ação plastificante na matriz polimérica pode também interferir na permeação dos filmes formados. Com o aumento da concentração de plastificante, o espaço entre as cadeias se eleva e a difusão de gases é facilitada. A penetração de moléculas de água para o interior do filme é facilitada, o que leva a uma solvatação em sítios polares, gerando um intumescimento do revestimento. Essas alterações estruturais reduzem as propriedades de barreira e a aderência, facilitando a proliferação de fungos.<sup>110,139</sup> Por outro lado, a utilização de quantidades adequadas do plastificante, a exemplo do glicerol (Figura 23), pode agregar propriedades importantes ao material.

**Figura 23** – Estrutura do glicerol.



Fonte: A autora (2022)

Já utilizado por indústrias alimentícias, como emulsificante, estabilizante e aditivo alimentar, a escolha do glicerol como plastificante deve se dar a partir de sua compatibilidade com o polímero e o solvente escolhidos. Propriedades como baixa volatilidade, não-toxicidade e miscibilidade também devem ser consideradas. Como

<sup>137</sup>McHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Sorbitol vs glycerol plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, n.4, p.841-845, 1994.

<sup>138</sup>SOTHORNVIT, R., KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. **Innovations in Food Packaging**, 2005.

<sup>139</sup>ASSIS, O. B. G.; SILVA, V. L. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 223-228, 2003.

componente, o glicerol diminui a transmissão do vapor de água, podendo ainda atuar na proteção contra a produção de toxinas por microrganismos, conferindo propriedade antimicrobiana ao material.<sup>122,137</sup>

### 3.1.6.3 Agentes antioxidantes

Para além do seu uso no campo da medicina, os compostos antioxidantes são importantes aditivos alimentares utilizados para retardar o aparecimento de alteração oxidativa no alimento (deterioração, rancidez e descoloração), uma vez que possuem a capacidade de impedir reações de oxidação que tornam o alimento impróprio para o consumo. Dentre os compostos utilizados para este fim, destaca-se os fenólicos, caracterizados por possuírem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila (O-CH<sub>3</sub>) em sua estrutura, conferindo propriedades antioxidantes tanto para os alimentos como para o organismo. A exemplo têm-se os fenóis simples, os taninos, as ligninas, e os flavonoides.<sup>28</sup>

A atividade destes compostos é explicada com base na sua estrutura química e capacidade redutora, que através da neutralização dos radicais livres e da quelação de metais, agem na etapa de iniciação e de propagação da oxidação lipídica. A oxidação lipídica é uma das principais reações deteriorativas a ocorrerem durante o processamento, distribuição, armazenamento e preparo final dos alimentos. É responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis nos alimentos, tornando-os impróprios para o consumo. Além disso, ela provoca alterações que irão afetar a qualidade nutricional, a integridade e a segurança dos alimentos, através da formação de compostos potencialmente tóxicos, por isso a importância da utilização de agentes antioxidantes para esse fim.<sup>26</sup>

### 3.1.6.4 Agentes antimicrobianos

A proteção proporcionada pelo revestimento é particularmente relevante na prevenção de infestação por microrganismos. Estes podem permitir a transferência do agente ativo incorporado na matriz biopolimérica para a fruta, de maneira a manter

uma concentração predeterminada do composto ativo na superfície e, dessa forma, prevenir ou inibir o crescimento de microrganismos deterioradores ou patogênicos.<sup>140</sup>

Dentre os modelos que explicam o modo de ação dessas substâncias quando em contato com os revestimentos, o mais aceito tem por base a interação que ocorre entre os revestimentos a base de polissacarídeos e as membranas externas dos microrganismos. Neste caso, o mecanismo se dá por interação eletrostática, de ocorrência entre grupos protonados e os resíduos negativos na superfície dos microrganismos.<sup>141</sup>

Os antimicrobianos utilizados em revestimentos comestíveis podem ser de origem sintética ou natural. O primeiro compreende os sais inorgânicos a exemplo dos bicarbonatos, e ácidos orgânicos e seus sais como os sorbatos e benzoato. De origem natural, a exemplo de plantas, animais e algas, destaca-se a quitosana e os óleos essenciais. Devido a sua baixa toxicidade e a presença de compostos conhecidos como inibidores metabólicos das bactérias deteriorantes e patogênicas, dos bolores e das leveduras, presentes em folhas, ervas e especiarias, bem como seus derivados, como os óleos essenciais e as substâncias isoladas de diferentes extratos, estas substâncias têm sido amplamente estudadas como alternativa ao uso de produtos sintéticos em soluções biopoliméricas para o revestimento de frutas.<sup>142</sup>

Trabalhos avaliando a atividade antimicrobiana contra microrganismos desenvolvidos em frutas, de materiais como a quitosana<sup>143</sup>, óleo essencial do gênero *Citrus*<sup>144</sup>, extrato de plantas (*Azadirachta indica*)<sup>145</sup> e algas marinhas (*Sargassum*

<sup>140</sup>BUONOCORE, G. G.; DEL NOBILE, M. A.; PANIZZA, A.; CORBO, M. R. A general approach to describe the antimicrobial release from highly swellable films intended for food packaging applications. **Journal of Controlled Release**, v.90, p.97-107, 2003.

<sup>141</sup>GOY, R. C.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n. 3, p. 241-247, 2009.

<sup>142</sup>KUSWANDI, B.; JUMINA. Active and intelligent packaging, safety, and quality controls. **Fresh-cut Fruits and Vegetables**, p. 243-294, 2020.

<sup>143</sup>BRASIL, I. M.; FIGUEIREDO, R. W.; FIGUEIREDO, E. A. T.; PONTES, D. F.; OLIVEIRA, L. S.; ZAMBELLI, R. A. **Nanoencapsulados de resíduos da indústria de processamento de frutas em matriz de quitosana para uso como revestimentos em frutas minimamente processadas**. Depositante: Universidade Federal do Ceará. BR nº 102016018306-5 A2. Depósito: 09 ago. 2016. Concessão: 10 abr. 2018. Disponível em: <<https://gru.inpi.gov.br/pePI/jsp/patentes/PatenteSearchBasico.jsp>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

<sup>144</sup>GIRARD, G. **Composição de revestimento comestível e usos da mesma**. Depositante: Fruitsymbiose INC. BR nº 112012025866-4 A2 Depósito: 08 abr. 2011. Concessão: 13 out. 2011. Disponível em: <<https://gru.inpi.gov.br/pePI/jsp/patentes/PatenteSearchBasico.jsp>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

<sup>145</sup>RIBEIRO, T. T. B.; NUNES, T. P.; JESUS, B. G.; DARIVA, C.; PADILHA, F. F.; FRANCESCHI, E.; SANTOS, K. S.; BARBOSA, A. M. **Composição filmogênica antifúngica para revestimento de frutas**. Depositante: INSTITUTO DE TECNOLOGIA E PESQUISA; UNIVERSIDADE TIRADENTES; UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE. BR nº 102018000947-8 A2. Depósito: 17 jan. 2008. Concessão: 30 jun. 2019. Disponível em: <<https://gru.inpi.gov.br/pePI/jsp/patentes/PatenteSearchBasico.jsp>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

*filipendula* C.Agardh, 1824)<sup>146</sup> foram desenvolvidos nos últimos anos, mostrando a importância da adição desses compostos na superfície das frutas.

Ao utilizar o extrato etanólico obtido a partir da alga marinha *S. filipendula*, estudos preliminares apontaram para o potencial antimicrobiano da alga em questão contra o fungo *Monosporascus cannonballus*, um dos principais problemas fitossanitários do melão produzido na Região Nordeste do Brasil.<sup>144</sup> Outros trabalhos utilizando algas marinhas na formulação de revestimentos mostraram a eficácia da alga *Spirulina platensis* var. *tenuis* C.B.Rao 1937 em manter pequenas alterações de coloração na superfície de mangas revestidas e taxa respiratória mínima nos frutos que foram revestidos com o alginato contendo *S. platensis*.<sup>17,147</sup>

## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.2.1 Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes utilizados nos ensaios envolvendo os revestimentos comestíveis seguem listados na Tabela 11.

**Tabela 11** – Reagentes e solventes utilizados nos ensaios envolvendo os revestimentos comestíveis.

REAGENTES/SOLVENTES	PROCEDÊNCIA
Água destilada	-
Alginato de sódio	Sigma Aldrich
Cera de carnaúba	Aruá Tropical BR
Cloreto de cálcio	Química Moderna
Glicerol	Dinâmica
Solução tampão pH 4,7 e 10	Haloquímica

Fonte: A autora (2022)

### 3.2.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados para os estudos envolvendo os revestimentos comestíveis seguem listados na Tabela 12.

<sup>146</sup>OLIVEIRA, V. N. S.; COUTO JÚNIOR, J. R. S.; VASCONCELOS, B. M. F.; SALES JÚNIOR, R.; VAEZ, J. R. **Atividade antifúngica do extrato etanólico da macroalga marinha *Sargassum filipendula***. Rio Grande do Norte, IFRN, 2017. (Comunicação oral).

<sup>147</sup>RASTEGAR, S.; ATRASH, S. Effect of alginate coating incorporated with Spirulina, Aloe vera and guar gum on physicochemical, respiration rate and color changes of mango fruits during cold storage. **J. Food Meas. Charact.**, v.15, 2p. 65 – 275, 2020.

**Tabela 12** – Equipamentos utilizados nos estudos envolvendo os revestimentos comestíveis.

<b>EQUIPAMENTOS</b>	<b>MARCA/MODELO</b>
Agitador magnético	FISATOM/753 A
Balança semi analítica	SHIMADZU/AUY 220
Colorímetro digital portátil	KONICA MINOLTA/CR-400
Espectrofotômetro (FTIR)	Perkin Elmer Spectrum/400
Estufa	QUIMIS/Q314M242
Geladeira	
Máquina universal de ensaio	EMIC/ DL100000
Medidor de pH	MS TECNOPON/Mca-100
Microscópio eletrônico de varredura	TESCAN/MIRA 3
Paquímetro digital	LEE TOOLS
Refratômetro de bancada	ModellezausJENA /376320
Termobalança	SHIMADZU/DTG-60H
Texturomêtro digital	BROOKFIELD/CT-3

Fonte: A autora (2022)

### 3.2.3 Produção dos revestimentos comestíveis

Os revestimentos foram produzidos utilizando o método *casting* no qual os grânulos do biopolímero alginato de sódio se dispersam e se reorganizam após secagem sobre uma placa de superfície lisa, formando uma matriz polimérica. Os filmes formados foram removidos das placas e submetidos a avaliação de características relacionadas à aparência, parâmetros mecânicos e físico-químicos, e caracterizações químicas. Levantamento bibliográfico e experimentos prévios foram realizados para adaptação de metodologia e estudo das concentrações para cada um dos reagentes.<sup>93,148</sup>

A produção e os parâmetros avaliados para os filmes formados foram realizadas no Laboratório de Terras Raras (BSTR) DQF da UFPE.

#### 3.2.3.1 Revestimentos à base de alginato de sódio

Soluções biopoliméricas de alginato nas concentrações 0,5; 1,0 e 1,5 % m/m foram preparadas para formação dos filmes denominados A1CP, A2CP e A3CP, respectivamente, conforme mostra a Tabela 13. Inicialmente dissolveu-se a massa de

<sup>148</sup>IGARASHI, M. C. **Desenvolvimento de filme comestível à base de alginato incorporado do agente antimicrobiano óleo essencial de cravo: aplicação em alimento.** Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, p. 22. 2010. à

alginato de sódio, em quantidades necessárias para o preparo de cada uma das concentrações desejadas, em água destilada. Adicionou-se cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) – 12,5; 10,0 e 7,5 % m/m, respectivamente as concentrações de alginato - lentamente na solução, sob agitação até completa solubilização. Em seguida, glicerol – 6,25; 5 e 3,75 % v/v, respectivamente para as formulações A1CP, A2CP e A3CP - foi adicionado sob agitação constante e temperatura ambiente ( $\cong 25\text{ }^\circ\text{C}$ ) até sua completa solubilização na solução filmogênica. Por fim, o extrato aquoso de *P. pavonica* em concentração  $1000\ \mu\text{g.mL}^{-1}$  foi adicionado e mantido em agitação por 2 horas. A solução foi mantida em descanso até que as bolhas de ar fossem eliminadas, e na sequência vertida em placas de Petri em volumes adequados para obtenção de filmes com espessura de aproximadamente 0,25 mm. As placas foram levadas a estufa para secagem em temperatura de  $40\text{ }^\circ\text{C}$  por 4 horas.

**Tabela 13** – Constituição dos revestimentos à base de alginato de sódio.

<b>Filmes Constituintes</b>	<b>A1CP</b>	<b>A2CP</b>	<b>A3CP</b>
<b>Alginato de sódio</b>	0,5 % m/m	1,0 % m/m	1,5 % m/m
<b>Cloreto de cálcio</b>	12,5 % m/m	10,0 % m/m	7,5 % m/m
<b>Glicerol</b>	6,25 % v/v	5,0 % v/v	3,75 % v/v
<b><i>Padina pavonica</i></b>	$1000\ \mu\text{g.mL}^{-1}$	$1000\ \mu\text{g.mL}^{-1}$	$1000\ \mu\text{g.mL}^{-1}$

Fonte: A autora (2022)

### 3.2.4 Avaliação das características relacionadas com a aparência dos filmes

Os filmes foram avaliados subjetivamente quanto aos parâmetros de homogeneidade, transparência, flexibilidade, facilidade de desprendimento do suporte e manuseio. Para os parâmetros homogeneidade, transparência e flexibilidade, os filmes foram avaliados visualmente e os resultados foram tidos como “sim” e “não”. De modo que para os filmes serem classificados como homogêneos, eles deveriam apresentar-se com a ausência de partículas não solubilizadas, sem rupturas ou regiões quebradiças. Quanto a transparência, os filmes não deveriam modificar a cor original da superfície da fruta por ele revestida. Tratando-se da flexibilidade, ensaio prévio manual, aplicando força nas duas extremidades dos filmes, classificavam os filmes como flexíveis ou não. Por fim, para o parâmetro de facilidade de desprendimento do suporte e manuseio, uma pinça foi utilizada para retirar os filmes

produzidos na placa de Petri. O grau de desprendimento da superfície bem como o manuseio do filmes, sem que houvesse agrupamento ou rasgo, foi classificado como de baixa, média ou alta facilidade de desprendimento e manuseio. A espessura foi mensurada em 5 pontos aleatórios dos filmes utilizando um paquímetro digital.

### 3.2.5 Estudo das propriedades mecânicas dos filmes

Para o estudo das propriedades mecânicas dos revestimentos comestíveis realizou-se o ensaio de tração seguindo a norma da *American Society for Testing and Material* (ASTM 882-12)<sup>149</sup>, utilizando a máquina universal de ensaio do Departamento de Engenharia Mecânica (DEMEC) - UFPE.

Os parâmetros adotados foram: (i) velocidade da garra: 5 mm/min; (ii) distância inicial entre garras: 40 mm e (iii) dimensão do corpo de prova: 2,5 x 7,5 cm. Os testes foram realizados a  $\cong 25$  ° C e sem controle de umidade.

Foram avaliados os parâmetros resistência à tração (RT) e alongamento na ruptura (AR) para os filmes nas concentrações 1 % (m/m) alginato de sódio (EC1); 1 % (m/m) alginato de sódio + 10 % (m/m) cloreto de cálcio + 5 % (v/v) glicerol (A2SP); e 1 % (m/m) alginato de sódio + 10 % (m/m) cloreto de cálcio + 5 % (v/v) glicerol + 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de *P. pavonica* (A2CP). Utilizaram-se 4 corpos de provas para cada filme produzido, nos quais foram aplicados o teste estatístico ANOVA seguido do teste de *Tukey* a 5 % de probabilidade utilizando o software *Assistat*, versão 7.7 beta.

### 3.2.6 Caracterizações químicas e avaliação microscópica dos filmes e superfície das mangas revestidas

#### 3.2.6.1 Espectroscopia do Infravermelho com Transformada de Fourier

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos utilizando um espectrofotômetro com transformada de Fourier (FTIR). As medidas foram obtidas à temperatura ambiente na região entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ . A resolução espectral foi de 2  $\text{cm}^{-1}$  e 32 acumulações. As análises foram realizadas no Laboratório de Combustíveis

---

<sup>149</sup>**American Society for Testing and Material – ATM.** Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, 2012.

(LAC) localizado no Laboratório Integrado de Tecnologia em Petróleo, Gás e Biocombustíveis (LITPEG) da UFPE.

### 3.2.6.2 Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas foram realizadas utilizando uma termobalança disponível no BSTR. As amostras foram colocadas em um porta amostra de platina, tendo como gás de arraste o nitrogênio sobre um fluxo de 100 mL.min<sup>-1</sup>, a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>, compreendendo uma faixa de temperatura inicial equivalente a 25 °C e final de 900 °C.

### 3.2.6.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de MEV foram obtidas utilizando um microscópio eletrônico de varredura com aceleração de 10 kV disponível no BSTR.

Analisou-se a superfície da casca da manga (i) sem revestimento, (ii) revestida com cera de carnaúba e (iii) revestida com A2CP. As mangas utilizadas foram inicialmente lavadas em água corrente, secas e então revestidas através do método de aspersão. Após secagem natural, retirou-se uma parte da casca de cada amostra com o auxílio de uma faca. O aspecto superficial do filme de alginato de sódio incorporado com os aditivos (A2CP) também foi analisado.

As amostras foram colocadas em um dessecador por 3 dias e então fixadas em lamínulas apoiadas em suporte de alumínio com superfície revestida com fita de carbono e metalizadas com uma camada de ouro com espessura entre 10 e 20 nm. Após metalização, as amostras foram mantidas em dessecador até o dia da análise.

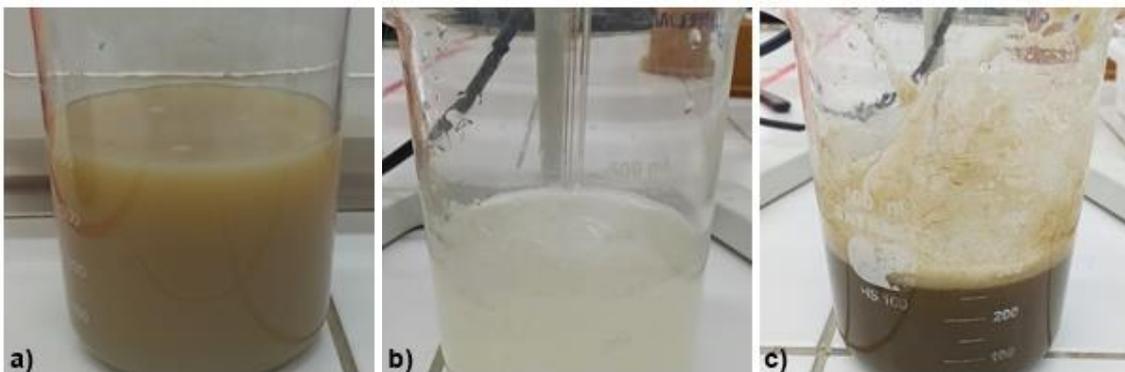
### **3.2.7 Estudo da qualidade e conservação pós-colheita de mangas *Tommy Atkins* não revestidas e submetidas à aplicação de cera de carnaúba e revestimentos de alginato de sódio incorporados ou não com *P. pavonica***

As mangas *Tommy Atkins*, em estágio de maturação comercial, foram adquiridas no Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco - Brasil (CEASA/PE). As frutas foram lavadas em água corrente e selecionados quanto à coloração, ausência de danos mecânicos e injúrias. As mangas foram pulverizadas

com a solução contendo os tratamentos de revestimento e secas naturalmente a 25 °C.

Os tratamentos empregados foram: (i) controle negativo (água destilada); (ii) controle positivo (6 % v/v cera de carnaúba); (iii) alginato de sódio 1,0% m/m + cloreto de cálcio 10,0 % m/m + glicerol 5 % v/v (A2SP); [4] alginato de sódio 1,0 % m/m + cloreto de cálcio 10,0 % m/m + glicerol 5 % v/v + *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup> (A2CP). As soluções utilizadas no revestimento das mangas seguem ilustradas na Figura 24.

**Figura 24** – Soluções de a) cera de carnaúba 6%, b) alginato de sódio 1,0 % e c) alginato de sódio 1,0 % + *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup>.



Fonte: A autora (2022)

Após os tratamentos, três mangas por grupo foram distribuídas em bandejas de isopor e armazenadas sob refrigeração a 10 °C ± 0,5 por 20 dias. As mangas foram avaliadas a cada 5 dias para as análises físico-químicas. O dia da aplicação dos revestimentos comestíveis foi considerado o tempo zero (dia zero) no período de armazenamento.

### 3.2.7.1 Avaliação dos efeitos dos revestimentos comestível sobre os parâmetros de aparência, cor da casca e polpa, firmeza, perda de massa, sólidos solúveis totais e potencial hidrogeniônico de mangas

Os parâmetros de maturação foram analisados nas mangas revestidas a cada 5 dias durante o seu período de armazenamento sob refrigeração. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 3 repetições, cada uma constituída por um fruto, com 5 períodos de armazenamento (0, 5, 10, 15 e 20 dias) para verificação

dos efeitos biológicos. Os resultados foram submetidos à ANOVA aplicando o teste de *Tukey* a 5 % de probabilidade, utilizando-se o software *Past*, versão 4.03.

A aparência das frutas foi avaliada visualmente quanto a presença de uniformidade da pigmentação, aderência, transparência e brilho do revestimento na casca da fruta.

Análises da cor da casca e polpa, firmeza e teor de SST foram realizados no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos Nonete Barbosa Guerra (LEAAL) localizado no Departamento de Nutrição da UFPE. Os valores de perda de massa foram obtidos utilizando balança semi analítica disponível no Laboratório BSTR. Os valores de pH foram obtidos utilizando medidor de pH disponível no Laboratório de Espectroanalítica Aplicada (LEA) – DQF da UFPE.

#### *3.2.7.1.1 Cor da casca e da polpa*

A cor da casca foi avaliada por meio da média de três leituras em pontos equidistantes de cada fruto e a da polpa após a remoção da epiderme com o auxílio de faca inoxidável, utilizando-se um colorímetro digital portátil.

Os resultados foram expressos para os parâmetros: L, que corresponde à luminosidade ou brilho e varia do claro (branco: 100) para o escuro (0: escuro/opaco); a (valores negativos correspondem à intensidade da cor verde e valores positivos à intensidade da cor vermelha) e b (valores negativos correspondem à intensidade da cor azul e valores positivos à intensidade da cor amarela).

#### *3.2.7.1.2 Firmeza*

A firmeza das mangas foi determinada como sendo a resistência à penetração, utilizando-se um texturômetro digital equipado com ponteira de 6 mm de diâmetro. As medidas foram feitas em quatro pontos equidistantes, após remoção superficial da casca da fruta. A profundidade requerida para a ponteira atingir a força máxima foi de 5 mm com uma taxa de deformação de 2 mm.s<sup>-1</sup>. Os resultados da força máxima de perfuração foram expressos em Newtons (N).

### 3.2.7.1.3 Perda de massa

A perda de massa foi determinada em balança analítica. Os resultados foram expressos em perdas percentuais, utilizando-se a relação entre o peso em cada dia de avaliação e o peso inicial, conforme a Equação 5.

Equação 5:

$$PM (\%) = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Onde:

PM = perda de massa em % (p/p)

P<sub>i</sub> = peso do fruto no tempo t = 0 (g)

P<sub>f</sub> = peso final da fruta tratada no tempo t (g)

### 3.2.7.1.4 Sólidos Solúveis Totais

O teor de sólidos solúveis totais foi mensurado a partir da transferência de 1 a 2 gotas do suco da fruta para o prisma de um refratômetro de bancada previamente calibrado com água, conforme método 932.12 da *Association of Official Analytical*.<sup>150</sup> Os resultados foram expressos em °Brix.

### 3.2.7.1.4 Potencial hidrogeniônico (pH)

O potencial hidrogeniônico (pH) foi determinado utilizando-se um medidor de pH digital previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0, 7,0 e 10,0. As leituras foram realizadas em amostras de polpa das mangas, preparadas conforme metodologia recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz.<sup>151</sup>

<sup>150</sup> **Association of Official Analytical – AOAC.** Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (20th ed.), 2016.

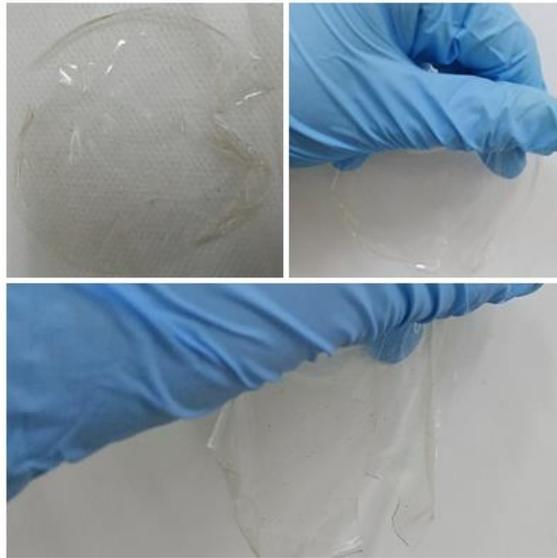
<sup>151</sup> **INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL.** Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 1020p. São Paulo, 2008.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Aparência dos filmes

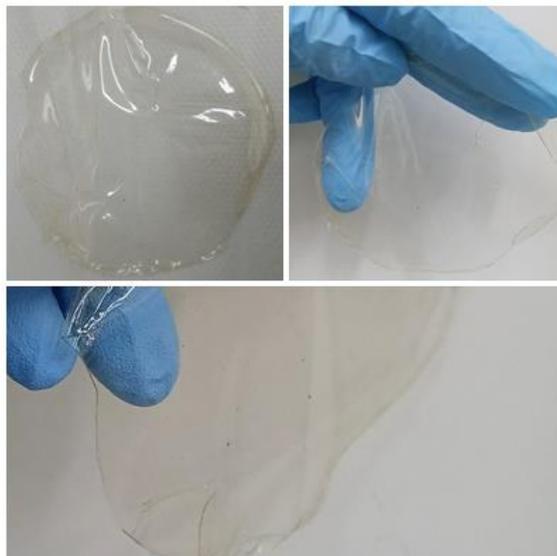
As Figuras 25, 26 e 27 mostram os filmes de alginato incorporados com *P. pavonica* obtidos após secagem em estufa a 40 °C por 4 horas.

**Figura 25** – Filmes de alginato de sódio 0,5 % m/m + cloreto de cálcio 12,5 % m/m total de alginato + glicerol 6,25 % v/v + *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup>.



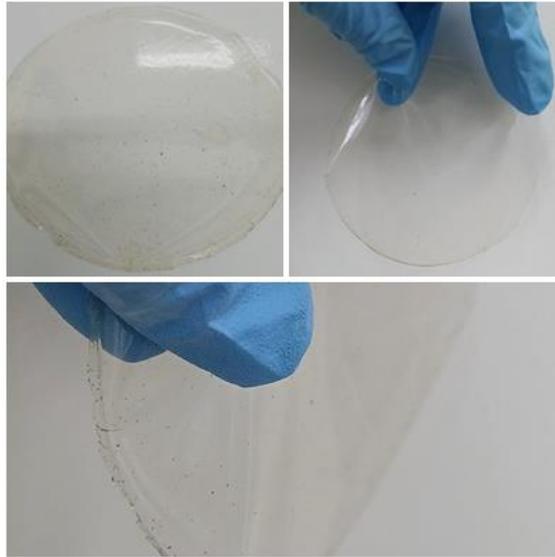
Fonte: A autora (2022)

**Figura 26** – Filmes de alginato de sódio 1,0 % m/m + cloreto de cálcio 10,0 % m/m total de alginato + glicerol 5,0 % v/v + *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup>.



Fonte: A autora (2022)

**Figura 27** – Filmes de alginato de sódio 1,5 % m/m + cloreto de cálcio 7,5 % m/m total de alginato + glicerol 3,75 % v/v + *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup>



. Fonte: A autora (2022)

Todas as formulações utilizadas produziram filmes homogêneos, transparentes e flexíveis, diferindo apenas quanto a facilidade de desprendimento das placas de Petri e manuseio (Tabela 14).

**Tabela 14** – Características relacionadas à aparência dos filmes formados a partir de diferentes concentrações de alginato de sódio e *Padina pavonica*.

Parâmetro	A1CP	A2CP	A3CP
<b>Homogeneidade</b>	Sim	Sim	Sim
<b>Transparência</b>	Sim	Sim	Sim
<b>Flexibilidade</b>	Sim	Sim	Sim
<b>Desprendimento</b>	Baixa	Média	Alta
<b>Manuseio</b>	Baixa	Média	Alta
<b>Espessura (mm)</b>	0,11	0,14	0,17

A1CP = Alginato de sódio 0,5 % m/m + cloreto de cálcio 12,5 % m/m total de alginato + glicerol 6,25 % v/v + *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup>; A2CP = Alginato de sódio 1,0 % m/m + cloreto de cálcio 10,0 % m/m total de alginato + glicerol 5,0 % v/v + *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup>; A3CP = Alginato de sódio 1,5 % m/m + cloreto de cálcio 7,5 % m/m total de alginato + glicerol 3,75 % v/v + *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup>. Fonte: A autora (2022)

A ordem de facilidade no desprendimento e manuseio aumentou à medida que a concentração do polímero alginato de sódio aumentava nas soluções filmogênicas. Filmes com concentração mais baixa do polímero (A1CP) mostraram baixa facilidade

em seu desprendimento e manuseio, seguidos por uma facilidade média para filmes com concentração intermediária do alginato de sódio (A2CP) e alta facilidade para os filmes com concentração mais alta do polímero (A3CP). As espessuras dos filmes aumentaram com o aumento da concentração de alginato de sódio nas formulações.

### 3.2.2 Estudo das propriedades mecânicas dos filmes

Os dados apresentados na Tabela 15 mostram que a resistência à tração foi maior no revestimento EC1, indicando um revestimento mais frágil e quebradiço. A adição do agente reticulante (cloreto de cálcio) e plastificante (glicerol) resultou em menores valores de RT, tornando os revestimentos elásticos e flexíveis. Os valores de alongamento à ruptura confirmam a elasticidade dos revestimentos A2SP e A2CP, apresentando valores superiores aos apresentados pelo revestimento EC1. A incorporação de *P. pavonica* não influenciou os valores de RT e AR.

Desta forma, o revestimento comestível A2SP e A2CP apresenta resistência adequada à quebra e abrasão, protegendo o fruto contra injúrias e danos físicos que afetem sua qualidade; e flexível e, portanto, adaptável às possíveis deformações da cultivar sem quebrar, garantindo maior vida de prateleira para os frutos revestidos.

**Tabela 15** – Propriedades mecânicas dos revestimentos comestíveis.

Amostra	Espessura(mm)	RT (MPa)	AR (%)
EC1	0,04 ± 0,01 <sup>a</sup>	14,17 ± 2,56 <sup>a</sup>	5,38 ± 1,97 <sup>a</sup>
A2SP	0,25 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,15 ± 0,05 <sup>b</sup>	15,51 ± 0,80 <sup>b</sup>
A2CP	0,25 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,09 ± 0,02 <sup>b</sup>	14,17 ± 0,65 <sup>b</sup>

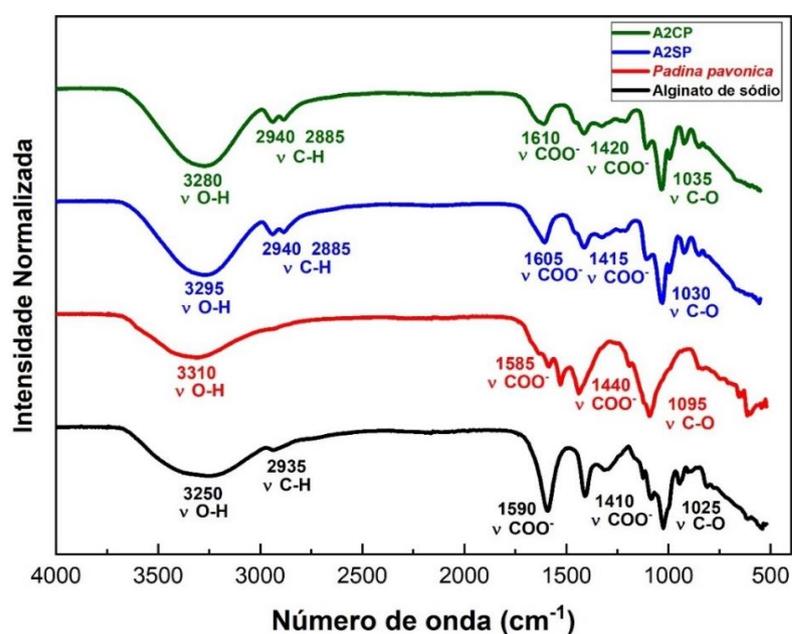
Os dados são expressos como média ± desvio padrão (n = 5). As médias seguidas da mesma letra em uma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade aplicando o teste de Tukey (p < 0,05). EC1: 1% m/m de alginato de sódio. A2SP: 1% m/m de alginato de sódio + 10% m/m de cloreto de cálcio + 5% v/v de glicerol. A2CP: 1% m/m alginato de sódio + 10% m/m cloreto de cálcio + 5% v/v glicerol + 1000 µg.mL<sup>-1</sup> *P. pavonica*. RT = resistência à tração e AR = alongamento na ruptura. Fonte: A autora (2022)

### 3.3.3 Caracterizações químicas e avaliação microscópica dos filmes e superfície das mangas revestidas

A necessidade de caracterização de um material produzido não se dá apenas pela obrigatoriedade na comprovação de sua estrutura e composição, mas baseia-se também na importância da compreensão das diferentes propriedades químicas e físicas e, conseqüentemente da aplicabilidade do material em questão.

Observando os espectros de FTIR na Figura 28 e os dados apresentados na Tabela 16, obtidos para o polímero alginato de sódio livre, para a alga marinha *P. pavonica* e para os filmes de alginato de sódio reticulados com cloreto de cálcio utilizando-se o glicerol como agente plastificante sem (A2SP) ou com a presença de *P. pavonica* (A2CP) como agente biológico ativo, é possível identificar as principais ligações presentes nos compostos.

**Figura 28** – Espectro de infravermelho do polímero alginato de sódio (preto), *P. pavonica* (vermelho), filme de alginato com cloreto de cálcio e glicerol – A2SP (azul) e filme de alginato com cloreto de cálcio, glicerol e *Padina pavonica* – A2CP (verde).



Fonte: A autora (2022)

**Tabela 16** – Números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) das principais bandas de absorção no infravermelho do alginato de sódio, alga marinha *Padina pavonica*, filme de alginato com cloreto de cálcio e glicerol (A2SP); e filme de alginato com cloreto de cálcio, glicerol e *Padina pavonica* (A2CP).

MATERIAL	NÚMERO DE ONDA ( $\text{cm}^{-1}$ )			
	V O-H	V C-H	V COO <sup>-</sup>	V C-O
Alginato de sódio	3250	2935	1590 (Assimétrico) 1410 (Simétrico)	1025
<i>Padina pavonica</i>	3310	-	1585 (Assimétrico) 1440 (Simétrico)	1095
A2SP	3295	2940 e 2885	1604 (Assimétrico) 1415 (Simétrico)	1030
A2CP	3280	2940 e 2885	1610 (Assimétrico) 1420 (Simétrico)	1035

Fonte: A autora (2022)

No espectro de FTIR em linha preta, obtido para o alginato de sódio, observa-se a presença de vibrações de alongamento características do polissacarídeo. A banda larga de absorção em  $3250\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída às vibrações de alongamento do grupo hidroxila (O-H) presentes na cadeia polimérica, enquanto o pico em  $2923\text{ cm}^{-1}$  refere-se à vibração de alongamento característica do C-H em cadeias alifáticas. As bandas observadas em  $1590$  e  $1410\text{ cm}^{-1}$ , refletem a presença do alongamento assimétrico e simétrico do carboxilato ( $\text{COO}^-$ ), respectivamente, confirmando a presença dos ácidos manurônico e gulurônico neste polímero. Por fim, as vibrações de alongamento em  $1025\text{ cm}^{-1}$  podem confirmar a presença da ligação C-O atribuído às ligações C-O-C nas ligações glicosídicas.<sup>152</sup> O espectro em linha vermelha, refere-se a *P. pavonica*, no qual é possível observar bandas e picos de absorção em  $3310$ ,  $1585$ ,  $1440$  e  $1095\text{ cm}^{-1}$  característicos das ligações encontradas no alginato de sódio, um dos principais constituintes da alga em questão.

Observando os espectros em linha azul e verde, obtidos para os filmes de alginato com cloreto de cálcio e glicerol, sem e com a presença de *P. pavonica*, respectivamente, é possível observar picos característicos da presença das ligações químicas que constituem o alginato de sódio. Pequenos deslocamentos para maiores números de onda, como por exemplo,  $3295$  e  $3280\text{ cm}^{-1}$  (vibrações de alongamento O-H),  $1605$  e  $1610\text{ cm}^{-1}$  (vibrações de alongamento assimétrico  $\text{COO}^-$ ),  $1415$  e  $1420\text{ cm}^{-1}$  (vibrações de alongamento simétrico  $\text{COO}^-$ ), e  $1030$  e  $1035\text{ cm}^{-1}$  (vibração de alongamento C-O) podem ser indícios da reticulação do filme com o cloreto de cálcio e da presença do glicerol, como agente plastificante.

Trabalhos anteriores observaram deslocamentos para maiores número de onda das bandas espectroscópicas relacionadas ao alongamento  $\text{COO}^-$ , como consequência da interação entre os íons  $\text{Ca}^{2+}$  com o grupo aniônico  $\text{COO}^-$ .<sup>153</sup> A diminuição da intensidade dos picos do alongamento assimétrico e simétrico do carboxilato, podem ser consequência da presença do glicerol no filme, que atua diminuindo as forças intermoleculares, aumentando a mobilidade das cadeias.

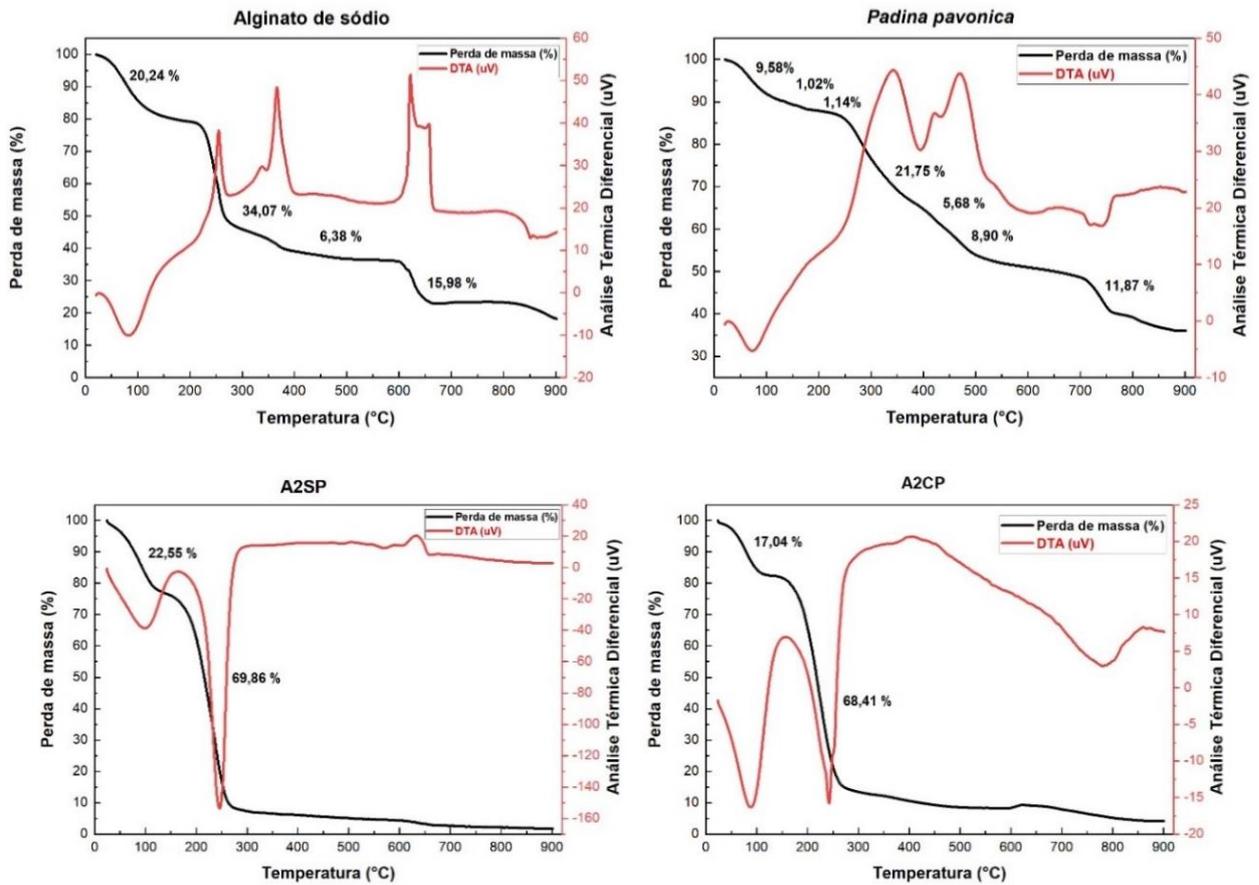
---

<sup>152</sup>FAIDI, A. LASSOUED, M. A.; BECHEIKH, M. E. H.; TOUATI, M.; STUMBÉ, J. F.; FARHAT, F. Application of sodium alginate extracted from a Tunisian Brown Algae *Padina pavonica* for essential oil encapsulation: Microspheres preparation, characterization and in vitro release study. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 386-394, 2019.

<sup>153</sup>HUA, S.; Ma, H.; Li, X.; YANG, A. WANG, A. pH – sensitive sodium alginate/poly(vinyl alcohol) hydrogel beads prepared by combined  $\text{Ca}^{2+}$  crosslinking and freeze-thawing cycles for controlled release of diclofenac sodium, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, n. 5, p. 517 – 523, 2010.

A Figura 29 e a Tabela 17 reúnem os valores percentuais das perdas de massa com suas respectivas faixas de temperatura dos eventos de TGA para os compostos alginato de sódio, *P. pavonica*, A2SP e A2CP.

**Figura 29** – Curvas de análise termogravimétrica (TG) e análise térmica diferencial (DTA) obtidas para o alginato de sódio, *P. pavonica*, filme de alginato com cloreto de cálcio e glicerol (A2SP); e filme de alginato com cloreto de cálcio, glicerol e *P. pavonica* (A2CP).



Fonte: A autora (2022)

**Tabela 17** – Dados da análise de decomposição térmica do alginato de sódio, *Padina pavonica*, filme de alginato com cloreto de cálcio e glicerol sem *P. pavonica* (A2SP); e filme de alginato com cloreto de cálcio, glicerol e *Padina pavonica* (A2CP).

MATERIAL	Ti – Tf (°C)	\Delta m  (%)
<b>Alginato de sódio</b>	22,28 – 184,62	20,24
	184,62 – 308,71	34,07
	308,71 – 401,40	06,38
	401,40 – 689,79	15,98
	24,20 – 130,63	09,58
<b><i>Padina pavonica</i></b>	130,63 – 155,64	01,02
	155,64 – 190,96	01,14
	190,96 – 381,74	21,75
	381,74 – 437,65	5,68
	437,65 – 562,71	8,90
<b>A2SP</b>	562,71 – 779,98	11,87
	26,97 – 140,27	22,55
	140,27 – 316,07	69,86
<b>A2CP</b>	26,00 – 134,01	17,04
	134,01 – 293,93	68,41

Fonte: A autora (2022)

Analisando a curva de TGA obtida para o pó de alginato de sódio é possível observar a ocorrência de quatro eventos principais. O primeiro evento endotérmico foi observado na faixa de 22,28 a 189,62 °C, sendo associado à evaporação de água adsorvida no polímero hidrofílico. O segundo e terceiro eventos exotérmicos ocorreram na faixa de temperatura de 189,62 a 401,40 °C e podem estar associados ao complexo processo de decomposição das cadeias do alginato de sódio, como a descarbonilação e a fratura das ligações glicosídicas do polímero e formação de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) como produto intermediário. A taxa de decomposição térmica máxima foi observada a 225 °C, referente ao processo de decomposição térmica do alginato. A presença do pico agudo e um pico de ombro podem ser atribuídos à sobreposição parcial dos diferentes processos de degradação ou aos padrões diferentes das frações ricas em M e G do alginato. O último evento ocorreu

entre 401,40 e 689,79 °C e está associado à decomposição do Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> em dois estágios:<sup>154,155</sup>



O comportamento da curva de TG para *P. pavonica* com a presença de um total de sete eventos térmicos é esperado, devido a variedade de compostos que compõe a alga. Essa variedade inclui a presença de polissacarídeos que consistem em resíduos de ácido D-glucurônico, L-fucose, D-xilose, D-manose, D-glicose e D – galactose, por exemplo; terpenóides; esteróis e ácidos graxos.<sup>10</sup>

A curva de TG obtida para A2SP e A2CP apresentaram 2 eventos endotérmicos, relacionados aos processos de evaporação da água e do plastificante glicerol.<sup>155</sup> No segundo evento ocorreu o processo de degradação do alginato de sódio, que junto com a evaporação do glicerol, totalizaram um percentual de perda de massa de aproximadamente 70 %. A presença de um pico endotérmico nesse evento pode ter sido resultado do fato de a quantidade de energia liberada no processo de combustão do alginato ter sido menor que a energia absorvida no processo de evaporação do glicerol.

Embora fosse esperado que com a presença do reticulante, CaCl<sub>2</sub>, o evento térmico referente ao processo de degradação das cadeias de alginato ocorresse em temperaturas mais elevadas, devido ao processo de reticulação e imobilização da cadeia<sup>152</sup>, o contrário foi observado. Essa diminuição na temperatura de degradação para o segundo estágio, ao se comparar o alginato em pó (184,62°C) com os filmes A2SP (140,27 °C) e A2CP (134,01 °C) também foi observada em outros trabalhos<sup>154</sup>, e pode ser consequência da presença do glicerol que atua diminuindo a estabilidade térmica dos filmes.

A Figura 30 apresenta micrografias obtidas para superfície da manga *Tommy Atkins* sem revestimento, na qual é possível observar o aspecto poroso de sua

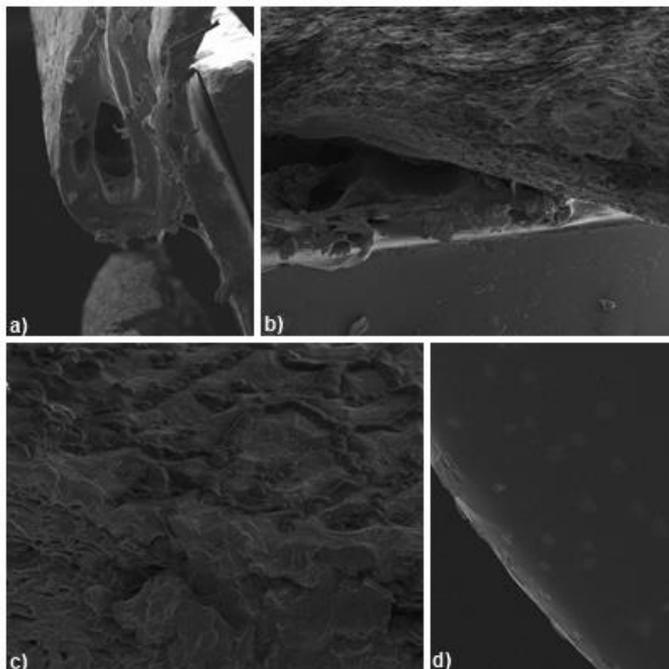
---

<sup>154</sup>GAO, C.; POLLET, E.; AVÉROUS, L. Properties of glycerol-plasticized alginate films obtained by thermo-mechanical mixing. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 414 – 420, 2017.

<sup>155</sup>FERNANDES, R. da S.; de MOURA, M. R.; GLENN, G. M.; AOUADA, A. F. Thermal, microstructural, and spectroscopic analysis of Ca<sup>2+</sup> alginate/clay nanocomposite hydrogel beads. **Journal of Molecular Liquids**, v. 265, n. 1, p.327-336, 2018.

superfície com pontos mais elevados correspondentes aos órgãos epidérmicos de arejamento, cutículas e lenticelas, responsáveis pela troca gasosa das frutas.<sup>86,119</sup>

**Figura 30** – Micrografias obtidas para a superfície da casca da manga *Tommy Atkins* sem aplicação de revestimento comestível. a) 204x, b) 354x, c) 802x e d) 5,82kx de aproximação.

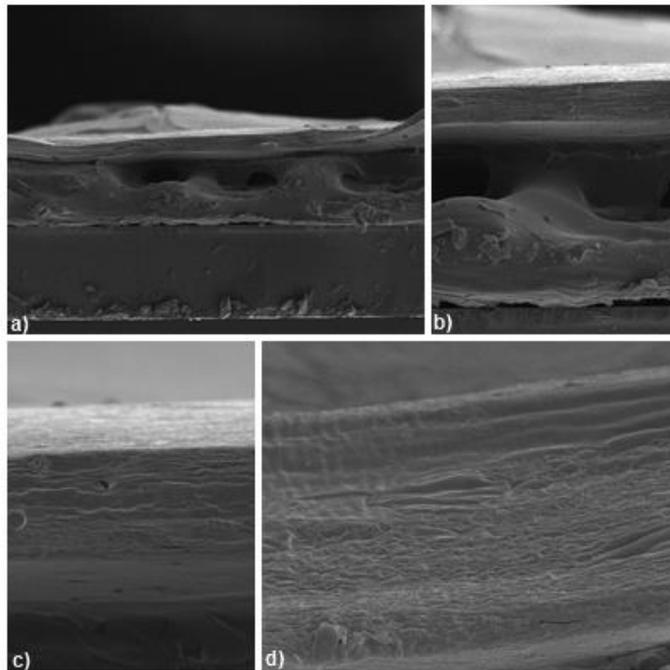


Fonte: A autora (2022)

O filme de alginato de sódio incorporado com os aditivos (A2CP), por sua vez, é representado na Figura 31, e mostra a superfície de um filme como uma matriz homogênea, sem defeitos apreciáveis e com a ausência de macroporos (Figura 31 d). Estes dados indicaram que, possivelmente a presença dos íons  $Ca^{2+}$  como agente reticulante durante o preparo da solução biopolimérica, auxiliou na estabilidade do filme. A presença de poros irregulares, de maneira diferente, poderiam ser consequência da produção de filmes a partir de misturas heterogêneas, caracterizadas por filmes com superfície rugosa.<sup>156</sup> As imagens (31 a,b e c) referentes a micrografia da seção transversal do filme também não apresentaram rugosidade, indicando a homogeneidade do filme produzido. A Figura 32, por sua vez, apresenta micrografias obtidas da superfície da manga *Tommy Atkins* quando revestida com solução de cera de carnaúba 6%.

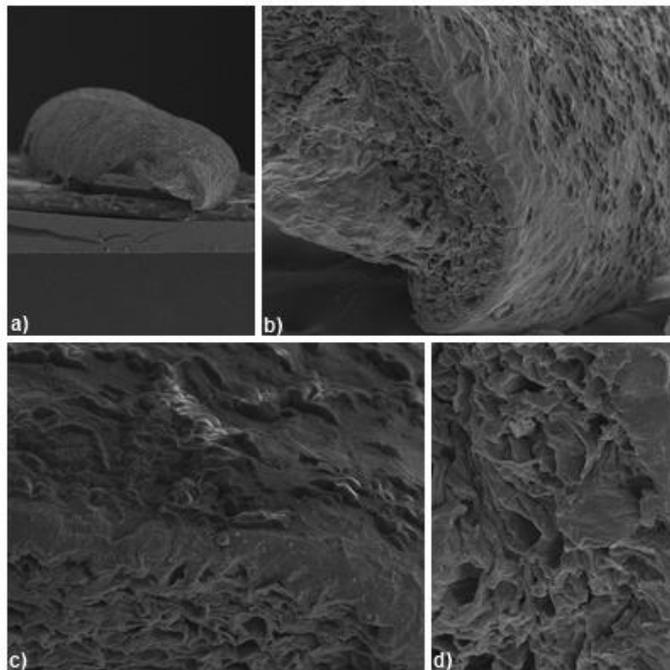
<sup>156</sup>de LAIA, A, G. S. **Estudo de filmes e hidrogéis a base de alginato e goma gelana visando aplicações na regeneração de discos intervertebrais**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, p. 75. 2015.

**Figura 31** – Micrografias obtidas para o filme de alginato de sódio (A2CP) à a) 233x, b) 726x, c) 2,03kx e d) 3,88kx de aproximação.



Fonte: A autora (2022)

**Figura 32** – Micrografias obtidas para a superfície da casca da manga *Tommy Atkins* revestida com cera de carnaúba 6 % à a) 93 x, b) 524 x, c) 1,11 kx e d) 2,10 kx de aproximação.



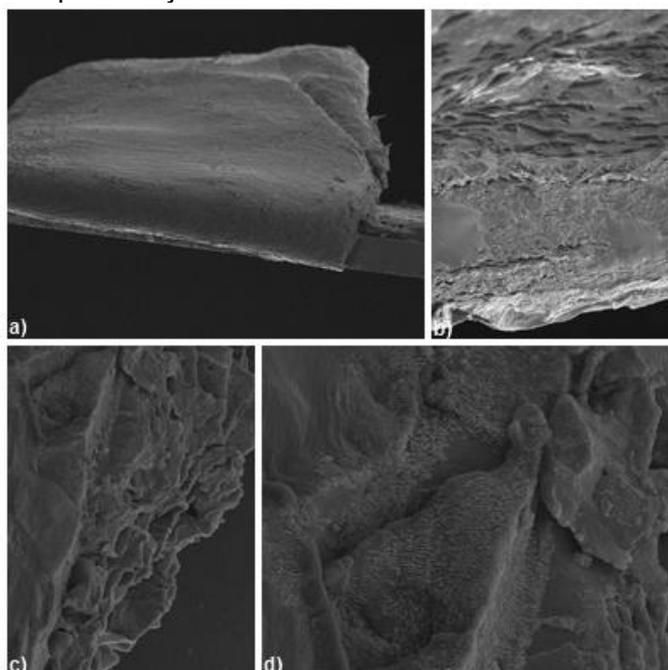
Fonte: A autora (2022)

A Figura 32, por sua vez, apresenta micrografias obtidas da superfície da manga *Tommy Atkins* quando revestida com solução de cera de carnaúba 6%. É possível observar alto índice de rugosidade na manga, ocasionado pelo não

preenchimento total da superfície da fruta. No entanto, não foi possível observar mudanças drásticas durante o processo respiratório da manga, que continuou a amadurecer lentamente com o período de armazenamento, conforme imagens obtidas durante o estudo da qualidade e conservação pós-colheita das mangas.

Observando a Figura 33 que apresenta as micrografias obtidas para as mangas revestidas sob aspensão com a solução biopolimérica composta por alginato de sódio, cloreto de cálcio, glicerol e *P. pavonica*, é possível verificar a presença de uma matriz de baixa porosidade com superfície exterior ondulada, característica de uma evaporação espontânea do solvente.<sup>109</sup>

**Figura 33** – Micrografias obtidas para a superfície da casca da manga *Tommy Atkins* revestida com filmes de alginato de sódio incorporados com *P. pavonica* (A2CP) à a) 83 x, b) 561 x, c) 1,83 kx e d) 3,61 kx de aproximação.



Fonte: A autora (2022)

De modo geral, a formação dos recobrimentos ocorre pela evaporação do solvente e consequente auto-organização do material polimérico sob a superfície da fruta.<sup>118</sup> Uma evaporação de solvente mais espontânea, assegura a formação de poros com diâmetros suficientes para permitir a passagem de oxigênio, garantindo uma respiração aeróbica mínima. Com a aplicação de revestimentos em frutas, tem-se a formação de uma cobertura com preenchimento parcial das cutículas e lenticelas, que atuam reduzindo o processo respiratório, prolongando assim o seu tempo de prateleira.<sup>86,119</sup>

### 3.3.4 Estudo da qualidade e conservação pós-colheita de mangas *Tommy Atkins* não revestidas e submetidas à aplicação da cera de carnaúba e revestimentos à base de alginato de sódio incorporadas ou não com *P. pavonica*

Na Figura 34 é possível observar o aspecto da manga sem revestimento comparado ao da manga revestida por aspersão com a solução A2CP.

**Figura 34** – À esquerda, manga *Tommy Atkins* aspergida com a solução de alginato de sódio 1,0 % m/m + cloreto de cálcio 7,5 % m/m total de alginato + glicerol 3,75 % v/v + *Padina pavonica* 1000 µg.mL<sup>-1</sup> (A2CP) e a direita, manga não revestida.



Fonte: A autora (2022)

3.3.3.1 Avaliação do efeitos dos revestimentos comestíveis sobre os parâmetros de aparência, cor da casca e polpa, firmeza, perda de massa, sólidos solúveis totais e potencial hidrogeniônico de mangas

#### 3.3.3.1.1 Aparência

A aparência é um dos principais atributos de qualidade de um fruto, já que no momento da compra, é geralmente considerado como o primeiro item de escolha do consumidor, seguido da atração pelo odor.<sup>157</sup> E por isso, torna-se importante a avaliação de parâmetros visuais, como cor da casca, uniformidade da pigmentação, além da aderência, transparência e brilho da película na casca da fruta.

<sup>157</sup> NAVARRO- RARAZAGA, M. L.; MASSA, A.; PÉREZ-GAGO, M. B. Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (Cv. Angeleno). **Food Science and Technology**, v. 44, n. 10, 2011.

A Figura 35 apresenta imagens das mangas *Tommy Atkins* a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com *Padina pavonica* 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (A2CP).

**Figura 35** – Imagens das mangas *Tommy Atkins* a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com *Padina pavonica* 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  nos períodos 0, 10 e 20 dias de armazenamento, respectivamente.



Fonte: A autora (2022)

Observando as mangas é possível notar que houve um atraso na evolução da cor da casca para todos os grupos, o que pode estar associado ao uso da refrigeração que atua inibindo o processo metabólico da manga. Não foi observada uniformidade na pigmentação das mangas, e por isso é possível observar pontos nas cores verde, amarelo e vermelho-arroxeadado na casca de cada uma das mangas analisadas. A aderência dos revestimentos ocorreu de forma satisfatória na superfície das frutas analisadas, não sendo possível observar descascamento em nenhum dos tratamentos utilizados. Em conjunto, os revestimentos na superfície das mangas apresentaram-se transparentes, de modo que não alteraram a cor natural das mangas revestidas. Estas mostraram ainda aspecto mais brilhante quando comparadas as mangas não revestidas, não mostrando opacidade durante o período de 20 dias de armazenamento sob refrigeração a  $10^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ .

De maneira geral, os parâmetros avaliados apresentaram homogeneidade para o conjunto de mangas avaliadas até o período de 10 dias de armazenamento sob refrigeração. No entanto, ao se observar o dia 20 de armazenamento é possível notar diferenças entre o aspecto visual das frutas de acordo com o tratamento utilizado.

As mangas não revestidas, por exemplo, apresentaram aspecto de perda de rigidez e estrias. As frutas revestidos com cera de carnaúba apresentaram manchas acastanhadas, decorrentes do possível desenvolvimento de fungos. As mangas revestidas com A2SP foram marcadas em sua casca pelo crescimento de microrganismos, manchas marrons deprimidas. Já as mangas tratadas com A2CP ainda apresentaram aspecto de firmeza, sem aparecimento de manchas ou avanço de doenças fúngicas pós-colheita. Portanto, uma possível atividade antifúngica foi observada para o revestimento incorporado com o extrato de *P. pavonica*, corroborando com os resultados de atividade antifúngica encontrados para o extrato aquoso. O desenvolvimento de um revestimento comestível seguro que, além de reduzir o processo respiratório dos frutos, também inibe a proliferação de bactérias e fungos, é de grande importância para o agronegócio local e sua viabilidade pode ser considerada.<sup>8,158</sup>

---

<sup>158</sup>THEAGARAJAN, R.; DUTTA, S.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Alginates for Food Packaging Applications. **Scrivener Publishing**, p. 205 – 232, 2019.

### 3.3.3.1.2 Cor da casca e da polpa

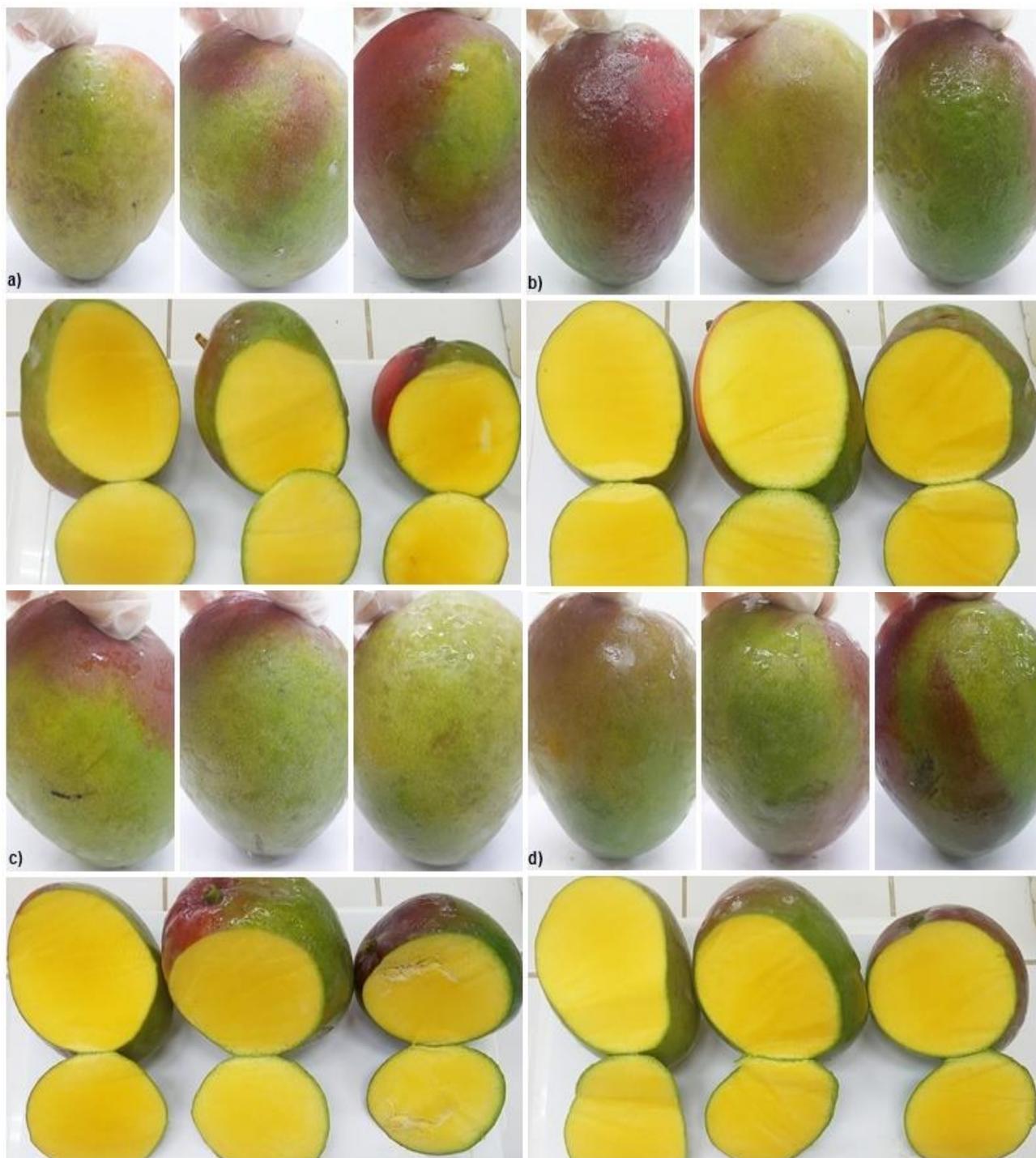
As Figuras de 36 a 39 mostram as 3 mangas e suas polpas para cada um dos 4 tratamentos utilizados para cada um dos 4 períodos de armazenamento.

**Figura 36** – Imagens das mangas *Tommy Atkins* e de suas polpas a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com *Padina pavonica* 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  no dia 5 de armazenamento.



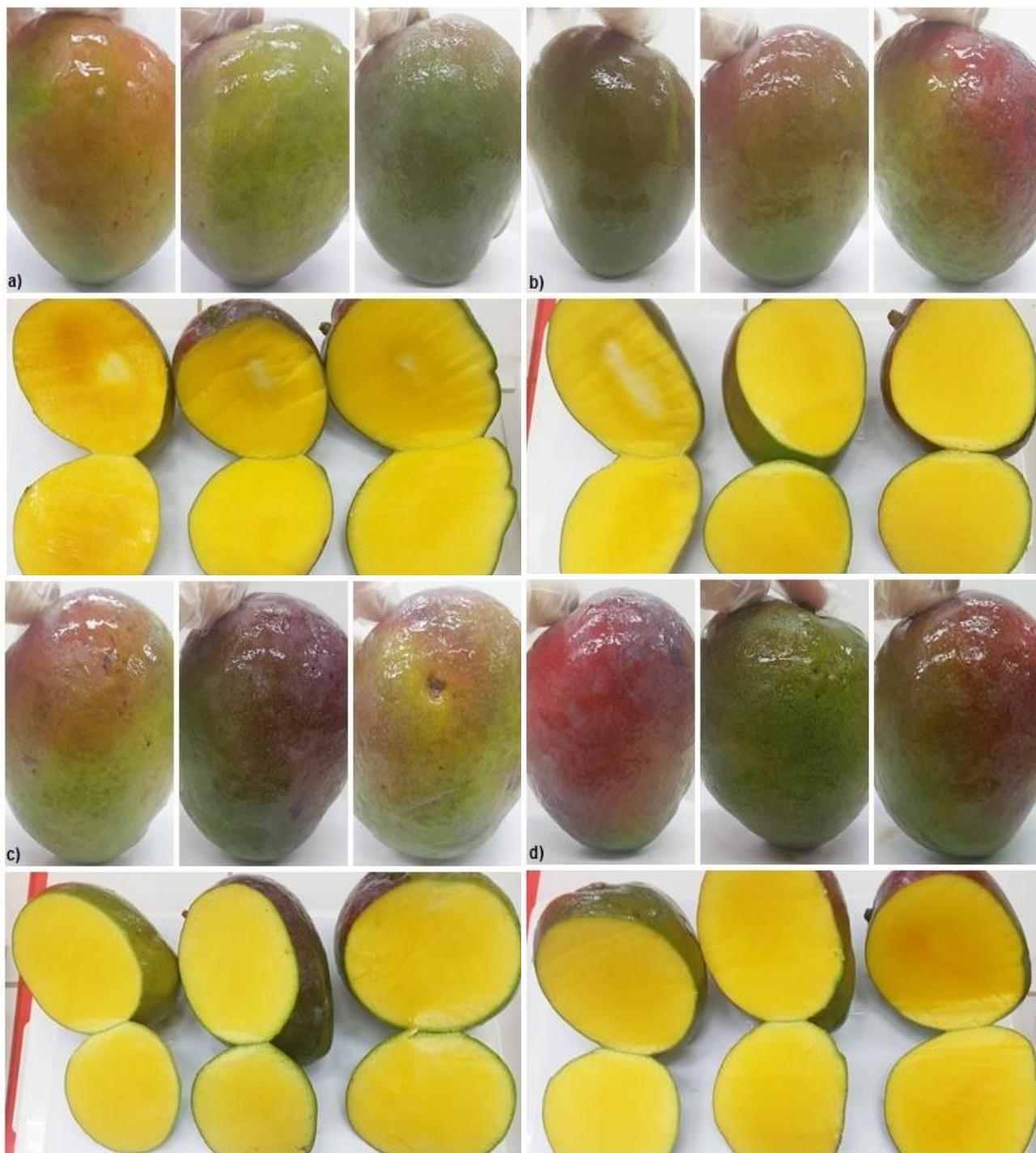
Fonte: A autora (2022)

**Figura 37** – Imagens das mangas *Tommy Atkins* e de suas polpa a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com *Padina pavonica* 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  no dia 10 de armazenamento.)



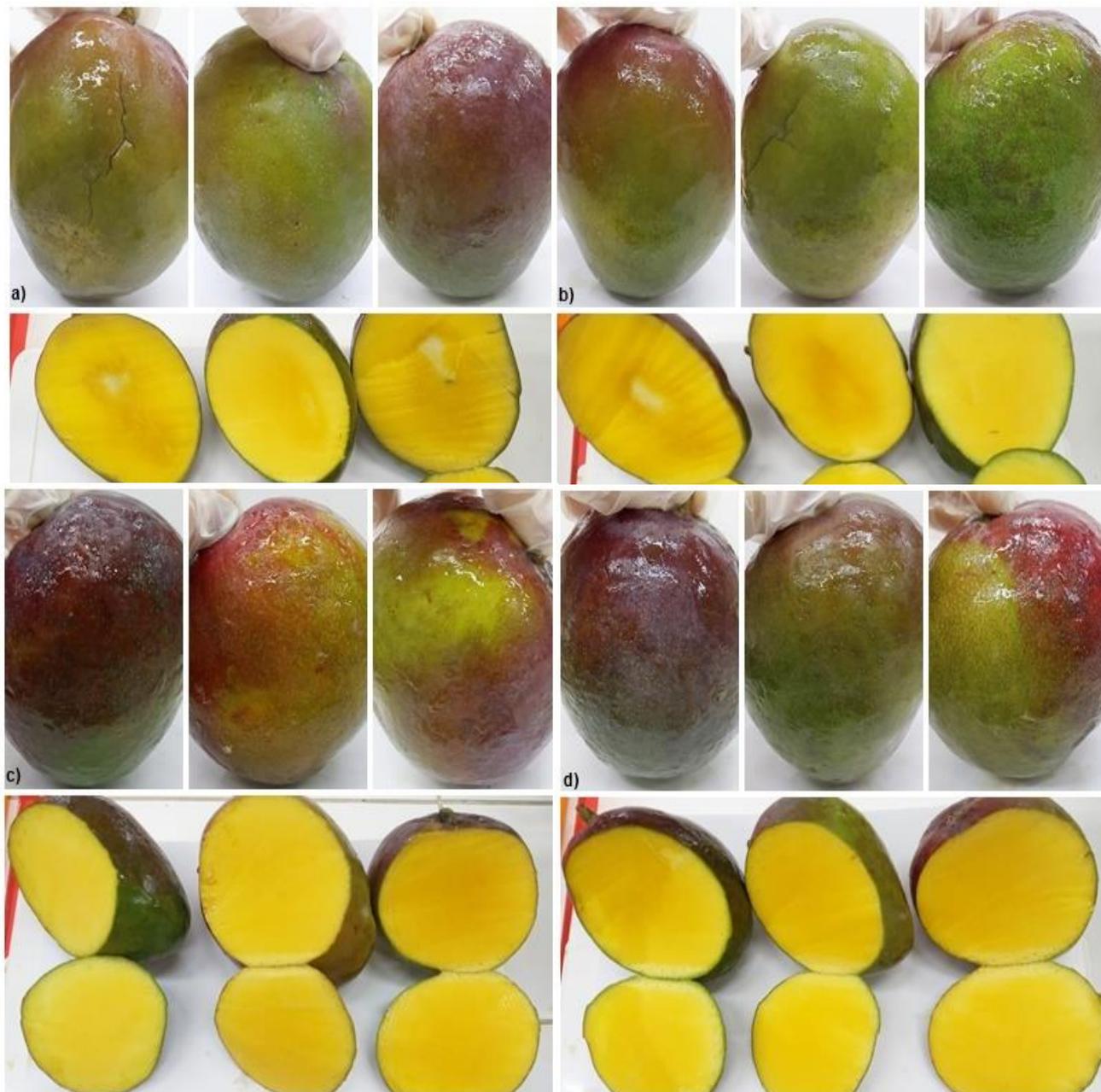
Fonte: A autora (2022)

**Figura 38** – Imagens das mangas *Tommy Atkins* e de suas polpa a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com *Padina pavonica* 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  no dia 15 de armazenamento.



Fonte: A autora (2022)

**Figura 39** – Imagens das mangas *Tommy Atkins* e de suas polpa a) sem revestimento, b) revestidas com cera de carnaúba 6%, c) revestidas com alginato de sódio 1% e d) revestidas com alginato de sódio 1% com *Padina pavonica* 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  no dia 20 de armazenamento.



Fonte: A autora (2022)

Os resultados para os parâmetros “L”, “a” e “b” de casca e polpa seguem descritos na Tabela 18.

**Tabela 18** – Valores médios dos parâmetros “L”, “a” e “b” em mangas *Tommy Atkins* armazenadas sob refrigeração a  $10 \pm 0,5$  °C por 20 dias.

Parâmetros	Tratamentos	Período de armazenamento (dias)				
		0	5	10	15	20
<b>L casca</b>	Não revestida	47,70 <sup>a</sup>	47,12 <sup>a</sup>	46,04 <sup>a</sup>	39,63 <sup>a</sup>	38,09 <sup>a</sup>
	Cera carnaúba (6%)	47,70 <sup>a</sup>	43,98 <sup>a</sup>	44,14 <sup>a</sup>	36,64 <sup>a</sup>	37,52 <sup>a</sup>
	A2SP	47,70 <sup>a</sup>	42,98 <sup>a</sup>	42,81 <sup>a</sup>	39,89 <sup>a</sup>	35,57 <sup>a</sup>
	A2CP	47,70 <sup>a</sup>	46,17 <sup>a</sup>	41,72 <sup>a</sup>	41,20 <sup>a</sup>	38,15 <sup>a</sup>
	C.V. (%)	0	4,24	4,26	4,90	3,24
	<b>L polpa</b>	Não revestida	83,24 <sup>a</sup>	77,56 <sup>a</sup>	79,24 <sup>a</sup>	<b>74,82<sup>a</sup></b>
	Cera carnaúba (6%)	83,24 <sup>a</sup>	79,67 <sup>a</sup>	82,84 <sup>a</sup>	<b>78,62<sup>a</sup></b>	<b>75,81<sup>b</sup></b>
	A2SP	83,24 <sup>a</sup>	76,69 <sup>a</sup>	81,30 <sup>a</sup>	<b>81,21<sup>b</sup></b>	<b>82,73<sup>a</sup></b>
	A2CP	83,24 <sup>a</sup>	76,10 <sup>a</sup>	81,53 <sup>a</sup>	<b>82,41<sup>b</sup></b>	<b>81,72<sup>a</sup></b>
	C.V. (%)	0	2,01	1,83	4,23	3,81
<b>“a” casca</b>	Não revestida	-12,33 <sup>a</sup>	-7,73 <sup>a</sup>	-11,24 <sup>a</sup>	-4,62 <sup>a</sup>	-4,02 <sup>a</sup>
	Cera carnaúba (6%)	-12,33 <sup>a</sup>	-6,19 <sup>a</sup>	-5,62 <sup>a</sup>	-1,11 <sup>a</sup>	-3,38 <sup>a</sup>
	A2SP	-12,33 <sup>a</sup>	-6,35 <sup>a</sup>	-3,81 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	3,06 <sup>a</sup>
	A2CP	-12,33 <sup>a</sup>	-7,08 <sup>a</sup>	-6,96 <sup>a</sup>	-8,85 <sup>a</sup>	-0,91 <sup>a</sup>
	C.V. (%)	0	-10,41	-45,78	-12,53	-24,7
	<b>“a” polpa</b>	Não revestida	-4,46 <sup>a</sup>	-0,78 <sup>a</sup>	-5,49 <sup>a</sup>	-4,52 <sup>a</sup>
	Cera carnaúba (6%)	-4,46 <sup>a</sup>	-2,25 <sup>a</sup>	-4,96 <sup>a</sup>	-5,97 <sup>a</sup>	-4,79 <sup>a</sup>
	A2SP	-4,46 <sup>a</sup>	-1,43 <sup>a</sup>	-3,39 <sup>a</sup>	-4,38 <sup>a</sup>	-5,12 <sup>a</sup>
	A2CP	-4,46 <sup>a</sup>	-1,57 <sup>a</sup>	-3,19 <sup>a</sup>	-4,83 <sup>a</sup>	-4,19 <sup>a</sup>
	C.V. (%)	0	-39,82	-26,82	-14,69	-13,48
<b>“b” casca</b>	Não revestida	19,38 <sup>a</sup>	20,05 <sup>a</sup>	17,57 <sup>a</sup>	15,27 <sup>a</sup>	13,29 <sup>a</sup>
	Cera carnaúba (6%)	19,38 <sup>a</sup>	16,71 <sup>a</sup>	17,23 <sup>a</sup>	12,74 <sup>a</sup>	13,43 <sup>a</sup>
	A2SP	19,38 <sup>a</sup>	16,43 <sup>a</sup>	16,36 <sup>a</sup>	15,31 <sup>a</sup>	10,68 <sup>a</sup>
	A2CP	19,38 <sup>a</sup>	18,44 <sup>a</sup>	15,38 <sup>a</sup>	15,58 <sup>a</sup>	13,26 <sup>a</sup>
	C.V. (%)	0	9,40	5,91	9,03	10,45
	<b>“b” polpa</b>	Não revestida	48,30 <sup>a</sup>	<b>44,91<sup>a</sup></b>	42,91 <sup>a</sup>	<b>41,02<sup>a</sup></b>
	Cera carnaúba (6%)	48,30 <sup>a</sup>	<b>46,26<sup>a</sup></b>	44,86 <sup>a</sup>	<b>43,04<sup>a</sup></b>	41,64 <sup>a</sup>
	A2SP	48,30 <sup>a</sup>	<b>43,75<sup>a</sup></b>	44,24 <sup>a</sup>	<b>44,04<sup>b</sup></b>	43,80 <sup>a</sup>
	A2CP	48,30 <sup>a</sup>	<b>42,89<sup>b</sup></b>	45,33 <sup>a</sup>	<b>43,92<sup>a</sup></b>	43,72 <sup>a</sup>
	C.V. (%)	0	3,29	2,37	3,25	2,34

As médias seguidas da mesma letra em uma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade aplicando o teste de *Tukey*; CV. = coeficiente de variação. A2SP: 1% m/m de alginato de sódio + 10% m/m de cloreto de cálcio + 5% v/v de glicerol. A2CP: 1% m/m alginato de sódio + 10% m/m cloreto de cálcio + 5% v/v glicerol + 1000 ug.mL<sup>-1</sup> *P. pavonica*. Fonte: A autora (2022)

As variações na cor da casca representam um fator importante quanto a atração do consumidor. A aplicação de revestimentos associada à refrigeração pode ser eficiente em retardar a evolução da cor da casca e da polpa, favorecendo a redução drástica do seu metabolismo.<sup>98</sup>

Nos resultados para o parâmetro de luminosidade (L) da casca da fruta não foi observada diferença significativa entre os tratamentos em nenhum dos períodos avaliados. E embora fossem esperadas alterações para maiores valores de L, isso não foi observado, indicando que todos os conjuntos de mangas, inclusive o conjunto de mangas que não receberam tratamento, tiveram sua coloração verde mantida, em decorrência não só do uso do revestimento, mas também do uso da refrigeração, que atua reduzindo a velocidade das reações de degradação da manga, retardando a evolução da cor da casca. Menores valores L para a polpa foram observados para mangas não revestidas e revestidas com cera de carnaúba em comparação com mangas revestidas com A2SP e A2CP para o dia 15 de observação. No dia 20 de observação, menores valores de L de polpa também foram registrados para as mangas revestidas com cera de carnaúba em comparação as mangas que receberam os revestimentos A2SP e A2CP, mostrando que a polpa das mangas não revestidas se tornou mais escura, indicando processo de amadurecimento.

Em relação às medidas do parâmetro “a”, não foram observadas alterações estatisticamente significativas tanto para a casca quanto para a polpa nos diferentes tratamentos avaliados durante o armazenamento. Os valores negativos deste parâmetro observados para a casca de manga indicam que mesmo durante períodos mais longos de armazenamento, os tons esverdeados foram mantidos nos frutos revestidos, devido ao atraso no processo de degradação da clorofila. Para a polpa, aumentos mais acentuados nesses valores são observados para os frutos não revestidos, indicando maior redução da cor verde da polpa ao longo da maturação.<sup>159</sup>

Em relação ao parâmetro “b” não houve aumento dos valores durante a observação para todos os tratamentos. Também não foram observadas alterações estatisticamente significativas para os diferentes tratamentos avaliados durante o período de armazenamento. No entanto, houve uma tendência de diminuição dos valores de “b” obtidos para as polpas em todos os tratamentos, devido à perda de sua

---

<sup>159</sup>SERPA, M. F. P.; CASTRICINI, A.; MITSUBUZI, G. P.; MARTINS, R. N.; BATISTA, M. F.; ALMEIDA, T. H. de. Conservação de manga com uso de fécula de mandioca preparada com extrato de cravo e canela. **Revista Cerres**, v. 61, p. 975 – 982, 2014.

tonalidade amarelada, decorrente do processo de amadurecimento das mangas. Valores significativamente menores foram observados para polpas de manga revestidas com A2CP quando comparadas com cera de carnaúba nos primeiros 5 dias de tratamento. Menores valores de “b” também foram observados no dia 15 de armazenamento para a polpa das mangas não revestidas em comparação com as mangas revestidas com A2SP e A2CP, indicando maior atraso no amadurecimento para os frutos revestidos, possivelmente devido à presença de alginato de sódio que atuou retardar o processo de maturação da manga como já demonstrado em estudos anteriores.<sup>16,160,161</sup>

A adição de *P. pavonica*, com sua composição química diversificada<sup>162</sup>, também pode ajudar a manter a qualidade das mangas revestidas durante o armazenamento. Composto majoritariamente pelos ácidos  $\alpha$ -L gulurônico (G) e  $\beta$ -D manurônico (M), também presentes no alginato de sódio, *P. pavonica* pode ser responsável pela redução da taxa de respiração do fruto, que está diretamente relacionada ao atraso na mudança da coloração.

Outros trabalhos utilizando algas marinhas na formulação de revestimentos mostraram a eficácia da alga *Spirulina platensis* var. *tenuis* C.B.Rao 1937 em manter pequenas alterações de coloração na superfície de mangas revestidas e taxa respiratória mínima nos frutos que foram revestidos com o alginato contendo *S. platensis*.<sup>17,163</sup>

### 3.3.3.1.3 Características físico-químicas

As alterações físico-químicas (firmeza, perda de massa, SST e pH) nas mangas não revestidas e revestidas avaliadas são mostradas na Tabela 19.

<sup>160</sup> PASSOS, M. C. L. M. S.; Lima, M. A. C.; de AMARIZ, A.; RIBEIRO, T. P.; TRINDADE, D. C. G. da; ANTÃO, T. dos S. **Utilização de revestimentos à base de alginato na conservação pós-colheita de manga Tommy Atkins**. Poster session presentation at the meeting of the Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semi-Árido, Petrolina, Brazil, 2009.

<sup>161</sup>THEAGARAJAN, R.; DUTTA, S.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Alginates for Food Packaging Applications. **Scrivener Publishing**, p. 205 – 232, 2019.

<sup>162</sup>KAMENARSKA, Z.; GASIC, M. J.; ZLATOVIC, M.; RASOVIC, A.; SLADIC, D.; KLJAJIC, Z.; STEFANOV, K.; SEIZOVA, K.; NAJDENSKI, H.; KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; POPOV, S. Chemical Composition of the Brown Alga *Padina pavonia* (L.) Gaill. from the Adriatic Sea. **Bot. Mar.**, v. 45, p. 339 – 345, 2002.

<sup>163</sup>RASTEGAR, S.; ATRASH, S. Effect of alginate coating incorporated with *Spirulina*, *Aloe vera* and guar gum on physicochemical, respiration rate and color changes of mango fruits during cold storage. **J. Food Meas. Charact.**, v.15, 2p. 65 – 275, 2020.

**Tabela 19** – Valores médios dos parâmetros de qualidade físico-química em mangas *Tommy Atkins* armazenadas sob refrigeração a  $10 \pm 0,5$  °C por 20 dias.

Parâmetros	Tratamentos	Período de armazenamento (dias)				
		0	5	10	15	20
Firmeza (N)	Não revestida	37,47 <sup>a</sup>	<b>27,69<sup>a</sup></b>	34,56 <sup>a</sup>	<b>13,53<sup>a</sup></b>	24,3 <sup>a</sup>
	Cera carnaúba (6%)	37,47 <sup>a</sup>	<b>29,60<sup>a</sup></b>	35,56 <sup>a</sup>	<b>34,72<sup>b</sup></b>	27,16 <sup>a</sup>
	A2SP	37,47 <sup>a</sup>	<b>37,01<sup>a</sup></b>	37,40 <sup>a</sup>	<b>36,96<sup>b</sup></b>	39,66 <sup>a</sup>
	A2CP	37,47 <sup>a</sup>	<b>46,66<sup>b</sup></b>	42,20 <sup>a</sup>	<b>45,92<sup>b</sup></b>	39,74 <sup>a</sup>
	C.V. (%)	0	24,43	9,06	41,84	24,91
Taxa de perda de massa (%)	Não revestida	0 <sup>a</sup>	<b>1,80<sup>a</sup></b>	<b>1,12<sup>a</sup></b>	1,25 <sup>a</sup>	0,90 <sup>a</sup>
	Cera carnaúba (6%)	0 <sup>a</sup>	<b>0,55<sup>b</sup></b>	<b>0,61<sup>b</sup></b>	0,73 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>
	A2SP	0 <sup>a</sup>	<b>0,72<sup>b</sup></b>	<b>0,89<sup>b</sup></b>	0,43 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>
	A2CP	0 <sup>a</sup>	<b>0,99<sup>b</sup></b>	<b>0,85<sup>b</sup></b>	0,53 <sup>a</sup>	0,89 <sup>a</sup>
	C.V. (%)	0	54,95	24,16	49,53	8,50
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	Não revestida	8,50 <sup>a</sup>	11,17 <sup>a</sup>	10,50 <sup>a</sup>	11,00 <sup>a</sup>	10,83 <sup>a</sup>
	Cera carnaúba (6%)	8,50 <sup>a</sup>	11,00 <sup>a</sup>	10,33 <sup>a</sup>	9,00 <sup>a</sup>	9,53 <sup>a</sup>
	A2SP	8,50 <sup>a</sup>	10,00 <sup>a</sup>	10,33 <sup>a</sup>	10,67 <sup>a</sup>	10,00 <sup>a</sup>
	A2CP	8,50 <sup>a</sup>	10,00 <sup>a</sup>	10,00 <sup>a</sup>	10,33 <sup>a</sup>	9,67 <sup>a</sup>
	C.V. (%)	0	5,97	2,03	8,55	5,83
pH	Não revestida	3,91 <sup>a</sup>	3,50 <sup>a</sup>	3,67 <sup>a</sup>	3,79 <sup>a</sup>	<b>3,82<sup>a</sup></b>
	Cera carnaúba (6%)	3,91 <sup>a</sup>	3,66 <sup>a</sup>	3,83 <sup>a</sup>	3,73 <sup>a</sup>	<b>3,75<sup>a</sup></b>
	A2SP	3,91 <sup>a</sup>	3,82 <sup>a</sup>	3,91 <sup>a</sup>	3,75 <sup>a</sup>	<b>3,63<sup>a</sup></b>
	A2CP	3,91 <sup>a</sup>	3,52 <sup>a</sup>	3,73 <sup>a</sup>	3,89 <sup>a</sup>	<b>3,57<sup>b</sup></b>
	C.V. (%)	0	4,14	2,89	1,88	3,14

As médias seguidas da mesma letra em uma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade aplicando o teste de *Tukey*; CV. = coeficiente de variação. A2SP: 1% m/m de alginato de sódio + 10% m/m de cloreto de cálcio + 5% v/v de glicerol. A2CP: 1% m/m alginato de sódio + 10% m/m cloreto de cálcio + 5% v/v glicerol + 1000 µg.mL<sup>-1</sup> *P. pavonica*. Fonte: A autora (2022)

A firmeza da fruta diferiu entre os tratamentos nos dias 5 e 15 de armazenamento, com os grupos de mangas revestidas exibindo maior índice de firmeza do que a não revestida. No dia 5, a firmeza das frutas revestidas com A2CP foi maior que o valor da firmeza encontrado para as não revestidas e revestidas com cera de carnaúba. Para o dia 15, os valores mais altos de firmeza foram encontrados nas mangas revestidas: A2CP, A2SP e cera de carnaúba com uma diferença significativa nesses valores quando comparados às mangas não revestidas. Dados na literatura mostram que o alginato usado como revestimento a 1% de concentração promoveu maior firmeza em mangas *Tommy Atkins*.<sup>159</sup> A adição de *P. pavonica* na formulação de revestimento pode ajudar na manutenção da firmeza dos frutos revestidos, como consequência da alta porcentagem de resíduos de M e G em sua composição.<sup>161</sup> O amolecimento do tecido é um dos fatores mais notáveis que limitam a comercialização da fruta e ocorre principalmente como consequência da

degradação dos componentes da parede celular.<sup>164</sup> Os valores mais altos de firmeza foram observados para as mangas que continham *P. pavonica* em seu revestimento, que pode assegurar menor suscetibilidade à deterioração e, conseqüentemente, melhor viabilidade durante o manuseio e transporte.<sup>13</sup>

Observando os valores de perda de massa para as mangas, verificou -se que houve um aumento na perda de massa para todos os tratamentos avaliados. O que significa que, mesmo com a aplicação dos revestimentos, todas as mangas continuaram a respirar e perder massa. Uma alta perda de massa resulta no amolecimento e perda de suculência e valor nutricional das frutas, que se tornam mais suscetíveis ao processo de deterioração.<sup>13</sup>

Para o dia 5 de armazenamento, os valores médios de perda de massa das mangas não revestidas foram significativamente maiores quando comparado aos das mangas revestidas com cera de carnaúba, A2SP e A2CP. Para o dia 10 de armazenamento, as mangas revestidas com cera de carnaúba apresentaram menor perda de massa quando comparadas às mangas não revestidas, o que pode ser explicado pela sua natureza lipídica. Os lipídios, devido à sua baixa polaridade, limitam o transporte de humidade, reduzindo não só a perda de água do fruto, como também a sua taxa respiratória e atividade metabólica.<sup>114</sup> A maior porcentagem de perda de massa total após 20 dias de armazenamento foi encontrada para as mangas não revestidas (5,08 %), seguidas de mangas revestidas com A2CP (3,27 %), A2SP (2,86 %) e cera de carnaúba (2,63 %). As perdas de massa próximas a 5 %, como observadas para frutas não revestidas, ainda são aceitáveis para os consumidores. No entanto, podem facilitar o aparecimento de rugas e o murchamento da manga.<sup>13</sup>

Perdas de massa mais baixas nas mangas revestidas com alginato de sódio quando comparadas ao grupo não tratado também foram observadas em outros estudos.<sup>165,166</sup> As altas propriedades de barreira do alginato podem atuar reduzindo a volatilização do vapor de água. Menores porcentagens de perda de massa foram encontradas para mangas revestidas com alginato de sódio que continham algas marinhas incorporadas em sua composição.<sup>162</sup>

---

<sup>164</sup> THARANATHAN, R. N.; YASHODA, H. M.; PRABHA, T. N. Mango (*Mangifera indica* L.), "The king of fruits"—An overview. **Food Rev. Int.**, v. 22, p. 95 – 123, 2006.

<sup>165</sup> RASTEGAR, S.; KHANKAHDANI, H. H.; RAHIMZADEH, M. Effectiveness of alginate coating on antioxidant enzymes and biochemical changes during storage of mango fruit. **J. Food Biochem.**, v. 43, 2019.

<sup>166</sup> IN, C.; HUANG, C.; WANG, J.; LIU, Y.; LIU, P.; HUANG, L. Effect of Chitosan- and Alginate-Based Coatings Enriched with Cinnamon Essential Oil Microcapsules to Improve the Postharvest Quality of Mangoes. **Materials**, v. 12, 2019.

O conteúdo SST é um atributo importante da qualidade da manga, pois indica o número de açúcares presentes na fruta, que deve estar na faixa de 11 a 14 ° Brix. O aumento do conteúdo em função do tempo geralmente funciona como uma indicação da evolução da maturação. Assim, atrasar a evolução do conteúdo de SST implica aumentar o prazo de validade do fruto.<sup>167</sup> Nenhuma mudança significativa foi observada para o parâmetro SST entre os tratamentos. Resultados semelhantes também foram encontrados no trabalho com revestimentos à base de alginato de sódio adicionados com algas marinhas.<sup>161,168</sup> Aumentos lentos no conteúdo de SST durante o avanço do período de armazenamento também foram observados em mangas armazenadas sob refrigeração, com um atraso desse aumento para o conjunto de mangas revestidas com alginato.<sup>164</sup>

Mudanças consideráveis nos valores de pH para o dia 20 de armazenamento foram observadas apenas no grupo de frutas não revestidas ( $3,82 \pm 0,06$ ) e revestidas com A2CP ( $3,57 \pm 0,11$ ). Os maiores valores de pH são encontrados para mangas em estágio mais avançado de maturação e, neste caso, para o conjunto de mangas não revestidas, que, como consequência da continuidade de seu processo respiratório, continuam convertendo ácidos orgânicos em nutrientes açucarados. De forma diferente, o conjunto de mangas revestidas tem seu processo de troca respiratória reduzido pela camada protetora de baixa porosidade formada através de fortes e fracas ligações químicas entre o biopolímero e a superfície da fruta, que permitem respiração aeróbica mínima com maior preservação de ácidos.<sup>113</sup> A não diferença para os demais períodos de armazenamento pode ser consequência da refrigeração, que favorece a manutenção de valores de pH mais ácidos. Este fato pode estar relacionado à inibição do etileno catalítico em temperaturas mais baixas, o que resulta em menor taxa de respiração e, conseqüentemente, maior concentração de ácidos orgânicos.<sup>169</sup> Em outro estudo, também foi possível observar que não houve diferença em cada estágio de armazenamento, entre o pH das mangas tratadas com alginato e dos grupos não tratados.<sup>164</sup>

---

<sup>167</sup>VIEIRA, J. M.; FLORES-LÓPEZ, M. L.; de RODRÍGUEZ, D. J.; SOUSA, M. C.; VICENTE, A. A.; MARTINS, J. T. Effect of chitosan–Aloe vera coating on postharvest quality of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 116, p. 88 – 97, 2016.

<sup>168</sup>EBRAHIMI, F.; RASTEGAR, S. Preservation of mango fruit with guar-based edible coatings enriched with *Spirulina platensis* and Aloe vera extract during storage at ambient temperature. **Sci. Hortic.**, v. 265, 2020.

<sup>169</sup>PEREIRA, T.; CARLOS, L. A.; OLIVEIRA, J. G.; MONTEIRO, A. R. Características físicas e químicas de goiaba cv. Cortibel (*Psidium guajava*) estocados sob refrigeração em filmes X-tend. **Alimentos e Nutrição**, v.16, p.11 – 16, 2005.

## 4 CONCLUSÃO

A triagem fitoquímica nos extratos de *P. pavonica* mostrou a presença de metabólitos secundários com atividade biológica diversificada comumente encontrada em macroalgas. Além disso, os extratos apresentaram teores importantes de compostos fenólicos e flavonoides. O estudo preliminar das propriedades biológicas avaliadas (antioxidante, antimicrobiana, cicatrizante, analgésica, anti-inflamatória e antitumoral) forneceu resultados promissores para a utilização da alga marinha *P. pavonica* no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas naturais.

Explorando o potencial biológico do extrato aquoso de *P. pavonica*, um novo revestimento comestível ativo baseado no biopolímero alginato de sódio incorporado com *P. pavonica* foi desenvolvido. Os revestimentos comestíveis à base de alginato de sódio apresentaram propriedades mecânicas desejáveis e foram capazes de proporcionar maior conservação pós-colheita por retardar o amadurecimento das mangas revestidas durante um período de 20 dias sob armazenamento refrigerado (10 °C). O revestimento incorporado com o extrato de algas marinhas destacou-se em relação aos demais tratamentos na manutenção da firmeza e melhor aparência das mangas, devido à ausência de manchas na pele decorrente do crescimento microbiano.

O revestimento proposto manteve a cor esverdeada da casca de manga revestida e sua polpa amarelada, mantendo sua firmeza e teor de sólidos solúveis, confirmando o efeito do revestimento na inibição do processo de maturação da manga, prolongando sua vida útil. Apresentou ainda resultados iguais ou superiores aos obtidos pelas frutas revestidas com a cera de carnaúba.

O desenvolvimento de um revestimento comestível de baixo custo, que somado a redução do processo respiratório das frutas, atue também inibindo a proliferação de bactérias e fungos, atende a demanda crescente de cultivo e exportação a países distantes, que requer uma conservação prolongada da fruta. O alcance de uma minimização dos índices de perda pós-colheita em frutas, é de grande importância para o agronegócio local e sua viabilidade deve ser considerada.

## 5 PERSPECTIVAS

- Realizar análise de LCMS para identificação dos compostos constituintes dos extratos de *P. pavonica*;
- Realizar caracterizações complementares para os filmes produzidos;
- Testar a melhor condição do revestimento para outras frutas e alimentos facilmente degradáveis;
- Complementar ensaios *in vitro* de cicatrização (imunofluorescência para moléculas de matriz extracelular) para submissão de artigo científico;
- Repetir ensaios de atividade antitumoral utilizando Carcinoma de *Erlich*, correlacionando-o com os resultados obtidos para os parâmetros hematológicos e bioquímicos de sangue e estudo histopatológico dos órgãos. Finalizando a escrita de artigo científico para submissão.

## REFERÊNCIAS

- [1] SHALABY, E.A. Algae as promising organisms for environment and health, **Plant Signal. Behav**, v. 6, p. 1338 – 1350, 2011.
- [2] HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; ÖZOGUL, Y.; REGENSTEIN, J.M. Marine Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.** v. 14, p. 446–465, 2015.
- [3] DELGADO, N.G.; VAZQUEZ, A.I.; SANCHEZ, C.H.; SOTO DEL VALLE, R.M. GOMEZ, Y.S.; ALFONSO, A.M.S. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of methanolic extract from red seaweed *Dichotomaria obtusata*. **Braz. J. Pharm. Sci**, v. 49, p. 65 – 74, 2013.
- [4] DANG, H.T.; LE, H.J.; YOO, E.S.; SHINDE, P.B.; LEE, Y.M.; HONG, J.; KIM, D.K.; JUNG, J.H. Anti-inflammatory constituents of the red alga *Gracilariaverrucosa* and their synthetic analogues, **J. Nat. Prod.**, v. 71, p. 232 –240, 2008.
- [5] LAKMAL, H.H.C.; SAMARAKOON, K. W.; LEE, W.; LEE, J. Anticancer and antioxidant effects of selected Sri Lankan marine algae, **J. Sci. Found**, v. 42, p. 315 – 323, 2014.
- [6] NAGAOKA, M.; SHIBATA, H.; KIMURA-TAKAGI, I. Antiulcer effects and biological activities of polysaccharides from marine algae. **Biofactors**, v.12, p. 267 – 274, 2000.
- [7] FAYADA, S.; NEHMÉA, R.; TANNOURY, M.; LESELLIER, E.; PICHONC, C.; MORIN, P. Macroalga *Padina pavonica* water extracts obtained by pressurized liquid extraction and microwave-assisted extraction inhibit hyaluronidase activity as shown by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 1497, p. 19-27, 2017.
- [8] OMEZZINE, F.; HAOUALA, R.; AYEB, A. E.; BOUGHANMI, N. Allelopathic and antifungal potentialities of *Padina pavonica* (L.) extract. **Journal of Plant Breeding and Crop Science**, v. 1.p. 94-203, 2009.
- [9] AL-ENAZI, N. M.; AWAAD, A.; ZAIN, M. E.; ALQASOUMI, A. I. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Laurencia catarinensis*, *Laurencia majuscula* and *Padina pavonica* extracts. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 26, p. 44-52, 2018.
- [10] **SMITHSONIAN MARINE STATION AT FORT PIERCE**. Indian River Lagoon Species Inventory. Disponível em:  
<[https://www.sms.si.edu/irlspec/Padina\\_pavoni.htm](https://www.sms.si.edu/irlspec/Padina_pavoni.htm)> Acesso em: jan. 2019.

- [11] SILVA, L. A. **Revestimentos comestíveis em mangas: Propriedades e efeitos sobre a qualidade e conservação pós-colheita da fruta**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 30. 2015.
- [12] EMBRAPA, **Perdas na Cadeia de Comercialização da Manga**. Disponível em: <[www.infoteca.cnptia.embrapa.br/](http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/)>. Acesso em: 21 de mar. de 2020.
- [13] FIGUEIREDO NETO, A.; ALMEIDA, F. A. C.; CAVALCANTE, I. H. L. **Manga: Maturação, colheita e conservação**. Juazeiro: Fundação Univasf, 2017.
- [14] DURIGAN, J. F.; TEIXEIRA, G. H. de A.; CASTANHARO, N. M.; DOMARCO, R. E. Postharvest conservation of “Tommy Atkins” mango fruit influenced by gamma radiation, wax, hot water, and refrigeration. **Acta Horticulturae**, p.601-604, 2004.
- [15] ASSIS, O. G.; BRITTO, D.; FORATO, L. A. **O Uso de Biopolímeros como Revestimentos Comestíveis Protetores Para Conservação de Frutas in natura e Minimamente Processadas**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009.
- [16] CHIUMARELLI, M.; FERRARI, C. C.; SARANTOPOULOS, C. I. G. L.; HUBINGER, M. D. Fresh cut “Tommy Atkins” mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch or sodium alginate. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, v. 12, p. 381 – 387, 2011.
- [17] EBRAHIMI, F.; RASTEGAR, S. Preservation of mango fruit with guar-based edible coatings enriched with *Spirulina platensis* and Aloe vera extract during storage at ambient temperature. **Sci. Hortic.**, v. 265, 2020.
- [18] VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 139-145, 2004.
- [19] Britannica, T. Editors of Encyclopaedia. "kelp." Encyclopedia Britannica, February 27, 2020. <https://www.britannica.com/science/kelp>.

[20] RUSHDI, M. I.; ABDEL-RAHMAN, I. A. M.; SABER, H. ATTIA, E. Z.; M. H. A.; ABDELMOHSEN, U. R. A review on the pharmacological potential of the genus *Padina*. **South African Journal of Botany**, v. 141, p. 37 – 48, 2021.

[21] CORDEIRO, S. L. **Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória de uma fração rica em heterogalactana sulfatada extraída da alga *Codium isthmocladum* (VICKERS 1905)**. 2013. 87 f. Tese (Pós-graduação em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2013.

[22] SOUZA, L. A. R., AZAVEDO, T. C. G., SILVA, F. R. F., CARDOSO, M. L., XAVIER, C. A. C., ROCHA, H. A. O., DORES, C. M. P. G., LEITE, E. L. Caracterização química e ação farmacológica de polissacarídeos sulfatados extraídos da alga marinha *Amansla multifida*. **Revista Infarma**, v. 19, n. 3/4, p. 1-5, 2013.

[23] CÂMARA, R. B. G. **Atividade anticoagulante e antioxidante de extratos brutos ricos em polissacarídeo sulfatados das macroalgas marinhas marrons *Canistrocarpus cervicornis*, *Dictyota mertensii* e *Dictyopteris delicatula* e de heterofucanas de *Canistrocarpus cervicornis***. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2010.

[24] SILVA, T. C. L.; ALMEIDA, C. C. B. R.; VERAS FILHO, J.; PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; AMORIM, E. I. C.; COSTA, E. P.; ARAÚJO, J. M. Atividades antioxidante e antimicrobiana de *Ziziphus joazeiro* mart. (Rhamnaceae): avaliação comparativa entre cascas e folhas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 2, p. 193-199, 2011.

[25] ACHKAR, M. T.; NOVAES, G. M.; SILVA, M. J. D.; VILEGAS, W. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 2, p. 398-406, 2013.

[26] ARDESTANI, A.; YAZDANPARAST, R. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. **Food chemistry**, v. 104, n. 1, p. 21-29, 2007.

- [27] EL-HABIT, O. H. M.; SAADA, H. N.; AZAB, Kh. Sh.; ABDEL-RAHMAN, M.; EL-MALAH, D. F. The modifying of b-carotene on gamma radiation-induced elevation of oxidative reactions and genotoxicity in males. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 466, n. 2, p. 179-185, 2000.
- [28] **FOOD INGREDIENTS BRASIL**. Os antioxidantes, n. 6, p. 16-30. Disponível em: <[www.revista-fi.com](http://www.revista-fi.com)>. Acesso em: mar. de 2019.
- [29] JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; JIMÉNEZ-JIMÉNEZ, I.; SAURA-CALIXTO, P. R. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. **J Sci Food Agric**, v. 81, p. 530 – 534, 2001.
- [30] SHIBATA, T.; KAWAGUCHI, S.; HAMA, Y.; INAGAKI, M.; YAMAGUCHI, K.; NAKAMURA, T. Local and chemical distribution of phlorotannins in brown algae. **J Appl Phycol**, v. 16, p. 291 – 296, 2004.
- [31] ANGIOLELLA, L.; SACCHETTI, G.; EFFERTH, T. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Naturak Compounds. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2018.
- [32] BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, A. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, p. 71 – 79, 2016.
- [33] FENICAL, W.; SIMS, J.J. Cycloeuodesmol, an antibiotic cyclopropane conatinnin sesquiterpene from the marine alga, *Chondria oppositoclada* Dawson. **Tetrahedron Lett.**, v. 13, p. 1137 – 1140, 1974.
- [34] TRIVEDI, M. K.; BRANTON, A.; TRIVEDI, A.; NAYAK, G.; GANGWAR, M.; JANA, S. Wound Healing Activity of Consciousness Energy Healing Treatment on HFF-1 Cells and DMEM Using Scratch Assay. **Investigative Dermatology and Venereology Research**, v. 4, p. 50 – 54, 2018.

- [35] JONES, R. E.; FOSTER, D. S.; LONGAKER, M. T. Management of chronic wounds-2018. **J Am Med Assoc**, v. 14, p. 1481 – 1482, 2018.
- [36] PASTAR, I.; LIANG, L.; SAWAYA, A. P.; WIKRAMANAYAKE, T. C.; GLINOS, G. D.; DRAKULICH, S.; CHEN, V.; STOJADINOVIC, O.; DAVIS, S. C.; TOMIC-CANIC, M. Preclinical models for wound-healing studies. **Skin Tissue Models**, p. 223 – 253, 2018.
- [37] EMING, S. A.; MARTIN, P.; TOMIC-CANIC, M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. **Science Translational Medicine**, v. 6, 2014.
- [38] KANAZAWA, S.; FUJIWARA, T.; MATSUZAKI, S.; SHINGAKI, K.; TANIGUCHI, A.; MIYATA, S.; TOHYAMA, M.; SAKAI, Y.; YANO, K.; HOSOKAWA, K.; KUBO, T. bFGF Regulates PI3-Kinase-Rac1-JNK Pathway and Promotes Fibroblast Migration in Wound Healing. **PLoS ONE**, v. 5, 2010.
- [39] SCHAFER, M.; WERNER, S. Transcriptional control of wound repair. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 23, p. 69 – 92, 2007.
- [40] GOFFIN, J.M.; PITTET, P.; CSUCS, G.; LUSSI, J.W.; MEISTER, J.J.; HINZ, B. Focal adhesion size controls tension-dependent recruitment of alpha-smooth muscle actin to stress fibers. **Journal of Cell Biology**, v. 172, p. 259 – 268, 2006.
- [41] HENSHAW, F.R.; BOUGHTON, P.; LO, L.; MCLENNAN, S.V.; TWIGG, S.M. Topically applied connective tissue growth factor/CCN2 improves diabetic preclinical cutaneous wound healing: potential role for CTGF in human diabetic foot ulcer healing. **J. Diabetes Res**, p. 1 – 10, 2015.
- [42] MISIC, A.M.; GARDNER, S.E.; GRICE, E.A. The wound microbiome: modern approaches to examining the role of microorganisms in impaired chronic wound healing, **Adv. Wound Care (New Rochelle)**, v. 3, p. 502 – 510, 2014.
- [43] KORDJAZI, M., SHABANPOUR, B., ZABIHI, E., FARAMARZI, M.A., AHMADI GAVLIGHI, H., FEGHHI, S.M.A., HOSSEINI, S.A. Investigation of effects of fucoidan

polysaccharides extracted from two species of *Padina* on the wound-healing process in the rat. **Turk. J. Vet. Anim. Sci**, v. 41, p. 106 – 117, 2017.

[44] OLIVEIRA, L. F. Dor: fisiopatologia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 28, p. 227 – 288, 1979.

[45] VITOR; A. O.; PONTE, E. L.; SOARES, P. M.; CARVALHO, K. de M.; RODRIGUES, M. E. de S.; PATROCÍNIO, M. C. A.; LIMA, R. C. de S.; VASCONCELOS, A. M. M. Psicofisiologia da dor: uma revisão bibliográfica. **RECIIS**, v. 2, p. 86 – 97, 2008.

[46] LINLEY, J. E.; ROSE, K.; OOI, L.; GAMPER, N. Understanding inflammatory pain: ion channels contributing to acute and chronic nociception. **European Journal Physiology**, v. 459, p. 657 – 669, 2010.

[47] BAMIAS, G.; COMINELLI, F. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts. **Current opinion in gastroenterology**, v 23, p. 365 – 369, 2007.

[48] CARNEIRO, J. G.; RODRIGUES, J. A., DE SOUSA, O. V. E.; SOUZA, R. B.; QUINDERÉ, A. L.; COURA, C. O.; DE ARAÚJO, I. W.; CHAVES, H. V.; BEZERRA, M. M.; BENEVIDES, N. M. Peripheral antinociception and anti-inflammatory effects of sulphated polysaccharides from the alga *Caulerpa mexicana*. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, v. 115, p. 335 – 42, 2014.

[49] JIANG, Z. D.; JENSEN, P.R., FENICAL, W. Lobophorins A and B, new antiinflammatory macrolides produced by a tropical marine bacterium. **Biog. Med. Chem. Lett.**, v. 9, p. 2003 – 2006, 1999.

[50] WU, S.; POWERS, S.; ZHU, W.; HANNUN, Y.A. Substantial contribution of extrinsic risk factors to cancer development. London: **Nature**, v. 529, n. 7584, p. 43-47, jan. 2016.

[51] BELIZÁRIO, J. E. O próximo desafio reverter o câncer. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 31, n. 184, p. 51-57, jul. 2002.

[52] **AMERICAN CANCER SOCIETY**. How Chemotherapy Drugs Work. Disponível em: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/chemotherapy/how-chemotherapy-drugs-work.html#references>> Acesso em: 21 fev. 2018.

[53] SAVITHRAMMA, N.; RAO, M. L.; SUHRULATHA, D. Screening of traditional medicinal plants for secondary metabolites. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v.8, p. 579 – 784, 2011.

[54] SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

[55] WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of apicultural research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

[56] BRAND, W. W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

[57] dos SANTOS, B. S.; BEZERRA FILHO, C. V.; do NASCIMENTO JUNIOR, J. A. A.; BRUST, F. R.; BEZERRA-SILVA, P. C.; da ROCHA, S. K. L.; KROGFELT, K. A.; NAVARRO, D. M. do A. F.; CORREIA, M. T. dos S.; NAPOLEÃO, T. H.; da SILVA, L. C. N.; MACEDO, A. J.; da SILVA, M. V. PAIVA, P. M. G. Anti-staphylococcal activity of *Syagrus coronata* essential oil: Biofilm eradication and in vivo action on *Galleria mellonella* infection model. **Microbial Pathogenesis**, v. 131, p. 150 – 157, 2019.

[58] **Clinical and Laboratory Standards Institute**. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard, 2nd ed. CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.

- [59] MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v, 65, p. 55-63, 1983.
- [60] NILES, A. L.; MORAVEC, R. A.; WORZELLA T. J.; EVANS, N.J.; RISS, T. L. High-Throughput Screening Assays for the Assessment of Cytotoxicity. In P. Steinberg (Ed.), **High-throughput screening methods in toxicity testing** (pp. 107–127). Wiley, 2013.
- [61] SUVARNA, K; HONDA, K; KONDOH, Y; OSADA, H; WATANABE, N. Identification of a smallmolecule ligand of beta-arrestin1 as an inhibitor of stromal fibroblast cell migration accelerated by cancer cells. **Canc Med**, v. 7, p. 883–93, 2018.
- [62] COLLIER, H. O.; DINNEEN, L. C.; JOHNSON, C. A.; SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British Journal Pharmacology Chemother**, v. 32, p. 295-310, 1968.
- [63] WHITTLE, B. A. Release of a kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. **Int. Jou. Of Neuropharmacology**, v. 3, p. 369 – 378, 1964.
- [64] QUEIROZ, A. C.; LIRA, D. P.; DIAS, T. L. M. F.; SOUZA, E. T.; MATTA, C. B. B.; AQUINO, A. B.; SILVA, L. H. A. C.; SILVA, D. J. C.; MELLA, E. A. C.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; ARAÚJO JÚNIOR, J. X.; SANTOS B. V. O.; ALEXANDRE MOREIRA, M. S. The antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Piptadenia stipulacea* Benth. (Fabaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, p. 377-383, 2010.
- [65] ROCHA, F. F.; NEVES, E. M. N.; COSTA, E. A.; MATOS, L. G.; MÜLLER, A. H.; GUILHON, G. M. S. P.; CORTES, W. S.; VANDERLINDE, F. A. Evaluation of antinociceptive and antiinflammatory effects of *Croton pullei* var. *glabrior* Lanj. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 344-49, 2008.

[66] **ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT.** Oecd guideline for testing of chemicals. Disponível em: <[https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocus/oecd/oecd\\_gl423.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocus/oecd/oecd_gl423.pdf)>.

Acessado em: 21 nov. 2021.

[67] DEYAB, M.; ELKATONY, T.; WARD, F. Qualitative and Quantitative Analysis of Phytochemical Studies on Brown Seaweed, *Dictyota dichotoma*. **International Journal of Engineering Development and Research**, v. 4, p. 674 – 678, 2016.

[68] MEKINIĆ, I. G., SKROZA, D., ŠIMAT, V., HAMED, I., ČAGALJ, M.; & PERKOVIĆ, Z. P. Phenolic Content of Brown Algae (Pheophyceae) Species: Extraction, Identification, and Quantification. **Biomolecules**, v. 9, 2019.

[69] CAGALI, M.; SKROZA, D.; TABANELLI, G.; ÖZOGUT, F.; SIMAT, V. Maximizing the Antioxidant Capacity of *Padina pavonica* by Choosing the Right Drying and Extraction Methods. **Processes**, v. 9, 2021.

[70] ALVES, R. C. C.; das MERCÊS; P. F. F.; de SOUZA, I. R. A.; de ALMEIDA, C. M. A.; da SILVA, A. P. S.; LIMA, V. L. de M.; CORREIA, M. T. dos S.; da SILVA, M. V.; da SILVA, A. G. Antimicrobial activity of seaweeds of Pernambuco, northeastern coast of Brazil. **Afr. J. Microbiol. Res.**, v.10, p. 312 – 318, 2016.

[71] CHIAO-WEI, C.; SIEW-LING, W.; CHING-LEE, W. Antibacterial activity of *Sargassum polycystum* C. Agardh and *Padina australis* Hauck (*Phaeophyceae*). **Afr. J. Biotechnol.**, v. 10, p. 14125 – 14131, 2011.

[72] KUMAR, P.; NAGARAJAN, A.; UCHIL, P. D. Analysis of cell viability by the MTT assay. **Cold Spring Harb Protoc**, 2018.

[73] SASAKI, T.; TAMAKI, J.; NISHIZAWA, K.; KOJIMA, T.; TANAKA, R.; MORIYA, R.; SASAKI, H.; MARUYAMA, H. Evaluation of cell viability and metabolic activity of a 3D cultured human epidermal model using a dynamic autoradiographic technique with a PET radiopharmaceutical. **Scientific reports**, v. 9, 2019.

[74] GÜNER, A. In vitro risk assessment of *Padina pavonica* (Linnaeus) (Brown algae). **Food and Health**, v. 7, p. 31 – 38, 2021.

[75] PASTAR, I.; LIANG, L.; SAWAYA, A. P.; WIKRAMANAYAKE, T. C.; GLINOS, G. D.; DRAKULICH, S.; CHEN, V.; STOJADINOVIC, O.; DAVIS, S. C.; TOMIC-CANIC, M. 10 - Preclinical models for wound healing studies. **Skin Tissue Models**, p. 223 – 253, 2018.

[76] PREMARATHNA, A. D.; RANAHEWA, T. H.; WIJESEKERA, S. K.; WIJESUNDARA, R. R. M. K. K.; JAYASOORIYA, A. P.; WIJewardana, V.; RAJAPAKSE, R. P. V. J. Wound healing properties of aqueous extracts of *Sargassum illicifolium*: An *in vitro* assay. **Wound Medicine**, v. 24, p. 1- 7, 2019.

[77] SENTHIL, K. A.; MURUGAN, A. Antiulcer, wound healing and hepatoprotective activities of the seaweeds *Gracilaria crassa*, *Turbinaria ornata* and *Laurencia papillosa* from the southeast coast of India. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 49, 2013.

[78] NAYAK, B. S.; PEREIRA, L.M.P. Catharanthus roseus flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. **BMC Complement. Altern. Med.**, v. 6, 2006. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-6-41>

[79] KUMAR, B.; VIJAYAKUMAR, M.; GOVINDARAJAN, R.; PUSHPANGADAN, P. Ethnopharmacological approaches to wound healing exploring medicinal plants of India. **J. Ethnopharmacol**, v. 114, p. 103 – 113, 2007.

[80] TSUCHIYA, H.; SATO, M.; MIYAZAKI, T.; Fujiwara, S, Tanigaki S, Ohyama M, Tnanka T, linuma M. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillinresistant *Staphylococcus aureus*. **J. Ethnopharmacol**, v. 50, p.27 – 34, 1996.

[81] SCORTICHINI, M.; Rossi, P. M. Preliminary *in vitro* evaluation of the antimicrobial activity of terpenes and terpenoids towards *Erwinia amylovora* (Burrill). **J. Appl Bacteriol**, v. 71, p.109 – 112, 1991.

[82] STEPANOVIĆ-PETROVIĆ, R.M.; TOMIĆ, M.A.; VUČKOVIĆ, S. M.; PARANOS, S.; UGREŠIĆ, N. D.; PROSTRAN, M. Š.; MILOVANOVIĆ, S.; BOŠKOVIĆ, B. The

Antinociceptive Effects of Anticonvulsants in a Mouse Visceral Pain Model. **Anesthesia & Analgesia**, v. 106, p.1897 – 1903, 2008.

[83] MEN'SHOVA, R.V.; ERMAKOVA, S.P.; RACHIDI, S.M.; AL-HAJJE, A. H.; ZVYAGINTSEVA, T. N.; KANAAN, H. M. Seasonal Variations of the composition, structural features, and antitumor properties of polysaccharides from *Padina pavonica* (LEBANON) as a function of composition. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 47, n.6, p. 870 – 875, 2011.

[84] Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo, diz Abrafrutas. **ABRAFRUTAS**, 2018. Disponível em: <<https://abrafrutas.org/dados-estatisticos/>>. Acesso em: 20 de mar. de 2020.

[85] Exportação de frutas cresce 16% em 2019. **ABRAFRUTAS**, 2018. Disponível em: <<https://abrafrutas.org/dados-estatisticos/>>. Acesso em: 20 de mar. de 2020.

[86] Exportações de manga e uva crescem, mas receita diminui e acende alerta no Vale do São Francisco. **ABRAFRUTAS**, 2018. Disponível em: <<https://abrafrutas.org/>>. Acesso em: 20 de mar. de 2020.

[87] EMBRAPA, **Características da planta**. Disponível em: <[www.agencia.cnptia.embrapa.br](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br)>. Acesso em: 21 de mar. de 2020.

[88] MARCHETTO, A. M. P.; ATAIDE, H. H.; MASSON, M. L. F.; PELIZER, L. H.; PEREIRA, C. H. C.; SENDÃO, M. C. Avaliação das partes desperdiçadas de alimentos no setor de hortifrutis visando seu aproveitamento. **Revista Simbio-Logias**, v.1, n.2, nov. 2008.

[89] TOCHETTO, C. C.; FERRARI, M. R.; BERGAMO, M. M. C.; VANCIM, V. Estudo sobre as perdas físicas e financeiras decorrentes da produção, transporte, armazenagem e comercialização de hortifrutigranjeiros no município de Erechim/RS. **Revista Perspectiva**, v. 34, n. 123, p.7-17, jun. 2010.

[90] **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention. Roma, 2011.

[91] JAYAS, D. S.; JEYAMKONDAN, S. PH- Postharvest Technology: Modified Atmosphere Storage of Grains Meats Fruits and Vegetables. **Biosystems Engineering**, v. 82, n.3, p. 235-251, jul. 2002.

[92] TURHAN, K. N. Is edible coating an alternative to MAP for fresh and minimally processed fruits? **Acta Horticulturae**, v. 876, n. 1, p. 299-305, 2010.

[93] HRIBAR, J.; PLESTENJAK, A.; VIDRIH, R.; SIMCIC, M. Influence of CO<sub>2</sub> shock treatment and ULO storage on apple quality. In: International Symposium on Postharvest. **Acta Horticulturae** 368, vol. 2, 1994, p. 634-640

[94] GOLDING, J.; SATIAN, S.; RATH, A. C.; JOBLING, J.; JAMES, H. Re-Tain maintains “Pink Lady” fruit quality during long term storage. In: International Symposium on Postharvest. MENCARELLI, F.; TONUTTI, P. (Eds) **Acta Horticulturae** 682, v. 1, p. 119-125.

[95] **EMBRAPA**, Doenças da Mangueira, 2008. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/142180/doencas-da-mangueira>>. Acesso em: 22 de ago. de 2019.

[96] **EMBRAPA**, Cultivo da Mangueira, 2010. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-geral/busca/Cultivo%20da%20Mangueira?buscaPortal=Cultivo+da+Mangueira>>. Acesso em: 12 de abr. de 2020.

[97] KIMATI, H. AMORIM, L. BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. v.2. Ceres. São Paulo, 1997.

[98] SANTOS, D. B. dos, **Conservação pós-colheita de manga (Mangifera indica L.) “Tommy Atkins” com revestimentos comestíveis**. Cruz das Almas, 2006, 66p. (Dissertação de mestrado, Escola de Agronomia – UFBA).

- [99] RIBEIRO, V. G.; ASSIS, J. S. de; SILVA, F. F.; SIQUEIRA, P. P. X.; VILARONGA, C. P. P. Armazenamento de goiabas “Paluma” sob refrigeração e em condição ambiente, com e sem tratamento com cera de carnaúba. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, SP, v. 27, n. 2, p. 203-206, agosto 2005.
- [100] ZERBINI, P. E.; VANOLI, M.; RIZZOLO, A.; GRASSI, M.; PIMENTEL, R. M. de A.; SPINELLI, L.; TORRICELLI, A. Optical properties, ethylene production and softening in mango fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 101, p. 58–65, 2015.
- [101] CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. ver. e ampl. Lavras: UFLA, 2005.
- [102] GUADARRAMA, A.; PEÑA, Y. Actividad respiratória vs. Variaciones físicas y químicas en la maduración de frutos de naranjita china (*Citrus x microcarpa* Bunge). **Bioagro**, Barquisimeto, v. 25, n. 1, p. 57-63, 2013.
- [103] JERONIMO, E. M.; BRUNINI, M. A.; de ARRUDA, M. C.; CRUZ, J. C. S.; FISCHER, I. H.; GAVA, G. J. de C. Conservação pós-colheita de mangas ‘Tommy Atkins’ armazenadas sob atmosfera modificada. **Ciências Agrárias**, v. 28, n.3, p. 417-426, 2017.
- [104] PERONI, F. H. G. A.; KOIKE, C.; LOURO, R. P.; PURGATTO, E.; NASCIMENTO, J. R. O. do; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Mango starch degradation. II. The binding of  $\alpha$ -amylase and  $\beta$ -amylase to the starch granule. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 56, p. 7416–7421, 2008.
- [105] LEMOS, O. L.; REBOUÇAS, T. N. H.; SÃO JOSÉ, A. R.; VILAS, M.T.R.; SILVA, K.S. Utilização de biofilme comestível na conservação de pimentão ‘Magali R’ em duas condições de armazenamento. **Bragantia**, v.66, n.4, p.693-699, 2007.

[106] SILVA, A. P. F. B.; NASCIMENTO, J. R. O. do; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI. Starch mobilization and sucralose accumulation in the pulp of Keitt mangoes during postharvest ripening. **Journal of Food Biochemistry**. v. 32, p. 384-395, 2008.

[107] MCHUGH, T. H.; SENESI, E. Apple wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. **Journal of Food Science**, v. 65, p. 480 – 485, 2000.

[108] BESINELA JUNIOR, E.; MONARIM, M. M. S.; CAMARGO, M.; MAHL, C. E. A.; SIMÕES, M. R.; SILVA, C. F. Efeito de diferentes biopolímeros no revestimento de mamão (*Carica papaya* L) minimamente processado. **Revista Varia Scientia Agrárias**, v.1. n. 1, p. 131-142, 2010.

[109] PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; OLIVEIRA JUNIOR, O. N. Ultrathin polymeric films produced by self-assembly: preparation, properties and applications. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 228-235, 2001.

[110] ASSIS, O.B. G.; BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87-97, abr. 2014.

[111] MANSON, J. A.; SPERLING, L. N. **Polymer blends and composites**. Plenum Press, 1976.

[112] STEWARD, P. A.; HEARN, J.; WILKINSON, M. C. An overview of polymer latex film formation and properties. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 86, n. 3, p. 195-267, 2000.

[113] SALUNKHE, D. K.; BOLIN, H. R.; REDDY, N. R. **Storage methods**. In: SALUNKLE, D. K. Storage, processing and nutritional quality of fruits and vegetables. Boca Raton: CRC Press, p. 243-294, 1991.

[114] LUVIELMO, M. M.; LAMAS, S. V. Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 1, p. 8-15, jan. 2012.

[115] TRIGO, J. M.; ALBERTINI, S.; SPOTO, M. H. F.; SARMENTO, S. B. S.; LAI REYES, A. E.; SARRIÉS, G. A. Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 125-133, abr. 2012.

[116] BERTAN, L.C. **Desenvolvimento e caracterização de filmes simples e compostos à base de gelatina, ácidos graxos e breu branco**. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, p. 148. 2003.

[117] BRITTO, D.; CAMPANA FILHO, S. P.; ASSIS, O. B. G. Mechanical Properties of N,N,N-trimethylchitosan Chloride Films. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 2, p. 129-132, 2005.

[118] KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v.40, n.12, p. 47-59, 1986.

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

[120] SILVA, J.B. **Revestimento comestível para manga (Mangifera Indica, L.) à base de cera de carnaúba com antimicrobianos**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, p. 32. 2009.

[121] DANG, K. T. H.; SINGH, Z.; SWINNY, E. E. Edible coatings influence fruit ripening, quality, and aroma biosynthesis in mango fruit. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 56, p. 1361–1370, 2008.

[122] DOMÍNGUEZ, R.; BARBA, F. J.; GÓMEZ, B.; PUTNIK, P.; KOVAČEVIĆ, D.B.; PATEIRO, M.; SANTOS, E. M.; LORENZO, J.M. Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food Research International**, v. 113, p. 93-101, jul. 2018.

[123] DRAGET, K. I., SKJÅK-BRÆK, G., SMIDSRØD, O. Alginate based new materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.21, p.47-55, 1997.

[124] ONSØYEN, E. **Alginates**. In: **IMENSON, A. Thickening and gelling agents for food**. Cap.11. 2 ed. London: Blackie Academic & Professional. p.230-260. 1997.

[125] GARCIA-CRUZ, C. H.; FOGGETTI, U.; SILVA, A. N. Alginato bacteriano: aspectos tecnológicos, características e produção. **Química nova**, v.31, p.1800-1806, 2008.

[126] ERSTVÁG, H., VALLA, S. Biosynthesis and applications of alginates. **Polymer Degradation and Stability**, v.59, n.1, p.85-91, 1998.

[127] DÍAZ-MULA, H. M.; SERRANO, M.; VALERO, D. Alginate coatings preserve fruit quality and bioactive compounds during storage of sweet cherry fruit. **Food Bioprocess Technology**, v. 5, p. 2990–2997, 2012.

[128] MIGUEL, A. C. A.; DIAS, J. R. P. S.; ALBERTINI, S.; SPOTO, M. H. F. Postharvest of grape involved with films of sodium alginate and cold storage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n. 2, p. 277-282, 2009.

[129] TRIGO, J. M.; ALBERTINI, S.; SPOTO, M. H. F.; SARMENTO, S. B. S.; LAI REYES, A. E.; SARRIÉS, G. A. Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 125-133, abr. 2012.

[130] BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J. M.; FELT, O.; PEPPAS, N. A.; GURNY, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 19-34, 2004.

[131] NETO, C. G. T.; DANTAS, T. N. C.; FONSECA, J. L. C.; PEREIRA, M. R. Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly(ethylene oxide) addition. **Carbohydrate Research**, v. 340, n. 17, p. 2630-2636, 2005.

[132] FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Os alginatos e suas múltiplas aplicações**, n. 26, p. 34-38. Disponível em: <www.revista-fi.com>. Acesso em: ago. de 2019.

[133] BRACCINI, I., PÉREZ, S. Molecular Basis of Ca<sup>2+</sup> - Induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. **Biomacromolecules**, v.2, n.4, p.1089-1096, 2001.

[134] ALLEN, L.; NELSON, A I.; STEINBERG, M. P.; MCGILL, J. N. Edible corn carbohydrate food coatings. I. Development and physical testing of a starch-alginate coating. **Food Technology**, v.17, p. 1437, 1963.

[135] BIERHALZ, A. C. K. **Confecção e caracterização de biofilmes ativos à base de pectina btm e de pectina btm/alginato reticulados com cálcio**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, p. 1. 2010.

[136] SOTHORNVIT, R., KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. **Innovations in Food Packaging**, 2005.

[137] MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Sorbitol vs glycerol plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, n.4, p.841-845, 1994.

[138] SOTHORNVIT, R., KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. **Innovations in Food Packaging**, 2005.

[139] ASSIS, O. B. G.; SILVA, V. L. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 223-228, 2003.

[140] BUONOCORE, G. G.; DEL NOBILE, M. A.; PANIZZA, A.; CORBO, M. R. A general approach to describe the antimicrobial release from highly swellable films intended for food packaging applications. **Journal of Controlled Release**, v.90, p.97-107, 2003.

[141] GOY, R. C.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n. 3, p. 241-247, 2009.

[142] KUSWANDI, B.; JUMINA. Active and intelligent packaging, safety, and quality controls. **Fresh-cut Fruits and Vegetables**, p. 243-294, 2020.

[143] BRASIL, I. M.; FIGUEIREDO, R. W.; FIGUEIREDO, E. A. T.; PONTES, D. F.; OLIVEIRA, L. S.; ZAMBELLI, R. A. **Nanoencapsulados de resíduos da indústria de processamento de frutas em matriz de quitosana para uso como revestimentos em frutas minimamente processadas**. Depositante: Universidade Federal do Ceará. BR nº 102016018306-5 A2. Depósito: 09 ago. 2016. Concessão: 10 abr. 2018. Disponível em: <<https://gru.inpi.gov.br/pePI/jsp/patentes/PatenteSearchBasico.jsp>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

[144] GIRARD, G. **Composição de revestimento comestível e usos da mesma**. Depositante: Fruitsymbiose INC. BR nº 112012025866-4 A2 Depósito: 08 abr. 2011. Concessão: 13 out. 2011. Disponível em: <<https://gru.inpi.gov.br/pePI/jsp/patentes/PatenteSearchBasico.jsp>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

[145] RIBEIRO, T. T. B.; NUNES, T. P.; JESUS, B. G.; DARIVA, C.; PADILHA, F. F.; FRANCESCHI, E.; SANTOS, K. S.; BARBOSA, A. M. **Composição filmogênica antifúngica para revestimento de frutas**. Depositante: INSTITUTO DE TECNOLOGIA E PESQUISA; UNIVERSIDADE TIRADENTES; UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE. BR nº 102018000947-8 A2. Depósito: 17 jan. 2008. Concessão: 30 jun. 2019. Disponível em: <<https://gru.inpi.gov.br/pePI/jsp/patentes/PatenteSearchBasico.jsp>>. Acesso em: 8 nov. 2019.

[146] OLIVEIRA, V. N. S.; COUTO JÚNIOR, J. R. S.; VASCONCELOS, B. M. F.; SALES JÚNIOR, R.; VAEZ, J. R. **Atividade antifúngica do extrato etanólico da macroalga marinha *Sargassum filipendula***. Rio Grande do Norte, IFRN, 2017. (Comunicação oral).

[147] RASTEGAR, S.; ATRASH, S. Effect of alginate coating incorporated with Spirulina, Aloe vera and guar gum on physicochemical, respiration rate and color changes of mango fruits during cold storage. **J. Food Meas. Charact.**, v.15, 2p. 65 – 275, 2020.

[148] IGARASHI, M. C. **Desenvolvimento de filme comestível à base de alginato incorporado do agente antimicrobiano óleo essencial de cravo: aplicação em alimento**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, p. 22. 2010.

[149] **American Society for Testing and Material – ATM**. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, 2012.

[150] **Association of Official Analytical – AOAC**. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (20th ed.), 2016.

[151] **INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL**. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 1020p. São Paulo, 2008.

[152] FAIDI, A. LASSOUED, M. A.; BECHEIKH, M. E. H.; TOUATI, M.; STUMBÉ, J. F.; FARHAT, F. Application of sodium alginate extracted from a Tunisian Brown Algae *Padina pavonica* for essential oil encapsulation: Microspheres preparation, characterization and in vitro release study. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 386-394, 2019.

[150] HUA, S.; Ma, H.; Li, X.; YANG, A. WANG, A. pH – sensitive sodium alginate/poly(vinyl alcohol) hydrogel beads prepared by combined Ca<sup>2+</sup> crosslinking and freeze-thawing cycles for controlled release of diclofenac sodium, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, n. 5, p. 517 – 523, 2010.

[154] GAO, C.; POLLET, E.; AVÉROUS, L. Properties of glycerol-plasticized alginate films obtained by thermo-mechanical mixing. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 414 – 420, 2017.

[155] FERNANDES, R. da S.; de MOURA, M. R.; GLENN, G. M.; AOUADA, A. F. Thermal, microstructural, and spectroscopic analysis of Ca<sup>2+</sup> alginate/clay nanocomposite hydrogel beads. **Journal of Molecular Liquids**, v. 265, n. 1, p.327-336, 2018.

[156] de LAIA, A, G. S. **Estudo de filmes e hidrogéis a base de alginato e goma gelana visando aplicações na regeneração de discos intervertebrais**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, p. 75. 2015.

[157] NAVARRO- RARAZAGA, M. L.; MASSA, A.; PÉREZ-GAGO, M. B. Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (Cv. Angeleno). **Food Science and Technology**, v. 44, n. 10, 2011.

[158] THEAGARAJAN, R.; DUTTA, S.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Alginates for Food Packaging Applications. **Scrivener Publishing**, p. 205 – 232, 2019.

[159] SERPA, M. F. P.; CASTRICINI, A.; MITSOBUIZI, G. P.; MARTINS, R. N.; BATISTA, M. F.; ALMEIDA, T. H. de. Conservação de manga com uso de fécula de mandioca preparada com extrato de cravo e canela. **Revista Cerres**, v. 61, p. 975 – 982, 2014.

[160] PASSOS, M. C. L. M. S.; Lima, M. A. C.; de AMARIZ, A.; RIBEIRO, T. P.; TRINDADE, D. C. G. da; ANTÃO, T. dos S. **Utilização de revestimentos à base de alginato na conservação pós-colheita de manga Tommy Atkins**. Poster session presentation at the meeting of the Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semi-Árido, Petrolina, Brazil, 2009.

- [161] THEAGARAJAN, R.; DUTTA, S.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Alginates for Food Packaging Applications. **Scrivener Publishing**, p. 205 – 232, 2019. <https://doi.org/10.1002/9781119487999.ch11>.
- [162] KAMENARSKA, Z.; GASIC, M. J.; ZLATOVIC, M.; RASOVIC, A.; SLADIC, D.; KLJAJIC, Z.; STEFANOV, K.; SEIZOVA, K.; NAJDENSKI, H.; KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; POPOV, S. Chemical Composition of the Brown Alga *Padina pavonia* (L.) Gaill. from the Adriatic Sea. **Bot. Mar.**, v. 45, p. 339 – 345, 2002.
- [163] RASTEGAR, S.; ATRASH, S. Effect of alginate coating incorporated with Spirulina, Aloe vera and guar gum on physicochemical, respiration rate and color changes of mango fruits during cold storage. **J. Food Meas. Charact.**, v.15, 2p. 65 – 275, 2020. 10.1007/s11694-020-00635-6.
- [164] THARANATHAN, R. N.; YASHODA, H. M.; PRABHA, T. N. Mango (*Mangifera indica* L.), “The king of fruits”—An overview. **Food Rev. Int.**, v. 22, p. 95 – 123, 2006.
- [165] RASTEGAR, S.; KHANKAHDANI, H. H.; RAHIMZADEH, M. Effectiveness of alginate coating on antioxidant enzymes and biochemical changes during storage of mango fruit. **J. Food Biochem.**, v. 43, 2019.
- [166] YIN, C.; HUANG, C.; WANG, J.; LIU, Y.; LIU, P.; HUANG, L. Effect of Chitosan- and Alginate-Based Coatings Enriched with Cinnamon Essential Oil Microcapsules to Improve the Postharvest Quality of Mangoes. **Materials**, v. 12, 2019.
- [167] VIEIRA, J. M.; FLORES-LÓPEZ, M. L.; de RODRÍGUEZ, D. J.; SOUSA, M. C.; VICENTE, A. A.; MARTINS, J. T. Effect of chitosan–Aloe vera coating on postharvest quality of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 116, p. 88 – 97, 2016.
- [168] EBRAHIMI, F.; RASTEGAR, S. Preservation of mango fruit with guar-based edible coatings enriched with *Spirulina platensis* and Aloe vera extract during storage at ambient temperature. **Sci. Hortic.**, v. 265, 2020.

[169] PEREIRA, T.; CARLOS, L. A.; OLIVEIRA, J. G.; MONTEIRO, A. R. Características físicas e químicas de goiaba cv. Cortibel (*Psidium guajava*) estocados sob refrigeração em filmes X-tend. **Alimentos e Nutrição**, v.16, p.11 – 16, 2005.