



MARIA LUIZA GARCIA DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE FILME COM PROPRIEDADE ANTIMICROBIANA PARA
REVESTIMENTO DE FRUTAS**

Guarapuava

2025

MARIA LUIZA GARCIA DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE FILME COM PROPRIEDADE ANTIMICROBIANA PARA
REVESTIMENTO DE FRUTAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro Universitário Campo Real, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharela em Biomedicina.

Orientador: Prof^a. Dra. Laís de Almeida Campos

Co-Orientador: Prof. Me. Alisson John de Souza

Guarapuava

2025

LISTA DE FIGURAS, QUADROS E TABELAS

FIGURAS	PÁG.
1. Formação do filme polimérico por <i>solvent casting</i>	15
2. Curva analítica obtida com ácido gálico através dos compostos fenólicos em 760 nm	16
3. Avaliação da inibição bacteriana pelo filme polimérico com óleo de copaíba	18
4. Avaliação da inibição fúngica	20
5. Aplicação do revestimento por imersão em morango	20

TABELAS	PÁG.
1. Formulações de filmes poliméricos biodegradáveis	9
2. Quantificação dos compostos	17
3. Atividade antibacteriana do filme polimérico	17
4. Atividade antifúngica do filme polimérico	19
5. Perda de massa dos frutos	21
6. Relação SS/AT	22
7. Acidez titulável	23
8. Sólidos Solúveis	24

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AT	Acidez titulável
BDA	Batata Dextrose Ágar
°Brix	Grau Brix (sólidos solúveis totais)
MH	Caldo Müller Hinton
°C	Graus Celsius
g	Grama
mL	Mililitro
NaOH	Hidróxido de sódio
pH	Potencial hidrogeniônico
SS	Sólidos solúveis
SS/AT	Relação entre sólidos solúveis e acidez titulável
µL	Microlitro

SUMÁRIO

RESUMO	6
INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	2
2.2 CARACTERIZAÇÃO DO FILME POLIMÉRICO	3
2.2.1 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	3
3. AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIFÚNGICA IN VITRO	
3.1 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA IN VITRO	4
3.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA IN VITRO	5
4. APLICAÇÃO DOS REVESTIMENTOS EM MORANGOS	6
4.1 IMERSÃO DOS MORANGOS E TRATAMENTO COM O REVESTIMENTO	6
4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS MORANGOS APÓS TRATAMENTO COM FILME	6
4.2.1 pH	7
4.2.3 PERDA DE MASSA	7
4.2.4 AÇÚCARES TOTAIS	7
4.2.5 ACIDEZ TITULÁVEL	7
5. ANÁLISE DE DADOS	8
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	8
6.1 DESENVOLVIMENTO DO FILME POLIMÉRICO	8
6.2 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	9
7. RESULTADOS DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIFÚNGICA IN VITRO	10
7.1 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA IN VITRO	10
7.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA IN VITRO	12
8. ENSAIO DE APLICAÇÃO DO REVESTIMENTO EM MORANGOS	13
8.1 IMERSÃO E TRATAMENTO DOS MORANGOS COM O REVESTIMENTO	14
8.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS MORANGOS APÓS TRATAMENTO COM FILME	14
8.2.1 PERDA DE MASSA DOS FRUTOS DURANTE O ARMAZENAMENTO	14
8.2.2 AÇÚCARES TOTAIS	15
8.2.3 ACIDEZ TITULÁVEL	16
8.2.4 SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS	17
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	18
REFERÊNCIAS	20

DESENVOLVIMENTO DE FILME COM PROPRIEDADE ANTIMICROBIANA E ANTIFÚNGICA PARA REVESTIMENTO DE FRUTAS

SILVA, Maria Luiza Garcia¹ (Campo Real)

CAMPOS, Laís de Almeida² (Campo Real)

SOUZA, Alisson John³ (Campo Real)

RESUMO

A alta perecibilidade dos morangos favorece o crescimento de microrganismos deterioradores, reduzindo sua qualidade e vida útil. Diante desse cenário, este estudo desenvolveu um filme biodegradável à base de goma xantana e alginato, incorporado com óleo essencial de copaíba para aplicação como revestimento protetor em morango. Foi possível obter filmes homogêneos, maleáveis e estruturalmente estáveis pelo método de *solvent casting*, com boa integração dos polímeros e adequada dispersão do óleo. A caracterização química revelou que o teor de compostos fenólicos aumentou proporcionalmente à quantidade de óleo adicionada, indicando maior potencial bioativo nas formulações mais concentradas. Nos ensaios microbiológicos, o filme apresentou atividade antibacteriana por microdiluição em caldo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, formando halos de inibição visíveis de, enquanto a atividade antifúngica por disco-difusão contra *Botrytis cinerea* demonstrou redução progressiva do crescimento das colônias, com destaque para a concentração intermediária, que apresentou o melhor desempenho inibitório. Na etapa de aplicação em morangos, os revestimentos foram eficazes em reduzir a perda de massa ao longo do armazenamento, preservando a acidez titulável e mantendo o equilíbrio entre açúcares e acidez (SS/AT), além de retardarem sinais visuais de deterioração. A formulação com maior teor de óleo promoveu os melhores resultados gerais, apresentando maior retenção de umidade e maior estabilidade química do fruto. Assim, conclui-se que o revestimento desenvolvido é uma alternativa sustentável e eficiente para prolongar a vida útil de morangos, reduzindo perdas pós-colheita e contribuindo para a conservação de frutos *in natura*.

Palavras-chave: Filme biodegradável; Óleo de copaíba; Conservação pós-colheita, Compostos naturais antimicrobianos

¹ Acadêmico do curso de Biomedicina, Centro Universitário Campo Real

² Biomédica, Docente do curso de Biomedicina do Centro Universitário Campo Real, Doutora em Ciências Farmacêuticas.

³ Engenheiro Agrônomo, Docente do curso de Agronomia do Centro Universitário Campo Real, Mestre em Agronomia.

ABSTRACT

The high perishability of strawberries favors the growth of spoilage microorganisms, reducing their quality and shelf life. In this context, this study developed a biodegradable film based on xanthan gum and alginate, incorporated with copaiba essential oil, for application as a protective coating on strawberries. Homogeneous, malleable, and structurally stable films were obtained using the solvent casting method, with good polymer integration and adequate oil dispersion. Chemical characterization revealed that the content of phenolic compounds increased proportionally to the amount of oil added, indicating greater bioactive potential in the more concentrated formulations. In microbiological assays, the film showed antibacterial activity by broth microdilution against *Staphylococcus aureus*, forming visible inhibition halos, while antifungal activity by disk diffusion against *Botrytis cinerea* demonstrated a progressive reduction in colony growth, with the intermediate concentration showing the best inhibitory performance. In the strawberry application stage, the coatings were effective in reducing mass loss during storage, preserving titratable acidity and maintaining the balance between sugars and acidity (SS/TA), in addition to delaying visual signs of deterioration. The formulation with the highest oil content promoted the best overall results, showing greater moisture retention and greater chemical stability of the fruit. Thus, it is concluded that the developed coating is a sustainable and efficient alternative to extend the shelf life of strawberries, reducing post-harvest losses and contributing to the preservation of fresh fruit.

Keywords: Biodegradable film; Copaiba oil; Post-harvest preservation; Natural antimicrobial compounds

INTRODUÇÃO

A conservação de frutas frescas, especialmente morangos, é dificultada pela alta perecibilidade e pela susceptibilidade à contaminação por microrganismos deterioradores (Bangar, 2021). Entre os principais agentes associados à deterioração, destacam-se fungos como *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.* e *Botrytis cinerea*, bem como bactérias dos gêneros *Chromobacter*, *Enterobacter* e *Erwinia*, os quais contribuem diretamente para o envelhecimento e redução da vida útil dos frutos (Chau, 2023).

Entre métodos promissores para retardar a deterioração estão os filmes com atividade antimicrobiana e antifúngica. Esses filmes, aplicados na superfície das frutas, funcionam como barreiras físicas e liberam substâncias bioativas aumentando a estabilidade e garantindo o crescimento de microrganismos, promovendo maior durabilidade e segurança dos alimentos (Zhang, 2022). Substâncias como polissacarídeos, proteínas e lipídios, são utilizados para formar filmes para revestimento de alimentos, frequentemente com plastificantes e surfactantes (Souza, 2021).

A incorporação de substâncias antimicrobianas naturais, como óleos essenciais, compostos bioativos de plantas e animais, é uma alternativa mais segura quando comparada aos conservantes sintéticos, preservando a qualidade e a segurança dos alimentos (Romanazzi, 2018). A contaminação microbiana dos alimentos causa insegurança alimentar, perdas econômicas e desperdício de alimentos, que é um problema ambiental. Embalagens eficazes são essenciais para proteger os alimentos e manter sua qualidade (Tan & Chunming, 2021).

Tradicionalmente, utiliza-se plástico, que raramente é reciclável e prejudica o meio ambiente. Em contraste, materiais de base biológica, que são biodegradáveis, renováveis e têm baixa pegada de carbono, ganham atenção como alternativas sustentáveis para embalagens de alimentos (Villadeigo, 2015). Esses materiais podem reduzir o uso de combustíveis fósseis e atender às preocupações ambientais e de segurança. A inovação na química de alimentos e biotecnologia possibilita a criação de embalagens antimicrobianas a partir de fontes renováveis, como

polissacarídeos, proteínas e lipídios, além da incorporação de nanopartículas e compostos antimicrobianos (Chunming, 2021).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar um filme biodegradável para revestimento de frutas *in natura*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DESENVOLVIMENTO DO FILME POLIMÉRICO

A goma xantana é um polissacarídeo produzido por bactérias do gênero *Xanthomonas*, caracterizado pela solubilidade em água e estabilidade frente a mudanças de pH e temperatura. Essas propriedades justificam seu uso como espessante e estabilizante em alimentos (García-Ochoa *et al.*, 2000). Estudos também demonstram seu potencial como revestimento comestível em diferentes frutas, com desempenho variável conforme a espécie e os aditivos empregados (Cortez-Vega, 2010).

Para a produção dos filmes, inicialmente proporções de goma xantana e o alginato de sódio foram otimizadas a fim de formar uma película de filme resistente, mas também maleável e que houvesse reticulação durante o processo de *solvent casting* (Tabela 1).

Tabela 1 - Formulações de filmes poliméricos biodegradáveis.

Formulação	Goma xantana	Alginato de sódio	Água	Óleo de copaíba	Glicerol
1	0,125 g	0,375 g	23,400 mL	12 µL	1,600 mL
2	0,125 g	0,375 g	25 mL	12 µL	1,600 mL
3	0,125 g	0,375 g	50 mL	12 µL	1,600 mL

Na formulação final otimizada, a goma xantana foi submetida à maceração em gral com pistilo, com o objetivo de reduzir a formação de aglomerados. Em seguida, o material foi peneirado e transferido para a balança, sendo pesada a quantidade de 0,125 g de goma xantana e 0,375 g de alginato.

A fase líquida da formulação foi preparada com a adição de 50 mL de água destilada em um béquer. Posteriormente, foram incorporados 1,600 µL de glicerol. A mistura foi submetida à agitação por 10 minutos, a fim de promover a homogeneização entre os componentes. Decorrido o tempo, foi adicionado o alginato, até completa solubilização. Em seguida, a goma xantana foi incorporada, e a solução foi transferida para uma chapa de aquecimento, onde permaneceu sob agitação manual com bastão de vidro até a total dissolução dos polímeros.

Após o processo de aquecimento, foram adicionados 12 µL de óleo essencial de copaíba, incorporados à formulação já solubilizada. As soluções resultantes foram vertidas em placas de Petri de vidro e levadas à estufa a 45 °C por um período de 24 horas, com as tampas parcialmente abertas, para secagem e formação dos filmes.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DO FILME POLIMÉRICO

2.2.1 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A quantificação dos compostos fenólicos presentes nos filmes biodegradáveis e no óleo essencial de copaíba foi realizada pelo método de Folin–Ciocalteu. Inicialmente, o óleo foi diluído em etanol na proporção 1:200. Para a reação, foram adicionados 200 µL da amostra, 1000 µL de reagente de Folin–Ciocalteu e 800 µL de solução de carbonato, sendo as reações realizadas em triplicata.

Essa reação se fundamenta em um processo de oxidação-redução, no qual o reagente de Folin–Ciocalteu interage com os compostos fenólicos, resultando na formação de um complexo azul. Esse complexo é mensurado por meio de espectrofotômetro a 760 nm (Blainski *et al.*, 2013).

Para a elaboração da curva analítica, utilizou-se o ácido gálico como marcador. O reagente de Folin–Ciocalteu foi diluído na proporção 1:10 (5 mL do reagente e 45 mL de água destilada) e a solução alcalina preparada com carbonato de sódio a 7,5% (m/v). Em cada ensaio, foram adicionados 500 µL do reagente de Folin diluído, 400 µL da solução de carbonato de sódio e 100 µL da solução padrão de ácido gálico em metanol. As concentrações de ácido gálico empregadas foram (20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL), preparadas em triplicata, e as amostras foram

incubadas em banho-maria a 45 °C por 15 minutos e, em seguida, submetidas à leitura em espectrofotômetro em 760 nm.

Para os filmes, foram preparadas quatro formulações com diferentes volumes de óleo: 12 µL (filme base), 48 µL, 96 µL e 192 µL. Cada filme foi cortado em quadrados de 1 cm², colocados em tubos Eppendorf e diluídos em água. A reação de Folin Ciocalteu foi realizada em triplicata, também usando os mesmos reagentes, e a quantificação foi realizada em 760 nm. O cálculo do teor seguiu a equação da reta obtida na curva analítica e a (Equação 1).

Equação 1: (quantidade de compostos fenólicos no óleo essencial puro)/(quantidade de óleo essencial na amostra do filme) x 100

Obs: O valor de 1 cm² foi considerado em relação à área do círculo $A=\pi R^2$ da placa de Petri onde o filme foi produzido 60 x 15 mm.

3. AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIFÚNGICA IN VITRO

3.1 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO*

Para a avaliação da atividade antimicrobiana utilizou-se o protocolo adaptado do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) de disco-difusão com adaptações para avaliação em bactérias (CLSI, 2024). Inicialmente, preparou-se o inóculo bacteriano de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, utilizando 5 mL de solução salina estéril com 5 colônias isoladas, obtendo-se uma suspensão homogênea após agitação em vortex. Em seguida, a suspensão foi transferida para cubeta de 2 mL, e a densidade óptica foi medida em espectrofotômetro, ajustando-se para uma absorbância de 0,08. Posteriormente, o inóculo foi diluído (15 mL da suspensão inicial em 9.985 µL de solução salina), obtendo-se a suspensão final utilizada para a semeadura. A diluição permite obter uma concentração de células compatível com a escala 0,5 de MacFarland.

O controle negativo foi composto apenas pelo meio de cultura (caldo Müller Hinton – MH), enquanto o controle positivo consistiu em placas semeadas exclusivamente com o inóculo bacteriano em caldo MH. Para o tratamento com óleo essencial de copaíba, as placas foram previamente semeadas com o inóculo e, em

seguida, receberam discos de papel estéreis impregnados com 15 µL do óleo. Já o tratamento com o filme biodegradável foi realizado utilizando fragmentos de aproximadamente 1cm² do filme, posicionados sobre o ágar previamente semeado com o inóculo. Todas as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, e a atividade antimicrobiana foi avaliada pela formação de halos de inibição ao redor dos discos de óleo e dos fragmentos de filme.

3.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO*

A atividade antifúngica dos filmes biodegradáveis foi avaliada frente ao fungo *Botrytis cinerea*, escolhido por ser um dos principais agentes causadores de podridão em morangos, fruta utilizada nos ensaios de aplicação deste estudo. Essa espécie é amplamente associada à deterioração pós-colheita, provocando perdas significativas na qualidade e na vida útil dos frutos, o que reforça sua relevância para testes de revestimentos antimicrobianos (Orozco-Mosqueda *et al.*, 2023).

Os filmes foram preparados em três volumes distintos (48µL, 96µL e 192) de óleo essencial de copaíba, adicionados em béqueres separados, homogeneizados e vertidos em placas de vidro para secagem em estufa, resultando nos revestimentos.

O controle positivo foi composto por placas contendo apenas o fungo cultivado sobre o meio de cultura (BDA), enquanto o controle negativo consistiu em placas acrescido de fungicida (Fungicida de Contato do Grupo Químico Dicarboximida) enquanto ainda se encontrava em temperatura elevada, garantindo a homogeneidade. Para cada concentração, foram utilizadas três placas, e fragmentos de aproximadamente 1cm² do fungo *Botrytis cinerea*, sendo depositados no centro das placas de Petri, junto aos revestimentos.

Todas as placas foram preparadas em um único dia e incubadas a 25 °C. As leituras foram realizadas em três momentos distintos: após 72 horas de incubação, após 48 horas adicionais, e após 48 horas subsequentes. A avaliação da atividade antifúngica foi realizada por meio da observação do crescimento fúngico, considerando a variação no tamanho das colônias ao longo do período de incubação, uma vez que o fungo apresentou redução progressiva do crescimento conforme os dias.

4. APLICAÇÃO DOS REVESTIMENTOS EM MORANGOS

4.1 IMERSÃO DOS MORANGOS E TRATAMENTO COM O REVESTIMENTO

Após a produção e caracterização dos filmes, os morangos foram selecionados e higienizados com água corrente, totalizando 5 kg de frutos. Para a aplicação dos revestimentos, a formulação descrita anteriormente foi preparada em quantidade nove vezes maior de volume, a fim de possibilitar a imersão dos frutos.

Três diferentes volumes de óleo essencial de copaíba foram utilizadas:

- Revestimento 1: 48 μ L
- Revestimento 2: 96 μ L
- Revestimento 3: 192 μ L

Em seguida, 16 morangos foram imersos em cada uma das formulações, garantindo cobertura uniforme. Além dos grupos tratados com os revestimentos, foram estabelecidos dois grupos controles:

- Controle negativo (testemunha): 16 morangos apenas lavados, sem aplicação de qualquer substância;
- Controle positivo: 16 morangos tratados com um fungicida comercial, utilizado como base comparativa.

O experimento foi constituído por cinco grupos (controle negativo, controle positivo, revestimento 1, revestimento 2 e revestimento 3), com 16 morangos em cada grupo. A avaliação dos frutos foi realizada ao longo de quatro dias, com análises a cada 2 dias, observando alterações visuais, presença de microrganismos e integridade da superfície dos morangos de acordo com o tempo de armazenamento.

4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS MORANGOS APÓS TRATAMENTO COM FILME

Além da avaliação visual, foram realizadas análises físico-químicas para caracterizar os efeitos dos diferentes revestimentos sobre os frutos durante o

armazenamento. As amostras foram analisadas quanto ao pH, solúveis totais, açúcares totais e acidez titulável.

4.2.1 pH

Para a determinação do pH, utilizou-se um medidor digital tipo caneta (pHmetro), devidamente calibrado antes de cada análise. Foram selecionados 16 morangos, os quais foram homogeneizados em um liquidificador, em seus respectivos dias de análise (dia 2, 4, 8), obtendo suco fresco das amostras. A leitura do pH foi realizada diretamente no extrato resultante, garantindo a padronização das condições de mensuração e a confiabilidade dos resultados (Leite *et al.*, 2015).

4.2.3 PERDA DE MASSA

A perda de massa foi determinada por meio de pesagens sucessivas realizadas em balança analítica, calculando-se a diferença entre o peso inicial e o peso obtido ao longo do período de armazenamento, sendo um parâmetro amplamente utilizado para avaliar a qualidade pós-colheita. Essa perda está diretamente associada à transpiração e à respiração dos frutos, resultando principalmente na redução do teor de água. Valores elevados indicam maior desidratação e conseqüente redução da vida útil, enquanto menores perdas refletem maior eficiência dos tratamentos na manutenção da integridade do produto.

4.2.4 AÇÚCARES TOTAIS

A determinação dos açúcares totais foi realizada de forma estimada, a partir dos valores obtidos para sólidos solúveis totais (°Brix), considerando que este parâmetro representa, em sua maior parte, a concentração de açúcares presentes no fruto (Leite *et al.*, 2015).

4.2.5 ACIDEZ TITULÁVEL

A acidez titulável foi determinada por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol/L, preparada a partir da dissolução de 4 g de NaOH em 1 L de água destilada. As amostras homogeneizadas foram tituladas até a viragem do indicador fenolftaleína.

4.2.6 SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS

A quantificação dos sólidos solúveis totais foi realizada com o auxílio de um refratômetro manual. Para isso, uma gota do suco obtido a partir das amostras foi depositada na superfície óptica do equipamento, sendo a leitura expressa em graus Brix (°Brix), que indica a concentração de substâncias solúveis presentes no fruto (Leite *et al.*, 2015).

5. ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram expressos a partir da média e desvio-padrão e foram submetidos a testes estatísticos de análise de variância ANOVA, e pós-teste Scott-Knott.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 DESENVOLVIMENTO DO FILME POLIMÉRICO

O filme polimérico otimizado apresentou capacidade de formação, sendo obtido com a proporção de 0,125 g de goma xantana, 0,375 g de alginato de sódio e 12µL de óleo essencial de copaíba. A película formada apresentou aspecto homogêneo, coloração levemente turva e com integridade estrutural, podendo ser removida facilmente da placa de Petri após o processo de *solvent casting*. Essas características indicam compatibilidade entre os biopolímeros utilizados e incorporação do óleo essencial à matriz, resultando em um filme flexível, contínuo e visualmente uniforme (Figura 1).

Figura 1- Formação do filme polimérico por *solvent casting*



(Fonte: Autora, 2025)

6.2 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Na determinação dos compostos fenólicos totais foi obtida uma equação da reta $Y = 0,0087x + 0,2183$, com r^2 de 0,9927. O valor está de acordo com os critérios de linearidade estabelecidos por diretrizes da ANVISA (2017).

Um parâmetro de grande relevância para a caracterização de matrizes vegetais e produtos derivados, pois esses metabólitos secundários estão diretamente relacionados à atividade antioxidante e antimicrobiana (Silva *et al.*, 2022). No presente estudo, a curva analítica foi construída utilizando ácido gálico como padrão. A confiabilidade da curva obtida é reforçada pela consistência dos resultados em triplicata, que apresentaram valores crescentes de absorvância em função da maior concentração de óleo de copaíba incorporado ao filme. Esses dados se refletiram diretamente nas concentrações estimadas de compostos fenólicos, evidenciando que o aumento do volume de óleo promove incremento proporcional de compostos fenólicos

Dessa forma, os dados obtidos confirmam que o método de Folin–Ciocalteu aplicado aos filmes desenvolvidos foi eficiente para mensuração dos fenólicos totais. A linearidade da curva, associada às concentrações crescentes em função da maior adição de óleo, indica que o revestimento não apenas incorpora compostos bioativos, mas também mantém sua atividade funcional (Figura 2) e (Tabela 2).

Figura 2 - Curva analítica obtida com ácido gálico através dos compostos fenólicos em 760 nm

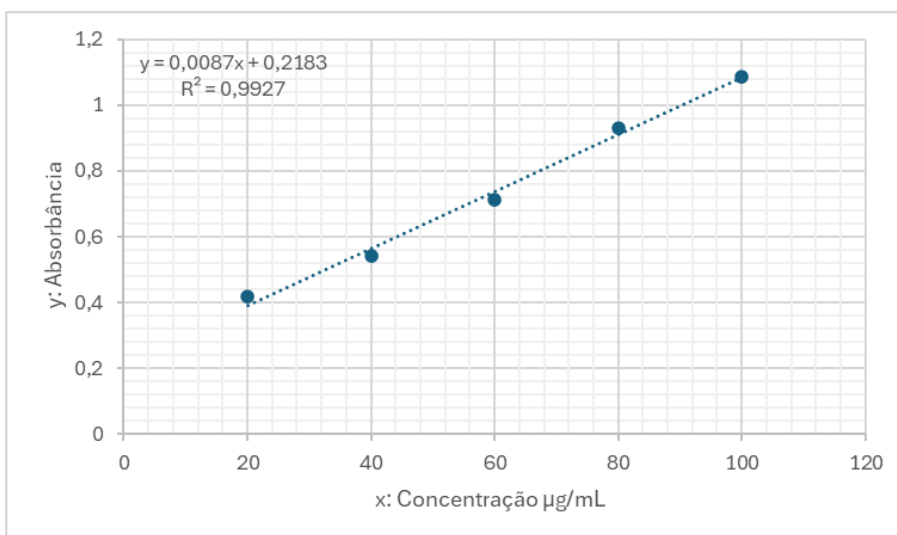


Tabela 2 - Quantificação dos compostos

Material	Absorbância Média	Concentração de compostos fenólicos (µg/mL)
Filme com 48 µL de óleo	0,293	1,717
Filme com 96 µL de óleo	0,596	8,666
Filme com 192 µL de óleo	1,106	20,406
Óleo com diluição de 1:200	1,27	24,177

7. RESULTADOS DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIFÚNGICA *IN VITRO*

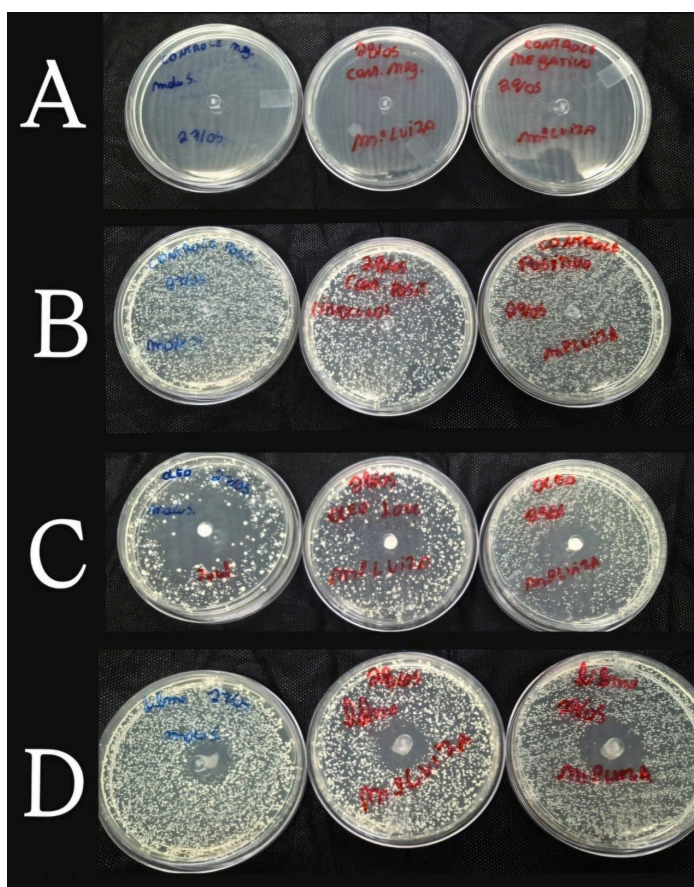
7.1 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO*

No ensaio antibacteriano, o óleo essencial puro apresentou halos de inibição superiores ao revestimento à base de alginato e goma xantana. Esse resultado deve-se ao fato de o óleo, na forma pura, estar totalmente disponível para difusão, enquanto, no filme, sua incorporação à matriz polimérica reduz a liberação imediata. O processo de preparo do revestimento, envolvendo aquecimentos e secagem, também pode ter ocasionado perdas de compostos voláteis. Ainda assim, o revestimento demonstrou efeito inibitório considerável, embora inferior ao óleo essencial puro (Tabela 3) (Figura 3).

Tabela 3 - Atividade antibacteriana do filme polimérico

Amostra	Halo de inibição(mm)
Filme polimérico	26,8±3,15
Óleo essencial	35,5±6,76

Figura 3 - Avaliação da inibição bacteriana pelo filme polimérico com óleo de copaíba



(Fonte: Autora, 2025)

A: Controle negativo; B: Controle positivo ; C: Disco-difusão com óleo de copaíba; D: Filme inibidor

7.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO*

No ensaio antifúngico contra *Botrytis cinerea*, os filmes incorporados com óleo de copaíba nas três concentrações (48 μ L, 96 μ L e 192 μ L) demonstraram capacidade de interferir no desenvolvimento do fungo. Em vez da formação de halos de inibição típicos, foi observado que o crescimento micelial foi gradualmente limitado, sendo registrado por meio da medição do diâmetro do micélio ao longo do tempo.

Os tratamentos apresentaram crescimento reduzido em comparação ao controle positivo, destacando-se a concentração intermediária (96 μ L), que

apresentou valores próximos ao fungicida comercial. Além da redução no crescimento, observou-se o ressecamento progressivo do micélio, principalmente na formulação de 96 μL , sugerindo ação direta do óleo de copaíba sobre a estrutura celular do fungo. Esse efeito pode estar relacionado à presença de compostos bioativos que comprometem a integridade da parede e da membrana fúngica, levando à perda de água celular e alterações morfológicas (Dias, 2019).

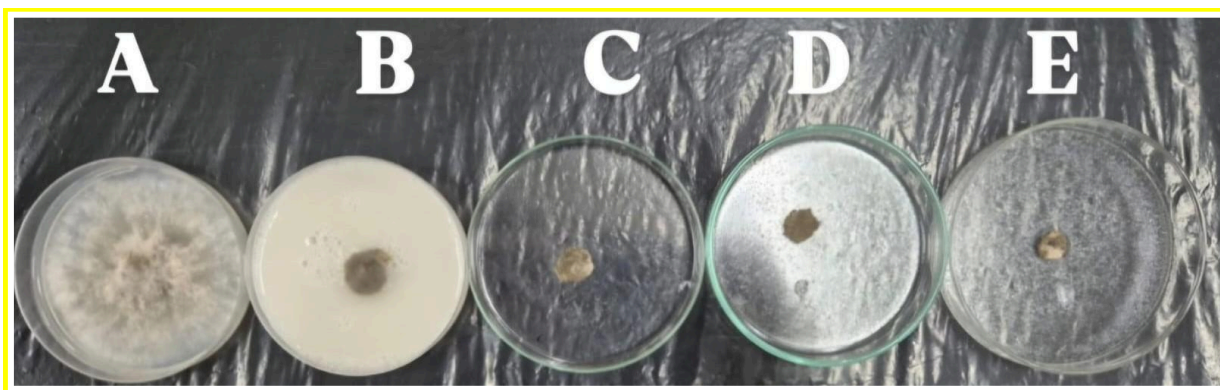
Resultados semelhantes foram descritos por Leite *et al.* (2015), que verificaram que revestimentos à base de goma xantana e compostos lipofílicos reduziram o crescimento de *Botrytis cinerea* em morangos, prolongando sua conservação, e por Chau *et al.* (2024), que relataram que filmes incorporados com extratos vegetais apresentaram efeito antimicrobiano associado a modificações estruturais nos microrganismos, incluindo sinais de ressecamento e inviabilidade celular. Esses achados corroboram que os revestimentos naturais são uma alternativa promissora aos fungicidas sintéticos, tanto pelo efeito inibitório quanto pelo impacto direto sobre a morfologia do patógeno (Tabela 4) e (Figura 4).

O teste Scott-Knott possibilitou identificar diferenças significativas entre as concentrações de óleo essencial de copaíba na inibição de *Botrytis cinerea*, permitindo determinar a formulação com melhor desempenho. As letras atribuídas às médias (a, b, c, d) representam os diferentes agrupamentos estatísticos formados, evidenciando que os tratamentos apresentaram respostas distintas quanto à eficiência dos revestimentos desenvolvidos.

Tabela 4 - Atividade antifúngica do filme polimérico

Amostra	Halo de inibição (mm)
Filme polimérico com 48 μl	18,9 \pm 0,54
Filme polimérico com 96 μl	18,2 \pm 1,42
Filme polimérico com 192 μl	17,43 \pm 1,14
Controle Positivo	-
Controle negativo (fungicida)	22 \pm 3,27

Figura 4- Avaliação da inibição fúngica



(Fonte: Autora, 2025)

A: Controle positivo; B: Controle negativo; C: Filme com 48 μ L ; D: Filme com 96 μ L;
E: Filme com 192 μ L

8. ENSAIO DE APLICAÇÃO DO REVESTIMENTO EM MORANGOS

8.1 IMERSÃO E TRATAMENTO DOS MORANGOS COM O REVESTIMENTO

No ensaio de revestimento, foi possível realizar a aplicação do revestimento nos morangos (Figura 5). As amostras permaneceram em imersão no revestimento por um curto período, sendo posteriormente retiradas e deixadas em condições ambientes até a secagem completa. O processo de secagem ocorreu de maneira uniforme, com duração aproximada de 3 a 4 horas.

Figura 5 - Aplicação do revestimento por imersão em morango



8.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS MORANGOS APÓS TRATAMENTO COM FILME

8.2.1 PERDA DE MASSA DOS FRUTOS DURANTE O ARMAZENAMENTO

A perda de massa apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ao longo do armazenamento. A testemunha apresentou os maiores valores, atingindo 47,13% no sexto dia, enquanto o revestimento na terceira concentração apresentou a menor perda (32,01%). Esses resultados evidenciam que os revestimentos atuaram como barreira, reduzindo a desidratação dos frutos. Achados semelhantes foram relatados por Leite *et al.* (2015), que observaram redução da perda de massa em morangos tratados com revestimentos de goma xantana, prolongando sua conservação. Segundo Romanazzi *et al.* (2018), a aplicação de filmes biodegradáveis cria uma barreira física e regula trocas gasosas e hídricas, o que pode explicar a menor perda de peso observada nos frutos revestidos neste estudo (Tabela 5).

Tabela 5- Perda de massa dos frutos

Tratamento	% de perda de massa dos frutos							
	Dias após aplicação							
	0		2		4		6	
Testemunha	0	a	19,36	a	39,87	a	47,13	a
Controle	0	a	12,53	b	18,39	b	21,76	c
Revestimento Copaíba - dose 1	0	a	8,52	b	23,35	b	39,98	a
Revestimento Copaíba - dose 2	0	a	9,51	b	18,44	b	43,91	a
Revestimento Copaíba - dose 3	0	a	5,62	b	20,78	b	32,01	b
CV(%)	0		39,25		34,75		15,59	

CV= Coeficiente de variação.

a: representa o(s) tratamento(s) com médias que não diferem entre si e pertencem ao grupo de maior valor naquela coluna.

b: indica tratamento(s) que não diferem entre si, porém apresentam valores intermediários, estatisticamente menores que o grupo "a" e maiores que grupos seguintes.

c: refere-se ao(s) tratamento(s) com as menores médias, diferindo significativamente dos grupos "a" e "b".

8.2.2 AÇÚCARES TOTAIS

A relação sólido solúveis/acidez (SS/AT) variou conforme o tratamento. O revestimento da segunda concentração apresentou o maior valor ao sexto dia, indicando maior percepção de doçura, enquanto o revestimento de terceira concentração manteve menor relação, preservando mais a acidez. Esses resultados demonstram que diferentes concentrações de revestimento podem modular de maneira distinta os parâmetros de maturação e sabor. Otoni *et al.* (2017) destacam que os revestimentos comestíveis são capazes de modificar a relação SS/AT em frutas, influenciando o equilíbrio sensorial entre doçura e acidez, o que está em consonância com os achados deste trabalho (Tabela 6).

Tabela 6- Relação SS/AT

Relação SS/AT (Sólidos Solúveis e Acidez Titulável)								
Tratamento	Dias após aplicação							
	0		2		4		6	
Testemunha	0,77	a	1,50	a	1,61	b	2,38	b
Controle	0,71	a	1,37	a	1,86	b	2,07	c
Revestimento Copaíba - dose 1	0,82	a	1,06	b	2,13	a	2,50	b
Revestimento Copaíba - dose 2	0,72	a	0,84	c	2,19	a	2,96	a
Revestimento Copaíba - dose 3	0,67	a	0,78	c	1,08	c	1,83	c
CV(%)	17,71		8,26		14,21		7,09	

SS/AT= Relação entre sólidos solúveis e acidez titulável

CV= Coeficiente de variação.

a: representa o(s) tratamento(s) com médias que não diferem entre si e pertencem ao grupo de maior valor naquela coluna.

b: indica tratamento(s) que não diferem entre si, porém apresentam valores intermediários, estatisticamente menores que o grupo "a" e maiores que grupos seguintes.

c: refere-se ao(s) tratamento(s) com as menores médias, diferindo significativamente dos grupos "a" e "b".

8.2.3 ACIDEZ TITULÁVEL

A acidez inicial foi semelhante entre os tratamentos, variando de 9,7 a 10,3 g de ácido cítrico. Com o passar dos dias, a testemunha apresentou maior queda. Enquanto o revestimento de terceira concentração preservou maior acidez. Esses

resultados indicam que o revestimento foi capaz de retardar a redução da acidez, o que se relaciona à manutenção de características de frutos menos maduros. Leite *et al.* (2015) também relataram maior preservação da acidez em morangos revestidos, reforçando o efeito protetor dos filmes. De acordo com Romanazzi *et al.* (2018), essa preservação está associada à menor atividade metabólica e ao atraso na oxidação de ácidos orgânicos em frutos submetidos a revestimentos comestíveis (Tabela 7).

Tabela 7- Acidez titulável

Acidez titulável (g ácido cítrico 100 mL ⁻¹)								
Tratamento	Dias após aplicação							
	0		2		4		6	
Testemunha	10,10	a	6,05	d	6,34	b	4,21	c
Controle	9,76	a	6,57	d	4,95	c	4,82	b
Revestimento Copaíba - dose 1	8,54	a	7,55	c	4,24	c	4,00	c
Revestimento Copaíba - dose 2	9,70	a	9,51	b	4,11	c	3,40	d
Revestimento Copaíba - dose 3	10,34	a	10,20	a	8,58	a	5,47	a
CV(%)	17,55		5,24		13,09		6,96	

CV= Coeficiente de variação.

a: representa o(s) tratamento(s) com médias que não diferem entre si e pertencem ao grupo de maior valor naquela coluna.

b: indica tratamento(s) que não diferem entre si, porém apresentam valores intermediários, estatisticamente menores que o grupo "a" e maiores que grupos seguintes.

c: refere-se ao(s) tratamento(s) com as menores médias, diferindo significativamente dos grupos "a" e "b".

8.2.4 SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS

A análise de sólidos solúveis demonstrou que, inicialmente, todos os tratamentos apresentaram valores semelhantes (7 °Brix). Aos dois dias, a testemunha e o fungicida alcançaram 9 °Brix, enquanto os revestimentos permaneceram em 8 °Brix. Ao final do armazenamento, não foram observadas diferenças significativas, com todos os grupos variando entre 9 e 10 °Brix. Esse comportamento sugere que os revestimentos retardaram temporariamente o aumento de sólidos solúveis, mas não impediram que os frutos alcançassem o mesmo patamar ao final do período. Villadiego *et al.* (2015) destacam que a aplicação de filmes comestíveis em maçãs reduziu a velocidade de amadurecimento

e modulou o acúmulo de açúcares, corroborando com os resultados aqui encontrados (Tabela 8).

Tabela 8 - Sólidos solúveis

Tratamento	Sólidos solúveis (°Brix)							
	Dias após aplicação							
	0		2		4		6	
Testemunha	7	a	9	a	10	a	10	a
Controle	7	a	9	a	9	a	10	a
Revestimento Copaíba - dose 1	7	a	8	b	9	a	10	a
Revestimento Copaíba - dose 2	7	a	8	b	9	a	10	a
Revestimento Copaíba - dose 3	7	a	8	b	9	a	10	a
CV(%)	10,91		7,21		6,59		6,19	

CV= Coeficiente de variação.

a: representa o(s) tratamento(s) com médias que não diferem entre si e pertencem ao grupo de maior valor naquela coluna.

b: indica tratamento(s) que não diferem entre si, porém apresentam valores intermediários, estatisticamente menores que o grupo "a" e maiores que grupos seguintes.

c: refere-se ao(s) tratamento(s) com as menores médias, diferindo significativamente dos grupos "a" e "b".

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho demonstraram que os filmes biodegradáveis incorporados com óleo essencial de copaíba exerceram efeito positivo na conservação pós-colheita dos morangos. A aplicação dos revestimentos reduziu significativamente a perda de massa dos frutos, destacando a formulação com maior concentração de óleo, que atuou de forma mais eficaz como barreira contra a desidratação. Quanto aos sólidos solúveis, não foram observadas diferenças relevantes entre os tratamentos, indicando que o processo de maturação não foi prejudicado pela aplicação do revestimento. Já em relação à acidez titulável, os frutos tratados com maiores concentrações de óleo apresentaram níveis mais elevados ao longo do tempo, retardando a degradação de ácidos orgânicos e contribuindo para melhor preservação da qualidade sensorial. A relação SS/AT também foi beneficiada pelos revestimentos, que mantiveram o equilíbrio entre

açúcares e acidez. Além disso, a caracterização do filme confirmou a presença de compostos fenólicos, reforçando o potencial antioxidante do óleo de copaíba incorporado à matriz polimérica.

Os ensaios microbiológicos complementam essas evidências, demonstrando que os revestimentos apresentaram capacidade de inibir microrganismos associados à deterioração pós-colheita. No teste antifúngico contra *Botrytis cinerea*, as formulações contendo óleo de copaíba limitaram o crescimento micelial, com desempenho particularmente expressivo da concentração intermediária que apresentou resultados próximos aos obtidos com o fungicida comercial. A redução progressiva do diâmetro do micélio e o ressecamento observado sugerem ação direta dos compostos bioativos do óleo sobre as estruturas celulares do fungo. Nos ensaios antibacterianos, embora o óleo essencial puro tenha apresentado maior halo de inibição devido à maior disponibilidade do composto, o filme polimérico demonstrou atividade antimicrobiana significativa, evidenciando que a matriz polimérica manteve a funcionalidade do óleo mesmo com liberação gradual.

Dessa forma, conclui-se que os revestimentos desenvolvidos são uma alternativa sustentável e eficiente para prolongar a vida útil dos frutos, reduzir perdas pós-colheita e auxiliar no controle de patógenos, apresentando potencial antifúngico e antibacteriano.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução RDC nº 166: Guia para validação de métodos analíticos*. Brasília: ANVISA, 2017.

BARBOZA, HTG .; *et al.* Edible films and coatings: concept, application, and use in post-harvested fruits and vegetables. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento* , v. 11, n. 9, p. e9911931418, 2022.

Basumatary IB, *et al.* Biopolymer-based nanocomposite films and coatings: recent advances in shelf-life improvement of fruits and vegetables. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2022.

BLAINSKI, A.; LOPES, G. C.; MELLO, J. C. P. Application and Analysis of the Folin–Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 2013.

CHAU, T. P. *et al.* Antimicrobial and biocompatibility nature of methanol extract of *Lannea coromandelica* bark and edible coating film preparation for fruit preservation. *Environmental Research*, v. 243, p. 117861.

CLSI – *CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. 12. ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024.

CORTEZ-VEGA, W. *Revestimento comestível à base de goma xantana em mamão minimamente processado*. 2010. 20f. Trabalho de conclusão de curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos (Especialização). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2010

de Oliveira, K. Á. R; *et al.* (2021). Current Advances on the Development and Application of Probiotic-Loaded Edible Films and Coatings for the Bioprotection of Fresh and Minimally Processed Fruit and Vegetables. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(9), 2207.

Dias, Jurema do Socorro Azevedo. *Potencial anti-fúngico dos óleos fixos de *Copaifera* sp., *Carapa guianensis* Aubl. e *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. sobre *Aspergillus nomius* Kurtzman, Horn & Hesseltine e *Aspergillus fumigatus* Fresenius isolados de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bompland e avaliação da toxicidade aguda em *Danio rerio**. 2019. 216 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Macapá, 2019. Orientador: José Carlos Tavares Carvalho.

Embrapa. *O Uso de Biopolímeros como Revestimentos Comestíveis Protetores Para Conservação de Frutas in natura e Minimamente Processadas*, 2010.

GARCIA, *et al.* Óleo de Copaíba e Suas Propriedades Medicinais: Revisão Bibliográfica. *Saúde e Pesquisa, [S. l.]*, v. 5, n. 1, 2012. LEITE, Bianca Sávia Ferreira; BORGES, Caroline Dellinghausen; CARVALHO, Patrícia Gonçalves Baptista; BOTREL, Neide. *Revestimento comestível à base de goma xantana*,

compostos lipofílicos e/ou cloreto de cálcio na conservação de morangos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 37, n. 4, p. 1027-1036, dez. 2015.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery and properties. *Biotechnology Advances*, New York, v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

JELIHOVSCHI, A.; OLIVEIRA, A. M.; MOURA, M. F. ScottKnott: um pacote R para análise de agrupamento de médias. *Revista Brasileira de Biometria*, v. 32, n. 4, p. 558–566, 2014.

LAIRA HELLWIG, *et al.* Revestimento da maçã com filmes de amido de milho, gelatina e fécula de mandioca, 2019.

Otoni CG, *et al.* Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables-A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2017;16(5):1151-1169.

Punia Bangar, Sneha *et al.* "Natural Antimicrobials as Additives for Edible Food Packaging Applications: A Review." *Foods (Basel, Switzerland)* vol. 10,10 2282. 26 Sep. 2021, doi:10.3390/foods10102282

ROMANAZZI, Gianfranco *et al.* Chitosan, a Biopolymer With Triple Action on Postharvest Decay of Fruit and Vegetables: Eliciting, Antimicrobial and Film-Forming Properties. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, p. 2745, 2018.

Zhang L, *et al.* Preparation and characterization of amphiphilic chitosan/iodine composite film as antimicrobial material. *Int J Biol Macromol.* 2022;222