

UFRRJ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCMPÓSITO PARA
USO NO TRATAMENTO PÓS-COLHEITA DE MAMÃO (*Carica Papaya L.*)**

Juliana Pereira Rodrigues

2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCAMPÓSITO PARA
USO NO TRATAMENTO PÓS-COLHEITA DE MAMÃO (*Carica Papaya L.*)**

Juliana Pereira Rodrigues

Sob a orientação do Professor
Prof. Dr. Otniel Freitas Silva

Co-orientação dos Pesquisadores
Dr. Antonio Gomes Soares
Dra. Caroline Corrêa de Souza Coelho

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ

Maio, 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R696d Rodrigues, Juliana Pereira, 1989-
Desenvolvimento e caracterização de biocompósito para uso no tratamento pós-colheita de mamão (Carica Papaya L.). / Juliana Pereira Rodrigues. - Seropédica, 2022.
98 f.

Orientador: Otniel Freitas Silva.
Coorientador: Antonio Gomes Soares.
Coorientadora: Caroline Corrêa de Souza Coelho.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), 2022.

1. Biocompósito. 2. Pós-colheita. 3. ZnO. 4. Benzoato de sódio. 5. Carica Papaya L.. I. Freitas Silva, Otniel , 1966-, orient. II. Soares, Antonio Gomes, 1962-, coorient. III. Coelho, Caroline Corrêa de Souza, 1989-, coorient. IV Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA). V. Título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



TERMO Nº 671/2022 - PPGCTA (12.28.01.00.00.00.41)

Nº do Protocolo: 23083.036198/2022-14

Seropédica-RJ, 10 de junho de 2022.

JULIANA PEREIRA RODRIGUES

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre, no Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 19/05/2022

OTNIEL FREITAS SILVA, EMBRAPA
(orientador)

Dra. ANA ELIZABETH CAVALCANTE FAI, UERJ

Dr. DAVY WILLIAM HIDALGO CHÁVEZ, UFRRJ

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG.

Documento não acessível publicamente

(Assinado digitalmente em 10/06/2022 12:29)
DAVY WILLIAM HIDALGO CHÁVEZ
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 061.825.607-54

(Assinado digitalmente em 10/06/2022 11:07)
ANA ELIZABETH CAVALCANTE FAI
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 894.731.673-34

(Assinado digitalmente em 10/06/2022 11:47)
OTNIEL FREITAS SILVA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 170.726.462-72

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 671, ano: 2022, tipo: TERMO, data de emissão: 10/06/2022 e o código de verificação: 16bbb19a7b

“Eu sou a videira; vocês são os ramos. Se alguém permanecer em mim e eu nele, esse dá muito fruto; pois sem mim vocês não podem fazer coisa alguma”

João 15:5

Dedico a minha família.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por me proporcionar a oportunidade de viver experiências únicas, desafiadoras e engrandecedoras como esta.

À UFRRJ e ao PPGCTA, pela oportunidade de continuação dos meus estudos nesta instituição.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos, por permitir e proporcionar a realização deste projeto em suas instalações.

Ao meu orientador Dr. Otniel Freitas Silva, pelo incentivo, paciência, apoio, prestatividade e por todos os ensinamentos. Um ser humano admirável, colocado por Deus no meu caminho.

A minha co-orientadora Dra. Caroline Coelho, pela parceria, conselhos, amizade e ensinamentos. Conhecer e poder conviver com uma pessoa iluminada como você, foi uma grata surpresa.

Ao meu co-orientador Dr. Antônio Gomes Soares, pelo conhecimento compartilhado, sugestões e compreensão ao longo de todo processo para realização desta dissertação. Sua positividade e bom humor também foram essenciais ao longo desse processo.

A todos os funcionários da Embrapa Agroindústria de Alimentos, em especial os da Planta de Pós-colheita da Embrapa, da Planta 4, a Érika e aos estagiários João Pedro e Rodrigo Nicolas, por todo apoio, pelo convívio e por terem me auxiliado nos experimentos realizados.

Ao Núcleo de Microscopia da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Brasil, pelo apoio com o uso dos seus equipamentos e ao projeto FAPERJ Processo E-26/210.722/2021, liderado pelo pesquisador Luc F. M. Rouws.

Ao Núcleo de Microscopia da COPPE da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil, pelo apoio com o uso dos seus equipamentos.

A Central Analítica Multiusuário do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pelo apoio com o uso de seus equipamentos.

Aos meus pais Rosângela e Carlos Eduardo, por sempre me incentivar a estudar e nunca medir esforços para que eu alcançasse meus objetivos. Obrigada por toda a compreensão, apoio e por acreditarem em mim.

Ao meu amor, amigo e futuro marido Leandro Pereira, que foi meu maior suporte ao longo desses dois anos. É por vislumbrar nosso futuro juntos, que me mantenho firme no propósito de ser uma pessoa melhor.

Aos meus familiares, por todo apoio e energia positiva nessa caminhada.

As minhas amigas/irmãs/família do F1-36, por compreender minha ausência, por ouvir meus desabafos, pelos conselhos e por nunca soltarem minha mão. Em especial, agradeço a Gabi (*in memoriam*), por toda a convivência e amizade nesta vida. Você nunca será esquecida por nós.

As minhas irmãs de coração Monique, Alice e Carol, por entenderem meus medos e ausência, acreditarem em mim e apoiar minhas decisões.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a construção e realização deste trabalho.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

RESUMO

RODRIGUES, Juliana Pereira. Desenvolvimento e caracterização de biocompósito para uso no tratamento de mamão (*Carica Papaya* L.) pós-colheita. 2022. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

O mamão (*Carica papaya* L.) é um fruto muito consumido em todo o mundo. Por sua natureza climatérica e por possuir elevada atividade de água, o mamão é muito suscetível a doenças fúngicas pós-colheita. O uso de revestimentos adicionado de substâncias com atividade antimicrobiana diretamente sobre os frutos, é uma tecnologia pós-colheita desenvolvida para proporcionar o aumento da vida útil desses alimentos, que têm demonstrado bons resultados. O objetivo deste trabalho foi desenvolver revestimentos elaborados a partir dos biopolímeros alginato de sódio e quitosana, incorporado com nanopartículas de óxido de zinco ou benzoato de sódio para manutenção das características de qualidade pós-colheita do mamão (*Carica papaya* L.). Filmes obtidos a partir das soluções poliméricas desenvolvidas, que deram origem aos revestimentos também foram caracterizados. O uso da blenda polimérica, proporcionou a obtenção de filmes maleáveis, bem estruturados, com coloração tendendo ao amarelo e aparente transparência. O processo de reticulação e a adição de nanopartículas de óxido de zinco foi capaz de alterar as propriedades físicas do filme como espessura, tensão de ruptura, alongamento e módulo de Young, deixando-os mais finos, rígidos e resistentes, porém se apresentando altamente solúveis em água. Os filmes nanocompósitos demonstraram ação antifúngica *in vitro* sobre os fungos *Colletotrichum* sp. e *Fusarium* sp. isolados de frutos de mamão. O armazenamento dos frutos sob condição de refrigeração e alta umidade relativa, possibilitou a manutenção da qualidade dos frutos. O método de inoculação artificial IR (inocula e reveste) apresentou maior influência nas mudanças de cor instrumental e porcentagem de perda de massa dos frutos nos primeiros 7 dias de experimento. Os revestimentos produzidos possibilitaram um atraso na maturação dos frutos por pelo menos 7 dias em temperatura ambiente, quando comparados aos tratamentos controle.

Palavras chave: biocompósito, pós-colheita, ZnO, benzoato de sódio, *Carica papaya* L.

GENERAL ABSTRACT

RODRIGUES, Juliana Pereira. Development and characterization of a biocomposite for use in papaya (*Carica Papaya* L.) post-harvest treatment. 2022. 98f. Dissertation (Master's in Food Science and Technology). Dean of Research and Graduate Studies, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

Papaya (*Carica papaya* L.) is a fruit widely consumed around the world. Due to its climatic nature and high-water activity, papaya is very susceptible to post-harvest fungal diseases. The use of coatings added with substances with antimicrobial activity directly on the fruits is a post-harvest technology developed to provide an increase in the shelf life of these foods, which have shown good results. The objective of this work was to develop coatings made from the biopolymers of sodium alginate and chitosan, incorporated with zinc oxide nanoparticles or sodium benzoate to maintain the postharvest quality characteristics of papaya. Films obtained from the polymeric solutions developed, which gave rise to the coatings, were also characterized. The use of the polymeric blend provided the attainment of malleable, well-structured films, with a color tending to yellow and apparent transparency. The crosslinking process and the addition of zinc oxide nanoparticles was able to change the physical properties of the film such as thickness, tensile strength, elongation and Young's modulus, making them thinner, stiffer and more resistant, but presenting themselves as highly soluble in water. The nanocomposite films demonstrated *in vitro* antifungal action against *Colletotrichum* sp. and *Fusarium* sp. papaya fruit isolates. The storage of the fruits under refrigeration and high relative humidity, allowed the maintenance of the quality of the fruits. The artificial inoculation method inoculation and coating (IR) showed greater influence on changes in instrumental color and percentage of fruit mass loss in the first 7 days of the experiment. The coatings produced allowed a delay in fruit maturation for at least 7 days at room temperature, when compared to the control treatments.

Keywords: biocomposite, post-harvest, ZnO, sodium benzoate, *Carica papaya* L.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Foto frutos de mamão do grupo “Solo”, tipo exportação.....	6
Figura 2 Sintomas de doenças fúngicas pós-colheita em mamão (A) antracnose e (B) podridão peduncular.....	7
Figura 3 Aspecto de colônia de fungo do gênero <i>Colletotrichum</i> sp. (A) parte inferior, (B) parte aérea.....	8
Figura 4 Aspecto de colônia de fungo do gênero <i>Fusarium</i> sp. (A) parte inferior, (B) parte aérea.....	9
Figura 5 Fluxograma de processo para elaboração das soluções filmogênicas.....	29
Figura 6 Processo de higienização dos frutos. (a) frutos adquiridos, (b) lavagem em água corrente, (c) imersão em solução clorada e (d) secagem.....	36
Figura 7 Aplicação dos revestimentos e inoculação dos frutos, na forma de inoculação RI.....	37
Figura 8 Inoculação artificial dos frutos de mamão, na forma de inoculação IR.....	37
Figura 9 Aplicação de fungicida nos frutos por imersão em calda.....	38
Figura 10 Esquema experimental da distribuição das repetições e tratamento.....	39
Figura 11 Escala de classificação de sintomas de doença em frutos de mamão, adaptado de Pereira et al. (2009).....	41
Figura 12 Escala de classificação de sintomas de doença em frutos de mamão, adaptado de Romanazzi et al. (2013).....	42
Figura 13 Aspecto visual dos filmes elaborados a partir de misturas de alginato e quitosana, adicionados de antimicrobianos.....	43
Figura 14 Aparência dos filmes com (AQ2N) e sem ZnOnano (AQ0).....	44
Figura 15 Espectro FTIR dos filmes compósitos AQ1N, AQ1, AQ2N, AQ2, AQ0N, AQ0, AQ1BS, AQ2BS.....	54
Figura 16 Análise termogravimétrica (TGA) e curvas termogravimétricas derivadas (DTG) dos nanocompósitos: (a) AQ1N, (b) AQ1, (c) AQ2N, (d) AQ2, (e) AQ0N, (f) AQ0 (controle).....	59
Figura 17 Análise termogravimétrica (TGA) e curvas termogravimétricas derivadas (DTG) dos compósitos: (a) AQ1BS, (b) AQ2BS, (c) AQ0BS.....	60
Figura 18 Formação do ângulo de contato a partir de uma gota depositada na superfície dos filmes.....	63
Figura 19 Micrografias de superfície dos filmes AQ1N, AQ1, AQ2N e AQ2 (à esquerda) e do corte transversal (à direita).....	66

Figura 20 Micrografias de superfície dos filmes AQ0N, AQ0, AQ1BS, AQ2BS e AQ0BS (à esquerda) e do corte transversal (à direita).	67
Figura 21 Teste de potencial antifúngico dos filmes, in vitro com fungo <i>Colletotrichum</i> sp. Coluna (A) filmes com ZnO _{nano} ; (B) filmes com benzoato de sódio; (C) filmes sem agente antimicrobiano, (D) controle de crescimento, sem filme.....	69
Figura 22 Testes de potencial antifúngico dos filmes, in vitro com fungo <i>Fusarium</i> sp. Coluna (A) filmes com ZnO _{nano} ; (B) filmes com benzoato de sódio; (C) filmes sem agente antimicrobiano, (D) controle de crescimento, sem filme.....	70
Figura 23 Aparência dos frutos revestidos e inoculados (RI) nos dias 7 e 14 do experimento.	82
Figura 24 Aparência dos frutos inoculados e revestidos (IR) nos dias 7 e 14 do experimento.	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Grupos de mamão, cultivados para exportação.	5
Tabela 2 Revestimentos comestíveis à base de alginato aplicados em diferentes produtos..	15
Tabela 3 Revestimentos comestíveis à base de quitosana aplicados em diferentes frutos. ...	20
Tabela 4 Descrição das diferentes soluções filmogênicas produzidas.....	27
Tabela 5 Valores de diferença total de cor (ΔE), L*, a* e b* dos filmes reticulados e não reticulados, adicionados ou não de agentes antimicrobianos.....	45
Tabela 6 Espessura, Tensão de ruptura (TR), Alongamento na ruptura (AR) e Módulo de Young (MY) dos filmes reticulados e não reticulados, adicionados ou não de agentes antimicrobianos.....	48
Tabela 7 Resultados de umidade e solubilidade dos filmes reticulados e não reticulados, adicionados ou não de agentes antimicrobianos.	51
Tabela 8 Intervalos de degradação térmica dos filmes, benzoato de sódio e ZnO _{nano}	57
Tabela 9 Medidas de ângulo de contato dos filmes desenvolvidos.	62
Tabela 10 Parâmetros de cor dos frutos no primeiro dia de experimento (dia 0).....	72
Tabela 11 Parâmetros de cor dos frutos inoculados artificialmente com <i>Colletotrichum</i> sp. após armazenamento de 7 dias.....	73
Tabela 12 Parâmetros de cor dos frutos inoculados artificialmente com <i>Fusarium</i> sp. após armazenamento de 7 dias.	76
Tabela 13 Escala de maturação dos frutos no 14º dia de experimento.....	77

Tabela 14 Perda de massa em porcentagem (%) dos frutos ao 7º dia de experimento.....	79
Tabela 15 Escala de severidade de doença nos frutos ao 14º dia.....	81

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 Bandas relativas aos polímeros alginato, quitosana e a blenda de ambos.	56
---	----

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

RJ Rio de Janeiro

UFRRJ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

UFRJ Universidade Federal do Rio de Janeiro

COPPE Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pos-Graduação e Pesquisa de Engenharia

Embrapa Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations

ONU Organização das Nações Unidas

FDA Food and Drug Administration

FAOSTAT Food and Agriculture Data

Anvisa Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FISPQ Ficha de Informações de Segurança

SDS Safety Data Sheet

TGA Análise termogravimétrica

MEV Microscopia Eletrônica de Varredura

ZnO_{nano} Nanoprculas de óxido de zinco

BS Benzoato de sódio

BDA Batata Dextrose gar

AQ Alginato + quitosana

RI Revestido e inoculado

IR Inoculado e revestido

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo Geral	4
2.2 Objetivos Específicos	4
3 REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1 Mamão (<i>Carica Papaya</i> L.)	5
3.2 Principais doenças fúngicas pós-colheita do mamão	7
3.3 Revestimentos comestíveis	10
3.4 Biocompósitos e Bionanocompósitos	12
3.5 Alginato	14
3.6 Quitosana	17
3.7 Óxido de zinco	21
3.8 Benzoato de sódio	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 Materiais	25
4.2 Preparação das soluções formadoras de filme	25
4.2.1 Preparo da solução filmogênica de alginato	26
4.2.2 Preparo da solução filmogênica de quitosana	26
4.2.3 Produção dos compósitos poliméricos com adição de antimicrobianos	27
4.3 Preparação dos filmes	28
4.4 Caracterização dos filmes	30
4.4.1 Aspecto visual	30
4.4.2 Cor	30
4.4.3 Espessura	30
4.4.4 Solubilidade em água	31

4.4.5 Umidade	31
4.4.6 Propriedades mecânicas	31
4.4.7 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	33
4.4.8 Análise Termogravimétrica (TGA).....	33
4.4.9 Ângulo de contato	34
4.4.10 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	34
4.5 Atividade antifúngica dos filmes <i>in vitro</i>	34
4.6 Inoculação dos frutos e aplicação dos revestimentos.....	35
4.7 Análises físicas e microbiológicas dos frutos	39
4.7.1 Cor.....	39
4.7.2 Perda de massa fresca.....	40
4.7.3 Classificação de estágio de maturação dos mamões	40
4.7.4 Severidade da doença	41
4.8 Análise estatística dos dados.....	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1 Aspecto visual dos filmes.....	43
5.2 Cor.....	45
5.3 Espessura e Propriedades mecânicas.....	47
5.4 Umidade e Solubilidade	50
5.5 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	53
5.6 Análise Termogravimétrica (TGA).....	57
5.7 Ângulo de contato	61
5.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	64
5.9 Análise da atividade antifúngica dos filmes <i>in vitro</i>	68
5.10 Resultados das análises dos frutos	72
5.10.1 Cor instrumental dos frutos	72
5.10.2 Análise visual de maturação dos frutos.....	77

5.10. 3 Perda de massa fresca.....	78
5.10.4 Severidade da doença	80
6 CONCLUSÃO	83
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85

1 INTRODUÇÃO

Frutas tropicais são ricas nutricionalmente e favoráveis ao consumo humano (RUFINO *et al.*, 2010). O Brasil é um país de clima tropical, o que possibilita a produção de diversos tipos de frutas como laranja, mamão, uva, abacaxi, manga, morango, limão, maçã, banana, entre tantas outras (FAOSTAT, 2021a). Porém, os alimentos pertencentes ao setor de frutas, legumes e verduras (FLV) são aqueles que apresentam maiores perdas e desperdícios ao longo de sua cadeia produtiva. Estima-se que anualmente entre 40 a 50% da produção desses alimentos sejam perdidas ou desperdiçadas (FAO, 2022). Deste modo, medidas e alternativas que possam contribuir para a redução dessas perdas devem ser buscadas.

O mamão (*Carica papaya* L.) é um fruto muito consumido e difundido em todo mundo por suas qualidades nutricionais e sabor agradável (ALARA; ABDURAHMAN; ALARA, 2020). A produção deste fruto pode ser encontrada em mais de 60 países ao redor do mundo, destacando-se a Índia, a República Dominicana, o Brasil e o México como grandes produtores (FAOSTAT, 2021b). A produção global de mamão em 2020 foi de aproximadamente 14 milhões de toneladas, movimentando cerca de 326 milhões de dólares em exportação, demonstrando a importância econômica deste fruto (FAOSTAT, 2021b). Levantamento realizado pela FAO mostra que a produção global de mamão alcançará valores de 15.8 milhões de toneladas até 2028 (OECD/FAO, 2020).

O mamão é fruto climatérico e mantém seu processo de maturação após a colheita (BATALLER *et al.*, 2012). Durante o armazenamento, transporte e distribuição podem ocorrer perdas, principalmente por manuseio inadequado, danos ocasionados por frio, por pragas e por doenças pós-colheita (SIVAKUMAR; WALL, 2013). A antracnose é considerada uma das principais doenças que acometem os frutos de mamão, e seus agentes causais são os fungos do gênero *Colletotrichum*, destacando-se o *C. gloeosporioides* como o mais recorrente. As perdas dos frutos ocasionados por esta doença podem chegar a 100%, caso não se apliquem medidas de controle na pré e pós-colheita (VENTURA; COSTA; TATAGIBA, 2004).

O uso de fungicidas sistêmicos e de contato, como os dos grupos químicos benzimidazóis, triazóis, imidazole, ditiocarbamatos e cúpricos - registrados para a cultura- são alternativas mais comumente utilizadas para controlar o aparecimento de sintomas de doenças

fúngicas e estender a vida útil dos frutos, porém a resistência apresentada por alguns microrganismos e a toxicidade apresentada por estes produtos, tornam seu uso limitado (AMARAL *et al.*, 2017; DEMARTELAERE *et al.*, 2017). Muitos estudos vêm sendo realizados com o intuito de buscar alternativas para minimizar as perdas pós-colheita. Destacam-se entre eles, o uso de tratamentos térmicos (MARTINS; BLUM, 2014; SUPAPVANICH; PROMYOU, 2017), aplicação de revestimentos comestíveis (CASEMIRO *et al.*, 2019; DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2019; ESCAMILLA-GARCÍA *et al.*, 2018; GALO *et al.*, 2014), uso de óleos essenciais (SARKHOSH *et al.*, 2018) e, ozonização (BATALLER *et al.*, 2012; DA SILVA NETO *et al.*, 2019).

Em especial, uso de revestimentos comestíveis têm apresentado resultados promissores, inibindo o desenvolvimento de patógenos, mantendo a qualidade dos frutos e aumentando sua vida (LAVINIA *et al.*, 2020). Um revestimento comestível pode ser caracterizado como uma fina camada de solução filmogênica depositada diretamente sobre um alimento, formando uma película após secagem (ASSIS; BRITTO, 2014). Em contrapartida, filmes comestíveis tratam-se de uma fina camada de material comestível, pré-moldada sobre um suporte, que depois de secos podem ser aplicados sobre um alimento (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). Segundo Assis *et al.* (2014), as matérias-primas utilizadas para a produção destas coberturas, devem ser materiais atóxicos e biodegradáveis que podem ter origem animal ou vegetal (ex. polissacarídeos, proteínas e lipídeos), ou mesmo a combinação de ambos.

Os revestimentos comestíveis podem oferecer barreira semi permeável a gases e vapor de água, favorecendo a manutenção da qualidade dos frutos e reduzindo o escurecimento enzimático, a taxa de respiração e a perda de água (PEREZ-GAGO *et al.*, 2005). Como exemplos de revestimentos destacam-se o uso de géis, emulsões, nanoemulsões, compósitos e nanocompósitos (ARROYO *et al.*, 2020; CASTELO BRANCO MELO *et al.*, 2018; CHAUDHARY *et al.*, 2020; HAN *et al.*, 2020).

Polímeros biodegradáveis como o alginato vem sendo alvo de muitos estudos, visando sua aplicação na produção de filmes e revestimentos para alimentos, principalmente devido suas características favoráveis para a formação de géis e espessante de soluções (LIMA; ANDREANI; SOLDI, 2007; VALERO *et al.*, 2013). Uma outra característica importante de alguns biopolímeros como o alginato, quitosana e amido é a possibilidade de funcionar como veículo de substâncias antimicrobianas (ex. partículas de metais e óxidos metálicos e óleos

essenciais) (ARROYO *et al.*, 2020; DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020; TABASSUM; KHAN, 2020).

Existem vários estudos que podem ser observados relacionados à segurança alimentar e à conservação de alimentos, que exploram o poder antimicrobiano de nanopartículas de metais e óxidos metálicos, sobre bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos patogênicos (DE LA ROSA-GARCÍA *et al.*, 2018; KAUR *et al.*, 2020; MOSQUERA-SÁNCHEZ *et al.*, 2020; TAYEL *et al.*, 2017). O óxido de zinco é material inorgânico considerado como substância segura para consumo humano (FDA, 2019), e com alta bioatividade em microrganismos (SIRELKHATIM *et al.*, 2015). Quando utilizado em tamanho inferior a 100 nm, o aumento da superfície de contato do óxido de zinco pode favorecer sua penetração na membrana celular do microrganismo, acelerando seus efeitos de reatividade sobre os mesmos (DE LA ROSA-GARCÍA *et al.*, 2018). A aplicação de nanopartículas de óxido de zinco (ZnO_{nano}) em embalagens de alimentos têm demonstrado resultados positivos no controle microbiológico de bactérias como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (KAUR *et al.*, 2020; LAVINIA *et al.*, 2020), assim como no desenvolvimento de microrganismos e extensão de vida útil de frutas como goiaba e morango (ARROYO *et al.*, 2020; EMAMIFAR; BAVAISI, 2020). Em testes *in vitro* as ZnO_{nano} apresentaram atividade antifúngica sobre os fungos *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Erythricium salmonicolor* e *Colletotrichum sp.* (ARCINIEGAS-GRIJALBA *et al.*, 2017; HE *et al.*, 2011; MOSQUERA-SÁNCHEZ *et al.*, 2020).

Diante desse panorama, estudos que avaliem o desenvolvimento de nanocompósitos a partir da blenda biopolimérica de alginato e quitosana, adicionados de nanopartículas de óxido de zinco ou benzoato de sódio, sua funcionalidade frente a inibição de patógenos e a aplicação como revestimento para frutos de mamão na pós-colheita, ainda se mostram inéditas. Nesse sentido, o objetivo deste projeto esteve focado em caracterizar os filmes produzidos à base de alginato de sódio, quitosana, nanopartículas de óxido de zinco (ZnO_{nano}) ou benzoato de sódio (BS), investigar seu potencial antifúngico, avaliar os efeitos do processo de reticulação e seu uso como revestimento para manutenção da qualidade dos frutos de mamão durante o período de pós-colheita.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver revestimentos elaborados a partir dos biopolímeros alginato de sódio e quitosana, incorporado com ZnO_{nano} ou Benzoato de Sódio para manutenção das características de qualidade pós-colheita do mamão (*Carica papaya* L.).

2.2 Objetivos Específicos

- Produzir filmes e revestimentos elaborados a partir dos biopolímeros alginato de sódio e quitosana, adicionados de ZnO_{nano} ou benzoato de sódio;
- Investigar a influência dos processos de reticulação do alginato de sódio com diferentes concentrações de Cloreto de cálcio, nos filmes.
- Estudar as propriedades morfológicas, estruturais, comportamento em água, propriedades mecânicas e térmicas dos compósitos desenvolvidos;
- Avaliar o potencial antimicrobiano dos filmes sobre os fungos *C. gloeosporioides* e *Fusarium sp.*, *in vitro*;
- Aplicar os revestimentos desenvolvidos em mamões, e avaliar a capacidade de adesão e a formação da película dos revestimentos na superfície dos frutos;
- Avaliar a cor e a perda de massa em mamões revestidos e inoculados artificialmente, no 7º dia de armazenamento a $12 \pm 1^\circ\text{C}$ e 77% UR.
- Estudar o potencial dos revestimentos frente ao estágio de maturação dos frutos revestidos e inoculados artificialmente no 14º dia de armazenamento (7d a $12 \pm 1^\circ\text{C}$ + 7d a $26 \pm 2^\circ\text{C}$).
- Avaliar, *in vivo*, o potencial antifúngico dos revestimentos desenvolvidos, em frutos inoculados artificialmente no 14º dia de armazenamento (7d a $12 \pm 1^\circ\text{C}$ + 7d a $26 \pm 2^\circ\text{C}$).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Mamão (*Carica Papaya* L.)

A família Caricaceae é composta por distintos grupos botânicos. Dentre estes, o mamoeiro (*Carica Papaya* L.), é caracterizado como uma planta herbácea e perene, que se desenvolve em clima tropical, em regiões com longos períodos de incidência direta de raios solares, baixa altitude, temperaturas médias entre 22- 26 °C e volumes de chuva entre 1.800 mm e 2.00 mm por ano (FARIA *et al.*, 2009).

A região da bacia Amazônica superior, na América do Sul, é o centro de origem do mamoeiro (TRINDADE *et al.*, 2000). Segundo Alves et al. (2003) o motivo da espécie *Carica papaya* L. apresentar variações de tamanho, peso, e coloração de polpa, é relativo ao seu centro de origem, que possibilitou o desenvolvimento de diversas variedades.

Frutos produzidos no Brasil pertencentes ao grupo Solo e Formosa (Tabela 1), são exportados para diversos países do continente europeu (BARBIERI *et al.*, 2019). De maneira geral, frutos tipo exportação devem estar dentro de padrão específico: não podem apresentar defeitos, manchas ou sintomas de doenças, devem apresentar odor agradável, alto teor de sólidos solúveis, peso entre 350 e 550 g; formato piriforme; casca lisa e firmeza de polpa, (TRINDADE *et al.*, 2000) (Figura 1). Alguns países têm preferência pela importação de frutos maiores.

Tabela 1 Grupos de mamão, cultivados para exportação.

Grupo	Tamanho	Cor da polpa	Peso dos frutos	Exemplos de variedades
Solo	pequeno	avermelhada	350 g - 550 g	Sunrise Solo Golden
Formosa	médio	avermelhada	1000g - 1300g	Tainung nº 1 Calimosa

Fonte: Adaptado de FARIA et al. (2009).



Figura 1 Foto frutos de mamão do grupo “Solo”, tipo exportação.

A polpa dos frutos de mamão apresenta alta umidade (85-95%); carboidratos (6,5 – 23,5 g/100g de polpa), quando maduro; baixa quantidade de fibras, lipídeos e proteínas (0,5 - 1,7; < 0,1 – 0,7; 0,4 – 2,0 g/100g de polpa respectivamente). Além de alto valor nutritivo e potencial antioxidante devido a presença de minerais como magnésio, cálcio, fósforo, potássio, vitaminas e compostos fenólicos em sua composição (ANNEGOWDA; BHAT, 2015; IKRAM *et al.*, 2015).

O regulamento técnico determinado pela instrução normativa nº 37 do ano de 2018, fixa padrões de identidade e qualidade para a polpa de mamão (INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 37, DE 1º DE OUTUBRO DE 2018 - Imprensa NacionalBRASIL, 2018). Como requisitos mínimos a amostra da polpa deve apresentar valores mínimos de sólidos solúveis igual a 9 °Brix a 20°C; sólidos totais iguais a 9,5 g/100g; valor de pH igual a 4; acidez total igual a 0,1 expressa em ácido cítrico (g/100g); açúcares totais igual a 14 g/100g e ácido ascórbico igual a 50 mg/100g.

No ano de 2018, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) instaurou a instrução normativa nº 69, que estabelece requisitos mínimos de identidade e qualidade para produtos hortícolas (INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 69, DE 6º DE NOVEMBRO DE 2018- Imprensa NacionalBRASIL, 2018). De uma maneira geral, os produtos hortícolas devem apresentar-se inteiros; limpos; firmes; fisiologicamente desenvolvidos ou apresentando maturidade comercial e sem estar excessivamente maduros ou passados; isentos de pragas visíveis a olho nu, odores estranhos, danos profundos, podridões e distúrbios fisiológicos; além de não se apresentarem congelados, desidratados ou murchos.

Devido à sua natureza climatérica, o mamão é conhecido por ter vida útil curta após sua colheita. A alta concentração de açúcares, a alta atividade de água e a textura de polpa macia dos frutos em processo de amadurecimento, favorece a instalação de infecções causadas por fitopatógenos (TABASSUM; KHAN, 2020).

3.2 Principais doenças fúngicas pós-colheita do mamão

No Brasil as principais doenças pós-colheita que acometem os frutos de mamão são a antracnose e a podridão peduncular, que provocam a perda de qualidade dos mesmos e deixá-los inadequados para comercialização, ocasionando a perda quase que total dos frutos colhidos (ALVES *et al.*, 2003). A Figura 2 mostra alguns a sintomatologia dessas doenças em frutos de mamão.



Figura 2 Sintomas de doenças fúngicas pós-colheita em mamão (A) antracnose e (B) podridão peduncular.

A antracnose é considerada uma das principais doenças pós-colheita da cultura do mamão, e constitui importante causa de perdas pós-colheita em todo o mundo. As espécies de fungos pertencentes ao gênero *Colletotrichum* são os agentes causais dessa doença, que pertencem à família Glomerellaceae (Glomerellales, Sordariomycetes). Os sintomas da doença podem variar de ferrugem a lesões com depressão e podridão nos frutos, além de murcha nas folhas (ALVES *et al.*, 2003). De acordo com Dean *et al.* (2012) os *Colletotrichum* spp. ocupam o oitavo lugar das espécies de fungos fitopatogênicos de maior importância científica e econômica mundial.

De acordo com Rezende e Fancelli (1997), o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* produz conídios hialinos, com dimensões de 7-20 x 2,5-5 µm, unicelulares, cilíndricos, com terminações obtusas ou elipsoidais, formados em conidióforos, em acérvulos irregulares, de aproximadamente 500 µm de diâmetro, com formação de setas de 4-8 x 200 µm de diâmetro, (Figura 3).

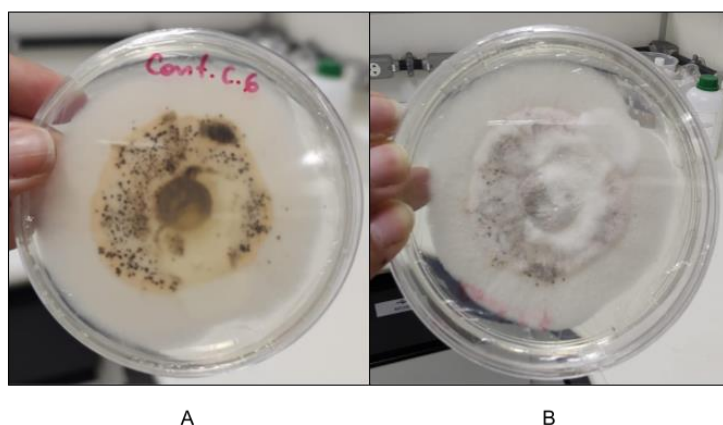


Figura 3 Aspecto de colônia de fungo do gênero *Colletotrichum* sp. (A) parte inferior, (B) parte aérea.

Os fungos conhecidos como *Colletotrichum* spp. podem ser denominados como espécies crípticas de fungos fitopatogênicos. Espécies crípticas são aquelas morfologicamente indistinguíveis, reveladas por métodos filogenéticos e moleculares e, reconhecidas por suas sequências de DNA (SHIVAS; CAI, 2012). Por muito tempo *C. gloeosporioides* foi considerado a causa da antracnose em folhas e frutos de diversas plantas tropicais, porém sua análise filogenética molecular tem mostrado que esta espécie se trata de um complexo de outras espécies crípticas, objeto atual de muitos estudos (SHIVAS; CAI, 2012). Estudos relatam a presença de outras *Colletotrichum* spp., ocasionando a mesma doença (FARR; ROSSMAN, 2020).

Os primeiros relatos da ocorrência de sintomas de antracnose em mamão associado a atribuído a outras espécies de *Colletotrichum* são *C. capsici* (TARNOWSKI; PLOETZ, 2010), *C. salsolae* (SAINI; GUPTA; ANANDALAKSHMI, 2017), *C. fruticola* (MARQUEZ-ZEQUERA *et al.*, 2018), *C. okinawense* (DIAS *et al.*, 2020) e *C. plurivorum* (GARCÍA-ESTRADA *et al.*, 2020) em diversos países, evidenciando a importância e evolução das espécies de *Colletotrichum* para esta cultura. O conhecimento do patossistema entre o mamão e as espécies de *Colletotrichum* que causam antracnose na planta e nos frutos é de extrema

importância para a epidemiologia da doença e para identificar as técnicas de manejo na produção (PERES *et al.*, 2002).

Em estudo realizado com o objetivo de identificar a microbiota com potencial fitopatogênico associada às variedades de mamão ‘Shahi red’ e ‘Shahi yellow’, Helal, Hosen, Shamsi (2018), verificaram a presença de 19 espécies de fungos em amostras do fruto, apresentando sintomas de antracnose e podridão, coletadas em cinco mercados distintos localizados na região de Bangladesh. Dos fungos encontrados, três (*C. gloeosporioides*, *Fusarium nivale* e *Fusarium* sp.) eram patogênicas para os frutos das variedades Shahi, figura 4. Além disso, a ocorrência dos fungos *Curvularia lunata*, *F. nivale*, *Pestalotiopsis guepinii* e *Syncephalastrum* sp. associados com doença pós-colheita de mamão foi uma novidade, assim como a presença de *Corynespora citrícola* e *F. flocciferum* nos frutos.

Segundo Peres et al. (2003) as morfologias das colônias de *Fusarium solani*, responsável por sintomas de podridão peduncular em mamão, apresentam micélio aéreo, denso, floculoso e abundante e coloração laranja-pálido ou rósea, Figura 4.

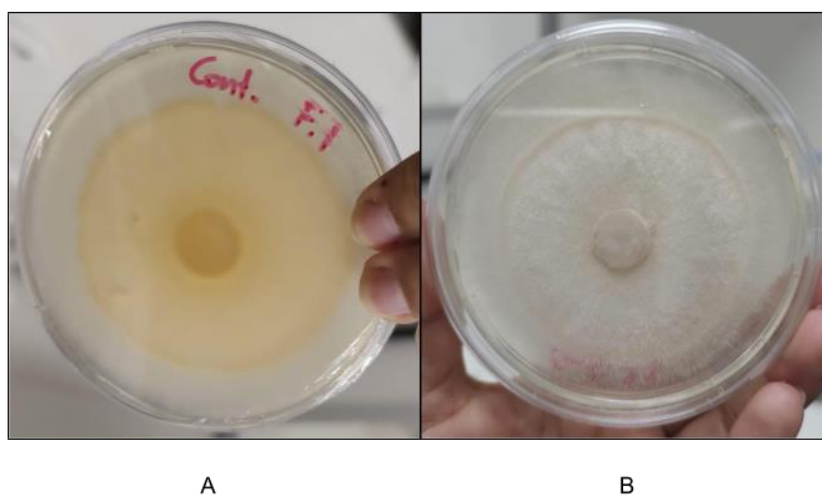


Figura 4 Aspecto de colônia de fungo do gênero *Fusarium* sp. (A) parte inferior, (B) parte aérea.

Segundo Tatagiba *et al.* (2002) devido à relativa resistência do patógeno aos tratamentos térmicos, por causa da sua fase quiescente, a prevenção da infecção dos frutos no campo, no transporte e no armazenamento, assume fator de grande importância no controle de doenças pós-colheita. Martins e Blum (2014) estudaram o controle de doenças como a

antracnose e podridão seca em frutos de mamão ‘Sunrise Solo’ e ‘Tainung 1’, a partir da hidrotermia. Os autores observaram que quando submetidos a tratamentos hidrotérmicos a 48 °C/ 20-30 min ou 50 °C/20 min, os frutos verdes a 1/4 maduros reduziram o desenvolvimento de podridões, sem apresentar alterações na firmeza, pH, sólidos solúveis totais e acidez titulável.

Amaral *et al.* (2017) avaliaram a frequência de fungos quiescentes, e o efeito da aplicação de fosfitos combinados com o uso de atmosfera modificada em frutos de mamão da cultivar “Sunrise solo”. Após 10 dias de incubação foram identificadas a presença de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Corynespora*, *Cladosporium*, *Colletotrichum* e *Lasiodiplodia*. Os gêneros que apareceram com maior frequência nas amostras analisadas foram *Lasiodiplodia* sp. e *Colletotrichum* sp.

3.3 Revestimentos comestíveis

A conservação de produtos de origem vegetal *in natura* e minimamente processados é um desafio pois, de modo geral possuem vida útil diminuta. Os métodos mais comuns de conservação desses alimentos na pós-colheita, são a refrigeração, aliada ou não ao uso de embalagens com atmosfera controlada (ASSIS; BRITTO, 2014).

O aumento da demanda pelo consumo de alimentos frescos e com qualidade, têm fomentado os estudos para desenvolvimento de revestimentos comestíveis, prezando pela segurança alimentar, aliada a conservação dos alimentos, prolongando seu tempo de vida útil (SUHAG *et al.*, 2020). O uso de revestimentos comestíveis em alimentos perecíveis, vêm demonstrando grande eficiência no controle da contaminação por microrganismos em frutas minimamente processadas e no controle de doenças pós-colheita nas frutas *in natura*, além de estender sua vida (KAUR *et al.*, 2020; LAVINIA *et al.*, 2020; TABASSUM; KHAN, 2020).

O revestimento comestível pode ser definido como uma fina camada de um material biopolimérico comestível formado como um revestimento sobre o produto alimentar (MCHUGH, 2000). Esses materiais devem ser biodegradáveis, biocompatíveis e não tóxicos para humanos e estarem de acordo com as legislações vigentes do país para uso em alimentos (ASSIS; BRITTO, 2014; CHOPIN *et al.*, 2014).

Alguns exemplos de polissacarídeos aplicados nesses revestimentos seriam, amido, pectina, carragenina, pululano, alginato, quitosana, celulose e a goma (FERREIRA; ALVES; COELHO, 2016; SUHAG *et al.*, 2020). Atualmente, podem ser observados experimentos com diferentes tipos de revestimentos como, géis (CASTELO BRANCO MELO *et al.*, 2018), emulsões (DENG *et al.*, 2017; HAN *et al.*, 2020), nanoemulsões (CHAUDHARY *et al.*, 2020; HASAN; FERRENTINO; SCAMPICCHIO, 2020).

A escolha do material a ser utilizado no desenvolvimento do revestimento depende das características do produto ao qual o revestimento é destinado e do objetivo a ser alcançado com a aplicação do mesmo (ASSIS; BRITTO, 2014). Segundo Nešić *et al.* (2020) os mecanismos para as formações de filmes a partir de biopolímeros são variados e podem incluir eletrostática, interações hidrofóbicas, iônicas ou outras forças intermoleculares como ligações dissulfeto e reticulação.

A deposição do revestimento comestível sobre os alimentos pode se dar através de técnicas variadas como: imersão, espalhamento (aplicação com o uso de pincel), pulverização (spray), leito fluidizado e *panning* (SUHAG *et al.*, 2020; TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). Em frutas, a imersão é o método mais utilizado, onde o fruto inteiro é submerso na solução filmogênica garantindo o contato com toda sua superfície, o que possibilita a deposição homogênea da cobertura, porém esta técnica pode formar revestimentos mais espessos sobre os alimentos (ASSIS; BRITTO, 2014). Por outro lado, técnicas de aplicação como o espalhamento, onde a solução filmogênica é depositada sobre o alimento com o auxílio de um pincel, tendem a formar coberturas mais finas e uniformes, obtendo melhor aproveitamento da solução (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016).

Além de ser uma barreira física de proteção para os alimentos, os revestimentos comestíveis possibilitam modificar a atmosfera do mesmo, limitando as trocas de gases (O₂ e CO₂) e transferência de compostos aromáticos (ASSIS; BRITTO; FORATO, 2009).

O uso combinado de polissacarídeos com outros materiais, como as proteínas e óleos, ou ainda a adição de plastificantes, pode melhorar características como propriedades mecânicas e de barreira, permeabilidade ao vapor de água e a solubilidade em água desses revestimentos. Nesse contexto, o uso de nanopartículas também pode favorecer a melhoria das propriedades mecânicas e de barreira à umidade dos materiais usados em embalagens de alimentos (YOUSSEF; EL-SAYED, 2018).

3.4 Biocompósitos e Bionanocompósitos

Biocompósitos podem ser definidos como a mistura de materiais onde ao menos um dos constituintes é obtido a partir de recursos naturais. Tal definição possibilita inúmeras possibilidades para a composição de matrizes, que podem incluir biopolímeros, polímeros virgens ou até reciclados derivados do petróleo (VILAPLANA; STRÖMBERG; KARLSSON, 2010).

Bionanocompósitos são compósitos formados pela combinação de biopolímeros e sólidos inorgânicos, onde pelo menos um destes apresenta-se em dimensão nanométrica (DARDER; ARANDA; RUIZ-HITZKY, 2007). O estudo de biocompósitos, vem se intensificando, devido ao esgotamento de recursos de origem fóssil e do interesse de preservação ambiental (RHIM; NG, 2007; VILAPLANA; STRÖMBERG; KARLSSON, 2010). Aliado a este cenário, o fato dos biopolímeros como, amido, celulose, quitina e alginato, estarem amplamente disponíveis na natureza (DARDER; ARANDA; RUIZ-HITZKY, 2007).

A união de hidrocolóides, reúne as características favoráveis de ambos, originando um novo material de melhor qualidade. No que diz respeito a formação de filmes e revestimentos comestíveis, a mistura de materiais hidrofílicos como a quitosana, a celulose, o amido e o alginato com materiais hidrofóbicos como os lipídeos, podem melhorar as características desfavoráveis de ambos. Porém, a formulação ideal deve ser analisada de acordo com os aspectos físico-químicos do produto que se deseja revestir (ASSIS; BRITTO; FORATO, 2009).

Os filmes e revestimentos produzidos a partir de proteínas e polissacarídeos mostram-se eficientes barreiras de O₂ e CO₂ e geralmente possuem propriedade mecânica adequada, porém sua resistência ao vapor de água é limitada, devido à natureza hidrofílica dos hidrocolóides (ARROYO *et al.*, 2020). Já os produzidos a partir de lipídios, possuem boa resistência ao vapor de água, mas suas propriedades mecânicas são inferiores, aos obtidos a partir de hidrocolóides. Então, quando se deseja um revestimento ou filme com barreira de gases eficiente, resistência ao vapor de água e propriedades mecânicas superiores, pode-se

lançar mão de blendas compostas de hidrocolóides e lipídeos, para a produção dos mesmos (RHIM; NG, 2007).

Com o crescimento de estudos envolvendo nanotecnologia, muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos utilizando nanoestruturas de celulose, nanotubos de carbono e nano argilas como reforços, para a produção de bionanocompósitos. Esses materiais em escala nanométrica possibilitam melhora em características físicas e químicas desses compósitos (REDDY *et al.*, 2013).

Filmes e revestimentos comestíveis desenvolvidos a partir da combinação de várias fontes de polissacarídeos, proteínas e lipídeos, além de atuar como a barreira física, podem funcionar como veículos de entrega com liberação controlada de compostos com diferentes funções como antimicrobianos, antioxidantes, probióticos e vitaminas (DHUMAL; SARKAR, 2018).

Estudo realizado por Coelho *et al.* (2020), os autores desenvolveram um filme nanocompósito à base de amido e adicionado de nanocristais de celulose, que foram obtidos a partir de resíduos de bagaço de uva. A incorporação dos nanocristais de celulose como reforço, se deu por diferentes quantidades (em relação a massa seca de amido). Os resultados indicaram que a adição de 5 a 15% de nanocristais apresentaram os melhores resultados para o uso desses filmes em embalagem de alimentos, por originar filmes com maior resistência a tração, menor permeabilidade ao vapor de água e mais opacos, proporcionando menor passagem de luz para o alimento. Porém, a adição de quantidades menores de nanocristais (1 e 2%) proporcionou a obtenção de filmes cristalinos, com menor permeabilidade ao vapor de água e, menor solubilidade em água. O que mostra que mesmo adicionados em pequenas quantidades, os nanocristais demonstraram bom resultado na formação do filme. Os autores atribuíram esse resultado a boa dispersão dos nanomateriais e sua alta compatibilidade com o amido.

Com o objetivo de desenvolver um revestimento comestível para aplicação em mamão minimamente processado, Cortez-Vega *et al.* (2014) prepararam um nanocompósito à base de isolado proteico de corvina branca (*Micropogonias furnieri*) e nanopartículas de montmorilonita. Foram utilizados três tratamentos neste estudo, revestimentos apresentando somente isolados de proteína, revestimento com proteína de peixe e nanopartículas de montmorilonita e o tratamento controle (sem aplicação de revestimento). As amostras de cubos de mamão foram imersas nos respectivos tratamentos e posteriormente armazenadas

sob refrigeração, com temperatura de aproximadamente 4 °C, em bandejas de PET com tampa. Os resultados demonstraram que, ambos os revestimentos reduziram a perda de peso, firmeza, brilho e pH, além de diminuir o crescimento microbiano no mamão minimamente processado durante 12 dias, em relação ao controle. Porém o revestimento adicionado de montmorilonita, apresentou menor perda de massa e maior controle antimicrobiano em relação aos outros tratamentos, demonstrando o efeito biocida desse material.

3.5 Alginato

O alginato é um composto formador de filme atóxico com características biodegradáveis, biocompatíveis e de baixo custo. Segundo Mchugh (2003), o termo “alginato” é utilizado para denominar os sais de ácido algínico e todos seus derivados ou até mesmo o próprio ácido algínico. O ácido algínico é um polissacarídeo natural hidrofílico, extraído de certas algas marrons e definido como copolímero binário, linear, não ramificado, constituído de resíduos de ligações (1,4) dos ácidos β -D-manurônico e ácido Δ -L-gulurônico (FAO, 1997; LIU *et al.*, 2006). A Food and Drug Administration (FDA) classifica-o como hidrocolóide alimentar, assim como a goma arábica, a goma guar e a carragena.

O alginato vem sendo utilizado com frequência no desenvolvimento de revestimentos comestíveis por apresentar boas propriedades mecânicas e de barreira ao oxigênio, dióxido de carbono (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016) (Tabela 2). A utilização do alginato é fundamentada de acordo com três propriedades principais: sua capacidade de aumentar a viscosidade de soluções quando dissolvido em água, a aptidão para formar géis e manter sua estabilidade quando o mesmo é aquecido (os géis são formados quando o sal de cálcio é adicionado à solução aquosa de alginato de sódio), e por sua eficiência para produção de filmes de alginato de sódio ou cálcio e fibras de alginato de cálcio (MCHUGH, 2003).

Tabela 2 Revestimentos comestíveis à base de alginato aplicados em diferentes produtos.

Tipo de hidrocolóide	Aplicação	Produtos	Resultados	Referências
Alginato de sódio	Solução filmogênica	Ameixa	O revestimento aumentou o período de armazenamento.	Valero <i>et al.</i> (2013)
Alginato de sódio/óleo essencial de tomilho, canela e orégano	Solução filmogênica	Maçã minimamente processada	A cobertura foi capaz de inibir o crescimento microbiano, a respiração e a perda de peso da amostra	Sarengaowa <i>et al.</i> (2018)
Alginato de sódio/ óleo essencial de orégano e gengibre	Solução filmogênica	Filé de Tilápia	Os revestimentos diminuíram a oxidação lipídica e, as perdas de peso e de cor dos filés de peixe.	Vital <i>et al.</i> (2018)
Alginato de sódio/óleo de girassol	Solução filmogênica	Morangos e melão minimamente processados	O revestimento reduziu a perda de água nos pedaços de melão, no entanto promoveu perda de água em morango.	Parreidt <i>et al.</i> (2019)
Alginato de sódio/água de coco/ probiótico (L. acidophilus LA3)	Solução filmogênica	Cenouras minimamente processadas	O revestimento foi eficiente como transportador de probiótico e estendeu a vida útil das cenouras.	Shigematsu <i>et al.</i> (2019)
Alginato de sódio/quitosana/ZnOnano	Solução filmogênica	Goiaba	Os revestimentos foram capazes de prevenir o aparecimento de podridão em todas as amostras.	Arroyo <i>et al.</i> (2020)
Alginato de sódio/ZnOnano	Solução filmogênica	Morangos	O revestimento melhorou a qualidade físico-química, sensorial e microbiana dos morangos.	Emamifar; Bavaisi (2020)
Alginato de sódio/óleos essenciais de tomilho e orégano	Solução filmogênica	Mamão minimamente processado	O revestimento retardou a degradação de propriedades físico-químicas e melhorou a segurança alimentar microbiológica.	Tabassun e Khan (2020)

Fonte: Adaptado de Bambalele *et al.*(2021).

As misturas de polissacarídeos, e/ou lipídios, e/ou proteínas e a adição de plastificantes (ex. sorbitol e glicerol), tem a intenção de melhorar propriedades físicas e mecânicas desses materiais. Contudo, mesmo utilizando plastificantes a natureza hidrofílica desses materiais não possibilita ao filme formado boa resistência a água. Por esse motivo, vem sendo aplicado

o processo de reticulação na produção de filmes à base de polissacarídeos, com o objetivo de reduzir a solubilidade em água, desses materiais (LIMA; ANDREANI; SOLDI, 2007).

O processo de reticulação, também conhecido como *crosslinking*, acontece quando cadeias poliméricas são interligadas por ligações covalentes ou não covalentes, modificando a estrutura do biopolímero (AZEREDO; WALDRON, 2016). Esta, é uma técnica primária utilizada para a modificação de materiais biopoliméricos, como as proteínas e os polissacarídeos, podendo oferecer resultados como aumento da resistência a água, ao calor e a luz e melhora de propriedades mecânicas, de barreira e aumento da estabilidade (AZEREDO; WALDRON, 2016). A reticulação do alginato pode ser realizada utilizando íons de cálcio (SONG *et al.*, 2011; TURBIANI; KIECKBUSCH; GIMENES, 2011).

A reticulação de filmes de polissacarídeos como alginato e pectina utilizando agentes reticulantes que contém íons de cálcio em sua composição, possibilitam redução na solubilidade desses filmes, como pode ser observado no estudo realizado por Seixas *et al.*, (2013), onde os autores utilizaram como base para a produção dos filmes alginato e pectina, variando os valores de glicerol e do agente reticulante $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em solução de reticulação complementar. Os autores identificaram que o aumento da concentração do agente reticulante resultou em diminuição significativa da solubilidade dos filmes, indicando que os íons Ca^{2+} de fato promoveram a reticulação das cadeias poliméricas, tornando as ligações intermoleculares mais coesas e arranjadas. Além disso, observou-se que o aumento da concentração de glicerol promoveu leve aumento da solubilização dos filmes.

Turbiani, Kieckbusch e Gimenes (2007) estudaram a produção de filmes a base de alginato de sódio reticulados em duas etapas. Na primeira etapa foi produzido por casting um filme de baixo grau de reticulação e, na etapa posterior realizou-se uma reticulação complementar por imersão em uma solução contendo $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3 a 7%), juntamente com glicerol. De uma maneira geral, os filmes reticulados obtidos neste experimento apresentaram uma espessura média, boa flexibilidade e aparência lisa e transparente. Um aumento na concentração de Ca^{2+} na segunda etapa resultou em um aumento no grau de reticulação, diminuindo a solubilidade em água e o alongamento dos filmes, além de aumentar a resistência à tração.

Em um experimento visando observar os efeitos da adição do plastificante sorbitol e do processo de reticulação utilizando formaldeído em filmes de alginato de sódio, Lima *et al.* (2007), concluíram que a adição de sorbitol nos filmes de alginato de sódio sem o processo

de reticulação levou a uma redução na resistência à tração e elasticidade, e uma maior absorção de água e deformação do filme. A relação entre o intumescimento e a absorção de água de filmes de alginato, adicionados de sorbitol e submetidos ao processo de reticulação, diminuíram com o aumento da quantidade de sorbitol. Este fato, sugere um aumento no grau de reticulação devido a presença do sorbitol. Estudos recentes mostram a eficiência da adição de aditivos em revestimentos a base de polissacarídeos, que desempenham um papel sinérgico junto ao revestimento, melhoram suas propriedades. Em um levantamento realizado por Nair *et al.* (2020), foi observado um número substancial de trabalhos que utilizavam diversos aditivos aos revestimentos como, compostos fenólicos, óleos essenciais, ZnO_{nano} e compostos funcionais (ex.: ciclolipopeptídeos, carvacrol e cinamato de metila), que influenciaram positivamente os resultados de extensão do tempo de vida útil, na manutenção do perfil nutritivo de frutas e vegetais.

Tabassun e Khan (2020) revestiram cubos de mamão minimamente processados com coberturas à base de alginato de sódio com adição ou não de óleos essenciais de tomilho e orégano em diferentes concentrações (0,5 mL; 1,0 mL; 2,0 mL). Posteriormente, armazenaram os pedaços revestidos em bandejas de polipropileno cobertas por filme de poliestireno, mantendo-os à temperatura de 4°C. O uso do revestimento auxiliou em menor perda de peso e na manutenção da cor laranja-amarelada característica do mamão, evitando seu escurecimento. As amostras revestidas com a concentração de 1,0 mL de óleos essenciais, retardaram o processo de degradação das propriedades físico-químicas, melhoraram as condições microbiológicas das amostras e tiveram a maior pontuação na análise sensorial para mamão minimamente processado armazenado por 12 dias, em relação ao controle e as amostras revestidas somente com alginato.

3.6 Quitosana

A quitina é um polissacarídeo naturalmente encontrado na carapaça de animais invertebrados, insetos, fitoplânctons (diatomáceas), algas e fungos. A desacetilação da quitina a partir do uso de solução alcalina, origina o polissacarídeo conhecido como quitosana (HASSAN *et al.*, 2018). A estrutura química da quitosana é composta por diversas unidades de D-glicose repetidas, sendo ligadas por ligações glicosídicas β -1,4, com um grupo acetamida presente (HASSAN *et al.*, 2018; SHARMA; BARMAN; SIDDIQUI, 2016).

A quitosana é um polissacarídeo catiônico, que possui características como, biocompatibilidade, bioatividade e biodegradabilidade, movimentam o interesse em seu uso em diversos tipos de indústrias, principalmente as do ramo alimentício (HASSAN *et al.*, 2018; HSU *et al.*, 2004). Além destas características favoráveis, a quitosana é conhecida também por suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes, tornando este biopolímero a opção satisfatória para o desenvolvimento de revestimentos comestíveis (KERCH, 2015).

Assim como o alginato, a quitosana também possui boa capacidade de formar filmes, porém devido sua natureza de menor solubilidade em água, deve-se lançar mão do uso de soluções a base de ácidos orgânicos para sua total solubilização (Sharma, Barman e Siddiqui *et al.*, 2016). De maneira geral, os filmes formados a partir de quitosana pura, são flexíveis e possuem aparência transparente, apresentam menor permeabilidade ao vapor de água, propriedades de barreira ao oxigênio e dióxido de carbono, maior resistência à tração e menor percentual de alongamento (HASSAN *et al.*, 2018; KERCH, 2015)

O grau de desacetilação ao qual a quitina foi submetida, pode alterar certas características da quitosana, como sua hidrofiliidade, propriedades mecânicas e taxa de degradação (HSU *et al.*, 2004). Hsu *et al.* (2004), observaram que quitosanas com grau de desacetilação mais elevado formaram filmes mais hidrofílicos, com menor alongamento e que foram degradados mais lentamente.

A aplicação de revestimentos a base de quitosana no período de pós-colheita de diversos frutos, tem proporcionado aumento de vida útil e a manutenção da qualidade de alimentos como: goiaba (ARROYO *et al.* 2020), mamão (BRASIL *et al.*, 2012), manga (COSME SILVA *et al.*, 2017), abacate (BILL *et al.*, 2014), entre outros conforme Tabela 3.

Arroyo *et al.* (2020) desenvolveram revestimento utilizando quitosana e alginato, além de adicionar ZnO_{nano} como estrutura de reforço, também exploram sua função como agente antimicrobiano. Na pesquisa com frutos de goiaba, foi observado que revestimentos contendo *blenda* desses biopolímeros adicionados de nanopartículas puderam evitar o aparecimento de sintomas de doenças como a podridão nos frutos, além de funcionar como barreira a gases, retardando a maturação dos frutos por até 20 dias a 21 ± 1 °C. No entanto, os melhores resultados foram mensurados em revestimentos contendo a maior porcentagem de quitosana em sua composição.

Lima Oliveira *et al.* (2018) testaram o efeito de inibição no desenvolvimento de sintomas de antracnose de revestimentos a base de quitosana e óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), em frutos de goiaba, manga e mamão, inoculados artificialmente com fungos causadores de antracnose nestes frutos (*C. asianum*, *C. siamense*, *C. fructicola*, *C. karstii* ou *C. tropicale*). Foram combinadas diferentes concentrações óleo essencial (0.15, 0.3 or 0.6 $\mu\text{L}/\text{mL}$) e quitosana (5 mg/mL). O revestimento composto por quitosana e a maior concentração do óleo (0,6 $\mu\text{L}/\text{mL}$) obteve os melhores resultados de redução de desenvolvimento lesões de antracnose em todos os frutos testados, ao longo dos 12 dias de armazenamento, mesmo quando comparados ao tratamento controle utilizando fungicidas sintéticos. Os autores observaram a ação conjunta do revestimento de quitosana e do óleo essencial, possibilitando efeitos aditivos e sinérgicos para a inibição do desenvolvimento dos sintomas de doença, demonstrando o potencial antifúngico do revestimento. Correa-Pacheco *et al.* (2017), também conseguiram reduzir a incidência de *C.gloeosporioides* em frutos de abacate, utilizando revestimento a base de quitosana reforçado com nanopartículas de quitosana e óleo essencial de tomilho, sem prejudicar a qualidade dos frutos.

Kharchoufi *et al.* (2018) desenvolveram revestimentos a base de quitosana ou goma de alfarroba, adicionados de extratos aquosos e etanólicos de casca de romã, além de cepa de levedura *Wickerhamomyces anomalus* BS91. Frutos de laranja foram inoculados artificialmente com o fungo *Penicillium digitatum* e recobertos com os revestimentos. Os revestimentos utilizando os dois biopolímeros com concentração de extrato aquoso de 0.361 g /mL e 10^8 células/mL de *W. anomalus*, foram capazes de inibir quase que completamente o desenvolvimento de sintomas de mofo verde nos frutos incubados a 26°C por 5 dias, demonstrando um efeito sinérgico entre os polímeros, o extrato e a levedura.

Tabela 3 Revestimentos comestíveis à base de quitosana aplicados em diferentes frutos.

Tipo de hidrocolóide	Aplicação	Produtos	Resultados	Referências
Quitosana/ óleo essencial de capim-limão	Solução filmogênica	Goiaba/manga/mamão	O revestimento inibiu o desenvolvimernto de sintomas de antracnose nos frutos.	Lima Oliveira <i>et al.</i> (2018)
Quitosana/ goma de alfarroba/ extrato aquoso de casca de romã/ levedura <i>Wickerhamomyces anomalus</i> BS91	Solução filmogênica	Laranjas	Os revestimentos proporcionam quase que completa inibição do desenvolvimento de sintomas de mofo verde os frutos inoculados artificialmente.	Kharchoufi <i>et al.</i> (2018)
Quitosana/ ácido ascórbico	Solução filmogênica	Arilos de romã	O revestimento inibiu o desenvolvimento de microrganismos e prolongou a vida útil dos arilos por até 21 dias.	Özdemir e Gökmen (2017)
Quitosana/nanoparticulas de quitosana e óleo essencial de tomilho	Solução filmogênica	Abacate	O revestimento reduziu o desenvolvimento de <i>C.gloeosporioides</i> .	Correa-Pacheco <i>et al.</i> , (2017)
Quitosana/ óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> ou <i>Mentha villosa</i> Huds	Solução filmogênicas	Tomate cereja	Os revestimentos preveniram o desenvolvimento de microrganismos, preservando a qualidade dos frutos.	Guerra <i>et al.</i> (2015)
Quitosana/ óleo de tomilho	Solução filmogênica	Abacate	Reduziu a gravidade de sintomas de antracnose nos frutos.	Bill <i>et al.</i> (2014)
Quitosana/goma de alfarroba/ óleos essenciais de bergamota e laranja amarga	Solução filmogênica	Tâmaras	Reduziu em mais de 50% a decomposição fúngica dos frutos no dia 12 de armazenamento.	Aloui <i>et al.</i> (2014)
Quitosana/ microcapsulas contendo trans-cinnamaldehyde-CD/pectina	Solução filmogênica	Mamão minimamente processado	Melhorou a qualidade do mamão e estendeu sua vida útil em até 15 dias armazenado a 4°C.	Brasil <i>et al.</i> (2012)

Fonte: Adaptado de Bambalele et al. (2021).

3.7 Óxido de zinco

O óxido de zinco (ZnO) é um composto inorgânico, formado naturalmente a partir do mineral zincite, porém a maior parte do ZnO utilizado, é obtido de forma sintética. Partículas de ZnO de diferentes estruturas espaciais, formas e tamanhos podem ser obtidas através de métodos como deposição de vapor, precipitação em solução aquosa, síntese hidrotérmica, processo sol-gel, precipitação por microemulsões e processos mecânicos e químicos (KOŁODZIEJCZAK-RADZIMSKA; JESIONOWSKI, 2014). De acordo com Kołodziejczak-Radzimska e Jesionowski (2014) por possuírem diversas propriedades químicas e físicas, o ZnO é utilizado em diversas áreas como, em produtos farmacêuticos, químicos e destinados a agricultura, assim como em pneus, cerâmica e tintas.

Segundo Wang (2004), este óxido possui características que o torna material semicondutor, piezoelétrico e piroelétrico. Outras características importantes deste óxido são, sua transparência à luz visível e, a possibilidade de formação de diversas estruturas nanométricas (pentas, anéis, hélices, molas, correias, fios e gaiolas), tornando-o material funcional e versátil (WANG, 2004). Estas nanoestruturas são mais comumente sintetizadas através da deposição química em fase vapor (SCHMIDT-MENDE; MACMANUS-DRISCOLL, 2007).

O ZnO é classificado pela *Food and Drug Administration* (FDA) como nutriente para consumo humano e, é reconhecido como substância segura quando aplicado de acordo com as boas práticas de fabricação (FDA, 2019). Segundo Ma, Williams e Diamond (2013), às ZnO_{nano} vem sendo aplicadas em diversos produtos (ex. plásticos, cerâmicas, vidro, cimento, borracha) e são comumente utilizadas em produtos de higiene pessoal, incluindo cosméticos e protetores solares, devido à sua propriedade reflexiva e excelente absorção de UV.

Atualmente ZnO_{nano} vem sendo aplicado em embalagens de alimentos, com a intenção de utilizar seu potencial antimicrobiano para estender o tempo de prateleira desses produtos. Ao se utilizar materiais inorgânicos como agente antimicrobiano, uma maior durabilidade, menor toxicidade, resistência ao calor e maior seletividade podem ser observadas em relação ao uso de materiais antibacterianos orgânicos (PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008).

O uso de partículas de ZnO em tamanho nanométrico melhora sua atividade biocida em relação às partículas do mesmo composto em tamanhos maiores (PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008). O mecanismo de ação antimicrobiana das ZnO_{nano}, é comumente descrito pela geração de espécies reativas de oxigênio e danos à parede celular do microrganismo através da adsorção do nanomaterial. Este mecanismo pode ser verificado no estudo realizado por Padmavathy e Vijayaraghavan (2008), onde os autores observaram o potencial antimicrobiano dessas partículas, utilizando diferentes tamanhos, em bactéria gram-negativa *Escherichia coli* e, concluíram que além de ficarem adsorvidas na superfície da parede celular das bactérias. As ZnO_{nano} liberaram peróxidos de hidrogênio no meio, demonstrando a eficácia bactericida dessas partículas. Além disso, chegou-se à conclusão de que partículas de tamanhos menores possuem uma maior atividade antimicrobiana, devido a maior superfície de contato.

Lavínia *et al.* (2020), testaram o potencial antimicrobiano de ZnO_{nano} em bactérias gram-positivas e gram-negativas (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*), em mamão minimamente processado. Os autores produziram um nanocompósito a partir de quitosana e enriquecido com diferentes concentrações de ZnO_{nano}, em relação ao peso da solução de nanocompósito, aplicando-o nos pedaços de polpa de mamão. As amostras foram mantidas em geladeira, a temperatura de 10 °C, por 12 dias. O maior efeito de inibição bacteriana, foi obtido nas amostras com concentração de 0,027% ZnO_{nano}, e o diâmetro das partículas utilizadas era de 611,30 nm. A aplicação do revestimento comestível nanocompósito levou à inibição do crescimento microbiano em todo o tempo de armazenamento em comparação com a amostra de controle.

Segundo Arciniegas-Grijalba *et al.* (2019), para a identificação dos mecanismos de ação das nanopartículas sobre a parede celular dos fungos, faz-se necessário a revisão sistemática mais rigorosa. Embora não sejam conhecidos a fundo os mecanismos de ação das nanopartículas sobre os fungos, estes podem ser de natureza física ou química (MOSQUERA-SÁNCHEZ *et al.*, 2020).

De la Rosa-Garcia *et al.* (2018) avaliaram o efeito de ZnO_{nano} e MgO em cepas de *C. gloeosporioides* obtidas em mamão e abacate e, obtiveram percentual de inibição superior a 80% no desenvolvimento dos fungos. O diâmetro das ZnO_{nano} que apresentaram maior atividade antifúngica estava em torno de 51 e 54 nm.

Mosquera-Sánchez et al. (2020) avaliaram *in vitro* o efeito antifúngico das ZnO_{nano} (20 - 70 nm) em *Colletotrichum sp.*, causadores de antracnose nas plantas de café. Os autores utilizaram três concentrações diferentes de ZnO_{nano}. Foram observadas perdas na continuidade de algumas hifas, liquefação do conteúdo citoplasmático e vacuolização. Além disso uma camada de partículas foi formada em torno da parede celular do fungo. As diferentes concentrações de ZnO_{nano} inibiram entre 93 e 96% o crescimento de *Colletotrichum sp.*, sendo o melhor resultado na concentração de 15 mmol/L, enquanto o fungicida apresentou inibição de apenas 88%.

Segundo as normas da Associação brasileira de normas técnicas ABNT (2010), todos os produtos químicos registrados no Brasil devem possuir ficha de informações de segurança (FISPQ). Essa ficha é um meio de o fornecedor transferir informações essenciais sobre os perigos do produto químico ao usuário, possibilitando-o tomar as medidas necessárias relativas à segurança, saúde e meio ambiente. Ela equivale a ficha *safety data sheet* (SDS), usual em outros países. De acordo com FISPQ para óxido de zinco (108846) da empresa Merck S/A (2010), para uso farmacêutico em cosméticos, as informações sobre efeitos toxicológicos apresentaram toxicidade oral aguda e toxicidade aguda dérmica em doses maiores que 5.000 mg/kg, nos testes com ratazana. A dose letal para humanos consta na mesma ficha como sendo doses de 500 mg/ kg.

O uso de ZnO_{nano} como agente microbiano em alimentos tem despertado a atenção de muitos pesquisadores em relação a sua possível toxicidade em humanos. De acordo com dossiê sobre ZnO_{nano} em pó, divulgado pela Agência Química Europeia (ECHA, 2020), os testes realizados especificamente em ZnO_{nano} demonstram baixa toxicidade oral aguda, ou seja, os valores de dose letal média (DL₅₀) maiores do que 2.000 mg/kg de peso corporal. Os únicos dados relatados sobre inalação de ZnO_{nano} indicam valor de toxicidade aguda (LC₅₀) maior que 1,79 mg/L. Já os dados sobre ZnO_{nano} confirmam toxicidade dérmica aguda baixa com DL₅₀ maior que 2000 mg/kg de peso corporal. Desta forma, as concentrações utilizadas de nanopartículas neste projeto, estarão sempre abaixo desses limites.

3.8 Benzoato de sódio

O benzoato de sódio é denominado um aditivo sintético, amplamente utilizado nas indústrias de alimentos, farmacêutica e de cosméticos (ANDERSEN, 2001; SHAHMOHAMMADI; JAVADI; NASSIRI-ASL, 2016). Para a obtenção dessa substância é necessário um processo de neutralização do ácido benzoico com bicarbonato de sódio, carbonato de sódio ou hidróxido de sódio, pois este sal não ocorre naturalmente (FDA, 1984). Sua fórmula química é $C_7H_5O_2Na$, altamente solúvel em água, e se apresenta na cor branca, sem odor e pode ser encontrado na forma de pó, flocos ou peletizado (CODEX ALIMENTARIUS, 2019; LINKE; CASAGRANDE; CARDOSO, 2018).

Segundo a Anvisa, o aditivo alimentar tem por objetivo modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais do alimento (ANVISA, 2020). O benzoato de sódio como aditivo alimentar, é reconhecido pelo Codex Alimentarius e FDA, como substância segura para consumo humano, desde que não exceda o nível máximo das boas práticas de fabricação, que atualmente é de 0,1% de sua presença em alimentos (FDA, 1984). Segundo Shahmohammadi et al. (2016) e Zhang e Ma (2013), os limites de quantidade permitida de uso de benzoato de sódio em alimentos, gira em torno de 0 - 5 mg/kg para o comitê misto FAO/OMS de especialistas em aditivos alimentares, na Europa a quantidade limite praticada seria de 0,015 a 0,5%, dessa substância. Já no Brasil o limite máximo para uso do benzoato de sódio é de 0,05 g/100 mg ou 0,05 g/100 mL (LINKE; CASAGRANDE; CARDOSO, 2018).

As propriedades conservantes do benzoato de sódio, são bem exploradas na indústria de alimentos. A atividade antimicrobiana dessa substância está correlacionada ao pH da solução onde é utilizado, sua atividade ocorre em pH baixo. Em alimentos ácidos, pode ocorrer o desenvolvimento de fungos e leveduras acidúricas, e quando adicionado no início do processo produtivo, o benzoato de sódio é capaz de interromper a atividade enzimática desses microrganismos, interrompendo seu desenvolvimento (SHAHMOHAMMADI; JAVADI; NASSIRI-ASL, 2016).

Uma ampla gama de alimentos possui adição desse conservante, como por exemplo: margarina, molhos, temperos, bebidas alcoólicas e não alcoólicas, conservas, produtos de panificação, geleias, sucos, biscoitos, bolos e etc. (LINKE; CASAGRANDE; CARDOSO, 2018; SHAHMOHAMMADI; JAVADI; NASSIRI-ASL, 2016; ZENGİN *et al.*, 2011).

Pires *et al.* (2009), apresentaram nova forma de uso desse conservante. Em seu trabalho, os autores desenvolveram filmes ativos de polietileno adicionados de benzoato de sódio e sorbato de sódio e caracterizaram estes filmes. Foram produzidas amostras em extrusora, com concentração dos antimicrobianos de 4,5 %. Os resultados mostraram que estes antimicrobianos estão aptos a serem incorporados ao filme de polietileno. O benzoato de sódio apresentou boa estabilidade térmica, iniciando seu processo de degradação em temperaturas acima de 400°C graus. Foi observado também aumento de migração dos antimicrobianos em relação à passagem de tempo, posterior à extrusão.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

O experimento foi conduzido no laboratório de fisiologia da pós-colheita da Embrapa Agroindústria de Alimentos. Para a produção das soluções filmogênicas, foram utilizados alginato de sódio média viscosidade (Dinâmica, Brasil), benzoato de sódio granulado (Quimidrol, Brasil), glicerol (Vetec Química, Brasil), quitosana com grau de desacetilação (GD) de 75%, cloreto de cálcio diidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich), ácido acético glacial (Sigma-Aldrich) e ZnO_{nano} (50 nm - n° 677450) adquiridas da empresa Sigma-Aldrich (EUA). O fungicida GRADUATE A+, foi gentilmente doado pela empresa Syngenta, Brasil. O meio microbiológico ágar batata dextrose, usados para o ensaio microbiológico, foram adquiridos da Milipore, Sigma-Aldrich (EUA) e as cepas dos fungos *Colletotrichum sp.* e *Fusarium sp.*, isoladas de frutos de mamão e identificadas pelo Laboratório de Patologia Florestal da Universidade Federal de Viçosa, foram utilizados para as análises microbiológicas *in vitro*.

4.2 Preparação das soluções formadoras de filme

Estudos preliminares de espalhabilidade e aderência de diferentes concentrações das soluções de alginato e quitosana foram realizados nos frutos de mamão, com o objetivo de chegar as melhores concentrações dos polímeros para a produção de revestimentos coesos. As concentrações e o modo de preparação das soluções são descritos a seguir:

4.2.1 Preparo da solução filmogênica de alginato

A solução de alginato foi preparada segundo Verma *et al.* (2011), com algumas modificações. Inicialmente, o alginato de sódio 2% (m/v), foi deixado hidratando *overnight* em 80% do conteúdo de água destilada utilizado na solução. Em seguida solubilizado utilizando um Ultra Turrax T25 basic (IKA, Staufen, Alemanha) a 9.500 rpm por 5 min. A solução homogeneizada foi levada para o banho-maria e, ao atingir a temperatura de $60 \pm 5^\circ\text{C}$, adicionou-se 0,5% (v/v) de glicerol e agitou-se por 5 min, ainda utilizando o Ultra Turrax a 9.500 rpm.

Os 20% de água restante foram reservados para o preparo da solução de cloreto de cálcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), utilizado como agente reticulante da solução polimérica de alginato de sódio. A quantidade de cloreto de cálcio foi estimada em relação a quantidade de alginato de sódio utilizada na produção da solução filmogênica, utilizando como agente reticulante cloreto de cálcio diidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), nas concentrações de 0,375% ou 0,5%. O agente reticulante foi solubilizado em água destilada e adicionado à solução de alginato de sódio ainda em banho-maria a temperatura de $60 \pm 5^\circ\text{C}$, mantendo a agitação em Ultra Turrax a 9.500 rpm, por 20 minutos para a completa reticulação do biopolímero. Soluções controle não reticuladas também foram produzidas para comparação dos resultados.

4.2.2 Preparo da solução filmogênica de quitosana

A solução de quitosana foi preparada segundo Verma *et al.* (2011), com algumas modificações. A solução de quitosana 1% (m/v), foi solubilizada em solução de ácido acético glacial 1% (v/v), e deixada hidratar *overnight*, em repouso. O conteúdo hidratado foi solubilizado em placa de agitação magnética C-MAG HS7 (IKA, Staufen, Alemanha) na velocidade de 1000 rpm por 5 minutos. Posteriormente foi adicionado a esta solução 0,2% (v/v) de glicerol, e então agitada por mais 5 min a 1000 rpm.

4.2.3 Produção dos compósitos poliméricos com adição de antimicrobianos

Após o preparo das soluções iniciais de alginato de cálcio 2% (m/v) e quitosana 1% (m/v), como descritas anteriormente, estas foram homogeneizadas em agitador mecânico Ultra Turrax a 9.500 rpm por 10 minutos, na proporção 9:1 (alginato em relação a quitosana), para produção da blenda polimérica.

Para o preparo das soluções filmogênicas contendo as ZnO_{nano} , a nanopartícula foi suspensa em água destilada (5 mL) e sonicada em banho de ultrassom (Unique USC- 4800, Indaiatuba, Brasil) com potência de 220W, por 15 min. Em seguida, a nanopartícula foi incorporada à blenda polimérica (0,5 mg de ZnO_{nano} /mL) com o auxílio do agitador mecânico Ultra Turrax, por 10 min, até total dissolução.

No preparo das soluções filmogênicas adicionadas de benzoato de sódio, este, na concentração de 30 ppm, foi macerado e diluído em água destilada (2 mL) antes de ser adicionado à mistura de soluções. Da mesma maneira, incorporado à blenda polimérica com o auxílio do Ultra Turrax e agitada por 10 min, até total dissolução. Soluções controle sem a adição dos antimicrobianos (ZnO_{nano} e benzoato de sódio) também foram produzidas.

Dessa maneira as soluções filmogênicas foram desenvolvidas estão resumidamente descritas na Tabela 4:

Tabela 4 Descrição das diferentes soluções filmogênicas produzidas.

Tratamentos	Concentração $CaCl_2$	Agente antimicrobiano/ concentração
AQ1N	0,5%	ZnO_{nano} (0,5 mg/mL)
AQ1	0,5%	-
AQ2N	0,375%	ZnO_{nano} (0,5 mg/mL)
AQ2	0,375%	-
AQ0N	-	ZnO_{nano} (0,5 mg/mL)
AQ0	-	-
AQ1BS	0,5%	Benzoato de sódio (30 ppm)
AQ2BS	0,375%	Benzoato de sódio (30 ppm)
AQ0BS	-	Benzoato de sódio (30 ppm)

* (-) Componente ausente

4.3 Preparação dos filmes

Os filmes foram preparados pela técnica de *casting*, na qual películas finas são obtidas através da evaporação do solvente em estufa de circulação de ar (TURBIANI, 2007). As soluções filmogênicas utilizadas para a produção dos filmes, foram descritas no item 4.2.

As soluções filmogênicas produzidas, foram levadas ao ultrassom de banho (Unique USC- 4800, Indaiatuba, Brasil) com potência de 220W, por 20 min para a retirada de bolhas. Em seguida, aproximadamente 25g das soluções foram vertidas em placas de Petri descartável (90 x 15 mm), e 50g das soluções foram vertidas em placas de Petri de vidro (150 x 15 mm) e levadas para secar em estufa de circulação de ar (Fabbe Primar, São Paulo, Brasil) à 40°C, por aproximadamente 16h. Após a secagem, os filmes foram armazenados em dessecadores contendo sílica gel até o momento das análises. A Figura 5 retrata o fluxograma de processo para elaboração dos filmes.

Produção dos soluções filmogênicas

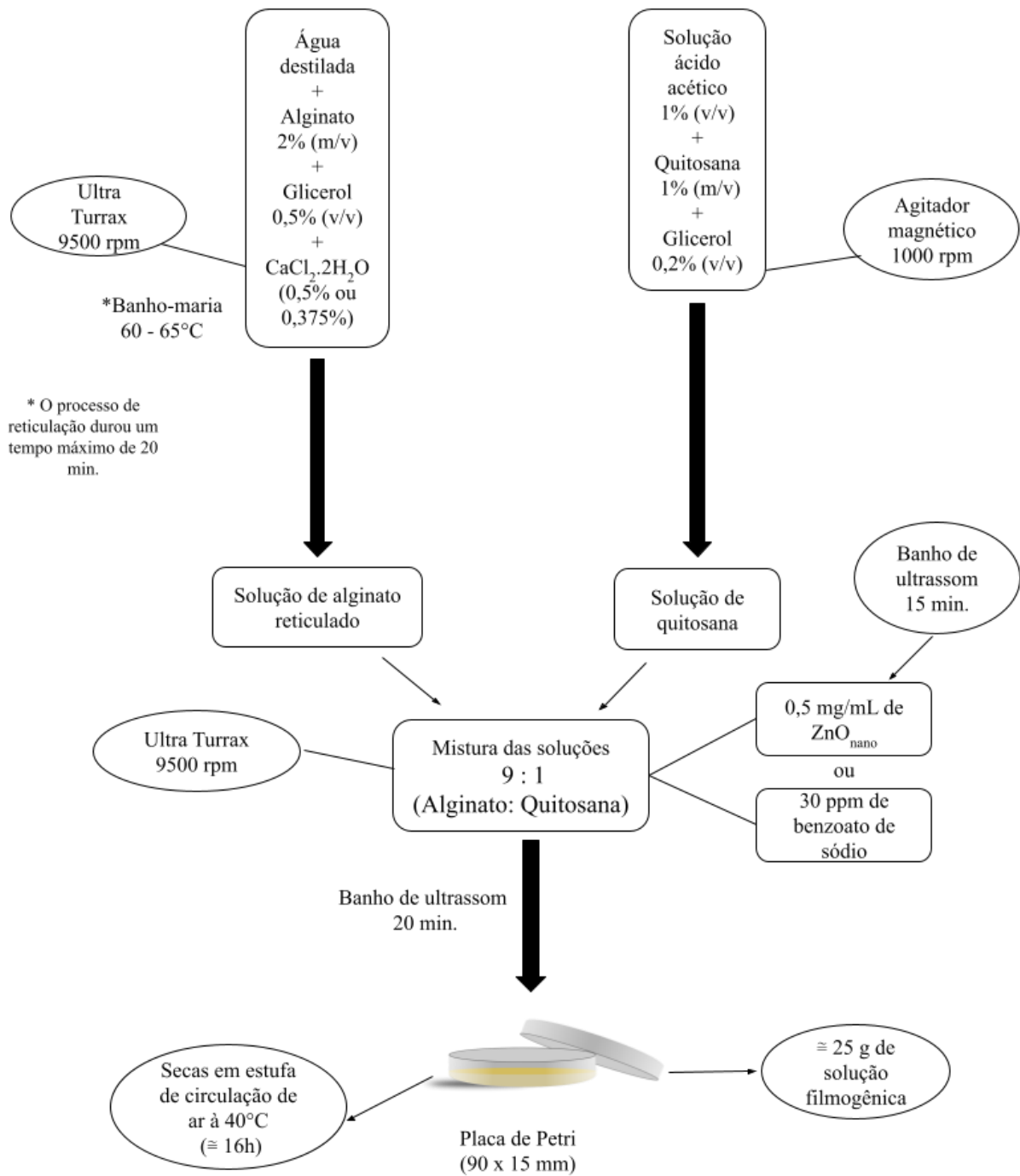


Figura 5 Fluxograma de processo para elaboração das soluções filmogênicas.

4.4 Caracterização dos filmes

Para a realização das análises de solubilidade em água, umidade, propriedades mecânicas, análise termogravimétrica e ângulo de contato, os filmes foram acondicionados em dessecadores contendo solução supersaturada de $\text{MgNO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 48 horas antes das análises ($\cong 50\%$), a 30°C , para controle da umidade relativa (UR).

4.4.1 Aspecto visual

O aspecto visual dos filmes foi realizado por avaliações subjetivas considerando homogeneidade, continuidade, flexibilidade, facilidade de desprendimento do suporte de secagem (placa de Petri) e manuseio.

4.4.2 Cor

A cor dos filmes foi determinada utilizando um colorímetro portátil CR-400 (Konica Minolta, Tóquio, Japão). A escala CIELab foi utilizada para determinar a cor parâmetros L^* , a^* e b^* (ALPARSLAN *et al.*, 2014). A cor dos filmes nanocompósitos, foi expressa como diferença total de cor (ΔE^*), determinada utilizando-se a equação:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}$$

Nesta equação ($L_0^* = 85,0742$, $a_0^* = -2,3088$ e $b_0^* = 10,4512$) são os parâmetros de cor do filme controle sem ZnO_{nano} e sem reticulação no padrão branco, utilizado para comparação dos resultados.

4.4.3 Espessura

A espessura do filme foi medida com um paquímetro digital Z22855 (Powerfix, Neckarsulm, Alemanha) com $\pm 0,02$ mm de precisão, onde quatro repetições de cada filme foram medidas em dez pontos aleatórios. O valor médio das amostras foi utilizado nos cálculos para determinação dos valores de permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas.

4.4.4 Solubilidade em água

A solubilidade do filme em água foi determinada por imersão dos filmes em água e contabilização das partículas secas remanescentes (CUQ *et al.*, 1996). Círculos de 2 cm de diâmetro dos filmes foram cortados, secos a 105 °C em estufa de circulação de ar (Fabbe Primar, São Paulo, Brasil) por 24h e pesados. Em seguida, as amostras foram imersas em 50 mL de água, lacradas com plástico filme e agitadas suavemente (65 rpm) em incubadora shaker de bancada SL-222/E (Solab, Piracicaba, Brasil) por 24h a 30 °C. A porção insolúvel de cada filme foi retirada e seca a 105 °C em estufa durante 24h e pesada novamente para determinação do peso da matéria seca. A análise foi realizada em triplicata. Para o cálculo foi utilizada a seguinte equação:

$$Sol(\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \cdot 100$$

Onde,

Sol = porcentagem de solubilidade do filme (%)

M_i = massa inicial da amostra (g)

M_f = massa final da amostra (g)

4.4.5 Umidade

A umidade dos filmes foi aferida utilizando um analisador de umidade com aquecimento de halogênio MB25 (OHAUS, Nova Jersey, EUA). Amostras contendo aproximadamente 0,530 g dos filmes foram aquecidas a 130 °C e suas umidades registradas em %. A análise foi realizada em triplicata.

4.4.6 Propriedades mecânicas

Os filmes foram analisados quanto ao seu desempenho no teste de tração utilizando um analisador de textura TA XT Plus (Stable Microsystems, Godalming, Reino Unido), pertencente ao Laboratório de Propriedades Físicas da Embrapa Agroindústria de Alimentos. A célula de carga utilizada foi de 30 kg, os corpos de prova foram dimensionados em 100 mm

de comprimento de 25 mm de largura. Essas amostras foram fixadas nas garras do equipamento com distância inicial entre elas de 50 mm e velocidade de tração de 0,5 mm/s, seguindo o método ASTM D882-18 (ASTM, 2018), de acordo com Vieira *et al.* (2021). Os parâmetros medidos na avaliação das propriedades mecânicas foram: Tensão de ruptura (TR, em MPa); alongamento na ruptura (AR, em %); e o módulo de Young (YM, em MPa). TR, AR e YM foram obtidos a partir das curvas tensão-deformação e foram calculados usando as equações:

$$TR = \frac{Fm}{Ast}$$

Onde,

TR = tensão de ruptura (Mpa);

Fm = é a força máxima no rompimento (N);

Ast = área da secção transversal do corpo de prova (mm²);

O alongamento na ruptura (AR) foi calculado através da equação:

$$AR = \frac{Cfin - Cinc}{Cinc} \times 100$$

Onde,

AR= alongamento na ruptura (%);

Cfin = distância final de separação entre as garras (mm)

Cinc= distância inicial de separação entre as garras (mm);

O módulo de Young (YM) foi calculado através da equação:

$$YM = \frac{\sigma}{\gamma}$$

Onde,

σ = inclinação da curva tensão

γ = deformação

4.4.7 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise de Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) de determinado material é utilizada para investigação e identificação de sua composição química, a partir da confirmação da presença dos grupos funcionais existentes na amostra. O procedimento da análise ocorre quando o feixe de luz infravermelha com diversos comprimentos de ondas, são direcionados a amostra a ser analisada. Quando o feixe de luz atinge a amostra, este é absorvido e estimula o movimento de moléculas e ligações químicas presentes na amostra, esse movimento causa vibração que é correlacionada ao comprimento de onda causador do movimento e a composição da molécula (BRUKER, 2022).

Os espectros de infravermelho dos filmes foram gravados utilizando um equipamento VERTEX 70 (Bruker, Massachusetts, EUA), na Central Analítica Multiusuário do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). O espectro de cada amostra foi obtido pelo acúmulo de 64 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} e número de onda de $400 - 4000\text{ cm}^{-1}$. As análises foram realizadas em duplicata e processadas utilizando o software OPUS (SATRIAJI *et al.*, 2020).

4.4.8 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) é a técnica utilizada para monitorar a degradação de determinada substância, através de sua diferença de massa, em função do tempo e de um intervalo de temperatura pré-determinado, sob atmosfera controlada.

A análise termogravimétrica foi conduzida em triplicata com aproximadamente 0,2 g de amostra em cadinhos de porcelana. A amostra foi aquecida desde a temperatura ambiente ($\pm 24\text{ }^{\circ}\text{C}$) até $800\text{ }^{\circ}\text{C}$, a uma taxa de $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, sob atmosfera de nitrogênio (com velocidade de $50\text{ mL}/\text{min}$). A estabilidade térmica dos filmes foi avaliada, analisando a variação da massa em função da temperatura, para isso foi utilizado o analisador termogravimétrico TGA-2000 (Navas Instruments, Carolina do Sul, EUA). A análise foi realizada em triplicata (COELHO *et al.*, 2020).

4.4.9 Ângulo de contato

O medidor de ângulo de contato óptico CAM 101 (KSV Instruments Ltd, Helsinque, Finlândia) foi usado para medir o ângulo de contato na superfície do filme pelo método de queda sésil. Cada medição foi realizada dentro de 20 s com seringa de 1000 µL (Hamilton, Nevada, EUA) e agulha de 0,75 mm de diâmetro, dispensando uma gota de aproximadamente 4µL a cada medição. Foram analisadas três repetições, com 5 medições para cada amostra, em diferentes regiões do filme, totalizando 15 medições para cada filme, a uma temperatura ambiente de ± 24 °C (KWOK; NEUMANN, 1999).

4.4.10 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia do filme foi verificada através de imagens da superfície do filme realizadas no Núcleo de microscopia avançada da Embrapa Agrobiologia, utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV) Evo LS 10 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha) e as da seção transversal dos mesmos, usando um MEV Vega 3 (Tescan, Brun, República Tcheca) no Núcleo de Microscopia Eletrônica da COPPE da UFRJ, com tensão de aceleração de 20 kV e 5 kV sob condição de baixo vácuo. A fratura dos filmes foi realizada a partir da imersão dos mesmos em nitrogênio líquido, posteriormente as amostras de filmes foram recobertas com ouro para aumentar sua condutividade elétrica.

4.5 Atividade antifúngica dos filmes *in vitro*

Colletotrichum sp. e *Fusarium* sp. foram isolados de lesões encontradas em frutos de mamão, cultivados em placas de meio BDA, purificados, re-inoculados em frutos de mamão sadios e isolados novamente dos sintomas presentes nesses frutos, confirmando a identidade dos agentes causais através dos Postulados de Koch.

A atividade antifúngica foi realizada de acordo com Silva (2017), com algumas modificações. Uma Câmara de Neubauer foi usada para a contagem e padronização das

suspensões de esporos. A atividade antifúngica dos filmes no meio de cultura contra *Colletotrichum sp.* ou *Fusarium sp.* foi determinada pelo método de difusão em ágar.

O meio de cultura BDA (Agar Batata Dextrose) foi vertido em placas de Petri de vidro (140 x 15 mm) e após a solidificação, as suspensões de esporos (200 uL, 10^6 UFC/mL) foram espalhadas no meio de cultura com o auxílio de uma alça de Drigalski estéril. Discos dos filmes (1,5 cm de diâmetro), foram expostos a luz UV por 5 min, e então depositados na superfície do meio. As placas foram seladas e armazenadas a 25 °C em câmara tipo BOD NT 780 (Novatecnica, Piracicaba, São Paulo) por 2 dias. Foi avaliada a possível formação de halo ao redor dos filmes, após 48h de incubação e realizada comparação entre os tratamentos. Filmes sem agente antimicrobianos foram utilizados como controle, além de placas inoculadas sem a presença de filme. Foram utilizadas 9 repetições de cada filme, 3 repetições por placa, dispostas de maneira equidistantes entre si.

4.6 Inoculação dos frutos e aplicação dos revestimentos

Frutos de mamão papaya cv. “Golden”, produzidos no município de Itabela - BA, foram adquiridos na Centrais de Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro (CEASA-RJ), em estádio de maturação 2 (25% da área superficial da casca com cor amarela, rodeada de verde claro) da escala de maturação visual, desenvolvida por Oliveira *et al.* (2000).

Em seguida, os frutos foram transportados para o Laboratório de Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria de Alimentos, acondicionados em caixas de papelão conforme são comercializados, e armazenados sob refrigeração $12 \pm 2^\circ\text{C}$. No laboratório, transcorrido um dia após a chegada, os frutos foram retirados cuidadosamente das embalagens, e selecionados para uniformização dos lotes, quanto a coloração da casca, ausência de sintomas de doenças e injúrias mecânicas. Após a seleção, os frutos foram lavados em água corrente, para retirada de sujidades e higienizados, imersos por 10 minutos em solução de dicloroisocianurato de sódio di-hidratado (Sumaveg®) na concentração de 80 ppm, que corresponde a $3 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de cloro livre, e deixados secar em condição de ambiente ($26 \pm 2^\circ\text{C}$; 85% UR) até a inoculação e, aplicação dos tratamentos (Figura 6).

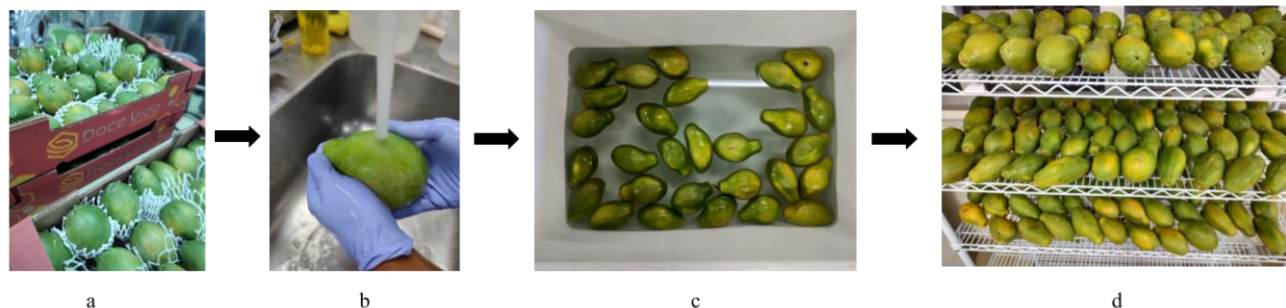


Figura 6 Processo de higienização dos frutos. (a) frutos adquiridos, (b) lavagem em água corrente, (c) imersão em solução clorada e (d) secagem.

Os frutos foram inoculados artificialmente de duas maneiras distintas, para demonstrar a eficiência antifúngica dos revestimentos aplicados. As nove soluções filmogênicas desenvolvidas conforme relatado no item 4.2.3 (Tabela 4), foram utilizadas como revestimentos, assim como o fungicida destinado ao uso na pós-colheita de frutos de mamão GRADUATE A⁺, utilizado como controle positivo e frutos sem nenhum tratamento, utilizados como controle negativo.

As inoculações foram realizadas na seguinte ordem e maneira:

- Reveste e Inocula (RI): Frutos escolhidos aleatoriamente foram recobertos com as soluções filmogênicas com o auxílio de um pincel, figura 7. Após a secagem dos frutos em temperatura ambiente (25 °C), sob uma grade, foram depositados assepticamente em dois pontos distintos do fruto, pequenos discos de ágar-ágar (Milipore, EUA) estéril (0,7 mm de diâmetro), e então dispensadas sobre eles 10 µL de uma suspensão de esporos dos fungos *Colletotrichum sp.* e *Fusarium sp.*, previamente padronizadas com o auxílio de uma câmara de contagem de células ($3,7 \times 10^5$ e $3,6 \times 10^5$, respectivamente).



Figura 7 Aplicação dos revestimentos e inoculação dos frutos, na forma de inoculação RI.

- Inocula e Reveste (IR): Foram depositadas duas gotas de 10 μ L das suspensões de esporos mencionadas anteriormente, em dois pontos distintos do fruto e então realizada uma perfuração (\cong 2 mm) utilizando seringa hipodérmica de 5mL com agulha estéril (25 x 0,7 mm), sobre cada uma das gotas (NERY-SILVA *et al.*, 2007), figura 8. Os frutos foram deixados secar por 12h a \pm 25°C e só então foram aplicadas as soluções filmogênicas com o auxílio do pincel, e deixados secar em temperatura ambiente (27 °C).

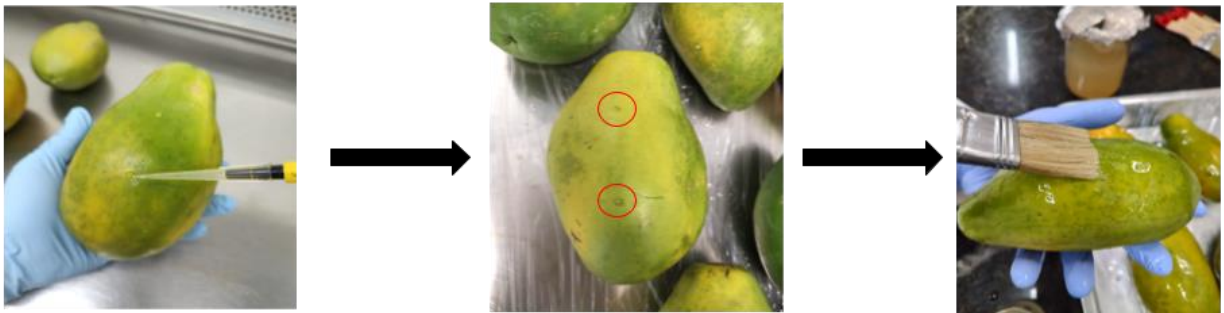


Figura 8 Inoculação artificial dos frutos de mamão, na forma de inoculação IR.

O tratamento com fungicida foi aplicado respeitando a ordem das inoculações, seguindo as instruções descritas na bula do produto, de acordo com as especificações da empresa fornecedora. Os frutos foram imersos na calda obtida utilizando 3 mL de solução concentrada de GRADUATE A⁺ para cada 1L de água, por dois minutos, e então deixados

secar (Figura 9). Os frutos controle, foram inoculados, mas não receberam qualquer tipo de tratamento.



Figura 9 Aplicação de fungicida nos frutos por imersão em calda.

Após a secagem, os frutos foram acondicionados em embalagens anatômicas para mamão - desenvolvidas a partir de poliuretano e fibras vegetais, numa parceria entre a Embrapa Agroindústria de Alimentos (RJ), do Instituto Nacional de Tecnologia (INT) e Instituto de Macromoléculas (IMA) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) - previamente higienizadas, e armazenados em câmara de refrigeração a temperatura aproximada de $13 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR de aproximadamente 77%, durante 7 dias. Posteriormente, os frutos foram retirados da câmara e armazenados em temperatura ambiente (28°C) por mais 7 dias. Durante os primeiros sete dias de armazenamento foram realizadas análises de perda de massa e cor dos frutos. No último dia de armazenamento, devido ao elevado desenvolvimento de sintomas de doença nos frutos, estes foram avaliados subjetivamente quanto a cor de sua casca, traçando um paralelo com seu possível estágio de maturação e classificação de sintomas de doença.

Cada tratamento foi composto por 4 repetições, sendo cada repetição representada por um fruto, somando 88 frutos para cada tipo de inoculação (RI ou IR) e fungo (*Colletotrichum* sp. ou *Fusarium* sp.), conforme esquematizado na Figura 10.

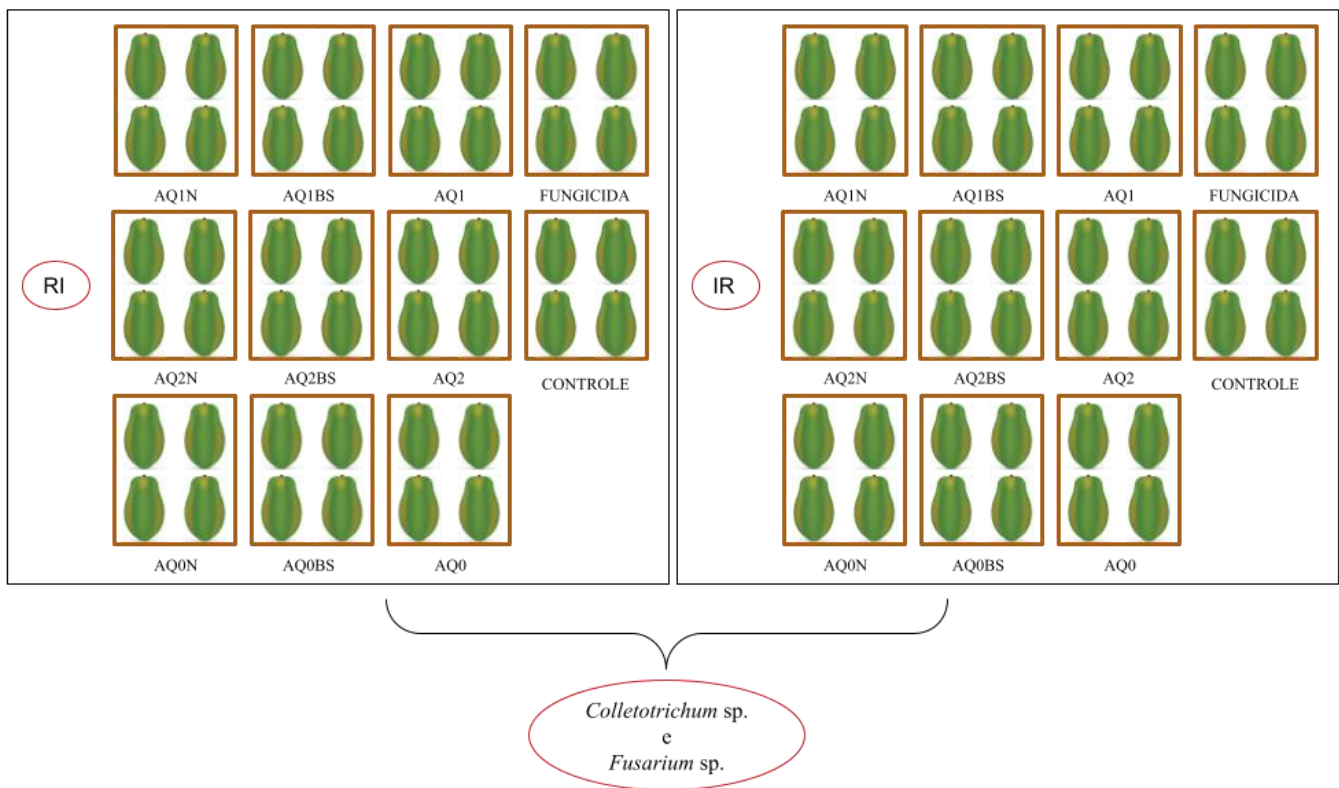


Figura 10 Esquema experimental da distribuição das repetições e tratamento.

4.7 Análises físicas e microbiológicas dos frutos

4.7.1 Cor

A cor instrumental dos frutos foi aferida com o auxílio de um colorímetro portátil CR 400 (Konica Minolta, Tóquio, Japão). A escala CIELab foi utilizada para determinar a cor parâmetros L^* , a^* e b^* (ALPARSLAN *et al.*, 2014). Cada tratamento contou com 40 leituras distribuídas aleatoriamente nos frutos, sendo 10 leituras em cada fruto.

4.7.2 Perda de massa fresca

A perda de massa fresca foi obtida pela pesagem de todos os frutos de cada tratamento avaliado, após 7 dias de armazenamento, utilizando uma balança de precisão AD2000 (0,01 g) (Marte, Minas Gerais, Brasil). Considerou-se então, a diferença entre a massa inicial e final dos frutos. Os resultados foram expressos em % de perda de massa fresca.

Onde,

Pm = Perda de massa (g);

Pinicial = Peso inicial do fruto (g);

Pfinal = Peso final do fruto (g)

4.7.3 Classificação de estágio de maturação dos mamões

Uma escala de estágio de maturidade baseada na escala do programa de exportação de mamão brasileiro do Ministério da Agricultura, Pecuária e Meio Ambiente (MAPA) (PEREIRA *et al.*, 2009) foi utilizada para a avaliação (Figura 11). Os frutos foram avaliados em relação a maturação no 14º dia de armazenamento, pela coloração visual da casca, e receberam diferentes classificações. Sendo, frutos totalmente desenvolvidos, de cor 100% verde, classificados como 0; frutos com até 15% da superfície amarela, classificados como 1; frutos com até 25% da superfície da casca amarela, cercada de cor verde clara, classificados como 2; frutos com até 50% da superfície amarela, cercada de cor verde clara, classificados como 3; frutos com 50 - 75% da superfície amarela, rodeada de verde claro; classificados como 4; e frutos com 76-100% da superfície amarela, classificados como 5.

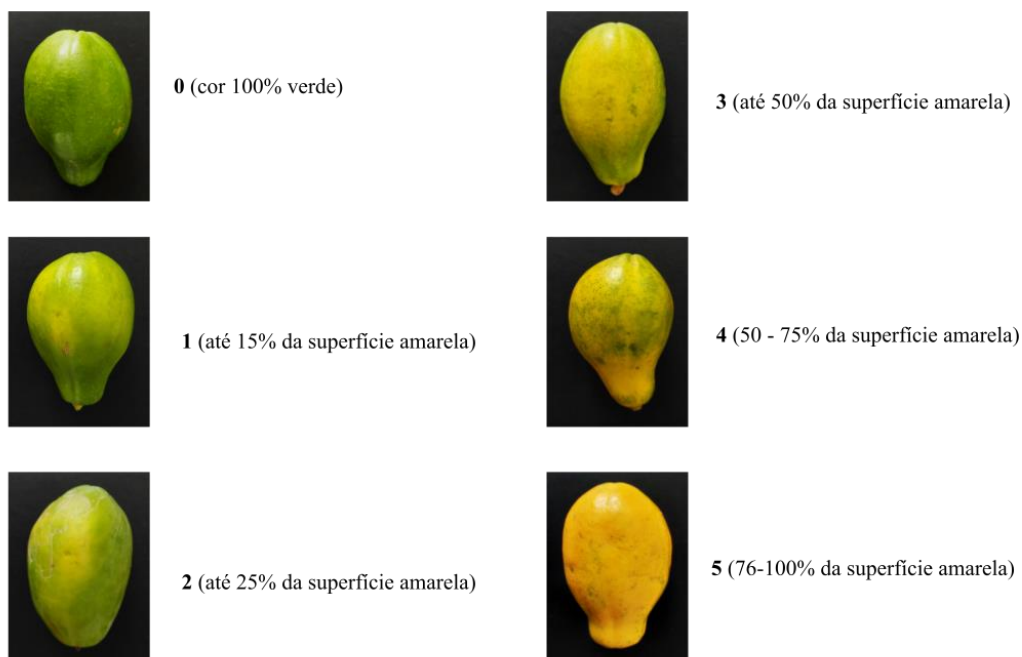


Figura 11 Escala de classificação de sintomas de doença em frutos de mamão, adaptado de Pereira et al. (2009).

4.7.4 Severidade da doença

A média de classificação dos frutos quanto a severidade de doenças, foi realizada utilizando uma escala de sintomas de doenças (crescimento fúngico; lesões escurecidas com depressão e podridão peduncular), adaptada de Romanazzi *et al.* (2013), onde os frutos que apresentavam em sua extensão cerca de 0 – 10% de comprometimento de sua aparência por sintomas de doenças, recebiam o número 0; sintomas em até 20% de sua superfície, classificação 1, entre 21- 40% classificação 2, entre 41 – 60%, eram denominados com número 3, aqueles com 61- 80 % da superfície comprometida, classificação 4. Por fim, aqueles que apresentaram sintomas entre 81-100%, receberam o número 5 (Figura 12). Todos os frutos, de todos os tratamentos foram avaliados ao 14º dia de armazenamento.

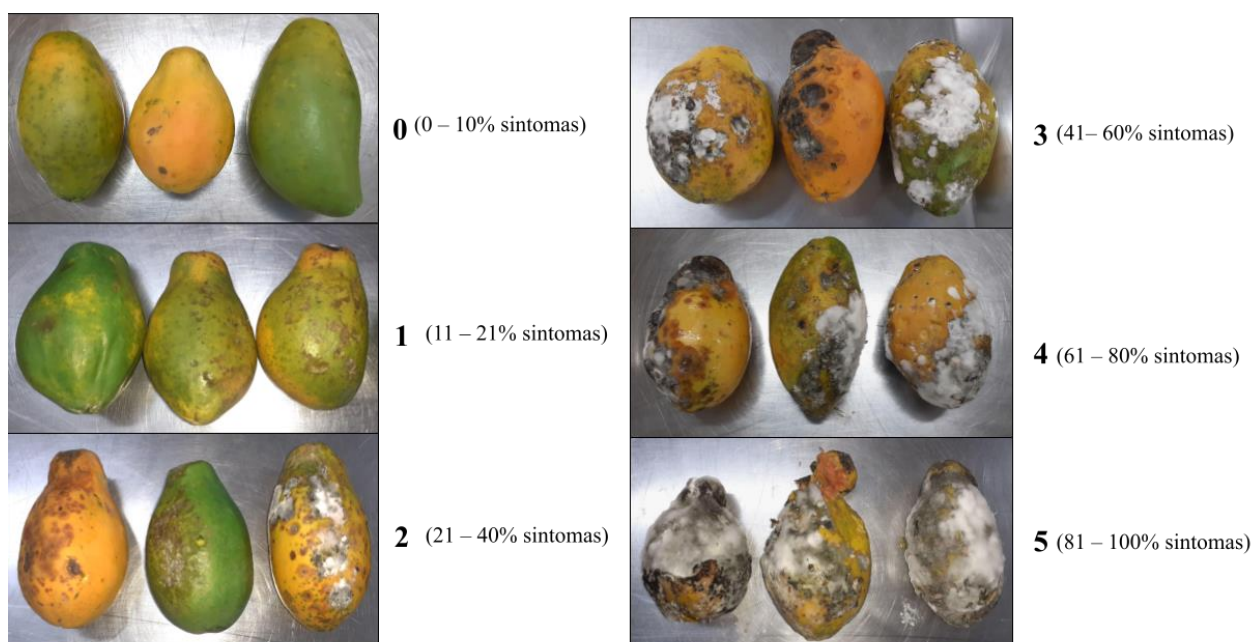


Figura 12 Escala de classificação de sintomas de doença em frutos de mamão, adaptado de Romanazzi et al. (2013).

4.8 Análise estatística dos dados

O software de análise estatística RStudio 1.4.1717 foi utilizado para a análise das médias obtidas em cada teste. Foi realizada uma Análise de variância (ANOVA) de duas vias, comparando a influência dos dois fatores independentes (reticulação e adição de antimicrobiano), para os filmes e dois fatores independentes (diferentes tratamentos e tipos de inoculação), para os frutos, utilizando o teste de Tukey para determinar diferenças significativas. Foi utilizado o teste de comparação múltipla de médias de Scott-Knott para comparar os diferentes filmes e revestimentos. Também foi realizado a conversão de variável de Box-Cox (mediante o cálculo de lambda) ou teste de Friedman nas variáveis dependentes que não apresentaram normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk. No experimento envolvendo a aplicação dos revestimentos nos frutos também foi aplicado o teste de Dunnett para comparação tratamentos controle (frutos tratados com fungicida – controle positivo e frutos sem tratamento – controle negativo), com os demais tratamentos. Para as análises que utilizaram escalas de maturação e severidade de doença, foi utilizado o teste de Kruskal

Wallis, para identificação de diferenças significativas entre as médias. Todas as análises estatísticas foram realizadas ao nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Aspecto visual dos filmes

A mistura e proporção dos polímeros usados neste trabalho, propiciou a formação de filmes. Os filmes obtidos a partir das diferentes formulações apresentaram boa maleabilidade e flexibilidade, destacando-se facilmente das placas, com capacidade de se dobrar sem quebrar. O aspecto visual de todos os filmes mostrou-se homogêneo independente da concentração de agente reticulante ou da adição dos diferentes antimicrobianos, não sendo possível diferenciar os biopolímeros utilizados (Figura 13).

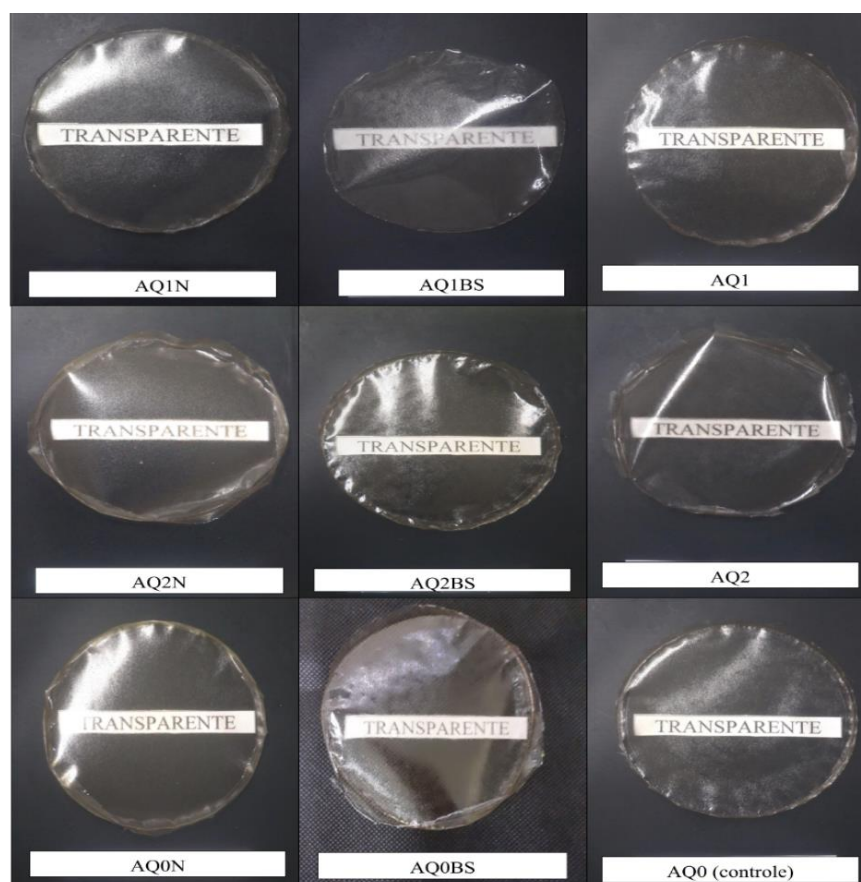


Figura 13 Aspecto visual dos filmes elaborados a partir de misturas de alginato e quitosana, adicionados de antimicrobianos.

É importante destacar, que os filmes nanocompósitos, (AQ1N, AQ2N e AQ0N), apresentaram aparência mais coesa após a sua secagem, deixando a aparência desses filmes com algumas falhas, como mostrado na Figura 14. Isto ocorreu independente da adição do agente reticulante à solução. Tal fato, pode ser explicado pelo efeito reticulante proporcionado pelo uso das nanopartículas, que modificam a estrutura dos filmes deixando-os com a estrutura mais compacta, formando ligações mais estáveis (SILVA, 2017).

Alginato e quitosana são polímeros que possuem cargas opostas, e naturalmente o balanço entre as cargas tornam as misturas destes mais homogêneas, porém a proporção entre essas misturas pode afetar o resultado final do filme (AHMADI *et al.*, 2015).

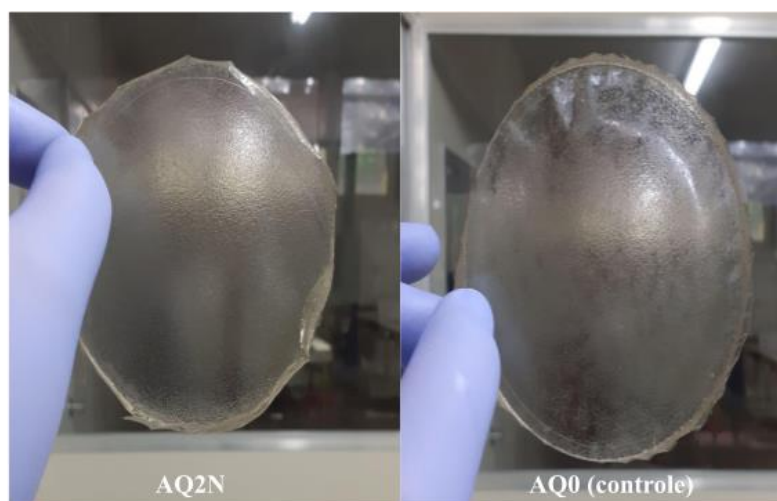


Figura 14 Aparência dos filmes com (AQ2N) e sem ZnOnano (AQ0).

A cor dos filmes, a olho nu, apresentou um tom amarelado, proporcionado pela proporção maior de alginato utilizado na formulação, como pode ser observado na análise instrumental de cor apresentada na seção 5.2. Filmes de alginato e quitosana puros possuem coloração tendendo a cor amarela (VASCONCELOS, 2016). Os filmes confeccionados somente com quitosana possuem aspecto translúcido (KIM *et al.*, 2011). Visualmente, observa-se leve opacidade nos filmes, possivelmente ocasionada pela mistura dos diferentes polímeros, porém ainda mantendo aparente transparência.

5.2 Cor

A cor instrumental dos filmes foi avaliada seguindo sistema CIELab, utilizando o espaço de cor $L^*a^*b^*$. Neste sistema são obtidos os parâmetros de cor luminosidade L^* , variando de 0 (preto) a 100 (branco); o a^* , do verde (-) ao vermelho (+); e b^* , do azul (-) ao amarelo (+). A cor dos filmes é expressa como a diferença total de cor (ΔE^*) (KONICA MINOLTA, 2019).

A tabela 5 apresenta os valores referentes aos parâmetros de cor encontrados nos filmes. Nenhum dos parâmetros apresentou interação entre os fatores reticulação e antimicrobiano. Estatisticamente, os valores de ΔE dos filmes contendo ZnO_{nano} não foram afetados por sua presença nas matrizes, mostrando que a quantidade utilizada do antimicrobiano não foi capaz de modificar o aspecto dos filmes. Tal fato pode estar relacionado ao tamanho diminuto das nanopartículas, que tornam-se menos susceptíveis aos efeitos óticos da luz visível (SILVA, 2017).

Tabela 5 Valores de diferença total de cor (ΔE), L^* , a^* e b^* dos filmes reticulados e não reticulados, adicionados ou não de agentes antimicrobianos.

	L^*	a^*	b^*	ΔE
AQ1N	^b 85,0 ± 1,25 ^{A;a}	-2,45 ± 0,132	^a 11,5 ± 3,37 ^{A;a}	^a 1,22 ± 0,754 ^{A;a}
AQ2N	^a 85,8 ± 0,221 ^{A;a}	-2,26 ± 0,07	^a 9,31 ± 0,789 ^{A;a}	^a 1,64 ± 0,499 ^{A;a}
AQ0N	^a 85,8 ± 0,574 ^{A;a}	-2,47 ± 0,244	^a 10,1 ± 1,94 ^{A;a}	^a 1,22 ± 0,383 ^{A;a}
AQ1BS	^b 85,1 ± 0,754 ^{A;a}	-2,09 ± 0,111	^a 10,0 ± 1,66 ^{A;a}	^a 1,51 ± 1,08 ^{A;a}
AQ2BS	^b 84,9 ± 0,349 ^{A;a}	-2,08 ± 0,024	^a 10,1 ± 0,743 ^{A;a}	^a 1,13 ± 0,346 ^{A;a}
AQ0BS	^b 84,6 ± 1,07 ^{A;a}	-2,14 ± 0,042	^a 9,39 ± 1,78 ^{A;a}	^a 2,23 ± 0,577 ^{A;a}
AQ1	^b 84,9 ± 0,472 ^{A;a}	-2,11 ± 0,073	^a 10,7 ± 1,25 ^{A;a}	^a 1,81 ± 1,02 ^{A;a}
AQ2	^b 84,9 ± 0,192 ^{A;a}	-2,04 ± 0,049	^a 10,3 ± 0,409 ^{A;a}	^a 1,40 ± 0,646 ^{A;a}
AQ0	^b 85,1 ± 0,424 ^{A;a}	-2,31 ± 0,088	^a 10,5 ± 0,945 ^{A;a}	^a 1,62 ± 0,677 ^{A;a}
Efeitos simples				
Antimicrobiano				
ZnO_{nano}	85,53 ± 0,681 ^a	-2,39 ± 0,148 ^a	10,3 ± 2,03 ^a	1,36 ± 0,545 ^a
BS	84,86 ± 0,724 ^b	-2,10 ± 0,059 ^a	9,83 ± 1,39 ^a	1,62 ± 0,667 ^a
Ausência	84,96 ± 0,362 ^b	-2,15 ± 0,07 ^a	10,5 ± 0,868 ^a	1,61 ± 0,781 ^a
Reticulação				
0,5%	85,00 ± 0,825 ^a	-2,21 ± 0,105 ^b	10,73 ± 2,09 ^a	1,51 ± 0,951 ^a
0,375%	85,2 ± 0,254 ^a	-2,12 ± 0,047 ^a	9,90 ± 0,647 ^a	1,39 ± 0,497 ^a
0%	85,16 ± 0,689 ^a	-2,30 ± 0,124 ^c	9,99 ± 1,55 ^a	1,69 ± 0,545 ^a
λ (lambda) ou Friedman	33,9	$X^2_{(4)} = 4,66$ e $X^2_{(4)} = 6$	-0,5	0

Os valores são representados por médias ± desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre amostras adicionadas com diferentes concentrações de agente reticulante, em relação ao mesmo agente antimicrobiano adicionado. Diferentes letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças entre amostras com diferentes antimicrobianos no mesmo nível de concentração de agente reticulante. Diferentes letras minúsculas a esquerda na mesma coluna indica a diferença de médias para o teste Scott-Knott. Diferentes letras minúsculas na mesma coluna mostram diferenças significativa de média nos efeitos simples. Todas as análises estatísticas foram realizadas a 5% de significância.

Apesar de não apresentarem interação o parâmetro de cor L^* apresentou diferença de médias significativa nos efeitos simples e no teste de Scott-Knott, relacionada a presença de antimicrobiano nos filmes, onde a maior média foi observada nos filmes que continham ZnO_{nano} . Tal fato, confirma a informação anterior ligada a aparente homogeneidade na aparência dos filmes adicionados de ZnO_{nano} , que não apresentavam falhas em sua superfície como os demais. Essa estrutura mais coesa provavelmente proporcionou aumento na luminosidade dos filmes, tendendo mais os valores de L^* para o branco.

Filmes puros de quitosana apresentam aspectos translúcidos, já filmes formados a partir do polímero alginato apresentam aspecto transparente, porém com coloração tendendo ao amarelo (KIM *et al.*, 2011; VASCONCELOS, 2016). O parâmetro b^* , que mede a variação entre as cores azul e amarelo, não apresentou diferenças significativas para nenhum dos tratamentos, mostrando todos os seus valores positivos, o que demonstra que as cores dos filmes avaliadas instrumentalmente estão próximas aquelas observadas visualmente, com os filmes tendendo sua cor para o amarelo.

O teste de Friedman realizado nos valores do parâmetro de cor a^* , mostrou que há efeito da adição de antimicrobianos no processo de reticulação em relação ao valor de a^* ($X^2_{(4)} = 6$; $p_{value} = 0,0497$) e não há efeito do processo de reticulação na adição de antimicrobiano em relação ao valor de a^* ($X^2_{(4)} = 4,66$; $p_{value} = 0,0969$). Nota-se um incremento da cor verde nos filmes, devido os valores de a^* mais negativos. Diferenças significativas para este parâmetro, foram observadas nas médias do efeito simples reticulação, observando a maior média, nos filmes reticulados com 0,375% de cloreto de cálcio.

Resultados semelhantes aos observados neste trabalho, foram encontrados por Silva (2017) onde, ao se adicionar uma concentração menor de ZnO_{nano} (3% em relação a massa de alginato), com o mesmo diâmetro utilizado neste estudo (50 nm) em filmes de alginato com baixa reticulação, ocorreu um incremento no valor de L^* e b^* , e uma diminuição do valor de a^* , em relação ao filme controle sem nanopartículas. Em Roy e Rhim (2020) também é possível visualizar o mesmo padrão de incremento no valor de L^* e b^* , e diminuição do parâmetro a em filmes de carboximetilcelulose (CMC) incorporados de ZnO_{nano} (1% em relação a massa de CMC), quando comparados aos filmes do mesmo polímero sem adição de ZnO_{nano} .

Normalmente, uma diminuição do valor de luminosidade é relatada ao serem adicionadas ZnO_{nano} em filmes com diferentes matrizes poliméricas, principalmente com o

incremento da concentração destas nanopartículas. Porém, também é possível observar um aumento do valor de b^* , ΔE e diminuição do valor de a^* , culminando na redução de luminosidade e tendência de incremento da cor verde e amarela nos filmes, dependendo do polímero (KANMANI; RHIM, 2014; SATRIAJI *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2021).

5.3 Espessura e Propriedades mecânicas

A tabela 6 apresenta os resultados obtidos relativos à espessura dos filmes e propriedades mecânicas. É possível observar que houve interação entre os tratamentos. Os filmes de menor espessura foram aqueles que receberam a maior concentração de agente reticulantes juntamente com a adição de ZnO_{nano} (AQ1N). O processo de reticulação do alginato possibilita a ligação entre as cadeias desse polímero, tornando sua estrutura mais compacta e isto pode ter sido fator preponderante para obtenção de uma espessura mais fina. De modo geral, os filmes com maior concentração de agente reticulante apresentaram-se com as menores espessuras (AQ1N; AQ1 e AQ1BS), porém é possível observar que a mistura de polímeros onde não foi utilizada reticulação, mas adicionou-se as nanopartículas de óxido de zinco (AQ0N), também apresentou espessura mais fina, muito embora não tenha sido significativamente diferente da espessura do filme controle.

Resultados diferentes dos obtidos nos filmes deste estudo, foi observado em outros trabalhos. Rhim (2004) produziu filmes de alginato de sódio reticulados de duas maneiras: adicionando o agente reticulante ($CaCl_2$) em solução, variando concentrações (reticulação primária) e por imersão dos filmes de alginato em soluções contendo diferentes concentrações do mesmo agente reticulante (reticulação secundária). A espessura dos filmes que sofreram reticulação primária tiveram um incremento de acordo com o aumento da concentração de agente reticulante. Já os filmes originários de reticulação secundária diminuíram sua espessura em relação ao controle, porém o aumento da concentração de agente reticulante também ocasionou o aumento da espessura desses filmes.

Apesar de não ser observada diferença estatística na espessura dos filmes de alginato que passaram por processo de reticulação primária em Silva (2017), pode-se verificar que existiu uma tendência de menor espessura do filme reticulado e adicionado com menor concentração de ZnO_{nano} , em relação ao filme controle sem nanopartículas. Pode-se verificar

também, que ocorre um ligeiro incremento da espessura dos filmes, ao se aumentar a quantidade de nanopartículas adicionada.

Filmes reticulados com íons de Ca^{2+} preparados com fucoïdan, alginato e quitosana foram preparados em Goma *et al.*(2018). Além do filme reticulado contendo os três polissacarídeos, também foram preparados filmes somente com quitosana e alginato, reticulados ou não reticulados. Desta maneira, foi possível observar que a espessura dos filmes reticulados aumentou em relação as misturas de mesmo polímero não reticulado.

Tabela 6 Espessura, Tensão de ruptura (TR), Alongamento na ruptura (AR) e Módulo de Young (MY) dos filmes reticulados e não reticulados, adicionados ou não de agentes antimicrobianos.

	Espessura (μm)	TR (Mpa)	AR (%)	MY (Mpa)
AQ1N	^d 51,5 ± 3,38 ^{B;a}	^a 53,9 ± 7,93 ^{A;a}	^b 4,91 ± 1,66 ^{A;a}	^a 29,4 ± 2,87 ^{A;a}
AQ2N	^c 61,5 ± 5,08 ^{A;b}	^b 38,3 ± 11,7 ^{A;a}	^b 5,37 ± 3,38 ^{A;a}	^b 22,3 ± 1,34 ^{A;a}
AQ0N	^c 64,1 ± 3,60 ^{A;b}	^c 32,2 ± 8,86 ^{A;a}	^b 5,13 ± 2,49 ^{A;a}	^c 18,7 ± 2,13 ^{A;a}
AQ1BS	^d 56,9 ± 3,54 ^{B;a}	^b 38,6 ± 5,69 ^{A;a}	^b 4,89 ± 1,73 ^{A;a}	^b 22,0 ± 2,06 ^{A;a}
AQ2BS	^c 63,5 ± 5,56 ^{B;ab}	^c 26,2 ± 2,82 ^{A;a}	^b 5,80 ± 1,65 ^{A;a}	^d 15,0 ± 1,68 ^{A;a}
AQ0BS	^a 78,1 ± 8,94 ^{A;a}	^d 19,9 ± 7,43 ^{A;a}	^a 7,85 ± 3,72 ^{A;a}	^e 11,6 ± 5,58 ^{A;a}
AQ1	^d 56,5 ± 7,63 ^{B;a}	^b 40,9 ± 7,35 ^{A;a}	^b 5,23 ± 2,54 ^{A;a}	^b 21,6 ± 2,60 ^{A;a}
AQ2	^b 69,8 ± 8,6 ^{A;a}	^c 27,5 ± 4,46 ^{A;a}	^a 7,86 ± 2,68 ^{A;a}	^d 13,8 ± 2,62 ^{A;a}
AQ0	^b 70,2 ± 8,85 ^{A;b}	^c 27,1 ± 6,37 ^{A;a}	^a 7,72 ± 2,96 ^{A;a}	^d 14,6 ± 3,62 ^{A;a}
		Efeitos simples		
Antimicrobiano				
ZnO _{nano}	59,03 ± 4,02 ^b	41,46 ± 9,49 ^a	5,14 ± 2,51 ^b	23,42 ± 2,11 ^a
BS	67,13 ± 3,00 ^a	28,23 ± 5,31 ^b	6,18 ± 2,36 ^{ab}	16,2 ± 3,10 ^b
Ausência	65,5 ± 8,36 ^a	31,82 ± 6,06 ^b	6,93 ± 2,72 ^a	16,69 ± 2,9 ^b
Reticulação				
0,5%	54,96 ± 4,85 ^c	44,46 ± 6,99 ^a	5,00 ± 1,97 ^b	24,33 ± 2,51 ^a
0,375%	64,93 ± 6,41 ^b	30,64 ± 6,32 ^b	6,34 ± 2,57 ^{ab}	17,03 ± 1,88 ^b
0%	71,76 ± 7,13 ^a	26,42 ± 7,55 ^b	6,90 ± 3,05 ^a	14,95 ± 3,77 ^c

Os valores são representados por médias ± desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre amostras adicionadas com diferentes concentrações de agente reticulante, em relação ao mesmo agente antimicrobiano adicionado. Diferentes letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças entre amostras com diferentes antimicrobianos no mesmo nível de concentração de agente reticulante. Diferentes letras minúsculas a esquerda na mesma coluna indica a diferença de médias para o teste Scott-Knott ($p < 0,05$). Diferentes letras minúsculas na mesma coluna mostram diferenças significativa de média nos efeitos simples. Todas as análises estatísticas foram realizadas a 5% de significância.

A avaliação da tensão na ruptura (TR), também conhecida como tensão de tração, é importante para o entendimento das propriedades mecânicas dos materiais. Essa tensão é tida

como o ponto máximo de resistência do material, quando submetido a uma determinada força de tração, antes de se romper (POSSOMAI *et al.*, 2017).

Nos resultados obtidos nessa análise, pode-se observar que para a TR não houve interação entre o processo de reticulação e a adição ou ausência dos antimicrobianos, porém separadamente, as médias dos efeitos simples antimicrobiano e reticulação apresentaram diferenças significativas.

A média dos filmes de maior reticulação ($44,46 \pm 6,99$) apresentou diferença significativa em relação aos filmes de menor reticulação ($30,64 \pm 6,32$) e não reticulados ($26,42 \pm 7,55$), mostrando que estes possuem uma maior resistência à tração. Com base neste resultado, pode-se inferir que o processo de reticulação do alginato foi consolidado para a maior concentração de agente reticulante (0,5%). A adição de íons de cálcio a solução, provavelmente limitou a mobilidade das cadeias de alginato e aumentou sua resistência à tração (SILVA, 2017).

Da mesma forma, em relação às médias dos tratamentos com agentes antimicrobianos, os filmes adicionados de nanopartículas (ZnO_{nano}) apresentam a maior resistência à tração ($41,46 \pm 9,49$), em relação aos filmes adicionados de Benzoato de sódio (BS) e aos filmes que não receberam nenhum antimicrobiano ($28,23 \pm 5,31$ e $31,23 \pm 6,06$, respectivamente).

É comum observar nas análises de propriedades mecânica relação inversa entre TR e alongamento na ruptura (AR). Quando os valores aumentam para uma dessas variáveis, o valor da outra diminui, como observado em Rhim, 2004; Seixas *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2019; Zactiti, 2004. Os tratamentos que apresentaram as maiores médias de tensão da ruptura nos efeitos simples foram aqueles adicionados de ZnO_{nano} (AQ1N, AQ2N e AQ0N) e de maior reticulação (AQ1N, AQBS1 e AQ1), são também aqueles que possuem as menores médias de alongamento nos efeitos simples. Isso ocorre devido a mudança na estrutura do material, tornando-o mais rígido e por consequência menos flexível.

Embora não tenha sido verificada interação entre as variáveis independentes para o AR, pode-se observar diferença significativa entre as médias das diferentes reticulações e da adição de antimicrobianos, verificando tendência de maior valor de AR para o filme que não recebeu nenhum tratamento. É provável que a adição de ZnO_{nano} tenha enfraquecido as ligações de hidrogênio entre as moléculas de quitosana e alginato, e formado novas ligações de hidrogênio

entre os polímeros e as nanopartículas, limitando o movimento das moléculas de polissacarídeos, reduzindo o alongamento dos filmes (WANG *et al.*, 2019).

O módulo de Young ou módulo de elasticidade, trata-se da resistência do material à deformação elástica, em outras palavras, é a rigidez do material.

Apesar de não haver interação entre a reticulação e a adição do agente antimicrobiano para o MY, observa-se que a média dos filmes de maior reticulação diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, apresentando valor mais elevado ($24,33 \pm 2,51$) do que os demais tratamentos com e sem reticulação ($17,03 \pm 1,88$ e $14,95 \pm 3,77$, respectivamente). Quanto maior o valor do módulo de Young, mais rígido é o material. Os filmes mais rígidos, e por consequência, que apresentaram os maiores módulos de Young estão inseridos nos tratamentos com maior concentração de agente reticulante ou tem em sua composição a adição de ZnO_{nano}.

Os resultados verificados nestes filmes, estão de acordo com os encontrados em outros trabalhos reticulados e com adição de nanopartículas (REMUNAN-LOPEZ; BODMEIA, 1997; RHIM, 2004; SATRIAJI *et al.*, 2020; TAMIMI *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2019; WAN; KHOR; LIM, 2001)

5.4 Umidade e Solubilidade

Quantificar a umidade de determinado um material é de extrema importância para a classificação de seu uso. Anteriormente a análise de propriedades mecânicas os corpos de prova foram acondicionados em ambiente contendo solução supersaturada de nitrato de magnésio, com UR de $\cong 50\%$ a 30°C, por no mínimo 48h.

Os resultados de umidade encontrados nas amostras avaliadas indicam diferenças significativas nos tratamentos ocorrendo isoladamente, ou seja, não houve interação entre o as concentrações de agente reticulante e adição dos antimicrobianos, porém pode ser observado que a média dos filmes de menor reticulação (AQ2N, AQ2 e AQ2BS) possuíam teor de umidade maior quando comparado a média dos filmes de maior reticulação (AQ1N, AQ1 e AQBS1), como mostra a tabela 7.

Tabela 7 Resultados de umidade e solubilidade dos filmes reticulados e não reticulados, adicionados ou não de agentes antimicrobianos.

	Umidade	Solubilidade
AQ1N	^a 18,0 ± 0,866 ^{A;a}	^a 69,9 ± 9,1 ^{A;a}
AQ2N	^a 20,0 ± 1,30 ^{A;a}	^a 76,6 ± 10,9 ^{A;a}
AQ0N	^a 18,5 ± 0,341 ^{A;a}	^a 80,9 ± 11,4 ^{A;a}
AQ1BS	^a 17,7 ± 0,316 ^{A;a}	^a 54,9 ± 3,55 ^{A;a}
AQ2BS	^a 18,9 ± 0,765 ^{A;a}	^a 60,6 ± 13,6 ^{A;a}
AQ0BS	^b 16,7 ± 1,04 ^{A;a}	^a 75,6 ± 12,9 ^{A;a}
AQ1	^b 15,7 ± 0,576 ^{A;a}	^a 70,1 ± 4,53 ^{A;a}
AQ2	^b 17,4 ± 1,66 ^{A;a}	^a 61,8 ± 7,99 ^{A;a}
AQ0	^b 16,1 ± 1,55 ^{A;a}	^a 71,8 ± 14,4 ^{A;a}
Efeitos simples		
Antimicrobiano		
ZnO _{nano}	18,8 ± 0,835 ^a	75,8 ± 10,46 ^a
BS	17,7 ± 0,707 ^a	63,68 ± 10,01 ^a
Ausência	16,4 ± 1,262 ^b	67,90 ± 8,97 ^a
Reticulação		
0,5%	17,11 ± 0,586 ^b	64,9 ± 5,72 ^a
0,375%	18,7 ± 1,241 ^a	66,3 ± 10,8 ^a
0%	17,09 ± 0,977 ^b	76,1 ± 12,9 ^a

Os valores são representados por médias ± desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre amostras adicionadas com diferentes concentrações de agente reticulante, em relação ao mesmo agente antimicrobiano adicionado. Diferentes letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças entre amostras com diferentes antimicrobianos no mesmo nível de concentração de agente reticulante. Diferentes letras minúsculas a esquerda na mesma coluna indicam diferença de médias para o teste Scott-Knott. Diferentes letras minúsculas na mesma coluna mostram diferenças significativa de média nos efeitos simples. Todas as análises estatísticas foram realizadas a 5% de significância.

Os filmes incorporados pelos diferentes agentes antimicrobianos também apresentaram médias de umidade significativas quando comparados aos filmes que não receberam esse tipo de tratamento. Os valores mais elevados de umidade dos filmes, provavelmente está relacionado as condições de armazenamento dos mesmos. Nota-se que a adição de agentes antimicrobianos provavelmente aumentou a higroscopicidade dos filmes, e que a concentração de agente reticulante, não teve influência sobre esta variável. Foi observado em Da Silva; Bierhalz; Kieckbusch (2012) que, filmes de alginato parcialmente reticulados com íons de Ca²⁺, que foram secos em condição de temperaturas mais elevadas (30 – 60 °C) e ar forçado, tendem a absorver maior umidade quando submetidos a condição de equilíbrio, em relação a filmes que foram secos em condições ambientais. Porém, esses mesmos filmes, independentemente do modo de secagem, atingem o equilíbrio de umidade quando armazenados nas mesmas condições, mostrando que os filmes de alginato são altamente susceptíveis a mudanças de umidade relativa (DA SILVA; BIERHALZ; KIECKBUSCH, 2012).

A proporção de alginato utilizada para o desenvolvimento dos filmes neste trabalho, foi muito maior em relação a quantidade de quitosana, portanto é ponderável que os filmes tenham características mais semelhantes aquelas encontradas em filmes de alginato puro.

Uma tendência de acúmulo de umidade semelhante ao deste trabalho foi observada em Silva (2017), onde filmes de alginato reticulados em primeiro estágio tiveram seu teor de umidade aumentado quando adicionados de nanopartículas de óxido de zinco, em relação ao filme controle (sem nanopartícula), variando entre 25,08% para o controle e 28,96 – 31,78%, para os filmes com ZnO_{nano}, dependendo da quantidade adicionada.

Os dados de solubilidade não indicaram diferenças significativas relativas à interação entre os tratamentos, assim como para o efeito das variáveis independentes avaliadas separadamente. Na literatura, é comum o relato de filmes de alginato puro que sofreram processo de reticulação primária, mostrarem-se completamente solúveis em água (SANTANA; KIECKBUSCH, 2013; SILVA, 2017; ZACTITI, 2004). A menor solubilidade desses filmes é observada somente quando é realizada a reticulação secundária dos filmes, geralmente a partir da imersão dos filmes em solução com agente reticulante.

Todos os filmes desenvolvidos neste trabalho, demonstraram alta solubilidade em água após o período de 24 horas, porém estes não foram totalmente solubilizados, pois foi possível observar alguns particulados remanescentes. Por esse motivo, os cadinhos com os filmes foram colocados para secar e pesados ao final da análise, é então realizada a avaliação da solubilidade.

Esses resultados diferem em parte dos encontrados em (WANG, *et al.*, 2019), que também produziram filmes a base de quitosana, alginato e ZnO_{nano}. Os autores encontraram valores de solubilidade semelhantes ao deste estudo para filmes compostos somente com os polímeros, porém ao serem adicionadas as nanopartículas, a solubilidade dos filmes diminuiu substancialmente passando de 65.86% para 39.84%. Os autores atribuíram a alta solubilidade dos filmes puros a hidrofiliabilidade característica do alginato e, a diminuição da mesma a restrição do movimento das cadeias do alginato, devido às interações entre as cadeias desse polímero e as nanopartículas.

Satriaji et al. (2020) produziram bionanocompósitos a partir de alginato reticulado com sulfato de cálcio (CaSO₄) em primeiro estágio, adicionado de ZnO_{nano}. Filmes de alginato puro reticulado apresentaram valores de umidade e solubilidade semelhantes às dos filmes deste trabalho, variando entre 18,30 – 16.96% para umidade e 78,14 – 53,83% para solubilidade, de

acordo com o aumento da concentração de agente reticulante na solução. Os autores atribuíram este resultado ao processo de reticulação onde o grupo carboxílico presente nas cadeias do alginato se ligam aos íons Ca^{2+} presentes no agente reticulante, formando uma estrutura de “caixa de ovo”, tornando essas cadeias menos disponíveis para ligação com moléculas de água, diminuindo sua hidrofiliçidade.

5.5 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As amostras dos filmes obtidos a partir das soluções filmogênicas desenvolvidas, foram submetidos à análise de FTIR, com o objetivo de identificar os grupos químicos funcionais relativos ao alginato de sódio, a quitosana, as ZnO_{nano} e benzoato de sódio, além de verificar as possíveis alterações nas bandas de absorção das amostras após o processo de reticulação, e seus espectros são apresentados nas figuras 15. Infelizmente, os dados da amostra AQOBS, foram perdidos e não será possível realizar a comparação desta amostra com os demais dados. Os resultados obtidos a partir das observações das curvas de absorvância de cada filme foram relacionados aos resultados obtidos na literatura consultada (Quadro 1).

A partir dos resultados obtidos foi possível observar em todas as amostras uma região de absorção extensa entre os comprimentos de onda 3679 e 2975 cm^{-1} . Na literatura esta banda mais larga correspondente ao comprimento de onda entre 3700 e 3000 , pode ser entendida como uma região de estiramento O-H, correspondente ao polímero alginato (LAWRIE *et al.*, 2007). Outras bandas com picos acentuados referentes ao polímero alginato, foram mostradas em todas as amostras como: os comprimentos de onda 1596 e 1408 cm^{-1} característicos do alongamento anti-simétrico e simétrico do ânion carboxilato (COO^-), respectivamente. O comprimento de onda de 1298 cm^{-1} demonstra uma vibração esquelética e, a banda 1086 cm^{-1} um alongamento C-O. Já a banda de comprimento 1027 cm^{-1} de comprimento referem-se ao alongamento C-O-C (KULIG *et al.*, 2016; LAWRIE *et al.*, 2007; SHARMA, *et al.*, 2012).

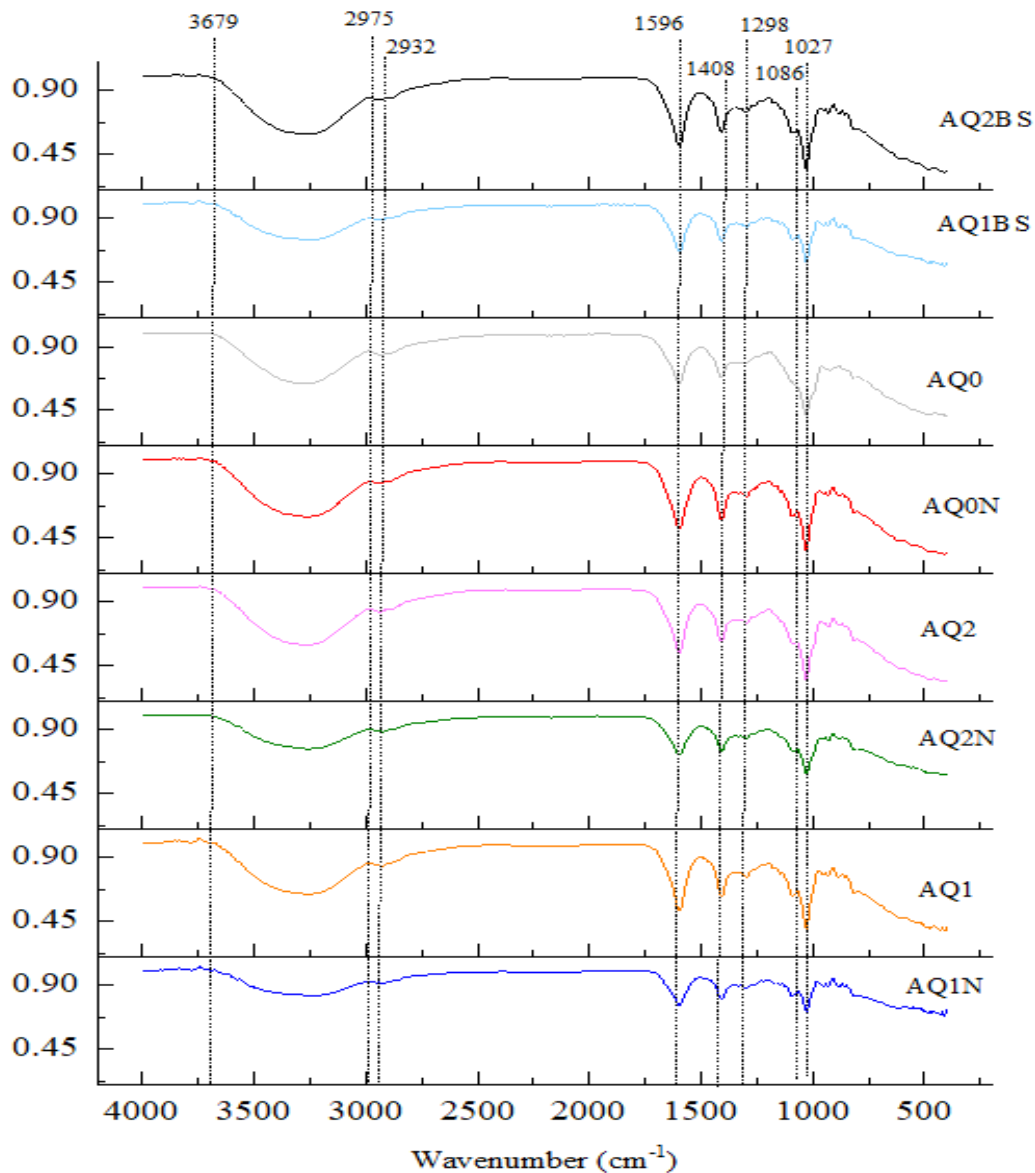


Figura 15 Espectro FTIR dos filmes compósitos AQ1N, AQ1, AQ2N, AQ2, AQ0N, AQ0, AQ1BS, AQ2BS.

Segundo Sharma et al.(2012), comprimentos de onda de 1566 a 1647 estão relacionadas a bandas sobrepostas de amida de quitosana e ânions carboxila de alginato, demonstrando a interação entre esses polímeros. Vibrações de alongamento CH₂ simétricas ou assimétricas do anel de piranose presente na quitosana, ocorrem em bandas com

comprimento de 2933 cm^{-1} valor esse muito próximo àquele identificado nas análises desse trabalho, que foi de 2932 cm^{-1} .

Nos filmes onde foi realizado o processo de reticulação do alginato juntamente com a adição dos antimicrobianos (AQ1N, AQ2N, AQ1BS e AQ2BS), a intensidade dos picos diminuiu em relação ao filme controle (AQ0). Resultado semelhante foi observado em Silva (2017), mostrando que ao aumentar o grau de reticulação em filmes de alginato, a intensidade dos picos foi atenuada, devido a limitação da mobilidade molecular. Além disso, pode ser observado que nos filmes em que foi utilizada maior concentração de agente reticulante, bandas menores foram deslocadas, como por exemplo a de comprimento 2952 cm^{-1} .

A vibração referente às nanopartículas de ZnO, 447 e 455 cm^{-1} (Silva, 2017), não foi observada, muito provavelmente pela pequena quantidade utilizada desse material ($0,5\text{ mg/mL}$). Já as bandas características do benzoato de sódio (1597 cm^{-1} ; 1551 cm^{-1} , 1414 cm^{-1} e 1068 cm^{-1}), podem ter sido sobrepostas pelas bandas características do alginato e por esse motivo também não foram observadas de fato (PIRES *et al.*, 2009).

Quadro 1 Bandas relativas aos polímeros alginato, quitosana e a blenda de ambos.

Biopolímero	Bandas (cm ⁻¹)	Atribuição	Referência
Alginato de sódio	3418,71 e 3431,86	Sobreposição de vibrações de estiramento O–H ou N–H	Gomaa et al. (2018)
	3263, 3293, 3366 ou 3700 - 3000 (Larga)	Estiramento O–H	Lawrie et al. (2007) Sharma et al. (2012) Kulig et al. (2016)
	3000 – 2850; 2926, 2896 - 2907	Alongamento C-H	Lawrie et al. (2007)
	1602,1607, 1625, 1596; 1424, 1415, 1412 e 1410, 1413,48-1416,52	Estiramento anti-simétrico e simétrico do ânion carboxilato (COO ⁻)	Lawrie et al. (2007) Kulig et al. (2016) Sharma et al. (2012) Gomaa et al. (2018)
	1319, 1298	Alongamento C–O	Kulig et al. (2016)
	1297	Vibração esquelética	Lawrie et al. (2007)
	1124	Alongamento C–C	Kulig et al. (2016)
	1099 e 1029	Estiramento anti-simétrico das ligações glicosídicas	Chabala, Cuartas/ Lopez (2017)
	1086	Alongamento C-O	Kulig et al. (2016)
	1081- 1027, 1031	Alongamento C-O-C	Lawrie et al. (2007) Kulig et al. (2016)
948	Estiramento C–O	Kulig et al. (2016)	
818, 821	Ligação Na-O	Chabala, Cuartas/ Lopez (2017)	
Quitosana	3400- 3200	Amina primária	Chabala, Cuartas/ Lopez (2017)
	3232; 3290	Alongamento das ligações O-H e N-H	Lawrie et al. (2007) Kulig et al. (2016)
	2864	Estiramento C-H	Lawrie et al. (2007)
	1639, 1644, 1649, 1650, 1645 e 1652	Amida I	Lawrie et al. (2007) Wang, Khor, Lim (2001) Sharma et al. (2012)
	1564	Grupo amino (NH ₃ ⁺)	Chabala, Cuartas/ Lopez (2017)
	1556, 1558–1598; 1584 1562,17, 1567,75	Dobra de amina e N–H (amida II)	Lawrie et al. (2007) Kulig et al. (2016) Wang, Khor, Lim (2001) Sharma et al. (2012) Gomaa et al. (2018)
	1324	Amida III	Sharma et al. (2012)
	2973, 2933, 2881, 1414, 1413, 1310, 1230	Vibrações de alongamento CH ₂ simétricas ou assimétricas do anel de piranose	Lawrie et al. (2007) Kulig et al. (2016)
	1375	Deformação simétrica CH ₃	Lawrie et al. (2007)
	1121; 1150, 1151 (banda fraca)	Estiramento anti-simétrico da ponte C-O-C e estiramento C-N	Lawrie et al. (2007) Kulig et al. (2016)
1099 e 1029	Estiramento anti-simétrico das ligações glicosídicas	Chabala, Cuartas e Lopez (2017)	
1071, 1031, 1035 e 1026	Vibração esquelética do alongamento C-O	Lawrie et al. (2007) Chabala, Cuartas e Lopez (2017)	
Blenda Alginato e Quitosana	3250 (estreita e intensa)	Ligações de hidrogênio entre os grupos –OH e –NH ₂ da quitosana e os grupos –C=O e –OH do alginato de sódio	Kulig et al. (2016)

1730	Estiramento assimétrico dos grupos –COO	Kulig et al. (2016)
1566 a 1647	Bandas sobrepostas de amida de quitosana e ânions carboxila de alginato	Sharma et al. (2012)
1620	Associados aos grupos carboxilicos do alginato associado com a quitosana	Wang, Khor, Lim (2001)
1580	Se apresenta quando a razão entre polimeros é maior igual a 0,6 ($R \geq 0.6$)	Kulig et al. (2016)
1576 (pequeno ombro) e ausência do pico 1560.	Interação entre o grupo carbonil do alginato carregado negativamente e o grupo amino da quitosana carregado positivamente	Chabala, Cuartas e Lopez (2017)
1530	Grupos amino da quitosana associados ao alginato	Wang, Khor, Lim (2001)
1398	Confirma interação eletrostática quando a razão de polímeros está mais próxima do equilíbrio estequiométrico ($R \geq 1.0$)	Kulig et al. (2016)

5.6 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica dos filmes nanocompósitos desenvolvidos foi realizada com o objetivo de avaliar suas estabilidades térmicas. Os termogramas são apresentados nas figuras 16 e 17.

As curvas de decomposição dos filmes, de maneira geral, mostram que as amostras sofreram processo de degradação em três etapas (tabela 8). Esse comportamento é comum em misturas polieletrólicas como as do alginato e da quitosana (KULIG *et al.*, 2016).

Tabela 8 Intervalos de degradação térmica dos filmes, benzoato de sódio e ZnO_{nano}

Amostras	1° interval (°C)	2° interval (°C)	3° interval (°C)	Massa final (%)
AQ1N	65-260	260-640	650-730	12
AQ1	62-250	250-635	635-700	12
AQ2N	60-250	250-690	690- 780	12
AQ2	70-230	230-620	620-740	12
AQ0N	70-230	230-660	660-760	12
AQ0	65-245	245-680	680-770	10
AQ1BS	75-240	240-640	640-705	10
AQ2BS	80-240	240-640	640-705	10
AQ0BS	75-250	250-640	640-705	10
Benzoato	525-625	N*	N	52
ZnO _{nano}	70	N	N	95

* Nenhum intervalo

Ao longo da primeira etapa, com intervalo de temperatura entre 62 - 260°C. Dois picos de degradação expressivos ocorreram, o primeiro deles em torno de 100 °C e o segundo próximo a temperatura de 150°C. Estes pontos normalmente correspondem a perda de água livre e outros componentes voláteis presentes nos filmes (KULIG *et al.*, 2016). A decomposição do glicerol, também ocorre dentro deste intervalo, em temperaturas em torno de 213°C (SALES; SCHLEMMER; RESCK, 2010). Os picos mais extremos nessas temperaturas foram observados nos filmes contendo nanopartículas (AQ1N, AQ2N e AQ0N). Tal fato pode ser explicado pois antes de serem submetidos a análise termogravimétrica, as amostras foram mantidas em ambiente controlado com solução supersaturada de nitrato de magnésio que, a temperatura de 30°C, mantém o ambiente de armazenamento a umidade relativa (UR) de \cong 50%. De acordo com os dados da análise de umidade a média de porcentagem de umidade dos filmes, girou em torno de 15 - 20%, sendo os maiores valores de umidade encontrados nos filmes contendo nanopartículas.

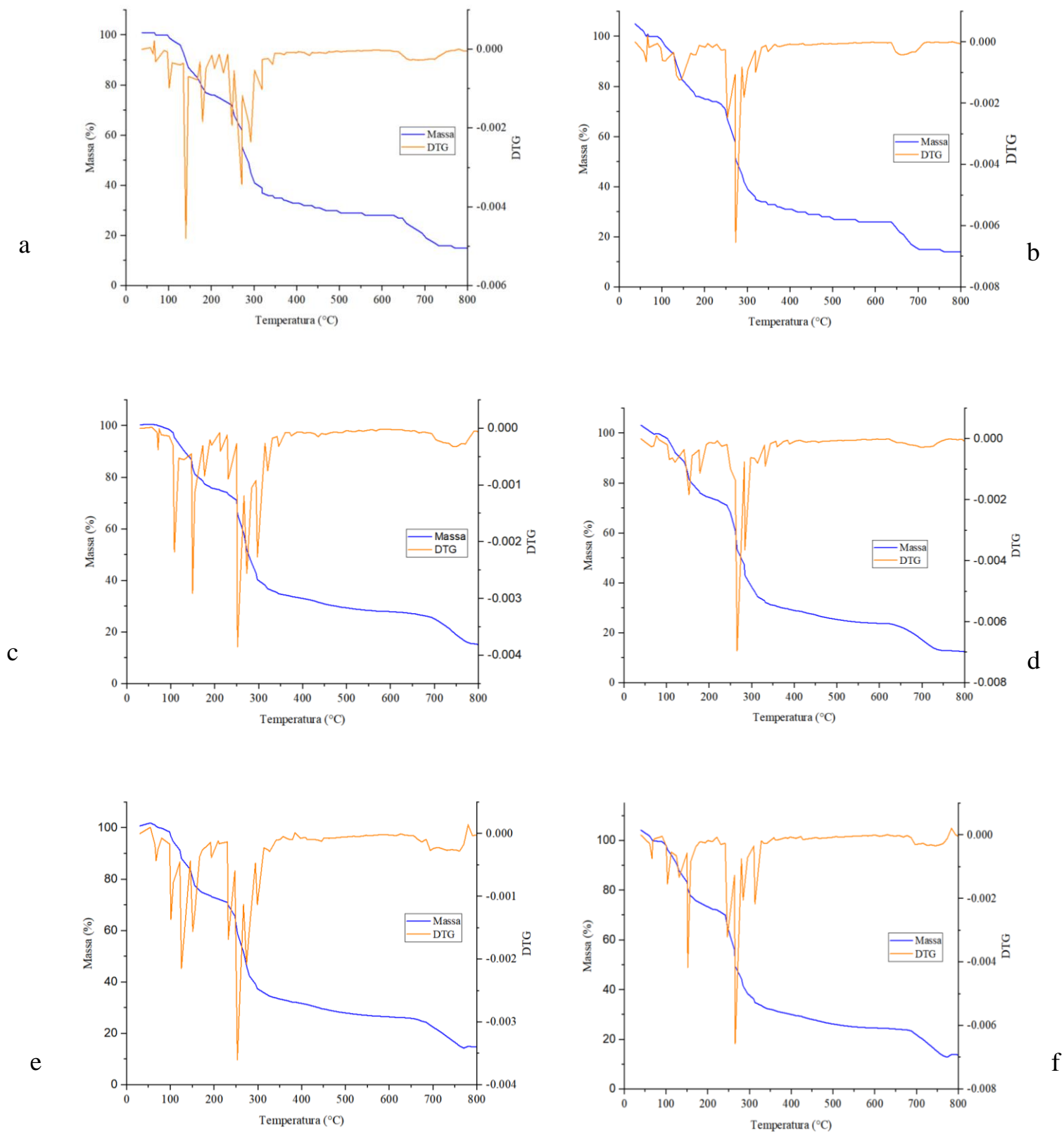


Figura 16 Análise termogravimétrica (TGA) e curvas termogravimétricas derivadas (DTG) dos nanocompósitos: (a) AQ1N, (b) AQ1, (c) AQ2N, (d) AQ2, (e) AQ0N, (f) AQ0 (controle).

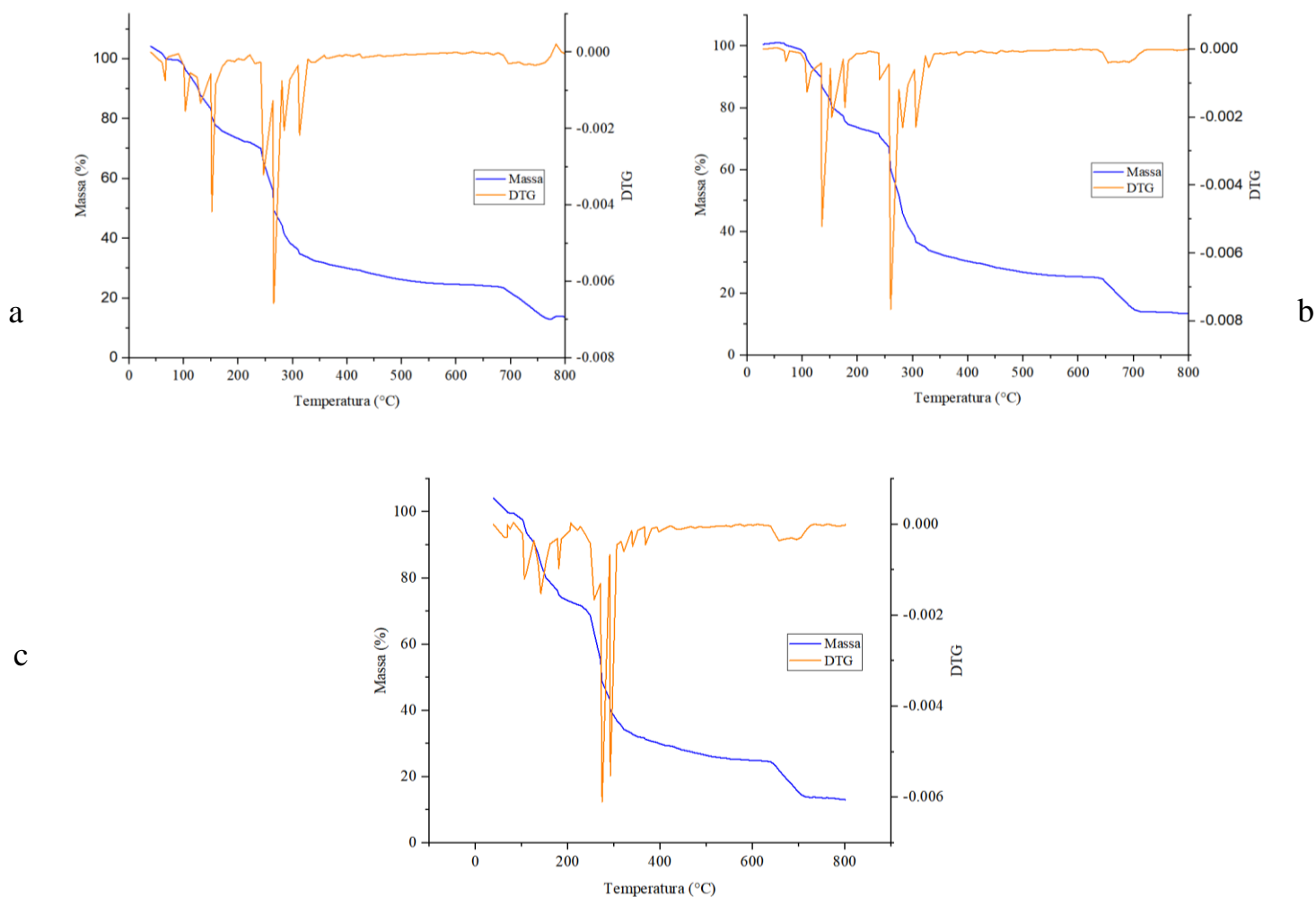


Figura 17 Análise termogravimétrica (TGA) e curvas termogravimétricas derivadas (DTG) dos compósitos: (a) AQ1BS, (b) AQ2BS, (c) AQ0BS.

A segunda etapa de degradação das amostras ocorreu na faixa de temperatura entre 230 - 690 °C. Nesse ponto ocorre uma perda proeminente de massa, cerca de 45%, devido a degradação dos polímeros, alginato e quitosana. Picos extremos também foram apresentados nesta etapa, principalmente em temperaturas médias de 240 °C, 270 °C e 300 °C. Sendo a temperatura de 240°C referente a decomposição do alginato (DIAS.; LEÃO; COSTA, 2020). Normalmente, na literatura encontram-se relatos do alginato puro sendo degradado a temperaturas de aproximadamente 200°C, porém por se tratar de mistura de polímeros, a interação entre eles pode ter afetado sua temperatura de degradação, atrasando esse processo. As demais temperaturas de degradação (270-300°C) explicadas pelo processo de desacetilação e despolimerização parcial da cadeia de quitosana (KULIG *et al.* 2016).

A terceira etapa do processo, ocorre entre as temperaturas de 620 a 780 graus, pode estar correlacionada a queima do resíduo carbonizado do alginato e quitosana (DALPONTE *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2003).

5.7 Ângulo de contato

A análise de ângulo de contato possibilita o entendimento sobre a dinâmica de molhabilidade do material estudado. Valores de θ abaixo de 90° , indicam que o material analisado possui características de material hidrofílico, enquanto valores de θ acima de 90° , caracterizam o material como hidrofóbico (ALBOOFETILEH *et al.*, 2014).

Os resultados apresentados na Tabela 9 indicam que houve interação entre os tratamentos para a variável ângulo de contato (θ). Todos os filmes avaliados apresentaram característica de material hidrofílico, com ângulo de contato menor que 90° (Figura 18). Observando os resultados é possível verificar detalhes importantes sobre os materiais estudados. O primeiro ponto a ser detalhado é que os filmes sem adição dos antimicrobianos (AQ1 e AQ2) apresentaram os maiores valores de ângulo de contato dos filmes testados. Dos filmes não reticulados, aquele que apresentou maior ângulo de contato foi o filme AQ0 ($72,8 \pm 3,42$), filme sem adição de agentes antimicrobianos.

Tabela 9 Medidas de ângulo de contato dos filmes desenvolvidos.

	Ângulo de contato
AQ1N	^c 63,2 ± 5,10 ^{A;b}
AQ2N	^d 58,4 ± 4,66 ^{B;c}
AQ0N	^d 56,2 ± 5,06 ^{B;b}
AQ1BS	^a 73,9 ± 3,40 ^{A;a}
AQ2BS	^b 70,0 ± 6,38 ^{A;b}
AQ0BS	^d 58,9 ± 4,12 ^{B;b}
AQ1	^a 76,5 ± 4,26 ^{A;a}
AQ2	^a 75,2 ± 4,10 ^{A;a}
AQ0	^b 72,8 ± 3,42 ^{A;a}
Efeitos simples	
Antimicrobiano	
ZnO _{nano}	59,29 ± 4,94 ^c
BS	67,60 ± 4,63 ^b
Ausência	74,85 ± 3,92 ^a
Reticulação	
0,5%	71,20 ± 4,25 ^a
0,375%	67,87 ± 5,04 ^b
0%	62,67 ± 4,2 ^c

Os valores são representados por médias ± desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre amostras adicionadas com diferentes concentrações de agente reticulante, em relação ao mesmo agente antimicrobiano adicionado. Diferentes letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças entre amostras com diferentes antimicrobianos no mesmo nível de concentração de agente reticulante. Diferentes letras minúsculas a esquerda na mesma coluna indicam diferença de médias para o teste Scott-Knott. Diferentes letras minúsculas na mesma coluna mostram diferenças significativa de média nos efeitos simples. Todas as análises estatísticas foram realizadas a 5% de significância.

Outro ponto a ser destacado seria o fato de que a adição de ambos agentes antimicrobianos à matriz dos filmes provoca diminuição do valor de ângulo de contato dos mesmos, deixando-os mais hidrofílicos (AQ1N, AQ2N, AQ0N, AQ1BS, AQ2BS e AQ0BS). Resultado semelhante foi verificado em Alboofetileh et al. (2014) que adicionaram nanoargila de montmorilonita em filmes de alginato reticulado e observaram a diminuição do ângulo de contato dos filmes não reticulados.

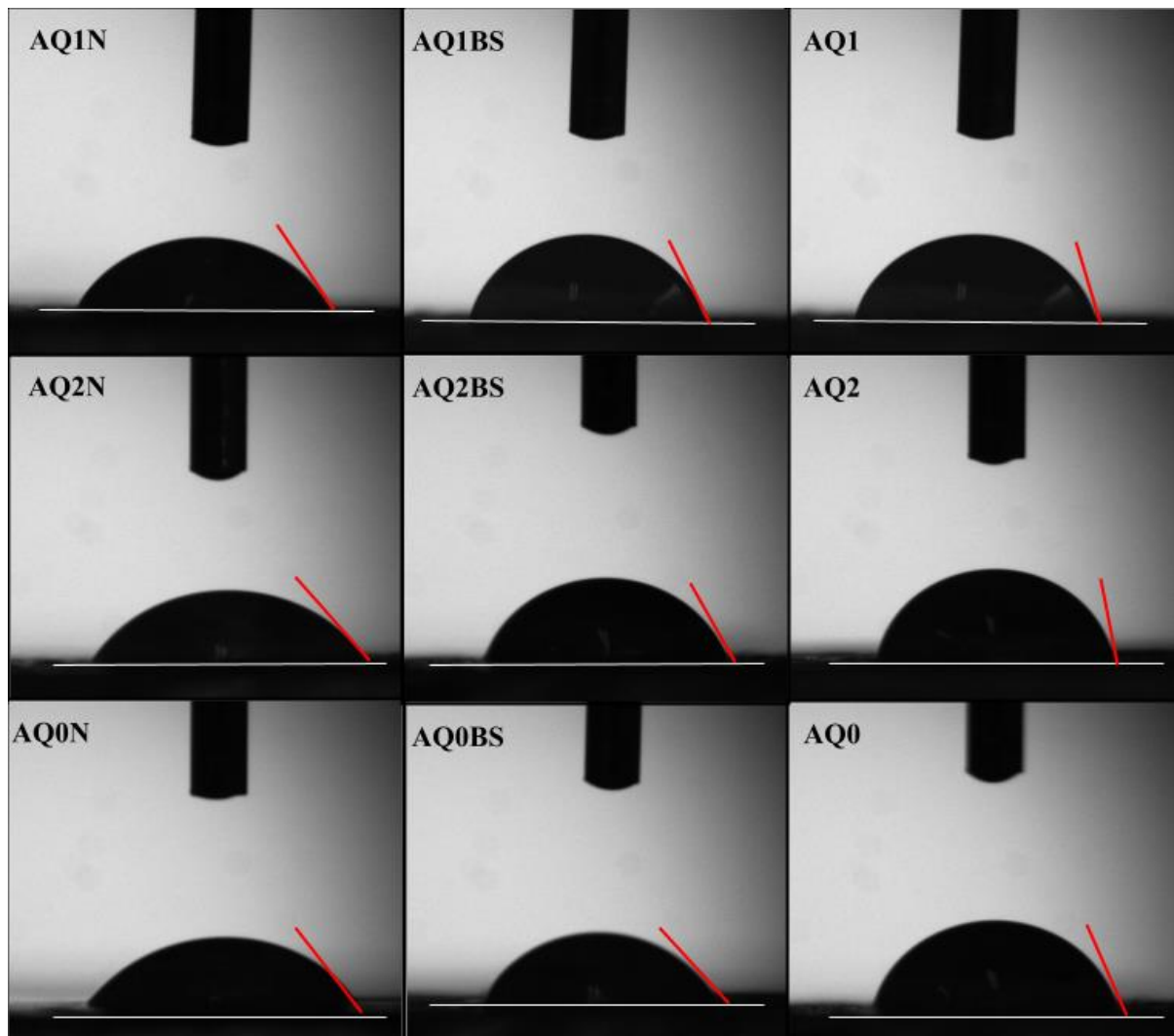


Figura 18 Formação do ângulo de contato a partir de uma gota depositada na superfície dos filmes.

Resultados distintos foram observados em Kanmani e Rhim (2014) que ao adicionarem ZnO_{nano} em filmes de ágar, carboximetilcelulose e carragena, os ângulos de contato formados sobre os filmes aumentaram expressivamente passando de 66,5; 31,6 e 61,59 para 68,8; 55,2 e 84,5 respectivamente. Uma tendência de aumento de ângulo de contato também foi observada em Souza *et al.* (2021), quando filmes de quitosana foram adicionados de nanopartículas de ZnO_{nano} , porém as médias dos ângulos não apresentaram diferença estatística. Roy e Rhim (2020) puderam perceber uma menor hidrofobicidade em filmes desenvolvidos a partir de carboximetilcelulose, quando adicionados de ZnO_{nano} , que aumentou seu ângulo de contato de 43,2 para 54,7.

5.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A mistura de polímeros com cargas opostas, forma um complexo de polieletrólito, como é o caso do alginato polímero aniônico e quitosana polímero catiônico. A formação desses complexos depende de uma série de fatores, que incluem a densidade de carga dos polímeros, proporção de mistura, quantidade de cada polímero, entre outros (AHMADI *et al.*, 2015).

De acordo com Yan, Khor e Lim (2001) a aparente estrutura dos filmes pode ser afetada pelo peso molecular da quitosana em relação ao peso molecular do alginato. Quitosana de alto peso molecular possui cadeias mais longas que podem dificultar a interação com as cadeias de alginato mais curtas, porque para que ocorra a interação entre esses biopolímeros, os grupos amino presentes nas cadeias de quitosana devem estar próximos aos grupos carboxila existentes nas cadeias de alginato.

O peso molecular de um polímero está intrinsecamente ligado à sua viscosidade (Silva *et al.*, 2009). A quitosana utilizada neste trabalho tem como característica uma alta viscosidade (200.000 cps), de acordo com informações fornecidas pelo fabricante, já o alginato utilizado é considerado de média viscosidade (2.000 cps). Tal fato, pode ser um dos fatores principais que afetam a aparência dos filmes, quando analisadas suas micrografias.

A morfologia dos filmes foi analisada a partir de suas imagens da superfície e da seção transversal. Todos os filmes apresentaram superfície rugosa, com ondulações e presença de estrias (figuras 19 e 20). A aparência encontrada nos filmes é comumente relatada em trabalhos que utilizam a mistura destes polímeros para a produção de filmes compósitos (KULIG *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2019; YAN; KHOR; LIM, 2001). Esta morfologia dos filmes pode ser explicada pela origem da quitosana utilizada na blenda, e também pela proporção utilizada entre os polímeros. Yan, Khor, Lim (2001) relataram aparência semelhante em seus filmes produzidos com quitosana de médio e alto peso molecular, enquanto que para filmes com quitosana de baixo peso molecular, a aparência de sua superfície era mais lisa e com estrias mais finas e bem distribuídas. No corte transversal dos filmes foi possível visualizar a formação homogênea dos filmes, demonstrando uma boa interação entre os polímeros utilizados.

Por outro lado, Sharma e colaboradores (2012) observaram que ao aumentar a proporção de alginato em relação a quitosana, da mesma maneira eram obtidos filmes estriados e de superfície irregular, em relação aos filmes em que a proporção entre os polímeros eram iguais e se observava a formação de filmes mais lisos.

Wang et al. (2019) produziram filmes a base de alginato, quitosana e ZnO_{nano}, e identificaram que filmes compostos somente pela mistura de alginato e quitosana, apresentavam superfície rugosa com pequenas rugas, porém quando esses filmes eram adicionados de nanopartículas de ZnO, sua superfície se tornava ainda mais rugosa, o que foi atribuído a boa dispersão das nanopartículas no filme.

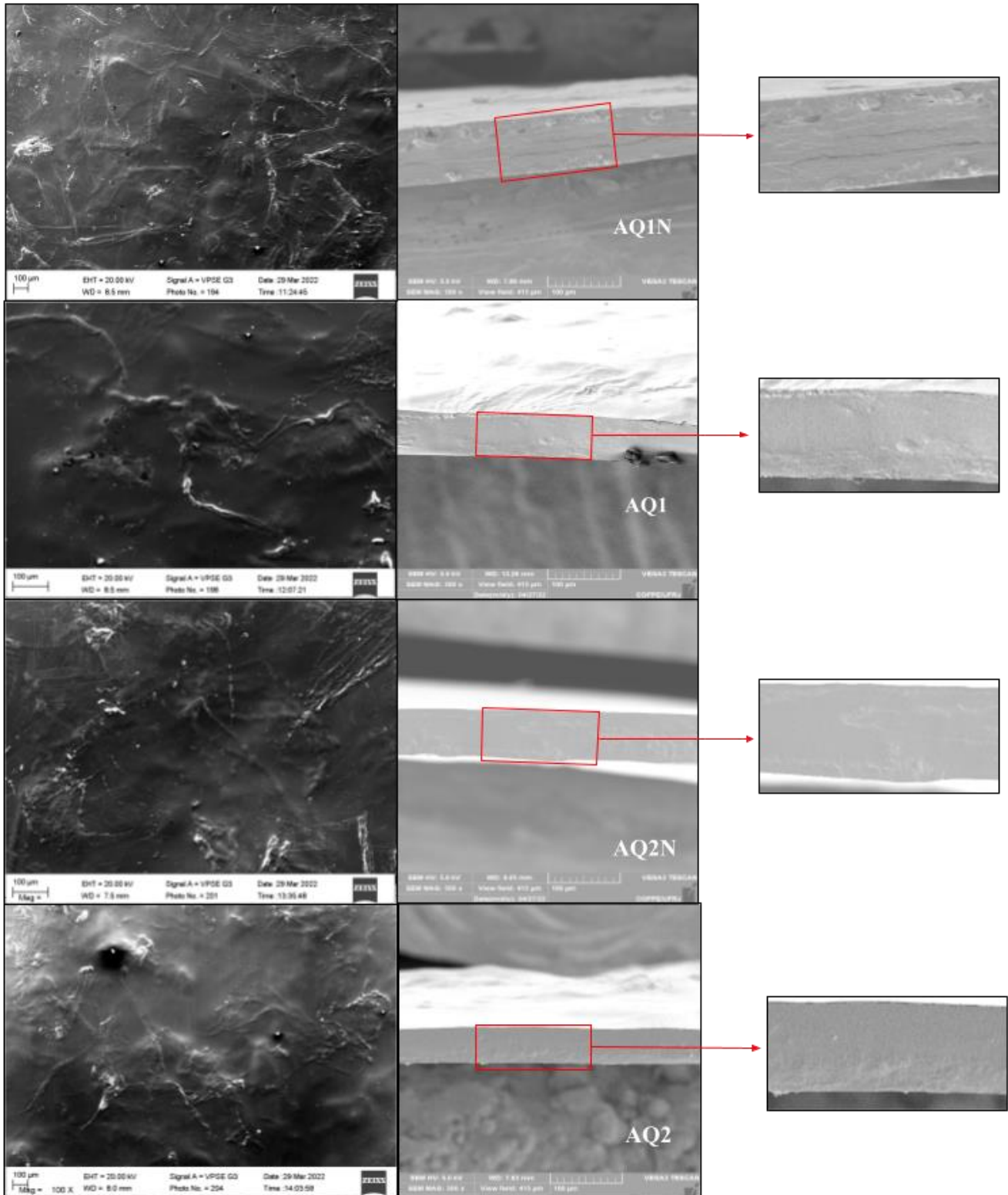


Figura 19 Micrografias de superfície dos filmes AQ1N, AQ1, AQ2N e AQ2 (à esquerda) e do corte transversal (à direita).

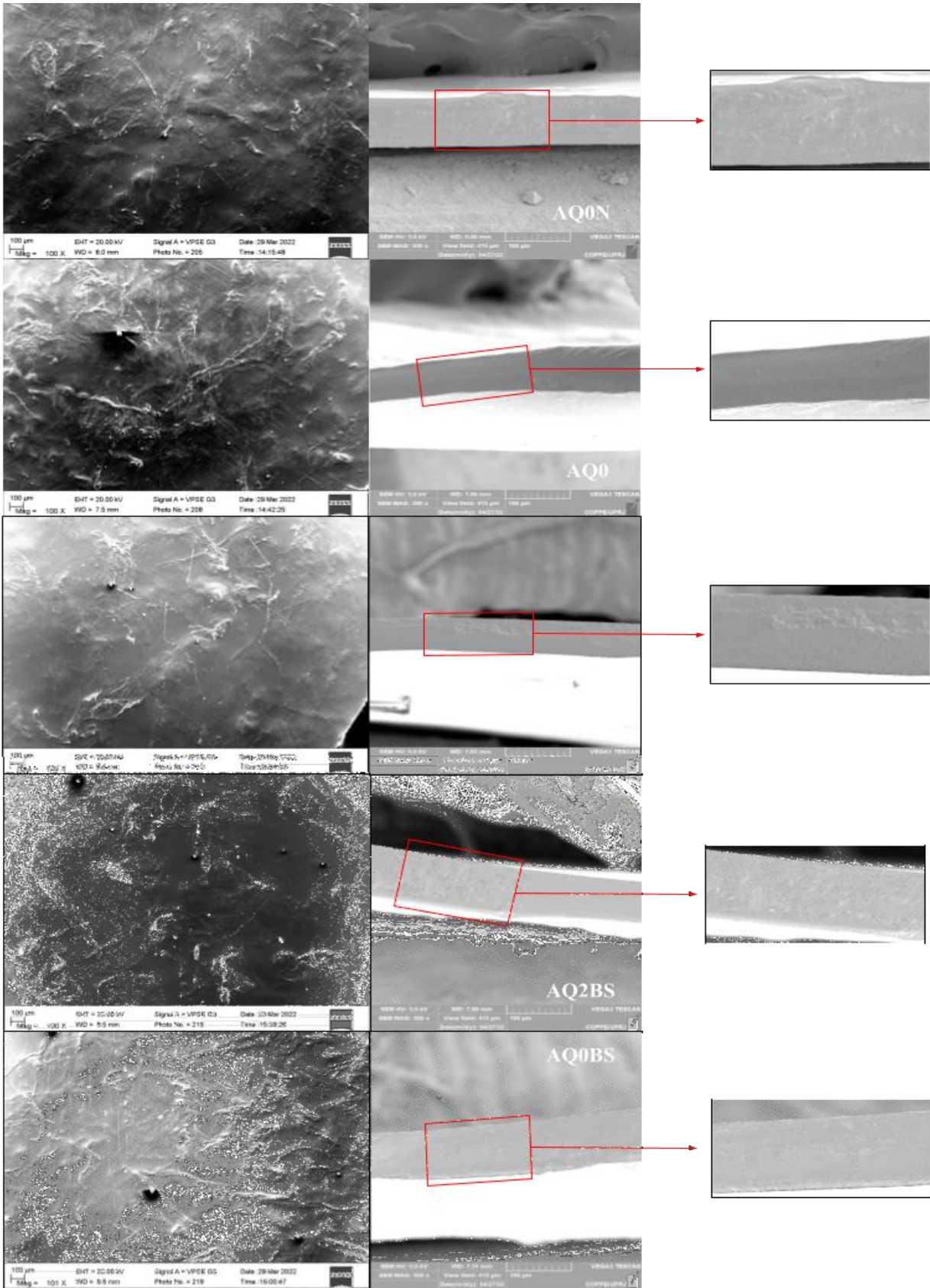


Figura 20 Micrografias de superfície dos filmes AQ0N, AQ0, AQ1BS, AQ2BS e AQ0BS (à esquerda) e do corte transversal (à direita).

Micrografias com características similares foram observadas em Kulig et al. (2016) que desenvolveram filmes de alginato e quitosana em diferentes proporções e avaliaram suas características com o objetivo de formar um material com novas propriedades por complexação de polieletrólitos. Os autores observaram que a morfologia dos filmes formados a partir das misturas de polímeros era menos homogênea do que a morfologia dos filmes formados pelos polímeros puros. Os filmes apresentavam estruturas fibrosas e irregulares com aspecto áspero na parte superficial e de seção transversal. Foi observado também a presença de poros e de aglomerados de partículas agregadas de alginato de sódio e quitosana com formato esférico. O aumento da proporção de polímeros aumentou a formação desses aglomerados, confirmados pelo aumento da irregularidade da estrutura.

Os filmes analisados neste trabalho não mostraram diferenças morfológicas quando adicionados os agentes antimicrobianos (ZnO_{nano} e benzoato de sódio), todos os filmes apresentaram aparência semelhante, não sendo possível a observação de detalhes que evidenciarão diferenças ocasionadas pela adição destes. Os cortes transversais mostraram uma formação de estruturas lisas e compactas, sem separação de fases. Não foram observadas formações de aglomerados de nanopartículas de óxido de zinco na superfície dos filmes, como em Sharma et al. (2012), que observaram a distribuição uniforme de pequenas partículas de prata, incorporadas em filmes compósitos de alginato de sódio e quitosana. A não observação destas nanopartículas pode ser atribuída a uma boa dispersão do óxido de zinco nos filmes, que evitou a formação de aglomerados de tamanho grande o suficiente para serem mostrados na micrografia. A natureza altamente solúvel do benzoato de sódio possibilitou sua total solubilização na matriz polimérica.

Algumas pontuações reflexivas podem ser observadas na superfície de alguns filmes, tal fato pode ser atribuído a manipulação e acondicionamento das amostras, onde partículas de poeira podem ter sido depositadas sobre os filmes.

5.9 Análise da atividade antifúngica dos filmes *in vitro*

Não houve formação de halo de inibição ao redor dos filmes para os dois fungos avaliados. Porém, é possível observar claramente que os tratamentos que continham nanopartículas de ZnO em sua composição (AQ1N, AQ2N e AQ0N), se mantiveram intactos e translúcidos não se

observando qualquer tipo de crescimento sobre ou sob os mesmos. Desta maneira pode-se inferir que o efeito dos filmes nanocompósitos, deu-se por contato e não por difusão no meio.

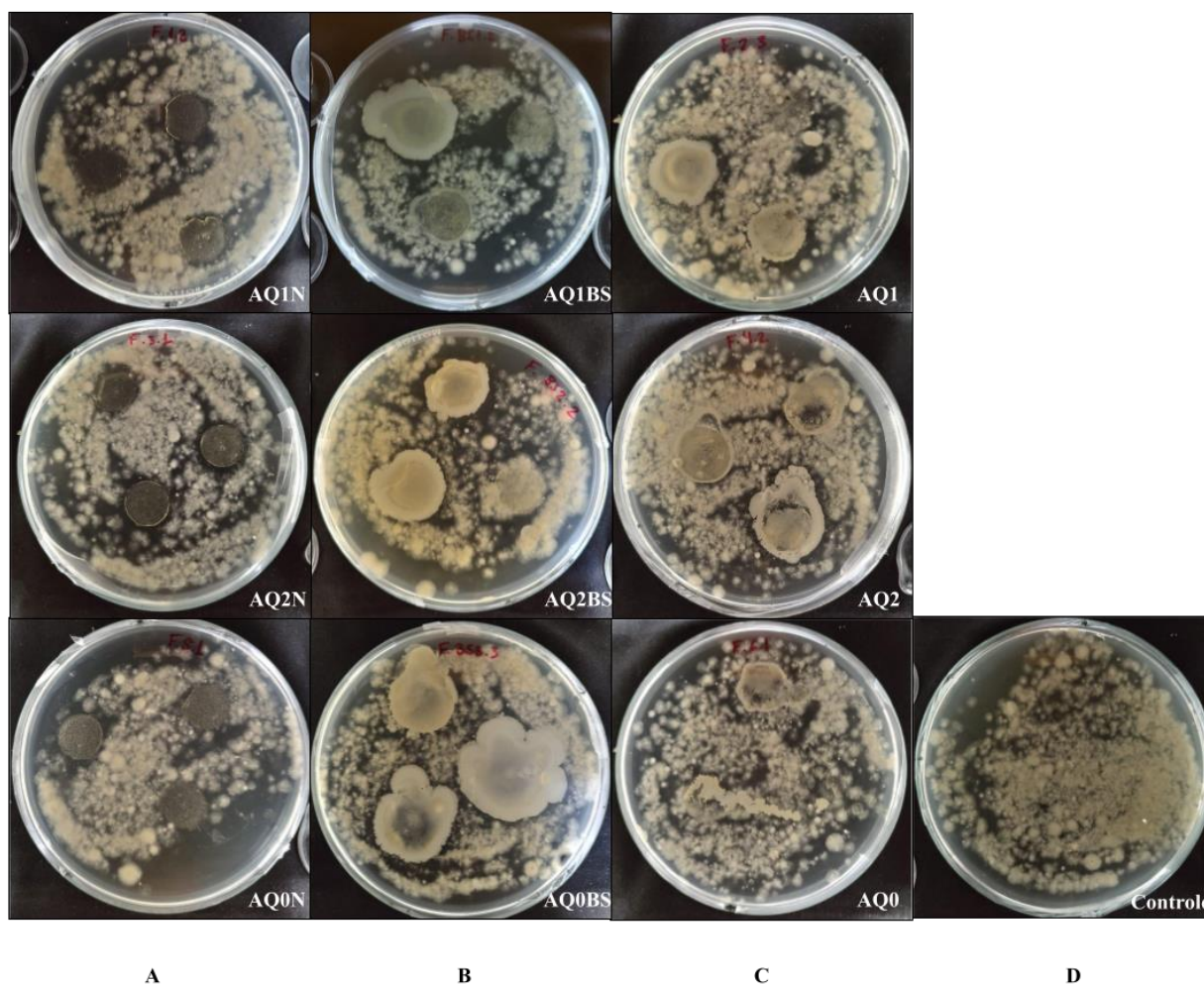


Figura 21 Teste de potencial antifúngico dos filmes, *in vitro* com fungo *Colletotrichum* sp. Coluna (A) filmes com ZnO_{nano}; (B) filmes com benzoato de sódio; (C) filmes sem agente antimicrobiano, (D) controle de crescimento, sem filme.

O fator reticulação dos filmes não influenciou na atividade antimicrobiana frente aos filmes não reticulados. Ao entrar em contato com o ágar os filmes absorveram umidade do meio e se transformaram em um gel viscoso e firme que se manteve intacto sobre o ágar.

Os filmes reticulados sem ZnO_{nano} (AQ1 e AQ2), os filmes adicionados de benzoato de sódio (AQ1BS, AQ2BS e AQ0BS) e o filme controle (AQ0) não apresentaram ação antifúngica sobre os

dois fungos testados, foi observado crescimento em toda a extensão da placa, inclusive sobre os filmes.

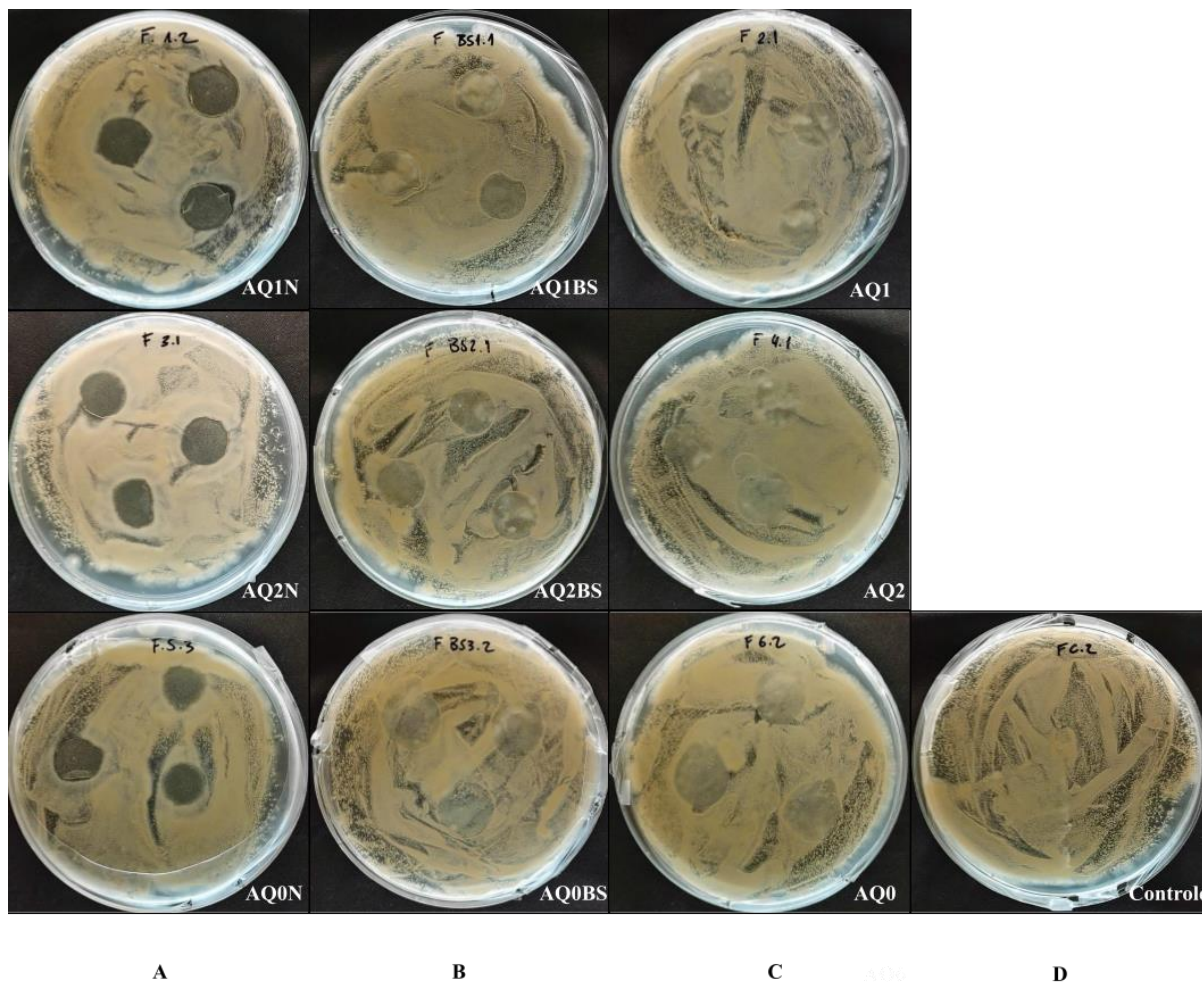


Figura 22 Testes de potencial antifúngico dos filmes, *in vitro* com fungo *Fusarium* sp. Coluna (A) filmes com ZnO_{nano}; (B) filmes com benzoato de sódio; (C) filmes sem agente antimicrobiano, (D) controle de crescimento, sem filme.

O fato de não ter ocorrido uma difusão das nanopartículas para o meio de cultura, pode estar ligado a alguns fatores como, afinidade das partículas com a matriz polimérica, aglomeração de nanopartículas ou ainda pelo aprisionamento das nanopartículas na matriz polimérica compactada (SILVA, 2017).

Resultados semelhantes foram encontrados em Silva (2017), que produziu filmes de alginato reticulados e incorporados com diferentes concentrações de ZnO_{nano}. O autor testou seu

efeito antimicrobiano *in vitro* contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Como neste trabalho, o autor testou os filmes pelo método de difusão em ágar, porém foi observado que os mesmos possuíam ação antimicrobiana também por contato.

Filmes de alginato adicionados de nanopartículas de óxido de zinco e óleo essencial de citronela foram avaliados por Motelica *et al.* (2021) quanto a sua atividade antibacteriana contra as bactérias *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*. Os resultados mostram uma ação sinérgica entre as nanopartículas e o óleo essencial. Zonas de inibição foram observadas ao redor dos filmes, com maior concentração de ZnO_{nano} (0,03 g/mL de água) e adição de óleo de citronela (1 mL).

Yadav, Mehrotra e Dutta (2021) produziram filmes de quitosana, ZnO_{nano} e ácido gálico com o objetivo de produzir materiais para embalagem de alimentos. Os autores avaliaram o potencial antimicrobiano destes filmes sobre as bactérias *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*. Observou-se zonas de inibição ao redor dos filmes e verificou-se que a atividade antimicrobiana foi maior nos filmes adicionados de nanopartículas do que naqueles contendo somente quitosana. Atribuiu-se ao resultado, o fato de as nanopartículas liberarem espécies reativas de oxigênio e íons Zn²⁺ que interagem com a parede celular das bactérias, levando-as a morte.

Em Wang *et al.* (2019), os autores desenvolveram filmes de quitosana/alginato/carboximetilquitosana e ZnO_{nano} e investigaram a atividade antimicrobiana desses filmes sobre bactérias *Staphylococcus Aureus* e *E. coli*. Neste trabalho foi observado que os filmes contendo ZnO_{nano} apresentaram o maior potencial bactericida, que foi potencializado ao aumentar a concentração das nanopartículas.

O efeito antimicrobiano de nanopartículas de óxido de zinco depende de diversos fatores combinados, como tamanho, morfologia, concentração e da natureza do microrganismo. Os possíveis mecanismos de ação das nanopartículas de ZnO_{nano} sobre fungos seriam: formação de espécies reativas de oxigênio, causando disfunção da membrana dos fungos; desnaturação e oxidação de proteínas, causando danos a parede celular dos fungos, impedindo seu crescimento; e formação de proteína corona, possibilitando a entrada das partículas na célula dependendo da estrutura da nanopartícula e do tipo de célula (PARIONA *et al.*, 2020).

Colletotrichum sp. e *Fusarium sp.* são gêneros de fungos de grande importância na pós-colheita de frutos de mamão e de tantos outros frutos. Estes fungos são agentes causais de diversas doenças relacionadas à pós-colheita do mamão, como antracnose e podridão peduncular

(RODRIGUES *et al.*, 2021). O desenvolvimento de embalagem ativa que possibilite a inibição do crescimento fúngico por contato torna-se proposta interessante para viabilizar a aplicação da formulação desses filmes como revestimento diretamente nos frutos.

5.10 Resultados das análises dos frutos

5.10.1 Cor instrumental dos frutos

A coloração inicial dos frutos tendendo ao verde, pode ser observada pelo valor negativo de a^* (Tabela 10). Tal fato, concorda com a coloração característica de frutos verdes com o estágio de maturação 2 (25% da área superficial da casca com cor amarela, rodeada de verde claro) dos frutos utilizados na etapa inicial do experimento.

Tabela 10 Parâmetros de cor dos frutos no primeiro dia de experimento (dia 0).

	L^*	a^*	b^*	ΔE
Médias (n=50)	60,01857	-8,63	46,57067	11,13656

Ao sétimo dia, os frutos foram analisados quanto a sua cor, da seguinte maneira: frutos inoculados com *Colletotrichum sp.*, divididos pelas duas formas de inoculação, e frutos inoculados com *Fusarium sp.*, também divididos pelas duas formas de inoculação, tabela 11 e 12 respectivamente.

Tabela 11 Parâmetros de cor dos frutos inoculados artificialmente com *Colletotrichum* sp. após armazenamento de 7 dias.

Tratamentos	L*		a*		b*		ΔE	
	RI	IR	RI	IR	RI	IR	RI	IR
AQ1N	^a 54,8 ± 2,84 ^{A;a}	^b 56,5 ± 4,5 ^{B;a; α}	^a -13,18 ± 2,03 ^{A;a}	^b -11,61 ± 4,69 ^{AB;a; α}	^a 35,9 ± 3,87 ^{A;a}	^b 36,7 ± 12,3 ^{AB;a; α}	^a 7,26 ± 1,64 ^{A;b}	^a 16,6 ± 3,61 ^{A;a; δ}
AQ2N	^a 57,5 ± 3,20 ^{A;a}	^a 59,6 ± 0,198 ^{AB;a}	^a -9,92 ± 7,04 ^{A;a}	^a -8,65 ± 3,32 ^{AB;a}	^a 40,4 ± 5,15 ^{A;a}	^a 43,9 ± 2,11 ^{AB;a}	^a 12,2 ± 5,18 ^{A;a}	^b 6,95 ± 2,1 ^{B;a}
AQ0N	^a 59,3 ± 5,05 ^{A;a}	^a 59,8 ± 1,71 ^{AB;a}	^a -10,25 ± 3,75 ^{A;a}	^a -7,64 ± 3,97 ^{AB;a}	^a 43,9 ± 8,16 ^{A;a}	^a 40,5 ± 1,94 ^{AB;a}	^a 13,2 ± 5,78 ^{A;a}	^b 9,65 ± 1,12 ^{AB;a}
AQ1BS	^a 56,55 ± 2,43 ^{A;a}	^b 58,03 ± 1,92 ^{AB;a}	^a -11,85 ± 2,72 ^{A;a}	^b -10,31 ± 2,15 ^{AB;a}	^a 39,3 ± 4,14 ^{A;a}	^a 41,1 ± 1,66 ^{AB;a}	^a 9,4 ± 2,66 ^{A;a}	^b 9,05 ± 0,874 ^{AB;a; δ}
AQ2BS	^a 57,72 ± 2,74 ^{A;b}	^a 65,33 ± 1,65 ^{A;a}	^a -10,77 ± 2,73 ^{A;b}	^a -3,87 ± 3,55 ^{A;a}	^a 41,6 ± 4,08 ^{A;a}	^a 50,1 ± 0,743 ^{A;a}	^a 9,81 ± 3,48 ^{A;a}	^b 10,7 ± 2,19 ^{AB;a; δ}
AQ0BS	^a 56,46 ± 4,14 ^{A;a}	^a 61,18 ± 4,32 ^{AB;a}	^a -11,76 ± 3,55 ^{A;a}	^a -6,42 ± 5,09 ^{AB;a}	^a 37,4 ± 6,24 ^{A;a}	^a 46,5 ± 6,95 ^{AB;a}	^a 9,21 ± 4,22 ^{A;a}	^b 11,4 ± 3,03 ^{AB;a; δ}
AQ1	^a 56,2 ± 7,30 ^{A;a}	^a 59,7 ± 3,35 ^{AB;a}	^a -11,65 ± 6,08 ^{A;a}	^a -8,98 ± 3,97 ^{AB;a}	^a 36,2 ± 11,0 ^{A;a}	^a 43,6 ± 5,82 ^{AB;a}	^a 12,6 ± 6,44 ^{A;a}	^b 10,03 ± 2,23 ^{AB;a}
AQ2	^a 60,0 ± 3,48 ^{A;a}	^b 54,9 ± 2,48 ^{B;b; α}	^a -9,92 ± 3,08 ^{A;a}	^b -13,69 ± 0,934 ^{B;a; β; α}	^a 44,0 ± 5,56 ^{A;a}	^b 33,3 ± 4,63 ^{B;b; β; α}	^a 12,5 ± 5,84 ^{A;a}	^a 15,0 ± 4,1 ^{AB;a}
AQ0	^a 60,13 ± 3,99 ^{A;a}	^b 55,56 ± 2,22 ^{B;a; α}	^a -7,80 ± 4,87 ^{A;a}	^b -13,00 ± 1,98 ^{AB;a; α}	^a 46,1 ± 5,50 ^{A;a}	^b 33,4 ± 3,51 ^{B;b; β; α}	^a 14,9 ± 7,25 ^{A;a}	^a 14,5 ± 3,44 ^{AB;a}
Controle	53,2 ± 2,83	61,4 ± 4,78	-12,08 ± 5,03	-5,33 ± 2,88	34,3 ± 4,90	47,0 ± 4,23	8,93 ± 4,69	11,5 ± 2,01
Fungicida	61,68 ± 8,62	65,46 ± 1,53	-5,79 ± 5,75	-2,33 ± 3,26	45,2 ± 14,5	50,5 ± 2,11	20,3 ± 7,50	10,5 ± 3,42
Efeitos simples								
Tratamentos								
AQ1N	55,7 ± 3,60 ^b		-12,39 ± 3,36 ^a		36,33 ± 8,46 ^a		11,92 ± 5,62 ^a	
AQ2N	58,5 ± 2,83 ^{ab}		-9,29 ± 5,18 ^a		42,15 ± 4,11 ^a		9,59 ± 4,62 ^a	
AQ0N	59,6 ± 3,50 ^{ab}		-8,95 ± 3,86 ^a		42,18 ± 5,73 ^a		11,44 ± 4,31 ^a	
AQ1BS	57,3 ± 2,18 ^{ab}		-11,08 ± 2,43 ^a		40,16 ± 3,13 ^a		9,23 ± 1,84 ^a	
AQ2BS	61,52 ± 4,58 ^a		-7,32 ± 3,14 ^a		45,84 ± 5,56 ^a		10,26 ± 2,73 ^a	
AQ0BS	58,82 ± 4,66 ^{ab}		-9,09 ± 4,32 ^a		41,92 ± 7,83 ^a		10,28 ± 3,59 ^a	
AQ1	57,94 ± 5,60 ^{ab}		-10,32 ± 5,025 ^a		39,9 ± 9,04 ^a		11,44 ± 4,63 ^a	
AQ2	57,42 ± 3,90 ^{ab}		-11,81 ± 2,007 ^a		38,62 ± 7,44 ^a		13,73 ± 4,86 ^a	
AQ0	57,85 ± 3,86 ^{ab}		-10,79 ± 5,75 ^a		39,74 ± 8,05 ^a		14,69 ± 5,26 ^a	
Inoculação								
IR	59,0 ± 3,93 ^a		-9,36 ± 4,34 ^a		41,0 ± 7,40 ^a		11,6 ± 3,84 ^a	
RI	57,6 ± 4,06 ^a		-10,80 ± 4,05 ^a		40,5 ± 6,58 ^a		11,2 ± 5,0 ^a	

Os valores são representados por médias ± desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos, em relação ao mesmo modo de inoculação. Diferentes letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças entre um mesmo tratamento e os diferentes modos de inoculação, pelo teste de Tukey (p < 0,05). Diferentes letras minúsculas a esquerda na mesma coluna indicam diferença de médias para o teste Scott-Knott (p < 0,05). “α” indica diferenças significativas em comparação com “Fungicida” na forma de inoculação IR. “β” indica diferenças significativas em comparação com “Controle” na forma de inoculação IR. “δ” indica diferenças significativas em comparação com “Fungicida” na forma de inoculação RI. “γ” indica diferenças significativas em comparação com “Controle” na forma de inoculação RI.

A partir da análise de cor da casca podemos definir o estágio de maturação dos frutos, que é um importante critério de qualidade, principalmente associado a aceitabilidade dos frutos pelo consumidor. O amadurecimento do mamão é caracterizado pela mudança gradual e não uniforme da cor da casca da cor verde para a amarela, onde inicialmente se formam estrias amarelas se estendendo da região estilar ao pedúnculo do fruto (BARROS *et al.*, 2019).

De maneira geral, o processo de maturação dos frutos ocorreu de forma heterogênea, dada a variação de valores da diferença de cor ΔE . Além disso, é possível inferir que o armazenamento a baixas temperaturas, possibilitou um atraso no processo de maturação dos frutos, visto que os valores de cor registrados no dia 7 de armazenamento, não foi tão discrepante em relação aqueles verificados no dia 0 do experimento.

Os parâmetros L^* , b^* e ΔE , de frutos inoculados com o fungo *Colletotrichum* sp., apresentaram interação entre os níveis de tratamento no tipo de inoculação IR. Esta forma de inoculação, apresentou diferenças estatísticas no parâmetro L^* mostrando que, dentre os frutos revestidos, aqueles onde foi aplicado o tratamento AQ2BS demonstrou o maior valor de luminosidade (65,33) dentro dos tratamentos do mesmo modo de inoculação artificial, além de também apresentar diferença significativa entre os diferentes modos de inoculação, o que possivelmente demonstra uma evolução no processo de maturação desses frutos, em relação aos demais tratamentos.

Quando comparado aos valores obtidos do parâmetro L^* dos frutos no dia 0, os frutos demonstraram uma grande variação de luminosidade após 7 dias de armazenamento em câmara de refrigeração. Tal comportamento é natural, pois frutos climatéricos como o mamão não apresentam um processo de maturação uniforme, deixando as cascas dos frutos com diferentes colorações.

Ao se comparar os frutos inoculados no modo IR, com os frutos tratados com fungicida, pode-se inferir que houve uma evolução maior no processo de maturação dos frutos com fungicida em relação aqueles que receberam os tratamentos AQ1N, AQ2 e AQ0 devido ao aumento da luminosidade desses frutos, o que demonstra a transição de uma cor mais escura para uma cor mais clara, característica de frutos mais maduros.

O parâmetro a^* , apresentou valores ainda mais negativos quando comparados aos frutos no primeiro dia do experimento. Diferenças de médias neste parâmetro foram significativas para os

diferentes tratamentos do modo de inoculação IR sendo o tratamento AQ2 ($-13,69 \pm 0,934$), aquele que apresentou a menor média do parâmetro a^* . O tratamento AQ2BS ($-3,87 \pm 3,55$), com a maior média do parâmetro, também mostra diferença significativa quando comparados os diferentes modos de inoculação RI e IR. Mais uma vez os revestimentos AQ1N, AQ2 e AQ0, apresentaram diferença significativa quando comparados aos tratamentos controle, positivo e negativo.

As médias do parâmetro b^* , indicam frutos ainda em processo inicial de maturação, visto que ainda não se apresentam com valores tão altos. É possível inferir que os tratamentos AQ2, AQ0 e AQ1N, quando aplicado nos frutos de modo IR, foram os mais eficientes em retardar o amadurecimento dos frutos quando comparados ao tratamento controle e com fungicida, durante os primeiros 7 dias de armazenamento em câmara fria.

Diferentemente dos frutos inoculados com *Colletotrichum* sp., os frutos inoculados com *Fusarium* sp., não apresentaram diferenças significativas entre os níveis de tratamento, mas o revestimento AQ0 apresentou diferenças significativas de média para os parâmetros L^* , a^* e b^* , entre os diferentes modos de inoculação, sendo as maiores médias registradas no modo de inoculação IR. No parâmetro ΔE , os revestimentos também apresentaram diferenças significativas entre os diferentes modos de inoculação, porém estas foram registradas em ambos modos de inoculação. Os frutos inoculados no modo IR apresentaram maiores médias nos efeitos simples, em todos os parâmetros de cor, quando comparados aos frutos que receberam revestimento antes da inoculação.

Possivelmente, a perfuração dos frutos para a realização da inoculação, estimulou o aumento da respiração dos frutos, causando um desbalanço na produção de etileno, acelerando o processo de maturação dos mesmos, o que por sua vez causou alterações de cor na casca.

Tabela 12 Parâmetros de cor dos frutos inoculados artificialmente com *Fusarium* sp. após armazenamento de 7 dias.

Tratamentos	L*		a*		b*		ΔE	
	RI	IR	RI	IR	RI	IR	RI	IR
AQ1N	^a 59,1 ± 6,43 ^{A;a}	^a 60,3 ± 3,60 ^{A;a}	^a -9,67 ± 6,56 ^{A;a}	^a -8,27 ± 5,44 ^{A;a}	^a 43,3 ± 11,4 ^{A;a}	^a 44,4 ± 6,52 ^{A;a}	^a 14,3 ± 3,72 ^{A;b}	^a 15,4 ± 4,82 ^{A;a}
AQ2N	^a 58,2 ± 7,07 ^{A;a}	^a 61,6 ± 3,20 ^{A;a}	^a -9,63 ± 6,02 ^{A;a}	^a -2,77 ± 4,63 ^{A;a}	^a 37,4 ± 12,1 ^{A;a}	^a 47,3 ± 5,52 ^{A;a}	^a 15,2 ± 3,89 ^{A;a}	^a 10,6 ± 4,0 ^{A;a}
AQ0N	^a 60,5 ± 4,17 ^{A;a}	^a 60,8 ± 3,39 ^{A;a}	^a -8,60 ± 3,38 ^{A;a}	^a -11,0 ± 3,53 ^{A;a}	^a 42,6 ± 6,97 ^{A;a}	^a 40,8 ± 2,68 ^{A;a}	^a 9,25 ± 4,06 ^{A;b}	^a 15,8 ± 4,43 ^{A;a}
AQ1BS	^a 60,6 ± 2,48 ^{A;a}	^a 63,2 ± 4,87 ^{A;a}	^a -9,90 ± 2,36 ^{A;a}	^a -6,35 ± 7,65 ^{A;a}	^a 43,7 ± 4,01 ^{A;a}	^a 48,8 ± 8,83 ^{A;a}	^a 9,00 ± 1,57 ^{A;a}	^a 12,6 ± 4,77 ^{A;a}
AQ2BS	^a 58,0 ± 3,89 ^{A;a}	^a 62,5 ± 5,38 ^{A;a}	^a -11,6 ± 3,31 ^{A;a}	^a -7,11 ± 5,54 ^{A;a}	^a 40,3 ± 6,64 ^{A;a}	^a 46,9 ± 10,5 ^{A;a}	^a 10,0 ± 2,37 ^{A;a}	^a 13,6 ± 6,45 ^{A;b}
AQ0BS	^a 57,2 ± 3,66 ^{A;a}	^a 59,7 ± 6,87 ^{A;a}	^a -10,8 ± 2,40 ^{A;a}	^a -10,9 ± 3,70 ^{A;a}	^a 38,7 ± 5,19 ^{A;a}	^a 42,3 ± 10,7 ^{A;a}	^a 10,3 ± 2,42 ^{A;b}	^a 16,6 ± 8,10 ^{A;a}
AQ1	^a 59,4 ± 4,56 ^{A;a}	^a 61,6 ± 3,26 ^{A;a}	^a -10,0 ± 4,94 ^{A;a}	^a -10,2 ± 4,69 ^{A;a}	^a 39,9 ± 7,49 ^{A;a}	^a 41,9 ± 5,81 ^{A;a}	^a 10,7 ± 2,79 ^{A;a}	^a 14,7 ± 4,36 ^{A;a}
AQ2	^a 56,5 ± 4,99 ^{A;a}	^a 58,1 ± 2,99 ^{A;a}	^a -9,72 ± 6,10 ^{A;a}	^a -9,47 ± 6,42 ^{A;a}	^a 35,3 ± 8,42 ^{A;a}	^a 37,7 ± 5,27 ^{A;a}	^a 14,0 ± 2,67 ^{A;a}	^a 17,7 ± 5,55 ^{A;b}
AQ0	^a 54,8 ± 2,33 ^{A;b}	^a 63,6 ± 3,81 ^{A;a}	^a -13,2 ± 2,22 ^{A;b}	^a -4,08 ± 7,75 ^{A;a}	^a 34,7 ± 3,07 ^{A;b}	^a 47,4 ± 7,22 ^{A;a}	^a 10,4 ± 2,98 ^{A;a}	^a 12,5 ± 3,69 ^{A;a}
Controle	58,6 ± 5,47	65,0 ± 4,35	-8,99 ± 3,46	-0,167 ± 9,48	41,9 ± 8,23	49,1 ± 7,79	10,7 ± 1,30	13,3 ± 2,42
Fungicida	61,6 ± 4,05	63,2 ± 4,50	-8,84 ± 3,75	-8,40 ± 4,98	44,49 ± 6,44	44,1 ± 7,34	10,8 ± 1,28	13,6 ± 4,39

Efeitos simples

Tratamentos			
AQ1N	59,72 ± 4,87 ^a	-8,97 ± 5,63 ^a	43,8 ± 8,60 ^a
AQ2N	59,9 ± 5,38 ^a	-6,20 ± 6,18 ^a	42,3 ± 10,2 ^a
AQ0N	60,66 ± 3,52 ^a	-9,80 ± 3,44 ^a	41,7 ± 4,98 ^a
AQ1BS	61,89 ± 3,82 ^a	-8,12 ± 5,57 ^a	46,2 ± 6,90 ^a
AQ2BS	60,24 ± 4,95 ^a	-9,36 ± 4,86 ^a	43,6 ± 8,86 ^a
AQ0BS	58,43 ± 5,27 ^a	-10,84 ± 2,89 ^a	40,5 ± 8,04 ^a
AQ1	60,52 ± 3,85 ^a	-10,13 ± 4,46 ^a	40,9 ± 6,30 ^a
AQ2	57,26 ± 3,90 ^a	-9,59 ± 5,80 ^a	36,5 ± 6,62 ^a
AQ0	59,2 ± 5,53 ^a	-8,63 ± 7,18 ^a	41,0 ± 8,53 ^a
Inoculação			
IR	61,3 ± 4,15 ^a	-7,80 ± 5,73 ^a	44,6 ± 7,42 ^a
RI	58,3 ± 4,47 ^b	-10,4 ± 4,13 ^b	39,5 ± 7,56 ^b

Os valores são representados por médias ± desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos, em relação ao mesmo modo de inoculação. Diferentes letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças entre um mesmo tratamento e os diferentes modos de inoculação, pelo teste de Tukey (p < 0,05). Diferentes letras minúsculas a esquerda na mesma coluna indicam diferença de médias para o teste Scott-Knott (p < 0,05). “α” indica diferenças significativas em comparação com “Fungicida” na forma de inoculação IR. “β” indica diferenças significativas em comparação com “Controle”na forma de IR. “δ” indica diferenças significativas em comparação com “Fungicida” na forma de inoculação RI. “γ” indica diferenças significativas em comparação com “Controle”na forma de inoculação RI.

5.10.2 Análise visual de maturação dos frutos

As avaliações de maturação dos frutos se deram ao 14º dia, a partir de uma análise visual subjetiva da cor de casca dos frutos, que foram comparados com uma escala pré definida. A partir da análise do teste de Kruskal Wallis pode-se inferir que houve diferença na maturação dos frutos, quando comparados os tratamentos, para cada um dos diferentes fungos, *Colletotrichum sp.* ($X^2_{(10)} = 35,53$; $p_{\text{value}} < 0,0001$), e *Fusarium sp.* ($X^2_{(10)} = 40,858$; $p_{\text{value}} < 0,00001$). O post-hoc de Dunn mostrou que o estágio de maturação dos frutos revestidos com os tratamentos AQ0BS e AQ2, é significativamente diferente do estágio de maturação dos frutos tratados com fungicida e dos frutos controle, para os frutos inoculados com o fungo *Fusarium sp.* Já nos frutos inoculados com *Colletotrichum sp.*, o teste de post-hoc mostrou que os frutos tratados com os revestimentos AQ1N, AQ2N, AQ2BS e AQ0 possuíam estágio de maturação diferente quando comparados aos tratamentos controle positivo e negativo (Fungicida e Controle), tabela 13. Pode-se então admitir, que os tratamentos com os revestimentos citados, possibilitaram um retardo no processo de maturação dos frutos. Esses resultados podem ser facilmente observados nas figuras 26 e 27.

Tabela 13 Escala de maturação dos frutos no 14º dia de experimento.

Tratamento	Maturação	
	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>
AQ1N	4,25 ± 0,463 ^{ns*}	3,75 ± 1,16 ^b
AQ2N	4,25 ± 0,463 ^{ns}	3,88 ± 1,64 ^b
AQ0N	4,25 ± 0,463 ^{ns}	4,25 ± 0,463 ^{ns}
AQ1BS	4,5 ± 0,535 ^{ns}	3,75 ± 1,28 ^{ns}
AQ2BS	4,25 ± 0,463 ^{ns}	4 ± 0,535 ^b
AQ0BS	3,5 ± 1,41 ^b	4,12 ± 0,354 ^{ns}
AQ1	4,25 ± 0,463 ^{ns}	4 ± 0,535 ^{ns}
AQ2	3,5 ± 1,41 ^b	4,5 ± 0,535 ^{ns}
AQ0	4,25 ± 0,463 ^{ns}	4 ± 0 ^b
Fungicida	5 ± 0 ^a	5 ± 0 ^a
Controle	5 ± 0 ^a	5 ± 0 ^a
Inoculação		
IR	4,14 ± 1,02 ^{ns}	4,23 ± 0,743 ^{ns}
RI	4,41 ± 0,497 ^{ns}	4,18 ± 0,971 ^{ns}

Os valores são representados por médias ± desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os diferentes tratamentos de acordo com o teste de Kruskal Wallis ($p < 0,05$). *ns (média não apresentou diferenças significativas).

O teste estatístico de Kruskal Wallis não mostrou diferença significativa do estágio de maturação dos frutos quando avaliados a partir das diferentes formas de inoculação, sendo encontrados ($X^2_{(1)} = 0,053$; $p_{\text{value}} = 0,8168$), para os frutos inoculados com *Colletotrichum sp.* e ($X^2_{(1)} = 1,255$; $p_{\text{value}} = 0,2625$), para aqueles inoculados com *Fusarium sp.*

Não foi possível verificar um efeito significativo do processo de reticulação ou da adição de agentes antimicrobianos nos revestimentos influenciando diretamente o processo de maturação dos frutos.

O uso de revestimentos em frutos pode funcionar como um limitador para a troca de gases e de perda de umidade, retardando a maturação dos frutos e por consequência aumentando seu tempo de vida útil (ASSIS; BRITTO; FORATO, 2009). Os resultados observados neste trabalho foram distintos aos verificados em Arroyo et al. (2020), que desenvolveram diferentes revestimentos a partir da mistura de alginato e quitosana em diferentes proporções, adicionados de ZnO_{nano} (1%/ vol. de solução), com o objetivo de estender o tempo de vida útil de frutos de goiaba. Os autores não observaram efeito retardante do processo de amadurecimento dos frutos quando aplicados revestimentos compostos pela proporção de 100% alginato e 90% alginato-10% quitosana com nanopartículas de ZnO , por outro lado revestimentos produzidos com 100% e 90% de quitosana e ZnO_{nano} foram capazes de diminuir a perda de massa dos frutos e limitar as mudanças físico-químicas relativas a maturação dos frutos por até 20 dias de armazenamento a 21°C. A vida útil de morangos também foi estendida em até 20 dias ao se aplicar revestimentos de alginato de sódio contendo 1,25 g/L de ZnO_{nano} (EMAMIFAR; BAVAISI, 2020). Revestimentos de quitosana e ZnO_{nano} aplicados em pedaços de mamão mininmamente processado, estenderam sua vida útil por até 12 dias, armazenados a 10°C.

5.10. 3 Perda de massa fresca

Frutos climatéricos como o mamão continuam seu processo de maturação após a colheita. O processo de amadurecimento dos frutos causa um aumento da taxa de respiração dos mesmos, possibilitando a perda de água e conseqüente redução de massa fresca (CALBO; MORETTI; HENZ, 2007). A perda de massa fresca foi avaliada dos dias zero e sete do experimento. Neste intervalo de uma semana, os frutos foram mantidos climatizados em temperaturas mais baixas e alta UR (13°C

e 77%). Diferenças significativas na perda de massa foram observadas somente entre um mesmo tratamento e as diferentes formas de inoculação. Os frutos revestidos com os tratamentos AQBS1 (1.76 ± 0.369) e AQ2 (1.79 ± 0.19) e foram inoculados com *Colletotrichum sp.*, apresentaram maior porcentagem de perda de massa no modo de inoculação reveste e inocula (RI). O mesmo modo de inoculação apresentou as maiores médias de porcentagem de perda de massa nos frutos revestidos com os tratamentos AQ2N (1.81 ± 0.301), AQ1 (1.84 ± 0.365) AQ2 (1.74 ± 0.156), inoculados com *Fusarium sp.* Além disso, os frutos inoculados pelo modo revestido e inoculado (RI) e revestidos com os tratamentos AQ2N e AQ2 mostraram, a partir do teste de Dunnett, diferenças significativas de médias quando comparados com o controle do mesmo modo de inoculação.

Tabela 14 Perda de massa em porcentagem (%) dos frutos ao 7º dia de experimento.

Tratamentos	<i>Colletotrichum sp.</i>		<i>Fusarium sp.</i>	
	RI	IR	RI	IR
AQ1N	^a 1.55 ± 0.134 ^{A;a}	^a 1.33 ± 0.138 ^{A;a}	^a 1.40 ± 0.287 ^{A;a}	^a 1.60 ± 0.314 ^{A;a}
AQ2N	^a 1.68 ± 0.19 ^{A;a}	^a 1.66 ± 0.463 ^{A;a}	^a 1.24 ± 0.102 ^{A;b;γ}	^a 1.81 ± 0.301 ^{A;a}
AQ0N	^a 1.78 ± 0.443 ^{A;a}	^a 1.59 ± 0.216 ^{A;a}	^a 1.42 ± 0.094 ^{A;a}	^a 1.71 ± 0.145 ^{A;a}
AQ1BS	^a 1.34 ± 0.175 ^{A;b}	^a 1.76 ± 0.369 ^{A;a}	^a 1.41 ± 0.109 ^{A;a}	^a 1.72 ± 0.174 ^{A;a}
AQ2BS	^a 1.48 ± 0.143 ^{A;a}	^a 1.68 ± 0.247 ^{A;a}	^a 1.58 ± 0.188 ^{A;a}	^a 1.56 ± 0.23 ^{A;a}
AQ0BS	^a 1.55 ± 0.13 ^{A;a}	^a 1.61 ± 0.218 ^{A;a}	^a 1.48 ± 0.313 ^{A;a}	^a 1.39 ± 0.098 ^{A;a}
AQ1	^a 1.41 ± 0.215 ^{A;a}	^a 1.61 ± 0.113 ^{A;a}	^a 1.35 ± 0.161 ^{A;b}	^a 1.84 ± 0.365 ^{A;a}
AQ2	^a 1.40 ± 0.254 ^{A;b}	^a 1.79 ± 0.19 ^{A;a}	^a 1.29 ± 0.148 ^{A;b;γ}	^a 1.74 ± 0.156 ^{A;a}
AQ0	^a 1.75 ± 0.206 ^{A;a}	^a 1.64 ± 0.396 ^{A;a}	^a 1.52 ± 0.093 ^{A;a}	^a 1.75 ± 0.368 ^{A;a}
Controle	1.34 ± 0.13	1.56 ± 0.411	1.82 ± 0.464	1.91 ± 0.495
Fungicida	1.42 ± 0.35	1.40 ± 0.165	1.46 ± 0.223	1.58 ± 0.358
Tratamentos				
AQ1N	1,44 ± 0,171 ^a		1,50 ± 0,298 ^a	
AQ2N	1,66 ± 0,328 ^a		1,52 ± 0,367 ^a	
AQ0N	1,68 ± 0,339 ^a		1,56 ± 0,191 ^a	
AQ1BS	1,55 ± 0,349 ^a		1,56 ± 0,213 ^a	
AQ2BS	1,58 ± 0,214 ^a		1,56 ± 0,195 ^a	
AQ0BS	1,58 ± 0,169 ^a		1,43 ± 0,221 ^a	
AQ1	1,51 ± 0,192 ^a		1,59 ± 0,369 ^a	
AQ2	1,59 ± 0,299 ^a		1,51 ± 0,277 ^a	
AQ0	1,69 ± 0,419 ^a		1,63 ± 0,277 ^a	
Inoculação				
IR	1,63 ± 0,28 ^a		1,68 ± 0,26 ^a	
RI	1,55 ± 0,251 ^a		1,41 ± 0,192 ^b	

Os valores são representados por médias ± desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos, em relação ao mesmo modo de inoculação. Diferentes letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças entre um mesmo tratamento e os diferentes modos de inoculação, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Diferentes letras minúsculas a esquerda na mesma coluna indicam diferença de médias para o teste Scott-Knott ($p < 0,05$). “ α ” indica diferenças significativas em comparação com “Fungicida” na forma de inoculação IR. “ β ” indica diferenças significativas em comparação com “Controle” na forma de inoculação IR. “ δ ” indica diferenças significativas em comparação com “Fungicida” na forma de inoculação RI. “ γ ” indica diferenças significativas em comparação com “Controle” na forma de inoculação RI.

O armazenamento dos frutos de mamão em temperaturas mais baixas e controladas, em conjunto com alta umidade, minimizam a perda de massa fresca dos frutos. A exposição de frutos de mamão a temperaturas mais elevadas durante o período de pós-colheita, aumenta a respiração dos frutos e conseqüentemente acelera a produção de etileno e seu processo de senescência (CALBO; MORETTI; HENZ, 2007). Segundo Assis, Britto e Forato (2009) o uso de revestimento nos frutos, preenche parcialmente os estômatos e lenticelas e reduz a perda de água gerada durante a transpiração e limita as trocas de gases que ocorre no processo de respiração, atrasando o processo de maturação.

Em Bhanushree *et al.*(2018) foram desenvolvidos revestimentos a base de quitosana em diferentes concentrações, que foram aplicados em frutos de mamão higienizados que posteriormente foram armazenados sob condições controladas de baixa temperatura ($12\pm 1^{\circ}\text{C}$) e em temperatura ambiente ($28\pm 1^{\circ}\text{C}$). Os revestimentos com concentração de quitosana de 3%, proporcionaram a menor perda de massa nos frutos e, onde os mamões mantidos por 23 sob refrigeração registraram perdas mínima de 4,5 % de massa, enquanto os frutos mantidos em temperatura ambiente por 9 dias tiveram perdas de 5,1%.

O tratamento térmico aliado a aplicação de revestimento (49°C por 20 min) a base de quitosana (20g/L) em frutos de mamão possibilitou uma redução de perda de massa dos frutos quando comparado a todos os outros tratamentos, incluindo o controle, durante 28 dias de armazenamento a 10°C . Ali; Hei; Keat (2016), verificaram em seus resultados uma redução de aproximadamente 50% na perda de massa de frutos de mamão revestidos com mistura de goma arábica e óleo essencial de gengibre durante 28 dias de armazenamento dos frutos a $12 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e 80–85% UR, quando comparado aos frutos controle. Isso demonstra a eficiência dos revestimentos aliada ao armazenamento em temperaturas mais baixas ao impedir uma perda de massa excessiva dos frutos.

5.10.4 Severidade da doença

A partir do 14° dia foi observada uma contaminação representativa dos frutos, que se encontravam desde o sétimo dia de experimento armazenados em temperatura ambiente (28°C). Os frutos já se encontravam impróprios para consumo, ou para a realização de análises instrumentais.

Portanto, foi realizada uma análise subjetiva de severidade de sintomas de doenças que os frutos apresentavam. Levando em consideração a escala pré-definida apresentada anteriormente.

Os sintomas de doenças fúngicas estavam espalhados por todo fruto e não somente nos pontos onde foi realizada a inoculação, independentemente de como a inoculação artificial foi realizada.

Os frutos inoculados com ambos os fungos *Colletotrichum* sp. e *Fusarium* sp. não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($X^2_{(10)} = 16,979$; $p_{\text{value}} = 0,07482$) e ($X^2_{(10)} = 18,013$; $p_{\text{value}} = 0,05474$), respectivamente. Do mesmo modo, a forma de inoculação também não apresentou diferenças significativas nos resultados de severidade de doença dos frutos ($X^2_{(1)} = 0,16364$; $p_{\text{value}} = 0,6858$) e ($X^2_{(1)} = 0,049533$; $p_{\text{value}} = 0,8239$), respectivamente de acordo com o teste de Kruskal Wallis (Tabela 15).

Tabela 15 Escala de severidade de doença nos frutos ao 14° dia.

Tratamento	Severidade de doença	
	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Colletotrichum</i> sp.
AQ1N	3,25 ± 1,83 ^{ns*}	3,75 ± 1,49 ^{ns*}
AQ2N	3,62 ± 1,68 ^{ns}	4,12 ± 0,991 ^{ns}
AQ0N	4,12 ± 1,13 ^{ns}	4 ± 1,69 ^{ns}
AQ1BS	2,62 ± 1,19 ^{ns}	4 ± 0 ^{ns}
AQ2BS	3 ± 1,31 ^{ns}	4,25 ± 1,03 ^{ns}
AQ0BS	3,5 ± 1,20 ^{ns}	4,38 ± 1,41 ^{ns}
AQ1	2,75 ± 1,28 ^{ns}	3 ± 1,51 ^{ns}
AQ2	3,38 ± 1,51 ^{ns}	2,62 ± 1,60 ^{ns}
AQ0	4 ± 0,926 ^{ns}	2,88 ± 1,64 ^{ns}
Fungicida	2,12 ± 0,641 ^{ns}	3,38 ± 0,744 ^{ns}
Controle	3,75 ± 1,16 ^{ns}	4 ± 0,535 ^{ns}
Inoculação		
IR	3,32 ± 1,29 ^{ns}	3,68 ± 1,43 ^{ns}
RI	3,25 ± 1,43 ^{ns}	3,66 ± 1,22 ^{ns}

Os valores são representados por médias ± desvio padrão. Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os diferentes tratamentos de acordo com o teste de Kruskal Wallis ($p < 0,05$). *ns (média não apresentou diferenças significativas).

Foi possível verificar que ao 7° dia os frutos não apresentavam sintomas de doenças nos pontos inoculados, demonstrando que a temperatura mais baixa de armazenamento inibiu o crescimento dos fungos e o desenvolvimento de sintomas de doenças (Figuras 23 e 24).

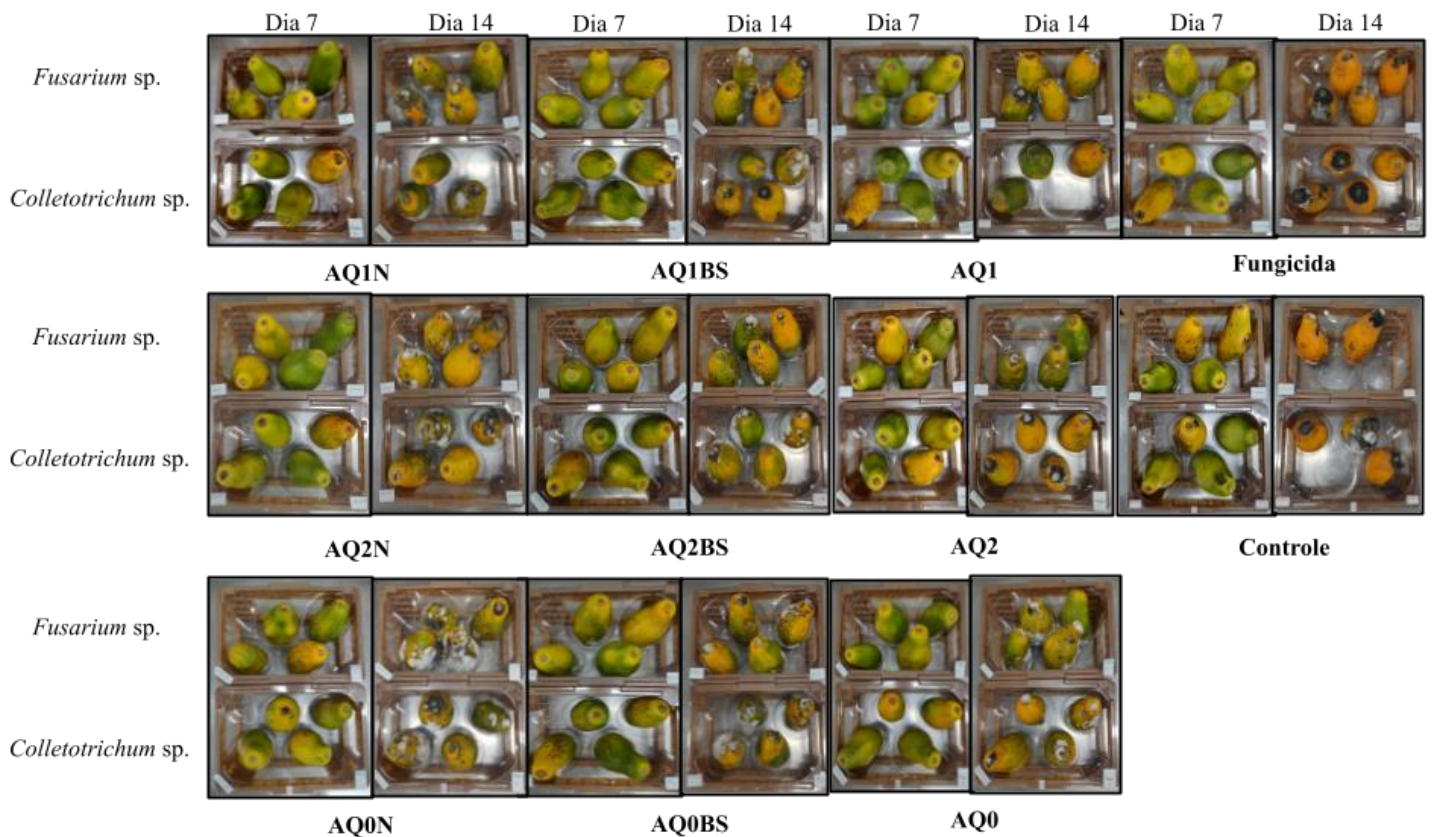


Figura 23 Aparência dos frutos revestidos e inoculados (RI) nos dias 7 e 14 do experimento.

Devido à alta contaminação dos frutos em todos os tratamentos no 14º dia, não foi possível definir qual o melhor tratamento utilizado para estender a vida útil dos frutos. A condução do experimento utilizando a estratégia de inoculação artificial, não foi eficiente para se chegar à definição do melhor tratamento aplicado. Novos experimentos devem ser conduzidos, sem a necessidade de inoculação, para que seja possível observar a eficiência dos revestimentos em inibir o desenvolvimento de sintomas de doenças fúngicas.

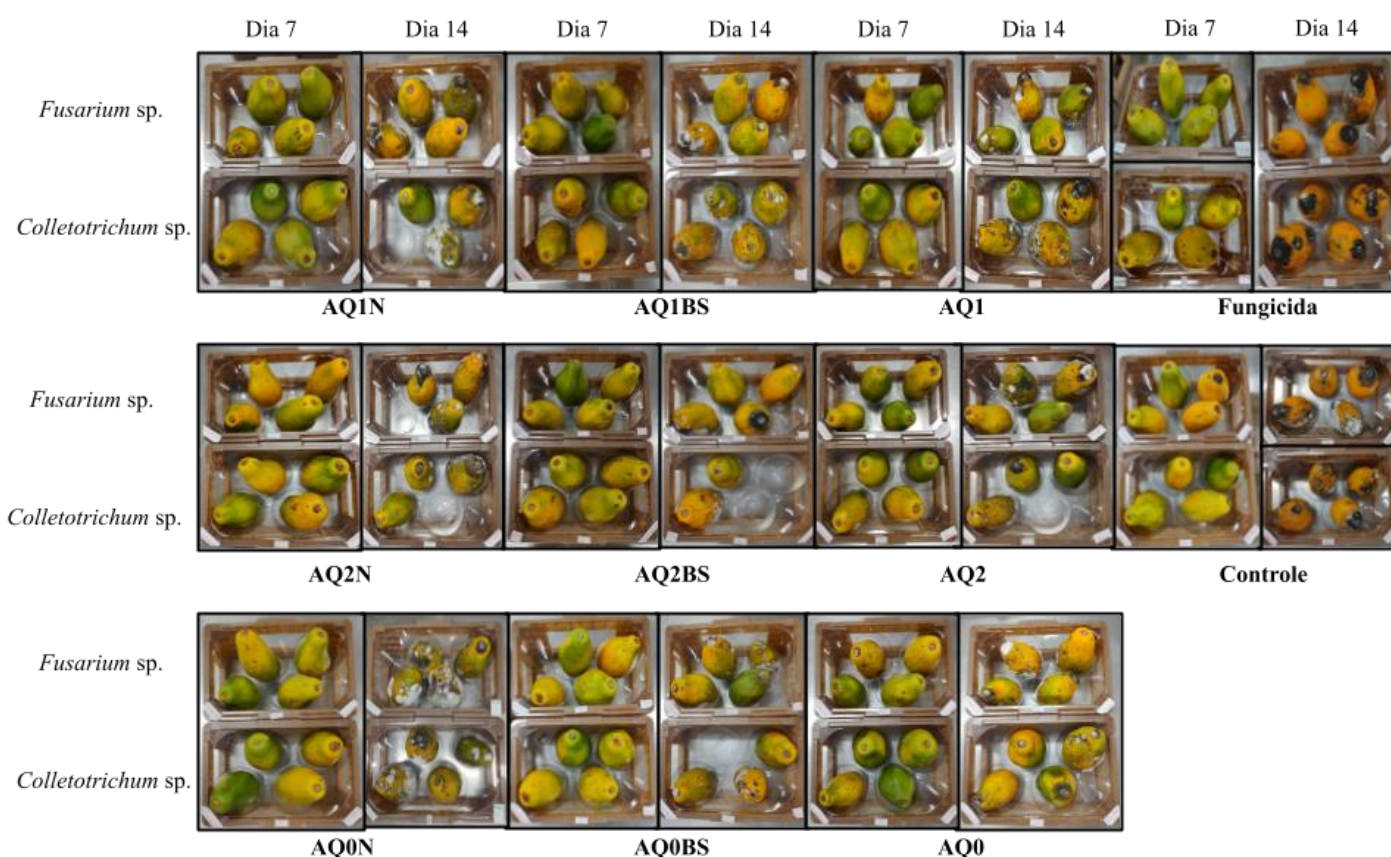


Figura 24 Aparência dos frutos inoculados e revestidos (IR) nos dias 7 e 14 do experimento.

6 CONCLUSÃO

A proporção de blenda polimérica de quitosana e alginato escolhida para o desenvolvimento dos filmes, foi capaz de formar filmes maleáveis, e bem estruturados. A cor dos filmes revelou tendência para coloração amarela, demonstrando aparente transparência.

A adição de ZnO_{nano} na produção dos filmes, possibilitou uma mudança na estrutura dos mesmos. O processo de reticulação do alginato também foi capaz de modificar certas características dos filmes. Como exemplo podemos citar a influência de ambos (reticulação e adição de ZnO_{nano}) na espessura dos filmes, que se apresentaram mais finos quando adicionados de nanopartículas e reticulados com as maiores concentrações de cloreto de cálcio.

O ângulo de contato também foi influenciado por estes dois fatores, porém o aumento da concentração de agente reticulante nos filmes, proporcionou um aumento do ângulo de contato dos

filmes, deixando-os menos hidrofílicos, enquanto a adição de agentes antimicrobianos, reduziu o mesmo. Seu uso em conjunto, pode equilibrar de redução do ângulo de contato propiciado pela adição dos antimicrobianos.

Foi observada uma reação inversa entre tensão de ruptura e alongamento na ruptura, onde filmes reticulados e adicionados de nanopartículas aumentaram seus valores de tensão e diminuíram seus valores de alongamento. Os filmes adicionados com benzoato de sódio não apresentaram grandes mudanças em sua estrutura.

Testes *in vitro* a partir da técnica de difusão em ágar foram conduzidos com o objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano dos filmes. Neste estudo, foi possível observar que os filmes com nanopartículas apresentam potencial fungicida quando em contato com os microrganismos testados se mostrando uma opção interessante para o uso desse material como embalagem ativa. Por esse motivo, foram testadas as soluções filmogênicas desenvolvidas aplicando-as diretamente nos frutos, e seu potencial antifúngico foi avaliado.

Ao longo de sete dias a perda de massa fresca dos frutos foi mínima, quando estes foram mantidos sob condição de refrigeração, o que denota a influência de baixas temperaturas e alta UR na manutenção da qualidade destes frutos.

O método de inoculação artificial IR (inocula e reveste), foi aquele que apresentou maior influência na mudança da cor instrumental e porcentagem de perda de massa dos frutos nos primeiros 7 dias de experimento.

Os revestimentos desenvolvidos AQ1N, AQ2N, AQ2BS, AQ0BS, AQ2 e AQ0 foram eficazes em retardar o amadurecimento dos frutos por pelo menos 7 dias, durante seu tempo de armazenamento em temperatura ambiente, quando comparados aos tratamentos controle positivo e negativo. Não foi possível definir entre os tratamentos uma melhor formulação com atividade antifúngica e que fosse capaz de prolongar a vida útil dos frutos devido ao alto índice de contaminação dos mesmos. Novos experimentos devem ser realizados para uma melhor avaliação dos revestimentos, sem a necessidade de realizar inoculação artificial.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. NBR 14725-4 - Fispq. **Norma**, [s. l.], 2010.
- AHMADI, F. *et al.* Chitosan based hydrogels: characteristics and pharmaceutical applications. **Research in Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1–16, 2015.
- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; ALARA, J. A. **Carica papaya: comprehensive overview of the nutritional values, phytochemicals and pharmacological activities**. [S. l.]: Springer Singapore, 2020-. ISSN 26624060. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13596-020-00481-3>.
- ALBOOFETILEH, M. *et al.* Effect of nanoclay and cross-linking degree on the properties of alginate-based nanocomposite film. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 1622–1631, 2014.
- ALI, A.; HEI, G. K.; KEAT, Y. W. Efficacy of ginger oil and extract combined with gum arabic on anthracnose and quality of papaya fruit during cold storage. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 53, n. 3, p. 1435–1444, 2016.
- ALOUI, H. *et al.* Efficacy of the combined application of chitosan and Locust Bean Gum with different citrus essential oils to control postharvest spoilage caused by *Aspergillus flavus* in dates. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 170, n. 2014, p. 21–28, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.017>.
- ALPARSLAN, Y. *et al.* Effects of gelatin-based edible films enriched with laurel essential oil on the quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage. **Food Technology and Biotechnology**, [s. l.], v. 52, n. 3, p. 325–333, 2014.
- ALVES, F. de L. *et al.* **A cultura do mamoeiro Tecnologias de produção**. Vitória, ES: Incaper, 2003.
- AMARAL, D. D. *et al.* Frequency of quiescent fungi and post-harvest alternative management of stem end rot in papaya. **Revista Caatinga**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 786–793, 2017.
- ANDERSEN, F. A. **Final report on the safety assessment of Benzyl Alcohol, Benzoic Acid, and Sodium Benzoate**. [S. l.: s. n.], 2001.
- ANNEGOWDA, H. V.; BHAT, R. **Composition of Papaya Fruit and Papaya Cultivars**. [S. l.]: Elsevier Inc., 2015. *E-book*. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00021-0>.
- ANVISA. **Aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia**. [S. l.], 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/alimentos/aditivos-alimentares>. Acesso em: 3 maio 2022.
- ARCINIEGAS-GRIJALBA, P. A. *et al.* ZnO-based nanofungicides: Synthesis, characterization and their effect on the coffee fungi *Mycena citricolor* and *Colletotrichum* sp. **Materials Science and Engineering C**, [s. l.], v. 98, p. 808–825, 2019.
- ARCINIEGAS-GRIJALBA, P. A. *et al.* ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) and their antifungal activity against coffee fungus *Erythricium salmonicolor*. **Applied Nanoscience (Switzerland)**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. 225–241, 2017.

ARROYO, B. J. B. J. *et al.* Antimicrobial active edible coating of alginate and chitosan add ZnO nanoparticles applied in guavas (*Psidium guajava* L.). **Food Chemistry**, [s. l.], v. 309, n. August 2018, p. 125566, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125566>.

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

ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. de; FORATO, L. A. O Uso de Biopolímeros como Revestimentos Comestíveis Protetores Para Conservação de Frutas in natura e minimamente processadas. *In*: EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA. BOLETIM DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO. [S. l.: s. n.], 2009. v. 29, p. 1–24. *E-book*. Disponível em: www.cnpdia.embrapa.br/publicacoes/download.php?file=BPD29_2009.pdf.

ASTM. **Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**. ASTM D 882-18. [S. l.: s. n.], 2018. Disponível em: <http://www.ansi.org>.

AZEREDO, H. M. C. H. M. C.; WALDRON, K. W. K. W. Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact - A review. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 52, p. 109–122, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.04.008>.

BAMBALELE, N. L. *et al.* Recent Advances on Postharvest Technologies of Mango Fruit: A Review. **International Journal of Fruit Science**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 565–586, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15538362.2021.1918605>.

BARBIERI, M. G. *et al.* Análise do desempenho das exportações brasileiras de mamão. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 5, n. 8, p. 12010–12032, 2019.

BARROS, W. K. F. C. *et al.* Utilização de revestimentos alternativos na conservação pós-colheita de mamão “Sunrise solo”. **AGRI-ENVIRONMENTAL SCIENCES**, [s. l.], v. 5, n. 25254804, 2019. Disponível em: <https://revista.unitins.br/index.php/agri-environmental-sciences/article/view/1205>.

BATALLER, M. *et al.* Ozone applications in the post-harvest of papaya (*Carica papaya* L.): An alternative to amistar fungicide. **Ozone: Science and Engineering**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 151–155, 2012.

BHANUSHREE, L. *et al.* Influence of chitosan on postharvest behavior of papaya (*Carica papaya* L .) Fruits under different storage conditions Influence of chitosan on postharvest behavior of papaya (*Carica papaya* L .) Fruits under different. [s. l.], v. 7, n. January, p. 2010–2014, 2018.

BILL, M. *et al.* The efficacy of combined application of edible coatings and thyme oil in inducing resistance components in avocado (*Persea americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. **Crop Protection**, [s. l.], v. 64, p. 159–167, 2014.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 37, DE 1º DE OUTUBRO DE 2018 - **Imprensa Nacional**. Brasília, DF: [s. n.], 2018. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/44304943/do1-2018-10-08-instrucao-normativa-n-37-de-1-de-outubro-de-2018-44304612. Acesso em: 5 fev. 2021.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 69, DE 6º DE NOVEMBRO DE 2018- **Imprensa Nacional. Diário Oficial da União**: 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca->

de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-69-de-6-de-novembro-de-2018.pdf/view.
Acesso em: 4 fev. 2021.

BRASIL, I. M. *et al.* Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 39–45, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.005>.

BRUKER. **Guia para Espectroscopia FT-IR | Bruker**. [S. l.], 2022. Disponível em: <https://www.bruker.com/pt/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy.html>. Acesso em: 18 jul. 2022.

CALBO, A. G.; MORETTI, C. L.; HENZ, G. P. Technical Announcement: Breathing fruits and vegetables. (In Portuguese). **Embrapa**, [s. l.], p. 1–10, 2007.

CASEMIRO, J. C. L. *et al.* Chitosan associated with plant extracts in the post-harvest control of anthracnose in papaya ‘formosa’. **Summa Phytopathologica**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 64–69, 2019.

CASTELO BRANCO MELO, N. F. N. F. *et al.* Effects of fungal chitosan nanoparticles as eco-friendly edible coatings on the quality of postharvest table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 139, n. August 2017, p. 56–66, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.01.014>.

CHABALA, L. F. G.; CUARTAS, C. E. E.; LÓPEZ, M. E. L. o. Release behavior and antibacterial activity of chitosan/alginate blends with aloe vera and silver nanoparticles. **Marine Drugs**, [s. l.], v. 15, n. 10, 2017.

CHAUDHARY, S. *et al.* Chitosan nanoemulsions as advanced edible coatings for fruits and vegetables: Composition, fabrication and developments in last decade. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 152, p. 154–170, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.276>.

CHOPIN, N. *et al.* Design Polysaccharides of Marine Origin: Chemical Modifications to Reach Advanced Versatile Compounds. **Current Organic Chemistry**, [s. l.], v. 18, n. 7, p. 867–895, 2014. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1385-2728&volume=18&issue=7&spage=867>. Acesso em: 11 out. 2020.

CODEx ALIMENTARIUS. **SODIUM BENZOATE**. [S. l.], 2019.

COELHO, C. C. de S. *et al.* Cellulose nanocrystals from grape pomace and their use for the development of starch-based nanocomposite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 159, p. 1048–1061, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.046>.

CORREA-PACHECO, Z. N. *et al.* The Effect of Nanostructured Chitosan and Chitosan-thyme Essential Oil Coatings on Colletotrichum gloeosporioides Growth in vitro and on cv Hass Avocado and Fruit Quality. **Journal of Phytopathology**, [s. l.], v. 165, n. 5, p. 297–305, 2017.

CORTEZ-VEGA, W. R. *et al.* Using edible coatings from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) protein isolate and organo-clay nanocomposite for improve the conservation properties of fresh-cut “Formosa” papaya. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 22, p. 197–202, 2014.

COSME SILVA, G. M. *et al.* The chitosan affects severely the carbon metabolism in mango

(*Mangifera indica* L. cv. Palmer) fruit during storage. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 237, p. 372–378, 2017.

CUQ, B. *et al.* Functional Properties of Myofibrillar Protein-based Biopackaging as Affected by Film Thickness. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 61, n. 3, p. 580–584, 1996. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1996.tb13163.x>. Acesso em: 22 jan. 2021.

DA SILVA, M. A.; BIERHALZ, A. C. K.; KIECKBUSCH, T. G. Influence of drying conditions on physical properties of alginate films. **Drying Technology**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 72–79, 2012.

DA SILVA NETO, O. P. *et al.* Ozone slows down anthracnose and increases shelf life of papaya fruits. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s. l.], v. 41, n. 5, p. 1–12, 2019.

DALPONTE, I. *et al.* Degradação fotocatalítica de tartrazina com TiO₂ imobilizado em esferas de alginato. **Química Nova**, [s. l.], v. 39, n. 10, p. 1165–1169, 2016.

DARDER, M.; ARANDA, P.; RUIZ-HITZKY, E. Bionanocomposites: A new concept of ecological, bioinspired, and functional hybrid materials. **Advanced Materials**, [s. l.], v. 19, n. 10, p. 1309–1319, 2007.

DE LA ROSA-GARCÍA, S. C. *et al.* Antifungal activity of ZnO and MgO nanomaterials and their mixtures against *Colletotrichum gloeosporioides* strains from tropical fruit. **Journal of Nanomaterials**, [s. l.], v. 2018, p. 1–9, 2018. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jnm/2018/3498527/>.

DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA, D. *et al.* Edible coatings in post-harvest papaya: impact on physical–chemical and sensory characteristics. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 274–281, 2020.

DEAN, R. *et al.* The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.

DEMARTELAERE, A. C. F. *et al.* Elicitors on the control of anthracnose and post-harvest quality in papaya fruits. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, [s. l.], v. 47, n. 2, p. 211–217, 2017.

DENG, Z. *et al.* Cellulose nanomaterials emulsion coatings for controlling physiological activity, modifying surface morphology, and enhancing storability of postharvest bananas (*Musa acuminata*). **Food Chemistry**, [s. l.], v. 232, p. 359–368, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.028>.

DHUMAL, C. V.; SARKAR, P. Composite edible films and coatings from food-grade biopolymers. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 55, n. 11, p. 4369–4383, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3402-9>.

DIAS, L. R. C. *et al.* First Report of Papaya Fruit Anthracnose Caused by *Colletotrichum okinawense* in Brazil. **Plant Disease**, [s. l.], v. 104, n. 2, p. 573–573, 2020. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-06-19-1151-PDN>.

DIAS, M. R.; LEÃO, R. C.; COSTA, H. de S. Obtenção e processamento de microesferas de alginato / vidro bioativo. [s. l.], v. 12, p. 122–137, 2020.

DOS PASSOS BRAGA, S. *et al.* Application of coatings formed by chitosan and Mentha essential oils to control anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. brevisporum*

in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 139, p. 631–639, 2019.

ECHA. **Zinc oxide - Registration Dossier - ECHA**. [S. l.], 2020. Disponível em: <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/16139/7/3/1>. Acesso em: 27 nov. 2020.

EMAMIFAR, A.; BAVAISI, S. Nanocomposite coating based on sodium alginate and nano-ZnO for extending the storage life of fresh strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.). **Journal of Food Measurement and Characterization**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 1012–1024, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00350-x>.

ESCAMILLA-GARCÍA, M. *et al.* Effect of an edible coating based on chitosan and oxidized starch on shelf life of *Carica papaya* L., and its physicochemical and antimicrobial properties. **Coatings**, [s. l.], v. 8, n. 9, 2018.

FAO. **Alginic Acid - Table of Contents Compendium of Food Additive Specifications. Addendum 5. (FAO Food and Nutrition Paper - 52 Add. 5)**. Rome: [s. n.], 1997. Disponível em: <http://www.fao.org/3/w6355e/w6355e00.htm#Contents>. Acesso em: 14 out. 2020.

FAO. **Perdas e desperdícios de alimentos na América Latina e no Caribe**. [S. l.], 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/americas/noticias/ver/pt/c/239394/>. Acesso em: 23 abr. 2022.

FAOSTAT. **Crops - Papaya**. [S. l.], 2021b. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em: 20 abr. 2021.

FAOSTAT. **Crops and livestock products**. [S. l.], 2021a. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 8 nov. 2021.

FARIA, A. R. N. *et al.* **A cultura do mamão**. 3 ed.rev.aed. Brasília, DF.: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA**. [S. l.], 2020. Disponível em: <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/index.cfm>. Acesso em: 21 set. 2020.

FDA. **CFR - Code of Federal Regulations Title 21**. [S. l.], 1984. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=184.1733>. Acesso em: 3 maio 2022.

FDA. **CFR - Code of Federal Regulations Title 21**. [S. l.], 2019. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=182&showFR=1&subpartNode=21:3.0.1.1.13.9>. Acesso em: 23 out. 2020.

FERREIRA, A. R. V.; ALVES, V. D.; COELHO, I. M. Polysaccharide-based membranes in food packaging applications. **Membranes**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 1–17, 2016. Disponível em: <http://www.mdpi.com/2077-0375/6/2/22>. Acesso em: 11 out. 2020.

GALO, J. de Q. B. *et al.* Postharvest storage of papaya ‘Sunrise Solo’ with the use of chitosan. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s. l.], v. 36, n. 2, p. 305–312, 2014.

GARCÍA-ESTRADA, R. S. *et al.* First Report of Papaya (*Carica papaya*) Anthracnose Caused by *Colletotrichum plurivorum* in Mexico. **Plant Disease**, [s. l.], v. 104, n. 2, p. 589–589, 2020. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-05-19-0914-PDN>.

GOMAA, M. *et al.* Use of seaweed and filamentous fungus derived polysaccharides in the development of alginate-chitosan edible films containing fucoidan: Study of moisture sorption, polyphenol release and antioxidant properties. [S. l.]: Elsevier Ltd, 2018-. ISSN 0268005X.v. 82 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.056>.

GUERRA, I. C. D. *et al.* Coatings comprising chitosan and Mentha piperita L. or Mentha villosa Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 214, p. 168–178, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.08.009>.

HAN, J. *et al.* Environmental stability and curcumin release properties of Pickering emulsion stabilized by chitosan/gum arabic nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 157, p. 202–211, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.177>.

HASAN, S. M. K.; FERRENTINO, G.; SCAMPICCHIO, M. Nanoemulsion as advanced edible coatings to preserve the quality of fresh-cut fruits and vegetables: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 1–10, 2020.

HASSAN, B. *et al.* Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 109, p. 1095–1107, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.097>.

HE, L. *et al.* Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against Botrytis cinerea and Penicillium expansum. **Microbiological Research**, [s. l.], v. 166, n. 3, p. 207–215, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2010.03.003>.

HELAL, R. B.; HOSEN, S.; SHAMSI, S. Mycoflora associated with post-harvest disease of papaya (Carica papaya L.) and their pathogenic potentiality. **Bangladesh Journal of Botany**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 389–395, 2018.

HSU, S. H. *et al.* Chitosan as scaffold materials: Effects of molecular weight and degree of deacetylation. **Journal of Polymer Research**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 141–147, 2004.

IKRAM, E. H. K. *et al.* Phytochemicals of papaya and its traditional health and culinary uses - A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 41, p. 201–211, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2015.02.010>.

KANMANI, P.; RHIM, J.-W. Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 106, n. 1, p. 190–199, 2014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861714001271>.

KAUR, J. *et al.* Nanomaterial loaded chitosan nanocomposite films for antimicrobial food packaging. **Materials Today: Proceedings**, [s. l.], v. 28, n. xxxx, p. 1904–1909, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.309>.

KERCH, G. Chitosan films and coatings prevent losses of fresh fruit nutritional quality: A review. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 159–166, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.010>.

KHARCHOUFI, S. *et al.* Edible coatings incorporating pomegranate peel extract and biocontrol yeast to reduce Penicillium digitatum postharvest decay of oranges. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 74, p. 107–112, 2018.

KIM, K. W. *et al.* Antimicrobial activity against foodborne pathogens of chitosan biopolymer films of different molecular weights. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 44, n. 2, p. 565–569, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.08.001>.

KOŁODZIEJCZAK-RADZIMSKA, A.; JESIONOWSKI, T. Zinc oxide-from synthesis to application: A review. **Materials**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 2833–2881, 2014.

KONICA MINOLTA. **Espaço de cor L * C * h Medindo várias cores com um colorímetro. Colorimetria: como medir diferenças de cor.** [S. l.: s. n.], 2019. Disponível em: [https://sensing.konicaminolta.us/br. .](https://sensing.konicaminolta.us/br.)

KULIG, D. *et al.* Study on alginate-chitosan complex formed with different polymers ratio. **Polymers**, [s. l.], v. 8, n. 5, p. 1–17, 2016.

KWOK, D. Y.; NEUMANN, A. W. Contact angle measurement and contact angle interpretation. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 81, n. 3, p. 167–249, 1999.

LAVINIA, M. *et al.* Antimicrobial activity and application of nanocomposite coating from chitosan and ZnO nanoparticle to inhibit microbial growth on fresh-cut papaya. **Food Research**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 307–311, 2020.

LAWRIE, G. *et al.* Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. **Biomacromolecules**, [s. l.], v. 8, n. 8, p. 2533–2541, 2007.

LIMA, A. M. F. *et al.* Influence of plasticizer addition and crosslinking process on morphology, water absorption and mechanical properties of sodium alginate films | Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedad. **Química Nova**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 832–837, 2007.

LIMA, A. M. F.; ANDREANI, L.; SOLDI, V. Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. **Química Nova**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 832–837, 2007.

LIMA OLIVEIRA, P. D. *et al.* Control of anthracnose caused by Colletotrichum species in guava, mango and papaya using synergistic combinations of chitosan and Cymbopogon citratus (D.C. ex Nees) Stapf. essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 266, n. November 2017, p. 87–94, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.018>.

LINKE, B. G. O.; CASAGRANDE, T. A. C.; CARDOSO, L. A. C. Food additives and their health effects: A review on preservative sodium benzoate. **African Journal of Biotechnology**, [s. l.], v. 17, n. 10, p. 306–310, 2018.

LIU, Y. *et al.* **Cation-controlled aqueous dispersions of alginic-acid-wrapped multi-walled carbon nanotubes**Small. [S. l.: s. n.], 2006.

MA, H.; WILLIAMS, P. L.; DIAMOND, S. A. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles - A review. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 172, p. 76–85, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.08.011>.

MARQUEZ-ZEQUERA, I. *et al.* First Report of Carica papaya Fruit Anthracnose Caused by Colletotrichum fructicola in Mexico. **Plant Disease**, [s. l.], v. 102, n. 12, p. 2649–2649, 2018. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-05-18-0736-PDN>.

MARTINS, D. M. S.; BLUM, L. E. B. Reduction of post-harvest anthracnose and dry rot of

papaya by hydro-thermal treatment. **Revista Caatinga**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 98–105, 2014.

MCHUGH, T. H. Protein-lipid interactions in edible films and coatings. **Nahrung - Food**, [s. l.], v. 44, n. 3, p. 148–151, 2000.

MCHUGH, D. **Technical Paper N° 441**. [s. l.], 2003. Disponível em: <https://www.feedipedia.org/node/17853>. Acesso em: 12 out. 2020.

MERCK S/A. **Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos - 108846 Óxido de zinco**. Concessão: 2010.

MOSQUERA-SÁNCHEZ, L. P. *et al.* Antifungal effect of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) on *Colletotrichum* sp., causal agent of anthracnose in coffee crops. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 25, n. April, 2020.

MOTELICA, L. *et al.* Biodegradable alginate films with zno nanoparticles and citronella essential oil-a novel antimicrobial structure. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 13, n. 7, 2021.

NAIR, M. S. *et al.* Enhancing the functionality of chitosan- and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 164, p. 304–320, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.083>.

NERY-SILVA, F. A. *et al.* Inoculation methodology s of papaya fruits with fungi causing stem-end-rot. **Ciência e Agrotecnologia**, [s. l.], v. 31, n. 5, p. 1374–1379, 2007.

NEŠIĆ, A. *et al.* Prospect of polysaccharide-based materials as advanced food packaging. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 1, 2020.

OECD/FAO. **“Other products” in OECD-FAO Agricultural Outlook 2020-2029**. Rome: OECD, 2020-. ISSN 2020-2029.(OECD-FAO Agricultural Outlook). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1787/agr-outl-data-en>. Acesso em: 12 maio 2021.

OLIVEIRA, A. A. *et al.* **Mamão: Fitossanidade**. 1 ed.ed. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000.

ÖZDEMİR, K. S.; GÖKMEN, V. Extending the shelf-life of pomegranate arils with chitosan-ascorbic acid coating. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 76, p. 172–180, 2017.

PADMAVATHY, N.; VIJAYARAGHAVAN, R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles - An antimicrobial study. **Science and Technology of Advanced Materials**, [s. l.], v. 9, n. 3, 2008.

PARIONA, N. *et al.* Shape-dependent antifungal activity of ZnO particles against phytopathogenic fungi. **Applied Nanoscience (Switzerland)**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 435–443, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13204-019-01127-w>.

PARREIDT, T. S. *et al.* The development of a uniform alginate-based coating for cantaloupe and strawberries and the characterization of water barrier properties. **Foods**, [s. l.], v. 8, n. 6, 2019.

PEREIRA, T. *et al.* Gas diffusion in “Golden” papaya fruit at different maturity stages. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 54, n. 3, p. 123–130, 2009.

PERES, N. A. R. *et al.* Identification and Characterization of *Colletotrichum* spp . affecting Fruit after Harvest in Brazil. **J.Phytopathology**, [s. l.], v. 150, n. 09311785, p. 128–134, 2002.

PERES, Â. P. *et al.* Morphocultural and Genetic Variability of Fungi Associated With Stem-End Rot of Papaya. **Ciência e Agrotecnologia**, [s. l.], v. 27, n. 5, p. 1053–1062, 2003.

PEREZ-GAGO, M. B. *et al.* Effect of whey protein-and hydroxypropyl methylcellulose-based edible composite coatings on color change of fresh-cut apples. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 36, p. 77–85, 2005.

PIRES, M. *et al.* Compostos Antimicrobianos Em Filme De Polietileno–Técnicas De Caracterização E Quantificação. **10º Congresso Brasileiro de Polímeros**, [s. l.], n. February 2015, p. 9, 2009. Disponível em: <http://www.ipen.br/biblioteca/cd/cbpol/2009/PDF/495.pdf>.

POSSOMAI, D. C. *et al.* Obtenção e avaliação das propriedades mecânicas de polímeros biodegradáveis a base de amido de milho e proteína do soro do leite. *In:* , 2017, Gramado, RS. **57º Congresso Brasileiro de Química ISBN 978-85-85905-21-7**. Gramado, RS: [s. n.], 2017. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2017/trabalhos/12/12011-24773.html>.

REDDY, M. M. M. M. *et al.* Biobased plastics and bionanocomposites: Current status and future opportunities. **Progress in Polymer Science**, [s. l.], v. 38, n. 10–11, p. 1653–1689, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.006>.

REMUNAN-LOPEZ, C.; BODMEIA, R. Mechanical, water uptake and permeability properties of crosslinked chitosan glutamate and alginate films. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 44, p. 215–225, 1997.

REZENDE, J. A. M.; FANCELLI, M. L. Doenças do mamoeiro (*Carica papaya* L.). *In:* KIMATI, H. *et al.* (org.). **Manual de fitopatologia Volume 2: Doenças de plantas cultivadas**. 3 ed.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 453–463.

RHIM, J. W. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 323–330, 2004.

RHIM, J. W.; NG, P. K. W. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 411–433, 2007.

RODRIGUES, J. P. *et al.* Current technologies to control fungal diseases in postharvest papaya (*Carica papaya* L.). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 36, n. August, 2021.

ROMANAZZI, G. *et al.* Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 75, p. 24–27, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.07.007>.

ROY, S.; RHIM, J. W. Carboxymethyl cellulose-based antioxidant and antimicrobial active packaging film incorporated with curcumin and zinc oxide. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 148, p. 666–676, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.204>.

RUFINO, M. do S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>.

SAINI, T. J.; GUPTA, S. G.; ANANDALAKSHMI, R. First report of papaya anthracnose caused by *Colletotrichum salsolae* in India . **New Disease Reports**, [s. l.], v. 35, p. 27, 2017.

SALES, M. J. A.; SCHLEMMER, D.; RESCK, I. S. Preparação, caracterização e degradação de blendas PS/TPS usando glicerol e óleo de buriti como plastificantes. **Polímeros**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 6–13, 2010.

SANTANA, A. A.; KIECKBUSCH, T. G. Physical evaluation of biodegradable films of calcium alginate plasticized with polyols. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 835–845, 2013.

SANTOS, J. E. dos *et al.* Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 242–249, 2003.

SARENGAOWA *et al.* Effect of thyme oil–alginate-based coating on quality and microbial safety of fresh-cut apples. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 98, n. 6, p. 2302–2311, 2018.

SARKHOSH, A. *et al.* Antifungal activity of five plant-extracted essential oils against anthracnose in papaya fruit. **Biological Agriculture and Horticulture**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 18–26, 2018. Disponível em: <http://doi.org/10.1080/01448765.2017.1358667>.

SATRIAJI, K. P. *et al.* Antibacterial bionanocomposite films based on CaSO₄-crosslinked alginate and zinc oxide nanoparticles. **Food Packaging and Shelf Life**, [s. l.], v. 24, 2020.

SCHMIDT-MENDE, L.; MACMANUS-DRISCOLL, J. L. ZnO - nanostructures, defects, and devices. **Materials Today**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 40–48, 2007.

SEIXAS, F. L. *et al.* Biofilms composed of alginate and pectin: Effect of concentration of crosslinker and plasticizer agents. **Chemical Engineering Transactions**, [s. l.], v. 32, p. 1693–1698, 2013.

SHAHMOHAMMADI, M.; JAVADI, M.; NASSIRI-ASL, M. An Overview on the Effects of Sodium Benzoate as a Preservative in Food Products. **Biotechnology and Health Sciences**, [s. l.], v. 3, n. 3, 2016.

SHARMA, S. *et al.* Fabrication of antibacterial silver nanoparticle - Sodium alginate-chitosan composite films. **RSC Advances**, [s. l.], v. 2, n. 13, p. 5837–5843, 2012.

SHARMA, S.; BARMAN, K.; SIDDIQUI, M. W. **Chitosan: Properties and roles in postharvest quality preservation of horticultural crops**. [S. l.]: Elsevier Inc., 2016. *E-book*. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804313-4/00009-8>.

SHIGEMATSU, E. *et al.* Edible coating with coconut water to preserve probiotic strains and sensory characteristics of minimally processed carrots. **International Food Research Journal**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 1285–1292, 2019.

SHIVAS, R. G.; CAI, L. Cryptic fungal species unmasked. **Microbiology Australia**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 36, 2012.

SILVA, S. H. de T. e. **Confecção e caracterização físico-química e da atividade antimicrobiana de biofilmes nanocompósitos à base de alginato contendo nanopartículas de ZnO**. 2017. 130 f. - Universidade Estadual de Campinas, [s. l.], 2017.

SIRELKHATIM, A. *et al.* Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. **Nano-Micro Letters**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 219–242, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>.

SIVAKUMAR, D.; WALL, M. M. Papaya Fruit Quality Management during the Postharvest Supply Chain. **Food Reviews International**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 24–48, 2013.

SONG, Y. *et al.* Effect of sodium alginate-based edible coating containing different antioxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). **Food Control**, [s. l.], v. 22, n. 3–4, p. 608–615, 2011.

SOUZA, V. G. L. *et al.* Biodegradable chitosan films with ZnO nanoparticles synthesized using food industry by-products—production and characterization. **Coatings**, [s. l.], v. 11, n. 6, 2021.

SUHAG, R. *et al.* Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. **Food Research International**, [s. l.], v. 136, n. March, p. 109582, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109582>.

SUPAPVANICH, S.; PROMYOU, S. Hot water incorporated with salicylic acid dips maintaining physicochemical quality of “Holland” papaya fruit stored at room temperature. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 18–24, 2017.

TABASSUM, N.; KHAN, M. A. Modified atmosphere packaging of fresh-cut papaya using alginate based edible coating: Quality evaluation and shelf life study. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 259, n. March 2019, p. 108853, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108853>.

TAMIMI, N. *et al.* The effects of nano-zinc oxide morphology on functional and antibacterial properties of tapioca starch bionanocomposite. **Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. 4497–4508, 2021.

TARNOWSKI, T. L. B.; PLOETZ, R. C. First Report of *Colletotrichum capsici* Causing Postharvest Anthracnose on Papaya in South Florida. **Plant Disease**, [s. l.], v. 94, n. 8, p. 1065–1065, 2010. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-94-8-1065B>.

TATAGIBA, J. S. *et al.* Control and favourable weather for anthracnose of papaya Anthracnose. **Fitopatologia Brasileira**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 186–192, 2002.

TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 137, p. 360–374, 2016.

TAYEL, A. A. *et al.* Nanometals Appraisal In Food Preservation And Food-related Activities. In: GRUMEZESCU, A. M. (org.). **Food Preservation, Nanotechnology in the Agri-Food Industry**. [S. l.]: Elsevier Inc., 2017. p. 40.

TRINDADE, A. V. *et al.* **Mamão, Produção: aspectos técnicos**. Brasília, DF.: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000.

TURBIANI, F. R. B. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes de Alginato de Sódio Reticulados com Benzoato de Cálcio. [s. l.], p. 126, 2007.

TURBIANI, F. R. B.; KIECKBUSCH, T. G.; GIMENES, M. L. Liberação de benzoato de cálcio de filmes de alginato de sódio reticulados com íons cálcio. **Polímeros**, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 175–181, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282011000300004&lng=pt&tlng=pt.

VALERO, D. *et al.* Effects of alginate edible coating on preserving fruit quality in four plum

cultivars during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 77, p. 1–6, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.10.011>.

VASCONCELOS, M. O. P. de. **Filmes bioativos de quitosana, alginato e suas blendas aditivadas com nanoZnO: produção e caracterização**. 2016. 66 f. - Universidade Federal Rural de Pernambuco, [s. l.], 2016.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J. da S. Papaya Diseases and Integrated Control. In: NAQVI, S. A. M. H. (org.). **Diseases of Fruits and Vegetables: Volume II**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2004. p. 201–269. *E-book*. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/1-4020-2607-2>.

VERMA, D. *et al.* Characterization of surface charge and mechanical properties of chitosan/alginate based biomaterials. **Materials Science and Engineering C**, [s. l.], v. 31, n. 8, p. 1741–1747, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2011.08.005>.

VIEIRA, T. M.; MOLDÃO-MARTINS, M.; ALVES, V. D. Design of chitosan and alginate emulsion-based formulations for the production of monolayer crosslinked edible films and coatings. **Foods**, [s. l.], v. 10, n. 7, 2021.

VILAPLANA, F.; STRÖMBERG, E.; KARLSSON, S. Environmental and resource aspects of sustainable biocomposites. **Polymer Degradation and Stability**, [s. l.], v. 95, n. 11, p. 2147–2161, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.07.016>.

VITAL, A. C. P. *et al.* Quality and sensory acceptability of fish fillet (*Oreochromis niloticus*) with alginate-based coating containing essential oils. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 55, n. 12, p. 4945–4955, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3429-y>.

WANG, H. *et al.* Preparation and characterization of multilayer films composed of chitosan, sodium alginate and carboxymethyl chitosan-ZnO nanoparticles. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 283, n. November 2018, p. 397–403, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.022>.

WANG, Z. L. Zinc oxide nanostructures: Growth, properties and applications. **Journal of Physics Condensed Matter**, [s. l.], v. 16, n. 25, p. 829–858, 2004.

WANG, L.; KHOR, E.; LIM, L. Y. Chitosan-alginate-CaCl₂ system for membrane coat application. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 90, n. 8, p. 1134–1142, 2001.

YADAV, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, P. K. Chitosan based ZnO nanoparticles loaded gallic-acid films for active food packaging. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 334, n. June 2020, p. 127605, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127605>.

YAN, X. L.; KHOR, E.; LIM, L. Y. Chitosan-alginate films prepared with chitosans of different molecular weights. **Journal of Biomedical Materials Research**, [s. l.], v. 58, n. 4, p. 358–365, 2001.

YOUSSEF, A. M.; EL-SAYED, S. M. Bionanocomposites materials for food packaging applications: Concepts and future outlook. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 193, n. March, p. 19–27, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.088>.

ZACTITI, É. M. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis de alginato de cálcio sem e com sorbato de potássio**. 2004. 150 f. - Universidade Estadual de Campinas, [s.

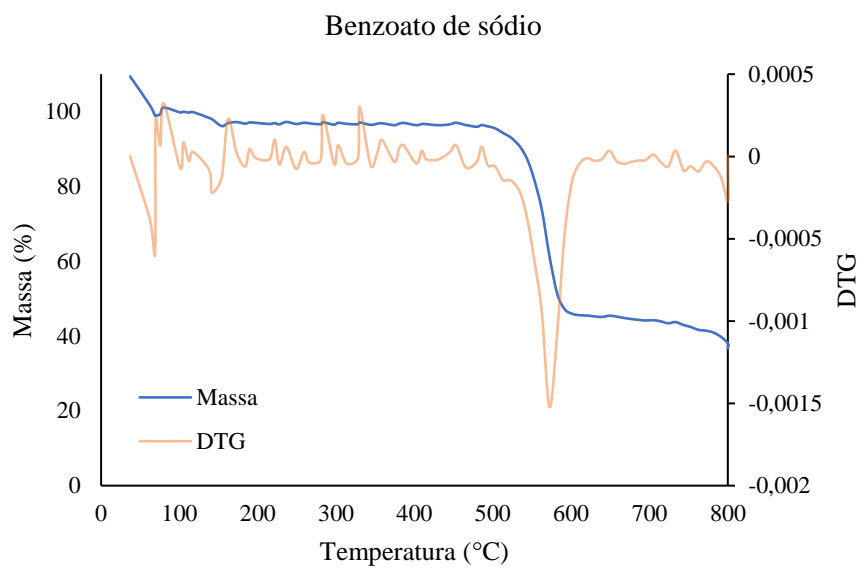
l.], 2004.

ZENGIN, N. *et al.* The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: Sodium benzoate and potassium benzoate. **Food and Chemical Toxicology**, [*s. l.*], v. 49, n. 4, p. 763–769, 2011.

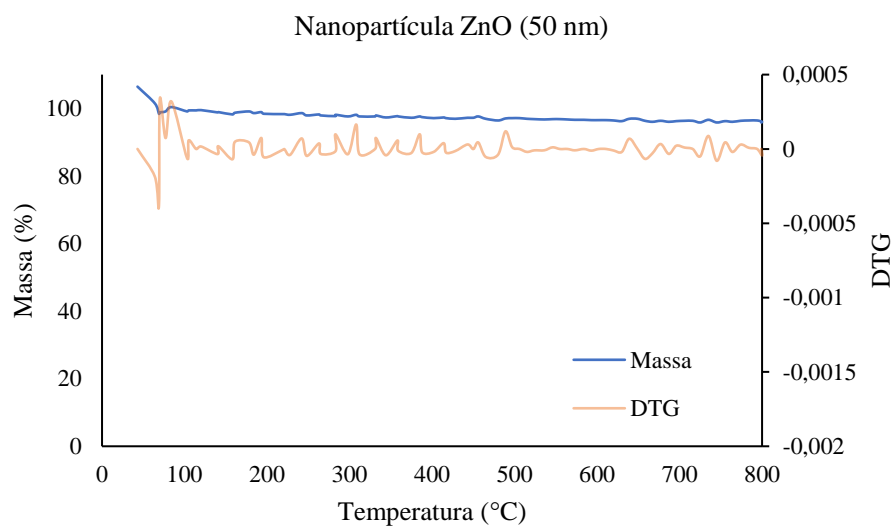
ZHANG, G.; MA, Y. Spectroscopic studies on the interaction of sodium benzoate, a food preservative, with calf thymus DNA. **Food Chemistry**, [*s. l.*], v. 141, n. 1, p. 41–47, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.122>.

ANEXO

a



b



Termograma do benzoato de sódio (a) e ZnO_{nano} (b).