



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

FABIANA CRISTINA DE ARAUJO NASCIMENTO

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DOS EXTRATOS E ÓLEOS DE CANELA E CIPÓ D'
ALHO E APLICAÇÃO EM FILMES BIODEGRADÁVEIS – ESTUDO
EXPERIMENTAL E TEÓRICO.**

BELÉM

2022

FABIANA CRISTINA DE ARAUJO NASCIMENTO

OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DOS EXTRATOS E ÓLEOS DE CANELA E CIPÓ D'ALHO E APLICAÇÃO EM FILMES BIODEGRADÁVEIS - ESTUDO EXPERIMENTAL E TEÓRICO.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará (UFPA), como requisito para obtenção do Título de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Maria Regina Sarkis Peixoto Joele

Coorientador: Prof Dr Davi do Socorro Barros Brasil

BELÉM

2022

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

D278o de Araujo Nascimento, Fabiana Cristina
Obtenção e Avaliação dos extratos e óleos de canela e cipó d'alho e aplicação em filmes biodegradáveis-Estudo experimental e teórico. / Fabiana Cristina de Araujo Nascimento. — 2022.
88 f. : il. color.

Orientador(a): Profª. Dra. Maria Regina Sarkis Peixoto Joele
Coorientador(a): Prof. Dr. Davi do Socorro Barros Brasil
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia,
Universidade Federal do Pará, Belém, 2022.

1. filmes biodegradáveis. 2. extratos e óleos de canela e cipó d'alho. 3. *Aspergillus niger*. 4. docagem molecular. I. Título.

CDD 664.02

FABIANA CRISTINA DE ARAUJO NASCIMENTO

OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DOS EXTRATOS E ÓLEOS DE CANELA E CIPÓ D'ALHO E APLICAÇÃO EM FILMES BIODEGRADÁVEIS - ESTUDO EXPERIMENTAL E TEÓRICO.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará (UFPA), como requisito para obtenção do Título de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

DATA DA AVALIAÇÃO: 30 / 08 / 2022

CONCEITO: APROVADA

BANCA EXAMINADORA

MARIA REGINA SARKIS
PEIXOTO
JOELE:16547780287

Assinado de forma digital por
MARIA REGINA SARKIS PEIXOTO
JOELE:16547780287

Prof^ª. Dra. Maria Regina Sarkis Peixoto Joele
(IFPA/Campus Castanhal - Orientadora)

Documento assinado digitalmente



DAVI DO SOCORRO BARROS BRASIL
Data: 06/10/2022 15:11:17-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Davi do Socorro Barros Brasil
(FEQ/ITEC/UFPA – Coorientador)

Documento assinado digitalmente



Lucia de Fatima Henriques Lourenco
Data: 05/10/2022 15:29:22-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^ª. Dra. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço
(FEA/ITEC/UFPA - Membro Interno)

Documento assinado digitalmente



RENATO ARAUJO DA COSTA
Data: 06/10/2022 09:35:38-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Renato Araújo da Costa
(IFPA/ Campus Castanhal – Membro Externo)

BELÉM
2022

Dedico esta Dissertação a minha avó Maria Nascimento, aos meus pais, Paulo Nascimento e Cristina Araújo, minhas irmãs, Flávia e Juliane e tia Celi Campelo por serem o apoio e incentivo nessa caminhada em busca do conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, por estar sempre presente em minha vida, guiando-me no caminho correto e protegendo-me.

A minha querida e amada avó-mãe Maria Campelo, por depositar seu amor e confiança em mim e por estar sempre me incentivando e caminhando ao meu lado nos momentos bons e ruins.

Aos meus pais, Paulo e Cristina bem como minhas irmãs Flávia e Juliane, pelo amor, apoio e por acreditarem no meu potencial.

Aos meus avós, Júlio, Dorothea e Francisco que mesmo não estando presentes nesse momento, tenho certeza que sempre estiveram caminhando ao meu lado durante todo esse tempo.

A minha tia, Celi, pela criação, pelo incentivo aos estudos e pelo apoio regado de palavras positivas e de perseverança.

A minha orientadora, professora Dra. Maria Regina Sarkis Peixoto Joele e coorientador Davi do Socorro Barros Brasil por terem dedicado parte de seu tempo para orientar-me durante a realização dessa pesquisa, com os quais obtive um grande aprendizado, sendo exemplos a serem seguidos por mim na construção da minha carreira acadêmica. Muito obrigada aos dois pela dedicação e compromisso com a pesquisa.

A professora Dra. Solange Evangelista Costa pela colaboração e auxílio primordiais para que a pesquisa obtivesse resultados tão significativos, o cuidado e paciência na condução dos experimentos. Muito obrigada pelo ensino a mim dedicado e saiba que obtive um grande aprendizado.

Aos colaboradores Raimundo da Silva Monteiro, Wandson Brancamp, Rafaela Oliveira, Renato Costa, pelo auxílio e colaboração com a pesquisa com os quais obtive um grande aprendizado, muito obrigada.

As amigas Gyselle dos Santos Conceição, Lorena Vieira e Ana Carolina Silva pela amizade, apoio e por todo auxílio fundamental na construção da pesquisa.

A Cilla Noronha, pelo apoio, compreensão, carinho e amor a mim dedicado.

Ao amigo Fauzi Fraiha, que mesmo não estando mais presente fisicamente sempre estive e continuará presente em meu pensamento guiando-me no caminho certo.

A CAPES pela concessão de minha bolsa de Mestrado.

“Jamais se desespere em meio às sombrias aflições de sua vida, pois das nuvens mais negras cai água límpida e fecunda.”

Provérbio Chinês.

RESUMO

Diversas especiarias como as frutas secas e grãos alimentícios são propícios à contaminação por fungos filamentosos, como a espécie *Aspergillus niger*, aumentando o risco da ingestão de micotoxinas por parte da população. A produção de filmes biodegradáveis adicionados de extratos e óleos essenciais podem conferir aos mesmos propriedade antifúngicas. Com isso, este trabalho teve como objetivo desenvolver filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca com adição de extratos e óleos de canela e cipó d'alho e avaliar sua eficiência perante o fungo *Aspergillus niger*. Os extratos etanólicos e aquosos foram obtidos por extração por soxlet e maceração, respectivamente, enquanto que, os óleos foram obtidos por hidrodestilação. Para identificação dos compostos majoritários dos extratos e óleos foram realizadas análises de RMN e de Cromatografia Gasosa. Esses compostos identificados foram selecionados como ligantes perante a enzima glicose oxidase produzida pelo fungo para o estudo teórico por meio de Docagem Molecular. Os extratos e óleos foram avaliados em testes antifúngicos de difusão em discos e poços, respectivamente. Os filmes biodegradáveis foram elaborados com extrato e óleos de canela e cipó d'alho que apresentaram melhor desempenho nos testes antifúngicos. Todos os filmes elaborados foram avaliados no teste antifúngico por meio da técnica de difusão em discos. No estudo teórico por meio da Docagem Molecular, todos os ligantes presentes nos extratos e óleos apresentaram ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos chave da enzima glicose oxidase sendo Histidina (His 559 A), Treonina (Thr 110 A) e Arginina (Arg 512 A). Nos testes antifúngicos, o extrato etanólico da espécie vegetal cipó d'alho apresentou maior halo de inibição de 15mm na concentração de 20mg/ml enquanto que os testes antifúngicos para os óleos, nos volumes de 1 µL; 5 µL e 10 µL revelaram a formação de halos de inibição de 25mm; 28mm e 30 mm para o óleo da canela. Enquanto que, no filme com o óleo do cipó d'alho, ocorreu a inibição da germinação do referido fungo durante 9 dias de experimento. Os testes antifúngicos dos filmes revelaram que os filmes com surfactante contendo óleo do cipó d'alho não apresentaram halos de esporulação e nem crescimento micelial sobre os filmes 1 e 2 durante as 48h do experimento, sugerindo que ocorreu inibição do crescimento do fungo por meio dos filmes.

Palavras-chave: filmes biodegradáveis; extratos e óleos de canela e cipó d'alho; *Aspergillus niger*; docagem molecular.

ABSTRACT

Various spices such as dried fruits and food grains are prone to contamination by filamentous fungi, such as the species *Aspergillus Niger*, increasing the risk of ingestion of mycotoxins by the population. The production of biodegradable films added to extracts and essential oils can give the same antifungal properties. Thus, this study aimed to develop biodegradable films based on cassava starch with addition of extracts and oils of cinnamon and garlic vine and evaluate its efficiency against the fungus *Aspergillus Niger*. The ethanol and aqueous extracts were obtained by Soxhlet extraction and maceration, respectively, while the oils were obtained by hydrodistillation. To identify the major compounds of the extracts and oils, NMR and Gas Chromatography analyzes were performed. These compounds identified were selected as ligands before the enzyme glucose oxidase produced by the fungus for the theoretical study through Molecular Docking. The extracts and oils were evaluated in antifungal diffusion tests in discs and wells, respectively. The biodegradable films were prepared with extract and oils of cinnamon and garlic vine that showed better performance in antifungal tests. All the elaborated films were evaluated in the antifungal test by means of the technique of diffusion in discs. In the theoretical study through Molecular Docking, all the ligands present in the extracts and oils showed hydrogen bonds with the key amino acid residues of the enzyme glucose oxidase being Histidine (His 559 A), Threonine (Thr 110 A) and Arginine (Arg 512 A). In the antifungal tests, the ethanolic extract of the plant species garlic vine showed a higher inhibition halo of 15mm at a concentration of 20mg/ml while the antifungal tests for oils, at volumes of 1 μ l; 5 μ l and 10 μ l revealed the formation of inhibition halos of 25mm; 28mm and 30mm for cinnamon oil. While, in the film with the oil of the vine of garlic, the inhibition of the germination of said fungus occurred during 9 days of experiment. The antifungal tests of the films revealed that the films with surfactant containing garlic vine oil did not present sporulation halos and neither mycelial growth on films 1 and 2 during the 48h of the experiment, inhibition of the growth of the fungus through the films.

Keywords: biodegradable films; extracts and oils of cinnamon and garlic vine; *Aspergillus niger*; molecular docking.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Mandioca (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)	20
Figura 2.	Cascas da canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume)	22
Figura 3.	Mapa de distribuição de <i>Mansoa alliacea</i>	23
Figura 4.	Cipó d'algo (<i>Mansoa alliacea</i>)	24
Figura 5.	Micrografia do aparelho de reprodução assexuada de <i>Aspergillus niger</i>	26
Figura 6.	Localização dos discos com os extratos nas placas de Petri	34
Figura 7.	Localização dos poços com os óleos nas placas de Petri	36
Figura 8.	Filmes Biodegradáveis com surfactante com óleo de canela nos volumes de 36,67 µL (a); 183,33 µL (b) e 366,7 µL (c); óleo de cipó d'algo nos volumes de 36,67 µL (d); 183,33 µL (e) e 366,7 µL (f) e filme controle (g)	37
Figura 9.	Filmes Biodegradáveis sem surfactante com óleo de canela no volume de 36,67 µL (a); com óleo de cipó d'algo de 36,67 µL (b); 2,8 g de extrato de cipó d'algo (c); filme controle (d)	38
Figura 10.	Localização dos Filmes Biodegradáveis com surfactante com óleo de canela (a) e cipó d'algo (b) nos volumes de 36,67 µL, 183,33 µL e 366 µL e sem surfactante com óleo de canela, cipó d'algo no volume de 36,67 µL; 2,8 g de extrato de cipó d'algo (c)	39
Figura 11.	Representação da cadeia A da enzima 5NIT	41
Figura 12.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de amido de mandioca (a), amido bruto (b) e amido lavado (c) aproximados 1000 vezes, respectivamente	43
Figura 13.	Espectro de hidrogênio (H^1) do extrato da casca de canela via soxlet	45
Figura 14	Espectro de hidrogênio (H^1) do extrato da casca de canela via maceração	46
Figura 15	Espectro de carbono (C^{13}) do extrato da casca de canela via soxlet	47
Figura 16.	Espectro de carbono (C^{13}) do extrato da casca de canela via maceração	47

Figura 17.	Espectro de hidrogênio (H^1) do extrato da folha de cipó d'algo via soxlet	49
Figura 18.	Espectro de hidrogênio (H^1) do extrato da folha de cipó d'algo via maceração.	50
Figura 19.	Espectro de carbono (C^{13}) do extrato da folha de cipó d'algo via soxlet	51
Figura 20.	Espectro de carbono (C^{13}) do extrato da folha de cipó d'algo via maceração	51
Figura 21.	Teste antifúngico para o extrato etanólico (a); extrato aquoso (b) para cipó d'algo e extrato etanólico (c) e extrato aquoso (d) para a canela realizado em triplicata	53
Figura 22.	Teste antifúngico para o extrato etanólico de cipó d'algo realizado em triplicata em 48h (a, b, c) e 72h (d, e, f)	55
Figura 23.	Teste antifúngico para o óleo de cipó d'algo realizado em duplicata após 48h (a, b, c, d) e 240h (e, f, g, h)	58
Figura 24.	Teste antifúngico para o óleo de canela realizado em duplicata após 48h (a, b, c, d) e 240h (e, f, g, h)	59
Figura 25.	Teste antifúngico de difusão em disco para os filmes com o óleo (a,b); óleo do cipó d'algo (c, d) após 48h	60
Figura 26.	Teste antifúngico dos filmes biodegradáveis com óleos da canela (a); cipó d'algo (b) com surfactante e filmes biodegradáveis sem surfactante contendo óleo de canela, cipó d'algo no volume de 36,67 μ L e 2,8 g de extrato de cipó d'algo (c) em 48h	62
Figura 27.	Estrutura dos compostos majoritários do extrato da casca da canela em 2D	63
Figura 28.	Interações Via Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do extrato da canela	65
Figura 29.	Estrutura dos compostos majoritários do óleo da casca da canela em 2D	66
Figura 30.	Interações Via Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do óleo da canela	67
Figura 31.	Estrutura dos compostos majoritários do extrato do cipó d'algo em 2D	68
Figura 32.	Interações Via Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do extrato do cipó d'algo	69

Figura 33.	Estrutura dos compostos majoritários do óleo do cipó d'algo em 2D	70
Figura 34.	Interações Via Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do óleo do cipó d'algo	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Substâncias dos extratos utilizadas na Docagem Molecular	40
Tabela 2.	Substâncias dos óleos utilizadas na Docagem Molecular	40
Tabela 3.	Valores médios da composição centesimal do amido de mandioca bruto e lavado	42
Tabela 4.	Média das porcentagens dos elementos (carbono, oxigênio, alumínio) para amostras de amido bruto e lavado	43
Tabela 5.	Rendimento dos extratos obtidos para a canela e cipó d'algo por diferentes métodos	44
Tabela 6.	Rendimento dos óleos obtidos da canela e do cipó d'algo	45
Tabela 7.	Atividade antimicrobiana de extratos obtidos a partir de <i>Mansoa alliacea</i> (Cipó d'algo) e <i>Zeylanicum blume</i> (Canela) na concentração de 17,5mg/ml expresso em média e desvio padrão (mm)	54
Tabela 8.	Atividade antimicrobiana de extratos obtidos a partir de <i>Mansoa alliacea</i> (Cipó d'algo) e <i>Zeylanicum blume</i> (Canela) na concentração de 20mg/ml expresso em média e desvio padrão (mm)	54
Tabela 9.	Atividade antimicrobiana de extratos obtidos a partir de <i>Mansoa alliacea</i> (Cipó d'algo) e <i>Zeylanicum blume</i> (Canela) na concentração de 22,5mg/ml expresso em média e desvio padrão (mm)	54
Tabela 10.	Constituintes do óleo essencial das cascas da canela	56
Tabela 11.	Constituintes do óleo essencial das folhas de cipó d'algo	57
Tabela 12.	Atividade antimicrobiana dos filmes com surfactante com o óleo de <i>Zeylanicum blume</i> (canela) nos volumes de 36,67 µL; 183,33 µL e 366,7 µL expresso em média e desvio padrão	61
Tabela 13.	Atividade antimicrobiana dos filmes com surfactante com o óleo de <i>Mansoa alliacea</i> (cipó d'algo) nos volumes de 36,67 µL; 183,33 µL e 366,7	61

μL expresso em média e desvio padrão

Tabela 14.	Atividade antimicrobiana dos filmes sem surfactante com o óleo de <i>Zeylanicum blume</i> (canela); <i>Mansoa alliacea</i> (cipó d’alho) nos volumes de 36,67 μL e extrato de <i>Mansoa alliacea</i> (cipó d’alho) expresso em média e desvio padrão	62
Tabela 15.	Energias de Ligação e Interações por Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do extrato da canela com a enzima Beta D- Glucose	64
Tabela 16.	Energias de Ligação e Interações por Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do óleo da canela com a enzima Beta D-Glucose	67
Tabela 17.	Energias de Ligação e Interações por Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do extrato do cipó d’alho com a enzima Beta D-Glucose	68
Tabela 18.	Energias de Ligação e Interações por Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do óleo do cipó d’alho com a enzima Beta D-Glucose	71

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

APHA	American Public Health Association
AOAC	Association of Official Analytical Chemistry
ASTM	American Society for Testing and Materials
B.O.D.	Demanda Bioquímica de Oxigênio
CG	Cromatografia Gasosa
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DM	Dinâmica Molecular
DNA	Ácido Desoxiribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil-hidrato
FAD	Dinucleotídeo de flavina adenina
GOx	Glicose oxidase
HCN	Ácido Cianídrico
HPTLC	Cromatografia de camada fina de alta eficiência
PDB	Protein Data Bank
MPEG	Museu Paraense Emílio Goeldi
MVD	Molegro Virtual Docker
RDF	Função Distribuição Radial
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMSD	Root –mean-square deviation of atomic positions
RNA	Ácido Ribonucleico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	Objetivo Geral.....	19
1.2	Objetivo Específico.....	19
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1	Mandioca (<i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	20
2.2	Materiais Vegetais e a Obtenção de Extratos e Óleos.....	21
2.2.1	Canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume).....	21
2.2.2	Cipó de Alho (<i>Mansoa alliacea</i>).....	23
2.3	O fungo <i>Aspergillus niger</i>.....	25
2.4	Filmes Biodegradáveis.....	27
2.5	Técnicas Computacionais.....	28
2.5.1	Docagem Molecular.....	28
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1	Materiais.....	29
3.1.1	Obtenção das Amostras e Caracterização Vegetal.....	29
3.2	Métodos.....	30
3.2.1	Estudos Experimentais.....	30
3.2.1.1	Análise e Caracterização do Amido de Mandioca.....	30
3.2.1.2	Obtenção dos Extratos e Óleos.....	30
3.2.1.3	Análise dos Extratos de Canela e Cipó d’alho.....	33
3.2.1.4	Análise dos Óleos de Canela e Cipó d’alho.....	35
3.2.1.5	Produção dos Filmes Biodegradáveis de Amido com Óleo de Canela, Extrato Etanólico e Óleo de Cipó D’alho.....	36

3.2.1.6	Avaliação da Atividade Fúngica dos Filmes Biodegradáveis.....	38
3.2.2	Estudos Computacionais.....	39
3.3	Análise Estatística.....	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
4.1	Estudo Experimental.....	42
4.1.1	Composição Centesimal do Amido de Mandioca.....	42
4.1.2	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	42
4.1.3	Obtenção dos Extratos e Óleos.....	44
4.1.3.1	Análise dos Extratos.....	45
4.1.3.2	Análise dos Óleos.....	56
4.1.3.3	Análise Fúngica dos Filmes Biodegradáveis.....	60
4.2	Estudo Teórico Computacional.....	63
4.2.1	Docagem Molecular.....	63
5	CONCLUSÃO.....	75
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
	APÊNDICE A- ESPECTRO DE CROMATOGRAFIA GASOSA DO.....	87
	ÓLEO DE CANELA	
	APÊNDICE B- ESPECTRO DE CROMATOGRAFIA GASOSA DO.....	88
	ÓLEO DE CIPÓ D' ALHO	

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade os povos nativos da América já cultivavam a mandioca, pertencente a ordem *Malpighiales*, família *Euphorbiaceae*, gênero *Manihot* e espécie *Manihot esculenta* Crantz. Dentre as 98 espécies conhecidas da família *Euphorbiaceae*, a mandioca é a única utilizada para fins de alimentação, devido formar raízes armazenadoras de amido e com condições favoráveis para o desenvolvimento em todos os climas tropicais e subtropicais (RECALDE, 2013)

A produção agrícola brasileira tem apresentado altos índices de crescimento, destacando-se no mercado mundial, e dentre os principais produtos, destacam-se a soja, a cana-de-açúcar, o milho e a mandioca. O Brasil é o quarto maior produtor mundial de mandioca, superado pela Nigéria, Indonésia e Tailândia (CONAB, 2016). Em 2019, o estado do Pará foi considerado o principal produtor, visto que esta cultura desempenha forte influência na economia do povo paraense, pois inúmeros produtores rurais produzem farinha, goma e tapioca (DERAL, 2019).

O amido se encontra em diversas espécies vegetais, sendo que as cinco principais fontes de amido comercial são a batata, o milho, o arroz, o trigo e a mandioca. Esse polissacarídeo formado por dois tipos de polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina, apresentam estruturas e funcionalidades diferentes (Mali *et al.*, 2010). O amido de mandioca é conhecido como fécula, polvilho doce ou goma, pode ser definido como um carboidrato que é extraído da raiz da mandioca (ARIENTE *et al.*, 2005).

Atualmente têm sido desenvolvidas pesquisas visando a utilização do amido para produção de filmes biodegradáveis, devido o seu baixo custo, não tóxicos, que se degradam rapidamente, sendo destinados a conservação e proteção de alimentos aumentando assim a vida de prateleira dos alimentos. Esses filmes biodegradáveis podem ser aplicados diretamente na superfície dos alimentos ou como filmes agindo como barreira a agentes externos como gases, umidade, sujidades (FERNANDES *et al.*, 2015).

Diversas especiarias como as frutas secas e grãos são propícios à contaminação por fungos filamentosos, aumentando o risco da ingestão de micotoxinas por parte da população. Entre esses o *Aspergillus niger* que atua em vários produtos alimentícios, podendo ser encontradas também outras espécies do gênero *Aspergillus* (SILVA *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2015).

Utilizar extratos e óleos essenciais com atividade antifúngica é uma alternativa para

conferir aos filmes biodegradáveis características de barreira contra ação de microrganismos patogênicos, como no caso do *Aspergillus niger*. Na literatura são relatados trabalhos que destacam a ação de extratos com atividade antifúngica tais como: Shukla *et al.* (2008) demonstraram que o extrato aquoso *Adenocalymma alliaceum* (Cipó d'alho) evidenciou atividade antifúngica e antiaflatoxigênica contra os fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* e Venturoso *et al.* (2011) que evidenciaram atividade antifúngica no extrato aquoso de canela (*Cinnamomum zeylanicum Blume*) no desenvolvimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos (*Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Cercospora kikuchii*, *Colletotrichum sp.*, *Fusarium solani* e *Phomopsis sp.*).

Em relação ao óleo da casca de canela (*Cinnamomum zeylanicum Blume*) Gogoi *et al.* (2019) relata atividade antimicrobiana contra oito cepas bacterianas e fúngicas, revelou boas propriedades antimicrobianas com o valor de CIM perante *Aspergillus niger* em 2,5 µL/mL.

1.1 Objetivo Geral

Desenvolver filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca com adição de extratos e óleos de canela e cipó d'alho e avaliar sua eficiência perante o fungo *Aspergillus niger*.

1.2 Objetivos Específicos

- Obter extratos aquosos e óleos de canela e cipó d'alho por Maceração, Soxlet e Hidrodestilação;
- Analisar os compostos dos extratos e óleos por Ressonância Magnética Nuclear e Cromatografia Gasosa, respectivamente;
- Avaliar o potencial antifúngico dos extratos e óleos de canela e cipó d'alho;
- Desenvolver e caracterizar filmes biodegradáveis de amido de mandioca com adição de extratos e óleos vegetais;
- Analisar o efeito antifúngico dos filmes biodegradáveis obtidos;
- Realizar um estudo teórico de Docagem Molecular para avaliar a afinidade e modo de ligação dos compostos majoritários da canela e cipó d'alho no sítio ativo da enzima glicose oxidase.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)

A família *Euphorbiaceae* possui 98 espécies, sendo a espécie *Manihot esculenta* Crantz a única que apresenta raízes para fins alimentícios, devido armazenarem amido (RECALDE, 2013). A cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é considerada uma das mais antigas do continente sul-americano conhecida dos povos pré-colombianos, que posteriormente foi disseminada na África pelos portugueses durante o seu processo de colonização nesse continente, sendo assim conhecida no mundo há cerca de 9 mil anos (COELHO, 2018).

Figura 1 – Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).



Fonte: BULL *et al.*, 2011.

As cultivares de mandioca são normalmente classificadas em doces e amargas, de acordo com o teor de ácido cianídrico (HCN) contido em suas raízes. As doces são também conhecidas como aipim, macaxeira ou mandioca mansa e são comumente utilizadas para consumo humano direto. As amargas, destinadas principalmente para a indústria, são conhecidas como mandioca brava (FUKUDA *et al.*, 2006).

O Estado do Pará é o maior produtor do Brasil, com área plantada de 501.447 hectares de área plantada, 257.690 de hectares de área colhida com produção de 3,7 milhões de toneladas anuais (IBGE, 2019). O consumo de mandioca no Pará é o mais diversificado do mundo, sendo o alimento de maior participação na culinária regional (BRABO, 2017). A indústria de mandioca no Brasil, conhecida de forma tradicional como casas de farinha e fecularia, se disseminou devido a produção amiláceos (ARAÚJO, *et al.*, 2014)

A mandioca industrializada é ofertada para a alimentação humana na forma pré-cozida, farinhas cruas ou torradas, congelada pronta para fritar, polvilho doce ou azedo, farofas prontas para consumo, ou ainda, como aditivo na fabricação de embutidos, balas, bolachas, sobremesas, sagu, sopas e pão. Pode ser direcionada para a alimentação animal, na forma de raspas e resíduos da própria indústria. É, portanto altamente recomendável estar atento às inúmeras aplicações, todas com elevação do valor agregado à mandioca (SEBRAE, 2009).

2.2 Materiais Vegetais e a Obtenção de Extratos e Óleos

2.2.1 Canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume)

A palavra canela, de origem grega, significa madeira doce, essa especiaria devido ao seu aroma, é uma das mais utilizadas na indústria de alimentos e bebidas a nível mundial (MEDAGAMA, 2015). A canela conhecida desde 2.500 anos a.C. pelos chineses, possuía mais valor do que o ouro e na Arábia, era considerada uma mercadoria preciosa (ZANARDO; RAMBO; SCHWANKE, 2014). Historicamente foi utilizada como especiaria em países como Egito, Itália, mais especificamente em Roma, e China, sendo usada para temperar carnes, aromatizar o vinho e fins religiosos, respectivamente (D'SOUZA *et al.*, 2017).

A canela (*Cinnamomum* sp) pertence à família *Lauraceae*, apresenta aproximadamente cerca de 250 espécies distribuídas na China, Índia e Austrália, das quais 4 são utilizadas para obter a especiaria (JAYAPRAKASHA; RAO; SAKARIAH, 2003). A canela é uma árvore tropical perene (Figura 3), sendo nativa do Sri Lanka, conhecida como a canela-do-ceilão (*Cinnamomum verum*), apresenta sinonímia científica *Cinnamomum zeylanicum* Blume. Suas folhas e cascas internas são usadas para fabricação de óleos e paus (D'SOUZA *et al.*, 2017). A casca seca contém, no mínimo, 1,2% de óleo volátil e 60,0% de composto trans-cinamaldeído, Possui aroma característico de aldeído cinâmico e sabor picante e adocicado (BRASIL, 2010).

Figura 2 – Cascas da canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume)



Fonte: Autora, 2020.

No estudo de Mariappan *et al.* (2013) a análise fitoquímica do extrato da canela evidenciou a presença de fenóis, flavonóides, terpenóides e taninos e por meio de cromatografia gasosa revelou a presença dos compostos ácido (E)-3-(2-metoxifenil) -2-propenóico (40,41%), trans-cinnamaldeído (20,28%), ácido 4-vinil benzóico (10,54%) e cumarina (8,47%) como compostos principais no extrato metanólico da casca.

A análise fitoquímica do óleo da canela em cromatografia gasosa e espectrometria de massa evidenciou a presença de hidrocarbonetos (44,7%), compostos oxigenados (52,6%) sendo que 27 compostos foram caracterizados sendo os compostos acetato de cinamila (36,59%) e cariofileno (22,36%) foram os principais compostos encontrados de forma majoritária (JAYAPRAKASHA, 2003). Lawrence (1994) relata a presença de 60% de cinamaldeído presente no óleo das cascas da canela enquanto que Nath *et al.* (1996) afirma que o óleo essencial da canela pode apresentar variações extremas onde o benzoato de benzila (84,69%) encontra-se no óleo da casca.

Carmo *et al.* (2008) relata efeito antifúngico do óleo volátil de canela com espécies de *Aspergillus* em concentrações de 80, 40 e 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de óleo, inibindo fortemente o crescimento micelial radial de *A. niger*, *A. flavus* e *A. fumigatus* ao longo de 14 dias, assim

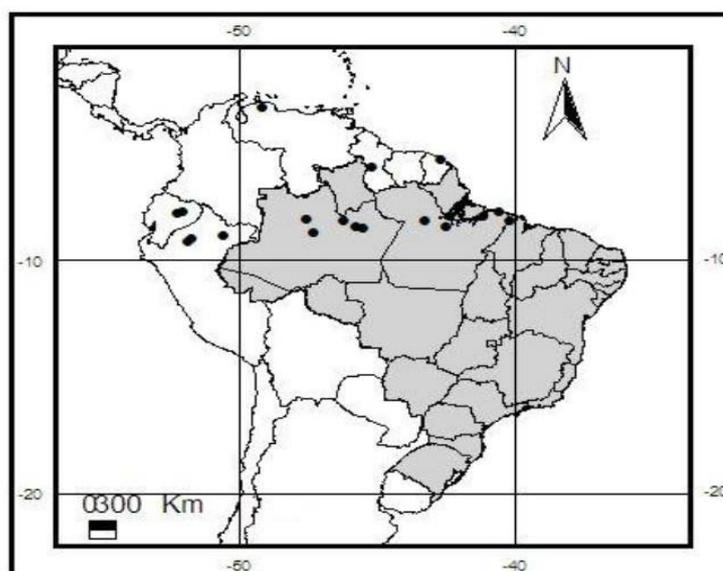
como as concentrações de 80 e 40 $\mu\text{L/mL}$ de óleo causaram 100% de inibição da germinação de esporos do fungo.

Trabalhos realizados com o uso de extratos brutos e óleos essenciais tem indicado ação antifúngica contra determinadas espécies, a exemplo do extrato de canela que apresentou atividade na inibição do crescimento micelial para as espécies de fungos *Phomopsis* (97,4%), *Penicilium* (95,1%), *C. kikuchii* (70,8%), *Colletotrichum* (56,3%), *Aspergillus* (36, 5%) e *F. solani* (33,5%) (VENTUROSOSO *et al.*, 2011).

2.2.2 Cipó d' Alho (*Mansoa alliacea*)

O gênero *Mansoa* pertencente a família Bigoniaceae apresenta cerca de 11 espécies que ocorrem nas florestas secas e úmidas da América do Sul e Central até ao sudeste do México (ZOGHBI *et al.*, 2009), distribuindo-se também por Porto Rico e América do Sul, como Brasil (Amazonas, Pará e Maranhão), Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Peru e Venezuela (CASTRO, 2010) (Figura 4).

Figura 3 - Mapa de distribuição de *Mansoa alliacea*



Fonte: CASTRO, 2010.

Na Amazônia Brasileira essas espécies são denominadas de “cipó d’alho” que se refere a videira de alho, devido apresentar odor característico de alho. Suas folhas são utilizadas na forma de chá, como anti-reumático, antiartrítico e para resfriados (ZOGHBI *et al.*, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2009).

A *Mansoa alliacea* é considerada um táxon de delimitação restrita pela presença de folhas elípticas, base atenuada, nectários extraflorais da face abaxial dos folíolos ausentes ou

espalhados, inflorescências pequenas de 1 a 2,5 cm de comprimento com ramos congestos e paucifloros, com frutos ovado-oblongo e sementes lenhosas (CASTRO, 2010).

Figura 4 - Cipó d’alho (*Mansoa alliacea*).



Fonte: Autora, 2020.

O “Cipó d’alho” é produzido em plantações domiciliares e em pequenas plantações comerciais, sendo sua maior produtividade advinda da colheita direta na floresta. No Peru mais precisamente em Iquitos, essa planta é comercializada como planta medicinal a um preço de varejo de US\$ 0,28 / kg e atacado de US\$ 0,14 por kg fazendo US\$ 2.700,00 a 4.200,00 e US\$ 1.400,00 a 2.100,00 por hectare no ano, respectivamente (REVILLA, 2001). Em Belém do Pará (Brasil), é comercializado em mercados abertos por US\$ 1,00 cada cacho, com aproximadamente 170 g (ZOGHBI, 2008).

Segundo Guilhon, Bittencourt, Lima e Zoghbi (2012), os principais constituintes organossulfurados identificados nos extratos obtidos das folhas in natura do cipó d’alho são: 2-vinil-1,3-diti-5-eno (24,42%), 3-vinil-1,2-diti-5-eno (11,67%), dissulfeto de dialila (8,40%), trissulfeto de dialila (4,89%) e tetrassulfeto de dialila (0,74%).

A avaliação fitoquímica do óleo de cipó d’alho obtido a partir das folhas e flores evidenciaram compostos como dissulfeto de dialila (34,0%; 49,7%, respectivamente) e de trissulfeto de dialila (58,2%; 32,7%, respectivamente). Além desses, os compostos tetrassulfeto de dialila, 3-vinil- 1,2-dithi-4-eno e 1-octen-3-ol foram previamente identificados. Por outro lado, 2-metil-2-pentenal, dissulfeto de metil alila, cis e trans-

dipropenila, 3,4-dimetil-2,5-di-hidrotiofeno-2-ona, alila-isobutil dissulfeto e dissulfeto de propileno foram os constituintes identificados apenas na amostra do óleo da folha (ZOGHBI; ANDRADE; MAIA, 2002).

Na literatura são encontrados trabalhos sobre a potencialidade do extrato de cipó d'alho no combate a fungos. O extrato obtido a partir das folhas de *Adenocalymma alliaceum*, foram eficientes no desenvolvimento da germinação de esporos de *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. A 72% e 100% com tempos de 5 e 10 min, respectivamente. Porém, foi observado que o princípio inibitório do extrato manteve uma boa vida útil a 10 °C e era termoestável quando mantido por 1 hora a 60 °C. Entretanto, em ebulição a 100 °C por 3 min, a atividade inibitória do extrato diminuiu para 70% em ebulição por 5 min e foi completamente perdida após 10 min (BHUPENDRA *et al.*, 1999; ZOGHBI, 2008).

Os extratos das folhas desse vegetal apresentaram atividade antifúngica e antiaflatoxigênica contra os fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* (SHUKLA *et al.*, 2008), bem como inibiu completamente o crescimento micelial para os fungos *Drechslera oryzae* onde essa atividade foi atribuída ao óleo que continha o requisito essencial de inibição mínima de 500 ppm (CHATURVEDI *et al.*, 1987; ZOGHBI, 2008).

2.3 O fungo *Aspergillus niger*

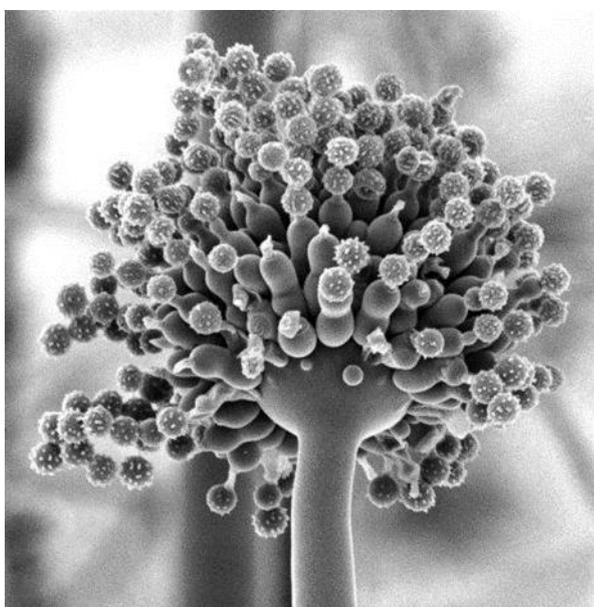
Os fungos são organismos eucariontes, unicelulares ou multicelulares (filamentosos), haplóides com parede celular contendo quitina e α glucano com ausência plastos ou pigmentos sintéticos. Os esporos ou conídios para germinarem necessitam de calor e umidade levando a formação de um ou mais filamentos finos denominados tubos germinativos que ao se ramificarem formam os micélios (ALVES, 2012).

Os fungos são considerados como seres cosmopolitas pois se fazem presente em qualquer lugar do planeta e distribuídos na natureza no meio aquático, atmosférico, terrestre e em organismos vivos como animais e vegetais, matéria orgânica em decomposição bem como em produtos alimentícios e industriais (MOLINARO *et al.*, 2010).

Os *Aspergillus* são um gênero de fungos filamentosos bastante estudados, apresenta 150 espécies, porém apenas 30 são distinguíveis. Suas colônias crescem rapidamente e de forma exuberante apresentando as colorações brancas e amareladas inicialmente e passando posteriormente para as cores marrom-escuro a preto, também apresentam micélios aéreos com conidióforos eretos com elevada produção de conídeos (ROSA *et al.*, 2002; SANTOS, 2007; READ, 1991).

O fungo *Aspergillus niger* (Figura 5) é uma das espécies mais comuns do gênero *Aspergillus* sendo encontrado em diversos tipos de ambiente, crescem em uma diversidade de substratos rapidamente produzindo colônias consistentes de coloração branca ou amarela coberta por uma camada densa que vai da cor marrom escuro ao preto (BAYTAK *et al.*, 2007; READ, 1991). Esta espécie está incluída no subgênero *Aspergillus circumdati*, seção *Nigri*, essa inclui 15 espécies de esporos negros relacionadas que podem ser confundidas com *A. niger*, incluindo *A. tubingensis*, *A. foetidus*, *A. carbonarius* e *A. awamori*, tendo várias espécies morfológicamente semelhantes descritas por Samson *et al.* (2004).

Figura 5 – Micrografia do aparelho de reprodução assexuada de *Aspergillus niger*.



Fonte: READ, 1991.

Diversos trabalhos apontam que os fungos filamentosos são os responsáveis pela contaminação de produtos como grãos, especiarias e frutos. Os fungos do gênero *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. E *Penicillium* spp. Destacam-se na contaminação de grãos durante o processo de colheita e armazenamento causando danos e produção de aflatoxinas (SILVA *et al.*, 2012; BENTO *et al.*, 2012).

Os fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* são os que ocorrem com maior frequência em especiarias, algumas espécies pertencentes a esses gêneros são conhecidas pela capacidade de produzir diferentes micotoxinas como aflatoxinas e ocratoxinas que apresentam efeitos tóxicos, cancerígenos, mutagênicos e teratogênicos em seres humanos e animais (OLIVEIRA *et al.*, 2016). Dentre as especiarias acometidas destacam-se a pimenta do reino

(*Piper nigrum L.*), cominho (*Cuminum cyminum L.*), açafrão (*Curcuma longa L.*) e urucum (*Bixa orellana L.*) segundo afirma Silva *et al.* (2012).

A glicose oxidase (beta-D-glucose), também conhecida como Gox, é uma enzima que foi originalmente isolada e produzida do fungo *Aspergillus niger*, e continua sendo a fonte mais comum de Gox. Isso se deve ao fato de que esta enzima constitui a parede celular do micélio desse fungo e é produzida como mecanismo de defesa para tal. A enzima é fortemente utilizada para monitoramento de glicose e outras aplicações industriais, mas também é uma boa alternativa aos tratamentos tradicionais, químicos e físicos utilizados na preservação dos alimentos (FERRI, KOJIMA, SODE, 2011; SOUSA *et al.*, 2017).

2.4 Filmes Biodegradáveis

A poluição do meio ambiente por meio do descarte de filmes plásticos de polímeros sintéticos de forma desenfreada é um problema a nível mundial, visto que demandam um longo tempo para se degradarem, gerando sobrecarga nos aterros sanitários (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008; XU *et al.*, 2005).

A biodegradação é um processo natural e complexo que por meio de mecanismos bioquímicos os compostos orgânicos são transformados em compostos simples que são redirecionados ao meio ambiente por meio dos ciclos do carbono, nitrogênio e enxofre. O primeiro filme plástico biodegradável produzido foi o celofane derivado de xantato de celulose com excelentes propriedades mecânicas, tendo também transparência e flexibilidade (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

Na necessidade de redução das embalagens sintéticas, o setor de comercialização de alimentos busca desenvolver embalagens de derivados de matérias-primas renováveis como polissacarídeos, proteínas ou lipídeos, garantindo a segurança microbiológica em relação a possíveis ataques de microrganismos patogênicos e a qualidade dos alimentos processados (ALTMANN; ATZ; ROSA, 2018).

Os biopolímeros mais utilizados são polissacarídeos (amido e seus derivados, pectina, celulose, alginato e carragena), proteínas (gelatina, caseína, ovo albumina) e lipídeos (monoglicerídeos acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácido graxo), sendo que esses podem estar separados ou combinados na solução filmogênica (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1995).

O amido é um polissacarídeo e biopolímero a base de amilose e amilopectina muito utilizado para a produção de filmes pelo baixo custo, fácil manuseio e total degradabilidade,

sendo comumente encontrado na natureza com altos níveis de disponibilidade e quantidade (PAGNO *et al.*, 2015). Nas pesquisas de materiais biodegradáveis, uma frente de pesquisa muito abordada é a produção desses materiais derivados do amido de mandioca para a produção e caracterização de embalagens apresentando resultados animadores para diversas aplicações (SUEIRO *et al.*, 2016).

Porém, filmes constituídos apenas por amido são inviáveis já que esses são altamente higroscópicos e apresentam propriedades mecânicas limitadas, tornando o material quebradiço e sensível ao contato com a água, uma alternativa para esses problemas é adicionar plastificantes como o glicerol que interfere nas interações entre as cadeias de polímeros bem como no produto final alterando as propriedades físicas do filme biodegradável (BRITO, 2019)

2.5 Técnicas Computacionais

2.5.1 Docagem Molecular

A docagem molecular é um método utilizado para predizer o modo de ligação de pequenas moléculas na cavidade de interação de macromoléculas sendo possível determinar as mudanças de conformação do ligante por meio de interação no alvo de maneira a formar um complexo receptor-ligante (SANTOS; ANDRICOPULO, 2013).

Segundo a teoria lock-and-key o ligante se encaixa no receptor como uma fechadura e chave, e os primeiros métodos de docking foram baseados nesta teoria, onde o ligante e o receptor foram tratados como corpos rígidos (FISCHER, 1894; KUNTZ, 1982). A teoria “ajuste induzido” afirma que a idéia de bloqueio e chave, como um passo adiante na medida que o sítio ativo da proteína é remodelado por interações com o ligante e os receptores flexíveis no acoplamento (MENG *et al.*, 2011).

A docagem molecular apresenta duas etapas fundamentais, a primeira que determina a conformação e orientação no interior do alvo molecular denominado de *pose* através do algoritmo de busca e função de pontuação e a segunda etapa compreende a avaliar a afinidade da ligação (MORRIS; LIM, 2008; MENG *et al.*, 2011).

A docagem ou docking molecular, é um método computacional que encontra modos de ligação mais prováveis entre em ligante e um receptor macromolecular biológico, permitindo estimar a energia de ligação a partir da função de pontuação ou de *scoring*. Esta avaliação tem por objetivo final traçar uma correlação entre uma boa interação entre ligante e receptor e uma elevada atividade biológica (MUNIZ, 2018).

O receptor ou alvo selecionado (proteína, DNA ou RNA) pode ter a sua estrutura tridimensional a nível 3D conhecida ou não, fato determinante na busca de estratégias de planejamento (ANDRICOPULO *et al.*, 2009). Os importantes avanços da genômica e proteômica, aliados à evolução das técnicas de cristalografia de raios-X e ressonância magnética nuclear (RMN) que reunidos elevam o número de alvos com estruturas 3D disponíveis no Banco de Dados de Proteínas (PDB, do inglês Protein Data Bank) (GUIDO *et al.*, 2010).

O molegro virtual docker por meio do algoritmo Moldock, é usado para obter o valor de energia do ligante, interação de van der Waals, interação eletrostática de longa distância e o cálculo da função de pontuação, que define o valor de energia mais baixo da conformação mais promissora (THOMSEN *et al.*, 2006). Por meio do docking, é possível identificar as conformações estruturais de enzimas e ligantes que apresentam os melhores resultados.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Obtenção das Amostras e Caracterização Vegetal

As folhas e cipós da planta *Mansoa alliacea* (cipó d'alho) foram coletadas na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) / Instituto de Ciências Agrárias (ICA), na cidade de Belém / PA com coordenadas 1°27'18.5"S 48°26'21.8"W, utilizando o aplicativo Google Maps e GPS (Global Positioning System). A coleta foi realizada no período matutino, no vigésimo segundo dia do mês de fevereiro de 2021 juntamente com o botânico Raimundo da Silva Monteiro. As cascas de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) foram coletadas na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) / Instituto de Ciências Agrárias (ICA) com coordenadas 1°45'51.4"S 48°43'95.7"W no período matutino no décimo terceiro dia do mês de Julho de 2021. As cascas de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) e folhas de *Mansoa alliacea* (cipós d'alho) foram secas em estufa (Fabbe Center/070) com circulação de ar a 40°C durante 72 horas.

Após a secagem, as amostras das duas espécies vegetais foram trituradas em moinhos de facas (Vencedora Maqtron /M-600) para obter granulometrias do tipo pó fino para a realização da extração dos extratos e óleos. As exsiccatas das plantas canela e cipó d' alho foram identificadas e catalogadas com registro de nº: 4069 e nº: 4027 , depositadas no herbário da Universidade Federal do Pará / Laboratório de Botânica bem como registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional

Associado com número de registro A2269CB e A3899DC para canela e cipó d' alho, respectivamente. O amido de mandioca (*Manihot Sculenta* Crantz), foi adquirido em rede de supermercado de Belém-PA.

3.2 Métodos

3.2.1 Estudos Experimentais

3.2.1.1 Análise e Caracterização de Amido de Mandioca

As amostras de amido de mandioca foram lavadas com álcool etílico absoluto para a remoção de substâncias gordurosas, filtradas a vácuo e secas em estufa com circulação de ar a 45 °C até peso constante. Após o resfriamento em dessecador a temperatura ambiente, a fécula foi acondicionada em frascos até sua utilização.

- Composição Centesimal

Foram realizadas as análises de umidade, proteínas, resíduo mineral fixo e lipídios, das amostras de amido bruto e lavado, segundo metodologia proposta pelo AOAC (2005), todas em triplicata. A umidade foi calculada através da fórmula :

$$\text{umidade} = \frac{p}{p'} \times 100$$

onde p = perda de massa e p' = massa da amostra em g.

Para Resíduo Mineral Fixo foi utilizada a fórmula: Cinzas = massa cadinho + massa amostra – massa final. Para determinar os valores de lipídeos foi utilizada a fórmula:

$$\text{lipídios} = \frac{p2 - p1}{p0} \times 100$$

onde p2 = massa do balão de reação com lipídios, p1 = massa do balão de reação seco, e p0 = massa da amostra em g.

Para os cálculos de carboidratos, foi utilizada a fórmula: C = 100% - % Umidade - % Resíduo Mineral Fixo - % Lipídios - % proteínas.

- Microscopia Ótica e Microscopia Eletrônica de Varredura.

As imagens em microscopia ótica e eletrônica de varredura foram obtidas na Faculdade de Engenharia Química da UFPA, em microscópio eletrônico de Varredura Leo modelo 1450 VP, equipado com detector de elétrons secundários e retro espalhados.

3.2.1.2 Obtenção dos Extratos e Óleos

Inicialmente, foi determinado o teor de umidade das matérias-primas pelo método gravimétrico, também denominado de perda por dessecação (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). Foram utilizadas 2g de folhas de cipó d’alho e 2 g de cascas de canela, pesadas em cadinhos de 25ml e secas por 24h em estufa a 105°C.

Para o cálculo de umidade dos vegetais após o processo de secagem em estufa a 105°C foi utilizada a fórmula abaixo:

$$\text{Perda por dessecação} = \frac{P_u - P_s}{P_a} \times 100$$

Onde:

P_u = peso do pesa-filtro contendo a amostra antes da dessecação

P_s = peso do pesa-filtro contendo a amostra depois da dessecação

P_a = peso da amostra

- Pré-tratamento do Material Vegetal

As cascas da canela e folhas do cipó d’alho, foram secas em estufa de ar com circulação a 40°C, durante 72h para evitar transformações dos compostos originalmente presentes no material vegetal, causadas por processos químicos, bioquímicos e/ou microbiológicos (BRASIL, 2006). Os extratos de canela e de cipó d’alho foram obtidos por extração por maceração e Soxhlet e os óleos por extração por hidrodestilação.

- Extração por Maceração

Para o processo de maceração foi utilizada a metodologia de Shukla *et al.* (2008) com modificações. As folhas secas do cipó d’alho e as cascas da canela foram submetidas a trituração em moinhos de facas para reduzir o tamanho das partículas de modo a aumentar o contato com o líquido extrator (HUBINGER *et al.*, 2009). Posteriormente, as folhas e cascas trituradas (20g) foram embebidas em 150 ml de água por 48h. O extrato foi separado da torta por uma filtração a vácuo. Os extratos obtidos foram conservados em temperatura de refrigeração. Após esse processo o solvente foi evaporado em estufa por 48h a 40°C obtendo ao final o extrato bruto seco.

- Extração por Soxhlet

A extração foi realizada de maneira individual, utilizando 20 g de cada material secos com 150 ml de solvente etanol. Ao final da extração os extratos foram refrigerados para

minimizar a oxidação ou degradação (CORDEIRO et al., 2018). Após esse processo, o solvente foi evaporado em evaporador rotativo a 90 rpm e 70°C.

O extrato etanólico do cipó d’alho passou por um processo de purificação para retirada da clorofila, onde 150 mg e 500 mg do extrato bruto foram solubilizados com 4,8 ml/1,2ml para a primeira massa de extrato e 16ml / 8ml de acetonitrila/ água destilada para a segunda massa de extrato, ambos solubilizados em um ultrassom . Esses 6ml e 20ml foram submetidos a um cartucho de 6ml e 20ml composto c18 e sílica, respectivamente. Após esse processo os extratos purificados foram levados para uma estufa (Quimis) a 40°C para a efetiva evaporação da acetonitrila e água. Os extratos foram utilizados nas análises de RMN (Ressonância Magnética Nuclear), teste antifúngicos e elaboração dos filmes biodegradáveis.

- Extração dos Óleos Essenciais da Canela e do cipó D’alho por Hidrodestilação

A extração dos óleos foi realizada com 50 g das cascas de canela e folhas do cipó-de-alho secas em tamanho reduzido, as quais foram colocadas em um balão volumétrico e levadas para a hidrodestilação em Clevenger. Após a retirada, os óleos brutos foram acondicionados em tubos, e em seguida, centrifugados a 2500 rpm durante 10 minutos na presença de sulfato de sódio para separar a água residual inerente ao processo. Finalmente os óleos foram coletados e armazenados em ampolas e refrigerados até a utilização (CORDEIRO, 2019).

- Rendimento dos extratos e óleos

Para o cálculo do rendimento dos extratos a partir das extrações via soxlet e maceração a base dos solventes etanol e água, respectivamente, através das folhas de cipó d’ alho e cascas do caule da canela, foi utilizada a fórmula abaixo:

$$Rd = \frac{M_o}{M} \times 100$$

Onde:

Rd: rendimento da extração (%);

Mo é a massa de extrato obtida experimentalmente (g);

M é a massa da matéria-prima em base seca (g).

Para o cálculo do rendimento dos óleos a partir das extrações via hidrodestilação através das folhas de cipó d’ alho e cascas do caule da canela, foi utilizada a fórmula abaixo:

$$Rd = \frac{Mf}{Mo} \times 100$$

Onde:

Rd: rendimento da extração (%);

Mf é a massa de óleo obtida experimentalmente (g);

Mo é a massa da matéria-prima em base seca (g).

3.2.1.3 Análise dos Extratos de canela e cipó d'alho

- Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Para a análise dos experimentos de RMN, foram pesados 30 mg dos extratos de canela e cipó d'alho, obtidos pelos métodos de maceração e Soxhlet, dissolvidos em 600 µL dimetilsulfóxido hexadeuterado e transferidos para tubos de 10 mm. A análise de RMN foi realizada em espectrômetro Bruker, modelo Ascend (Rheinstetten, Germany), operando a 400 MHz, no Laboratório Central de Extração do Programa de Pós-Graduação em Química da UFPA, sendo obtidos os experimentos de RMN unidimensional de Hidrogênio (H^1) e Carbono (C^{13}) e bidimensional de Cosy (Correlation Spectroscopy), HSQC (Heteronuclear Single Quantum) e HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation). Para controle e tratamento de dados foi utilizado o software TopSpin 3.6.0 e os deslocamentos foram registrados em valores adimensionais δ (ppm), tendo como referência interna os sinais do solvente.

- Avaliação Antifúngica pelo Método de Difusão em Ágar / Técnica do Disco.

Para os testes de atividade antimicrobiana foi utilizada uma amostra liofilizada de origem laboratorial Cefar Diagnóstica, do fungo filamentosso *Aspergillus niger*. O fungo ATCC 16404 foi recuperado seguindo as orientações do fornecedor. Para os ensaios foram utilizadas culturas com 7 dias de crescimento em ágar Sabouraud sem antibiótico. As placas foram incubadas em incubadora B.O.D. (MARCONI) a aproximadamente 28°C por 7 dias, para então serem utilizados nos experimentos.

Os testes para determinar o potencial antifúngico dos extratos foram realizados no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA. Inicialmente, foram preparadas suspensões em 5 mL de solução salina a 0,85% estéril e 1% de tween 20, no padrão 0,5 da escala de McFarland que corresponde a aproximadamente $1,5 \times 10^6$ UFC/mL (DIOGO, 2010). Em seguida os tubos foram homogeneizados no agitador tipo Vortex por 1 minuto. Utilizando uma suspensão de esporos e fragmentos de hifas de *A. niger*, retirou-se

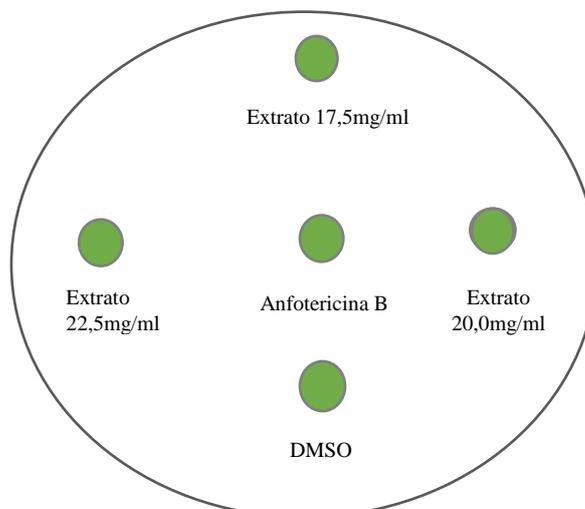
100 µL do inóculo que foram incorporados ao meio Agar Sabouraud sem antibiótico, liquefeito (45-50°C) e distribuídos em 12 placas de Petri (Pour Plate) de 90x15mm esterilizadas já que o experimento foi realizado em triplicata.

Foi utilizado o método de difusão em disco como descrito pela CLSI (2006) com modificações, tendo como controle positivo de referência discos estéreis de papel filtro Whatman nº 1 – 125 mm (6 mm Ø) padronizados contendo 20µL do antifúngico Anfotericina B. O controle negativo utilizado foi o solvente Dimetil silfóxido (DMSO), utilizado para resuspensão dos extratos brutos.

As concentrações dos extratos de cipó d’alho e canela utilizadas no teste antifúngico foram estabelecidas pelo sólido seco realizada a evaporação da água e de etanol. As concentrações de 17,5 mg/ml, 20 mg/ml e 22,5 mg/ml, conforme descritas nos trabalhos de Shukla *et al.* (2008) e Venturoso *et al.* (2011) foram testadas perante o fungo *Aspergillus niger* onde 20 µL de cada extrato foram impregnados em discos de papel com 6 mm de diâmetro. A concentração que obtivesse a melhor performance na inibição do fungo seria utilizada na elaboração dos filmes biodegradáveis.

Os experimentos foram incubados à temperatura ambiente ($\pm 30^{\circ}\text{C}$) e os resultados foram avaliados mediante formação e mensuração dos halos de inibição em volta dos discos, após 24h até 168 horas, durante 7 dias. Os testes foram realizados em triplicata e o diâmetro da zona de inibição (halo) foi medido em milímetros obtendo assim a média aritmética e o desvio padrão dos halos de inibição que foram formados em torno dos discos.

Figura 6 - Localização dos discos com os extratos nas placas de Petri.



3.2.1.4 Análise dos óleos de canela e cipó d'alho

- Cromatografia Gasosa (CG)

A composição química dos constituintes voláteis dos óleos essenciais foi analisada no laboratório Adolpho Ducke (LAD), do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) por Cromatografia em Fase Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM), em sistema Shimadzu QP Plus-2010, equipado com coluna capilar de sílica DB-5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 m de espessura do filme) nas seguintes condições operacionais: gás de arraste: hélio, em velocidade linear de 36,5 cm/s; tipo de injeção: sem divisão de fluxo (2 µL de óleo em 1mL de hexano); temperatura do injetor: 25°C, programa de temperatura: 60-250°C, com gradiente de 30C/min; temperatura da fonte de íons e outras partes 220°C. O filtro de quadrupolo varreu na faixa de 39 a 500 daltons a cada segundo. A ionização foi obtida pela técnica de impacto eletrônico a 70 eV.

A identificação dos componentes voláteis foi baseada no índice de retenção linear (IR) calculado em relação aos tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcenos injetados nas mesmas condições das análises, e no padrão de fragmentação observados nos espectros de massas, por comparação destes com amostras autênticas existentes nas bibliotecas do sistema de dados e da literatura (ADAMS, 2007 MONDELLO, 2011; NIST, 2011). A quantificação dos componentes foi obtida através de cromatografia de gás (CG) em equipamento Shimadzu QP-2010, equipado com detector de ionização de chama (DIC), nas mesmas condições operacionais acima, exceto o gás de arraste que foi o hidrogênio.

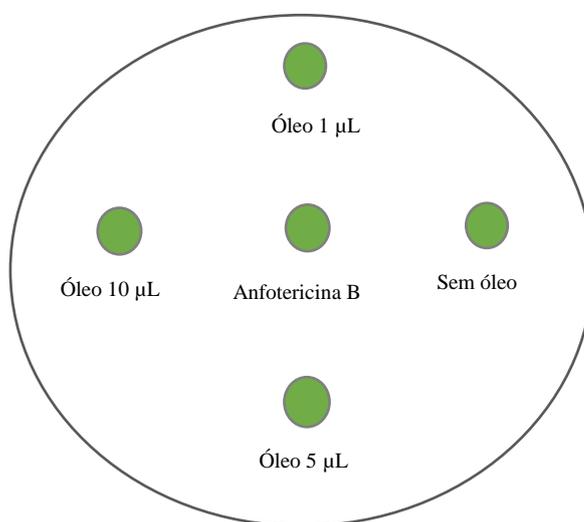
- Avaliação antifúngica pelo método de difusão em ágar / Técnica do Poço

A atividade antifúngica dos óleos da canela e do cipó d'alho foi avaliada pela técnica do poço. Para os testes de atividade antimicrobiana dos óleos foi utilizada uma amostra liofilizada de origem laboratorial Cefar Diagnóstica, do fungo filamentosos *Aspergillus niger*. O fungo ATCC 16404 foi recuperado seguindo as orientações do fornecedor. Para os ensaios foram utilizadas culturas com 7 dias de crescimento em Ágar Batata Dextrose (BDA). As placas foram incubadas em incubadora B.O.D. (MARCONI) a aproximadamente 28°C por 7 dias, para então serem utilizados nos experimentos.

Inicialmente, foram preparadas suspensões em 5 mL de solução salina a 0,85% estéril e 1% de tween 20, no padrão 0,5 da escala de McFarland que corresponde a aproximadamente $1,5 \times 10^6$ UFC/mL (DIOGO, 2010), onde alíquotas de 100µL da suspensão (inóculo) foram adicionadas a frascos contendo 30 ml de Ágar Sabouraud (ASD) sem antibiótico. Em seguida, o meio foi vertido em 4 placas de Petri de 90x15mm esterilizadas já

que o experimento foi realizado em duplicata. Após resfriamento e solidificação do meio à temperatura ambiente utilizou-se um furador metálico estéril para perfuração de poços de 6 mm de diâmetro de forma equidistantes, nos quais foram adicionados os volumes de 1 μL , 5 e 10 μL dos óleos em cada poço. Como controle positivo utilizou-se 20 μL de Anfotericina B, como controle negativo foi usado um poço sem óleo (Figura 7). As placas foram incubadas à temperatura ambiente ($\pm 30^\circ\text{C}$). Os resultados foram avaliados mediante formação e mensuração dos halos de inibição em volta dos poços, após 24h até 14 dias de crescimento do fungo. A medição dos halos de inibição (mm) foi feita com auxílio de uma régua.

Figura 7. Localização dos poços com os óleos nas placas de Petri.



3.2.1.5 Produção de Filmes Biodegradáveis de amido com óleo de canela, extrato etanólico e óleo de cipó d'alho.

A solução filmogênica (SF) foi obtida de acordo com metodologia proposta por Oliveira *et al.* (2011) com modificações. As soluções filmogênicas foram preparadas utilizando-se 140 ml de água destilada; 5,6 g de amido de mandioca equivalente a 4% em relação ao volume de água destilada; 1,68 g de glicerol como plasticizante equivalente a 30% em relação a massa de amido.

Como os volumes 1; 5 e 10 μL de óleos das duas espécies vegetais e 20mg/ml do extrato do cipó d'alho foram testados no teste antifúngico em placas de petri contendo poços e discos de papéis de 6mm que equivale a 0,6 cm de diâmetro e raio de 0,3 cm, foram realizados cálculos dessa área. Levando em consideração que os filmes foram produzidos em formas de silicone de 22 cm de diâmetro e fazendo uma regra de três entre o tamanho da área

e volumes de óleo e concentração de extrato foram obtidos 36,67 μL ; 183,33 μL e 366,7 μL de óleos e 2,8 g de extrato utilizados na elaboração dos filmes.

Foi utilizado 20% de goma arábica como surfactante em relação a massa em gramas dos óleos e extrato de cipó d' alho. As soluções filmogênicas contendo amido, água e glicerol foram colocadas em banho-maria (Quimis, 0334M-28) durante 30 minutos a 70° C. Os óleos e extrato foram misturados separadamente ao surfactante e posteriormente a uma temperatura de 30 ° C foram inseridos a solução filmogênica e posteriormente inseridos nas formas de silicone, colocadas em estufa a 40° C.

Os filmes biodegradáveis contendo o óleo de canela, óleo e extrato de cipó d' alho e filme controle com surfactante secaram em estufa (Tecnal, TE-394/3) a 40° C durante 15h , 14h, 13h, 13 h, respectivamente (Figura 8) . Os filmes sem surfactante contendo apenas amido, glicerol, água e 36,67 μL de óleos de canela e cipó d' alho e 2,8 g de extrato de cipó d' alho e o filme controle secaram estufa a 40° C 15h ,14 h, 12h e 13h (Figura 9).

Figura 8. Filmes Biodegradáveis com surfactante com óleo de canela nos volumes de 36,67 μL (a); 183,33 μL (b) e 366,7 μL (c); óleo de cipó d' alho nos volumes de 36,67 μL (d); 183,33 μL (e) e 366,7 μL (f) e filme controle (g).

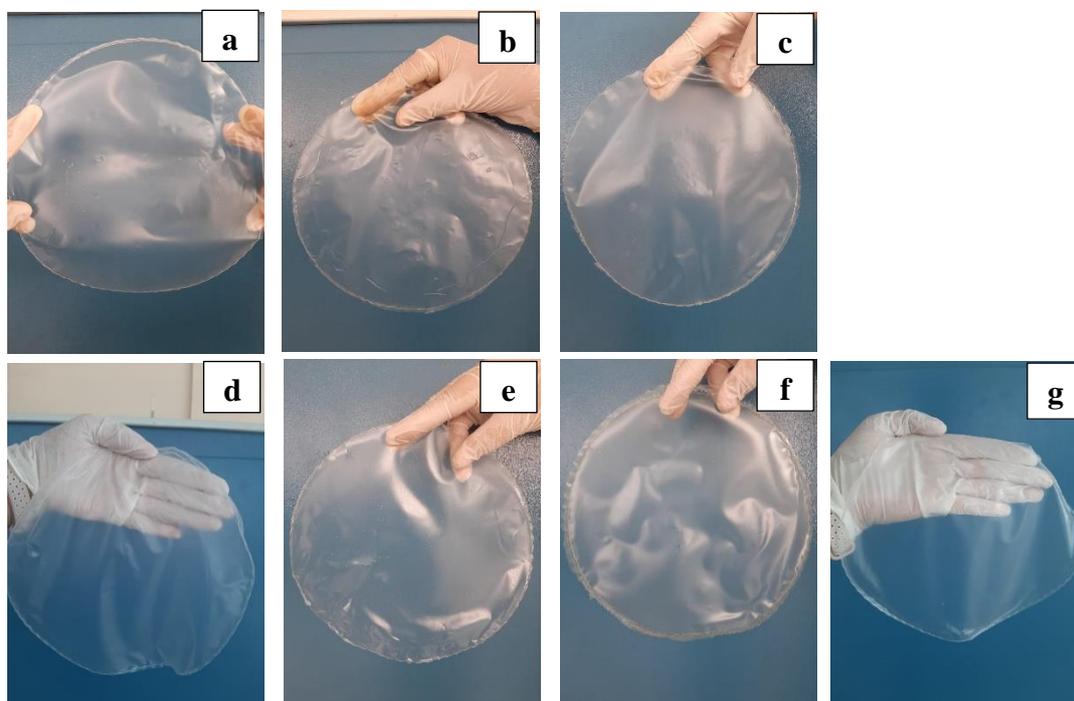
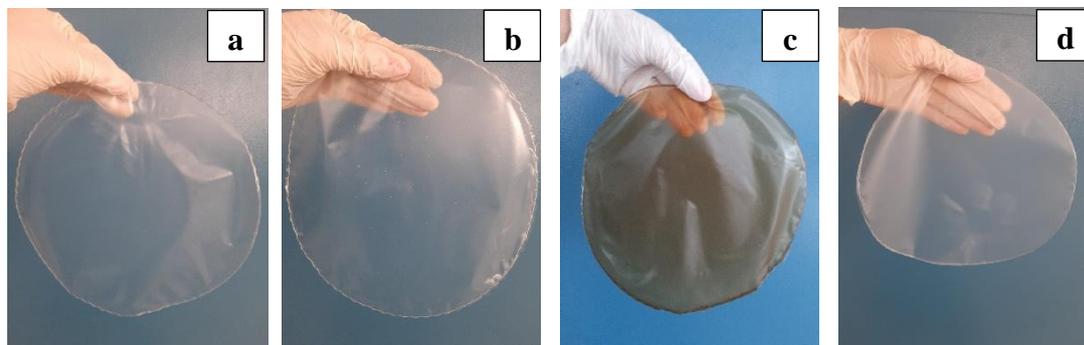


Figura 9. Filmes Biodegradáveis sem surfactante com óleo de canela no volume de 36,67 μL (a); com óleo de cipó d’alho de 36,67 μL (b); 2,8 g de extrato de cipó d’alho (c); filme controle (d).

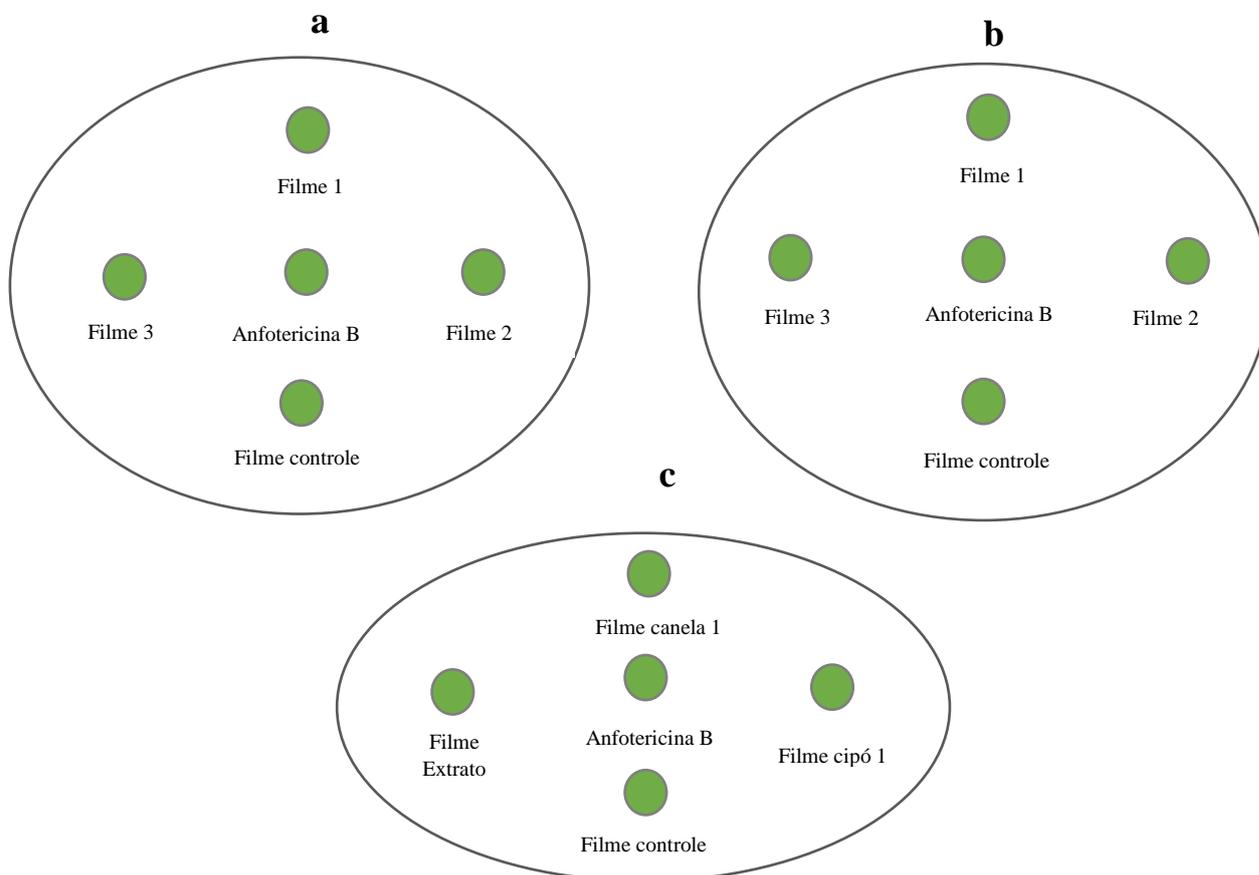


3.2.1.6 Avaliação de Atividade Fúngica dos Filmes Biodegradáveis

O método de difusão em disco como descrito pela CLSI (2006) com modificações foi utilizado para avaliar a atividade fúngica dos filmes biodegradáveis produzidos.

Inicialmente, foram preparadas suspensões em 5 mL de solução salina a 0,85% estéril e 1% de tween 20, no padrão 0,5 da escala de McFarland que corresponde a aproximadamente $1,5 \times 10^6$ UFC/mL (DIOGO, 2010)., onde alíquotas de 100 μL da suspensão (inóculo) foram adicionadas a frascos contendo 30 ml de Ágar Sabouraud (ASD) sem antibiótico e distribuídos em 9 placas de Petri (Pour Plate) de 90x15mm esterilizadas já que o experimento foi feito em triplicata. Após solidificação do meio, foram inseridos os discos estéreis de cada filme biodegradável produzidos com 6 mm de diâmetro de forma equidistantes (Figura 10), feitos a partir de um furador metálico estéril bem como um disco estéril de papel filtro de 6 mm com 20 μL do antifúngico Anfotericina B foram depositados sobre a superfície da placa inoculada. Os experimentos foram incubados à temperatura ambiente ($\pm 30^\circ\text{C}$) e os resultados foram avaliados mediante formação e mensuração dos halos de inibição em volta dos discos, após 24h até 96h (4 dias).

Figura 10. Localização dos filmes biodegradáveis com surfactante com óleo de canela (**a**) e cipó d' alho (**b**) no volumes de 36,67 μL , 183,33 μL e 366,7 μL ; filmes sem surfactante com óleo de canela, cipó d' alho ambos no volume de 36,67 μL ; 2,8 g de extrato de cipó d' alho (**c**).



3.2.2 Estudos Computacionais

- Docagem Molecular

Para avaliar a energia de interação entre as macromoléculas / sistemas biológicos de ligante e determinar a melhor conformação do composto foi realizado estudo teórico por meio de Modelagem via Docagem Molecular utilizando o programa Molegro Virtual Docker 5.5 (MVD) para cálculos de docking molecular.

Para o protocolo MVD, foram definidos os seguintes parâmetros para o algoritmo MolDock SE: número de execuções igual a 10, iterações máximas de 1500; tamanho máximo da população de 50 e resolução da grade igual a 0,30 Å (DEOLIVEIRA *et al.*, 2020). As coordenadas fornecidas pelo software foram $x = 81,36$; $y = 55,68$ e $z = 9,37$, raio = 10 e poses = 10.

A estrutura cristalográfica em 3D do alvo enzimático foi obtida na base de dados Protein Data Bank (BERMAN *et al.*, 2006) com o código ID: 5NIT (PETROVIĆ *et al.*, 2017).

Foram selecionadas 10 compostos majoritários nos extratos, sendo 4 da canela e 6 do cipó d’alho (Tabela 1), identificados na análise de Ressonância Magnética Nuclear dessa pesquisa. Nos óleos foram selecionados 8 compostos majoritários, sendo 4 da canela e 4 no cipó d’alho (Tabela 2) quantificados pela análise de Cromatografia Gasosa dos óleos. O composto Trans-Cinamaldeído encontra-se tanto no extrato como no óleo da canela e os compostos Dissulfeto de dialila, Trissulfeto de dialila e Tetrassulfeto de dialila estão presentes no extrato e óleo do cipó d’alho. As estruturas químicas em formato 3D de todos os ligantes foram extraídas do banco de dados Pubchem. O estudo da natureza das interações dos ligantes com a enzima foram obtidas no programa Discovery Studio 2021 Client.

Tabela 1- Substâncias dos extratos utilizadas na Docagem Molecular.

Extratos	Substâncias
Canela	Ácido 3-2-metoxifenil-2propenóico
	Ácido 4-vinilbenzóico
	Cumarina
	Cinamaldeido
Cipó d’alho	Dissulfeto de dialila
	Dissulfeto de Metil alila
	Trissulfeto de dialila
	Tetrassulfeto de dialila
	3-vinil-1,2-diti-5-eno
	2-vinil-1,3-diti-5-eno

Fonte: Autora, 2022.

Tabela 2- Substâncias dos óleos utilizadas na Docagem Molecular.

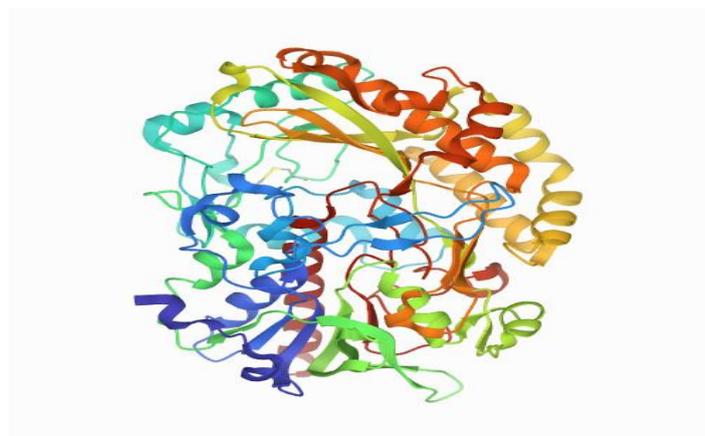
Óleos	Substâncias
Canela	Acetato de cinamila
	Cariofileno
	Linalol
	Trans-Cinamaldeido

Cipó d’alho	Dissulfeto de dialila
	Trissulfeto de dialila
	Tritiaciclohexeno
	Tetrassulfeto de dialila

Fonte: Autora, 2022.

Essas moléculas atuaram como ligantes no processo de docagem molecular, suas estruturas 3D foram encontradas no banco de dados Pubchem (KIM et al, 2016). O alvo selecionado foi a enzima glicose oxidase para o referido fungo *Aspergillus niger* recuperada através do banco de dados de proteínas (PDB) com o código 5NIT (Figura 11). Essa enzima apresenta duas cadeias A e B, sendo mais importante a cadeia A. FAD (Dinucleotídeo de Flavina Adenina) é o co-fator. Interações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos H559, H516, E412, V560, W426, Q329, Q555, M556, S557 são relatados como importantes (PETROVIĆ *et al.*, 2017).

Figura 11 – Representação da cadeia A da enzima 5NIT



Fonte: Proteina Data Bank

3.3 Análise Estatística

Os resultados das análises ao longo de todo o estudo foram avaliados com o auxílio do software Microsoft Office Excel 2016 e a análise estatística foi realizada por meio do programa Statistic® versão 7.0 (STATSOFT Inc., 2004).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Estudo Experimental

4.1.1 Composição Centesimal do Amido de Mandioca

Na Tabela 3 encontram-se as análises de umidade, resíduo mineral fixo, lipídeos e carboidratos das amostras de amido bruto e lavado, calculados em triplicata.

Tabela 3: Valores médios da composição centesimal do amido de mandioca bruto e lavado.

	Umidade		Resíduo Mineral Fixo		Lipídeos		Carboidratos	
	Amido bruto	Amido lavado	Amido bruto	Amido lavado	Amido bruto	Amido lavado	Amido bruto	Amido lavado
Média	11,38%	10,90%	0,04%	0,04%	1,54%	1,07%	87,50%	87,52%

Foram feitas titulações em triplicata para determinação de presença ou ausência de proteínas nas amostras de amido bruto e modificado, não sendo observada a presença de proteínas.

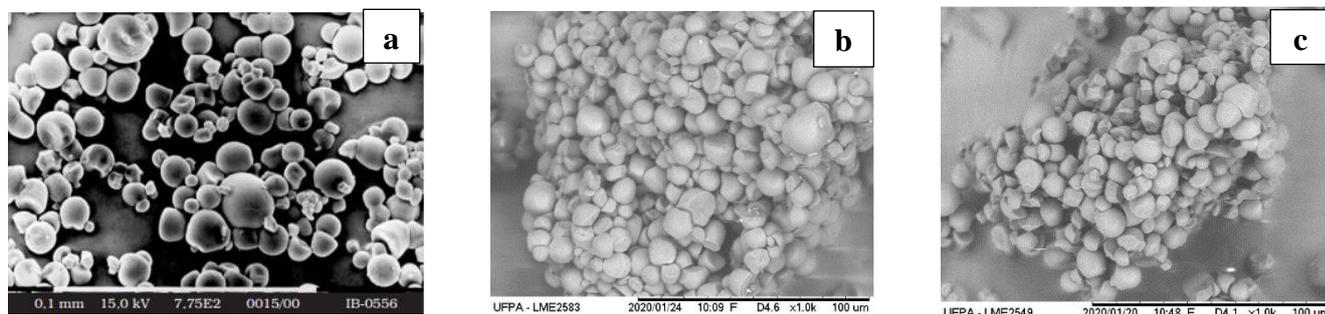
O teor de umidade do amido bruto (Tabela 7) se enquadra dentro do valor < 14% determinado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento por meio da NCM n: 23 de 2005. Essa mesma Normativa estabelece que o Resíduo Mineral Fixo deve ser < 0,20% e os amidos pesquisados obtiveram valores bem abaixo.

A média de lipídios obtida foi de 1,54%/1,07 (amido lavado/bruto) e de carboidratos de 87,50% o que corrobora para o que afirma Souza (2008) que a fécula de mandioca é considerada um alimento essencialmente energético, em função do baixo teor de proteína e elevado teor de carboidratos.

4.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Na Figura 12 encontram-se a MEV dos amidos de mandioca bruto e lavado. Na amostra de amido de mandioca (Figura 12a) pode-se observar que os grânulos apresentam forma circular característica, conforme já foi assinalado por Leonel (2007).

Figura 12 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de amido de mandioca (a) , amido bruto (b) e amido lavado (c) aproximados 1000 vezes.



Fontes: LEONEL (2007) e da Autora.

Na Figura 12b a amostra de amido bruto, é possível visualizar contaminantes, pontos brancos, abundantes enquanto na terceira imagem (Figura 12c) de amido lavado os contaminantes estão presentes em menor quantidade, bem como a estrutura dos grânulos manteve o formato circular.

A Tabela 4 demonstra as médias das porcentagens dos elementos da amostra de amido bruto e amido lavado, das porcentagens dos elementos encontrados na análise de energia dispersiva (EDS). Foi verificado através da análise centesimal das amostras de amido que mais de 87% do conteúdo são carboidratos, tal resultado corrobora os resultados encontrados como as maiores porcentagens, tanto em massa quanto atômica encontradas na análise de EDS é carbono.

Tabela 4: Médias das porcentagens dos elementos (carbono, oxigênio, alumínio) para amostras de amido bruto e lavado.

Elementos	% Peso	% Peso Σ	% Atômica
Amido bruto			
Carbono	72,64	4,95	80,05
Oxigênio	21,47	5,21	17,81
Alumínio	5,88	0,87	2,12
Amido lavado			
Carbono	54,88	2,21	61,81
Oxigênio	45,12	2,21	38,18

% Peso σ = Desvio padrão da porcentagem do peso.

4.1.3 Obtenção dos Extratos e Óleos

- Umidade residual do material vegetal

A umidade da casca de canela foram 4,37 % e para as folhas de cipó d' alho de 4,14 %. Esses valores são considerados baixos, pois teores elevados de umidade em materiais botânicos, acima de 15%, facilitam o desenvolvimento de microrganismos e enzimas e que se consumidas podem provocar intoxicações (LOPES, 2016).

- Rendimento dos extratos e óleos

Os rendimentos dos extratos para cada método extrativo espécie vegetal se encontram na Tabela 5.

Tabela 5 - Rendimento dos extratos obtidos para a canela e cipó d' alho por diferentes métodos.

Método Extrativo	Canela		Cipó d' alho	
	Massa (g)	Rendimento (%)	Massa (g)	Rendimento (%)
Maceração	0,903g	4,51%	2,708g	13,54%
Soxlet	1,47g	7,35%	2,91g	14,55%

Os resultados do rendimento dos extratos obtidos (Tabela 5) demonstraram que o método por maceração apresentou rendimentos menores quando comparados aos extratos hidroalcoólico obtidos pelo método via Soxlet, para ambas as espécies vegetais . Em relação as partes dos vegetais de onde foram realizadas as extrações, observou-se que as folhas da espécie cipó d' alho apresentaram rendimento superior em ambos os métodos extrativos em relação as cascas da canela. Diante do antes exposto, o rendimento dos extratos obtidos a partir das plantas varia de acordo com fatores relacionados à planta e com os métodos de extração e líquidos extratores utilizados (DINIZ, 2000).

O extrato etanólico da espécie cipó d' alho apresentou clorofila e foi necessário realizar um procedimento de purificação para retirar esse pigmento, para realizar a análise de RMN, já que a clorofila é considerada um interferente.

Tabela 6 - Rendimento dos óleos obtidos da canela e do cipó d' alho

	Massa Inicial (g)	Massa Final (g)	Rendimento (%)
Canela	50,00	0,20	0,40%
Cipó d' alho	50,00	0,10	0,20%

De acordo com Guenther (1950); Koketsu *et al.* (1997) o rendimento do óleo essencial da canela apresenta rendimento que varia de 0,2 a 2,0% onde o valor obtido de 0,40% se encontra nessa variação. O rendimento da extração do óleo essencial do cipó d' alho é considerado baixo em valor absoluto, porém está de acordo com a literatura, uma vez que Xavier *et al.*, 2003 obteve rendimento de 0,11% ao extrair o mesmo óleo com a mesma metodologia.

4.1.3.1 Análise dos Extratos

- Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Nas análises de RMN dos extratos de canela e cipó d' alho via soxlet e maceração foram obtidos os espectros de hidrogênio (H^1) e carbono (C^{13}). Os espectros de Hidrogênio (H^1) dos extratos da canela obtidos via soxlet e maceração encontram-se nas Figuras 13 e 14, respectivamente.

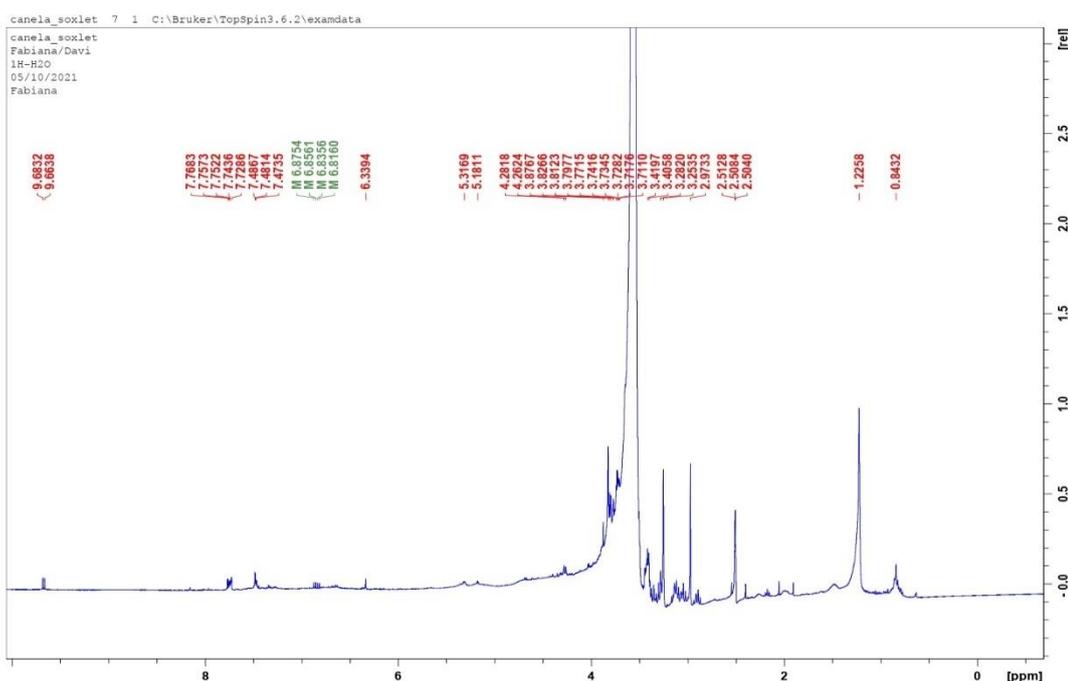
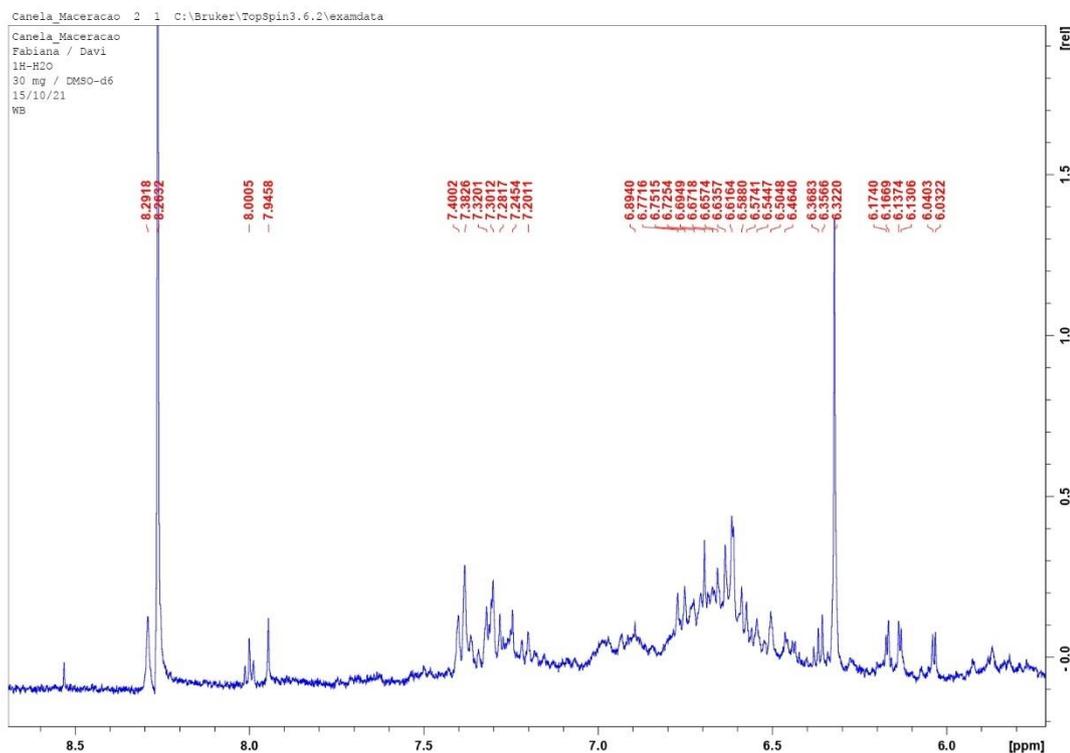
Figura 13: Espectro de hidrogênio (H^1) do extrato da casca de canela via soxlet.

Figura 14: Espectro de hidrogênio (H^1) do extrato da casca de canela via maceração.



Analisando os espectros de Hidrogênio (H^1) para a canela ambos os espectros obtidos apresentam picos de hidrogênio com deslocamento de 0,8 a 1,8 ppm associados a átomos de carbono sp^3 CH, CH_2 e CH_3 . Hidrogênios ligados a átomos de carbono $C=C$ sp^2 em alcenos (hidrogênios vinila) podem apresentar picos de 4,5 a 7,0 ou picos de 6,5 a 8,5 ppm quando ligados diretamente a anéis benzênicos, pico esse observado no extrato da canela obtido por maceração (Figura 14) enquanto que no espectro do extrato obtido por soxlet (Figura 13) observa-se um pico entre 9 a 10 ppm, região essa associada a hidrogênios de aldeídos o que pode indicar o composto trans-cinamaldeído. Segundo Pavia et al. (2015) o pico em 2,49 ppm corresponde ao sinal do solvente utilizado Dimetilssulfóxido- d_6 (DMSO) utilizado na análise enquanto que o pico em 3,5 corresponde ao sinal do solvente metanol- d_4 que poderia estar contido no tubo utilizado na análise.

Em relação aos extratos da canela obtido via soxlet (Figura 15) e maceração (Figura 16) foram obtidos os espectros de carbono (C^{13}).

Figura 15: Espectro de carbono (C^{13}) do extrato da casca de canela via soxlet.

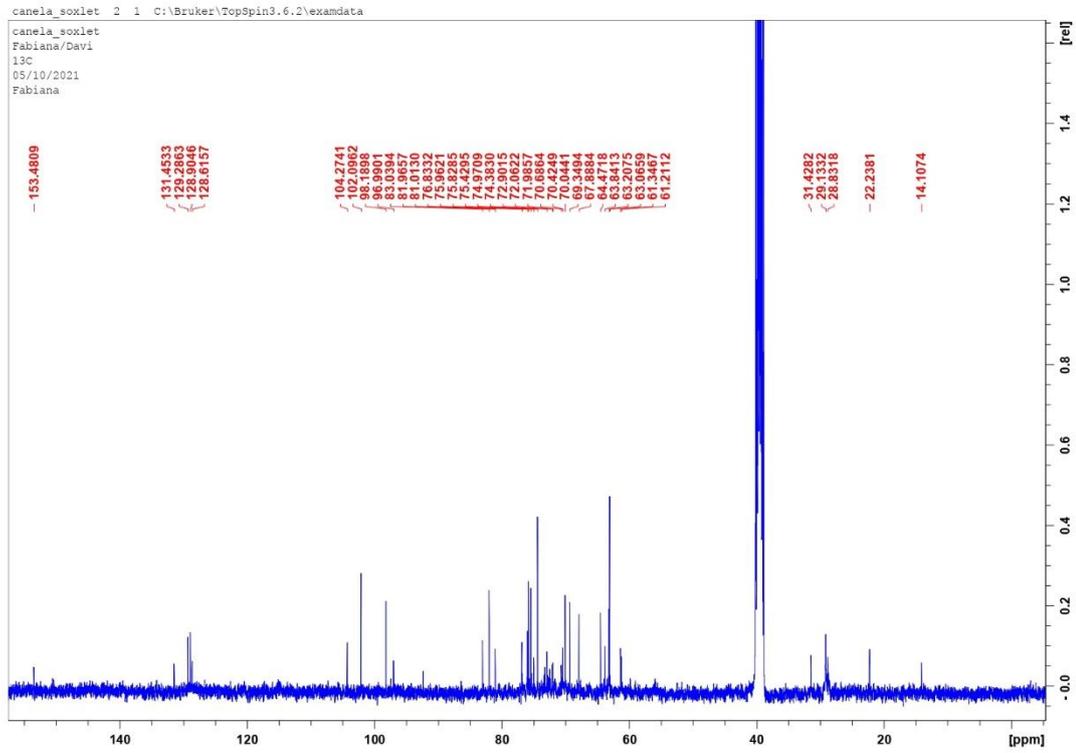
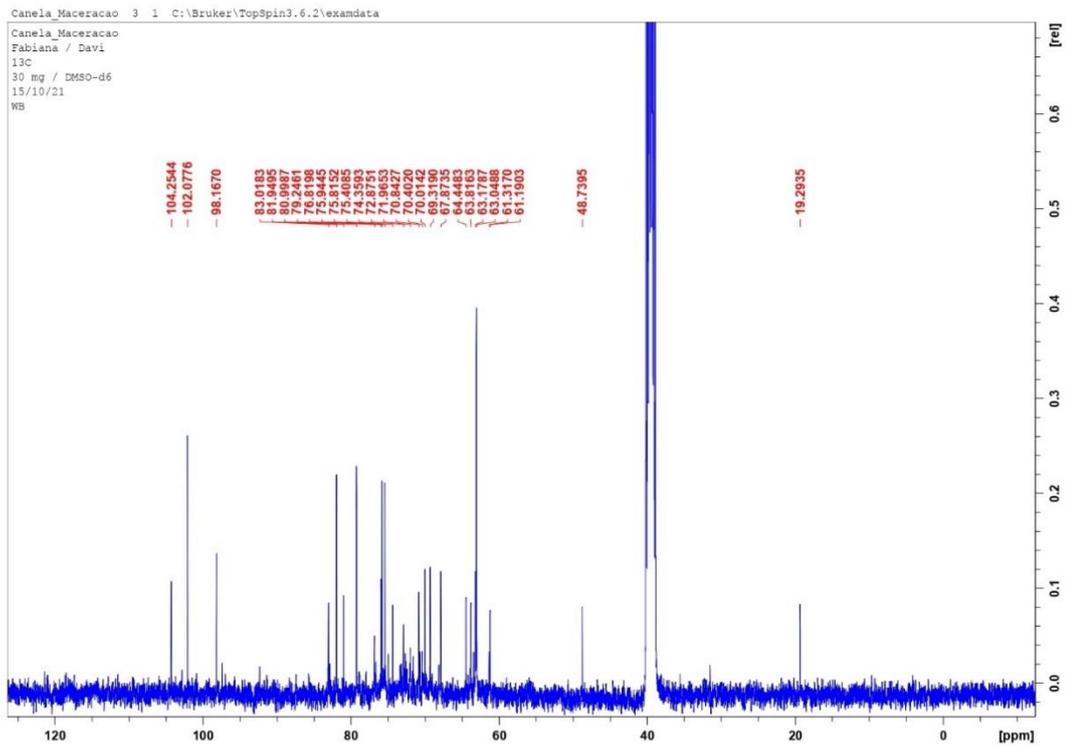


Figura 16: Espectro de carbono (C^{13}) do extrato da casca de canela via maceração.



Analisando os espectros acima destacam-se os picos com deslocamentos 128,90 ppm; 129,19 ppm; 129,57 ppm e 131,74 ppm sendo esses característicos de carbonos não saturados do tipo sp^2 (C=C), o pico com 153,77 ppm é característico de carbonos presentes em anéis aromáticos. Esses picos estão presentes no espectro de carbono (C^{13}) característico do extrato obtido via soxlet (Figura 15), porém ausente no espectro do extrato via maceração (Figura 16).

O composto ácido 3-2-metoxifenil-2propenóico apresenta sinais de deslocamentos de hidrogênio característicos de 2,47 ppm; 2,78 ppm e 6,85 ppm enquanto que para carbono em 29 e 31 ppm (CHEMICALBOOK, 2022) valores de carbono na faixa do espectro de carbono (C^{13}) do extrato etanólico da casca de canela via soxlet (Figura 15) com valores de 29,12 ppm; 29,42 ppm e 31,70 ppm.

O ácido 4-vinilbenzóico, apresenta sinais de deslocamentos de hidrogênio de 6,7 a 6,84 ppm correspondentes ao hidrogênio da dupla ligação, sinais de 8,13 e 8,16 correspondente aos hidrogênios do anel aromático (NILLES; THEATO, 2007) presentes no espectro do extrato obtido via maceração (Figura 24) e sinais de carbono de 125,5 a 130 ppm (Spectrabase) onde no espectro de (C^{13}) do extrato etanólico da casca de canela via soxlet (Figura 15) apresenta sinais na faixa de 128 a 131 ppm.

Segundo Albarici *et al.* (2010) o composto cumarina apresenta sinais de hidrogênios que variam de deslocamentos de 6,44 a 7,7 característico do esqueleto cumarínico, sendo observado picos nessa faixa no espectro de hidrogênio no extrato etanólico da canela (Figura 13). Quando avaliamos o espectro de carbono (C^{13}) (Figura 15) para o extrato etanólico observou-se sinais de deslocamento de 128,9 ppm; 131,74 ppm e 153,77 ppm próximos aos 127,9 ppm, 131,9 ppm e 154 ppm característicos de carbonos no esqueleto da cumarina (Albarici *et al.*, 2010).

Segundo Ponciano *et al.* (2020) ao avaliar o extrato da canela por meio de RMN em diferentes solventes com o objetivo de caracterizar os compostos, em todos os solventes foi encontrado o composto cinamaldeído em cerca de 70% do extrato, apresentando sinal característico de ressonância para hidrogênio de 9,75 ppm, esse sinal está presente no espectro de hidrogênio do extrato etanólico com 9,68 ppm (Figura 13). Ao avaliar o espectro de carbono, Ponciano *et al.* (2020) relata sinais característicos com deslocamentos de 14,02 ppm; 22,58 ppm; 29,58 ppm; 128,40 ppm; 129,01 ppm; 131,21 ppm e 152,80 ppm valores

próximos presentes no espectro de carbono (C^{13}) para o extrato etanólico de 14,39 ppm; 22,53 ppm; 128,90 ppm; 129,19 ppm; 129,57 ppm; 131,74 ppm e 153,77 ppm (Figura 15).

Figura 17: Espectro de hidrogênio (H^1) do extrato da folha de cipó d' alho via soxlet.

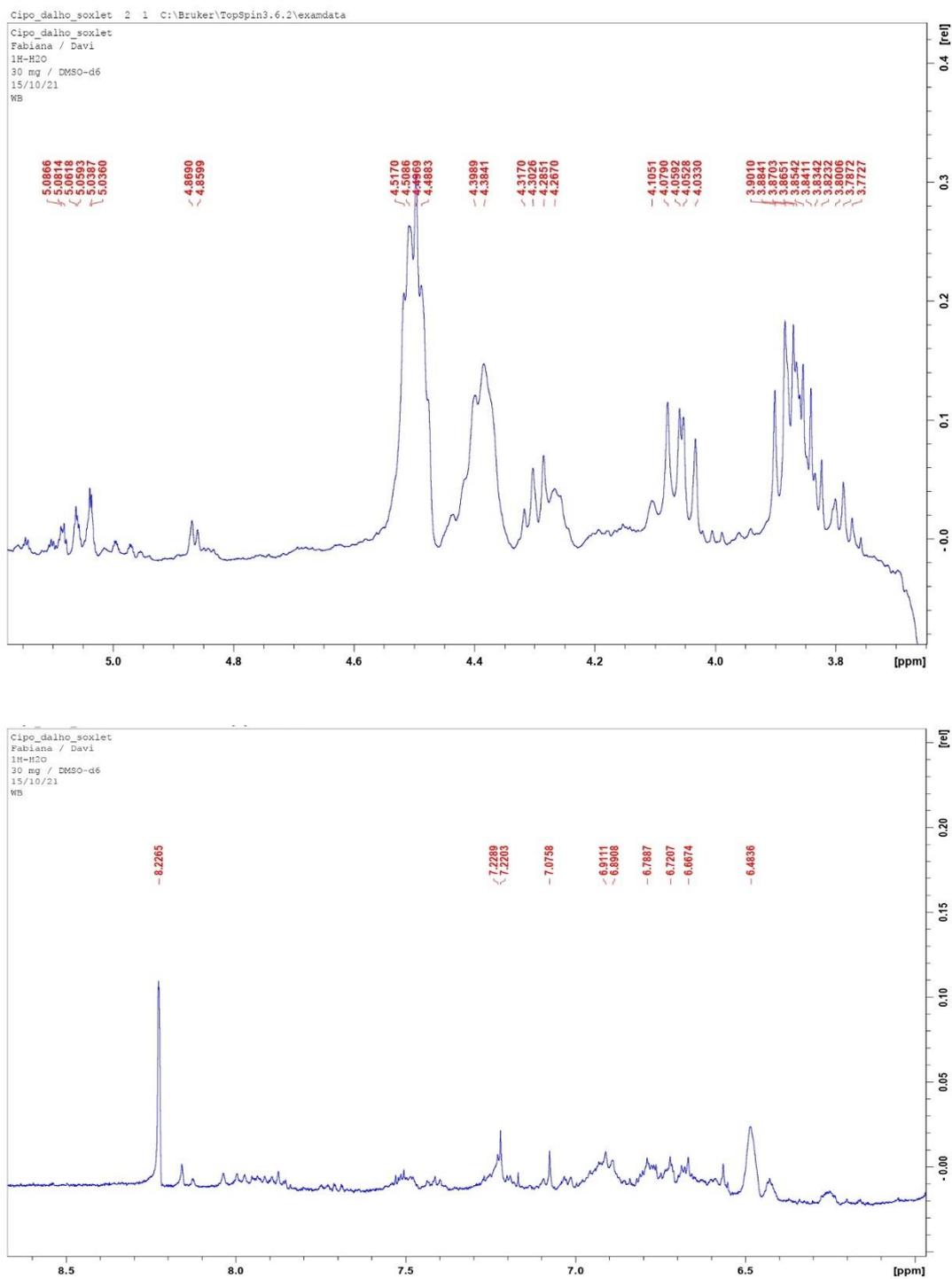
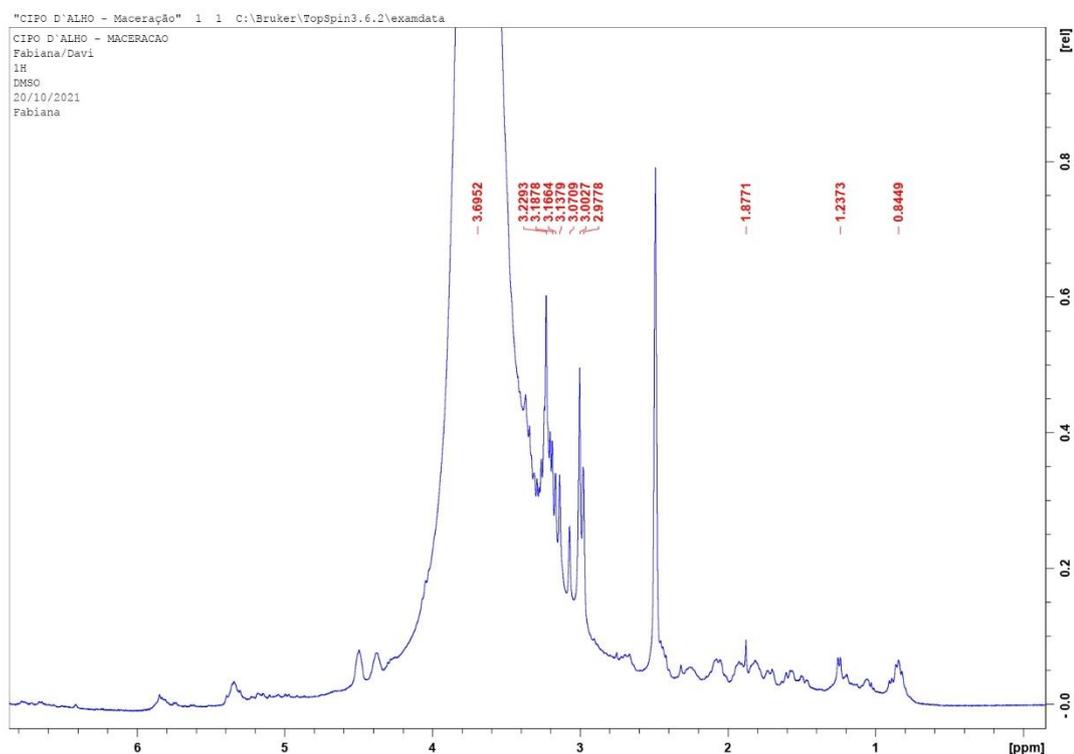


Figura 18: Espectro de hidrogênio (H^1) do extrato da folha de cipó d' alho via maceração.



A análise dos espectros (Figura 17) demonstra que o espectro de hidrogênio do extrato de cipó d' alho obtido via soxlet apresenta um maior número de picos, porém ambos apresentam região de 1,8 a 3,0 ppm que corresponde a picos de hidrogênio associados a um átomo de carbono sp^3 próximo a grupos $C=O$, $C=C$ e aromáticos. A região de 4,5 a 7,0 ppm presente no espectro via soxlet (Figura 25) está associada normalmente a hidrogênios diretamente ligados a átomos de carbono $C=C$ sp^2 em alcenos (hidrogênios vinila), característica essa presente nos compostos majoritários do cipó d' alho como: 2-vinil-1,3-diti-5-eno, 3-vinil-1,2-diti-5-eno, dissulfeto de dialila, trissulfeto de dialila e tetrassulfeto de dialila, segundo Guilhon, Bittencourt, Lima e Zoghbi (2012).

Em relação aos extratos do cipó d' alho obtido via soxlet e maceração obteve-se os espectros de carbono (C^{13}) nas Figuras 19 e 20, respectivamente.

Figura 19: Espectro de carbono (C^{13}) do extrato da folha de cipó d' alho via soxlet.

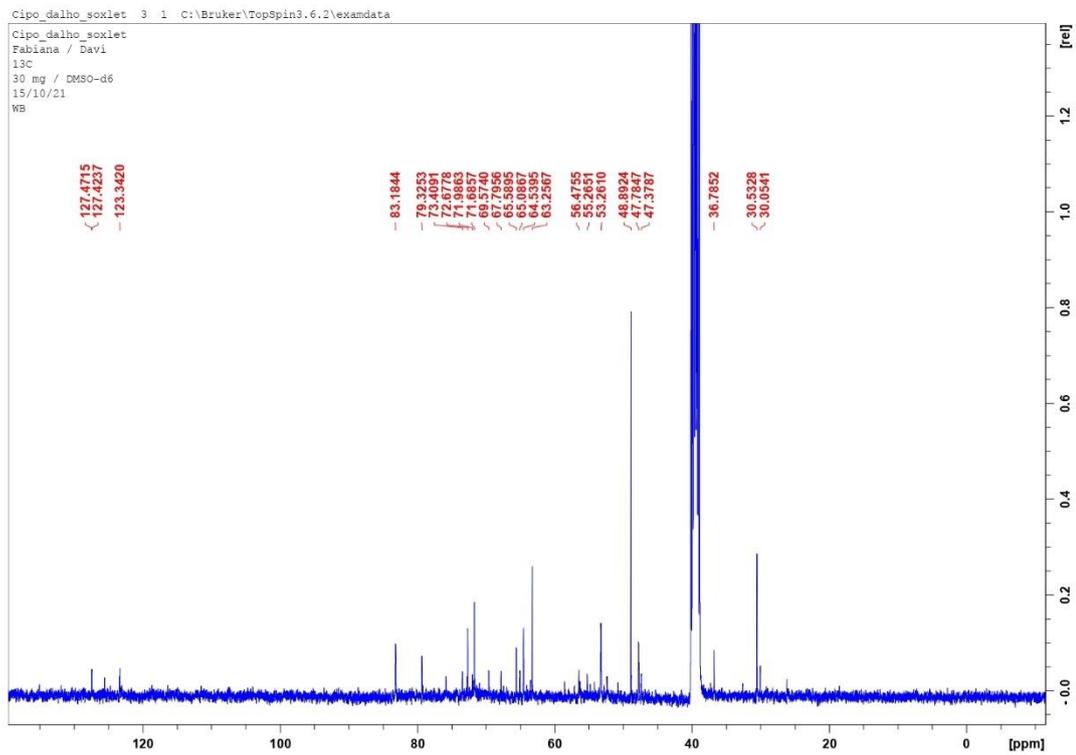
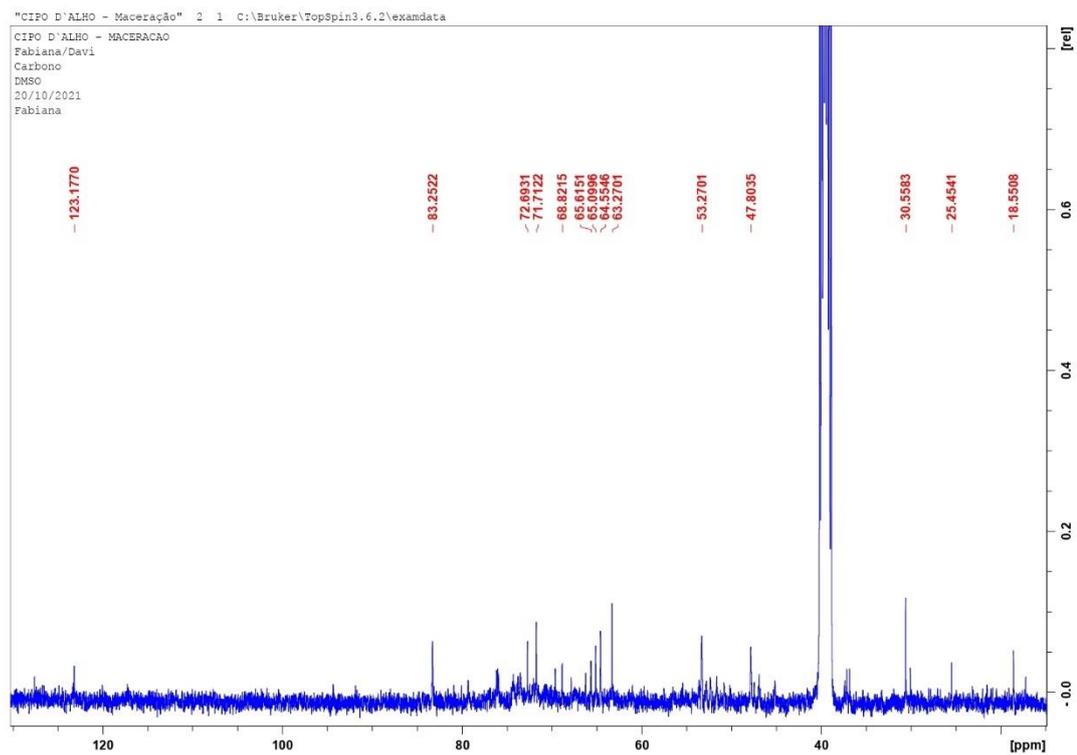


Figura 20: Espectro de carbono (C^{13}) do extrato da folha de cipó d' alho via maceração.



Analisando os espectros de carbono (C^{13}) para o cipó d' alho ambos (figura 19 e 20) apresentam sinais com deslocamentos de 10 a 50 ppm característicos de grupos CH_3 , 35 a 80 ppm característico de átomos eletronegativos ligados a carbonos $-CH_2$. Observa-se também sinais nas faixas de 110 a 175 ppm característicos de grupos ($C=C$) em alcenos e compostos aromáticos. O pico evidenciado na faixa de 39,5 ppm é característico do solvente dimetilssulfóxido- d_6 (DMSO) utilizado na análise (Pavia *et al.* 2015).

Compostos organossulfurados como o dissulfeto de dialila, apresenta sinais de hidrogênio característicos em 5,05 e 5,11 ppm e sinal com pico característico em 133,4 ppm para carbono; o composto trissulfeto de dialila e terassulfeto de dialila apresentam sinal característico em 132,6 para carbono para o solvente clorofórmio deuterado (SPECTRABASE, 2022).

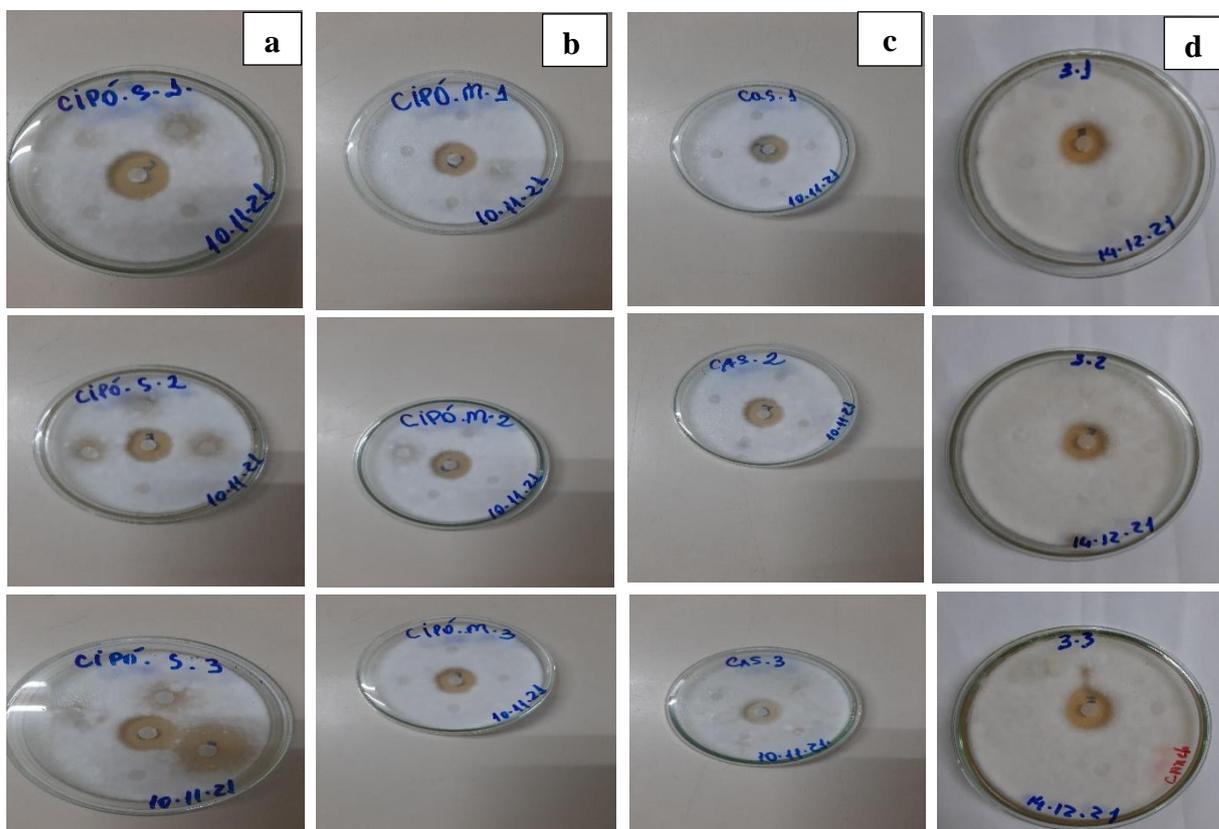
O composto 2-vinil-1,3-diti-5-eno apresenta sinais característicos de hidrogênio CH_2-S com deslocamentos de 3,17 ppm e 4,68 ppm e para carbono de 25,1 e 45,1 ppm; $CH=CH$ presentes na cadeia cíclica com deslocamentos de 3,35 ppm para hidrogênio e 122 ppm para carbonos enquanto que $CH=CH$ fora da cadeia cíclica apresentam deslocamentos de hidrogênios de 5,17 e 6,4 ppm e deslocamentos de carbono 118,3 e 117,2 ppm, respectivamente (BESLIN, 1983)

O composto 3-vinil-1,2-diti-5-eno apresenta picos característicos de hidrogênios CH_2-S com deslocamentos de 3,17 ppm e 4,68 ppm e deslocamentos de carbono de 25,1 e 45,1 ppm; $CH=CH$ presentes na cadeia cíclica com deslocamentos de 5,10 a 6,5 ppm para hidrogênios e 126 e 136,5 ppm para carbonos enquanto que $CH=CH$ fora da cadeia cíclica apresentam deslocamentos de hidrogênios de 5,17 e 6,4 ppm e deslocamentos de carbono 120,6 e 117,5 ppm respectivamente (BESLIN, 1983).

- Avaliação Antifúngica - Método de Difusão em Ágar- Técnica de Disco

Foram utilizados extratos etanólico e aquoso para as espécies cipó d' alho e canela na avaliação antifúngida. Foram testados quatro extratos (dois para cada espécie) em três concentrações diferentes (17,5mg/ml; 20,0mg/ml e 22,5mg/ml). Na Figura 21, apresentamos as imagens obtidas nos testes.

Figura 21 - Teste antifúngico para o cipó d' alho: extrato etanólico (a); extrato aquoso (b) para canela: extrato etanólico (c); extrato aquoso (d), em triplicata.



O extrato etanólico (a) da espécie vegetal cipó d' alho após 48 h apresentou halos de inibição nas três concentrações estudadas, valores evidenciados nas Tabelas 7, 8 e 9. Porém o extrato aquoso (b) dessa mesma espécie não apresentou halos de inibição. Em relação aos extratos da canela, o extrato etanólico (c) e aquoso (d) não apresentaram halo de inibição.

Segundo Bona *et al.* (2014) ao avaliar extratos vegetais aquosos e etanólicos das espécies *Psidium guajava*, *Myrciaria cauliflora* e *Syzygium cumini* sobre bactérias Gram-positivas, negativas e leveduras por meio de análises microbianas seja por difusão em discos, poços ou microdiluição, os extratos aquosos obtiveram valores de inibição menores que os etanólicos, o que provavelmente está relacionado aos diferentes metabólitos obtidos na extração aquosa e etanólica (COWAN, 1999; SANCHES *et al.*, 2005).

Na concentração de 17,5mg/ml do extrato etanólico (EEt) da espécie vegetal cipó d' alho esse apresentou halo de 8mm após 48h e se manteve com o mesmo halo em 72h (Tabela 7).

Tabela 7 – Atividade antimicrobiana de extratos obtidos de *Mansoa alliacea* (cipó d' alho) e *Zeylanicum blume* (canela) na concentração de 17,5mg/ml expressos em média e desvio padrão (mm).

Microrganismo	Diâmetro dos halos de inibição (mm)				DMSO	AFB
	<i>Mansoa alliacea.</i>		<i>Zeylanicum blume.</i>			
	Eet	EAq	Eet	EAq		
<i>Aspergillus niger</i>						
1º dia (24h)	-	-	-	-	-	-
2º dia (48h)	8±0,57	-	-	-	-	19
3º dia (72h)	8±0,57	-	-	-	-	25
4º dia (96h)	-	-	-	-	-	28
5º dia (120h)	-	-	-	-	-	28
6º dia (144h)	-	-	-	-	-	25
7º dia (168h)	-	-	-	-	-	25

EEt: Extrato etanólico; EAq: Extrato aquoso; DMSO: Dimetilsulfóxido; AFB: Anfotericina B. Sinal convencional utilizado: – Dado numérico igual a zero, não resultante de arredondamento.

Na concentração de 20,0 mg/ml do extrato etanólico (EEt) da espécie vegetal cipó d' alho esse apresentou halo de 15mm após 48h e halo de 10mm em 72h (Tabela 8).

Tabela 8 – Atividade antimicrobiana de extratos obtidos de *Mansoa alliacea* (cipó d' alho) e *Zeylanicum blume* (canela) na concentração de 20,0mg/ml expressos em média e desvio padrão (mm).

Microrganismo	Diâmetro dos halos de inibição (mm)				DMSO	AFB
	<i>Mansoa alliacea.</i>		<i>Zeylanicum blume.</i>			
	Eet	EAq	Eet	EAq		
<i>Aspergillus niger</i>						
1º dia (24h)	-	-	-	-	-	-
2º dia (48h)	15±8,66	-	-	-	-	19
3º dia (72h)	10±0,00	-	-	-	-	25
4º dia (96h)	-	-	-	-	-	28
5º dia (120h)	-	-	-	-	-	28
6º dia (144h)	-	-	-	-	-	25
7º dia (168h)	-	-	-	-	-	25

EEt: Extrato etanólico; EAq: Extrato aquoso; DMSO: Dimetilsulfóxido; AFB: Anfotericina B. Sinal convencional utilizado: – Dado numérico igual a zero, não resultante de arredondamento.

Na concentração de 22,5 mg/ml do extrato etanólico (EEt) da espécie vegetal cipó d' alho esse apresentou halo de 6mm após 48h e halo de 10mm em 72h (Tabela 9).

Tabela 9 – Atividade antimicrobiana de extratos obtidos de *Mansoa alliacea* (cipó d' alho) e *Zeylanicum blume* (canela) na concentração de 22,5mg/ml expressos em média e desvio padrão (mm).

Microrganismo	Diâmetro dos halos de inibição (mm)				DMSO	AFB
	<i>Mansoa alliacea.</i>		<i>Zeylanicum blume.</i>			
	Eet	EAq	Eet	EAq		

<i>Aspergillus niger</i>						
1º dia (24h)	-	-	-	-	-	-
2º dia (48h)	6±6,11	-	-	-	-	19
3º dia (72h)	10±3,46	-	-	-	-	25
4º dia (96h)	-	-	-	-	-	28
5º dia (120h)	-	-	-	-	-	28
6º dia (144h)	-	-	-	-	-	25
7º dia (168h)	-	-	-	-	-	25

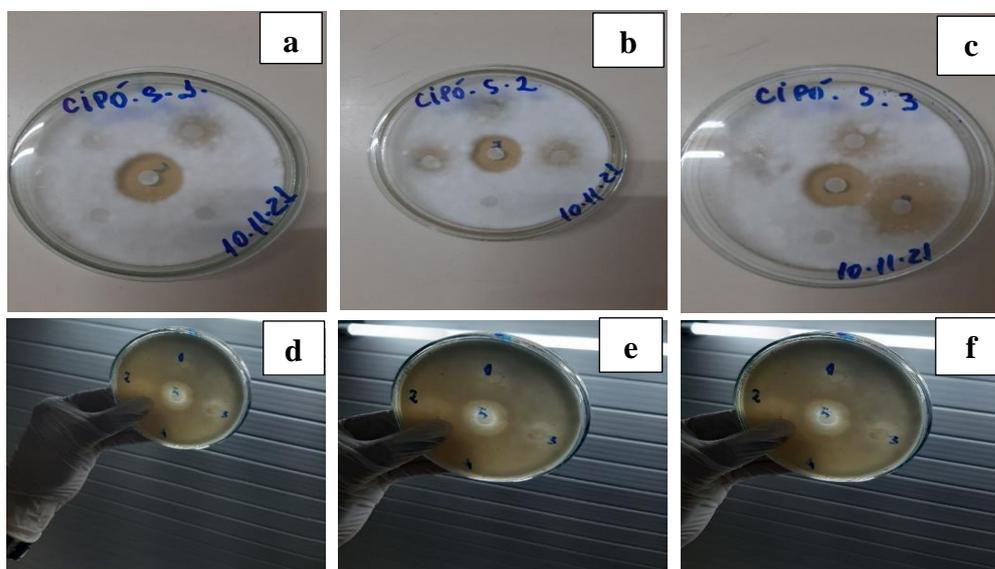
EEt: Extrato etanólico; EAq: Extrato aquoso; DMSO: Dimetilsulfóxido; AFB: Anfotericina B. Sinal convencional utilizado: – Dado numérico igual a zero, não resultante de arredondamento.

Os halos de inibição variaram de 8 a 15mm entre 48h a 72h para o extrato etanólico do cipó d' alho. Do quarto dia ao sétimo foi observado a ausência de halos devido ao crescimento do fungo *Aspergillus niger* nas placas sendo observado apenas halos no controle positivo representado pela Anfotericina B.

Dependendo do organismo a ser testado, a atividade antifúngica pode variar, Araújo (2010) obteve resultado positivo utilizando o extrato do cipó d' alho (*Mansoa alliacea*) com ação inibidora de bactérias coriogênicas, do grupo *S. viridans*, que são associadas a casos de infecção bucal, os dois microrganismos com resultado positivo foram, *S. sanguis* e *S. mutans* (halo de 9 mm).

Para ilustrar a ação antifúngica do extrato etanólico do cipó d' alho nas concentrações de 17,5mg/ml; 20,0mg/ml e 22,5mg/ml de 48h a 72h apresentamos como exemplo as imagens obtidas nos testes (Figura 22).

Figura 22- Testes antifúngicos para o extrato etanólico de cipó d' alho realizado em triplicata em 48h (a, b, c) e 72h (d, e, f).



4.1.3.2 Análise dos Óleos

- Cromatografia Gasosa (CG)

Os espectros resultantes das análises dos óleos de canela e cipó d’alho, utilizados para determinar sua composição encontram-se no Apêndice A. Os resultados das análises de cromatografia, da composição do óleo da canela encontram-se na Tabela 10 e a composição do óleo do cipó d’alho na Tabela 11.

Tabela 10 – Constituintes do óleo essencial das cascas da canela.

Índice de Retenção (IR)	Composto	%
1271	Trans-Cinamaldeído	53,34
1444	Acetato de cinamila	29,59
1097	Linalol	8,21
1417	Cariofileno	1,74
1373	α -Copaene	1,35
1157	Hidrocinamaldeído	0,95
1759	Benzoato de benzila	0,87
1187	α -Terpineol	0,73
1214	Cis-Cinamaldeído	0,72
1606	Tetradecanal	0,71
1352	Eugenol	0,65
1365	Acetato de hidrocinamila	0,53
1362	Óxido de piperitenona	0,44
1581	Longipinanol	0,17

A análise dos componentes majoritários presentes no óleo extraído da canela, tem-se que os compostos trans-cinamaldeído, acetato de cinamila, linalol e cariofileno são os componentes majoritários. Lawrence (1994) e Koketsu (1997) relatam a presença de 60% e 54,7% de cinamaldeído, respectivamente no óleo das cascas da canela. Jayaprakasha (2003) caracterizou esse óleo por meio de cromatografia gasosa e espectrometria de massa sendo os compostos acetato de cinamila (35,59 %) e cariofileno (22,36%) os principais compostos majoritários.

A composição dos óleos essenciais de canela pode apresentar variações extremas, como na pesquisa de Nath *et al.* (1996) em que valores altos de benzoato de benzila são encontrados na casca (84,69%), enquanto que os teores de eugenol e aldeído cinâmico não chegam a 1% bem como o linalol (3,42%) no óleo da casca. Para o óleo do cipó d’alho a composição a nível de compostos encontra-se na Tabela 11.

Tabela 11 – Constituintes do óleo essencial das folhas de cipó d’alho.

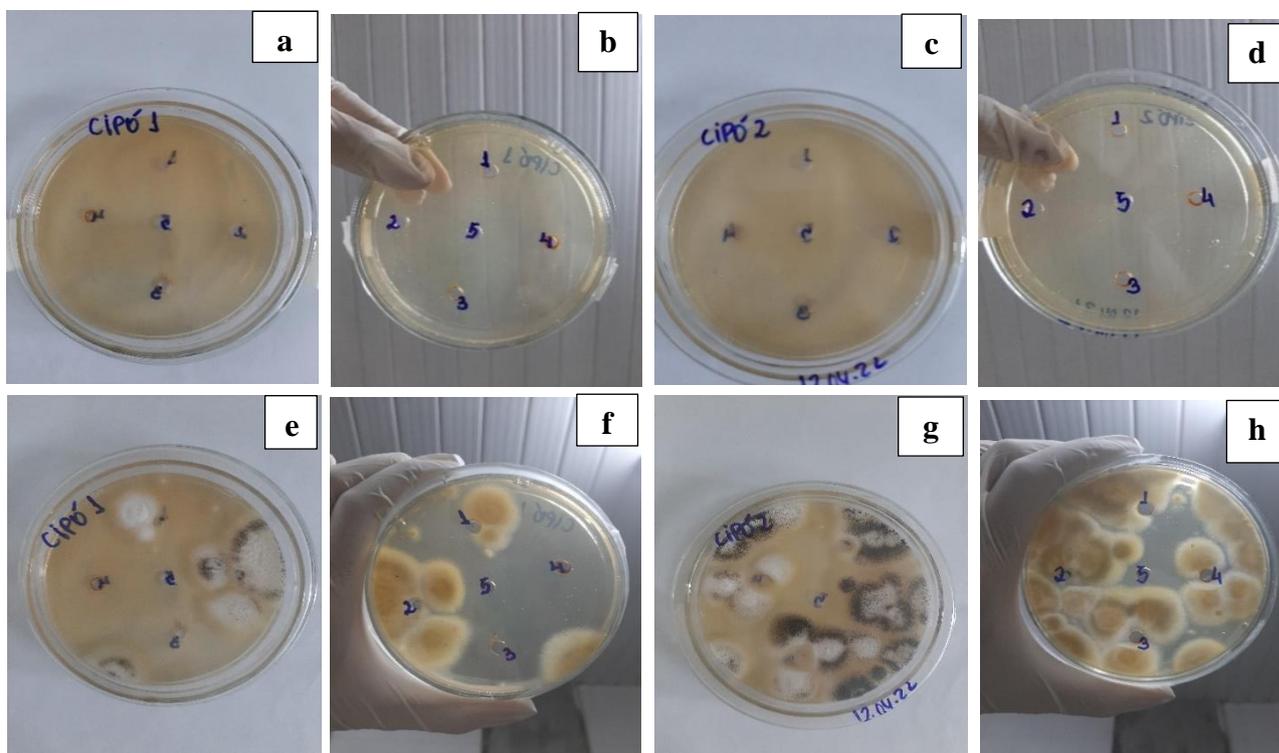
Índice de Retenção (IR)	Composto	%
1088	Dissulfeto de dialila	45,37
1296	Trissulfeto de dialila	24,74
1196	Tritiaciclohexeno	9,22
1538	Tetrassulfeto de dialila	3,8
1209	2-vinil-1,2-diti-1-eno	2,95
957	Ditiaciclopenteno	2,57
1357	5-metil-1,2,3,4-tritiano	2,56
2042	Ciclo-octasulfeto	2,43
1186	3-vinil-1,2-diti-5-eno	2,28
1134	Trissulfeto de metil alila	1,35
1261	Trissulfeto de propil alila	0,33
1362	Óxido de piperitenona	0,25

Na análise dos componentes majoritários do óleo do cipó d’alho foram obtidos dissulfeto de dialila, trissulfeto de dialila, tritiaciclohexeno e tetrassulfeto de dialila. Segundo Zoghbi, Andrade e Maia (2002) a avaliação fitoquímica do óleo de cipó d’alho por CG/MS obtido das folhas evidenciaram compostos como dissulfeto de dialila (34,0%), trissulfeto de dialila (58,2%) e tetrassulfeto de dialila (3,3%).

- Avaliação Antifúngica - Método de Difusão em Ágar- Técnica do Poço

Os dois óleos para as duas espécies vegetais foram testados em três volumes diferentes (1 µL; 5 µL e 10 µL) em cada poço. Na Figura 23, encontram-se as imagens obtidas nos testes para o óleo de cipó d’alho após 48h (2 dias) e 240 h (10 dias).

Figura 23- Teste antifúngico para o óleo de cipó d’alho realizado em duplicata após 48h (a,b,c,d) e 240h (e, f, g, h).

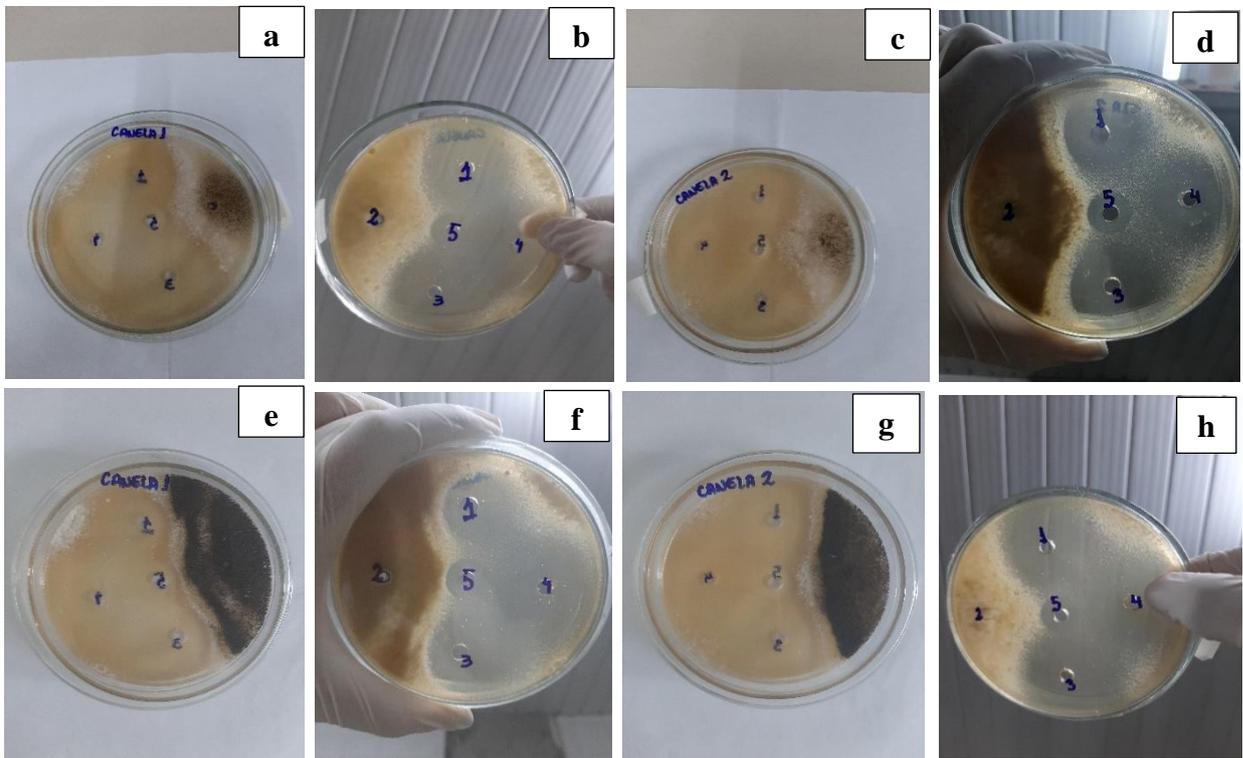


Após o período de 48h, observou-se que nas placas que continham os óleos do cipó d’alho não ocorreu crescimento do fungo, comportamento esse que evidencia que o óleo dessa espécie vegetal inibe a germinação do fungo, pois a difusão de traços de compostos voláteis pode induzir ou inibir a germinação ou o crescimento e desencadear alterações no desenvolvimento de fungos (FRENCH, 1992).

No 10º dia (240h) observou-se que os fungos começaram a se proliferar nas placas (Figura 23). Uma possível atribuição para a redução do potencial de inibição pode ser à volatilização dos constituintes dos óleos, e/ou à instabilidade na presença de ar, luz, calor, umidade e metais modificando a atmosfera no interior das placas de Petri (SIMÕES *et al.*, 2000)

Quando se analisa as placas para o óleo da canela observou-se que para esse mesmo período de 48h o crescimento micelial do fungo se fez presente no poço (número 2) que não continha óleo e circundando o poço (número 5) que continha o antifúngico anfotericina B. Esse comportamento foi mantido no 10º dia de observação (Figura 24).

Figura 24- Teste antifúngico para o óleo de canela realizado em duplicata após 48h (a,b,c,d) e 240h (e, f, g, h).



Ao avaliar os poços contendo os óleos nos volumes 1, 5 e 10 μL foi possível medir os halos ao redor dos poços. O poço 1 apresentou halo de 25mm, poço 3 halo de 28mm e poço 4 de 30mm. O número 2 que não continha óleo foi envolvido pelo fungo e o 5 com o antifúngico anfotericina B apresentou halo de 10mm. Esses resultados estão de acordo com Carmo *et al* (2008), que relata o potencial do óleo de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) como composto com ação antifúngica, que inibiu o crescimento de *Aspergillus* particularmente a espécie *Aspergillus niger* com cerca de 25% (20 $\mu\text{L}/\text{ml}$) desse óleo, quantidade maior que as investigadas nesse estudo.

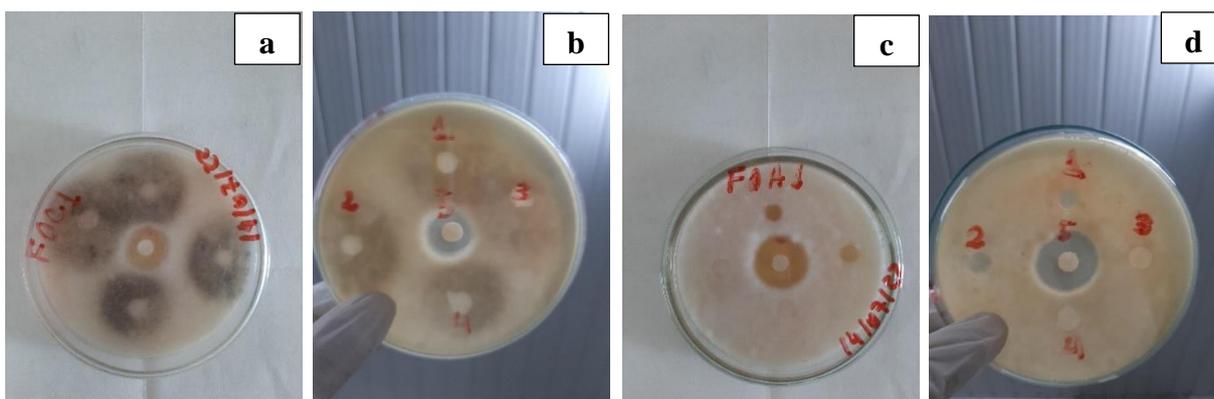
O exposto acima evidencia o potencial antifúngico dos óleos do cipó d'alho e canela pois a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é decorrente de seu caráter hidrofóbico e seu principal ponto de atuação é a membrana citoplasmática microbiana. Eles se acumulam na bicamada lipídica de acordo com um coeficiente de partição específico para o composto aplicado, levando à ruptura da estrutura e perda da função da membrana (POL; SMID, 1999).

4.1.3.3 Análise Fúngica dos Filmes Biodegradáveis

O teste de difusão em discos, utilizando discos de filmes biodegradáveis de amido de mandioca e como controle positivo o antifúngico anfotericina B impregnado no disco de papel. Observou-se que no disco de papel contendo o antifúngico, houve um processo de difusão formando halo de inibição o que não ocorreu com os filmes biodegradáveis devido serem constituídos de amido e o papel de celulose. Esse comportamento ocorreu pois o disco impregnado com o antifúngico entra em contato com a superfície úmida do ágar, a água é absorvida no papel filtro e o princípio ativo do antifúngico se difunde no meio circundante onde a velocidade de extração do antifúngico é maior para fora do disco do que sua difusão para o centro onde a concentração do mesmo diminui a medida que aumenta a distância em relação ao disco (KONEMAM *et al.*, 2001).

Os filmes biodegradáveis contendo os óleos da canela com surfactante após 48h do experimento foi possível observar que todos os filmes já continham halos de esporulação ao redor dos filme. Os filmes contendo o óleo de cipó d' alho nos volumes de 36,67 μL e 183,33 μL (discos 1 e 2) não apresentaram crescimento micelial nem esporulação ao seu redor, no entanto, os filmes contendo 366,7 μL (disco 3) e o controle sem a presença de óleo e surfactante (disco 4) apresentaram crescimento micelial (Figura 25).

Figura 25- Teste antifúngico de difusão em disco para os filmes com o óleo de canela (a,b); óleo do cipó d' alho (c,d) após 48h.



A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais pode ser atribuída aos monoterpenos contidos que, devido ao seu caráter hidrofóbico, agem rompendo a membrana citoplasmática microbiana, perdendo assim sua alta impermeabilidade aos prótons e íons maiores. Como ocorre a perturbação da integridade da membrana, suas funções se comprometem, não só

como barreira, mas também como matriz de enzimas e como transdutor de energia (CRISTIANI et al., 2007).

Na Tabela 12 encontram-se os halos de esporulação em volta dos filmes biodegradáveis contendo o óleo da canela nos volumes de 36,67 μL ; 183,33 μL e 366,7 μL durante o crescimento micelial do fungo a esporulação do mesmo durante 24, 48h e 72h. Todas as três placas contendo os filmes biodegradáveis da canela apresentaram halos de esporulação no segundo dia maiores que o filme controle que não apresentava óleo. No terceiro dia de observação, os halos aumentaram de tamanho já que o processo de esporulação se intensifica onde as colônias apresentam crescimento rápido de 4,5-6,5cm em 10 dias a 28°C (PITT; SAMSOM, 2007).

Tabela 12 – Atividade antimicrobiana dos filmes com surfactante com o óleo de *Zeylanicum blume* (canela) nos volumes de 36,67 μL ; 183,33 μL e 366,7 μL expresso em média e desvio padrão.

Filmes	canela			Filme controle
	Diâmetro de halos de esporulação (mm)			
Microrganismo				
<i>Aspergillus niger</i>	36,67 μL	183,33 μL	366,7 μL	
1º dia	-	-	-	-
2º dia	32 \pm 0	24,66 \pm 2,51	31,66 \pm 2,88	20 \pm 2,88
3º dia	38 \pm 6,08	33,3 \pm 7,02	39,33 \pm 1,15	37,33 \pm 12,05

Tabela 13 – Atividade antimicrobiana dos filmes com surfactante com o óleo de *Mansoa alliacea* (cipó d' alho) nos volumes de 36,67 μL ; 183,33 μL e 366,7 μL expresso em média e desvio padrão.

Filmes	Cipó d' alho			Filme controle
	Diâmetro de halos de esporulação (mm)			
Microrganismo				
<i>Aspergillus niger</i>	36,67 μL	183,33 μL	366,7 μL	
1º dia	-	-	-	-
2º dia	9,33 \pm 11,3	2,0 \pm 3,46	16,66 \pm 16	15,33 \pm 13,61
3º dia	19,33 \pm 10,06	27,33 \pm 7,02	35,33 \pm 4,5	35,33 \pm 4,50

Na Tabela 13 encontram-se os halos de esporulação em volta dos filmes biodegradáveis contendo o óleo do cipó d' alho nos volumes de 36,67 μL ; 183,33 μL e 366,7 μL durante o crescimento micelial do fungo e a esporulação do mesmo durante 24, 48h e 72h. Os dados mostram que os halos de esporulação foram menores para essa espécie vegetal principalmente no segundo dia de observação onde os filmes contendo os óleos nos volumes de 36,67 μL ; 183,33 μL não apresentavam em duas das três placas halos de esporulação, tendo apenas crescimento micelial nos filmes 3 e 4 para o volume de óleo de 366,7 μL e o filme controle (Figura 26).

Figura 26 – Teste antifúngico dos filmes biodegradáveis com óleos da canela (a) ; cipó d' alho (b) com surfactante e filmes biodegradáveis sem surfactante contendo óleo de canela, cipó d' alho no volume de 36,67 μL e 2,8 g de extrato de cipó d' alho (c) em 48h.

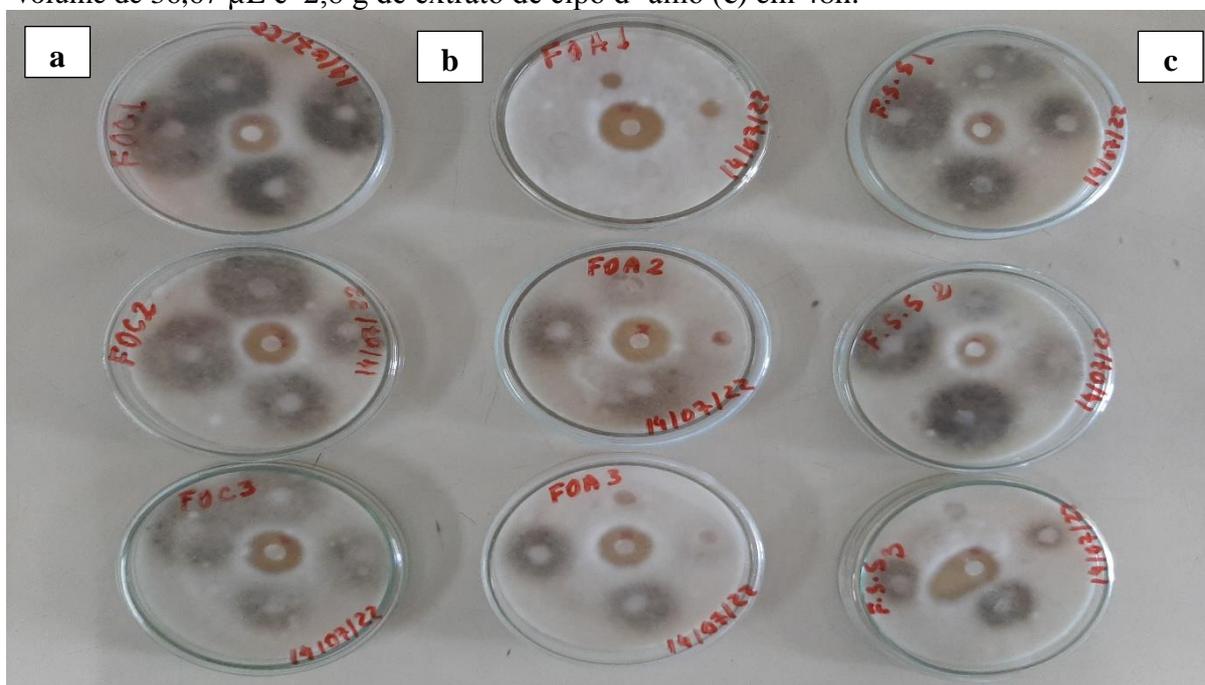


Tabela 14 – Atividade antimicrobiana dos filmes sem surfactante com o óleo de *Zeylanicum blume* (canela); *Mansoa alliacea* (cipó d' alho) nos volumes de 36,67 μL e extrato de *Mansoa alliacea* (cipó d' alho) expresso em média e desvio padrão.

Filmes	Diâmetro de halos de esporulação (mm)			
	canela	cipó	cipó	Filme controle
Microrganismo				
<i>Aspergillus niger</i>	36,67 μL	36,67 μL	2,8g	
1º dia	-	-	-	-
2º dia	13,3 \pm 12,58	17,33 \pm 4,61	29,33 \pm 8,08	28,66 \pm 2,30

3º dia	19,3±10,53	19,0±3,60	36,66±5,77	36,0±5,29
--------	------------	-----------	------------	-----------

Na Tabela 14 encontram-se os halos de esporulação em volta dos filmes biodegradáveis contendo o óleo da canela e do cipó d' alho no volume de 36,67 µL e 2,8 g de extrato de cipó d' alho sem uso do surfactante goma arábica para observar se esse poderia influenciar ou não em uma possível inibição do microrganismo.

Para o segundo dia ao comparar o filme sem o surfactante, esse apresentou halo de esporulação de 13,3 mm enquanto que o filme com o óleo da canela e cipó d' alho com surfactante apresentaram halos de 32mm e 9,33mm, respectivamente. Esse comportamento evidencia que a goma arábica adsorve na superfície do óleo ancorando o complexo polissacarídeo na interface e o grupo de polissacarídeos hidrofílicos produz uma barreira que inibe a floculação e coalescência por meio de repulsões eletrostáticas (WILLIAMS e PHILLIPS, 2000).

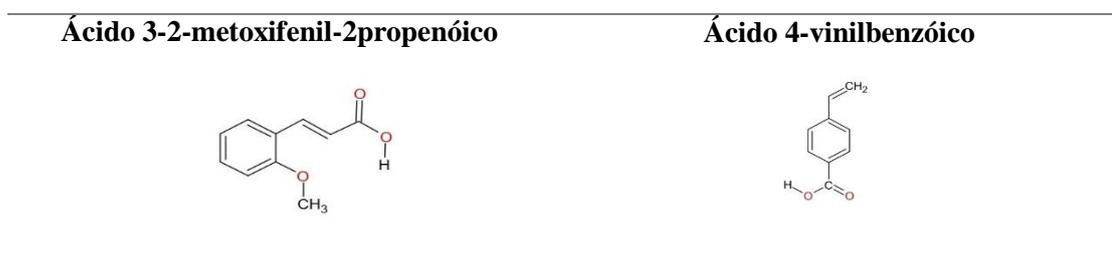
Os dados mostram que os halos de esporulação foram menores para as placas que continham os filmes com o óleo do cipó d' alho nos volumes de 36,67 µL; 183,33µL, pois no segundo dia de observação (48h), duas das três placas não apresentaram halos de esporulação e nem crescimento micelial nesses filmes, o que sugere que ocorreu inibição do crescimento do fungo por meio dos filmes pois foi observado crescimento micelial sobre os filmes 3 e 4 com volume de óleo de 366,7µL e o filme controle sem a presença de óleo, respectivamente (Figura 26).

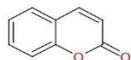
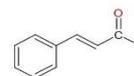
4.2 Estudo Teórico Computacional

4.2.1 Docagem Molecular

Na Figura 27 encontram-se as estruturas em 2D dos compostos majoritários presentes no extrato da casca da canela, utilizadas neste estudo de docagem como ligantes sendo eles: Ácido 3-2-metoxifenil-2-propenóico, Ácido 4-vinilbenzóico, Cumarina e Trans-Cinamaldeído.

Figura 27- Estrutura dos compostos majoritários do extrato da casca da canela em 2D.



Cumarina**Trans-Cinamaldeído**

Fonte: Mariappan, 2013.

O programa Molegro apresentou 10 posições possíveis para cada ligante dentro da cavidade principal da enzima. Tais resultados foram triados e neste estudo foram consideradas apenas as melhores poses, ou seja, de menor energia. Essas poses bem como os valores de energia são apresentadas na Tabela 15 onde o Ácido 3-2-metoxifenil-2-propenóico, Ácido 4-vinilbenzóico, Cumarina e Trans-Cinamaldeído, apresentaram energias de dock de -71,9803; -55,9669; -64,4317; -61,6148; respectivamente.

O ligante Ácido 3-2-metóxifenil-2-propenóico apresentou ligações de hidrogênio convencional com os resíduos de aminoácidos histidina (His 559 A), asparagina (Asn 514 A) e duas ligações de hidrogênio-carbono sendo tirosina (Tyr 68 A) e tirosina (Tyr 110 A) bem como 3 ligações hidrofóbicas sendo fenilalanina (Phe 414 A), histidina (His 516 A) e tirosina (Tyr 515 A). O ácido 4-vinilbenzóico apresentou ligações de hidrogênio convencionais com os resíduos de aminoácidos asparagina (Asn 514 A), arginina (Arg 512 A) e aspartato (Asp 504 A) bem como 3 ligações hidrofóbicas, sendo duas histidinas (His 516 A e 559A) e uma fenilalanina (Phe 414 A).

O ligante Cumarina apresentou 2 ligações de hidrogênio convencional com histidina (His 559 A) e treonina (Thr 110 A), 1 ligação de hidrogênio não convencional glicina (Gly 108 A) e duas ligações de natureza hidrofóbicas sendo metionina (Met 561 A) e valina (Val 560 A). O ligante Trans-Cinamaldeído apresentou 2 ligações de hidrogênio convencional com os aminoácidos arginina (Arg 512A) e Asparagina (Asn 514 A) bem como uma ligação de natureza carbono-hidrogênio histidina (His 559 A) e uma ligação de hidrogênio do tipo Pí sendo tirosina (Tyr 68 A) conforme Figura 28.

Tabela 15- Energias de Ligação e Interações por Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do extrato da canela com a enzima Beta D-Glucose.

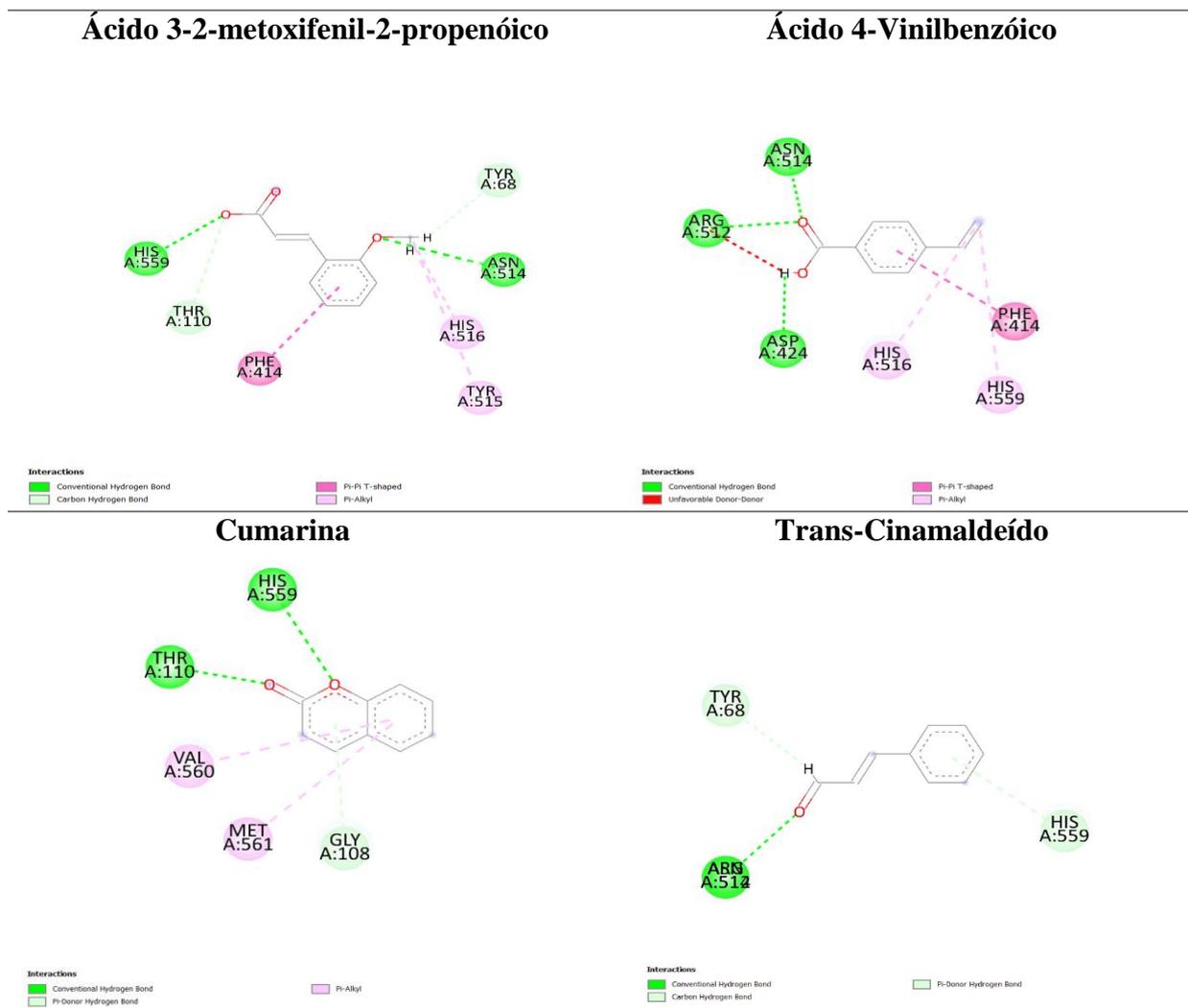
Ligante\ Posição	MolDock score (Kcal/mol)	Interações por Ligação de Hidrogênio
Ácido 3-2-metoxifenil-2-	-71,9803	His 559A; Asn 514A;

propenóico		
Ácido 4-Vinilbenzóico	-55,9669	Asn 514A; Arg 512A; Asp 504A
Cumarina	-64,4317	His 559 A; Thr 110 A
Trans-Cinamaldeído	-61,6148	Arg 512 A; Asn 514 A

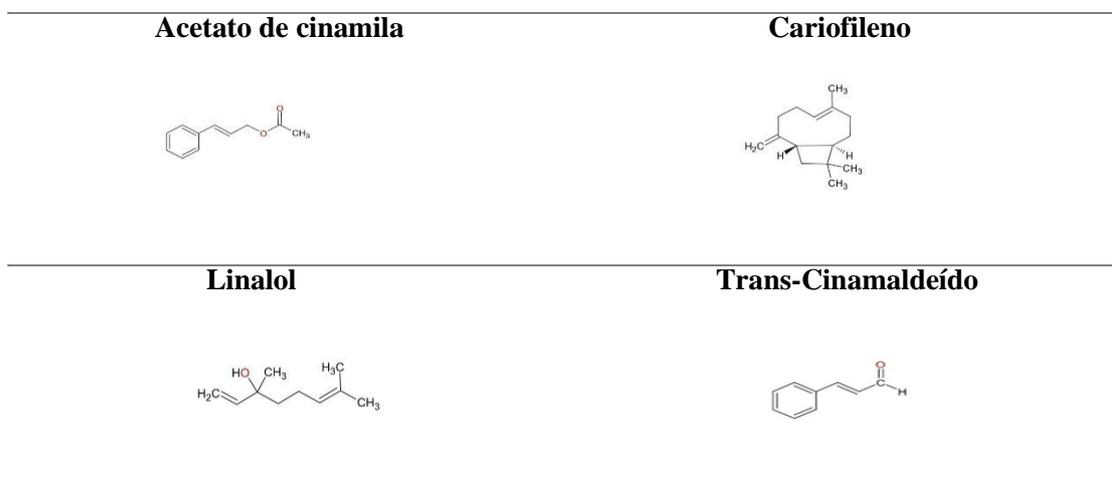
Fonte: Programa Molegro Virtual Docker.

Através das ilustrações contidas na Figura 28 é possível observar de forma clara as ligações de hidrogênio convencional (em verde) entre os hidrogênios dos resíduos de aminoácidos e os oxigênios dos ligantes, assim como as configurações espaciais.

Figura 28- Interações Via Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do extrato da canela.



Fonte: Programa Discovery Studio.

Figura 29- Estrutura dos compostos majoritários do óleo da casca da canela em 2D.

Fonte: LAWRENCE, 1994; NATH *et al.*, 1996.

Ao avaliar os compostos majoritários presentes no óleo da casca da canela, os ligantes acetato de cinamila, cariofileno, linalol e trans-cinamaldeído obtiveram energia de dock de -72,2988; -71,1861; -53,4004 e -61,6148, respectivamente (Tabela 16).

O ligante acetato de cinamila apresentou ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos histidina (His 559 A) e valina (560 A), uma ligação carbono – hidrogênio com o aminoácido histidina (His 516 A) e uma ligação hidrofóbica fenilalanina (Phe 414 A). O ligante Cariofileno não apresentou ligações de hidrogênio convencionais tendo apresentado apenas ligações hidrofóbicas histidinas (516A e 559A), fenilalanina (Phe 414 A) e triptofano (Trp 426 A).

Linalol apresentou duas ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos arginina (Arg 512 A) e asparagina (Asn 514 A) três ligações hidrofóbicas com os resíduos histidina (His 516 A e His 559 A) e triptofano (Trp 426 A). O ligante Trans-Cinamaldeído com dois resíduos de ligações de hidrogênio asparagina (514A) e arginina (Arg 512A) e duas ligações de hidrogênio não convencionais histidina (His 559 A) e Tirosina (Tyr 68 A) conforme Figura 30.

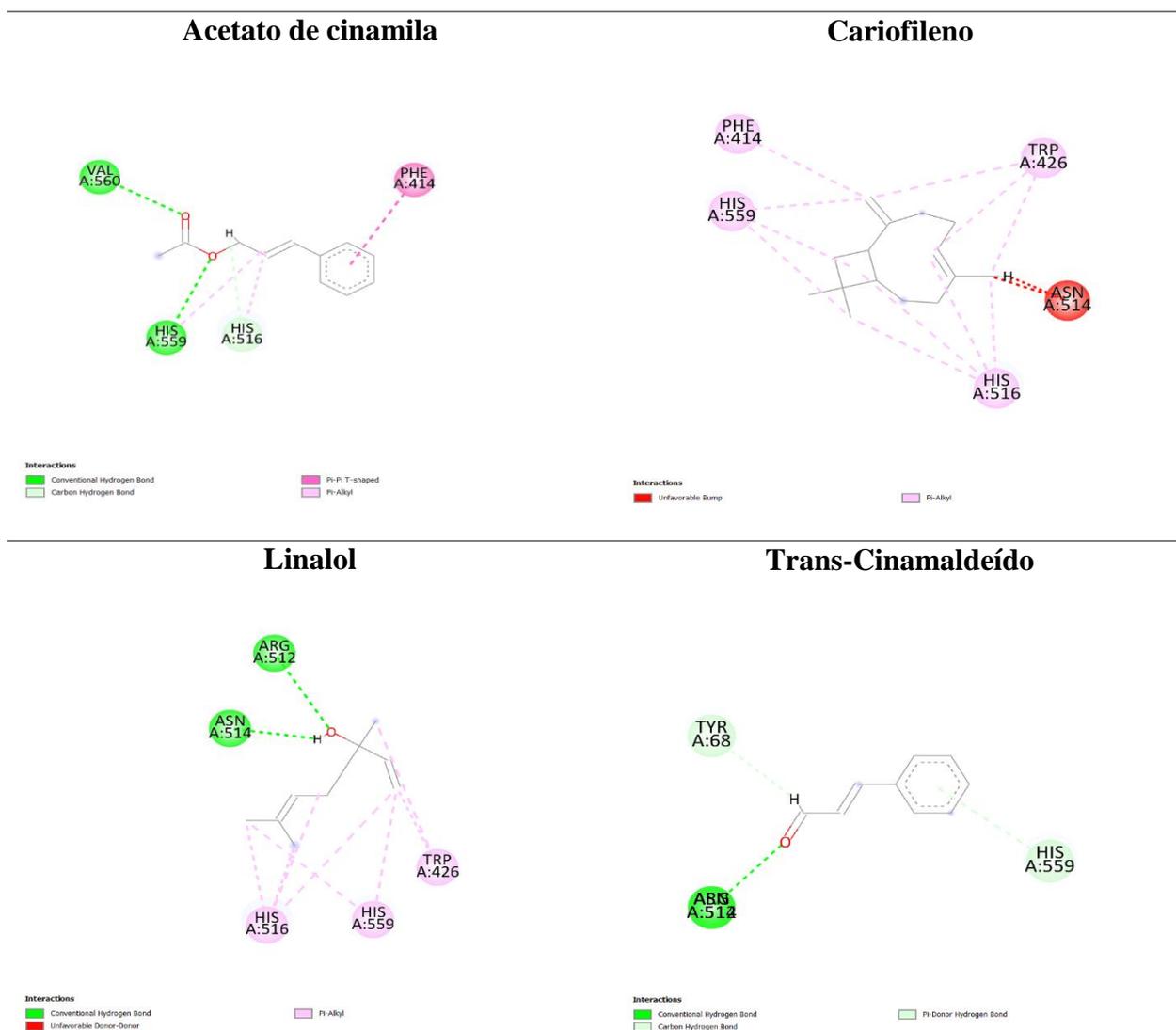
Tabela 16- Energias de Ligação e Interações por Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do óleo da canela com a enzima Beta D-Glucose.

Ligante\ Posição	MolDock score (Kcal/mol)	Interações por Ligação de Hidrogênio
Acetato de cinamila	-72,2988	His 559 A; Val 560 A
Cariofileno	-71,1861	Sem interação
Linalol	-53,4004	Arg 512 A; Asn 514 A
Trans-Cinamaldeído	-61,6148	Asn 514; Arg 512

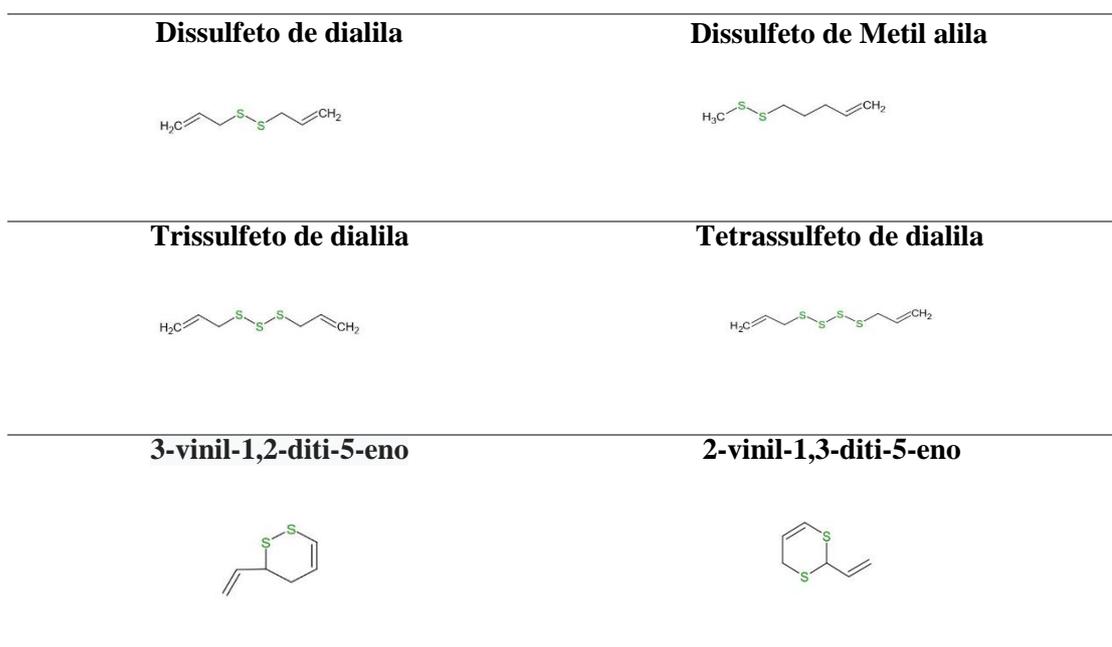
Fonte: Programa Molegro Virtual Docker.

Através das ilustrações contidas na Figura 30 é possível observar de forma clara as ligações de hidrogênio (em verde) entre os hidrogênios dos resíduos de aminoácidos e os dos ligantes, oxigênios assim como as configurações espaciais.

Figura 30- Interações Via Ligação de Hidrogênio dos ligantes do óleo da canela.



Fonte: Programa Discovery Studio.

Figura 31- Estrutura dos compostos majoritários do extrato do cipó d’alho em 2D.

Fonte: GUILHON, BITTENCOURT, LIMA E ZOGHBI, 2012.

Tabela 17- Energias de Ligação e Interações por Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do extrato do cipó d’alho com a enzima Beta D-Glucose.

Ligante\ Posição	MolDock score (Kcal/mol)	Interações por Ligação de Hidrogênio
Dissulfeto de dialila	-55,3890	Thr 110 A
Dissulfeto de Metil alila	-38,8689	Sem interação
Trissulfeto de dialila	-55,6906	Thr 110 A
Tetrassulfeto de dialila	-56,2490	Sem interação
3-Vinil-1,2-diti-5-eno	-47,1858	Sem interação
2-Vinil-1,3-diti-5-eno	-50,9705	Thr 110 A

Fonte: Programa Molegro Virtual Docker.

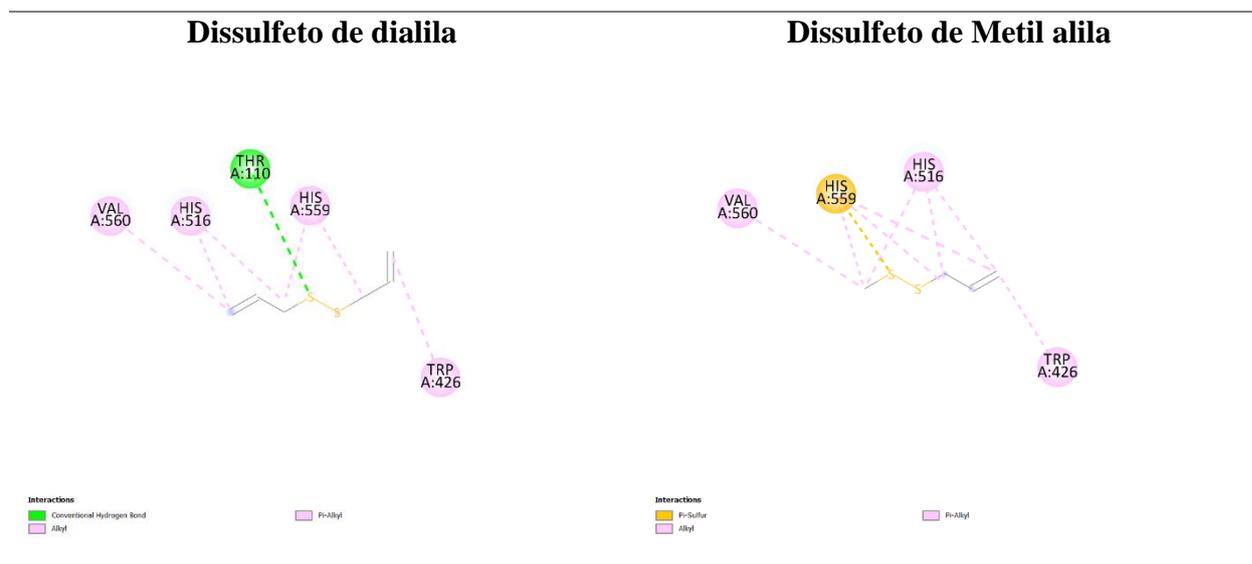
Ao avaliar os compostos majoritários presentes no extrato das folhas de cipó d’alho, os ligantes Dissulfeto de dialila, Dissulfeto de Metil alila, Trissulfeto de dialila, Tetrassulfeto de dialila, 3-Vinil-1,2-diti-5-eno e 2-Vinil-1,3-diti-5-eno obtiveram energia de dock de -55,3890; -38,8689; -55,6906; -56,6909; -47,1858 e -50,9705, respectivamente (Tabela 17).

Dissulfeto de dialila, apresentou uma ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido treonina (Thr 110 A) e quatro ligações hidrofóbicas com dois resíduos de

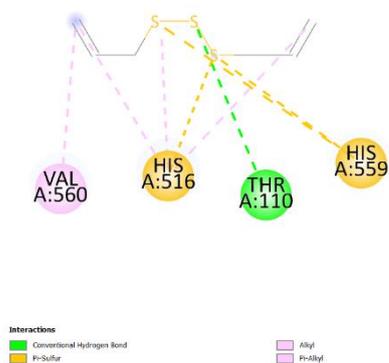
histidinas (His 516 A e 559 A), Triptofano (Trp 426 A) e valina (Val 560 A). O ligante Dissulfeto de Metil alila apresentou três ligações hidrofóbicas com os resíduos de aminoácidos histidina (His 516 A), Triptofano (Trp 426 A) e valina (560 A) e uma ligação pí-sulfur histidina (His 559 A). O ligante Trissulfeto de dialila apresentou uma ligação de hidrogênio convencional com o resíduo treonina (Thr 110 A), duas ligações pí-sulfur com os resíduos histidina (516 A e 559 A) e uma ligação hidrofóbica com o resíduo de aminoácido valina (Val 560 A) segundo mostra a Figura 32.

O ligante Tetrassulfeto de dialila não apresentou ligação de hidrogênio, porém apresentou 2 ligações do tipo hidrofóbicas com os resíduos fenilalanina (Phe 564 A), triptofano (426 A), duas ligações pí-sulfur histidina (516 A e 559 A). O ligante 3-Vinil-1,2-diti-5-eno apresentou uma ligação hidrofóbica com o resíduo tirosina (Tyr 515 A), e duas ligações pí-sulfur com os resíduos de aminoácidos histidina (His 516 A e 559 A). O ligante 2-Vinil-1,3-diti-5-eno apresentou uma ligação de hidrogênio convencional com o resíduo de aminoácido treonina (Thr 110 A), três ligações de natureza pí-sulfur com os resíduos fenilalanina (Phe 414 A), histidinas (His 516 A e 559 A) e uma interação hidrofóbica triptofano (Trp 426 A).

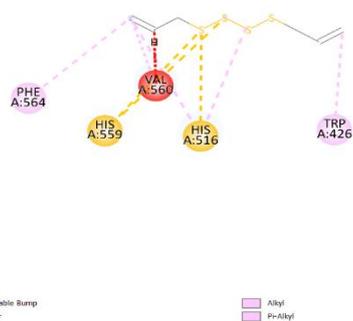
Figura 32- Interações Via Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do extrato do cipó d’alho.



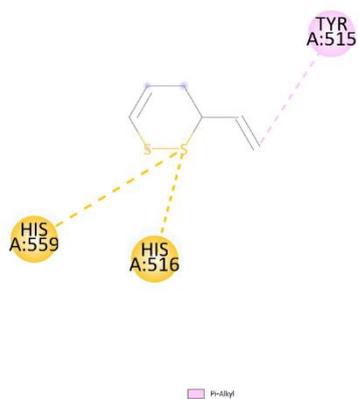
Trissulfeto de dialila



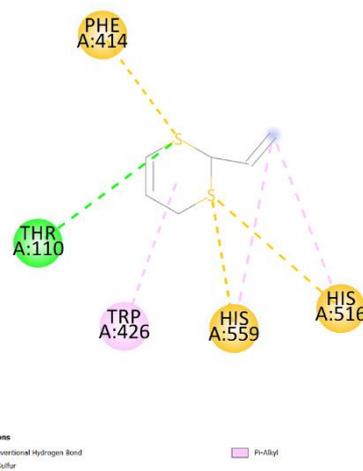
Tetrassulfeto de dialila



3-vinil-1,2-diti-5-eno



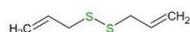
2-vinil-1,3-diti-5-eno



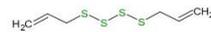
Fonte: Programa Discovery Studio.

Figura 33- Estrutura dos compostos majoritários do óleo do cipó d'alho em 2D.

Dissulfeto de dialila



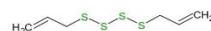
Trissulfeto de dialila



Tritiaclohexeno



Tetrassulfeto de dialila



Fonte: ZOGHBI; ANDRADE; MAIA, 2002; GUILHON; BITTENCOURT; LIMA; ZOGHBI, 2012.

Tabela 18: Energias de Ligação e Interações por Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do óleo do cipó d’alho com a enzima Beta D-Glucose.

Ligante\ Posição	MolDock score (kcal/mol)	Interações por Ligação de Hidrogênio
Dissulfeto de dialila	-55,3890	Thr 110 A
Trissulfeto de dialila	-55,6906	Trh 110 A
Tritiaciclohexeno	63,3945	Sem interação
Tetrassulfeto de dialila	-56,2490	Sem interação

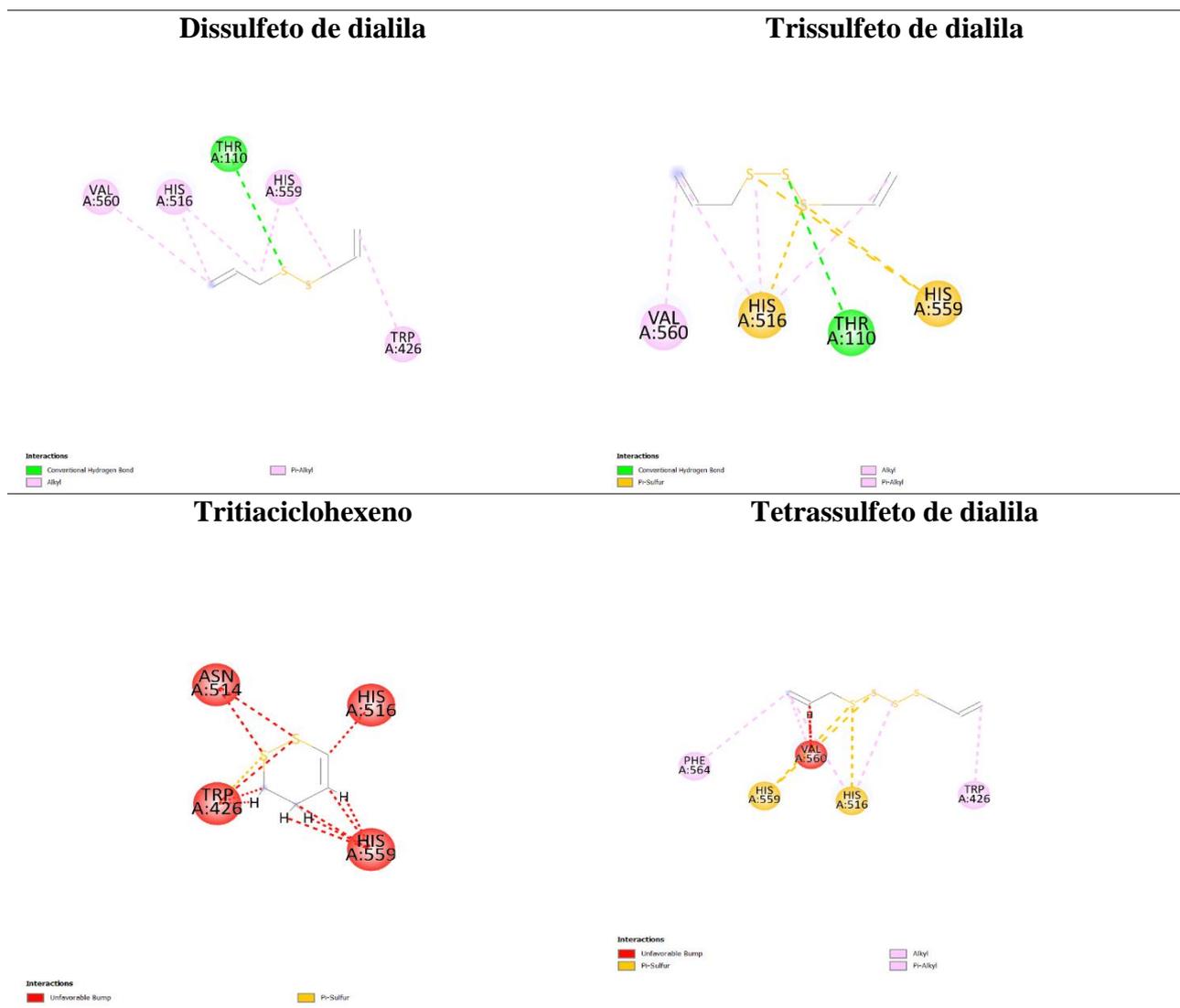
Fonte: Programa Molegro Virtual Docker.

Ao avaliar os compostos majoritários presentes no óleo das folhas de cipó d’alho, os ligantes Dissulfeto de dialila, Trissulfeto de dialila, Tritiaciclohexeno, Tetrassulfeto de dialila, obtiveram energia de dock de -55,3890; -55,6906; 63,3945; -56,2490, respectivamente (Tabela 18).

Dissulfeto de dialila, apresentou uma ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido treonina (Thr 110 A) e quatro ligações hidrofóbicas com dois resíduos de aminoácidos histidinas (His 516 e 559 A), Triptofano (Trp 426 A) e valina (Val 560 A). O ligante Dissulfeto de Metil alila apresentou três ligações hidrofóbicas com os resíduos histidina (His 516 A), Triptofano (Trp 426 A) e valina (560 A) e uma ligação pí-sulfur com o resíduo histidina (His 559A). O ligante Trissulfeto de dialila apresentou uma ligação de hidrogênio convencional com o resíduo de treonina (Thr 110 A), duas ligações pí-sulfur com os resíduos histidina (516 A e 559 A) e uma ligação hidrofóbica com o resíduo de aminoácido valina (Val 560 A) segundo figura 34.

O ligante Tritiaciclohexeno não apresentou interação de hidrogênio com nenhum resíduo de aminoácido, apresentando uma ligação do tipo pí-sulfur com o resíduo triptofano (Trp 426 A). O ligante Tetrassulfeto de dialila não apresentou ligação de hidrogênio, porém apresentou 2 ligações do tipo hidrofóbicas com os resíduos fenilalanina (Phe 564 A), triptofano (426 A), duas ligações pí-sulfur com os resíduos histidina (516 A e 560 A).

Figura 34: Interações Via Ligação de Hidrogênio dos Ligantes do óleo do cipó d'alho.



Fonte: Software Discovery Studio.

Ao analisar os compostos do extrato da canela o Ácido 3-2-metoxifenil-2-propenóico foi o composto que apresentou menor energia (-71,9803 Kcal/mol) seguido do composto cumarina com a segunda menor energia (-64,4317 Kcal/mol) bem como o ácido 4-vinil benzóico apresentou energia de (-55,9669) onde esses três compostos apresentaram ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido histidina (His 559 A) considerado resíduo catalítico chave da enzima glicose oxidase (PETROVIĆ *et al.*; 2017).

Em relação aos compostos do óleo da canela o composto Acetato de cinamila apresentou menor energia (-72,2988 Kcal/mol) bem como apresentou interação convencional de hidrogênio com o resíduo de aminoácido do tipo histidina (His 559 A) considerado resíduo catalítico chave da enzima glicose oxidase (PETROVIĆ *et al.*; 2017).

A nível de importância entre os resíduos de aminoácidos, o composto Trans-Cinamaldeído presente tanto no extrato quanto no óleo apresentou interações de hidrogênio asparagina (Asn 514 A) e arginina (Arg 512 A) bem como o ligante Linalol presente no óleo da canela apresentou duas ligações de hidrogênio com o resíduo de aminoácido arginina (Arg 512 A) onde Meyer *et al.* (1998) relata o resíduo Arg 512 como importante perante a enzima glicose oxidase.

Em relação aos compostos do extrato do cipó d'alho o composto Tetrassulfeto de dialila apresentou menor energia (-56,2490 Kcal/mol) porém não apresentou interações por ligações de hidrogênio com nenhum resíduo de aminoácido. O ligante Trissulfeto de dialila apresentou a segunda menor energia (-55,6906 Kcal/mol), assim como o ligante Dissulfeto de Dialila apresentou a terceira menor energia (-55,3890 Kcal/mol) bem como o ligante com a quarta menor energia foi o ligante 2-Vinil-1,3-diti-5-eno (-50,9705 Kcal/mol) apresentaram interação por ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido Treonina (Thr 110 A) considerado resíduo catalítico importante para a enzima glicose oxidase (MEYER *et al.*; 1998).

Para os compostos presentes no óleo do cipó d'alho o Tetrassulfeto de dialila também presente no extrato apresentou menor energia (-56,2490 Kcal/mol) porém não apresentou interações. O Trissulfeto de dialila apresentou a segunda menor energia (-55,6906 Kcal/mol) e o Dissulfeto de Dialila a terceira menor energia (-55,3890 Kcal/mol) Tabela 6, onde ambos apresentaram ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido Treonina (Thr 110 A) considerado resíduo catalítica importante da enzima glicose oxidase (MEYER *et al.*; 1998).

Diante disso, os ligantes analisados presentes de forma majoritária nos extratos da canela como o ácido 3-2-metoxifenil-2-propenóico, ácido 4-Vinilbenzóico, Cumarina e Trans-Cinamaldeído e os ligantes do extrato do cipó d'alho como Dissulfeto de dialila, Trissulfeto de dialila apresentaram e 2-Vinil-1,3-diti-5-eno apresentaram ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos chave da enzima glicose oxidase sendo Histidina (His 559 A) e Treonina (Thr 110 A).

Os ligantes presentes no óleo da canela como Acetato de cinamila, Trans-Cinamaldeído, Linalol apresentaram ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos chave na inibição da enzima glicose oxidase sendo Histidina (His 559 A) para o primeiro ligante e Arginina (Arg 512 A) para o segundo e terceiro ligantes, respectivamente. Para os ligantes presentes no óleo da espécie cipó d'alho destaca-se os ligantes presentes de forma

majoritária no óleo do mesmo sendo o Dissulfeto de dialila e Trissulfeto de dialila pois ambos apresentaram ligações de hidrogênio com o resíduo de aminoácido Treonina (Thr 110 A), resíduo que poderia ser chave no processo de inibição da enzima glicose oxidase.

Todos esses ligantes citados acima poderiam ser escolhidos para um futuro estudo complementar de Dinâmica Molecular e utilizados em ensaios biológicos.

5 CONCLUSÃO

Para o estudo teórico por meio da Docagem Molecular, os ligantes analisados presentes de forma majoritária nos extratos da canela como o ácido 3-2-metoxifenil-2-propenóico, ácido 4-vinilbenzóico, cumarina e trans-cinamaldeído e os ligantes do extrato do cipó d'alho como dissulfeto de dialila, trissulfeto de dialila apresentaram e 2-vinil-1,3-diti-5-eno apresentaram ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos chave da enzima glicose oxidase sendo Histidina (His 559 A) e Treonina (Thr 110 A).

Os ligantes presentes no óleo da canela como Acetato de cinamila, Trans-Cinamaldeído, Linalol apresentaram ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos chave na inibição da enzima glicose oxidase sendo Histidina (His 559 A) para o primeiro ligante e Arginina (Arg 512 A) para o segundo e terceiro ligantes, respectivamente. Para os ligantes presentes no óleo da espécie cipó d'alho destaca-se os ligantes presentes de forma majoritária no óleo do mesmo sendo o Dissulfeto de dialila e Trissulfeto de dialila pois ambos apresentaram ligações de hidrogênio com o resíduo de aminoácido Treonina (Thr 110 A), resíduo que pode riar ser chave no processo de inibição da enzima glicose oxidase.

A técnica de Ressonância Magnética Nuclear utilizada permitiu identificar os compostos presentes no extrato da canela como o Ácido 3-2-omometoxifenil-2propenóico; Ácido 4-Vinilbenzóico; Cumarina e Trans-Cinamaldeído por meio de sinais característicos presentes nos espectros de hidrogênio e carbono do extrato etanólico obtido via soxlet. Os compostos presentes no extrato de cipó d' alho como Dissulfeto de dialila, Trissulfeto de dialila, Tetrassulfeto de dialila, 2-Vinil-1,3-diti-5-eno e 3-Vinil-1,2-diti-5-eno possuem sinais característicos presentes no espectro de hidrogênio e carbono do extrato etanólico obtido via soxlet.

A Cromatografia Gasosa identificou os compostos majoritários presentes nos óleos da canela sendo os compostos Trans-Cinamaldeído com 53,34%; Acetato de cinamila com 29,59%; Linalol com 8,21% e Cariofileno com 1,74%. Para o óleo de cipó d' alho os compostos identificados de forma majoritária foram, Dissulfeto de dialila com 45,37% ; Trissulfeto de dialila com 24,74%; Tritiaciclohexeno com 9,22% e Tetrassulfeto de dialila com 3,8%.

Para os testes antifúngicos dos extratos da canela e cipó d' alho por meio de difusão em ágar por meio de discos apenas o extrato etanólico da espécie vegetal cipó d' alho apresentou halos de inibição de 8mm; 15 e 6mm para as concentrações de 17,5 mg/ml; 20 e

22,5 mg/ml após as 48h onde a concentração de 20mg/ml obteve a melhor performance sendo assim escolhida para a elaboração do filme biodegradável contendo esse extrato.

Os testes antifúngicos para os óleos da canela e cipó d' alho por meio da técnica de difusão em poços nos volumes de 1 μ L; 5 μ L e 10 μ L revelaram a formação de halos de inibição de 25mm; 28mm e 30 mm para o óleo da canela evidenciando a sensibilidade do fungo *Aspergillus niger* para esse óleo nesses volumes enquanto que para o óleo do cipó d' alho, ocorreu a inibição da germinação do referido fungo durante 9 dias de experimento surgindo o mesmo apenas ao décimo dia.

Os testes antifúngicos dos filmes por meio da técnica do disco revelaram que os filmes com surfactante contendo óleo do cipó d' alho não apresentaram halos de esporulação e nem crescimento micelial sobre os filmes 1 e 2, durante as 48h do experimento, o que sugere que ocorreu inibição do crescimento do fungo por meio dos filmes haja visto que foi observado crescimento micelial sobre os filmes 3 e 4 sendo para o volume de óleo de 366,7 μ L e o filme controle sem a presença de óleo, respectivamente.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. **Allured Publishing Corp., Carol Stream**. 2007.

ALBARICI, T.R.; VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.G.F.; PIRANI, J.R. Cumarinas e alcalóides de *Raula resinosa* (Rutaceae). **Química Nova**, v.33, n.10, p.2130-2134, 2010.

ALBUQUERQUE, F.C.; VELOSO, C.A.C.; DUARTE, M. de L.R.; KATO, O.R. Pimenta-do-reino: recomendações básicas para seu cultivo. Belém: **EMBRAPA**, UEPAE de Belém, 1989. 40p.

ALTMANN, I.; ATZ, N. R.; ROSA, S. M. L. Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis obtidos a partir de amido de milho: uma proposta experimental de produção de biofilmes em sala de aula. **Química Nova na Escola**, v. 40, n. 1, p. 53-58, 2018.

ALVES, J. S. Elaboração e caracterização de filmes finos de amido de milho e parafina. Dissertação (Mestrado), Departamento de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, 2009.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **D882-91: Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**. Philadelphia (Annual Book of ASTM Standards), 1996.

ANDERSON, R. A. Chromium and polyphenols from cinnamon improve insulin sensitivity. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 67, n. 01, p. 48–53, fev. 2008.

ANDRADE, C. G. C.; SILVA, M. L.; SALLES, T. T. Fatores Impactantes no Valor Bruto da Produção de Pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) no Pará. *Floresta e Ambiente*. [online]. v. 24, 2017, ISSN 1415-0980.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – AOAC. Official Methods of Analysis of the AOAC International. 16 ed. Arlington: **AOAC**, 2005. 1025p.

APHA, 2001. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, 21 th ed. **APHA-AWWA-WEF**, Washington, DC, USA.

ARAÚJO N.R.R: Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre microorganismos relacionados a lesão de mucosite oral. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pará, Belém/PA, 2010.

ARAÚJO, N. C.; GUIMARÃES, P. L. F.; OLIVEIRA, S. J. C.; LIMA, V. L. A.; BANDEIRA, F. A.; ARAÚJO, F. A. C. Quantificação da geração de resíduos em uma casa de farinha no estado da Paraíba. **Revista Monografias Ambientais – REMOA**, v.13, n.5, dez. 2014, p.3793-3799, Santa Maria-RS, 2014.

ARFAT, Y.A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; OSAKO, K. Development and characterisation of blend films on fish protein isolate and fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 58-67, 2014.

BANEGAS, R. S. O uso da dinâmica molecular no estudo e interpretação das interações e organização em polímeros e surfactantes. 156 f. **Tese** (Doutorado em Química- Área de concentração- Físico-Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2017.

BAYTAK S., KOÇYIGIT A., TÜRKER A. R. 2007. Determination of Lead, Iron and Nickel in Water and Vegetable Samples after Preconcentration with *Aspergillus niger* Loaded on Silica Gel. **Clean**, 35: 607- 611.

BONA, E.A.M.; PINTO, F.G.S.; FRUET, T.K.; JORGE, T.C.M.; MOURA, A.C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.81, n.3, p. 218-225, 2014.

BOTREL, D. A.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; FERNANDES, R. V. B. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. **Ciência Rural**, v. 40, n. 8, p. 1814–1820, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares. Brasília: **MAPA/SDC**, 48p, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia brasileira.5. ed. Brasília: **Anvisa**, 2v/il. 5 ed. 718-723, 852p, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Padrões Microbiológicos de Alimentos e sua aplicação. RESOLUÇÃO - RDC Nº 331. Ed. Brasília: **Anvisa**. 249 ed, 96 p, 2019.

BRABO, R. A mandioca de todos os dias. Embrapa, Belém, 24 de Abril de 2017. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/21728046/artigo---a-mandioca-de-todos-os-dias>>. Acesso em 11 de Ago de 2020.

BRUM, A. A. S. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica. 2004. 66f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências – área de concentração Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.

BENTO, L. F.; CANEPPELE, M. A. B.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; KOBAYASTI, L.; CANEPPELE, C.; ANDRADE, P. J. Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v.71, n. 01, p. 44-49, 2012.

BESLIN, P. A Facile Synthesis of Two Thioacrolein Dimers. A New entry to a Flavor Component in Asparagus. **J. Heterocyclic Chem**, v. 20, p. 1753-1754, 1983.

BRITO, J. H. Produção e caracterização estrutural, morfológica e térmica de filmes biodegradáveis utilizando amido de caroço de abacate (*Persea americana* Mill) e bagaço de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). 98 f., il. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Área de concentração – Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa-UEPG. Ponta Grossa, 2019.

BULL, S. E.; NDUNGURU, J.; GRUISSEM, W.; BEECHING, J. R.; VANDERSCHUREN, H. Cassava: constraints to production and the transfer of biotechnology to African laboratories. **Plant Cell Rep**, v. 30, p. 779-787, 2011.

BUSATO, N. V.; SILVEIRA, J. C.; COSTA, A. O. S.; JÚNIOR, E. F. C. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, v.44, n.9, set, 2014.

CARMO, E. S et al. Effect of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil on the growth and morphogenesis of some potentially pathogenic *Aspergillus* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 91-97, 2008.

CASTRO, M.M.S. **Estudos taxonômicos, filogenéticos e biosistemáticos em *Mansoa* DC, (*Bignoniaceae* – *Bignoniaceae*)**. UEFS, Feira de Santana-BA, 2010.

CLSI (2006). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 16th information supplement, M100-S16. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2006.

COELHO, J. D. Produção de Mandioca- Raiz, Farinha e Fécula. Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste-ETENE, ano 3, n. 44, p.1-11, 2018.

CONAB. Conjuntura Mensal, 2016.

CORDEIRO, R. M.; SILVA, A. P. S.; PINTO, R. H. H.; COSTA, W. A.; SILVA, S. H. M.; PINHEIRO, W. B. S.; ARRUDA, M. S. P.; JUNIOR, R. N. C. Supercritical CO₂ extraction of ucuúba (*Virola surinamensis*) seed oil: global yield, kinetic data, fatty acid profile, and antimicrobial activities. **Chemical Engineering Communications**, v. 206, p. 86-97, 2018.

CORDEIRO, N. M. Avaliação do potencial de produção de batom utilizando óleo de tucumã), argila vermelha como corante natural e essência de priprioca. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Pará.

COSTA, O.L.B. Avaliação Antifúngica e Antioxidante dos Extratos Aquosos da *Mansoa Alliacea* (Cipó d'Alho) e Produção biofilmes a base de amido de mandioca adicionados de extrato natural da *Mansoa alliacea* (cipó d'alho). 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Pará.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, Oxford, v.12, p.564-582, 1999.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible film and coating as active layers. In: ROONEY, M. L. (Ed.) **Active food packaging**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 111-142.

DA COSTA, R.S.; PINHEIRO, W.B.S.; ARRUDA, M.S.P.; COSTA, C.E.F.; CONVERTI, A.; COSTA, R.M.R.; JÚNIOR, J.O.C.S. Thermoanalytical and phytochemical study of the cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Schum) seed by-product in different processing stages. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 142, 2020.

DEOLIVEIRA, M. D.; ARAÚJO, J. O.; GALÚCIO, J. M. P.; SANTANA, K.; LIMA, A. H. Targeting shikimate pathway: In silico analysis of phosphoenolpyruvate derivatives as inhibitors of EPSP synthase and DAHP synthase. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 101, 2020.

DEWAR M.J.S., ZOEBSCH E.G., HEALY E.F., STEWART J.J.P. The development and use of quantum mechanical molecular-models. Am1 – a new general-purpose quantum 52 mechanical molecular-model. **Journal of the American Chemical Society**; v.107, p. 3902-3909, 1985.

DINIZ, M. F. M. Ensaios toxicológicos pré-clínicos com as folhas de *Cissampelos sympodialis* Eichl. 2000. Tese (Doutorado em Farmacologia) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

DIOGO, Hilda C. et al. Avaliação do método de disco-difusão para determinação da eficácia da terbinafina in vitro em agentes de micoses superficiais e subcutâneas. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 3, p. 324-330, Junho 2010.

D'SOUZA, S. P. et al. Pharmaceutical Perspectives of Spices and Condiments as Alternative Antimicrobial Remedy. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v. 22, n. 4, p. 1002-1010, out. 2017.

DUARTE. M. L. R. et al. **Cultivo da Pimenteira-do-reino na Região Norte**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2004, 1 ed. 185 p.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA 5º Ed. Brasília. 2010.

FAKHOURI, F.M.; MARTELLI, S. M.; CAON, T.; VELASCO, J.I.; MEI, L.H.I. Edible films and coatings based on starch\ gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v.109, p. 57-69, 2015.

FERNANDES, A. P. S.; COSTA, J. B.; SOARES, D. S. B.; DE MOURA, C. J.; DE SOUZA, A. R. M. Aplicação de filmes biodegradáveis produzidos a partir de concentrado proteico de soro de leite irradiado. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 45, n. 2, p. 192-199, 2015.

FERRI, S.; KOJIMA, K.; SODE, K. Review of glucose oxidases and glucose dehydrogenases: a bird's eye view of glucose sensing enzymes, 2011.

FISCHER E. Einfluss der configuration auf die wirkung derenzyme. Ber. Dt. Chem. Ges. 1894; 27: 2985-2993.

FRENCH, R. C.; Volatile chemical germination stimulators of rust and other fungal spores, *Mycologia*, Vol. 84, n. 3, p. 277-288, 1992.

FUKUDA, W.M.G.; FUKUDA, C.; DIAS, M.C.; XAVIER, J.J.B.N.; FIALHO, J.F. Variedades. In: SOUZA, L.S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P.; FUKUDA, W.M.G. Aspectos socioeconômicos e agrônômicos da mandioca. Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, 2006. p. 433-454.

GOGOI, R.; SARMA, N.; LOYING.; R.; PANDEY, S.K.; BEGUM, T.; LAL, M. A Comparative Analysis of Bark and Leaf Essential Oil and their Chemical Composition, Antioxidant, Anti-inflammatory, Antimicrobial Activities and Genotoxicity of North East Indian *Cinnamomum zeylanicum* Blume. **The Natural Products Journal**, Volume 11, Number 1, 2019, pp. 74-84(11).

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: Water vapor permeability and other physical properties. **International Journal Food Science Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

GROXKO, M. Mandioca- Análise da Conjuntura. Departamento de Economia Rural- DERAL. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná, p.1-12,2019.

GUIDO, R.V.C.; ANDRICOPULO, A.D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: Aplicações em doenças infecciosas. **Estud. av.** vol.24 no.70 São Paulo, 2010.

Guenther, E. Oil of Cinnamon. In: The Essential Oils. New York: D. Van Nostrand, 4, 213-240, 1950.

HADAD, M. Adepará implementa ações para o fortalecimento da cultura da pimenta-do-reino. Agência Pará, Belém, 01 de Julho de 2020. Disponível em: <<https://agenciapara.com.br/noticia/20507/>>. Acesso em 10 de Jul. de 2020.

HAN, C.; ZHAO, Y.; LEONARD, S. W.; TRABER, M. G. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, n. 1, p. 67-78, 2004.

HANSSON, T.; OOSTENBRINK, C.; GUNSTEREN, W. van. Molecular dynamics simulations. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 12, n. 2, p. 190 – 196, 2002.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 231-240, jan. -mar, 2008.

HUMBIGER, S. Z.; SALGADO, H. R.N.; MOREIRA, R. R. D. Controles físico, físico-químico, químico e microbiológico dos frutos de *Dimorphandra mollis* Benth., Fabaceae. **Rev. bras. farmacogn.** João Pessoa, vol.19, n.3, p. 690-696, Jul-Set, 2009.

HyperChem™ Release 7.5 for Windows Molecular Modeling System. Hypercube: Gainesville, FL, 2002.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Levantamento Sistemático da Produção Agrícola-Estatística da Produção Agrícola. Dezembro, 2019. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2019_dez.pdf>. Acesso em 05 de Jan.de 2021.

JAYAPRAKASHA, G. K.; RAO, L. J. M.; SAKARIAH, K. K. Volatile constituents from *Cinnamomum zeylanicum* fruit stalks and their antioxidant activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 51, p. 4344-4348, 2003.

KOKETSU, M.; MIDORI, S. L.; GODOY, R. N. O.; Lopes, D.; MORSBACH, N. Óleos essenciais de cascas e folhas de canela (*Cinnamomum verum* Presl) cultivada no Paraná. **Ciência Tecnologia de Alimentos**,17(3), 281-285, 1997.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, W.C. **Diagnóstico microbiológico – texto e atlas colorido**. 5 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

KUNTZ ID, Blaney JM, OATLEY SJ, LANGRIDGE R, FERRIN TE. Uma abordagem geométrica para interações macromolécula-ligante. **J Mol Biol**. 1982; 161 (2): 269–288.

PETROVIĆ, D. et al. Shuffling Active Site Substate Populations Affects Catalytic Activity: The Case of Glucose Oxidase. **ACS Catalysis**, v. 7, n. 9, p. 6188–6197, 2017.

LAWRENCE, B.M. Cinnamon oil. In: Progress in essential oils. **Perfumer & Flavorist**, v.19, n.3, p. 59-60, 1994.

LEONEL, M. Análise Da Forma E Tamanho De Grânulos De Amidos De Diferentes Fontes Botânicas. **Food Science And Technology**, 2007, 27.3: 579-588.

LOPES, P. J. G. Efeitos da sulfitação em taninos condensados provenientes da casca de mimosa tenuiflora (willd.) poir. Paraíba: Patos, 2016.

MALI, S.; GROSSMAN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, jan./mar. 2010.

MARIAPPAN, P. M. et al. Chemical characterisation and antifungal activity of methanolic extract of Cinnamomum verum J. Presl bark against Malassezia spp. **Pharmacognosy Journal**, v. 5, n. 5, p. 197–204, 2013.

MEDAGAMA, A. B. The glycaemic outcomes of Cinnamon, a review of the experimental evidence and clinical trials. **Nutrition Journal**, v. 14, n. 1, dez. 2015.

MEYER, Michael et al. Aspects of the mechanism of catalysis of glucose oxidase: A docking, molecular mechanics and quantum chemical study. **Journal of computer-aided molecular design**, v. 12, n. 5, p. 425-440, 1998.

MENG, X. Y.; ZHANG, H. X.; MEZEI, M.; CUI, M. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design* 2011, 7, 146.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa N23/2005.

MOLINARO, E.M.; CAPUTO, L.F.G.; AMENDOEIRA, M.R.R. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratório de saúde**. v.4, EPSJV, IOC, RJ, 2010.

MONDELLO, L. Flavors and fragrances of natural and synthetic compounds, Mass Spectral Database (FFNSC 2), John Wiley & Sons Inc, New York, 2011.

MORGON, N. H. Computação em Química Teórica: Informações Técnicas. **Química Nova**, v. 24, n. 5, p.676-682, 2001.

MORRIS, G.M., LIM-WILBY, M, Molecular docking. **Molecular Modeling of Proteins** 2008, 443, 365.

MUNIZ, Heloisa dos Santos. Métodos híbridos em docagem molecular: implementação, validação e aplicação. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2018.

NAKASHIMA, S. et al. Levantamento do Solo em Pimentais na Região de Imigração no Município de Tomé-Açu. Belém-Pará, 2003.

NAMBA, A.M.; DA SILVA, V. B.; DA SILVA, C.H.T.P. Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. **Ecl. Quím.**, São Paulo, v.33, n. 4, p. 13-24, 2008.

NATH, S.C.; PATHAK, M.G.; BARUAH, A. Benzyl benzoate, the major component of the leaf and stem bark oil of *Cinnamomum zeylanicum* Blume. **J. Essent. Oil Res.**, v.8, p. 327-328, 1996.

NILES, K.; THEATO, P. Synthesis and polymerization of active ester monomers based on 4-vinylbenzoic acid. **European Polymer Journal.**, v. 43 p. 2901-2912, 2007.

NIST - National Institute of Standards and Technology, Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH, v.2.0d), The NIST Mass Spectrometry Data Center, Gaithersburg, 2011.

OLIVEIRA et al. Desenvolvimento, caracterização de filmes comestíveis de fécula de mangarito (*Xanthosoma mafaffa* Schott) e sua aplicação em frutos de jabuticaba. **B. CEPPA**, Curitiba. V, 29, n.2, p. 265-280. 2011.

OLIVEIRA, A. P.; ARRUDA, G. L.; PEDRO, F. G. G.; DE OLIVEIRA, J.C.; HANH, ROSANE.; TAKAHARA, D. Contaminação fúngica em especiarias desidratadas comercializadas no Mercado do Porto de Cuiabá-MT. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 7, n. 1, p. 149-160, jan./abr. 2016.

PAGNO, C.H.; COSTA, T.M.H.; MENEZES, E.W.; BENVENUTRI, E.V.; HERTZ, P.F.; MATTE, C.R.; TOSATI, J.V.; MONTEIRO, A.R.; RIOS, A.O.; FLÔRES, S.H. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. **Food Chem.** v.173, p.755- 762, 2015.

PAVIA, Donald L. et al. **Introduction to spectroscopy**. Cengage learning, 2014.

PEREIRA LOURINHO, M.; COSTA, C. A. S.; SOUZA, L. C.; SOUZA, L. C.; OLIVEIRA, C. F. Conjuntura da pimenta-do-reino no mercado nacional e na região Norte do Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.18, p. 1016-1031, 2014.

PEREIRA, G. V. S.; PEREIRA, G. V. S.; DO REGO, J. A. R.; BRASIL, D. S. B.; LOURENÇO, L. F. H.; JOELE, M. R. S. Glycerol and fatty acid influences on the rheological and technological properties of composite films from residues of *Cynoscion acoupa*. **Food Bioscience**, n.38, p.1-11,2020.

PETROVIĆ, D. et al. Shuffling Active Site Substate Populations Affects Catalytic Activity: The Case of Glucose Oxidase. **ACS Catalysis**, v. 7, n. 9, p. 6188–6197, 2017.

PONCIANO, R.C.S.; MARTINS, G.R.; IULIANELLI, G.C.V.; TAVARES, M.I.B. Estudo do extrato da canela por NMR em solução. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 7, p. 43763-43772 jul. 2020. ISSN 2525-8761.

- PITT, J. I.; SAMSON, R. A. Nomenclatural considerations in naming species of *Aspergillus* and its teleomorphs. **Studies in mycology**, v. 59, p. 67-70, 2007.
- PRABHAKARAN NAIR, K.P. Agronomy and economy of black pepper and cardamom. The “King” and “Queen” of Spices. London, **Elsevier Science Publishing**, 2011. 366p.
- QIU, Z. et al. Expression of *Aspergillus niger* glucose oxidase in yeast *Pichia pastoris* SMD1168. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 30, n. 5, p. 998–1005, 2016.
- READ N. D. 1991. Low-temperature scanning electron microscopy of fungi and fungus-plant interactions. In: *Electron Microscopy of Plant Pathogens* (ed. by K. Mendgen & D.-E. Lesemann), 17-29.
- RECALDE, K.M.G. Cultivo de mandioca sob bases agroecológicas. 2013. C Dissertação (Mestrado em Agronegócios) – Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados.
- REGO, J.A.R. Peliculização de Sementes de Pimenta-do-Reino (*Piper nigrum* L.), com suspensão polimérica a base de amido de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), em leito de jorro. 2016. (Tese de Doutorado). **Universidade Federal do Pará**. RIBEIRO, C.M.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. **Infarma**, 21 (1/2): 45-49, 2009.
- RODRIGUES, W.; ATAÍDE, I. T. Sistema Agroflorestal: “Agricultura em andares”. Belém: POEMAR\Bolsa Amazônia. 2001. 31p.
- ROSA, C.A.R.; CAMPOS, S.G.; BARONI, F.A. Práticas de micologia veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. Prática 8. Seropédica, 2002.
- SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; SCHIAVINI, M.S.; NAKAMURA, C.V.; DIAS-FILHO, B.P. An evaluation of antibacterial activities of *Psidium guajava* (L.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Maringá, v.48, n.3, p.429-36, 2005.
- SAMSON, R.A., HOEKSTRA, E.S., FRISVAD, J.C. **Introduction to Food- and Airborne Fungi. 7th edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures**, Utrecht, The Netherlands, 2004.
- SANT’ANNA, C.M.R.; Métodos de Modelagem Molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução. **Rev. Virtual Química**, v. 1, n.1, p. 49-57, 2009.
- SANTOS, R. N.; ANDRICOPULO, A. D. Physics and its interfaces with medicinal chemistry and drug design. **Brazilian Journal of Physics** 2013, 43, 268.
- SANTOS, S.F.M. Estudo da produção de Pectinases por Fermentação em Estado Sólido utilizando Pedúnculo de caju como substrato. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 2007.
- SANTOS, V.L.A; GONSALVES, A.A; ARAÚJO, C.R.M. Abordagem didática para o desenvolvimento de moléculas bioativas: Regra dos Cinco de Lipinski e preparação de

heterociclo 1,3,4-oxadiazol em forno de micro-ondas doméstico. **Quim. Nova**, Vol. 41, No. 1, 110-115, 2018.

SEBRAE. Mandioca: Derivados da mandioca\Integra Consultoria e Representação e Comércio. Salvador, Bahia, 2009.

SILVA, F.; CASALI, V. W. D. Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais. Viçosa: Arte e Livros, 2000. 135p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001.

SILVA, L. P. DA; et al. Contaminação fúngica em condimentos de feiras livres e supermercados. **Rev Inst Adolfo Lutz**, São Paulo, v.71, n.1, p.:202-6, 2012.

SILVA P. S. R. C; MENEZES. L.R., TAVARES M.I.B, The Influence of Organo-Clay Ratio in the HIP-S-OMMT Nanocomposites Analyzed by Proton Spin-Lattice and Spin-Spin Relaxation Times. **Materials Sciences and Applications** 7, p.150, 2016.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. Cap.18. 1102p.

SOUSA, Diego Rayan T. et al. *Aspergillus niger* LMM01: A new source of glucose oxidase in Amazon. **African Journal of Microbiology Research**, v. 11, n. 22, p. 955-964, 2017.

SOUZA, J. L. M. ÁLVARES, V. S.; LEITE, F. M. N.; REIS, F. S.; FELISBERTO, F. Á. V. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca oriundas do município de Cruzeiro do Sul – Acre. **Publicações UEPG Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v. 14, n. 1, 2008.

SOUZA, A. A. M. Estudo de quantificação dos compostos fenólicos, avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana da casca do caule do croton cajucara benth. 2017. 75 p. **Trabalho de conclusão de curso** (Bacharelado em Química Industrial) - Faculdade de Química, Universidade Federal do Pará, Belém - PA, 2017.

SHUKLA, R. et al. Antimycotic and antiaflatoxigenic potency of *Adenocalymma alliaceum* Miers. on fungi causing biodeterioration of food commodities and raw herbal drugs. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 62, n. 4, p. 348–351, 2008.

SUEIRO, A. C.; TISCHER, P. C. S. F.; LONNI, A. A. S. G.; MALI, S. Filmes biodegradáveis de amido de mandioca, pululana e celulose bacteriana. **Química Nova**, v. 39, n. 09, p. 1059- 1064, 2016.

THOMPSEN, R.; CHRISTENSEN, M. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. **Journal of Medicinal Chemistry**. v.49, p.3315-3321, 2006. TRINDADE, N.S.; ALMEIDA, E.S.; ARRUDA, M.S.P; ARRUDA, A.C.; LOBATO, M.P.; SOUZA, J.R.V. Ácido Ursólico, Oleanólico extraídos das folhas de *Mansoa Alliaceae*. **Anais. Congresso Brasileiro de Química**, 47, Natal, 2007.

VENTUROSOS, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**. v.37, n.1, p.18-23, 2011.

VIEIRA, V.H.C.; VIEIRA, A.B.R.; PINHEIRO, W.B.S.; COSTA, S. P.S.E.; PAIVA, R.S.; RIBEIRO, S.M.A. Atividade antimicrobiana de fungos liquenizados ocorrentes no campus Belém da Universidade Federal do Pará, estado do Pará, Brasil. **Rev.Pan Amaz Saúde**, v.10, p.1-7, 2019.

WILLIAMS, P.A. e PHILLIPS, G.O. Gum Arabic. Handbook of hydrocolloids. Florida: **Woodhead publishing**, p. 156-168, 2000.

XAVIER, J.J.B.N.; CHAVES, F.C.M.; ANGELO, P.C.S.; BIZZO, H.R. Rendimento e composição química do óleo essencial de cipó – alho (*Adenocalymna Alliaceum*), nas condições de Manaus – AM.

Xu, Y. X., Kim, K. M., Hanna, M. A., & Nag, D. (2005). Chitosan-starch composite film: preparation and characterization. **Industrial Crops and Products**, 21(2), 185-192. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.03.002>.

ZANARDO, V.P.S.; RAMBO, D.F.; SCHWANKE, C.H.A. Canela (*Cinnamomum* sp) e seu efeito nos componentes da síndrome metabólica. **PERSPECTIVA**, Erechim. v. 38, Edição Especial, p. 39-48, março/2014. http://www.uricer.edu.br/site/pdfs/perspectiva/1002_407.pdf

ZAVAREZE, E.R.; MELLO, S.L.; HERNÁNDEZ, T.C. Filmes biodegradáveis à base de proteínas miofibrilares de pescado. **Brazilian Journal of Food Technology**. IV SSA, maio 2012.

ZOGHBI, M. D. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Volatile constituents from *Adenocalymma alliaceum* Miers and *Petiveria alliacea* L., two medicinal herbs of the Amazon. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 2, p. 133–135, 2002.

ZOGHBI, M. G. B.; et al. 2009b. Volatiles from *Mansoastandleyi* (Steierm) A. H. Gentry. **Journal Essential Oil Research** 2009.

<[https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_6342-77-4_1HNMR.htm/3-\(2-methoxyphenyl\)propionic acid\(6342-77-4\)_1h_nmr](https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_6342-77-4_1HNMR.htm/3-(2-methoxyphenyl)propionic acid(6342-77-4)_1h_nmr)>. Acesso em: 08 de Ago.de 2022.

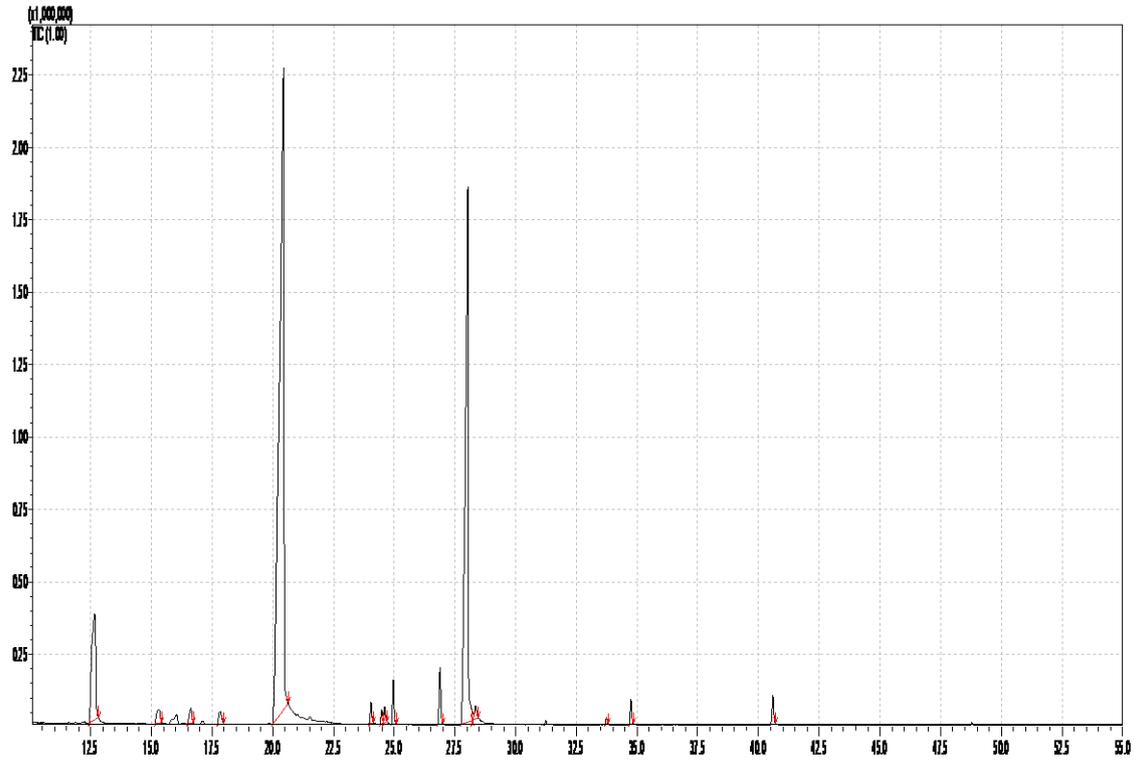
<[https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_6342-77-4_13CNMR.htm/3-\(2-methoxyphenyl\)propionic acid\(6342-77-4\)_13c_nmr](https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_6342-77-4_13CNMR.htm/3-(2-methoxyphenyl)propionic acid(6342-77-4)_13c_nmr)>. Acesso em: 08 de Ago.de 2022

<https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_14371-10-9_1HNMR.htm/trans-Cinnamaldehyde>. Acesso em: 08 de Ago.de 2022

<https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_14371-10-9_13CNMR.htm/trans-Cinnamaldehyde>. Acesso em 08 de Ago. de 2022

APÊNDICES

APÊNDICE A-ESPECTRO DE CROMATOGRAFIA GASOSA DO ÓLEO DE CANELA



APENDICE B-ESPECTRO DE CROMATOGRAFIA GASOSA DO ÓLEO DE CIPÓ D'ALHO

