

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO BIOTECNOLOGIA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE BIOPOLÍMEROS
DE QUITOSANA NA PRESENÇA DE NANOPARTÍCULAS DE PRODUTOS NATURAIS
PARA ENCAPSULAMENTO DE ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS

Anna Clara Marques Cintra

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
grau de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia - MG

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO BIOTECNOLOGIA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE BIOPOLÍMEROS
DE QUITOSANA NA PRESENÇA DE NANOPARTÍCULAS DE PRODUTOS NATURAIS
PARA ENCAPSULAMENTO DE ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS

Anna Clara Marques Cintra

Orientador: Prof^ª. Dra. Viviane Pilla

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
Grau de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia - MG

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO BIOTECNOLOGIA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE BIOPOLÍMEROS
DE QUITOSANA NA PRESENÇA DE NANOPARTÍCULAS DE PRODUTOS NATURAIS
PARA ENCAPSULAMENTO DE ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS

Anna Clara Marques Cintra

Orientador: Prof^ª. Dra. Viviane Pilla
Instituto de Física - UFU

Homologado pela coordenação do Curso
de Biotecnologia em __/__/__

Prof. Dra. Rute Magalhães Brito

Uberlândia - MG
Setembro – 2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO BIOTECNOLOGIA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE BIOPOLÍMEROS
DE QUITOSANA NA PRESENÇA DE NANOPARTÍCULAS DE PRODUTOS NATURAIS
PARA ENCAPSULAMENTO DE ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS

Anna Clara Marques Cintra

Aprovado pela Banca Examinadora em: __/__/____.

Nota:

Profa. Dra. Viviane Pilla

Uberlândia, 22 de setembro de 2025.

DEDICATÓRIA

Este Trabalho de Conclusão de Curso é dedicado à minha mãe, Diangues Ley Roberto, que, mesmo quando nem eu acreditava no meu potencial, acreditou em mim e fez com que eu chegasse a esse ponto da minha jornada acadêmica.

Ao meu pai Alexandre, ao meu avô Lourenço e aos meus irmãos Yasmin e Pedro, por estarem presentes e me apoiarem durante a graduação.

Por fim, aos meus amigos Lívia, Leonardo, Fernanda, Kayllane, Eduardo, João Pedro e ao meu namorado Caio, que se tornaram uma rede de apoio e me ajudaram nos meus momentos de dificuldade e participaram dos meus momentos de felicidade durante a graduação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Prof. Dra. Viviane Pilla pela oportunidade de realizar minhas pesquisas sob sua orientação, em seu laboratório e aos membros do GPOTM por terem me acolhido desde o início.

Agradeço à Prof. Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca por permitir o uso das instalações do Laboratório de Doenças Infecciosas da Medicina Veterinária da UFU e a Dra. Lara Reis Gomes, por me auxiliar durante esse período no andamento das atividades da pesquisa.

E por fim, agradeço à minha prima Talita Ferreira por ter me ajudado no início da minha jornada na UFU.

RESUMO

O presente trabalho apresenta o desenvolvimento e as caracterizações espectroscópicas e microbiológicas de uma cobertura alimentícia com potencial para prolongar o tempo de prateleira de alimentos *in natura* e minimamente processados. A formulação foi baseada em solução de quitosana, em corante natural de antocianina extraído da planta *Tradescantia pallida* purpurea e em nanopartículas de carbono (CDots) obtidas por síntese verde. O revestimento foi obtido a partir da extração do corante natural, da preparação das soluções de quitosana e de gelatina e da síntese das nanopartículas, seguido de caracterização por espectroscopia de absorbância, fluorescência e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A película obtida foi avaliada quanto às atividades antifúngicas e antibacterianas, bem como aos aspectos visuais e de durabilidade em alimentos. Os resultados demonstraram que o revestimento desenvolvido apresenta propriedades antioxidantes e antimicrobianas promissoras, contribuindo para a conservação e prolongamento da vida útil de alimentos minimamente processados. Dessa forma, o estudo reforça o potencial do uso de biopolímeros e pigmentos naturais como alternativa sustentável para a substituição de embalagens convencionais e o aumento do tempo de prateleira, contribuindo para tecnologias de conservação alimentícia.

Palavras-chave: Cobertura Alimentícia; Nanopartículas de Carbono; Caracterização Óptica; Propriedade Antioxidante; Propriedades Antimicrobianas; Biopolímero; Embalagem para Alimentos.

ABSTRACT

This study presents the development, spectroscopic and microbiological characterization of an edible coating with the potential to extend the shelf life of fresh and minimally processed foods. The formulation was based on a chitosan solution, a natural anthocyanin dye extracted from *Tradescantia pallida* purpurea, and carbon nanoparticles (CDots) obtained via green synthesis. The coating was produced by extracting the natural dye, preparing chitosan and gelatin solutions, and synthesizing nanoparticles, followed by characterization using absorbance and fluorescence spectroscopy and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). The resulting film was evaluated for antifungal and antibacterial activities, as well as visual appearance and durability when applied to food. The results demonstrated that the developed coating exhibits promising antioxidant and antimicrobial properties, contributing to the preservation and extension of the shelf life of minimally processed foods. Thus, this study reinforces the potential of biopolymers and natural pigments as sustainable alternatives to conventional packaging and for increasing shelf life, contributing to advancements in food preservation technologies.

Keywords: Edible Coating; Carbon Dots; Optical Characterization; Antioxidant Property; Antimicrobial Properties; Biopolymer; Food Packaging.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1. Alimentos Minimamente Processados	19
1.1.1. Classificação da estrutura das frutas e alterações nas atividades metabólicas pós-colheita.....	20
1.2. Produção de biopolímeros.....	22
1.2.1. Quitosana	22
1.2.2. Revestimentos Alimentícios	23
1.3. Antocianinas.....	25
1.4. Nanopartículas de carbono (CDots) via síntese verde	26
1.5. Técnicas Espectroscópicas	27
1.5.1. Absorbância	28
1.5.2. Fluorescência	29
1.5.3. Espectrometria de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	30
2. OBJETIVO	30
2.1. Objetivo Geral	30
2.2. Objetivo Específico	30
3. METODOLOGIA.....	31
3.1. Testes iniciais	31
3.1.1. Produção do Extrato de Morango	31
3.1.2. Produção do infectante	32
3.1.3. Produção das amostras.....	33
3.1.3.1. Extrato de morango homogeneizado com infectante.....	33
3.1.3.2. Infectante no centro da placa	34
3.1.3.3. Extrato de morango homogeneizado com quitosana e infectante no centro da placa	Erro! Indicador não definido.
3.1.3.3.1. Preparo da solução de quitosana 2% de ácido acético	Erro! Indicador não definido.
3.1.3.3.2. Produção das amostras	35
3.2. Produção dos biofilmes	36

3.2.1. Extração da antocianina.....	36
3.2.2. Produção das amostras de antocianina e quitosana	39
3.2.3. Adição de gelatina	39
3.2.4. Adição de ágar	39
3.2.5. Adição de ágar com gelatina	40
3.2.6. Caracterizações Espectroscópicas	41
3.2.7. Repetição gelatina.....	41
3.3. Determinação da composição do biofilme	42
3.3.1. Preparo da solução de quitosana 5% de ácido acético.....	42
3.3.2. Definição de metodologia.....	42
3.3.2.1. Imersão - Rodela	42
3.3.2.2. Imersão - Extrato.....	43
3.4. Efeito da antocianina.....	44
3.4.1. Imersão - Morango Inteiro.....	44
3.4.2. Alteração do pH da Antocianina	46
3.4.2.1. Antocianina extraída em solução aquosa (5% de ácido acético)	46
3.4.3. Imersão de pedaços de morango.....	46
3.4.4. Repetição – Imersão	46
3.4.4.1. Rodela	48
3.4.4.2. Inteiro.....	49
3.4.4.2.1. Horizontal.....	49
3.4.4.2.2. Vertical	49
3.5. Formulação final	50
3.6. Adição de nanopartículas de carbono (CDots).....	51
3.6.2. CDots de Quitosana e Quitosana dopada com prata.....	53
3.7 Caracterização Microbiológica	55
3.7.1 Efeito Antifúngico	55
3.7.1.1 Microcultivo e Identificação da cepa.....	56
3.7.1.2 Teste do efeito antifúngico.....	56
3.7.2 Teste do efeito bactericida.....	56
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58

4.1. Testes Iniciais	58
4.1.1. Extrato de morango homogeneizado com quitosana e infectante no centro da placa ..	60
4.2. Produção das amostras de antocianina e quitosana	65
4.3. Adição da gelatina e ágar	66
4.4. Testes Espectroscópicos	67
4.5 Testes de Imersão	70
4.4. Acidificação da Antocianina	73
4.5. Repetição do teste de morangos inteiros	74
4.6. Medidas Espectroscópicas.....	78
4.7. Adição de CDots de Abacate (sem e com dopagem com Nitrogênio).....	80
4.8 Adição de CDots de quitosana	82
4.9 Testes Microbiológicos	85
4.9.1 Identificação	85
4.9.1.1 Efeito Fungicida.....	85
4.9.2. Teste do efeito bactericida.....	86
5. CONCLUSÃO	86
6.REFERÊNCIAS.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura química da quitosana. Fonte: Spin-Neto, 2008.....	23
Figura 2 - Mudança de cor da antocianina em função da alteração da estrutura molecular decorrente da variação do pH. Fonte: Freitas, 2019.	31
Figura 3 - Níveis de energia absorvidos e emitidos. Adaptado da referência de Atvars e Martelli, 2002..	35
Figura 4 - A) Morangos selecionados para a produção do extrato antes do processo de corte; B) Morangos selecionados para a produção do extrato após o processo de corte. Fonte: Figura do autor.	38
Figura 5 - Pedacos com fungos retirados do morango. Fonte: Figura do autor.	33
Figura 6 - A) Retirada do pó de quitosana do recipiente original; B) Determinação da massa de quitosana; C) Solução de quitosana durante o processo de agitação. Fonte: Figura do autor	41
Figura 7 - A) <i>Trandescantia pallida purpurea</i> ; B) Folhas colhidas após o processo de higienização. Fonte: Figura do autor.....	37
Figura 8 - A) Folhas cortadas, desidratadas e congeladas; B) Processo de maceração das folhas.	37
Figura 9 - Esquema ilustrativo do corte circular de um filtro de papel para café e de sua inserção em uma seringa de vidro. Fonte: Figura do autor.	44
Figura 10- A) Processo de centrifugação da antocianina; B) Transferência da antocianina para o recipiente de armazenamento. Fonte: Figura do autor.....	38
Figura 11 - A) Compartimento com morangos imersos fechado; B) Compartimento com morangos imersos aberto. Fonte: Figura do autor.	45
Figura 12 - Esquema ilustrativo dos recipientes de armazenamento das amostras de repetição do teste de imersão. Fonte: Figura do autor.	54
Figura 13 - Amostra de morango utilizada no experimento de imersão “vertical”. Fonte: Figura do autor.	49

Figura 14 - Quadro de acompanhamento das alterações nas amostras 0, 1, 2, 3, 4 e 5 (Tabela 1), referentes aos testes com extratos de morangos homogeneizados com o infectante durante o período de 10 dias (02/02/2022 - 11/02/2022). Fonte: Figura do autor.	65
Figura 15 - Quadro de acompanhamento das alterações nas amostras 0, 1, 2, 3, 4 e 5 (Tabela 2), referentes ao teste de infectante no centro da placa durante o período de 10 dias (02/02/2022 - 11/02/2022). Fonte: Figura do autor.	59
Figura 16 - Quadro de acompanhamento das alterações nas amostras 0, 1, 2 e 3 (Tabela 2), referentes ao teste de infectante no centro da placa durante o período de 2 dias (07/02/2022 - 08/02/2022). Fonte: Figura do autor.	60
Figura 17– Amostras 0, 1 e 2 de extrato de morango com diferentes quantidades de infectante no centro da placa (Tabela 4) durante o período de 8 dias (07/03/2022 - 14/03/2022). Fonte: Figura do autor.	61
Figura 18– Amostras 10, 11 e 12 de extrato de morango homogeneizado com quitosana, variando a quantidade de infectante no centro da placa (Tabela 4), durante o período de 8 dias (07/03/2022 - 14/03/2022). Fonte: Figura do autor.	68
Figura 19 – Amostras 20, 21 e 22 de extrato de morango homogeneizado com quitosana, com variação da quantidade de infectante no centro da placa (Tabela 4), durante 8 dias (07/03/2022 - 14/03/2022). Fonte: Figura do autor.	69
Figura 20 - Amostras de extrato de morangos homogeneizadas com solução de quitosana, sem infectante, no centro da placa (Tabela 4), durante 8 dias (07/03/2022 - 14/03/2022). Fonte: Figura do autor.	69
Figura 21 - Quadro de acompanhamento das alterações nas amostras 1, 11 e 21 (Tabela 4), com a mesma concentração de infectante no centro da placa, em diferentes quantidades de extrato de morango homogeneizado com solução de quitosana. Monitoramento durante o período de 8 dias (07/03/2022). Fonte: Figura do autor.	70
Figura 22 - Quadro de acompanhamento das alterações nas amostras 2, 12 e 22 (Tabela 4), com a mesma concentração de infectante no centro da placa, em diferentes quantidades de extrato de morango	

homogeneizado com solução de quitosana. Monitoramento durante o período de 8 dias (07/03/2022 – 14/03/2022). Fonte: Figura do autor.	70
Figura 23 - A) Placa contendo quitosana homogeneizada com antocianina, apoiada sobre a mesa; B) Placa contendo quitosana homogeneizada com antocianina, inclinada. Fonte: Figura do autor.	71
Figura 24 - Imagem ampliada da placa inclinada com a amostra mostrando a separação entre a quitosana e a antocianina. Fonte: Figura do autor.	65
Figura 25 - Amostras de ágar: A) antes da secagem e B) após a secagem. Fonte: Figura do autor.....	73
Figura 26 - Filmes de A) gelatina, e B) gelatina com antocianina. Fonte: Figura do autor.	67
Figura 27 - Espectros de absorvância dos diferentes biofilmes obtidos (Tabela 6). Fonte: Figura do autor.	68
Figura 28 - Espectros de fluorescência excitados em 460 nm, dos biofilmes obtidos (Tabela 6). Fonte: Figura do autor.....	68
Figura 29 - Espectros de fluorescência excitados em 532 nm, dos biofilmes obtidos (Tabela 6). Fonte: Figura do autor.....	69
Figura 30 - Fotografias no 10º dia do teste para observar o crescimento fúngico A) amostra 2.1.1; B) amostra 2.1.2; C) amostra 2.1.7 (Tabela 17). Fonte: Figura do autor.....	70
Figura 31 - Amostras 2.2.1 e 2.2.7 utilizando a metodologia de imersão com extrato de morango (Tabela 17). Fonte: Figura do autor.	70
Figura 32 - Amostras de morangos cortados em diferentes concentrações de revestimento nos dias iniciais e finais. Fonte: Figura do autor.	77
Figura 33- Amostras de morangos inteiros em diferentes concentrações de revestimento nos dias inicial e final. Fonte: Figura do autor.	78
Figura 34- Amostras de morangos inteiros em diferentes concentrações de antocianina com gelatina nos dias inicial e final. Fonte: Figura do autor.	78
Figura 35 - A) Antocianina acidificada com gelatina no final do experimento; B) Antocianina com gelatina no final do experimento após 30 dias. Fonte: Figura do autor.	73

Figura 36 - Amostras de morango, antocianina e antocianina acidificada no primeiro e último dia de experimento. Fonte: Figura do autor.....	73
Figura 37 - Comparação das amostras de morangos inteiros em posição vertical nos dias 0 e 15. Fonte: Figura do autor.....	81
Figura 38 - Comparação das amostras de morangos inteiros em posição horizontal nos dias 0 e 15. Fonte: Figura do autor.....	81
Figura 39 - Destaque para a presença de fungos nas amostras de morango, antocianina e gelatina após 15 dias de experimento. Fonte: Figura do autor.....	82
Figura 40 - Destaque para a presença de fungos nas amostras de morango, antocianina e gelatina após 15 dias de experimento. Fonte: Figura do autor.....	82
Figura 41- Destaque das amostras de morango inteiro na vertical revestidas com: quitosana, antocianina acidificada, revestimentos com antocianina, e com antocianina acidificada, após 15 dias de experimento. Fonte: Figura do autor.....	76
Figura 42 - Destaque das amostras de morango inteiro na horizontal, revestidas com: quitosana, antocianina acidificada, antocianina e antocianina acidificada, após 15 dias de experimento. Fonte: Figura do autor.....	83
Figura 43 - Água derivada do processo de transpiração da fruta. Fonte: Figura do autor.	77
Figura 44 - Espectro de absorbância dos revestimentos da Tabela 15. Fonte: Figura do autor.	78
Figura 45 - Espectros de FTIR das amostras de revestimentos da Tabela 15. Fonte: Figura do autor.	79
Figura 46 - Espectro de fluorescência dos revestimentos (excitados em 532 nm) da Tabela 15. Fonte: Figura do autor.	87
Figura 47 - Comparação das amostras de antocianina e de antocianina acidificada com 200 µL de CDots de abacate, dopadas e não dopadas, no período de 19 dias de acompanhamento. Fonte: Figura do autor.	88
Figura 48 - Comparação das amostras de revestimento de quitosana e antocianina/antocianina acidificada com diferentes concentrações de CDots de abacate no período de 19 dias de acompanhamento. Fonte: Figura do autor.....	89

Figura 49 - Comparação das amostras de 100% de antocianina e de antocianina acidificada, com diferentes concentrações de CDots de quitosana dopada e não dopada, no período de 15 dias de acompanhamento. Fonte: Figura do autor.....	90
Figura 50 - Comparação das amostras de revestimentos de quitosana e antocianina/antocianina acidificada, com diferentes concentrações de CDots de quitosana dopada e não dopada, no período de 15 dias de acompanhamento. Fonte: Figura do autor.....	91
Figura 51 - Surgimento de fungos nas amostras de antocianina com diferentes concentrações de CDots no 7º dia de experimento. Fonte: Figura do autor.	84
Figura 52 - Surgimento de fungos nas amostras de antocianina com diferentes concentrações de CDots no 11º dia de experimento. Fonte: Figura do autor.....	84
Figura 53 - Surgimento de fungos nas amostras de antocianina com diferentes concentrações de CDots no 15º dia de experimento. Fonte: Figura do autor.....	84
Figura 54 - Cepa isolada e identificada como <i>Penicillium</i> spp. Fonte: Figura do autor.	85
Figura 55 - Amostras no décimo primeiro dia de teste: A) ágar batata; B) ágar batata + revestimento normal; C) ágar batata + revestimento acidificado. Fonte: Figura do autor.	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das amostras “Extrato e Infectante Homogeneizados”.....	34
Tabela 2 - Composição das amostras “Infectante no centro da placa”.....	34
Tabela 3 - Quantidade de material utilizada para a produção de 100 mL de solução de quitosana a 2% em ácido acético.	41
Tabela 4 - Composição das amostras “Infectante no centro da placa coberta com Extrato de Morango homogeneizado com Solução de Quitosana 2% de ácido acético”.....	36
Tabela 5 - Composição das amostras com variação da concentração de gelatina.	45
Tabela 6 - Identificação e composição das amostras com variação da concentração de ágar.	46
Tabela 7 - Identificação e composição das amostras variando a concentração de gelatina com ágar.	40
Tabela 8 - Identificação e composição das amostras de repetição do teste de variação da concentração de gelatina.	41
Tabela 9 - Identificação e composição das amostras preparadas para o teste de imersão de pedaços de morango.....	43
Tabela 10 - Composição das amostras preparadas para o teste de imersão do extrato de morango.	44
Tabela 11 - Identificação e composição das amostras produzidas para o teste de imersão do morango inteiro.....	45
Tabela 12 - Composição das amostras preparadas para o teste de imersão dos pedaços de morango.	47
Tabela 13 - Composição das amostras produzidas para o teste de imersão dos pedaços de morango.	48

Tabela 14 - Composição definida do revestimento no volume de 10 mL.	50
Tabela 15 - Amostras produzidas para a realização das caracterizações espectroscópicas.	57
Tabela 16 - Amostras sem CDots	52
Tabela 17 - Amostras com CDots dopados com nitrogênio.	52
Tabela 18 - Componentes das amostras com CDots dopados com nitrogênio	60
Tabela 19 - Composição das amostras com CDots Q100.....	54
Tabela 20 - Composição das amostras sem CDots.	54
Tabela 21 - Composição dos CDots P75.	55
Tabela 22 - Variação da massa (g) da gelatina em função do volume das amostras.	76
Tabela 23 - Dados do coeficiente de absorção e da espessura efetiva.....	87
Tabela 24 - Valores do comprimento de onda médio de emissão das amostras de revestimento.	88
Tabela 25 - Média dos halos de inibição	86

1. INTRODUÇÃO

Neste trabalho foram desenvolvidos e caracterizados biofilmes de quitosana dopados com corantes naturais e nanopartículas de carbono visando aplicações em revestimento de alimentos para o possível aumento do seu tempo de durabilidade e/ou embalagens funcionais. Nessa introdução serão abordados os principais tópicos sobre alimentos minimamente processados, classificação da estrutura das frutas e alterações nas atividades metabólicas pós-colheita, produção de biopolímeros, quitosana, revestimentos alimentícios, antocianina, nanopartículas de carbono (CDots) e técnicas experimentais usadas nas caracterizações dos revestimentos propostos nesse trabalho.

1.1. Alimentos Minimamente Processados

Atualmente, observa-se um aumento significativo na demanda por alimentos saudáveis, impulsionado tanto pela maior conscientização dos consumidores quanto pela implementação de políticas públicas que incentivam práticas alimentares mais adequadas. No Brasil, o direito à alimentação saudável é garantido pela Constituição Federal de 1988 e vem sendo reforçado por ações concretas, como o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), regulamentado pela Lei nº 11.947/2009 e pela Resolução CD/FNDE nº 06/2020, promovendo o acesso a refeições nutricionalmente equilibradas nas escolas de educação básica públicas, priorizando o uso de alimentos *in natura* ou minimamente processados, contribuindo para o desenvolvimento biopsicossocial dos estudantes.

Segundo o Guia Alimentar para a População Brasileira 2ª Edição, publicado em 2014 pelo Ministério da Saúde, os alimentos são classificados como: *in natura*, minimamente processados, processados e ultraprocessados. Alimentos *in natura* são aqueles que, após serem retirados de sua fonte natural, seja animal ou vegetal, não sofrem alterações em sua composição original antes de

serem consumidos. A mudança de classificação do alimento *in natura* para minimamente processado ocorre quando o alimento sofre alterações por meio de processos de limpeza, remoção de partes não comestíveis ou indesejáveis, fracionamento, moagem, secagem, fermentação, pasteurização, refrigeração, congelamento, entre outros processos que não envolvam agregação de substâncias à composição original.

1.1.1. Classificação da estrutura das frutas e alterações nas atividades metabólicas pós-colheita

As frutas constituem boa parte do grupo de alimentos *in natura* e minimamente processados, sendo fontes de energia, vitaminas e minerais na dieta. Apesar de, popularmente, as frutas serem definidas como frutos comestíveis e adocicados, a sua classificação está relacionada ao processo de formação na planta de origem, sendo divididas em frutos verdadeiros (carnosos ou secos), pseudofrutos (sicônios, simples, múltiplos e compostos) e frutos partenocáricos. O fruto verdadeiro, típico da classe das angiospermas, origina-se da transformação do ovário amadurecido e fecundado. Com isso, pode manter estruturas florais modificadas ao longo do seu desenvolvimento. Conhecido como pericarpo, é dividido em três partes: epicarpo (parte externa, casca), mesocarpo (parte média, normalmente comestível) e endocarpo (parte interna que reveste as sementes) (Raven *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2005).

Segundo a Coleção Plantar “Morango” - A Cultura do Morango, 2ª Edição, publicada em 2011 pela EMBRAPA, o morango é classificado como um pseudofruto composto, cuja parte carnosa se origina do receptáculo floral. Na superfície externa, encontram-se os verdadeiros frutos, chamados aquênios, cada um proveniente diretamente de um ovário da flor. A principal espécie de morango cultivada comercialmente é um híbrido entre duas espécies americanas, denominado

Fragaria x ananassa Duch. De acordo com o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), o Brasil ocupa a oitava posição no ranking mundial de produção, com Minas Gerais como o principal estado produtor, totalizando 3.068 hectares de área cultivada.

Após serem colhidas, frutas e hortaliças continuam apresentando atividade metabólica, o que as torna suscetíveis a alterações fisiológicas e físico-químicas capazes de comprometer sua qualidade durante o período de armazenamento até o consumo. Entre os processos metabólicos envolvidos, a respiração (troca gasosa) e a transpiração (perda de água) são fatores determinantes da durabilidade pós-colheita. A taxa de respiração, por sua vez, determina se a fruta é climatérica ou não. Frutas climatéricas apresentam uma redução progressiva da respiração durante o desenvolvimento, mas, após a colheita, essa taxa pode atingir um pico, acompanhado de aumento na produção de etileno (Centilliano, 2011). Já nas frutas não climatéricas, a taxa respiratória diminui continuamente, com menor produção de etileno em comparação às climatéricas (Centilliano, 2011).

Devido às alterações realizadas na estrutura de frutas e hortaliças minimamente processadas, fatores como a perda da proteção natural e o início de processos metabólicos, como a quebra de açúcares e o aumento da taxa de respiração, causam a diminuição do seu tempo de prateleira e favorecem o crescimento microbiano, principalmente de fungos e bactérias decompositoras. Além disso, as boas práticas de fabricação e modo de armazenamento também favorecem a proliferação de microrganismos patogênicos, principalmente por meio de contaminação cruzada (Ceppa *et al.*, 2001). Outra problemática observada na comercialização de alimentos minimamente processados é o uso de embalagens plásticas, geralmente não reutilizáveis e frequentemente descartadas de forma incorreta. Como substituto do plástico convencional, a inserção de biopolímeros tem sido cada vez mais visada pelo mercado (Brito *et al.*, 2011).

1.2. Produção de biopolímeros

Os biopolímeros são materiais obtidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis, como milho, cana-de-açúcar, celulose e quitina. O crescente interesse em sua aplicação comercial, especialmente como substituto de polímeros derivados de fontes fósseis, está associado a benefícios socioeconômicos e ambientais, como a biodegradabilidade, o menor impacto ambiental e a viabilidade de produção (Brito *et al.*, 2011). No entanto, esses materiais ainda apresentam limitações que podem comprometer seu desempenho, como baixa resistência térmica, propriedades mecânicas insuficientes e dificuldade de processamento. Para superar esses desafios, diferentes estratégias vêm sendo estudadas, como a adição de compósitos à formulação original, com o objetivo de aprimorar suas propriedades físico-químicas e ampliar seu uso em aplicações industriais (Fechine, 2010). Dentre as matérias-primas renováveis usadas na produção de biopolímeros, a quitosana, subproduto da quitina, tem recebido grande atenção no estudo e desenvolvimento de biomateriais, com uma ampla gama de aplicações que abrange desde a área da saúde até a indústria alimentícia.

1.2.1. Quitosana

A quitina é um polissacarídeo linear que, na natureza, pode ser encontrada no exoesqueleto de crustáceos, em algas e na parede celular de algumas espécies de fungos; a sua desacetilação é responsável pela formação da quitosana (Ghormade *et al.*, 2017). O polímero produzido a partir da quitosana apresenta baixo custo de produção e propriedades importantes como a atoxidade, biodegradação, biocompatibilidade, efeito antifúngico e antibacteriano (Goosen, 1996).

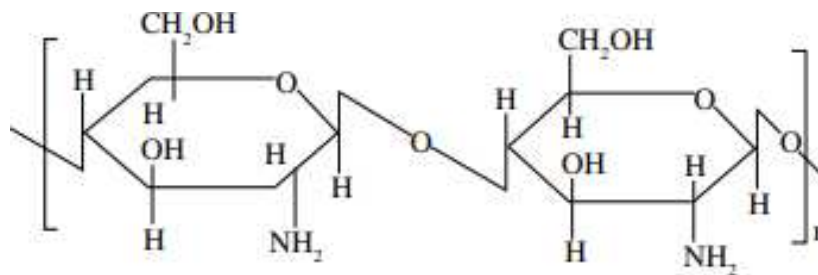


Figura 1- Estrutura química da quitosana. Fonte: Spin-Neto, 2008.

Uma das principais características da manipulação da quitosana é o seu preparo em meio aquoso ácido, devido à presença de -NH_2 protonado em sua estrutura (Figura 1). Quando 50% dos seus grupos amino são protonados, a quitosana torna-se solúvel. Outros fatores que influenciam a solubilidade da quitosana são o peso molecular, o grau de acetilação, o potencial de hidrogênio (pH) e a temperatura (Domard, 1987; Rinaud *et al.*, 1998). A propriedade antimicrobiana dos filmes de quitosana está relacionada à interação do polímero com a parede celular dos microrganismos, afetando a sua proliferação (Goy *et al.*, 2009). A atividade antifúngica está relacionada à natureza policatiónica da quitosana, que, ao interagir com a parede celular fúngica, leva ao vazamento de eletrólitos intracelulares, alterando a atividade da síntese proteica (Limon *et al.*, 2020).

1.2.2. Revestimentos Alimentícios

Os revestimentos alimentícios são classificados em duas categorias principais: hidrofóbicas e hidrofílicas; aqueles produzidos a partir da quitosana se enquadram na segunda (Assis *et al.*, 2008; Zaritzky, 2011). Os materiais que são base para os revestimentos hidrofílicos são compostos por grupos amino, hidroxila, carboxila (OH , COO^- , NH_3^+), e apresentam ligações covalentes polares na sua estrutura, levando as cadeias carbônicas a apresentarem alguns sítios carregados positivamente e outros negativamente. Essas características favorecem o acúmulo e

rearranjo de moléculas polares, como a água, ao redor desses sítios (Assis e Britto, 2014). A aplicação de coberturas hidrofílicas é recomendada para superfícies fatiadas e para frutas com aspecto brilhante. Dentre as vantagens de seu uso, destaca-se a afinidade com a água, que preserva o aspecto hidratado desejado. Dentre os métodos de aplicação, a imersão tem se mostrado eficiente. No entanto, é essencial que a cobertura utilizada apresente flexibilidade mínima, de modo a acompanhar as alterações fisiológicas naturais das frutas durante o armazenamento, sem causar danos à sua superfície. Para isso, a adição de agentes plastificantes é indispensável, pois melhora as propriedades mecânicas do material. Ainda assim, o processo de plastificação pode comprometer algumas características desejáveis, pois tende a reduzir as forças intermoleculares, aumentar o espaçamento entre as cadeias poliméricas e facilitar a difusão de gases (Banker, 1966; Scramin *et al.*, 2011). Com isso, a entrada de água no interior do filme é facilitada, promovendo a solvatação dos sítios polares. Esse processo pode resultar na redução das propriedades de barreira e da aderência do material, comprometendo a eficácia do material na inibição da proliferação de fungos (Assis e Silva, 2003; Calzato *et al.*, 2011).

O revestimento em frutas inteiras envolve o exocarpo, também conhecido como epicarpo, atuando como uma barreira semipermeável, por preencher de forma parcial os estômatos e lenticelas presentes nessa região, reduzindo a taxa de transpiração e respiração do fruto (Assis; Brito, 2017), isso leva a um processo de desaceleração do metabolismo e proteção de ganho ou perda de água, potencializando a proteção e tempo de conservação.

1.3. Antocianinas

As antocianinas são corantes naturais solúveis em água, sendo um dos principais subgrupos da classe dos flavonoides presentes em estruturas vegetais, como folhas, flores e frutos (Vargas *et al.*, 2010). Um dos aspectos mais notáveis está relacionado à sua capacidade de atuar como indicador natural de potencial de hidrogênio (pH), ao mudar de coloração, apresentando tons avermelhados em ambientes ácidos e tons azulados em condições alcalinas (Cortez *et al.*, 2016).

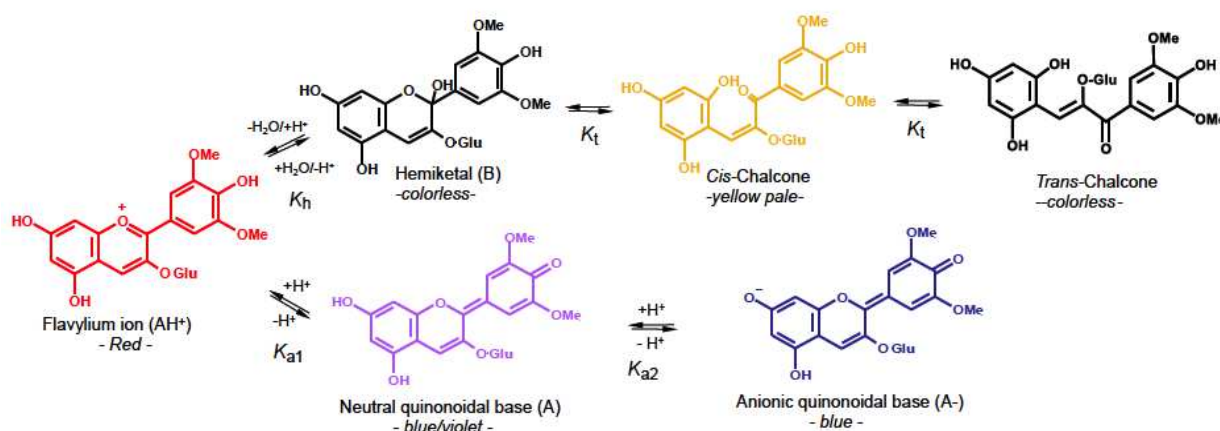


Figura 2 - Mudança de cor da antocianina em função da alteração da estrutura molecular decorrente da variação do pH. Fonte: Freitas, 2019.

Nos alimentos, pode atuar como impedimento para a auto-oxidação, isso ocorre, pois as antocianinas apresentam alto poder antioxidante quando comparadas aos antioxidantes clássicos como butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT) e a vitamina E (tocoferol) (Narayan *et al.*, 1999). A eficácia antioxidante da antocianina decorre principalmente da capacidade de doar elétrons a radicais livres, neutralizando-os por meio de reações de transferência de elétrons. A estrutura química dessas moléculas influencia diretamente a atividade, sendo que a presença de grupos hidroxila no anel B e do cátion oxônio no anel C favorece a eliminação de radicais livres,

enquanto a metoxilação tende a reduzir sua potência antioxidante (Kongpichitchoke *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2005). Dentre as alterações que podem ocorrer na sua estrutura molecular, a hidroxilação e a metilação no anel B têm efeitos diretos sobre a cor e a estabilidade da molécula.

1.4. Nanopartículas de carbono (CDots) via síntese verde

A expansão da nanotecnologia e a síntese de nanomateriais, com aplicações em diversas áreas, têm grande importância para o avanço tecnológico do século XXI. As matérias-primas para o desenvolvimento dessas estruturas podem ter origem orgânica ou inorgânica e apresentam funcionalidades não encontradas na escala macro (Chau *et al.*, 2007). A aplicação de nanopartículas em embalagens e revestimentos na indústria de alimentos está relacionada ao aumento do prazo de validade (“*shelf life*”) desses produtos, à preservação de alimentos frescos e à capacidade de redução de resíduos (Sorrentino *et al.*, 2007).

A característica antimicrobiana de algumas nanopartículas pode ser utilizada no encapsulamento de alimentos, promovendo a qualidade e a segurança alimentares dos consumidores, prevenindo o crescimento superficial de microrganismos presentes desde os processos iniciais, como a colheita, ou por contaminações cruzadas decorrentes da falta de boas práticas na manipulação, reduzindo a quantidade de conservantes e agrotóxicos incorporados na cadeia prévia de distribuição (Cha e Chinnan, 2004; Lacoste *et al.*, 2005). Entre essas nanopartículas, destacam-se as metálicas, cujas características antimicrobianas estão relacionadas ao seu formato e tamanho, e cujas características de caracterização estão diretamente associadas ao processo de síntese (Feng *et al.*, 2000).

De forma geral, as nanopartículas metálicas produzidas a partir do processo de *top-down*, em que as macroestruturas do Ag, Cu, Zn e Au, dentre outros metais passam por um processo de “quebra” que pode ser físico, por meio de atrito e moagem, ou químico, por meio de reagentes que levam a redução ou precipitação. Por outro lado, a síntese convencional de nanopartículas metálicas envolve, em sua maioria, o uso de solventes tóxicos e gera alto nível de poluição devido à falta de tratamento adequado no descarte do material utilizado. Além disso, quando consumidas sem associação a um agente, principalmente de caráter fenólico, podem representar risco à saúde por não serem completamente metabolizadas nem excretadas. Com isso, o acúmulo em determinadas regiões do corpo pode provocar apoptose e alterações no metabolismo do indivíduo (Santos, 2014).

Dentre as alternativas para a diminuição das problemáticas, a síntese verde empregada nesse trabalho, derivada da química verde, substitui reagentes convencionais por reagentes orgânicos de baixa toxicidade, como o ácido gálico, e está relacionada à síntese a partir de produtos naturais, utilizando quitosana, corantes, entre outras matérias-primas (Alves, 2015). Essa vertente possibilita o desenvolvimento de nanopartículas a partir de fontes renováveis, que geram menor agressão ao meio ambiente durante sua fabricação e maior biocompatibilidade, ampliando sua área de aplicação (Kombaiah *et al.*, 2018).

1.5. Técnicas Espectroscópicas

As técnicas espectroscópicas são utilizadas para a análise de propriedades e interações entre materiais e substâncias. Esses métodos envolvem a análise da interação do analito com diferentes regiões do espectro eletromagnético, como o ultravioleta, o visível e o infravermelho.

As caracterizações realizadas por meio desses métodos permitem a identificação de compostos, a análise de estruturas e o estudo de propriedades físicas, de qualidade e de segurança.

1.5.1. Absorbância

A análise de absorbância (A) baseia-se na Lei de Lambert-Beer, ou seja, na capacidade de uma substância de absorver radiação eletromagnética em uma determinada faixa de comprimentos de onda. Na prática, quando o feixe de luz passa pela amostra, tem sua intensidade reduzida, com isso, calcula-se a relação entre a luz incidente (I_0) e a luz emergente (I) (Skoog, 2014). Essa atenuação sofrida pelo feixe de radiação incidente é denominada transmitância (T), e a absorbância (A) se relaciona com a transmitância na forma logarítmica, expressa na forma (Skoog, 2014):

$$A = -\log T = \log (I_0/I) \quad (1)$$

O cálculo do coeficiente de absorção (α), considerando uma amostra de espessura L, é obtido na forma (Lima, 2018; Dias *et al.*, 2009):

$$\alpha = \frac{A}{0,4343 L} \quad (2)$$

O cálculo da espessura efetiva da amostra é determinado utilizando a expressão (Dias *et al.*, 2009):

$$L_{eff} = (1 - e^{-\alpha L})/\alpha \quad (3)$$

Nesse trabalho, as medidas de absorbância foram realizadas com o equipamento Shimadzu UV-2600i, do Grupo de Propriedades Ópticas e Térmicas de Materiais (GPOTM), do Instituto de Física da UFU.

1.5.2. Fluorescência

A alteração dos estados energéticos das moléculas, provocada pela excitação por feixes de luz, permite que a análise da fluorescência seja realizada. O espectro de fluorescência pode ser obtido por meio de dois tipos de medidas: a fluorescência em estado estacionário e a fluorescência resolvida no tempo. A estacionária está relacionada à iluminação e à observação constante do estado de excitação da molécula, e a resolvida no tempo é observada após um pulso de luz, normalmente mais curto que o decaimento da amostra, a intensidade dessa queda é analisada por meio de um sistema de alta velocidade (Lopes , 2015).

Nesse trabalho, foram realizadas medidas de fluorescência no estado estacionário, nas quais se analisa a luz emitida pelos átomos quando seus elétrons retornam de níveis de energia mais elevados para níveis de energia menores, próximos ou no estado fundamental (Figura 3) (Urone e Hinrichs, 2016; Valeur e Berberan-Santos, 2012).

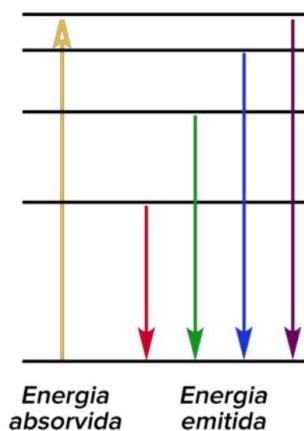


Figura 3 - Níveis de energia absorvidos e emitidos. Adaptado da referência de Atvars e Martelli, 2002.

Neste trabalho, o espectro de fluorescência foi medido usando laser de diodo (460 nm ou 532 nm) incidente na cubeta óptica de 4 faces polidas de quartzo e coletado a 90 graus por uma

fibra óptica acoplada ao espectrômetro portátil (Ocean Optics USB2000+). O cálculo do comprimento de onda médio de emissão foi determinado utilizando a expressão (Dias *et al.*, 2011):

$$\langle \lambda_{em} \rangle = \frac{\int \lambda f(\lambda) d\lambda}{\int f(\lambda) d\lambda} \quad (4)$$

1.5.3. Espectrometria de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR fornece evidências da presença de grupos funcionais na amostra investigada, utilizando como princípio a absorção da luz na região infravermelha do espectro eletromagnético que promove a vibração molecular; a partir disso, é possível identificar padrões que são comparados com perfis avaliados e catalogados (Evans-Nguien, 2019).

Neste trabalho, o equipamento de FTIR Perkin-Elmer Frontier foi utilizado na Rede de Laboratórios Multiusuário (RELAM/PROPP) da UFU, com resolução de 2 cm⁻¹.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

Desenvolvimento e caracterização óptica de um revestimento alimentício gelatinoso à base de quitosana, antocianina e nanopartículas. Os revestimentos tiveram suas propriedades antifúngicas, atoxicidade e biodegradabilidade investigadas, visando ao aumento do tempo de prateleira e ao potencial de substituição de embalagens plásticas convencionais.

2.2. Objetivo Específico

- Determinação das proporções dos componentes utilizados na produção do revestimento, incluindo a solução de quitosana, gelatina, antocianina e nanopartículas;

- Definição da metodologia de obtenção do biofilme e aplicação em morango minimamente processado;
- Realizar a caracterização espectroscópica do revestimento desenvolvido, incluindo análises de absorbância, fluorescência e FTIR.

3. METODOLOGIA

O desenvolvimento do revestimento passou por diferentes etapas que permitiram o avanço gradual da formulação do biofilme até a obtenção da composição final, sendo elas: testes iniciais, produção do revestimento, definição da composição e, por fim, adição das nanopartículas de carbono (não dopadas e dopadas com prata).

3.1. Testes iniciais

O teste teve como objetivo observar o crescimento fúngico em diferentes concentrações de extrato de morango e de “infectante”. Para a realização desses testes, utilizaram-se duas bandejas de morango: uma mantida sob refrigeração até que a maioria dos frutos apresentasse sinais visíveis de contaminação fúngica e outra obtida no dia do experimento.

3.1.1. Produção do Extrato de Morango

A bandeja obtida por último foi destinada à produção do “extrato de morango”. Para isso, alguns morangos foram selecionados e higienizados com água corrente e destilada, e secos com papel. Por fim, passaram por um processo de corte na região da coroa das folhas; em alguns casos, foi realizada a retirada de regiões danificadas.

Após a preparação inicial, os morangos passaram pelo processo de trituração com auxílio do mixer modelo Robot 250 (Mallory[®]). A mistura homogeneizada passou por um processo de peneiragem para retirar sementes e partículas maiores. Ao final do processo, o extrato foi armazenado em um copo descartável até o uso.

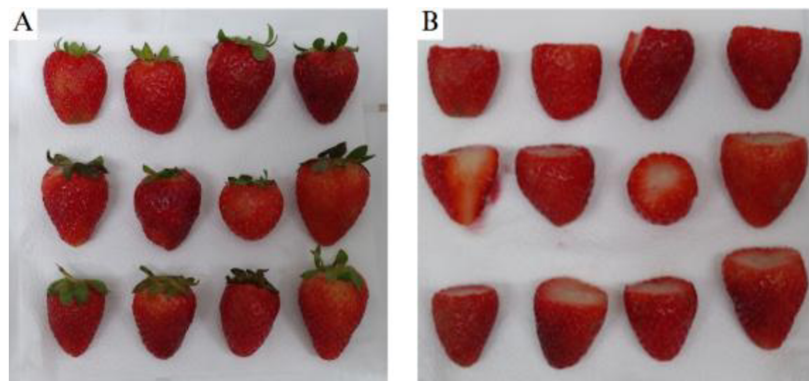


Figura 4 - A) Morangos selecionados para a produção do extrato antes do processo de corte;
B) Morangos selecionados para a produção do extrato após o processo de corte. Fonte:
Figura do autor.

3.1.2. Produção do infectante

Para a produção do infectante, utilizou-se a bandeja de morangos, mantida sob refrigeração até o aparecimento de fungos. As partes com maior quantidade de fungos na superfície foram cortadas e colocadas em um pedaço de papel-alumínio e pesadas em uma balança. Posteriormente, no mixer, procedeu-se à homogeneização entre os pedaços cortados e o extrato de morango. Essa mistura foi peneirada e reservada em um copo descartável. Utilizaram-se 5 g de pedaços de morangos com fungos para 45 g de extrato. Ambos foram pesados na balança com o auxílio de um pedaço de papel-alumínio e de um copo plástico.



Figura 5 - Pedacos de morango com fungos retirados. Fonte: Figura do autor.

3.1.3. Produção das amostras

O experimento foi dividido em três tipos de amostras: extrato de morango homogeneizado com infectante; infectante no centro da placa; e extrato de morango homogeneizado com quitosana, com infectante no centro da placa.

3.1.3.1. Extrato de morango homogeneizado com infectante

As amostras foram produzidas em diferentes concentrações (Tabela 1). Em um béquer de 10 mL, foram pipetadas as quantidades de extrato de morango e de infectante correspondentes a cada amostra. Para o extrato, utilizou-se uma pipeta de vidro de 10,0 mL; para o infectante, uma pipeta de vidro de 1,0 mL. A amostra foi agitada com o auxílio do agitador magnético até a completa homogeneização e, então, foi despejada e espalhada até a cobertura total do fundo de uma placa de Petri de plástico de 10 mL (diâmetro de 5,5 cm). As amostras produzidas foram identificadas e guardadas em temperatura ambiente, dentro de uma caixa térmica.

Tabela 1 – Composição das amostras “Extrato e Infectante Homogeneizados”.

Amostra	Infectante (mL)	Extrato (mL)	Total (mL)
0	–	5,0	5,0
1	0,1	4,9	5,0
2	0,2	4,8	5,0
3	0,3	4,7	5,0
4	0,4	4,6	5,0
5	0,5	4,5	5,0

Fonte: Própria.

3.1.3.2. Infectante no centro da placa

Diferentemente das amostras anteriores, para sua produção não é necessária a homogeneização entre o extrato e o infectante. Pipetaram-se 5 mL de extrato nas placas Petri (diâmetro de 5,5 cm) correspondentes a cada amostra, espalhando o líquido até cobrir totalmente o fundo. Pipetou-se o volume do infectante no centro das placas (Tabela 2). As amostras produzidas foram identificadas e guardadas à temperatura ambiente, em uma caixa térmica.

Tabela 2 – Composição das amostras “Infectante no centro da placa”.

Amostra	Infectante (mL)	Extrato (mL)	Total (mL)
0	0,0	5,0	5,0
1	0,1	5,0	5,1
2	0,2	5,0	5,2
3	0,3	5,0	5,3
4	0,4	5,0	5,4
5	0,5	5,0	5,5

Fonte: Própria.

Tabela 3 – Quantidade de material utilizado para a produção de 100 mL de solução de quitosana a 2% de ácido acético.

Água Destilada (mL)	Pó de quitosana (g)	Ácido Acético (mL)	Total (mL)
98,0	2,0	2,0	100,0

Fonte: Própria.

A Balança Analítica *Shimadzu* (modelo AUW220D) (Figura 6) foi utilizada para determinar a massa do pó de quitosana. O tempo mínimo para homogeneização da solução de quitosana preparada no agitador magnético em alta velocidade foi de 6 horas. Caso necessário, a solução foi agitada por um período mais longo até atingir a consistência desejada.

3.1.3.3 Produção das amostras

Adicionaram-se a um béquer de 10 mL a solução de quitosana (2% de ácido acético) e o extrato de morango nas concentrações apresentadas na Tabela 4. Após isso, o líquido foi espalhado até cobrir totalmente o fundo da placa de Petri (com diâmetro de 5,5 cm). Com auxílio de uma pipeta, adiciona-se o volume correspondente ao infectante ao centro das placas. As amostras produzidas foram identificadas e guardadas à temperatura ambiente, em uma caixa térmica.

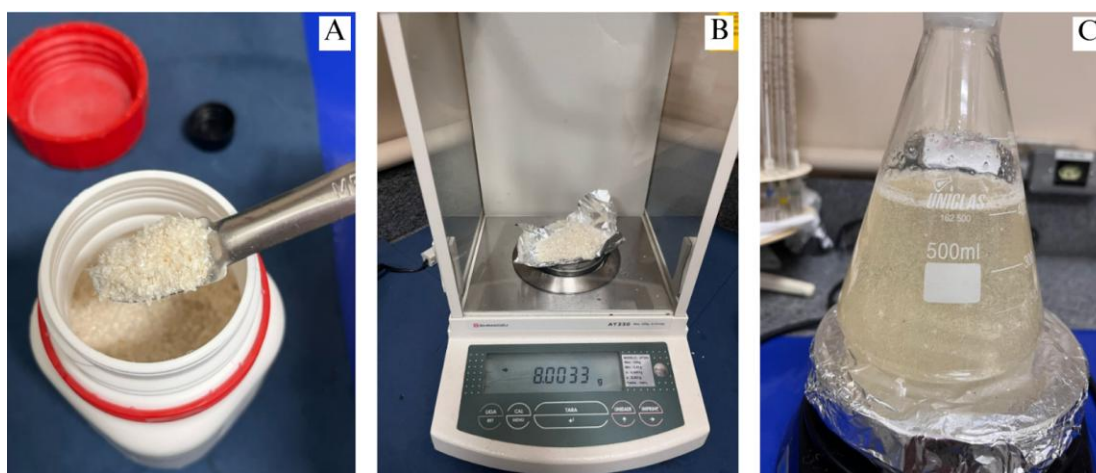


Figura 6 - A) Retirada do pó de quitosana do recipiente original; B) Determinação da massa de quitosana; C) Solução de quitosana durante o processo de agitação. Fonte: Figura do autor

Tabela 4 – Composição das amostras “Infectante no centro da placa coberta com Extrato de Morango homogeneizado com Solução de Quitosana 2% de ácido acético”.

Amostra	Infectante (mL)	Extrato de Morango (mL)	Solução de quitosana (2% de ácido acético) (mL)
0	–	8,0	–
1	0,2	8,0	–
2	0,3	8,0	–
10	–	7,2	0,8
11	0,2	7,2	0,8
12	0,3	7,2	0,8
20	–	6,4	1,6
21	0,2	6,4	1,6
22	0,3	6,4	1,6

Fonte: Própria.

3.2. Produção dos biofilmes

Os testes utilizam a solução de quitosana (2% de ácido acético), antocianina, ágar e gelatina, em diferentes concentrações, para a preparação dos filmes.

3.2.1. Extração da antocianina

A metodologia utilizada foi adaptada a partir do protocolo descrito por Lima *et al.* (2019). O processo de extração iniciou-se com a coleta de folhas de *Tradescantia pallida* purpurea na Universidade Federal de Uberlândia - Campus Santa Mônica. Para cada processo de extração, utilizaram-se 20 folhas. As folhas coletadas passaram por um processo de higienização, sendo inicialmente lavadas com água corrente e secas com o auxílio de um papel. Em seguida, foram lavadas com água destilada e secas novamente.



Figura 7 - A) *Trandescantia pallida* purpurea; B) Folhas colhidas após o processo de higienização. Fonte: Figura do autor.

As folhas foram cortadas em pedaços finos com auxílio de uma tesoura e desidratadas por 1 hora e 30 minutos no equipamento Desidratador de Alimentos (*Fun Kitchen, modelo FD-880*®). Em seguida, foram armazenadas no congelador por, no mínimo, 12 horas. Na balança analítica, foram medidas as massas das folhas, e então iniciou-se o processo de maceração com auxílio de almofariz e pilão. Para cada 8 g de folhas desidratadas e congeladas, utilizaram-se 20 mL de água destilada.

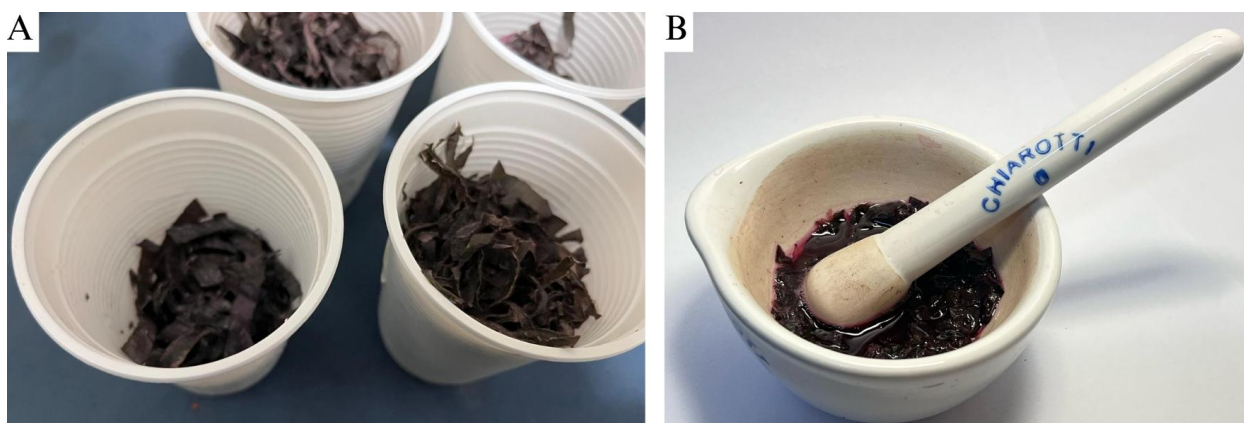


Figura 8 - A) Folhas cortadas, desidratadas e congeladas; B) Processo de maceração das folhas.

O líquido proveniente da maceração das folhas em água destilada foi filtrado com o auxílio de uma seringa de vidro, contendo um pedaço de papel-filtro circular. Trocou-se o filtro na seringa e repetiu-se o processo.

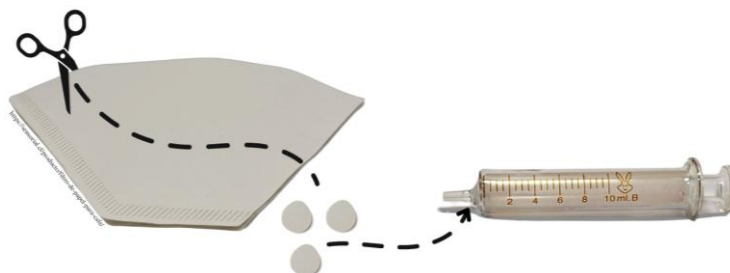


Figura 9 - Esquema ilustrativo do corte circular de um filtro de papel para café e de sua inserção em uma seringa de vidro. Fonte: Figura do autor.

O extrato filtrado foi distribuído em microtubos Eppendorf de 2,0 mL e submetido à centrifugação na centrífuga BioPet (modelo 8011154) por 1 hora e 30 minutos, a 7200 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante foi cuidadosamente pipetado, evitando a aspiração da fração que continha o precipitado de clorofila, e transferido para um frasco de vidro devidamente identificado com o nome e a data de extração. A antocianina extraída foi então armazenada sob refrigeração.

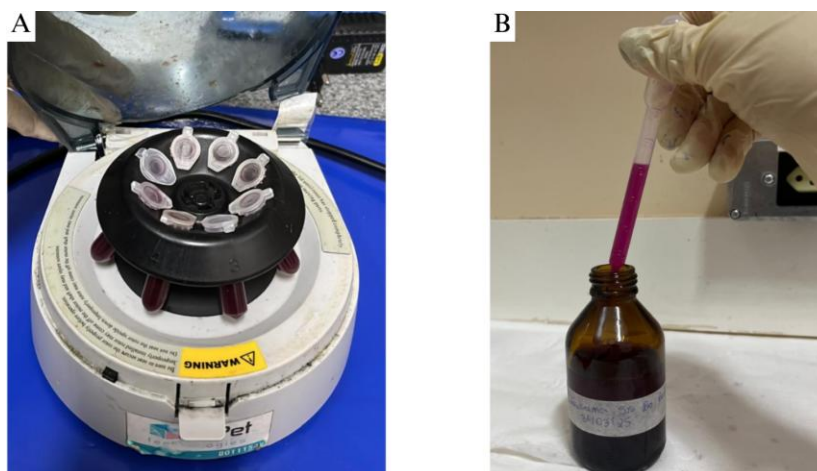


Figura 10- A) Processo de centrifugação da antocianina; B) Transferência da antocianina para o recipiente de armazenamento. Fonte: Figura do autor.

3.2.2. Produção das amostras de antocianina e quitosana

Pipetaram-se, em um béquer, 4,8 mL de solução de quitosana (2% de ácido acético) e 0,2 mL de antocianina. Após isso, iniciou-se o processo de homogeneização com o auxílio do agitador magnético por 10 minutos. A amostra foi guardada sob refrigeração.

3.2.3. Adição de gelatina

Em um béquer diluiu-se a gelatina com 0,5 mL de água destilada aquecida a 50 °C. Após completa solubilização, pipetou-se a solução de quitosana (2% de ácido acético) e a antocianina (Tabela 5). Iniciou-se o processo de homogeneização com auxílio do agitador magnético. As amostras produzidas foram identificadas e guardadas sob refrigeração.

Tabela 5 – Composição das amostras com variação da concentração de gelatina.

Amostra	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	Solução de Quitosana (2% ác. Acético) (mL)	Gelatina (g)
111	0,5	–	5,0	0,180
112	0,5	–	5,0	0,150
113	0,5	–	5,0	0,120
211	0,5	0,2	4,8	0,180
212	0,5	0,2	4,8	0,150
213	0,5	0,2	4,8	0,120

Fonte: Própria.

3.2.4. Adição de ágar

Em um béquer diluiu-se o ágar com 0,5 mL de água destilada aquecida a 50 °C. Após completa solubilização, pipetou-se a solução de quitosana (2% de ácido acético) e o extrato de antocianina (Tabela 6). Iniciou-se o processo de homogeneização com auxílio do agitador magnético. As amostras produzidas foram identificadas e armazenadas sob refrigeração.

Tabela 6– Identificação e composição das amostras variando a concentração de ágar.

Amostra	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	Solução de Quitosana (2% de ácido acético) (mL)	Ágar (g)
121	0,5	–	5,0	0,090
122	0,5	–	5,0	0,075
123	0,5	–	5,0	0,060
221	0,5	0,2	4,8	0,090
222	0,5	0,2	4,8	0,075
223	0,5	0,2	4,8	0,060

Fonte: Própria.

3.2.5. Adição de ágar com gelatina

Em um béquer, diluiu-se a gelatina e o ágar com 0,5 mL de água destilada aquecida a 50 °C; após completa solubilização, pipetou-se a solução de quitosana (2% de ácido acético) e o extrato de antocianina (Tabela 7). Iniciou-se o processo de homogeneização com auxílio do agitador magnético. As amostras produzidas foram identificadas e armazenadas sob refrigeração.

Tabela 7 – Identificação e composição das amostras variando a concentração de gelatina com ágar.

Amostra	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	Solução de Quitosana 2% (mL)	Gelatina (g)	Ágar (g)	G+A (g)
131	0,5	–	5,0	0,0900	0,0450	0,1350
132	0,5	–	5,0	0,0750	0,0375	0,1125
133	0,5	–	5,0	0,0600	0,0300	0,0900
231	0,5	0,2	4,8	0,0900	0,0450	0,1350
232	0,5	0,2	4,8	0,0750	0,0375	0,1125
233	0,5	0,2	4,8	0,0600	0,0300	0,0900

Fonte: Própria.

3.2.6. Caracterizações Espectroscópicas

Os filmes desenvolvidos a partir dos componentes que contiveram gelatina (Tabela 5) foram caracterizados por meio das técnicas de absorbância e fluorescência. As medidas de fluorescência foram realizadas em dois comprimentos de onda de excitação, 460 nm e 532 nm. Os resultados obtidos foram plotados no programa Origin, e seus gráficos são apresentados na discussão do trabalho.

3.2.7. Repetição gelatina

A gelatina demonstrou ser o componente eficaz para a gelificação do biofilme. Foram realizados diversos testes com diferentes concentrações de gelatina, em volume fixo de 5 mL. Além disso, avaliou-se o efeito de duas concentrações do extrato de antocianina.

Tabela 8 – Identificação e composição das amostras de repetição do teste de variação da concentração de gelatina.

Amostra	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	S. de Quitosana (2% de ácido acético) (mL)	Gelatina (g)
111	0,5	–	5,0	0,150
112	0,5	–	5,0	0,165
113	0,5	–	5,0	0,180
114	0,5	–	5,0	0,195
115	0,5	–	5,0	0,210
221	0,5	0,2	4,8	0,150
222	0,5	0,2	4,8	0,165
223	0,5	0,2	4,8	0,180
224	0,5	0,2	4,8	0,195
225	0,5	0,2	4,8	0,210
231	0,5	0,4	4,6	0,150

232	0,5	0,4	4,6	0,165
233	0,5	0,4	4,6	0,180
234	0,5	0,4	4,6	0,195
235	0,5	0,4	4,6	0,210

Fonte: Própria.

3.3. Determinação da composição do biofilme

O objetivo é aplicar o revestimento desenvolvido em morangos, para testar a eficácia do biofilme, visando à observação de características como o aumento do prazo de validade (“*shelf-life*”) e a ação fungicida nas frutas.

3.3.1. Preparo da solução de quitosana 5% de ácido acético

Para a produção de um novo conjunto de biofilmes, a solução de quitosana foi preparada de ácido acético (5%) com potencial de hidrogênio pH ~ 2,39, mantendo-se o protocolo de execução previamente estabelecido no laboratório.

3.3.2. Definição de metodologia

Os testes dos biofilmes foram repetidos utilizando extratos de morango e pedaços de fruta, com o objetivo de definir qual formato e/ou forma seria adotado nos testes subsequentes. Para isso, foi necessária a obtenção de uma bandeja de morango no dia da execução dos testes.

3.3.2.1. Imersão - Rodela

Os morangos selecionados foram cortados em rodela e reservados sob refrigeração. Em um béquer, diluiu-se a gelatina em 0,5 mL de água destilada aquecida a 50 °C. Após completa solubilização, adicionaram-se, com o auxílio de uma pipeta, a solução de quitosana preparada em

5% de ácido acético e o extrato de antocianina. Iniciou-se, então, o processo de homogeneização dos componentes do revestimento, com o auxílio de um agitador magnético, a uma velocidade média. Em uma placa de Petri de plástico (90 × 15 mm), adicionou-se parte da solução preparada, espalhando-a até cobrir completamente o fundo da placa. Em seguida, posicionou-se uma rodela de morango no centro, e adicionou-se o restante da solução por cima, de modo a garantir a cobertura total da amostra. Esse procedimento foi repetido para todas as amostras. As amostras foram identificadas e guardadas sob refrigeração.

Tabela 9 – Identificação e composição das amostras preparadas para o teste de imersão de pedaços de morango.

Amostra	Rodela de morango	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	S. de Quitosana (5% de ácido acético) (mL)	Gelatina (g)
2.1.1	1	–	–	–	–
2.1.2	1	20,0	–	–	0,780
2.1.3	1	–	–	20,0	–
2.1.4	1	0,5	–	20,0	0,780
2.1.5	1	19,2	0,8	–	0,780
2.1.6	1	18,4	1,6	–	0,780
2.1.7	1	0,5	0,8	19,2	0,780
2.1.8	1	0,5	1,6	18,4	0,780

Fonte: Própria.

3.3.2.2. Imersão - Extrato

A partir dos morangos selecionados, foi preparado o extrato de morango. Em seguida, em um béquer, diluiu-se a gelatina em 0,5 mL de água destilada aquecida a 50 °C. Após completa solubilização, adicionaram-se, com o auxílio de uma pipeta, a solução de quitosana (5% de ácido acético) e o extrato de antocianina (Tabela 10). Realizou-se, então, a homogeneização dos

componentes do revestimento com o auxílio de um agitador magnético, a uma velocidade média. A solução obtida foi transferida para uma placa de Petri pequena (90 mm de diâmetro), espalhando-a até cobrir completamente o fundo. Em seguida, pipetou-se uma alíquota de 2 mL do extrato do morango no centro da placa, e o restante da solução foi adicionado por cima, de modo a garantir a cobertura total do extrato. As amostras foram identificadas e guardadas sob refrigeração.

Tabela 10 – Composição das amostras preparadas para o teste de imersão do extrato de morango.

Amostra	Extrato de morango (mL)	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	S. de Quitosana (5% de ácido acético) (mL)	Gelatina (g)
2.2.1	2,0	–	–	–	–
2.2.2	2,0	5,0	–	–	0,195
2.2.3	2,0	–	–	5,0	–
2.2.4	2,0	0,5	–	5,0	0,195
2.2.5	2,0	4,8	0,2	–	0,195
2.2.6	2,0	4,6	0,4	–	0,195
2.2.7	2,0	0,5	0,2	4,8	0,195
2.2.8	2,0	0,5	0,4	4,6	0,195

Fonte: Própria.

3.4. Efeito da antocianina

O objetivo do teste foi observar os efeitos fungicidas e antioxidantes de diferentes concentrações de antocianina.

3.4.1. Imersão - Morango Inteiro

Os morangos selecionados foram higienizados, sendo inicialmente lavados com água corrente e secos com o auxílio de papel-toalha. Em seguida, foram lavados com água destilada e

secos novamente. Ao final do processo, as coroas de folhas foram removidas das frutas. Em um béquer, foram adicionadas as quantidades correspondentes de antocianina, gelatina e solução de quitosana (5% de ácido acético), conforme descrito na Tabela 11.

Tabela 11 – Identificação e composição das amostras produzidas para o teste de imersão do morango inteiro.

Amostra	Morango	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	Solução de Quitosana 5% (mL)	Gelatina (g)
300	1	–	–	–	–
301	1	0,5	–	15,0	0,585
302	1	0,5	0,6	14,4	0,585
303	1	0,5	1,2	13,8	0,585
304	1	0,5	3,0	12,0	0,585
305	1	0,5	6,0	9,0	0,585

Fonte: Própria.

As amostras foram homogeneizadas com o auxílio de um agitador magnético, a uma velocidade média. O líquido homogeneizado foi então transferido para um recipiente adequado para permitir a imersão completa do morango. Após a imersão, as amostras foram colocadas em um recipiente com divisórias, nas quais cada divisão estava coberta com papel sulfite e filme plástico. As amostras foram armazenadas sob refrigeração.

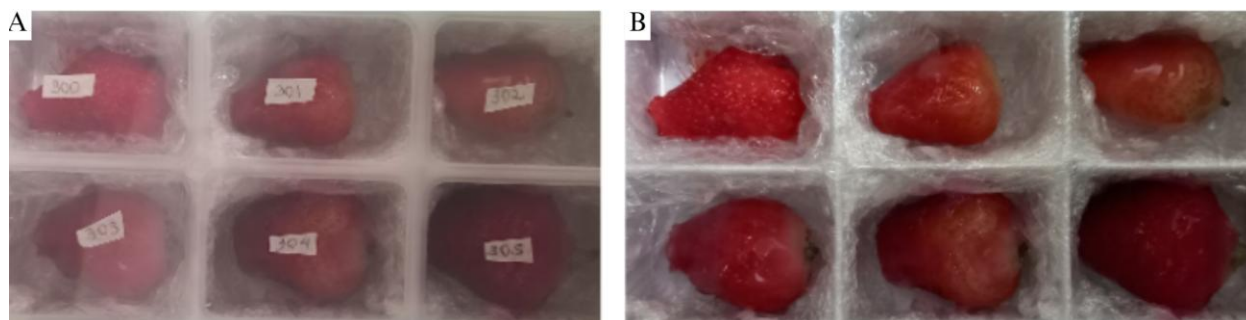


Figura 11 - A) Compartimento com morangos imersos fechado; B) Compartimento com morangos imersos aberto. Fonte: Figura do autor.

3.4.2. Alteração do pH da Antocianina

O objetivo do teste é observar a diferença nos efeitos fungicidas e antioxidantes de diferentes concentrações de antocianina em valores de pH distintos (4,82 e 2,39).

3.4.2.1. Antocianina extraída em solução aquosa (5% de ácido acético)

O extrato de antocianina foi obtido em solução aquosa acidificada (5% de ácido acético), com adaptação da metodologia de Lima et al., 2019. Neste caso, em 100 mL de solução extratora, utilizaram-se 95 mL de água destilada e 5 mL de ácido acético glacial P.A. ACS.

3.4.3. Imersão de pedaços de morango

Utilizando a metodologia da imersão dos pedaços de morango, as amostras foram preparadas conforme a Tabela 12. Neste caso, utilizou-se água ultrapura, e as amostras foram identificadas e conservadas sob refrigeração.

3.4.4. Repetição – Imersão

Para realização dos testes, foi necessária a preparação da solução de quitosana 5% de ácido acético, extração da antocianina e da antocianina acidificada a 5% de ácido acético. O teste foi dividido em 3 partes: imersão da rodela e do morango inteiro, na horizontal e na vertical. Para cada etapa, foram utilizados recipientes específicos para o armazenamento das amostras (Figura 12).

Tabela 12– Composição das amostras preparadas para o teste de imersão dos pedaços de morango.

Amostra	Rodela de morango	Água ultrapura (mL)	Antocianina (mL)	Antocianina Acidificada (mL)	Solução de Quitosana 5% (mL)	Gelatina (g)
0	1	–	–	–	–	–
1.1	1	0,5	5,0	–	–	0,195
1.2	1	0,5	0,8	–	19,2	0,780
1.3	1	0,5	1,6	–	18,4	0,780
1.4	1	0,5	4,0	–	16,0	0,780
1.5	1	0,5	8,0	–	12,0	0,780
2.1	1	0,5	–	5,0	–	0,195
2.2	1	0,5	–	0,8	19,2	0,780
2.3	1	0,5	–	1,6	18,4	0,780
2.4	1	0,5	–	4,0	16,0	0,780
2.5	1	0,5	–	8,0	12,0	0,780
3	1	0,5	–	–	–	0,780
4	1	20,0	–	–	–	0,780

Fonte: Própria.



Figura 12 - Esquema ilustrativo dos recipientes de armazenamento das amostras de repetição do teste de imersão. Fonte: Figura do autor.

As amostras apresentadas na Tabela 13 foram preparadas utilizando a metodologia definida para a preparação do revestimento. Os revestimentos, ainda em estado líquido, foram armazenados temporariamente em um copo de café descartável de 50 mL até a submersão das frutas para os testes com o morango inteiro.

Tabela 13 – Composição das amostras produzidas para o teste de imersão dos pedaços de morango.

Amostra	Rodela/ Morango inteiro	Água ultrapura (mL)	Antocianina (mL)	Antocianina Acidificada (mL)	Solução de Quitosana 5% (mL)	Gelatina (g)
0	1	–	–	–	–	–
1	1	16,0	–	–	24,0	1,560
2	1	1,0	40,0	–	–	1,560
3	1	1,0	16,0	–	24,0	1,560
4	1	1,0	–	40,0	–	1,560
5	1	1,0	–	16,0	24,0	1,560
6	1	40,0	–	–	–	1,560

Fonte: Própria.

3.4.4.1. Rodela

Os morangos selecionados foram higienizados com água corrente e água ultrapura, secos e cortados com o auxílio de uma faca e, posteriormente, reservados sob refrigeração. Com o auxílio de uma pinça, as rodela de morango foram mergulhadas em suas respectivas amostras (Tabela 13) e, em seguida, dispostas em placas de Petri. As amostras foram identificadas e armazenadas sob refrigeração.

3.4.4.2. Inteiro

Os morangos selecionados foram higienizados com água corrente e água ultrapura, secos e armazenados sob refrigeração.

3.4.4.2.1. Horizontal

Com o auxílio de uma pinça, os morangos foram mergulhados em suas respectivas amostras apresentadas (Tabela 13). Posteriormente, as frutas foram acondicionadas em seus respectivos recipientes. As amostras foram devidamente identificadas e armazenadas sob refrigeração.

3.4.4.2.2. Vertical

O experimento teve como objetivo observar uma metodologia diferente de imersão de morangos. Para isso, uma folha de isopor foi cortada no tamanho das tampas das vasilhas utilizadas e pregada às respectivas tampas, com o auxílio de fita crepe e de fita dupla face.



Figura 13 - Amostra de morango utilizada no experimento de imersão “vertical”. Fonte: Figura do autor.

Os morangos selecionados foram higienizados com água corrente e água ultrapura, secos e cortados com o auxílio de uma faca e, posteriormente, reservados sob refrigeração. Com o auxílio de uma pinça, os morangos foram mergulhados em suas respectivas amostras (Tabela 13). Posteriormente, os morangos foram fixados com um espeto de plástico, e colocados em suas

respectivas vasilhas. As amostras foram devidamente identificadas e armazenadas sob refrigeração.

3.5. Formulação final

Com base nos testes realizados e em suas repetições, definiram-se as quantidades otimizadas dos componentes do revestimento para os testes posteriores.

Tabela 14 – Composição definida do revestimento no volume de 10 mL.

Água ultrapura (mL)	Antocianina (mL)	Antocianina Acidificada (mL)	Solução de Quitosana 5% (mL)	Gelatina (g)
0,5	4,0	4,0	6,0	0,390

Fonte: Própria.

Com base nos valores apresentados na Tabela 15, foram produzidas amostras do revestimento com antocianina e com antocianina acidificada, além de amostras dos componentes separados (Tabela 14). As amostras apresentadas na Tabela 15 foram produzidas e submetidas às medidas de espectroscopia de absorbância, fluorescência e FTIR.

Tabela 15– Amostras produzidas para a realização das caracterizações espectroscópicas.

Amostra	Água ultrapura (mL)	Antocianina (mL)	Antocianina Acidificada (mL)	Solução de Quitosana 5% (mL)	Gelatina (g)
AUP	4,0	–	–	–	–
G	4,0	–	–	–	0,078
Q	–	–	–	4,0	–
AN	–	4,0	–	–	–
AAC	–	–	4,0	–	–
RAN	–	1,6	–	2,4	–
RAAC	–	–	1,6	2,4	–
AACD	2,4	–	1,6	–	–

Fonte: Própria. Legenda: AUP - Água ultrapura; G - Gelatina; Q - Quitosana; AN - Antocianina; AAC - Antocianina acidificada; RAN - Revestimento com antocianina; RAAC - Revestimento com antocianina acidificada.

3.6. Adição de nanopartículas de carbono (CDots)

Nas composições dos revestimentos testados anteriormente, foram adicionadas nanopartículas de carbono (“carbon dots”, CDots) para potencializar os efeitos antifúngico e antioxidante. Nos biofilmes desenvolvidos, foram utilizados os CDots sintetizados no laboratório pelo grupo de pesquisa (Serna, 2025). Os CDots dopados e não dopados obtidos usando o abacate como fonte de carbono, respectivamente, e os CDots sintetizados usando a quitosana como fonte de carbono (Lima, 2024), com e sem dopagem com prata.

3.6.1. CDots de Abacate (sem e com dopagem com nitrogênio)

Utilizando as composições dos biofilmes definidas na preparação dos revestimentos (Tabelas 16, 17 e 18), os CDots dopados e não dopados foram adicionados às respectivas amostras em duas concentrações: 200 μL e 400 μL . A alíquota referente a cada CDots foi adicionada às amostras de revestimento durante o processo de homogeneização, com auxílio de um agitador magnético, a uma velocidade média/baixa, por 5 minutos.

Tabela 16 – Amostras sem CDots

Amostra	Rodela de morango	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	Antocianina acidificada (mL)	Solução de Quitosana 5% (mL)	Gelatina (g)
0	1	–	–	–	–	–
1	1	4,0	–	–	6,0	0,390
2.0	1	0,5	10,0	–	–	0,390
2.1	1	0,5	4,0	–	6,0	0,390
3.0	1	0,5	–	10,0	–	0,390
3.1	1	0,5	–	4,0	6,0	0,390
4	1	10,0	–	–	–	0,390

Fonte: Própria.

Tabela 17–Amostras com CDots dopados com nitrogênio.

Amostra	Rodela de morango	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	Antocianina Acidificada (mL)	Solução de Quitosana 5% (mL)	CDots dopados (µL)	Gelatina (g)
2.0.1	1	0,5	10,0	–	–	200	0,390
2.1.1.1	1	0,5	4,0	–	6,0	200	0,390
2.1.1.2	1	0,5	4,0	–	6,0	400	0,390
3.0.1	1	0,5	–	10,0	–	200	0,390
3.1.1.1	1	0,5	–	4,0	6,0	200	0,390
3.1.1.2	1	0,5	–	4,0	6,0	400	0,390

Fonte: Propria.

Tabela 18– Componentes das amostras com CDots dopados com Nitrogênio

Amostra	Rodela de morango	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	Antocianina Acidificada (mL)	Solução de Quitosana (mL)	CDots dopados (μL)	Gelatina (g)
2.0.2	1	0,5	10,0	–	–	200	0,390
2.1.2.1	1	0,5	4,0	–	6,0	200	0,390
2.1.2.2	1	0,5	4,0	–	6,0	400	0,390
3.0.2	1	0,5	–	10,0	–	200	0,390
3.1.2.1	1	0,5	–	4,0	6,0	200	0,390
3.1.2.2	1	0,5	–	4,0	6,0	400	0,390

Fonte: Propria.

3.6.2. CDots de Quitosana e Quitosana dopada com prata

Foram utilizados os CDots de quitosana, denominados Q100 e P75, sem dopagem e com dopagem de prata. Os CDots foram sintetizados a partir da quitosana, utilizando a metodologia descrita por Lima *et al.* (2023). O método de carbonização hidrotérmica foi utilizado na síntese dos CDots. Utilizando os valores definidos para a preparação dos revestimentos (Tabelas 18, 19 e 20). Os CDots de quitosana sem prata (Q100) e com prata (P75) foram adicionados às respectivas formulações de revestimento em três concentrações: 200 μL, 400 μL e 600 μL. A alíquota referente a cada concentração de CDots foi adicionada às amostras de revestimento durante o processo de homogeneização, com auxílio de um agitador magnético, a uma velocidade média/baixa, por 5 minutos.

Tabela 19 – Composição das amostras com CDots Q100.

Amostra	Rodela de morango	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	Antocianina Acidificada (mL)	Solução de Quitosana 5% (mL)	CDots Q100 (µL)	Gelatina (g)
2.0.1.1	1	0,5	10,0	–	–	200	0,390
2.0.1.2	1	0,5	10,0	–	–	400	0,390
2.0.1.3	1	0,5	10,0	–	–	600	0,390
2.1.1.1	1	0,5	4,0	–	6,0	200	0,390
2.1.1.2	1	0,5	4,0	–	6,0	400	0,390
2.1.1.3	1	0,5	4,0	–	6,0	600	0,390
3.0.1.1	1	0,5	–	10,0	–	200	0,390
3.0.1.2	1	0,5	–	10,0	–	400	0,390
3.0.1.3	1	0,5	–	10,0	–	600	0,390
3.1.1.1	1	0,5	–	4,0	6,0	200	0,390
3.1.1.2	1	0,5	–	4,0	6,0	400	0,390
3.1.1.3	1	0,5	–	4,0	6,0	600	0,390

Fonte: Propria.

Tabela 20– Composição das amostras sem CDots.

Amostra	Rodela de morango	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	Antocianina Acidificada (mL)	Solução de quitosana 5% (mL)	Gelatina (g)
0	1	–	–	–	–	–
1	1	4,0	–	–	6,0	0,390
2.0	1	0,5	10,0	–	–	0,390
2.1	1	0,5	4,0	–	6,0	0,390
3.0	1	0,5	–	10,0	–	0,390
3.1	1	0,5	–	4,0	6,0	0,390
4	1	10,0	–	–	–	0,390

Fonte: Propria.

Tabela 21 – Composição dos CDots P75.

Amostra	Rodela de morango	Água destilada (mL)	Antocianina (mL)	Antocianina Acidificada (mL)	Solução de Quitosana 5% (mL)	CDots P75 (µL)	Gelatina (g)
2.0.2.1	1	0,5	10,0	–	–	200	0,390
2.0.2.2	1	0,5	10,0	–	–	400	0,390
2.0.2.3	1	0,5	10,0	–	–	600	0,390
2.1.2.1	1	0,5	4,0	–	6,0	200	0,390
2.1.2.2	1	0,5	4,0	–	6,0	400	0,390
2.1.2.3	1	0,5	4,0	–	6,0	600	0,390
3.0.2.1	1	0,5	–	10,0	–	200	0,390
3.0.2.2	1	0,5	–	10,0	–	400	0,390
3.0.2.3	1	0,5	–	10,0	–	600	0,390
3.1.2.1	1	0,5	–	4,0	6,0	200	0,390
3.1.2.2	1	0,5	–	4,0	6,0	400	0,390
3.1.2.3	1	0,5	–	4,0	6,0	600	0,390

Fonte: Propria.

3.7 Caracterização Microbiológica

Essa etapa foi realizada em parceria com o Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LADOC), vinculado a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia. A caracterização microbiológica foi dividida em dois testes: efeito antifúngico e efeito bactericida.

3.7.1 Efeito Antifúngico

O teste para verificação do efeito antifúngico foi realizado seguindo a seguinte ordem: microcultivo, identificação da cepa e teste do efeito antifúngico.

3.7.1.1 Microcultivo e Identificação da cepa

Seguindo o protocolo de identificação presente no guia “Microbiologia Clínica Para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde - Módulo 8: Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica”, publicado pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2013, os pedaços de morango infectados com fungo foram coletados e, a partir disso, realizado o microcultivo da colônia em uma placa de Petri esteril com ágar sabouraud dextrose (ASD), em temperatura ambiente. Após a observação do desenvolvimento de hifas, a colônia selecionada foi retirada com auxílio de um pedaço de fita de acetato e colada em uma lamínula, com 50 µL do corante lactofenol azul de algodão (Cotton Blue). Após a ação do corante, as estruturas de esporos e hifas do fungo foram visualizadas com auxílio de um microscópio óptico, com objetiva de 40x, no microscópio Olympus Biological Microscope CX23 (A 12.0736).

3.7.1.2 Teste do efeito antifúngico

Para a realização do teste, foi adaptada a metodologia apresentada por Du *et al*, 2017, e Silva *et al.*, 2025. Foram produzidos 50 mL de revestimento com extrato de antocianina em pH normal e em pH acidificado, e foram adicionados 50 mL de ágar-batata, produzido com a quantidade equivalente de pó para 100 mL. O fungo cultivado e identificado foi coletado de sua placa original e adicionado ao centro da placa contendo a mistura de revestimentos e ágar, a fim de observar seu crescimento ou inibição ao longo de 11 dias, à temperatura ambiente.

3.7.2 Teste do efeito bactericida

Para o teste, foi utilizado *Staphylococcus aureus* como representante da classe de bactérias Gram-positivas e *Escherichia coli* como representante da classe de bactérias Gram-negativas. O

teste foi realizado em triplicata para cada bactéria, ou seja, seis placas por amostra. Em placas de ágar nutriente, procedeu-se ao estriamento das bactérias diluídas em solução salina e, em seguida, foram realizados poços centrais em cada placa. Neles foram adicionadas alíquotas de 50 a 100 µL das amostras líquidas de solução de quitosana (5% de ácido acético), extratos de antocianina normal e acidificado, e revestimento normal e acidificado. O antibiótico foi utilizado como controle. As placas foram levadas para a estufa de cultura bacteriológica SolidSeet[®], a 36 °C, por 24 horas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Testes Iniciais

Após a preparação dos experimentos, as amostras de revestimento foram monitoradas e fotografadas ao longo de 10 dias. Os testes foram realizados com o morango infectado, homogeneizado com o extrato de morango (Figura 14, Tabela 1), e colocado no centro da placa de Petri (Figura 15, Tabela 2). Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 14 e 15, em formato de quadro para melhor observação das imagens.

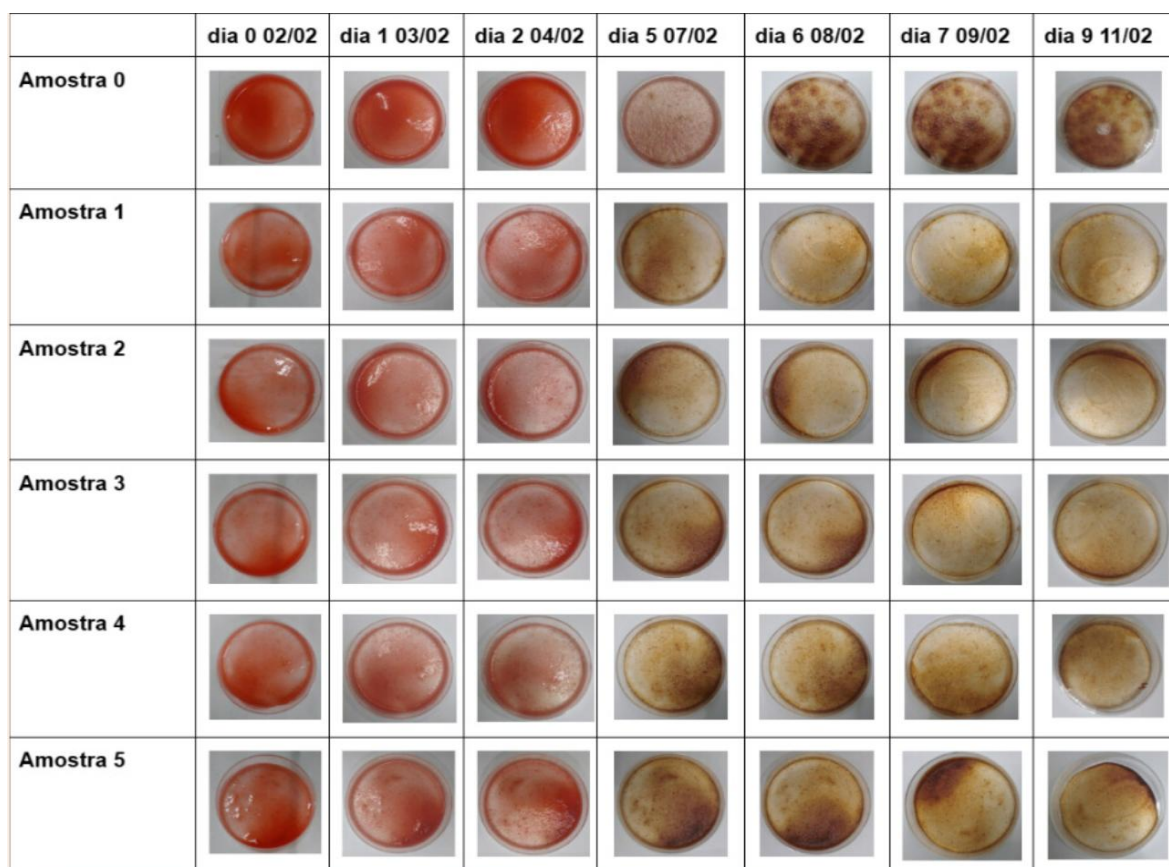


Figura 14 - Quadro de acompanhamento das alterações nas amostras 0, 1, 2, 3, 4 e 5 (Tabela 1), referentes aos testes com extratos de morangos homogeneizados com infectante durante o período de 10 dias (02/02/2022 - 11/02/2022). Fonte: Figura do autor.

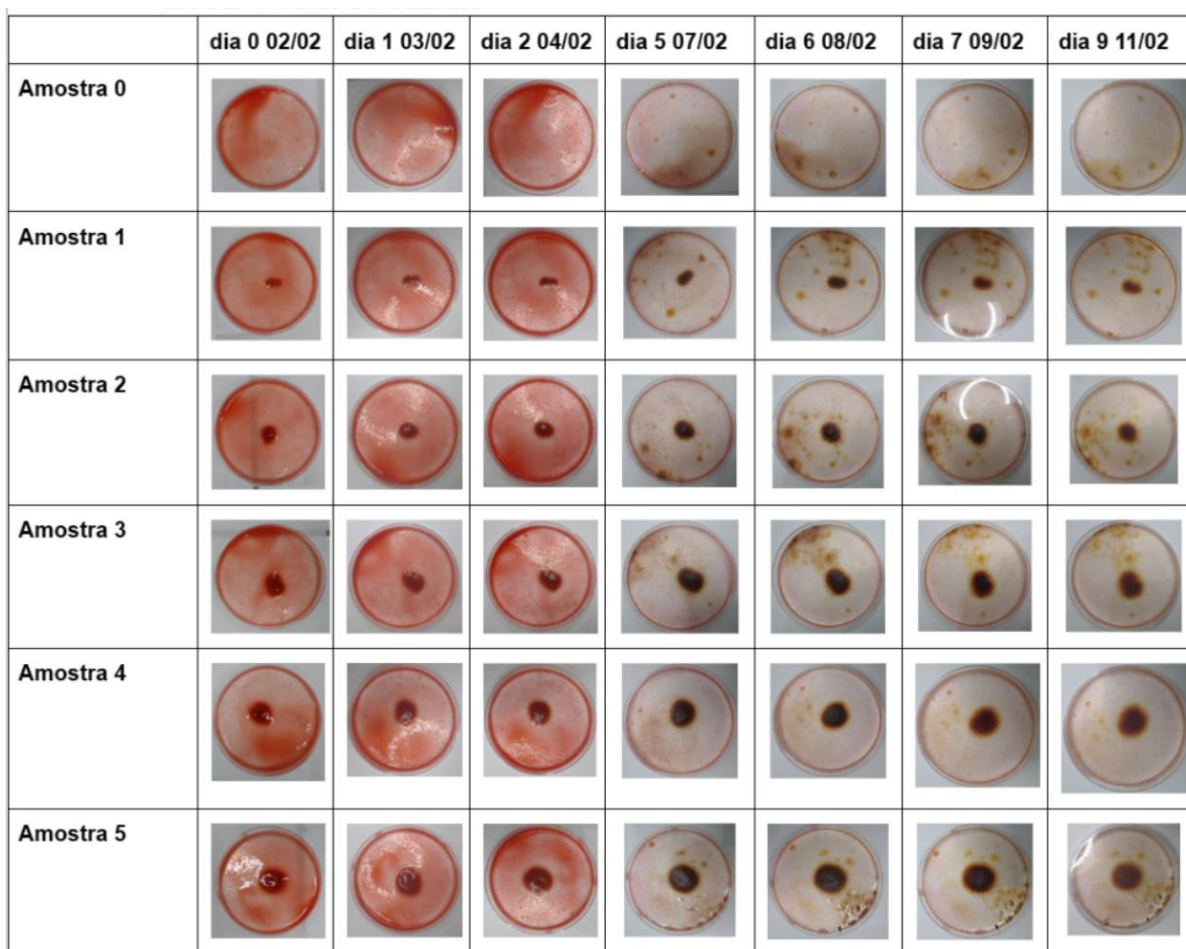


Figura 15 - Quadro de acompanhamento das alterações nas amostras 0, 1, 2, 3, 4 e 5 (Tabela 2), referentes ao teste de infectante no centro da placa, no período de 10 dias (02/02/2022 - 11/02/2022). Fonte: Figura do autor.

Analisando os quadros apresentados nas Figuras 14 e 15, referentes ao desenvolvimento fúngico nas amostras produzidas com diferentes metodologias, observou-se que a metodologia que aplica o infectante ao centro do extrato foi a mais eficiente quando comparada à homogeneização do extrato com o infectante. A proliferação fúngica na placa apresentou maior abrangência, o que levou à escolha dessa metodologia para o prosseguimento dos testes iniciais.

Durante os 10 dias de observação, notou-se um aumento da população de fungos entre os dias 3 e 4 do experimento e um declínio a partir do sexto dia (Figura 16). Na metodologia de aplicação do infectante ao centro da placa, as amostras 2 e 3 apresentaram maior cobertura (Figura

14 e Figura 15), sendo selecionadas para o processo de repetição utilizando a solução de quitosana a 2% de ácido acético.

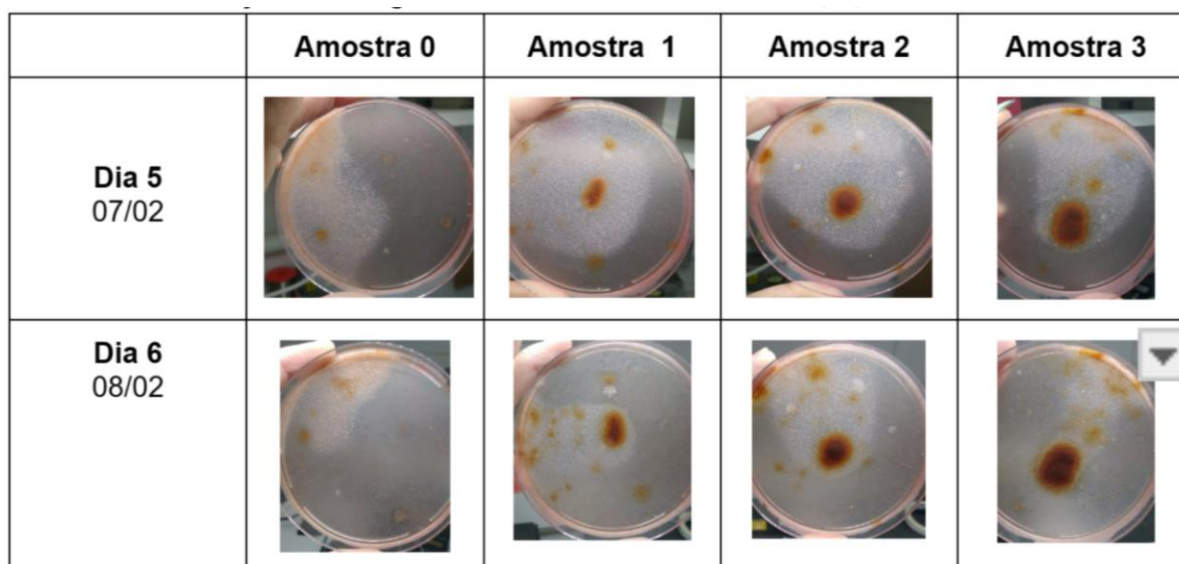


Figura 16- Quadro de acompanhamento das alterações das amostras 0, 1, 2 e 3 (Tabela 2), referentes ao teste de infectante no centro da placa durante o período de 2 dias (07/02/2022 - 08/02/2022). Fonte: Figura do autor.

4.1.1. Extrato de morango homogeneizado com quitosana e infectante no centro da placa

As amostras foram observadas durante 7 dias e, a partir das fotos obtidas, montaram-se quadros comparativos apresentados nas Figuras 17, 18 e 19. As fotografias da Figura 17 (ou Figura 18 ou Figura 19) referem-se às amostras que utilizaram a mesma concentração de solução de quitosana (2% de ácido acético) e de extrato de morango, alterando apenas a concentração do infectante (Tabela 4). Já os quadros presentes nas Figuras 20, 21 e 22 foram montados para a observação da mesma quantidade de infectante em diferentes concentrações de extrato e de quitosana.

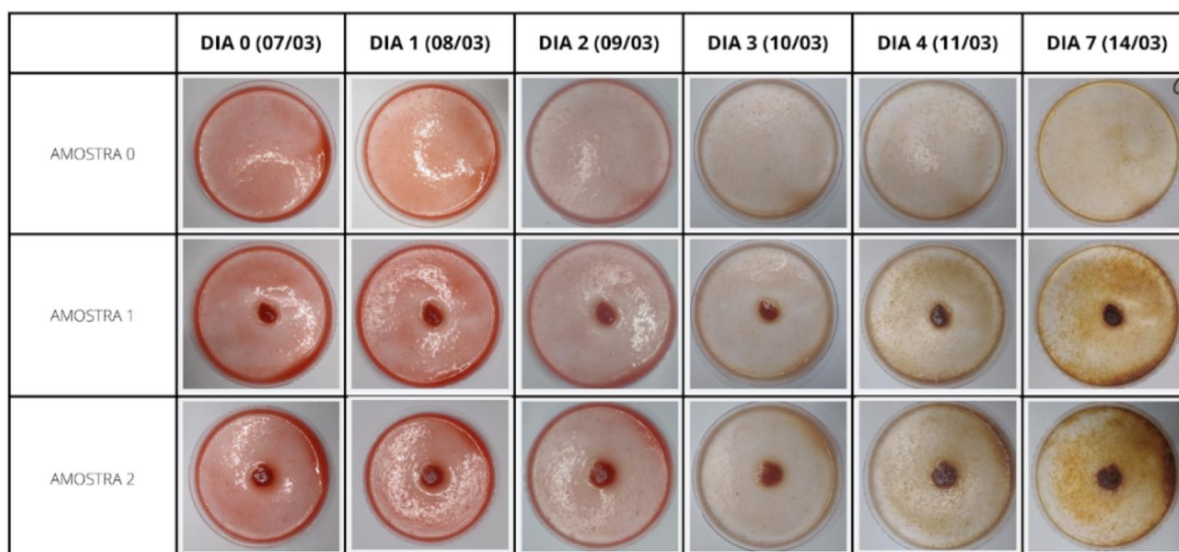


Figura 17– Amostras 0, 1 e 2 de extrato de morango com diferentes quantidades de infectante no centro da placa (Tabela 4) durante o período de 8 dias (07/03/2022 - 14/03/2022). Fonte: Figura do autor.

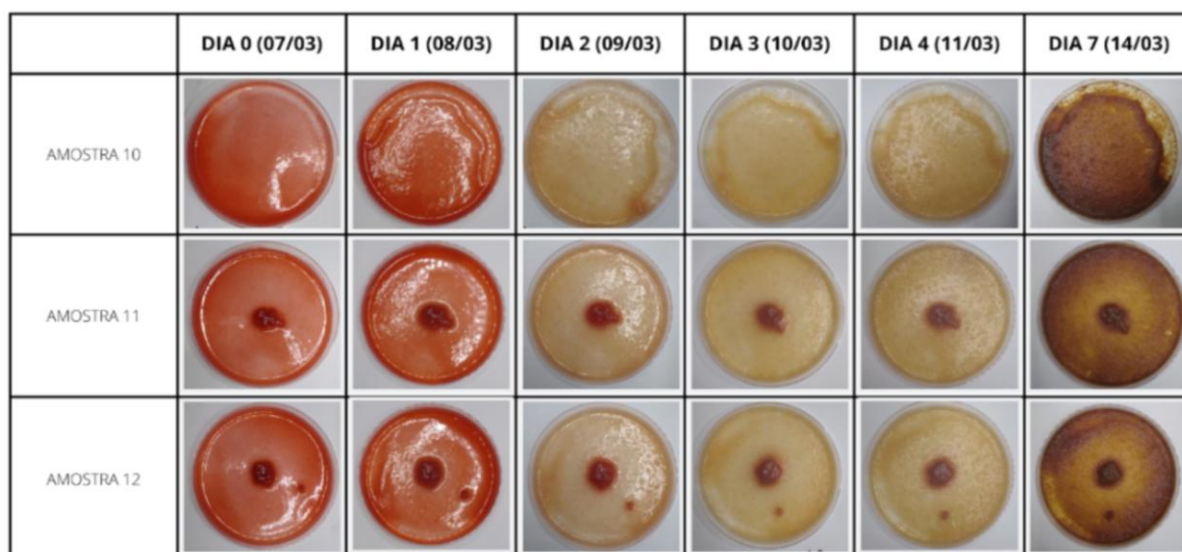


Figura 18– Amostras 10, 11 e 12 de extrato de morango homogeneizado com quitosana, variando a quantidade de infectante no centro da placa (Tabela 4), durante o período de 8 dias (07/03/2022 - 14/03/2022). Fonte: Figura do autor.

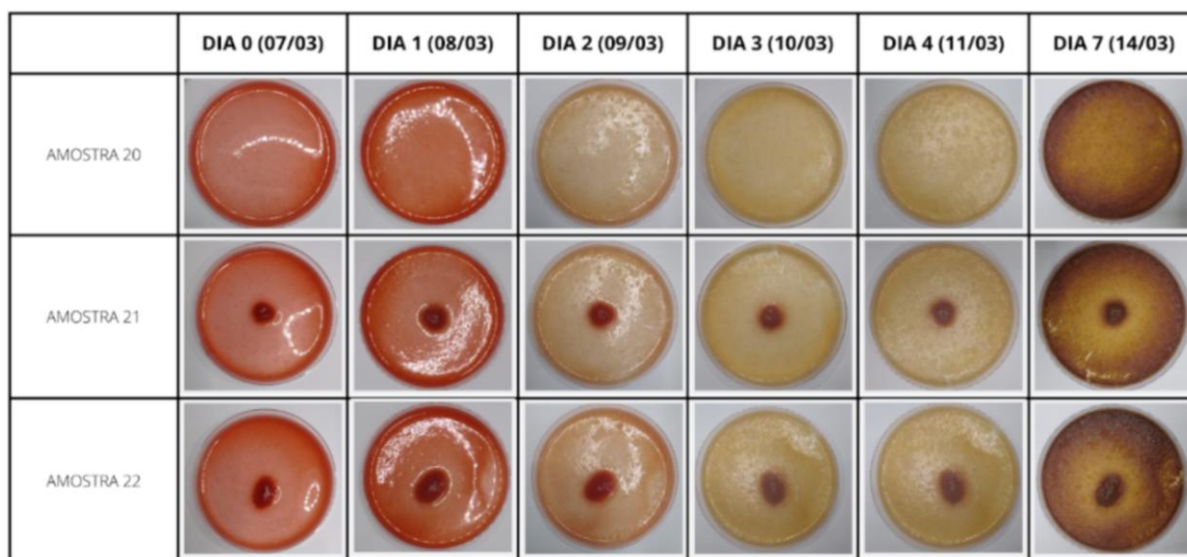


Figura 19 – Amostras 20, 21 e 22 de extrato de morango homogeneizado com quitosana, com variação da quantidade de infectante no centro da placa (Tabela 4), durante o período de 8 dias (07/03/2022 - 14/03/2022). Fonte: Figura do autor.

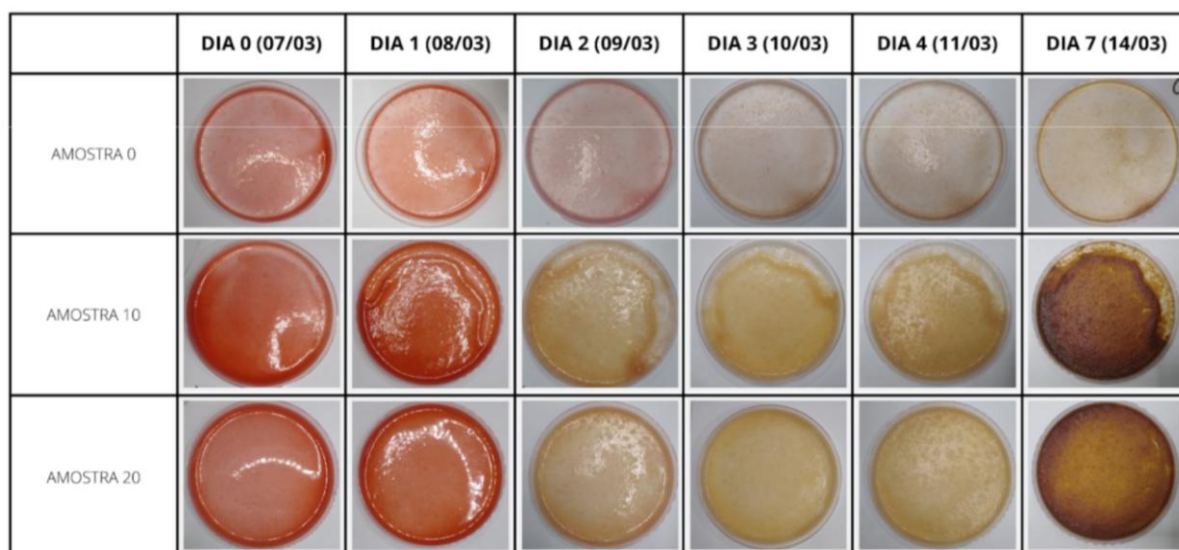


Figura 20- Amostras de extrato de morangos homogeneizadas com solução de quitosana sem infectante no centro da placa (Tabela 4) durante o período de 8 dias (07/03/2022 - 14/03/2022).

Fonte: Figura do autor.

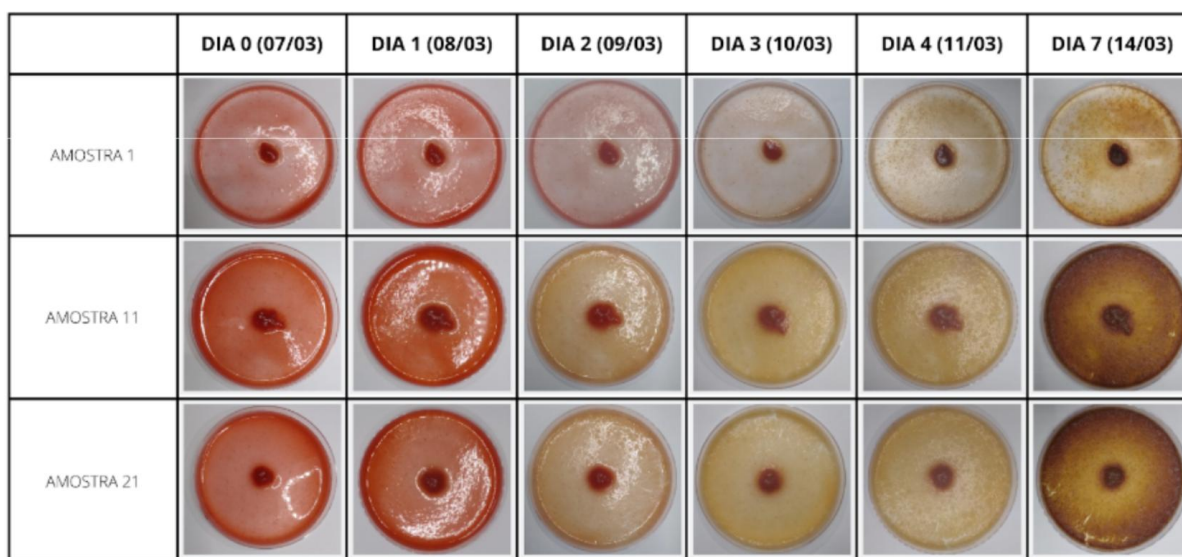


Figura 21 - Quadro de acompanhamento das alterações nas amostras 1, 11 e 21 (Tabela 4), com a mesma concentração de infectante no centro da placa, em diferentes quantidades de extrato de morango homogeneizado com solução de quitosana. Monitoramento durante o período de 8 dias (07/03/2022). Fonte: Figura do autor.

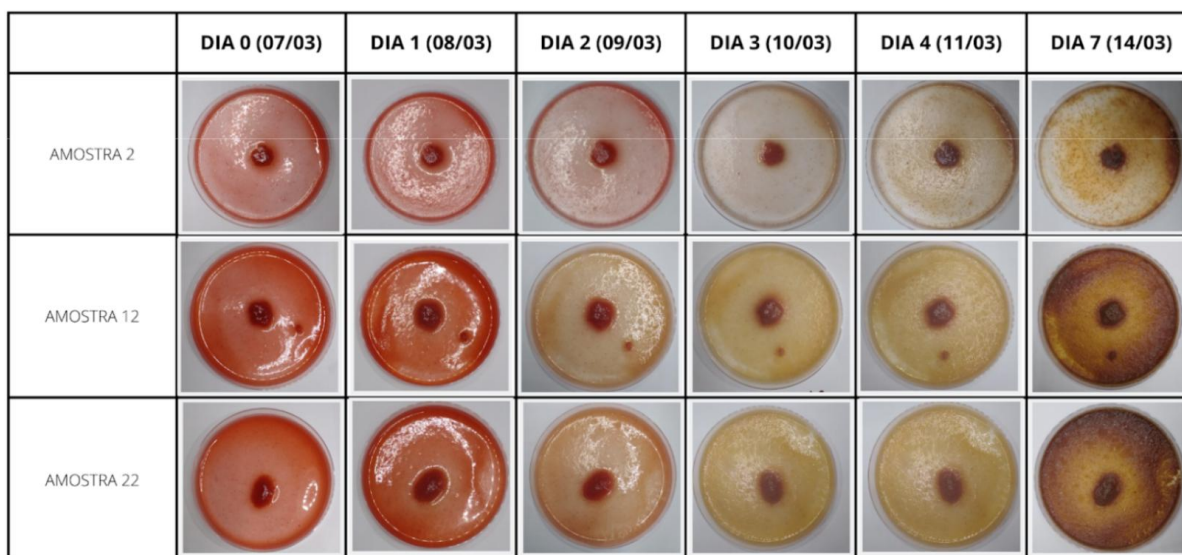


Figura 22 - Quadro de acompanhamento das alterações nas amostras 2, 12 e 22 (Tabela 4), com a mesma concentração de infectante no centro da placa, em diferentes quantidades de extrato de morango homogeneizado com solução de quitosana. Monitoramento durante o período de 8 dias (07/03/2022 – 14/03/2022). Fonte: Figura do autor.

Analisando o quadro presente na Figura 15, é possível observar o crescimento dos fungos na amostra 0 (sem adição do infectante), sendo um dos obstáculos na confiabilidade dessa metodologia, visto que, independentemente da presença do infectante na amostra, ela ainda sim apresentou contaminação, que pode ser cruzada, por estar no mesmo ambiente que as demais ou até mesmo já presente desde que estava na embalagem de morango, que foi comprada no dia da realização do teste.

Além disso, as repetições com a solução de quitosana a 2% em ácido acético, homogeneizada com o extrato de morango, não apresentaram o resultado desejado, embora tenha sido possível observar a inibição do crescimento de fungos; a quitosana acelerou a degradação da antocianina presente no morango. É possível a observação desse processo nas Figuras 20, 21 e 22, visto que o aparecimento evidente do tom amarelado se iniciou no sétimo dia, e nas amostras com adição de quitosana ocorre no segundo dia.

Após algumas repetições e a escolha da metodologia de utilizar o infectante no centro da placa, os testes foram considerados inviáveis para a pesquisa, visto que não era possível determinar com precisão a quantidade de fungos que poderia estar presente no “infectante”, apesar de haver uma tentativa de “padronização” utilizando um “peso base” de pedaços e extrato. Com isso, iniciou-se a reformulação da metodologia a ser utilizada e o uso do extrato de antocianina.

4.2. Produção das amostras de antocianina e quitosana

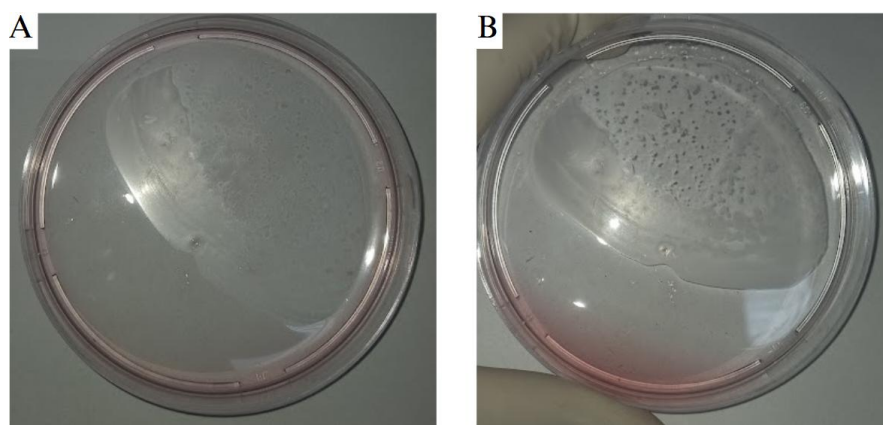


Figura 22 - A) Placa contendo quitosana homogeneizada com antocianina, apoiada sobre a mesa; B) Placa contendo quitosana homogeneizada com antocianina, inclinada. Fonte: Figura do autor.

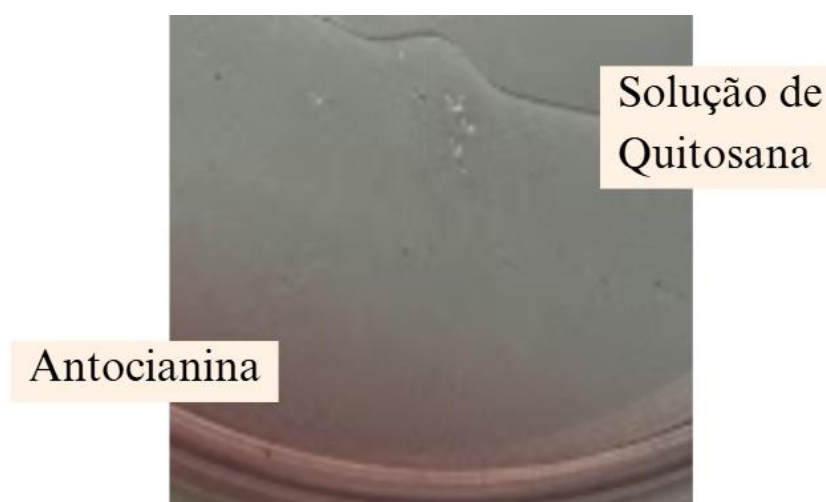


Figura 23 - Imagem ampliada da placa inclinada com a amostra mostrando a separação entre a quitosana e a antocianina. Fonte: Figura do autor.

Durante o processo de mistura entre a antocianina e a solução de quitosana a 2% de ácido acético, utilizando um agitador magnético, a amostra obtida apresentou apenas uma fase. Após algum tempo armazenados, os componentes se separaram; logo, observou-se a necessidade do uso de um agente ligante.

O processo de separação da antocianina da solução de quitosana ocorre devido às dificuldades de a quitosana se comportar fora de um meio ácido, de não ser solúvel em água (pH neutro/básico) e pela necessidade de maior desacetilação.

É importante mencionar que, ao ser misturada à solução de quitosana, a antocianina passa a apresentar uma tonalidade mais avermelhada devido à acidificação do meio. Após debates sobre possíveis compostos a serem usados como ligantes, propôs-se o uso de um composto com propriedades gelificantes, por manter a maleabilidade e permitir a aplicação da técnica de imersão em alimentos.

4.3. Adição da gelatina e ágar

As quantidades utilizadas de gelatina e ágar foram baseadas na quantidade recomendada para sua solubilização em 100 mL (convertida para 10 mL), a partir da qual se definiu o valor das demais amostras. Após a produção, foram armazenadas sob refrigeração até a completa secagem. O ágar obtido em uma loja de produtos naturais apresentou grânulos maiores. Antes da produção das amostras, o pó foi peneirado na tentativa de manter apenas os grânulos menores, o que não foi muito eficaz. Amostras contendo apenas ágar não formaram filme, mantiveram-se líquidas e grudaram na placa após o processo de secagem.

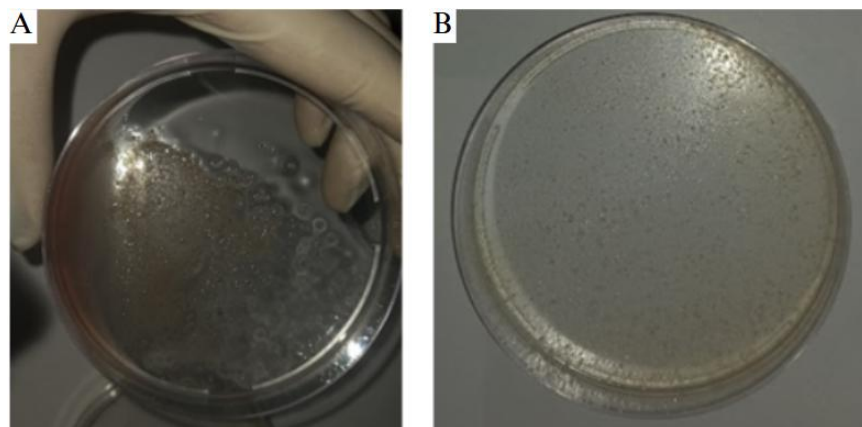


Figura 24— Amostras de ágar: A) antes da secagem e B) após a secagem. Fonte: Figura do autor.

As amostras com mistura de gelatina e ágar em sua composição tiveram efeito intermediário: algumas foram capazes de formar filme, porém apresentaram menor resistência e maior suscetibilidade à quebra, além de pouca maleabilidade quando manipuladas. Os filmes formados a partir das amostras com antocianina ficaram mais quebradiços e apresentaram maior opacidade e cor amarelada, em comparação às amostras que utilizaram gelatina, que apresentaram maior transparência e brilho.

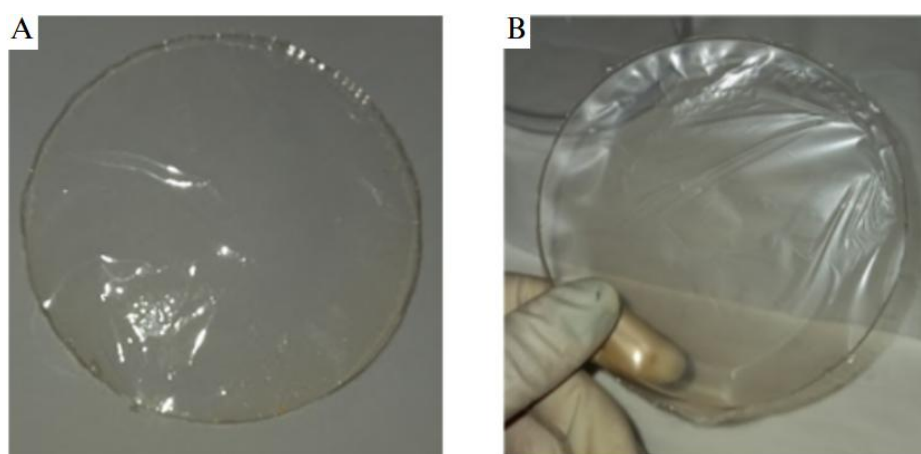


Figura 25 -Filmes de A) gelatina, e B) gelatina com antocianina. Fonte: Figura do autor.

4.4. Testes Espectroscópicos

Os filmes preparados com gelatina foram recortados e, em seguida, colocados entre duas lâminas de vidro quadradas e selados com um pequeno pedaço de fita adesiva. As amostras foram caracterizadas por espectroscopia de absorbância e de fluorescência (excitadas a 460 nm e 532 nm).

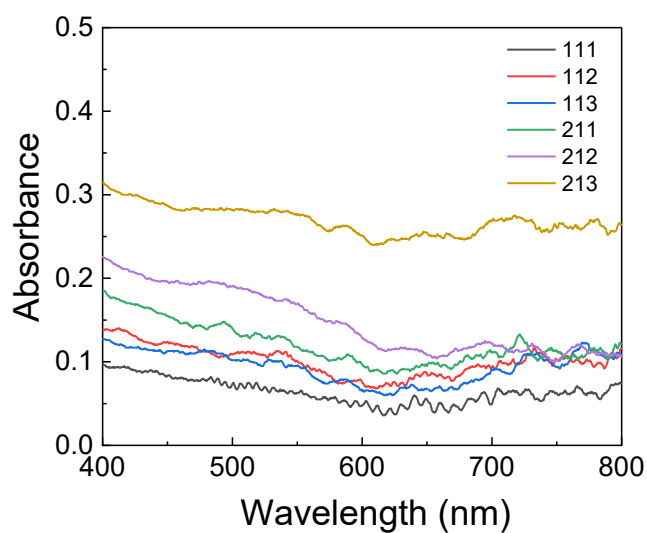


Figura 26- Espectros de absorbância dos diferentes biofilmes obtidos (Tabela 6). Fonte: Figura do autor.

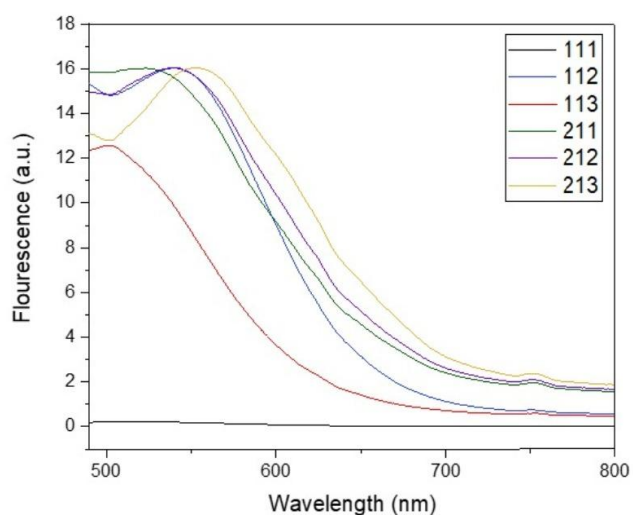


Figura 27 - Espectros de fluorescência dos biofilmes obtidos (Tabela 6), excitados a 460 nm. Fonte: Figura do autor.

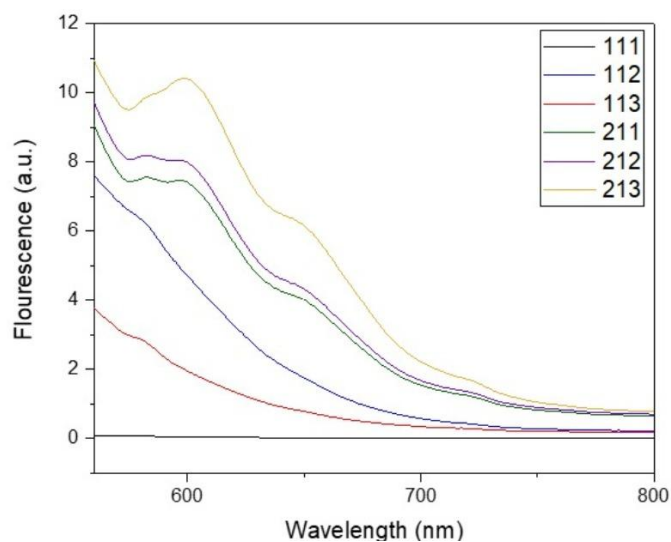


Figura 29 - Espectros de fluorescência dos biofilmes obtidos (Tabela 6), excitados a 532 nm.
Fonte: Figura do autor.

Após a repetição do teste de concentração de gelatina, fixou-se o valor de 0,195 g para cada 5 mL de amostra, e foram realizadas as conversões apresentadas na Tabela 19 para facilitar a realização de testes em diferentes concentrações.

Tabela 22– Variação da massa (g) da gelatina em relação ao volume das amostras.

Amostra (mL)	Gelatina (g)
5	0,195
10	0,390
20	0,780
25	0,975
30	1,365

Fonte: Própria.

4.5 Testes de Imersão

Após a definição da concentração de gelatina por amostra, iniciaram-se os testes com morango em rodela e extrato de morango (Figura 30), que apresentaram resultados satisfatórios em relação ao revestimento proposto.

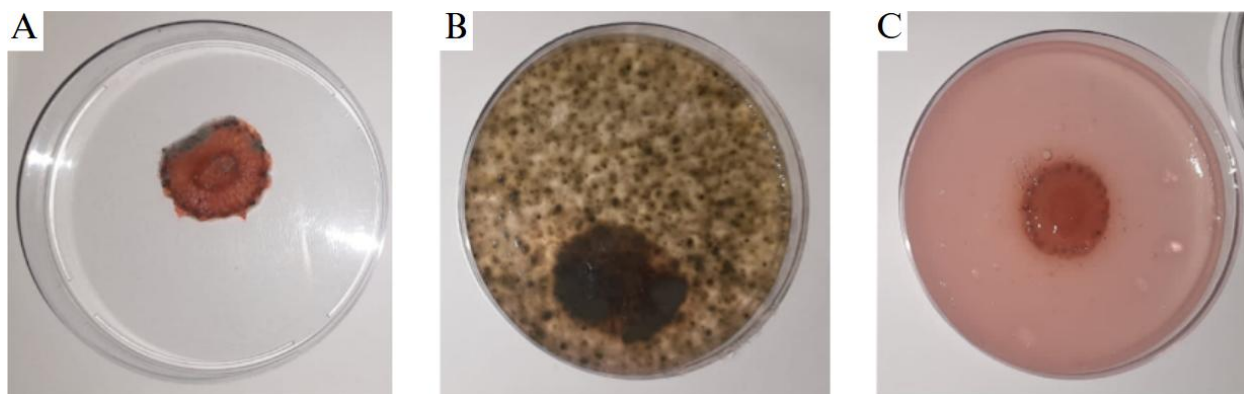


Figura 28 - Fotografias no 10º dia do teste para observar o crescimento fúngico: A) amostra 2.1.1; B) amostra 2.1.2; C) amostra 2.1.7 (Tabela 17). Fonte: Figura do autor.

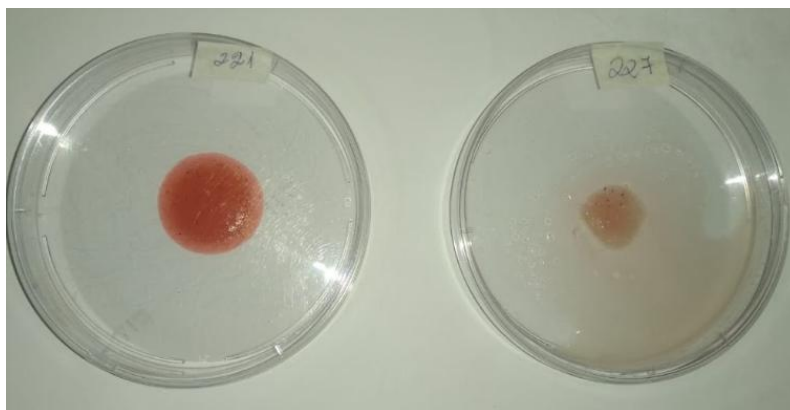


Figura 31 - Amostras 2.2.1 e 2.2.7 utilizando a metodologia de imersão com extrato de morango (Tabela 17). Fonte: Figura do autor.

A metodologia escolhida para dar continuidade aos testes foi a imersão dos pedaços de morango. As amostras com imersão do extrato apresentaram diluição do extrato no meio e, de modo geral, baixo aproveitamento (Figura 31). A partir desse ponto, a utilização do extrato de morango foi encerrada. O próximo passo teve como objetivo observar se os efeitos observados nas

amostras fatiadas se repetiriam em amostras com morango inteiro; aproveitou-se o teste para observar os efeitos da variação das concentrações de antocianina.

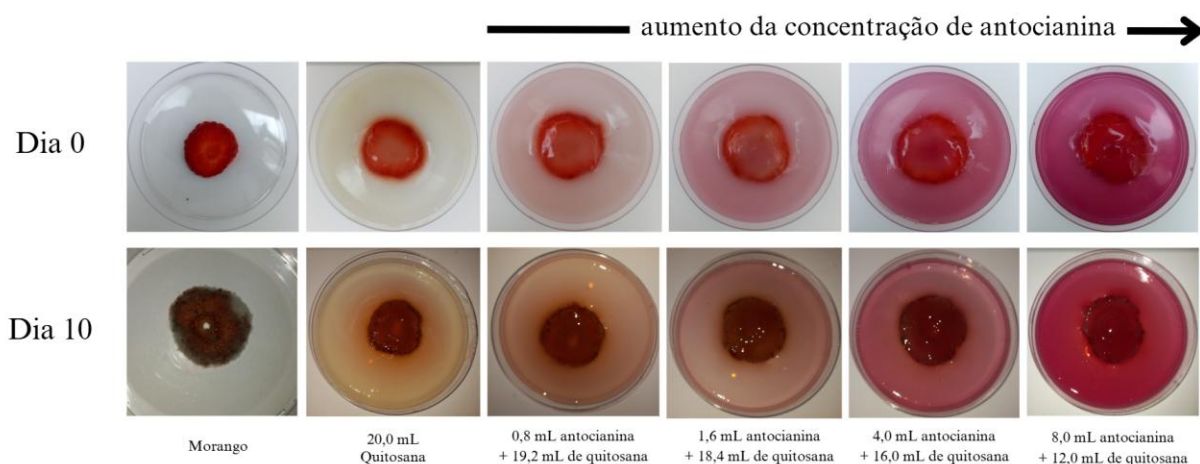


Figura 29 - Amostras de morangos cortados em diferentes concentrações de revestimento no dia inicial e final. Fonte: Figura do autor.

Observou-se que o aumento do uso de antocianina nas amostras resultou em um efeito antioxidante na coloração das amostras de morango (Figura 32). De qualquer forma, observa-se um aumento do efeito antioxidante nas amostras cortadas à medida que a concentração de antocianina aumenta.

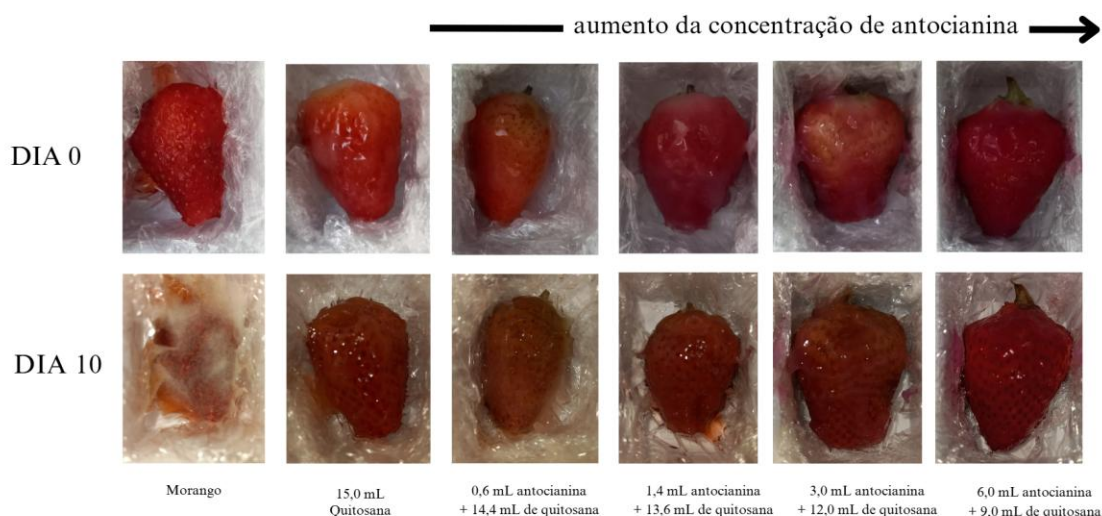


Figura 30- Amostras de morangos inteiros em diferentes concentrações de revestimento nos dias inicial e final. Fonte: Figura do autor.

A partir desse experimento, observou-se a proliferação de fungos na amostra que continha apenas o morango e a conservação da estrutura física dos demais (Figura 33). A diferença entre a amostra de quitosana e as demais está relacionada à presença e ao aumento da concentração de antocianina.

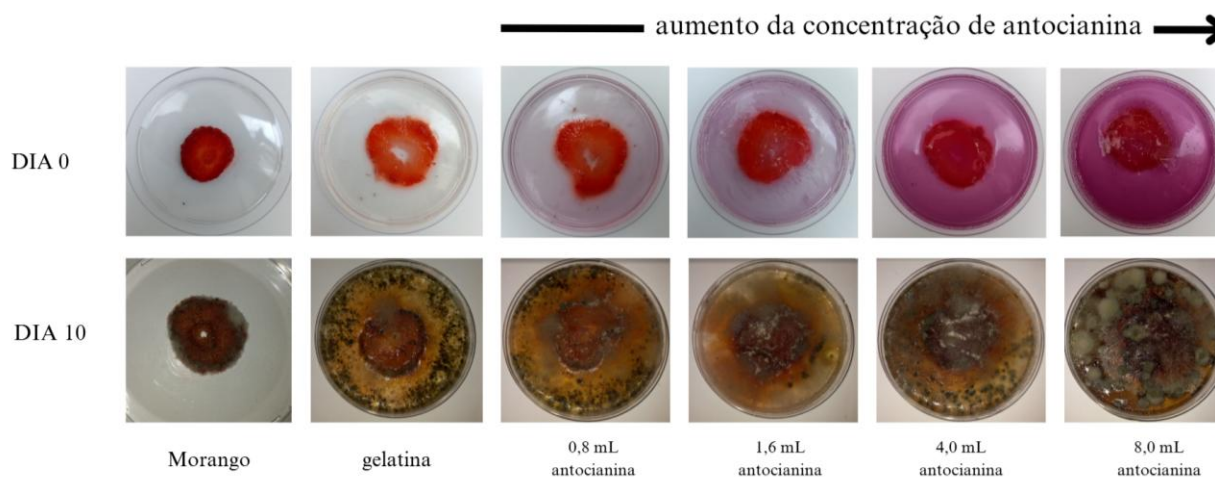


Figura 31- Amostras de morangos inteiros em diferentes concentrações de antocianina com gelatina nos dias inicial e final. Fonte: Figura do autor.

Com base nos testes de variação de concentração da antocianina nas amostras, definiu-se que a quantidade ideal a ser utilizada é de 4 mL de antocianina para cada 10 mL de revestimento.

As amostras contendo gelatina e antocianina apresentaram alta taxa de crescimento fúngico (Figura 34). Foi proposto observar se a acidificação da antocianina seria eficaz no combate ao crescimento de fungos na amostra, visto que bolores e leveduras apresentam dificuldades de crescimento em faixas de pH ácidas.

4.6. Acidificação da Antocianina

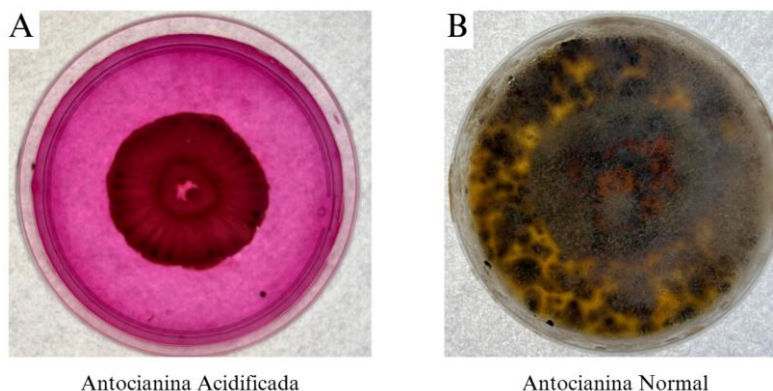


Figura 32 - A) Antocianina acidificada com gelatina no final do experimento; B) Antocianina com gelatina no final do experimento após 30 dias. Fonte: Figura do autor.

Os testes realizados com antocianina acidificada com 5% de ácido acético apresentaram resultados positivos, pois, além de inibirem o crescimento fúngico observado na antocianina extraída com água destilada, mantiveram o potencial antioxidante do composto (Figura 35). A partir desse experimento, levantou-se a hipótese de que parte da contaminação microbiológica poderia ter origem na própria água destilada utilizada na extração. Diante disso, optou-se pela substituição da água destilada por água ultrapura, a fim de avaliar eventuais alterações nos resultados.

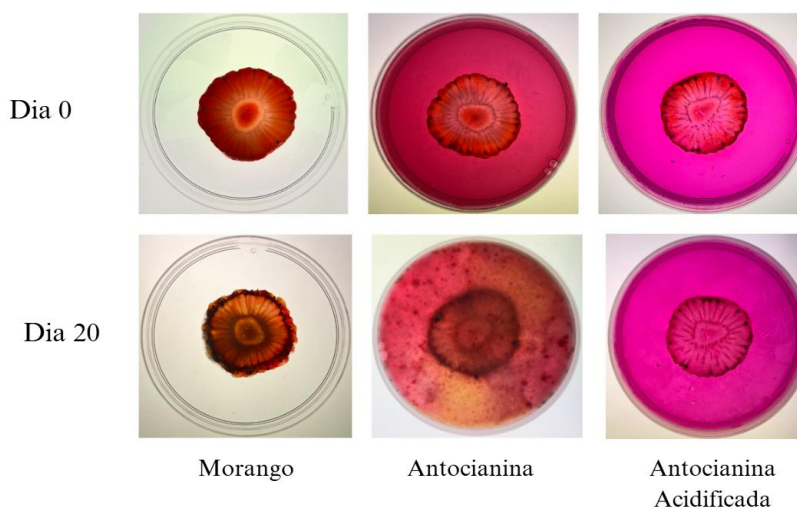


Figura 33 - Amostras de morango, antocianina e antocianina acidificada no primeiro e no último dia de experimento. Fonte: Figura do autor.

A antocianina extraída com água ultrapura apresentou, após um período, menor “contaminação” visível por fungos em comparação às amostras anteriores que utilizavam água destilada.

4.7. Repetição do teste de morangos inteiros

Repetiu-se o teste utilizando morangos inteiros, substituindo a água destilada por água ultrapura, e observou-se o efeito da antocianina acidificada nas amostras. O teste feito anteriormente com morangos inteiros (Figura 33) comparou o uso de diferentes concentrações de antocianina no revestimento à base de quitosana, já a repetição utilizou duas concentrações de antocianina: uma com 100% de extrato com gelatina e a outra usando a proporção de 40% de extrato, sendo ele acidificado ou não para ambas.

Uma versão do teste foi realizada na posição vertical, com auxílio de uma haste plástica (Figura 37), e outra na horizontal (Figura 38).

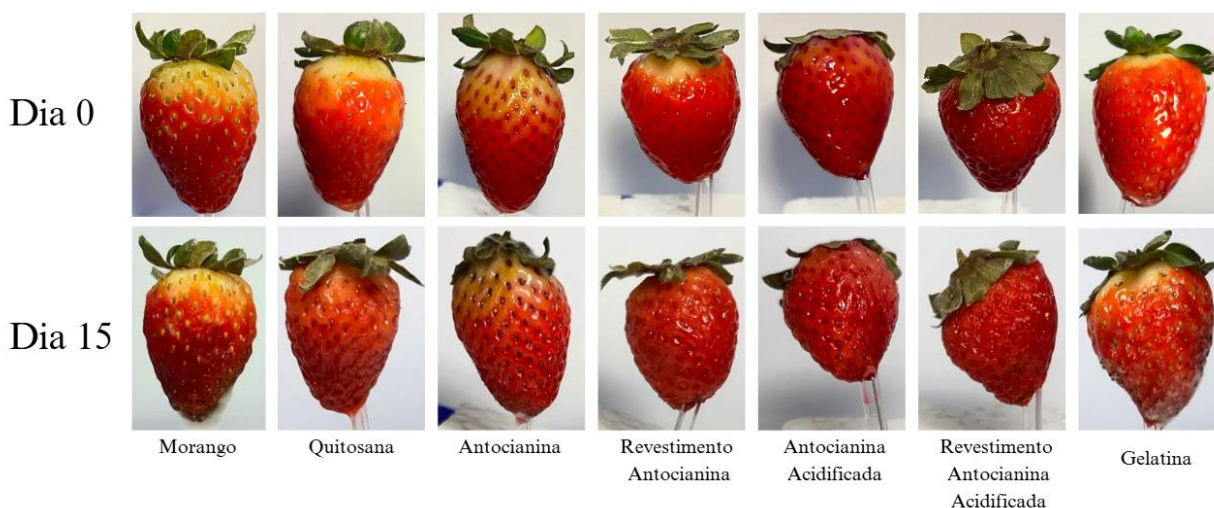


Figura 34 - Comparação das amostras de morangos inteiros em posição vertical nos dias 0 e 15.
Fonte: Figura do autor.



Figura 35 - Comparação das amostras de morangos inteiros em posição horizontal nos dias 0 e 15. Fonte: Figura do autor.

Em ambos os experimentos, as amostras de morango, antocianina e gelatina apresentaram crescimento fúngico (Figuras 37 e 38). É importante ressaltar que o metabolismo da fruta, mesmo em ambiente refrigerado, sofre um aceleração tanto na taxa de respiração quanto na transpiração quando exposta a circulação de ar reduzida, potencializando o crescimento dos micro-organismos ali presentes. Esse efeito pode ser notado quando se comparam as amostras que ficaram em um recipiente menor (Figura 38) às que ficaram em um recipiente maior (Figura 36).

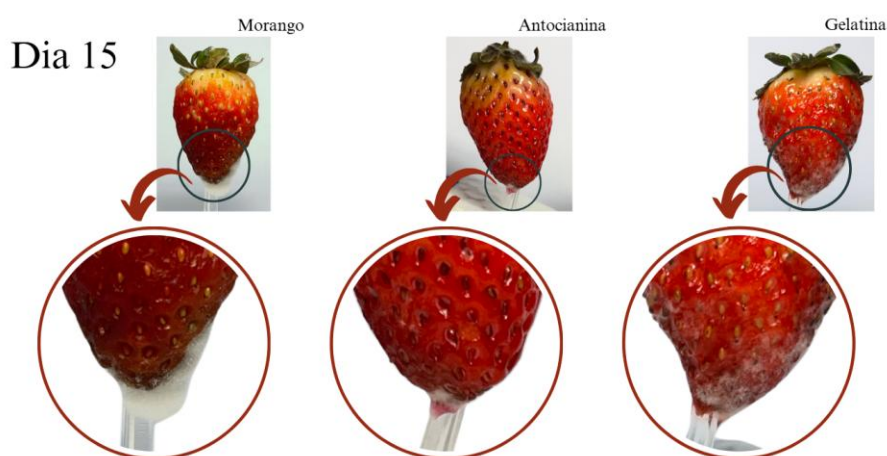


Figura 39 - Destaque para a presença de fungos nas amostras de morango, antocianina e gelatina após 15 dias de experimento. Fonte: Figura do autor.

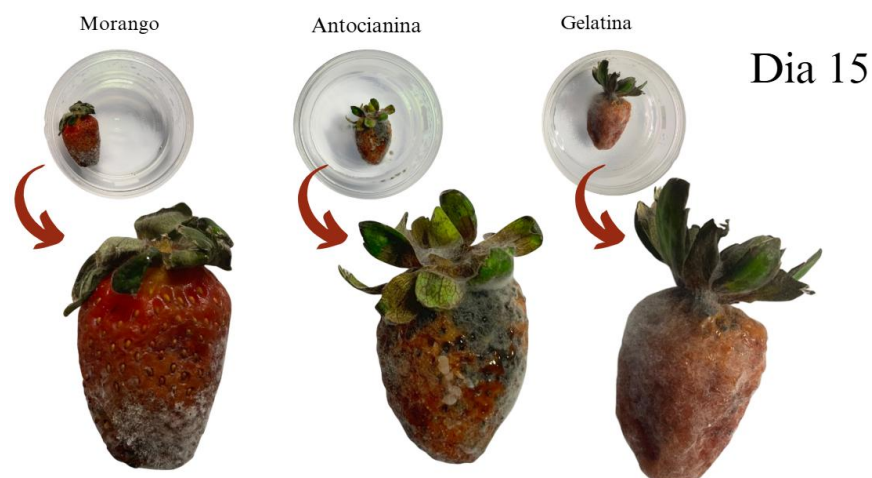


Figura 36 - Destaque para a presença de fungos nas amostras de morango, antocianina e gelatina após 15 dias de experimento. Fonte: Figura do autor.

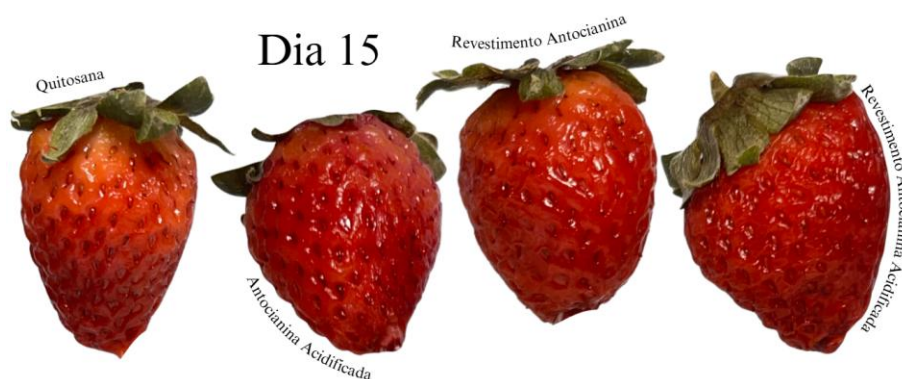


Figura 41 - Destaque das amostras de morango inteiro na vertical, revestidas com: quitosana, antocianina acidificada, antocianina e antocianina acidificada, após 15 dias de experimento. Fonte: Figura do autor.



Figura 37 - Destaque das amostras de morango inteiro na horizontal, revestidas com: quitosana, antocianina acidificada, antocianina e antocianina acidificada, após 15 dias de experimento. Fonte: Figura do autor.

Para a produção das amostras que ficaram na posição vertical, foi necessário o uso de um suporte (Figura 39), nesse caso, de plástico, que foi introduzido no seu interior, gerando dano à sua estrutura original e podendo acelerar outros processos metabólicos do fruto, além de servir como canal para contaminação interna. É possível observar, nas amostras apresentadas na Figura 39, que o crescimento fúngico ocorreu próximo ao local de inserção.



Figura 38 - Água derivada do processo de transpiração da fruta. Fonte: Figura do autor.

Também se observou maior presença de água ao redor do ambiente de armazenamento que continha as amostras (Figura 42). Apesar de todas apresentarem esse sinal, nas amostras revestidas com a quitosana ou com revestimento de quitosana e antocianina, sejam elas normais ou acidificadas, esse efeito foi reduzido devido à ação do revestimento ao cobrir parte dos estômatos, estruturas das plantas responsáveis por esse processo, presentes na superfície da fruta. No caso da antocianina acidificada, a alteração do pH é o principal fator responsável pela inibição do crescimento dos bolores (Figuras 41 e 42).

4.8. Medidas Espectroscópicas

Foram realizados experimentos de absorvância, fluorescência e FTIR nas amostras de Gelatina (G), Quitosana (Q), Antocianina (AN), Revestimento de Antocianina (RAN), Antocianina Acidificada (AAC), Antocianina Acidificada Diluída (AACD) e Revestimento de Antocianina Acidificada (RAAC) (Tabela 15). Os resultados obtidos a partir dos espectros de absorvância, FTIR e fluorescência são apresentados nas Figuras 44, 45 e 46, respectivamente. Na figura 43 foram observadas as bandas características da antocianina (Sthanley, 2019; Sthanley, 2023).

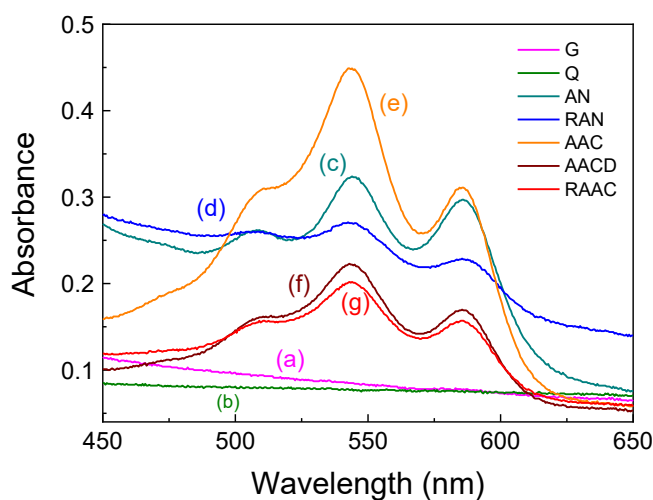


Figura 39 - Espectro de absorvância dos revestimentos da Tabela 15. Fonte: Figura do autor.

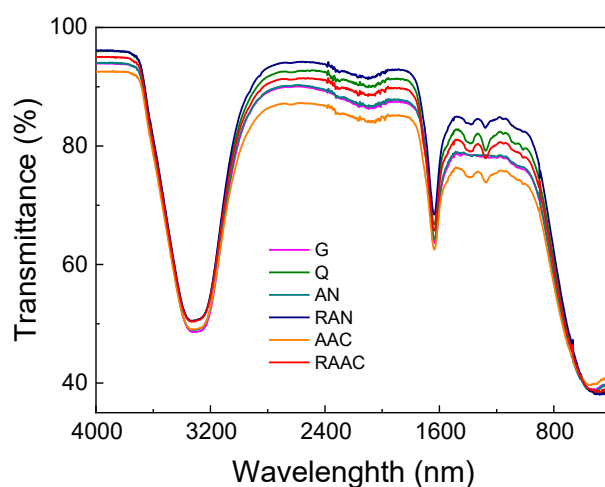


Figura 40- Espectros de FTIR das amostras de revestimentos da Tabela 15. Fonte: Figura do autor.

Com base nos dados obtidos nas medidas de fluorescência e de absorbância, foram realizados os cálculos utilizando as Equações (2-4). A partir desses cálculos, foram obtidos os dados apresentados nas Tabelas 23 e 24.

Tabela 23 – Dados do coeficiente de absorção e da espessura efetiva.

Amostra	α (cm ⁻¹)	Leff (cm)
G	1,013	0,6287
Q	0,898	0,6599
RAAC	2,026	0,4285
RAN	2,959	0,3204
AAC	4,329	0,2280
AN	3,154	0,3035
AACD	2,164	0,4090

Fonte: propria.

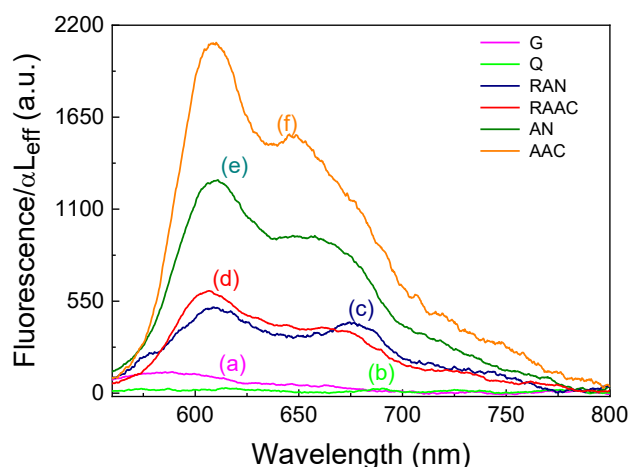


Figura 41 - Espectro de fluorescência dos revestimentos (excitados a 532 nm) da Tabela 15.
Fonte: Figura do autor.

Tabela 24– Valores do comprimento de onda médio de emissão das amostras de revestimento.

Amostra (mL)	PL (a.u)	PL * λ (a.u.* nm)	$\langle \lambda \rangle$ (nm)
G	6,50E+03	3,97E+06	610,34
Q	2,16E+03	1,43E+06	660,36
AN	3,92E+04	2,53E+07	645,05
AAC	4,56E+04	2,95E+07	647,21
RAN	1,93E+04	1,25E+07	648,29
RAAC	2,52E+04	1,63E+07	644,73

Fonte: Própria.

4.9. Adição de CDots de Abacate (sem e com dopagem com nitrogênio)

Foram realizados testes para observar os efeitos da adição dos CDots sintetizados no laboratório a partir do abacate e da quitosana nos revestimentos. Os CDots sintetizados a partir do abacate não apresentaram efeitos fungicidas nas amostras analisadas (Figura 47), apesar disso, observou-se que a sua adição, tanto dopada quanto não dopada, apresentou uma potencialização do efeito antioxidante da antocianina nas amostras (Figura 48).

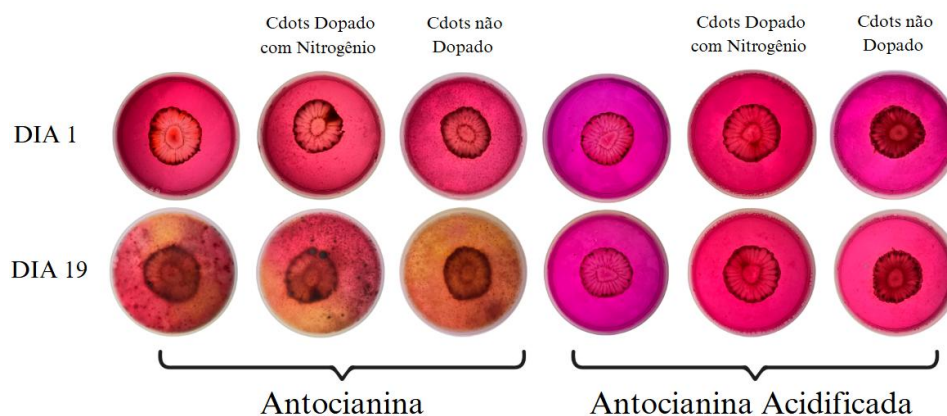


Figura 42 - Comparação das amostras de antocianina e de antocianina acidificada com 200 μ L de CDots de abacate, dopadas e não dopadas, ao longo de 19 dias de acompanhamento. Fonte: Figura do autor.

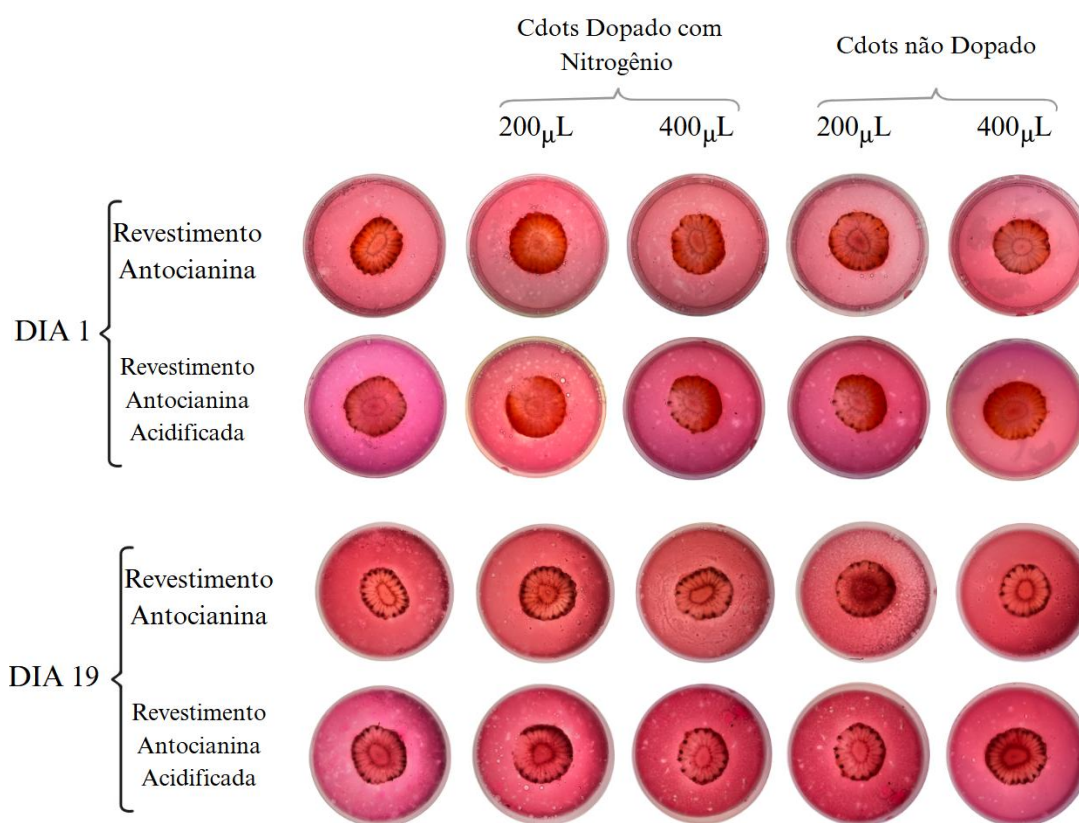


Figura 43 - Comparação das amostras de revestimento de quitosana e de antocianina/antocianina acidificada com diferentes concentrações de CDots de abacate ao longo de 19 dias de acompanhamento. Fonte: Figura do autor.

4.10 Adição de CDots de quitosana

As amostras foram observadas por 15 dias para análise dos efeitos da adição de CDots sintetizados a partir de quitosana (não dopados, Q100, e dopados com prata, P75) nos revestimentos desenvolvidos (Figuras 49 e 50).

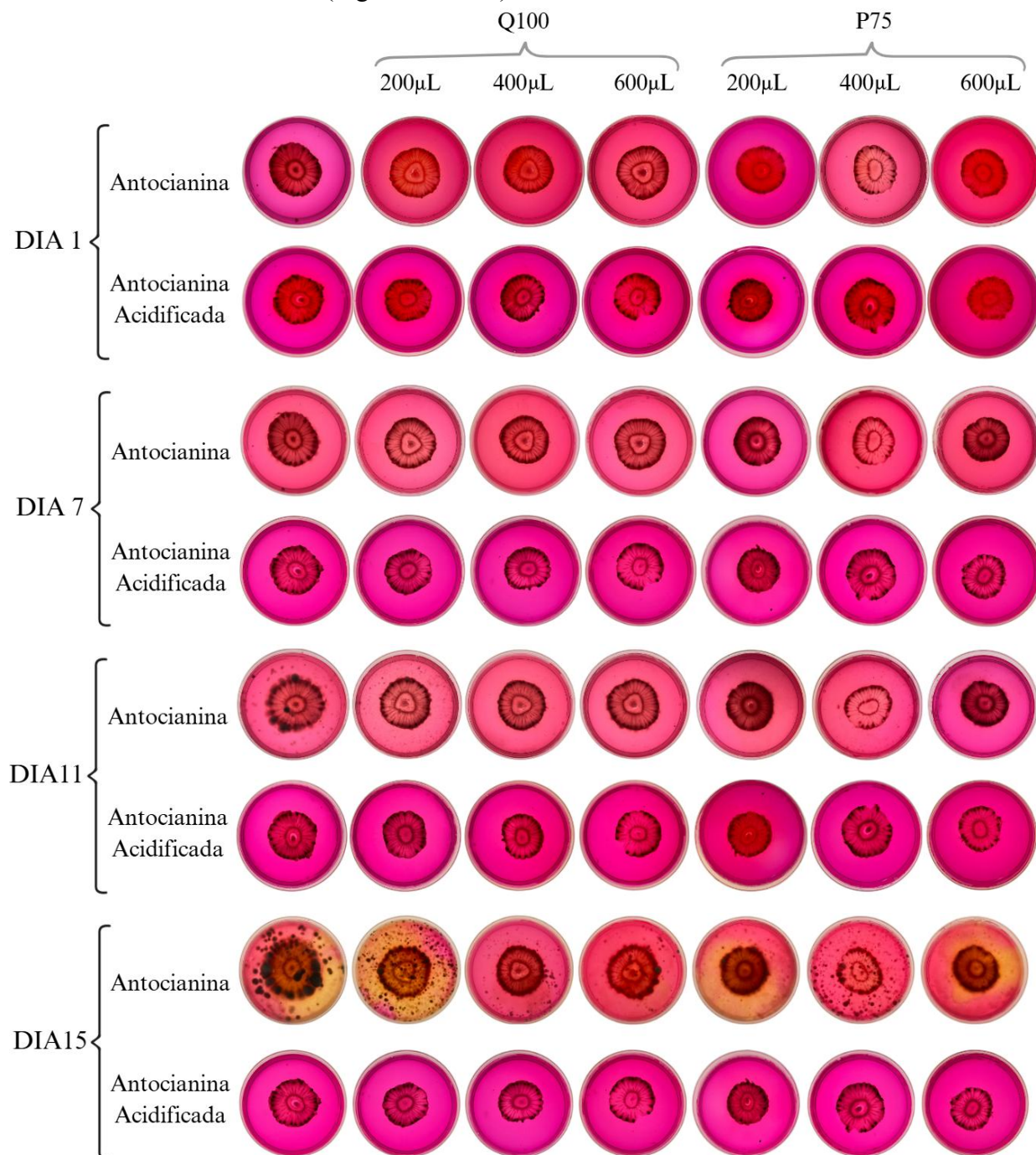


Figura 44 - Comparação das amostras de 100% de antocianina e de antocianina acidificada, com diferentes concentrações de CDots de quitosana dopada e não dopada, ao longo de 15 dias de acompanhamento. Fonte: Figura do autor.

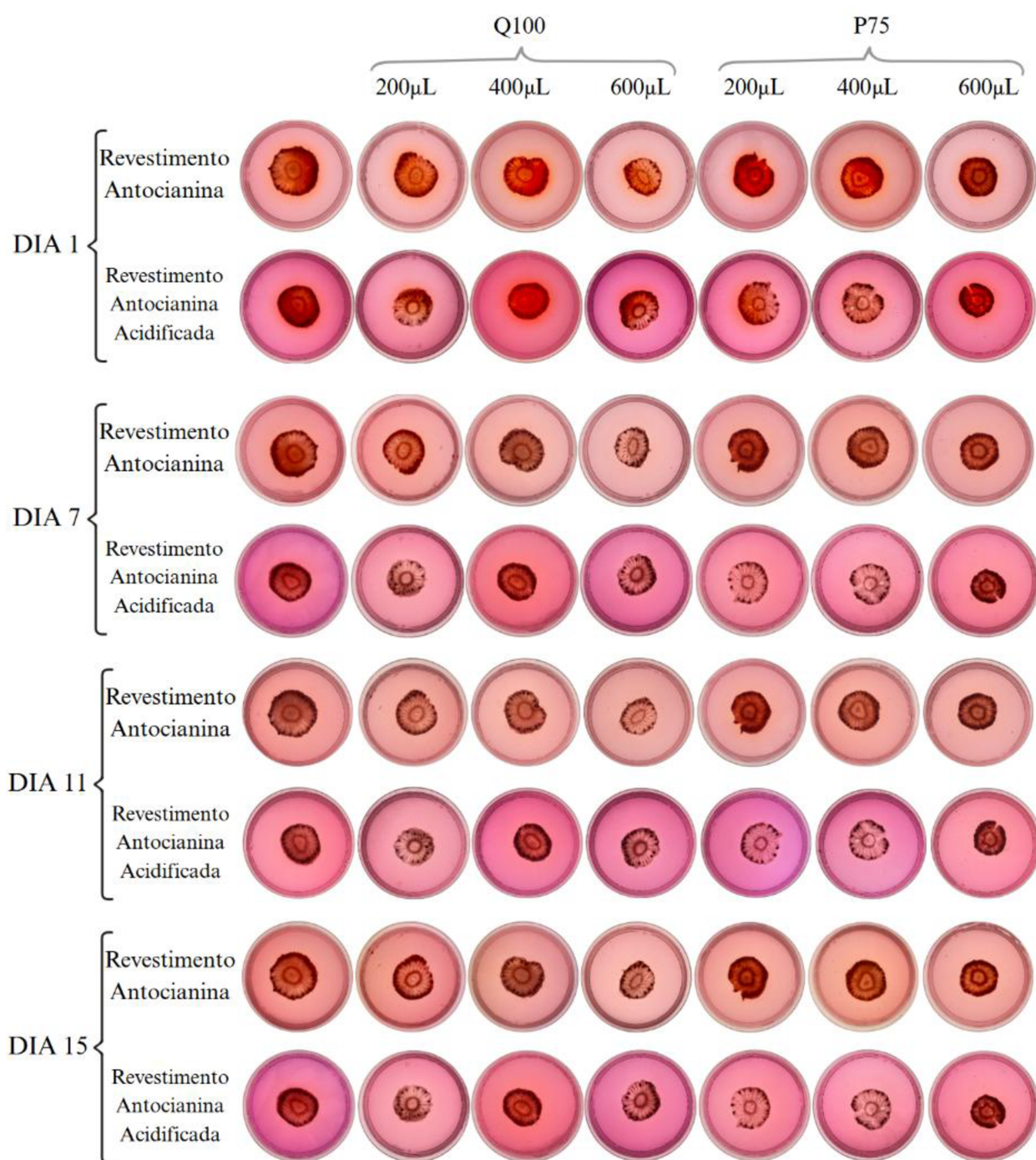


Figura 45 - Comparação das amostras de revestimentos de quitosana e antocianina/antocianina acidificada, com diferentes concentrações de CDots de quitosana dopada e não dopada, no período de 15 dias de acompanhamento. Fonte: Figura do autor.

Os CDots de quitosana (Q100) e os CDots de quitosana com adição de prata (P75) apresentaram efeito de desaceleração do crescimento dos fungos nas amostras. Houve uma redução no crescimento de fungos em relação à amostra de antocianina. A concentração de 600 μL da P75 apresentou o melhor resultado (Figuras 49 e 50). Nas Figuras 51, 52 e 53 são destacados o surgimento dos fungos nas amostras de antocianina com diferentes concentrações de antocianina no 7º, 11º e 15º dias, respectivamente.

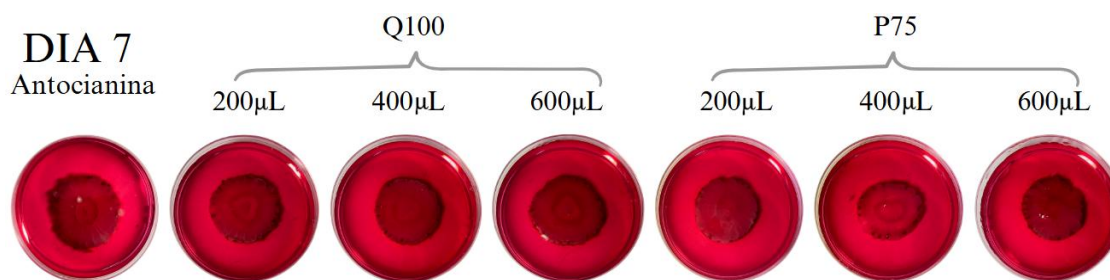


Figura 46 - Surgimento de fungos nas amostras de antocianina com diferentes concentrações de CDots no 7º dia de experimento. Fonte: Figura do autor.

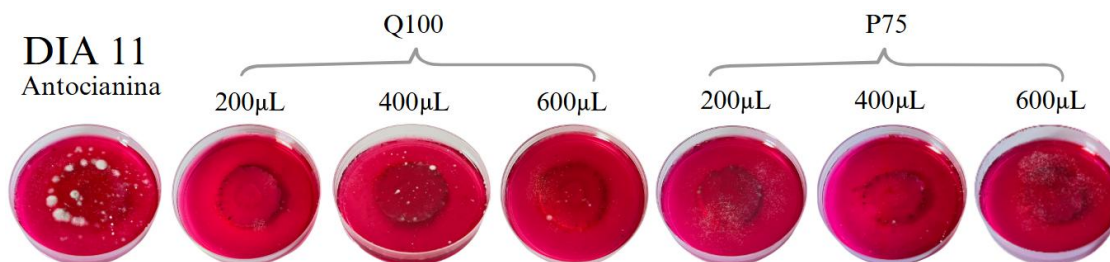


Figura 47 - Surgimento de fungos nas amostras de antocianina com diferentes concentrações de CDots no 11º dia de experimento. Fonte: Figura do autor.

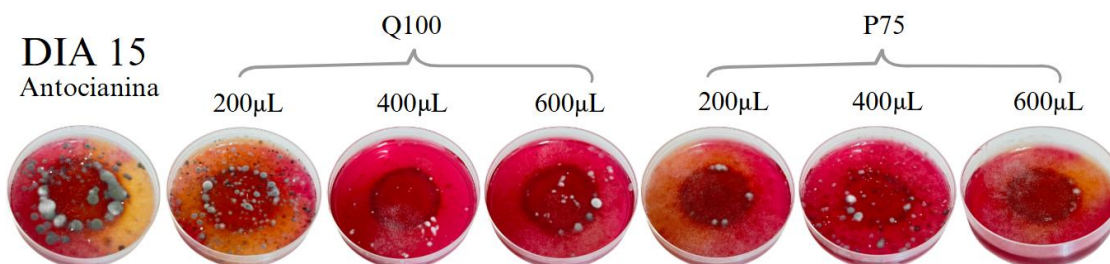


Figura 48 - Surgimento de fungos nas amostras de antocianina com diferentes concentrações de CDots no 15º dia de experimento. Fonte: Figura do autor.

4.11 Testes Microbiológicos

4.11.1 Identificação

A cepa coletada nos morangos investigados foi identificada como pertencente ao gênero *Penicillium* spp. A maior parte das espécies do gênero é fitopatogênica e ocorre em árvores frutíferas (Moretti; Sarroco, 2016). Devido à sua identificação visual, não foi possível definir uma espécie específica.

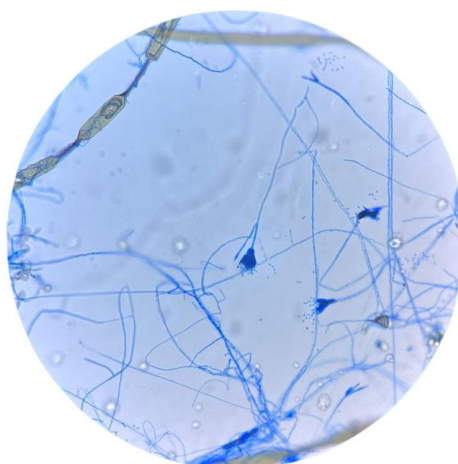


Figura 49– Cepa isolada e identificada como *Penicillium* spp. Fonte: Figura do autor.

4.11.1.1 Efeito Fungicida

As placas com ambos os revestimentos apresentaram inibição total do crescimento dos fungos (Figura 54).

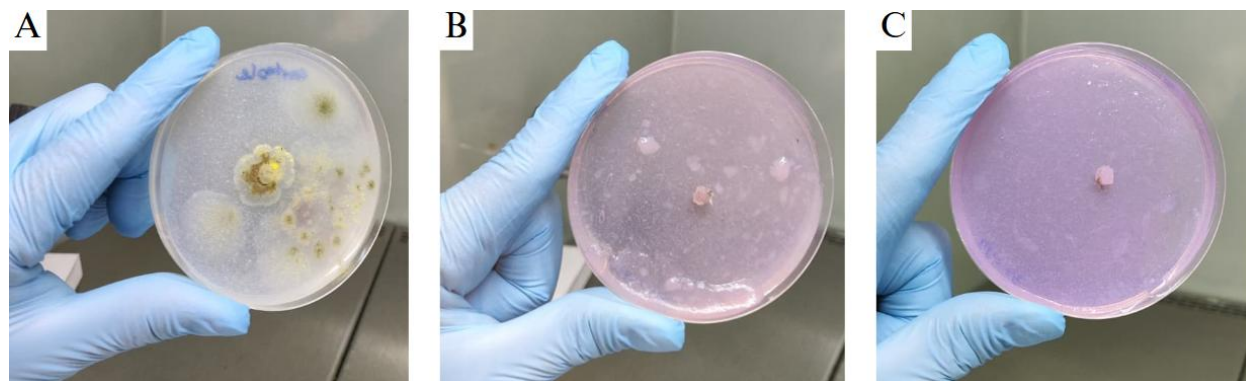


Figura 50– Amostras no décimo primeiro dia de teste: A) ágar batata; B) ágar batata + revestimento normal; C) ágar batata + revestimento acidificado. Fonte: Figura do autor.

4.11.2. Teste do efeito bactericida

Após 24 horas, as placas contendo as amostras de quitosana (Q), antocianina (AN), antocianina acidificada (AAC), revestimento com antocianina (RAN), revestimento com antocianina acidificada (RAAC) e controle com o antibiótico gentamicina (CG) foram retiradas da estufa, os halos de inibição do crescimento bacteriano foram medidos e, em seguida, foram calculadas as médias dos valores apresentados na Tabela 25.

Tabela 25 – Média dos halos de inibição

Amostra	Halo de Inibição (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Q	16,3	12
AN	--	--
AAC	15,6	6,3
RAN	14,6	--
RAAC	16,6	12
CG	21,5	23

Fonte: Própria.

As amostras apresentaram resultados positivos para inibição do crescimento da *Staphylococcus aureus*, bactéria Gram-positiva presente em alimentos quando realizada uma manipulação incorreta, podendo produzir enterotoxinas que causam intoxicação alimentar estafilocócica (ISF) (Argudín *et al.*, 2010), e um efeito moderado contra a *Escherichia coli*.

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi desenvolvido um revestimento à base de solução de quitosana, corante antocianina extraída da planta *Tradescantia pallida* purpurea e CDots de quitosana e de abacate.

Os CDots foram obtidos por meio de sínteses verdes, não dopadas e dopadas com nitrogênio e prata.

O objetivo foi avaliar os efeitos conservantes e antimicrobianos do revestimento desenvolvido relacionados à sua aplicação em alimentos *in natura* e minimamente processados. A composição base do revestimento apresentou resultados antioxidantes e antimicrobianos, além de aumento do tempo de prateleira; a adição de CDots potencializou algumas propriedades antioxidantes.

Os testes com morango comprovaram a efetividade da aplicação do material no aumento do tempo de prateleira. Foram realizadas medidas espectroscópicas (absorbância, fluorescência e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier), e os resultados das análises ópticas confirmaram a qualidade e estabilidade do revestimento obtido. As caracterizações microbiológicas tiveram como objetivo avaliar as propriedades antifúngicas e bactericidas. Com base nos resultados, conclui-se que o revestimento apresentou efeito fungicida sobre a cepa isolada de *Penicillium spp.*, e efeito bactericida contra *Staphylococcus aureus* e um efeito moderado contra a *Escherichia coli*.

Considerando a crescente demanda do mercado por alternativas sustentáveis, biodegradáveis e atóxicas, o presente estudo demonstrou a viabilidade da aplicação da cobertura alimentícia, desenvolvida tanto para alimentos minimamente processados quanto para *in natura*, reforçando seu potencial de contribuir para a conservação de alimentos e para a substituição parcial de embalagens convencionais.

6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. de C. S. **Desenvolvimento de nanopartículas de PLGA e PLGA revestidas com polissorbato 80 contendo ácido gálico.** 2015.

ARGUDÍN, M. Á.; MENDOZA, M. C.; RODICIO, M. R. **Food Poisoning and Staphylococcus aureus Enterotoxins.** *Toxins*, v. 2, n. 7, p. 1751–1773, 5 jul. 2010.

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

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*, São Carlos, v. 13, n. 4, p. 223–228, 2003.

BANKER, G. S. **Film coating theory and practice.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Washington, v. 55, n. 1, p. 81–89, 1966.

BRASIL. **Constituição da República Federativa do Brasil: 1988.** Brasília: Senado Federal, Centro Gráfico, 1988.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira.** Brasília: MS, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002.** Brasil.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos.** Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. 158 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRITO, G. F. de *et al.* **Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes.** Revista Eletrônica de Materiais e Processos, Campina Grande, v. 6, n. 2, p. 127–139, 2011.

CANTILLANO, F. **Pequenas Frutas: Manuseio e Qualidade Pós-colheita.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Clima Temperado Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Pelota - RS, 2011.

CEPPA, B.; CURITIBA. **Alterações fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de alimentos minimamente processados.** n. 1, p. 105–118, 2001.

CHA, D. S.; CHINNAN, M. S. **Biopolymer-based antimicrobial packaging: a review.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 44, n. 4, p. 223–237, jul. 2004.

CHAU, C.-F.; WU, S.-H.; YEN, G.-C. **The development of regulations for food nanotechnology.** Trends in Food Science & Technology, v. 18, n. 5, p. 269–280, maio 2007.

COLZATO, M. *et al.* **¹H NMR investigation of oil oxidation in macadamia nuts coated with zein-based films.** Journal of Food Processing and Preservation, v. 35, n. 6, p. 790–796, 2011.

DELGAO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. **Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains — characteristics, biosynthesis, processing, and stability.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 40, n. 3, p. 173–289, 2000.

DIAS, V. M. *et al.* **Optical Characterization in Annatto and Commercial Colorific.** Journal of Fluorescence, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 415–421, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10895-010-0730-1>

DIAS, V. M. *et al.* **Caracterização óptica de Bixina extraída de sementes de urucum.** XII Encontro Latino-Americano de Iniciação Científica e VIII Encontro Latino-Americano de Pós-Graduação, n. 53, p. 4, 2009.

DOMARD, A. **pH and c.d. measurements on a fully deacetylated chitosan: application to CuII—polymer interactions.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 9, n. 2, p. 98–104, abr. 1987.

DU, R., Liu, J., Sun, P. *et al.* **Inhibitory effect and mechanism of Tagetes erecta L. fungicide on Fusarium oxysporum f. sp. niveum .** Sci Rep 7, 14442 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14937-1>

EVANS-NGUYEN, K. **An introduction to instrumentation used in fire debris and explosive analysis.** In: EVANS-NGUYEN, K.; HUTCHES, K. Forensic analysis of fire debris and explosives. Cham: Springer, 2019. p. 37–38.

FECHINE, G. J. M. **A era dos polímeros biodegradáveis.** Plástico Moderno, n. 423, 2010.

FENG, Q. L. *et al.* **A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus.** Journal of Biomedical Materials Research, v. 52, n. 4, p. 662–668, 2000.

FREITAS, V. **O mundo colorido das antocianinas.** Revista Ciência Elementar, v. 7, n. 2, p. 017, 2019.

GALO, A.; COLOMBO, M. F. **Espectrofotometria de longo caminho óptico emespectrofotômetro de duplo-feixe convencional: uma alternativa simples para**

investigações de amostras com densidade óptica muito baixa. Química Nova, [s.l.], v. 32, n. 2, p. 488-492, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000200036>.

GHAOUTH, A. *et al.* **Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries.** Journal of Food Science, v. 56, n. 6, p. 1618–1620, 1991.

GHORMADE, V.; PATHAN, E. K.; DESHPANDE, M. V. **Can fungi compete with marine sources for chitosan production?** International Journal of Biological Macromolecules, v. 104, p. 1415–1421, nov. 2017.

GOOSEN, M. E. **Applications of chitin and chitosan.** Lancaster: Technomic Publishing Company, 1996.

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.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. **The chemistry behind antioxidant capacity assays.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 25 fev. 2005.

INTEGRADO DE VIGILÂNCIA, M. **Prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos.** Ministério da Saúde, Brasília – DF, 2010. [S.l: s.n.].

KOMBAIAH, K. *et al.* **Conventional and microwave combustion synthesis of optomagnetic CuFe₂O₄ nanoparticles for hyperthermia studies.** Journal of Physics and Chemistry of Solids, v. 115, p. 162–171, 2018.

KONGPICHITCHOKE, T.; HSU, J.-L.; HUANG, T.-C. **Number of hydroxyl groups on the B-ring of flavonoids affects their antioxidant activity and interaction with phorbol ester**

binding site of PKC δ C1B domain: In vitro and in silico studies. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 63, n. 18, p. 4580–4586, 2015.

LACOSTE, A. *et al.* Advancing controlled release packaging through smart blending. Packaging Technology and Science, v. 18, n. 2, p. 77–87, 2005.

LIMON, T. *et al.* **Chitosan coatings reduce fruit fly (*Anastrepha obliqua*) infestation and development of the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* in Manila mangoes.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 101, n. 7, p. 2756–2766, 2020.

LIMA, S. **Medidas de parâmetros termo-ópticos e de eficiência quântica da fluorescência em líquidos por interferometria e difração cônica de origem fototérmica.** 2018. 107 f. Dissertação (Pós-graduação em Física). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.14393/ufu.di.2019.346>

LOPES, C. **Estudos de fluorescência estacionária e resolvida no tempo de anestésicos locais e de antibióticos da classe das fluoroquinolonas.** 2015.

MORETTI, A. *et al.* **Fungi.** Encyclopedia of Food and Health, p.162-168, 2016.

MUNKVOLD, G. P. *et al.* Mycotoxins in Corn: Occurrence, Impacts, and Management. **Corn**, p. 235–287, 2019.

NARAYAN, M. S. *et al.* **Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation.** Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, v. 60, n. 1, p. 1–4, 1999.

PAVINATTO, A. *et al.* **Coating with chitosan-based edible films for mechanical/biological protection of strawberries.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 151, p. 1004–1011, mai. 2020.

PILON, L. Segurança das hortaliças minimamente processadas. Hortaliças em Revista, Brasília, ano 6, n. 23, p. 16–17, set./dez. 2017. ISSN 2359-3172.

PROGRAMA NACIONAL DE ALIMENTAÇÃO ESCOLAR (PNAE). Disponível em: <https://www.gov.br/secom/pt-br/acesso-a-informacao/comunicabr/lista-de-acoes-e-programas/programa-nacional-de-alimentacao-escolar-pnae>. Acesso em: 10 jul. 2025.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal.** 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RINAUDC, M.; PAVLOV, G.; DESBRIÈRES, J. **Solubilization of chitosan in strong acid medium.** International Journal of Polymer Analysis and Characterization, v. 5, n. 3, p. 267–276, jun. 1999.

SCRAMIN, J. A. *et al.* **Characterisation of zein oleic acid films and applications in fruit coating.** International Journal of Food Science & Technology, v. 46, n. 10, p. 2145–2152, 2011.

SERNA, T. B. *et al.* **Thermo-optical characterization of fluorescent materials based on edible vegetable oils.** Dyes and Pigments, v. 236, p. 112662, maio 2025.

SKOOG, D. A. **Fundamentals of analytical chemistry.** Australia; United Kingdom: Brooks/Cole, Cengage Learning, 2014.

SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. **Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications.** Trends in Food Science & Technology, v. 18, n. 2, p. 84–95, fev. 2007.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. Disponível em: <http://www.centrovegetariano.org/Cat-33-Frutos.html>.

STHANLEY, R. de L. *et al.* **Fluorescence quantum yield of natural dye extracted from Tradescantia pallida purpurea as a function of the seasons: Preliminary bioapplication as a fungicide probe for necrotrophic fungi.** Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v. 200, p. 111631, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111631>

STHANLEY, R. de L. **Caracterização óptica de corante natural e pontos de carbono fluorescentes para bioaplicações.** Tese de Doutorado, Instituto de Física, Universidade Federal de Uberlândia UFU, 2023.

URONE, Paul Peter, and Roger Hinrichs. **30.3 Bohr's Theory of the Hydrogen Atom.** College Physics (2016).

VALEUR, Bernard, and Mário Nuno Berberan-Santos. **Molecular fluorescence: principles and applications.** John Wiley & Sons, 2012.

ATVARS, Teresa DZ, and Cláudia Martelli. **Espectroscopia de luminescência.** Revista Chemkeys 2 (2002): 1-9.