



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA  
DOUTORADO EM FITOTECNIA

FRANCISCO LEONARDO GOMES DE MENEZES

**AVALIAÇÃO DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS COM INCORPORAÇÃO DE  
NANOPARTÍCULAS DE TiO<sub>2</sub> E SUA APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO PÓS-  
COLHEITA DO MAMÃO**

MOSSORÓ-RN

2021

FRANCISCO LEONARDO GOMES DE MENEZES

**AVALIAÇÃO DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS COM INCORPORAÇÃO DE  
NANOPARTÍCULAS DE TiO<sub>2</sub> E SUA APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO PÓS-  
COLHEITA DO MAMÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Bioquímica, Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita.

Orientadora: Profa. Dra. Edna Maria Mendes Aroucha

Coorientador: Prof. Dr. Francisco Klebson Gomes dos Santos

MOSSORÓ-RN

2021

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

M541a Menezes, Francisco Leonardo Gomes de.

Avaliação de filmes biopoliméricos com incorporação de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> e sua aplicação na conservação pós-colheita do mamão / Francisco Leonardo Gomes de Menezes. - 2021.  
126 f.: il.

Orientadora: Edna Maria Mendes Aroucha.

Coorientador: Francisco Klebson Gomes dos Santos.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, 2021.

1. Quitosana. 2. Fécula de mandioca. 3. Revestimento. 4. Qualidade. 5. Carica papaya L. I. Aroucha, Edna Maria Mendes, orient. II. Santos, Francisco Klebson Gomes dos, co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade com AACR2 e os dados fornecidos pelo autor(a).

Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência

Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva

CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

FRANCISCO LEONARDO GOMES DE MENEZES

**AVALIAÇÃO DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS COM INCORPORAÇÃO DE  
NANOPARTÍCULAS DE TiO<sub>2</sub> E SUA APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO PÓS-  
COLHEITA DO MAMÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Bioquímica, Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita.

Defendida em: 30 / 11 / 2021.

**BANCA EXAMINADORA**

EDNA MARIA MENDES  
AROUCHA:51611554349

Assinado de forma digital por EDNA MARIA MENDES  
AROUCHA:51611554349  
Dados: 2022.01.21 08:05:58 -03'00'

Edna Maria Mendes Aroucha, Profa. Dra. (UFERSA)  
Presidente



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por GERALDA GILLIAN SILVA SENA - SIAPE 1816758 Departamento de Educação Integrada em Saúde - DEIS/CCS Em 25/01/2022 às 09:19

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/347811?tipoArquivo=0>

Geralda Gillian Silva Sena, Profa. Dra. (UFES)  
Membro Examinador

RICARDO HENRIQUE DE  
LIMA LEITE:52264343400

Assinado de forma digital por  
RICARDO HENRIQUE DE LIMA  
LEITE:52264343400  
Dados: 2022.01.21 12:49:52 -03'00'

Ricardo Henrique de Lima Leite, Prof. Dr. (UFERSA)  
Membro Examinador

José Gustavo Lima de Almeida, Dr. (UFERSA)  
Membro Examinador

Cristiane Alves de Paiva, Dra. (Autônoma)  
Membro Examinador

Aos meus pais Antonia Gomes e Lavosier Filgueira,  
à minha esposa, Suzana, e à minha filha, Analívia, que,  
com paciência e amor, suportaram minha ausência.

**Com muito orgulho, dedico**

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, agradecer a Deus por me guiar, iluminar e me dar forças e tranquilidade para realizar os meus objetivos;

À toda minha maravilhosa família: mãe, pai, irmãos, esposa e filha, por me incentivar e apoiar nos momentos difíceis;

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido-UFERSA e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade de concluir o curso de Doutorado em Agronomia/Fitotecnia;

À minha orientadora, Dra. Edna Aroucha, pela disposição, dedicação, confiança e incentivos conferidos e, principalmente, pela excelente orientação que aprimoraram meu desempenho como pesquisador;

Ao meu Coorientador, Dr. Francisco Klebson, pelo apoio, paciência e valioso conhecimento que me transmitiu;

Aos professores Dr. Ricardo Leite e Dr. Adrianus Indrat, agradeço as valiosas contribuições no desenvolvimento deste trabalho;

A todos do corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia que tive imensa satisfação de ser aluno e que me transmitiram valiosos conhecimentos;

A todos os amigos do Laboratório de Tecnologia de Alimentos que conviveram comigo e fizeram parte dessa história;

A todos que, de alguma maneira, contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

“Na vida, não existe nada a temer, mas a entender”.

(Marie Curie)

## RESUMO

O mamão é um fruto climatérico, com intensa atividade metabólica, o que compromete sua conservação pós-colheita. A utilização de tecnologias inovadoras e sustentáveis para prolongar a vida útil dos frutos aponta para o uso de filmes biopoliméricos em substituição às embalagens petroquímicas. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes biopoliméricos de quitosana e fécula de mandioca com adição de nanopartículas de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) e avaliar sua viabilidade na conservação pós-colheita de mamão. Para isso, foram desenvolvidos e caracterizados os seguintes filmes: quitosana (2% p/p), fécula de mandioca (2% p/p) e blenda de quitosana/fécula de mandioca (1:1), na ausência e na presença de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> (0,25 e 1% p/p). A metodologia de superfície de resposta foi utilizada para avaliar a influência dos teores de quitosana e nano-TiO<sub>2</sub> na permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, propriedades mecânicas e ópticas de bionanocompósitos à base de fécula de mandioca. Para avaliar sua viabilidade como coberturas (revestimentos) à base de quitosana/fécula de mandioca/TiO<sub>2</sub> para o mamão Formosa, três tratamentos foram aplicados: T1: mamão não revestido, T2: revestido com quitosana/fécula de mandioca (1:1) e T3: revestido com quitosana/fécula de mandioca (1:1) associado a 1% de TiO<sub>2</sub>, tanto na presença quanto na ausência de luz ultravioleta, a 15 ± 1°C, 90 ± 1% Umidade Relativa por 24 dias. Para avaliar o efeito das coberturas na atividade respiratória, qualidade físico-química e sensorial de mamão Havaí, foram aplicados os mesmos tratamentos, na presença de luz fluorescente, a 22 ± 1°C e 80 ± 1% umidade relativa ao longo de 18 dias. Os resultados indicaram que as propriedades dos filmes relacionadas à água (permeabilidade, solubilidade e sorção de água) e mecânicas (resistência à tração, alongamento e módulo de Young) foram fortemente influenciadas pelas características dos biopolímeros utilizados e melhoradas com adição de TiO<sub>2</sub>. A sorção de água foi reduzida na presença de TiO<sub>2</sub>, o que tornou o filme mais hidrofóbico e com maior resistência à tração em mais de 15% e alongamento em mais de 100%. A adição de 1% de TiO<sub>2</sub> também levou a uma redução na transmitância de 97% nas regiões UV. No entanto, a adição de TiO<sub>2</sub> superior a 1% levou à formação de aglomerados e à redução da transparência do filme; a luz ultravioleta proporcionou danos superficiais na casca do mamão Formosa, evidenciado por acentuada perda de massa; mas a adição de 1% de TiO<sub>2</sub> à mistura de biopolímero de quitosana/fécula reduziu a perda de massa e atrasou o amadurecimento dos frutos. Frutos de mamão Formosa revestidos apresentaram qualidades externas e internas adequadas para comercialização. As coberturas em mamão Havaí reduziram a taxa respiratória e a perda de massa, retardou os eventos que conduzem à senescência, diminuiu a degradação da clorofila e síntese de carotenoides, manteve maior firmeza de polpa, sólidos solúveis, acidez, *ratio* (SS/AT), pH, cor da casca e polpa, proporcionou menor índice de podridão, enrugamento e melhor aparência interna, resultando em frutos mais atrativos sensorialmente para a comercialização. As coberturas apresentaram boa adesividade à casca do fruto, menor presença de fungo e melhor odor, cor, brilho e aceitação. O revestimento com adição de TiO<sub>2</sub>, na presença de luz fluorescente, propiciou maior conservação pós-colheita do mamão - em até seis dias se comparado aos frutos com cobertura sem TiO<sub>2</sub> e, nove dias em relação aos frutos controle.

**Palavras-chave:** Quitosana. Fécula de mandioca. Bioplástico. Revestimento. Qualidade. *Carica papaya* L.



## ABSTRACT

Papaya is a climacteric fruit, with intense metabolic activity, which compromises its post-harvest conservation. The use of innovative and sustainable technologies to prolong the fruit's shelf life, point to the use of biopolymeric films to replace petrochemical packaging. In this sense, the objective of this work was to develop and characterize biopolymeric films of chitosan and cassava starch with addition of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles and their viability in the postharvest conservation of papaya. For this, the following films were developed and characterized: chitosan (2% w/w), cassava starch (2% w/w) and chitosan/cassava starch blend (1:1), in the absence and presence of nanoparticles of TiO<sub>2</sub> (0.25 and 1% w/w). The response surface methodology was used to evaluate the influence of chitosan and nano-TiO<sub>2</sub> contents on water vapor permeability, solubility, mechanical and optical properties of cassava starch-based bionanocomposites. To assess its viability, chitosan/cassava starch/TiO<sub>2</sub> coatings for Formosa papaya, three treatments were applied: T1: uncoated papaya, T2: coated with chitosan/cassava starch (1:1) and T3 coated with chitosan/cassava starch (1:1) associated with 1% TiO<sub>2</sub>, both in the presence and absence of ultraviolet light, at 15 ± 1°C, 90 ± 1% RH for 24 days. To evaluate the effect of coatings on respiratory activity, physical-chemical and sensory quality of Hawaiian papaya, the same treatments were applied, in the presence of fluorescent light, at 22 ± 1°C and 80 ± 1% RH over 18 days. The results indicate that the properties of the films related to water (permeability, solubility and water sorption) and mechanical (strain, elongation and Young's modulus) are strongly influenced by the characteristics of the biopolymers used and improved with the addition of TiO<sub>2</sub>. Water sorption was reduced in the presence of TiO<sub>2</sub>, which made the film more hydrophobic and with greater tensile strength by more than 15% and elongation by more than 100%. The addition of 1% TiO<sub>2</sub> also led to a 97% reduction in transmittance in the UV regions. However, the addition of TiO<sub>2</sub> greater than 1% led to the formation of agglomerates and reduction in the transparency of the film; ultraviolet light provided superficial damage to the Formosa papaya peel, which was evidenced by a greater loss of mass; however, the addition of 1% nano TiO<sub>2</sub> to the chitosan/starch biopolymer mixture reduced weight loss and delayed fruit ripening. Coated Formosa papaya fruits presented external and internal qualities suitable for commercialization. The coatings in Hawaiian papaya reduced respiratory rate and mass loss, delayed the events that lead to senescence, decreased chlorophyll degradation and carotenoid synthesis, maintained greater pulp firmness, soluble solids, acidity, *ratio* (SS/TA), pH, skin and pulp color, lower rot index, wrinkling and better internal appearance, resulting in more sensory attractive fruits for commercialization. The coatings showed good adhesion to the fruit peel, less fungi and better odor, color, shine and acceptance. The coating with the addition of TiO<sub>2</sub>, in the presence of fluorescent light, provided greater postharvest conservation of papaya - in up to six days compared to fruits with coating without TiO<sub>2</sub> and nine days in relation to the control fruits.

**Keywords:** Chitosan. Cassava Starch. Bioplastic. Coating. Quality. *Carica papaya* L.

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1 – Estádios de maturação do mamão. Da esquerda para a direita, totalmente verde, estádios de maturação 25%, 50%, 75%, 100% e senescência. Fonte: Próprio autor..... 21
- Figura 2 – Apresentação de coberturas e filmes biopoliméricos. Da esquerda para a direita, mamão sem coberturas (revestimentos) (a), mamão com coberturas (revestimentos) (b) e mamão com filmes obtidos pelo método de moldagem (casting) (c). Fonte: Próprio autor ..... 23
- Figura 3 – Estrutura química da quitosana (a) e da amilopectina e amilose (b). Fonte: Próprio autor. .... 23
- Figura 4 – Diagrama esquemático do possível mecanismo da atividade antimicrobiana e da degradação fotocatalítica do etileno no filme nanocompósito de quitosana/TiO<sub>2</sub> exposto à luz ultravioleta. Fonte: (KAEWKLIN et al., 2018; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018)..... 25

### CAPÍTULO I

- Figure 1 – Schematic representation of the preparation of films CH, ST, CH/ST, CH/ST/T 0.25% and CH/ST/T 1%..... 37
- Figure 2 – SEM images of the surface and the cross-section (insets) of the biofilms (top left to right: CH, ST, and CH/ST) and bionanocomposites (bottom left to right: CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1%) ..... 41
- Figure 3 – X-ray diffraction patterns of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1% films with that of TiO<sub>2</sub> nanoparticles powder as a comparison. The powdered TiO<sub>2</sub> nanoparticles exhibit 2 $\theta$  diffraction peaks correspond to anatase phase (\*) at 25°, 37.5°, 48°, 54 ° and 55°, and to rutile phase (\*\*) at 27° and 42°... 42
- Figure 4 – Water vapour permeability of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1%. Different letters indicate statistical difference (p < 0.05). Vertical error bars indicate the standard deviation (SD) from the mean with n = 5.....43
- Figure 5 – Water solubility of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1%. Different letters indicate statistical difference (p < 0.05). Vertical error bars indicate the standard deviation (SD) from the mean with n = 5. .... 44

|          |   |    |
|----------|---|----|
| Figure 6 | – Mechanical properties: (a) Tensile strength, (b) elongation at break, and Young's modulus of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1%. Different letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Vertical error bars indicate the standard deviation (SD) from the mean with $n = 5$ ..... 45   | 45 |
| Figure 7 | – Water sorption isotherms for CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1% films at 25 °C. Data points and lines represent experimental observation and GAB model fittings, respectively. Water sorption is presented as the amount of water per dry matter ( $X$ ) as a function of water activity ( $a_w$ ). Vertical error bars indicate the standard deviation (SD). $n = 5$ . ..... 47 | 47 |
| Figure 8 | – Photo taken of films a) CH, b) ST, c) CH/ST, d) CH/ST/T 0.25% and e) CH/ST/T 1%) on a standard black and white background... ..... 50   | 50 |
| Figure 9 | – UV-vis absorbance spectra of films (a) CH, (b) ST, (c) CH/ST, (d) CH/ST/T0.25%, and (e) CH/ST/T1% ..... 51  | 51 |

## CAPÍTULO II

|          |  |    |
|----------|--|----|
| Figure 1 | – Variation of WVP (a), Solubility (b) Tensile strength (c), Elongation at break (d), Modulus of elasticity (e) and Opacity (f) of cassava starch nanocomposite films, as a function of chitosan and nano-TiO <sub>2</sub> percentages... ..... 71   | 71 |
| Figure 2 | – Scanning electron microscopy of the surface and cross section (inserts) of biofilms (a) CH, (b) CH/T 1%, (c) CH/T 2%, (d) ST, (e) ST/T 1 %), (f) ST/T 2%), (g) CH/ST, (h) CH/ST/T 1%) and (i) CH/ST/T 2%) ..... 72   | 72 |
| Figure 3 | – UV-vis absorbance spectra (a), thickness, transmittance in the UV-A, UV-B, UV-C and visible regions and color parameters (b) of the films used as coatings. Dataset is presented as mean $\pm$ standard deviation ( $n = 5$ ). Different letters indicate statistical difference by Tukey's test ( $p < 0.05$ ) ..... 73   | 73 |
| Figure 4 | – Illustration of papaya peel color (external appearance) and internal appearance upon different coatings, both in the presence and absence of UV light at $15 \pm 1^\circ\text{C}$ and $90 \pm 1\%$ RH for 24 days of storage ..... 77  | 77 |
| Figure 5 | – External (a) and internal (b) appearance of papaya fruit upon different coatings, both in the presence and absence of UV light at $15 \pm 1^\circ\text{C}$ and $90 \pm 1\%$ RH for 24 days of storage. Results are expressed as mean $\pm$ standard deviation ( $n = 3$ ). Different lower-case letters indicate the statistically significant difference among treatments at the same light condition by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). |    |

Different upper-case letters indicate the statistically significant difference among light condition at the same treatment by Tukey's test ( $p < 0.05$ )..... 77

### CAPÍTULO III

- Figura 1 – Imagens de MEV da superfície e da seção transversal (inserções) da casca do mamão sem cobertura (a), com cobertura de CH/ST (b) e com cobertura de CH/ST/T (c). ..... 100
- Figura 2 – Taxa de respiração ( $\text{mgCO}_2 \text{ Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR ..... 101
- Figura 3 – Perda de massa (%) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )..... 102
- Figura 4 – Firmeza de polpa (N) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )..... 104
- Figura 5 – Luminosidade (coordenada L) (a), croma (coordenada C) (b) e ângulo hue (coordenada H (tonalidade)) (c) da casca de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias

de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )..... 106

Figura 6 – Luminosidade (coordenada L) (a), croma (coordenada C) (b) e ângulo hue (coordenada H (tonalidade)) (c) da polpa de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )..... 108

Figura 7 – Clorofila a (a), clorofila b (b), licopeno (c) e *B*-caroteno (d) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )..... 110

Figura 8 – Figura 8. Ilustração da cor da casca do mamão Havaí, aspecto externo e aspecto interno, acondicionado com diferentes coberturas a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR por 18 dias ..... 111

Figura 9 – Teor de sólidos solúveis (SS) (a), acidez titulável (TA) (b), relação SS/AT (c) e pH (d) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os

tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )..... 113

Figura 10 – Índice de aparência externa de enrugamento (a), índice de aparência externa de podridão (b), e aparência interna (c) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )..... 116

Figura 11 – Análise sensorial de mamões Havaí armazenados por  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR, utilizando escala hedônica, (a) aceitação: 1 = Excelente (fresco) a 4 = Inaceitável (velho e / ou mofado, desidratação grave), (b) odor: 1 = Excelente (sem odor desagradável) a 4 = Inaceitável (odor desagradável moderado ou grave), (c) cor: 1 = Excelente (uniformes, brilhantes) a 4 = Inaceitável (perda do brilho, manchas muito intensas, desagradável), (d) fungo: 1 = Excelente (não fungo) a 4 = Inaceitável (fungo severo afetando mais de 50% da fruta), (e) brilho: 1 = Excelente (brilhante) a 4 = Inaceitável (embaçado) e (f) adesividade do filme: 1 = Excelente (sem descamação) a 4 = Inaceitável (com descamação intensa afetando mais de 50% da fruta). Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).  $n = 5$ ... 118

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

|         |  |
|---------|--|
| Table 1 | – GAB parameters for the moisture sorption isotherms of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1% films at 25 °C ..... 48  |
| Table 2 | – Thickness and colour parameters of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T 025% and CH/ST/T1% films. Dataset is presented as mean ± standard deviation. Different letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) ..... 49 |
| Table 3 | – Opacity and transmittance of films in the UV-C, UV-B, UV-A, and visible regions. Dataset is presented as mean ± standard deviation. Different letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ )..... 52     |

### CAPÍTULO II

|         |   |
|---------|---|
| Table 1 | – Experimental matrix presenting coded and real values for independent variables and mean values based on response variables. Y1 - Water vapor permeability (g.mm/kPa.m <sup>2</sup> .h), Y2 - Solubility (%), Y3 - Tensile strength (Mpa), Y4 - Elongation on rupture (%), Y5 - Modulus of elasticity (Mpa), Y6 -Opacity (AU.Nm/mm), (*) factorial design with center point..... 69  |
| Table 2 | – Proposed coded models to describe Y1 - Water vapor permeability, Y2 - Solubility, Y3 - Tensile strength, Y4 -Elongation at break, Y5 - Modulus of elasticity, Y6 - Opacity of the studied bio-nanocomposites within the experimental domain. (*) Statistically significant for $p < 0.05$ . ..... 70  |
| Table 3 | – Results of physical-chemical parameters of papaya fruit upon different coatings, both in the presence and absence of UV light at $15 \pm 1$ °C and $90 \pm 1$ % RH after 24 days of storage. Results are expressed as mean ± standard deviation ( $n = 3$ ). Control: fruit without coating. Mean values on the same line with different lowercase letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) based on Tukey's test. Mean values in the same column with different capital letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) based on Tukey's test. * Titratable acidity (g equivalent of citric acid per 100g of pulp). ** Ascorbic Acid (AA) (mg of AA/100 g Pulp). *** Soluble solids (%). ..... 75 |

Table 4 – Results of peel color parameters of papaya fruits upon different coatings, both under the presence and absence of UV light at  $15 \pm 1$  °C and  $90 \pm 1$  % RH for 24 days of storage. Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (n = 3). Control: uncoated fruit. Mean values on the same line with different lowercase letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) based on Tukey's test. Mean values in the same column with different capital letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) based on Tukey's test ..... 76



## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| INTRODUÇÃO GERAL.....  | 20 |
| REFERÊNCIAS.....   | 27 |
| CAPÍTULO I: .....  | 32 |
| TiO <sub>2</sub> -ENHANCED CHITOSAN/CASSAVA STARCH BIOFILMS FOR<br>SUSTAINABLE FOOD PACKAGING.....   | 32 |
| ABSTRACT.....  | 32 |
| RESUMO.....  | 33 |
| 1. INTRODUCTION.....   | 34 |
| 2. MATERIALS AND METHODS.....  | 36 |
| 2.1. Materials.....  | 36 |
| 2.2. Synthesis of chitosan/cassava starch/TiO <sub>2</sub> bionanocomposite films.....   | 36 |
| 2.3. Bionanocomposite films characterization.....  | 37 |
| 2.4. Statistical analysis.....   | 40 |
| 3. RESULT AND DISCUSSION.....  | 40 |
| 3.1. Morphological analysis.....   | 40 |
| 3.2. Crystalline phase analysis.....   | 42 |
| 3.3. Water vapour permeability – WVP.....  | 43 |
| 3.4. Solubility in water.....  | 44 |
| 3.5. Mechanical properties.....  | 45 |
| 3.6. Water sorption isotherms.....   | 46 |
| 3.7. Thickness and colour parameters.....  | 49 |
| 3.8. Opacity and transmittance.....  | 51 |
| 4. CONCLUSION.....   | 52 |
| REFERENCES.....  | 54 |
| CAPÍTULO II.....   | 61 |
| TiO <sub>2</sub> INCORPORATED INTO A BLEND OF BIOPOLYMERIC MATRICES<br>IMPROVES FILM PROPERTIES AND AFFECTS THE POSTHARVEST<br>CONSERVATION OF PAPAYA FRUITS UNDER UV LIGHT..... | 61 |
| RESUMO.....  | 61 |
| ABSTRACT.....  | 62 |
| 1. INTRODUCTION.....   | 63 |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 2.   | MATERIALS AND METHODS.....  | 65  |
| 2.1. | Synthesis of films.....   | 65  |
| 2.2. | Experimental planning for films development.....  | 65  |
| 2.3. | Films characterization.....   | 66  |
| 2.4. | Application of edible coatings on papaya fruits and experimental setup.....   | 67  |
| 2.5. | Quality of papaya fruits evaluations.....   | 67  |
| 2.6. | Statistical analysis.....   | 68  |
| 3.   | RESULTS.....  | 68  |
| 3.1. | Response Surfaces.....  | 68  |
| 3.2. | Morphological analysis.....   | 72  |
| 3.3. | Effects of coating on the quality of papaya fruit in the absence and presence of UV light.....  | 74  |
| 4.   | DISCUSSION.....   | 78  |
| 5.   | CONCLUSION.....   | 84  |
|      | REFERENCES.....   | 85  |
|      | CAPÍTULO III.....   | 91  |
|      | REVESTIMENTO DE QUITOSANA E FÉCULA DE MANDIOCA COM ASSOCIAÇÃO DE TiO <sub>2</sub> NA QUALIDADE FISIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DO MAMÃO HAVAIÍ..... | 91  |
|      | RESUMO.....   | 91  |
|      | ABSTRACT .....  | 92  |
| 1.   | INTRODUÇÃO.....   | 93  |
| 2.   | MATERIAIS E MÉTODOS.....  | 95  |
| 2.1. | Materiais.....  | 95  |
| 2.2. | Síntese das coberturas biopoliméricas.....  | 95  |
| 2.3. | Aplicação das coberturas em mamões.....   | 95  |
| 2.4. | Avaliação das coberturas na qualidade pós-colheita do mamão.....  | 96  |
| 2.5. | Estatística.....  | 99  |
| 3.   | RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 99  |
| 3.1. | Análise morfológica.....  | 99  |
| 3.2. | Taxa de respiração.....   | 100 |
| 3.3. | Perda de massa.....   | 101 |
| 3.4. | Firmeza.....  | 103 |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 3.5. | Coloração da casca e da polpa.....  | 105 |
| 3.6. | Teores de clorofila e carotenoides.....   | 109 |
| 3.7. | Teores de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação SS/AT e pH..... | 112 |
| 3.8. | Índice de aparência externa de podridão, enrugamento e aparência interna.....   | 115 |
| 3.9. | Análise sensorial.....  | 117 |
| 4.   | CONCLUSÃO.....  | 120 |
|      | REFERÊNCIAS.....  | 121 |
|      | CONSIDERAÇÕES FINAIS.....   | 126 |

## INTRODUÇÃO GERAL

A disponibilidade de recursos alimentares é fator indispensável à permanência, à existência e à prosperidade da humanidade. Condicionado à disponibilidade de alimento, também está o desenvolvimento econômico. A agricultura é a segunda maior fonte de empregos em todo o mundo, perdendo somente para o setor de serviços. A exportação de frutas frescas e derivados pelo Brasil correspondeu a mais de 980 mil toneladas de frutas em 2019, totalizando uma receita de US\$ 858 milhões, numa alta de 8,5% em relação ao ano de 2018 (ABRAFRUTAS, 2021a).

Em 2020, a fruticultura brasileira exportou mais de 1 milhão de toneladas de frutas, e uma receita de 875 milhões de dólares, em um ano em que ocorreu uma grande recessão devido à pandemia causada pelo novo coronavírus (ABRAFRUTAS, 2021b). Isso mostra o potencial da fruticultura brasileira como fonte de alimentação e geração de emprego. O mamão (*Carica papaya* L.) faz parte desse montante, atingindo recorde de exportação em 2019, com o embarque de 44,238 mil toneladas, com alta de 4% em relação ao ano de 2018. O estado do Espírito Santo foi principal exportador, com o envio de 18,554 mil toneladas e receita de US\$ 21,301 milhões, já o Rio Grande do Norte teve uma participação de 13,607 mil toneladas e receita de US\$ 12,674 milhões (ABHF, 2020).

O mamoeiro é uma planta frutífera originária da América Tropical, pertencente à família *Caricaceae* e ao gênero *Carica*. O mamão (*Carica papaya* L.) é a espécie economicamente mais importante do gênero *Carica*, sendo a mais cultivada comercialmente nas regiões tropicais (EMBRAPA 2021; PAULL; DUARTE, 2011). O mamão apresenta boa qualidade sensorial e benefícios à saúde, sendo fonte de vitaminas e minerais (Ca, Mg, Na e K) (CHUKWUKA *et al.*, 2013), podendo ser consumida na forma fresca ou processada (polpa e geleias).

O mamão é um fruto climatérico, o que lhe confere intensa atividade metabólica, é susceptível à incidência de patógenos, o que compromete sua qualidade e reduz a sua vida útil de prateleira (MENDY *et al.*, 2019). O etileno, durante o amadurecimento do fruto, provoca modificações na coloração da casca, na firmeza, no aroma e sabor, tais características de qualidade são importantes na aceitação comercial do fruto (JOHN *et al.*, 2018). Esse composto atua como fitohormônio no amadurecimento e senescência nos frutos, sendo importante seu controle para manter a qualidade e aumentar o prazo de validade dos frutos climatéricos. O amadurecimento do mamão é um processo irreversível, marcado por mudanças físicas, químicas, bioquímicas e fisiológicas. O mamão é altamente perecível, apresenta estrutura tenra e amaciamento rápido (ZERPA-CATANHO *et al.*, 2017).

A respiração e a transpiração são dois processos fisiológicos importantes na manutenção da qualidade do mamão. A redução da taxa respiratória retarda as alterações físico-químicas típicas dos processos metabólicos envolvidos na maturação dos frutos (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020) e a redução de transpiração está atrelada à diminuição da perda de massa, devido à permeabilidade ao vapor de água na casca do fruto (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020). A perda de massa também pode ocorrer devido à respiração, em que átomos de carbono podem ser perdidos nas trocas gasosas (PARVEN *et al.*, 2020). O controle desses processos resulta na redução de danos na aparência dos frutos e de perdas econômicas.

Na determinação do tempo de armazenamento dos frutos, a perda de massa é considerada como uma das principais características (PARVEN *et al.*, 2020). No entanto, alterações na firmeza e a mudança de cor na maturação dos frutos também merecem destaque por serem perceptíveis aos consumidores no ato da compra. A mudança na coloração é utilizada para seleção de muitos produtos em classes e categorias comerciais e está relacionada com a percepção de aparência do fruto pelo consumidor (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A cor é usada para definir os diferentes estádios de maturação do mamão, seja na árvore por agricultores ou no armazenamento por comerciantes e consumidores (BARRAGÁN-IGLESIAS; MÉNDEZ-LAGUNAS; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, 2018), sendo esse parâmetro utilizado de forma subjetiva para avaliação dos estádios de maturação dos frutos (Figura 1).



**Figura 1.** Estádios de maturação do mamão. Da esquerda para a direita, totalmente verde, estádios de maturação 25%, 50%, 75%, 100% e senescência. Fonte: Próprio autor.

A cor também pode ser determinada por colorimetria, que consiste na análise de medidas objetivas de cor observadas por um colorímetro, por meio dos parâmetros L, a\*, b\*, Croma e Hue (MINOLTA CORP., 2007).

Durante o amadurecimento do mamão, alterações na cor, amaciamento, degradação da polpa, desenvolvimento do aroma e sabor podem ser utilizados para estabelecer os índices de

maturação fisiológica, maturação para consumo e maturação excessiva. A maturação fisiológica é a fase em que o fruto atinge seu máximo desenvolvimento e pode ser colhido; a maturação comestível é a fase em que o fruto atinge o máximo de sabor e aroma, está pronto para ser degustado; a maturação excessiva é a fase em que as frutas apresentam amaciamento total e perdem parte de suas características de sabor e aroma, respectivamente (BARRAGÁN-IGLESIAS; MÉNDEZ-LAGUNAS; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, 2018).

Diante do rápido processo de maturação e suscetibilidade ao ataque fúngico, torna-se necessária a utilização de estratégias eficazes para a preservação do mamão, pois é uma fruta que tem boa aceitação pelos consumidores (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020). Neste contexto, a refrigeração associada com substâncias químicas, com embalagens e com revestimentos tem sido utilizado visando aumentar o período de conservação dos frutos (SOUZA *et al.*, 2009; DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020; KAEWKLIN *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2018).

As embalagens são fundamentais para manutenção das propriedades dos alimentos, pois conservam o fruto por mais tempo. Há um aumento no número de estudos de novos materiais biodegradáveis e/ou comestíveis à base de polissacarídeos e proteínas, devido ao apelo que a questão ambiental possui na atualidade (GANIARI; CHOULITOU DI; OREOPOULOU, 2017; GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021; PAIVA *et al.*, 2020). Os biopolímeros surgem em alternativa aos que advêm de compostos fósseis, sendo oportuno seu uso em um mercado consumidor que busca produtos baseados em recursos renováveis e naturais.

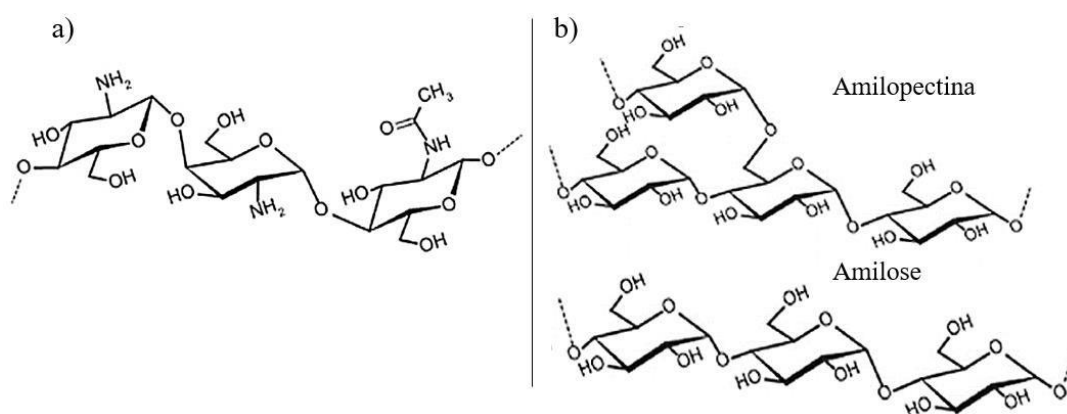
Estudos têm evidenciado resultados promissores da aplicação de coberturas e filmes biopoliméricos como alternativa para prolongar a vida útil de frutas (ABU-SHAMA; ABOU-ZAID; EL-SAYED, 2020; DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020; DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020; MENDY *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2018; PAIVA *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2019).

Filmes biopoliméricos são materiais finos e flexíveis produzidos a partir de biopolímeros, misturas de biopolímeros e/ou adição de aditivos. Podem ser filmes comestíveis ou não e atuar como coberturas (revestimentos) de alimentos para prolongar o período de armazenamento. Os revestimentos são aplicados diretamente na fruta por pulverização ou imersão (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020), e os filmes podem ser obtidos usando método de moldagem (casting) e utilizados como embalagens sustentáveis de alimentos (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021) (Figura 2).



**Figura 2.** Apresentação de coberturas e filmes biopoliméricos. Da esquerda para a direita, mamão sem coberturas (revestimentos) (a), mamão com coberturas (revestimentos) (b) e mamão com filmes obtidos pelo método de moldagem (casting) (c). Fonte: Próprio autor.

Dentre os biopolímeros, a quitosana e a fécula de mandioca mostram-se promissoras, pois são abundantes, de baixo custo e podem formar filmes e revestimentos para preservação de alimentos (BALTI *et al.*, 2017; GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021). Esses dois biopolímeros apresentam benefícios importantes quando usados isolados ou na composição de mistura (GOPI *et al.*, 2019; LIM *et al.*, 2020; SANTACRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015). A quitosana é obtida, principalmente, por meio do processo de desacetilação da quitina de cascas de crustáceos, e a fécula de mandioca é o produto amiláceo extraído da raiz da mandioca, constituído por uma mistura de dois polissacarídeos: a amilopectina e a amilose (Figura 3).



**Figura 3.** Estrutura química da quitosana (a) e da amilopectina e amilose (b). Fonte: Próprio autor.

Os filmes à base de biopolímeros e misturas biopoliméricas são hidrofílicos e podem apresentar propriedades inconvenientes, como fragilidade em termos mecânicos, baixa resistência à água e baixa capacidade de barreira à umidade (BALTI *et al.*, 2017; COLIVET;

CARVALHO, 2017; ZHANG *et al.*, 2017). Para superar esses inconvenientes, a incorporação de nanomateriais, como nanopartículas de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), tem mostrado benefícios quando adicionados em diferentes matrizes biopoliméricas (ALIZADEH-SANI *et al.*, 2020; AREZOO *et al.*, 2020; FATHI ACHACHLOUEI; ZAHEDI, 2018; FONSECA *et al.*, 2020; GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018).

Em mistura de quitosana/fécula de mandioca, a incorporação de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> aprimorou as propriedades dos filmes, com a redução na permeabilidade ao vapor de água e solubilidade, melhores propriedades mecânicas e bloqueio da luz UV, mostrando potencial para uso como embalagem de alimentos (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021).

Ademais, as nanopartículas de TiO<sub>2</sub> são termoestáveis, não tóxicas, antibacterianas, antifúngicas, estáveis na presença de substâncias químicas, absorvem luz UV, têm boas propriedades de dispersão, taxa de transferência de elétrons rápida e podem ser incorporadas à matriz de biopolímeros para produzir bionanocompósitos de baixo custo com características aprimoradas (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018). Filmes biopoliméricos com nanopartículas de TiO<sub>2</sub> mostram-se promissores no desenvolvimento de embalagens ativas, pois podem bloquear a luz UV (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021) bem como produzir espécies reativas de oxigênio (ROS) e radicais hidroxila, fortes agentes oxidantes, que podem inativar microrganismos e oxidar o etileno a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, retardando a senescência da fruta e mantendo sua qualidade nutricional por mais tempo (KAEWKLIN *et al.*, 2018; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018) (Figura 4).

Foi demonstrado que filmes nanocompósitos com TiO<sub>2</sub> retardam os processos de amadurecimento em tomates devido à degradação fotocatalítica do etileno (MANEERAT; HAYATA, 2008; KAEWKLIN *et al.*, 2018). Em mamão, alguns estudos têm mostrado resultados promissores com revestimentos à base de hidroxipropilmetilcelulose e nanopartículas de prata (VIEIRA *et al.*, 2020), com quitosana e óleos essenciais de *Mentha* (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020), revestimentos à base de fécula de mandioca com óleo essencial de cravo (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020) e revestimentos de *Aloe vera* (MENDY *et al.*, 2019; PARVEN *et al.*, 2020).





**Figura 4.** Diagrama esquemático do possível mecanismo da atividade antimicrobiana e da degradação fotocatalítica do etileno do filme nanocompósito de quitosana/TiO<sub>2</sub> quando exposto à luz ultravioleta. Fonte: (KAEWKLIN *et al.*, 2018; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018).

As embalagens biopoliméricas apresentam impactos positivos em substituição aos materiais poliméricos petroquímicos não biodegradáveis para estender a vida de prateleira dos frutos, sendo uma solução sustentável e ecologicamente correta para o uso na crescente indústria global de alimentos. É oportuno avançar no conhecimento e no desenvolvimento de bionanocompósitos aprimorados com TiO<sub>2</sub> para o desenvolvimento de novas tecnologias de embalagens, como as embalagens ativas, particularmente em matrizes biopoliméricas de quitosana e fécula de mandioca.

Portanto, este estudo investigou sistematicamente o efeito de diferentes concentrações de quitosana, de fécula de mandioca e de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> nas propriedades mecânicas, na interação com a água e nas características ópticas dos bionanocompósitos e sua aplicação como revestimento em mamão na ausência e na presença de luz ultravioleta a  $15 \pm 1$  °C e  $90 \pm 1$  % UR por 24 dias, e na presença de luz fluorescente a  $22 \pm 1$  °C e  $80 \pm 1$  % UR ao longo de 18 dias.

O presente estudo contém três capítulos: no primeiro capítulo, foi avaliado o efeito de duas diferentes concentrações de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> nas propriedades de biofilmes de quitosana/fécula de mandioca, contribuindo na compreensão fundamental das propriedades funcionais dos filmes bionanocompósitos; no segundo capítulo, foi utilizada a metodologia de superfície de resposta para avaliar a influência dos teores de quitosana e nano-TiO<sub>2</sub> nas propriedades de bionanocompósitos à base de fécula de mandioca. Para avançar no

entendimento do uso da refrigeração associado a embalagem biodegradável funcional com componente fotoativo ( $\text{TiO}_2$ ), foi testado a influência de revestimentos à base de quitosana/fécula de mandioca/ $\text{TiO}_2$  na conservação pós-colheita de mamão Formosa na ausência e na presença de luz ultravioleta a  $15 \pm 1$  °C e  $90 \pm 1\%$  UR por 24 dias; e no terceiro capítulo, avaliou-se o impacto das coberturas à base de quitosana/fécula de mandioca/ $\text{TiO}_2$  na atividade respiratória, na qualidade físico-química e sensorial do mamão Havaí, em condições comerciais, com temperatura de  $22 \pm 1$ °C, Umidade relativa de  $80\% \pm 1\%$ , expostos a presença de luz fluorescente, existente em residências e supermercados, ao longo de 18 dias.

## REFERÊNCIAS

ABU-SHAMA, H. S.; ABOU-ZAID, F. O. F.; EL-SAYED, E. Z. Effect of using edible coatings on fruit quality of Barhi date cultivar. **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109262, 2020.

ABHF-ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI&FRUTI 2020/Cleonice de Carvalho... [et al.]. - Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2019. 96 p.: il. Disponível em: <[http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2020/05/HORTIFRUTI\\_2020.pdf](http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2020/05/HORTIFRUTI_2020.pdf)>. Acesso em: 26 jan. 2021.

ABRAFRUTAS. Associação Brasileira dos Produtores Exportadores de Frutas e Derivados. 2021a. Disponível em < <https://abrafrutas.org/> > Acesso em 27 jan. 2021.

ABRAFRUTAS. Associação Brasileira dos Produtores Exportadores de Frutas e Derivados. 2021b. Disponível em < <https://abrafrutas.org/2021/01/21/em-ano-de-pandemia-e-isolamento-social-exportacoes-de-frutas-cresce-6-em-volume/> > Acesso em 27 jan. 2021.

ALIZADEH-SANI, M.; RHIM, J. W.; AZIZI-LALABADI, M.; HEMMATI-DINARVAND, M.; EHSANI, A. Preparation and characterization of functional sodium caseinate/guar gum/TiO<sub>2</sub>/cumin essential oil composite film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 145, p. 835–844, 2020.

AREZOO, E.; MOHAMMADREZA, E.; MARYAM, M.; ABDORREZA, M. N. The synergistic effects of cinnamon essential oil and nano TiO<sub>2</sub> on antimicrobial and functional properties of sago starch films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 157, p. 743–751, 2020.

BALTI, R.; MANSOUR, M. Ben; SAYARI, N.; YACOUBI, L.; RABAOU, L.; BRODU, N.; MASSÉ, A. Development and characterization of bioactive edible films from spider crab (*Maja crispata*) chitosan incorporated with Spirulina extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1464–1472, 2017.

BARRAGÁN-IGLESIAS, J.; MÉNDEZ-LAGUNAS, L. L.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J. Ripeness indexes and physicochemical changes of papaya ( *Carica papaya* L. cv. Maradol)

during ripening on-tree. **Scientia Horticulturae**, v. 236, p. 272–278, 2018.

COLIVET, J.; CARVALHO, R. A. Hydrophilicity and physicochemical properties of chemically modified cassava starch films. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 599–607, 2017.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. D. Pós-colhieta de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2 ed. Lavras: UFLA: 2005. 785 p.

CHUKWUKA, K. S.; IWUAGWU, M.; UKA U. N. Evaluation of nutritional components of Carica papaya L. At different stages of ripening. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, 6(4), p. 13-16, 2013.

DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA, D.; REIS, R. C.; ALMEIDA, J. M.; REZENDE, B.; BRAGANÇA, C. A. D.; DA SILVA, F. Edible coatings in post-harvest papaya: impact on physical–chemical and sensory characteristics. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 274–281, 2020.

DOS PASSOS BRAGA, S.; MAGNANI, M.; MADRUGA, M. S.; DE SOUZA GALVÃO, M.; DE MEDEIROS, L. L.; BATISTA, A. U. D.; DIAS, R. T. A.; FERNANDES, L. R.; DE MEDEIROS, E. S.; DE SOUZA, E. L. Characterization of edible coatings formulated with chitosan and Mentha essential oils and their use to preserve papaya (Carica papaya L.). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 65, p. 102472, 2020.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 2021. Disponível em <[http://www.cnpmf.embrapa.br/Base\\_de\\_Dados/index\\_pdf/dados/mundo/mamao/w1\\_mamao.pdf](http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/mundo/mamao/w1_mamao.pdf)> Acesso em 28 jan. 2021.

FATHI ACHACHLOUEI, B.; ZAHEDI, Y. Fabrication and characterization of CMC-based nanocomposites reinforced with sodium montmorillonite and TiO<sub>2</sub> nanomaterials. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, p. 415–425, 2018.

FONSECA, J. M.; VALENCIA, G. A.; SOARES, L. S.; DOTTO, M. E. R.; CAMPOS, C. E. M.; MOREIRA, R. de F. P. M.; FRITZ, A. R. M. Hydroxypropyl methylcellulose-TiO<sub>2</sub> and

gelatin-TiO<sub>2</sub> nanocomposite films: Physicochemical and structural properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 944–956, 2020.

GANIARI, S.; CHOULITOU, E.; OREOPOULOU, V. Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 70–82, 2017.

GOMES DE MENEZES, F. L.; DE LIMA LEITE, R. H.; GOMES DOS SANTOS, F. K.; ARIA, A. I.; AROUCHA, E. M. M. TiO<sub>2</sub>-enhanced chitosan/cassava starch biofilms for sustainable food packaging. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 630, p. 127661, 2021.

GOPI, S.; AMALRAJ, A.; JUDE, S.; THOMAS, S.; GUO, Q. Bionanocomposite films based on potato, tapioca starch and chitosan reinforced with cellulose nanofiber isolated from turmeric spent. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 96, p. 664–671, 2019.

JOHN, A.; YANG, J.; LIU, J.; JIANG, Y.; YANG, B. The structure changes of water-soluble polysaccharides in papaya during ripening. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, p. 152–156, 2018.

KAEWKLIN, P.; SIRIPATRAWAN, U.; SUWANAGUL, A.; LEE, Y. S. Active packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, p. 523–529, 2018.

LIM, W. S.; OCK, S. Y.; PARK, G. D.; LEE, I. W.; LEE, M. H.; PARK, H. J. Heat-sealing property of cassava starch film plasticized with glycerol and sorbitol. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 26, p. 100556, 2020.

MANEERAT, C.; HAYATA, Y. Gas-Phase Photocatalytic Oxidation of Ethylene with TiO<sub>2</sub>-Coated Packaging Film for Horticultural Products. **Transactions of the ASABE**, v. 51, n. 1, p. 163–168, 2008.

MENDY, T. K.; MISRAN, A.; MAHMUD, T. M. M.; ISMAIL, S. I. Application of Aloe vera coating delays ripening and extend the shelf life of papaya fruit. **Scientia Horticulturae**, v.

246, p. 769–776, 2019.

MINOLTA CORP. *Precise Color Communication: Color Control from Feeling to Instrumentation*. Osaka: MINOLTA Corp. Ltda., 2007. 60p.

OLIVEIRA, V. R. L.; SANTOS, F. K. G.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; SILVA, K. N. O. Use of biopolymeric coating hydrophobized with beeswax in post-harvest conservation of guavas. **Food Chemistry**, v. 259, p. 55–64, 2018.

PAIVA, C. A.; VILVERT, J. C.; MENEZES, F. L. G.; LEITE, R. H. de L.; SANTOS, F. K. G.; MEDEIROS, J. F.; AROUCHA, E. M. M. Extended shelf life of melons using chitosan and graphene oxide-based biodegradable bags. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 11, p. 1–12, 2020.

PARVEN, A.; SARKER, M. R.; MEGHARAJ, M.; MD. MEFTAUL, I. Prolonging the shelf life of Papaya (*Carica papaya* L.) using Aloe vera gel at ambient temperature. **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109228, 2020.

PAULL, R. E.; DUARTE, O. *Tropical Fruits*, 2nd Edition, V1. London, UK. 2011.

SADEGHI-VARKANI, A.; EMAM-DJOMEH, Z.; ASKARI, G. Morphology and physicochemical properties of a novel *Lallemantia iberica* mucilage/titanium dioxide nanocomposite. **Polymer Testing**, v. 67, p. 12–21, 2018.

SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 89–94, 2015.

SANTOS, N. L.; BRAGA, R. C.; BASTOS, M. S. R.; CUNHA, P. L. R.; MENDES, F. R. S.; GALVÃO, A. M. M. T.; BEZERRA, G. S.; PASSOS, A. A. C. Preparation and characterization of Xyloglucan films extracted from *Tamarindus indica* seeds for packaging cut-up 'Sunrise Solo' papaya. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 1163–1175, 2019.

SIRIPATRAWAN, U.; KAEWKLIN, P. Fabrication and characterization of chitosan-titanium dioxide nanocomposite film as ethylene scavenging and antimicrobial active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 125–134, 2018.

SOUZA, M. S.; AZEVEDO, I. J.; CORRÊA, S. F.; SILVA, M. G.; PEREIRA, M. G.; OLIVEIRA, J. G. Resposta da Aplicação fazer 1-MCP em frutos de mamoeiro 'Golden' em Diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v.31, n.3, p.693-700, 2009.

VIEIRA, A. C. F.; DE MATOS FONSECA, J.; MENEZES, N. M. C.; MONTEIRO, A. R.; VALENCIA, G. A. Active coatings based on hydroxypropyl methylcellulose and silver nanoparticles to extend the papaya (*Carica papaya* L.) shelf life. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 489–498, 2020.

ZERPA-CATANHO, D.; ESQUIVEL, P.; MORA-NEWCOMER, E.; SÁENZ, M. V.; HERRERA, R.; JIMÉNEZ, V. M. Transcription analysis of softening-related genes during postharvest of papaya fruit (*Carica papaya* L. 'Pococí' hybrid). **Postharvest Biology and Technology**, v. 125, p. 42–51, 2017.

ZHANG, B.; MEI, J. Q.; CHEN, B.; CHEN, H. Q. Digestibility, physicochemical and structural properties of octenyl succinic anhydride-modified cassava starches with different degree of substitution. **Food Chemistry**, v. 229, p. 136–141, 2017.

## CAPÍTULO I

### TiO<sub>2</sub>-ENHANCED CHITOSAN/CASSAVA STARCH BIOFILMS FOR SUSTAINABLE FOOD PACKAGING

#### ABSTRACT

Biopolymeric films with the addition of nanoparticles have been studied as an alternative to replace petroleum-based synthetic packaging, which is difficult to recycle and leads to a major environmental problem. The goal of this study is to develop and characterise biopolymeric films of chitosan and cassava starch with the addition of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles for use as food packaging. Chitosan film (2% w/w), cassava starch film (2% w/w), and chitosan/cassava starch (1:1) blend were developed in the absence and presence of TiO<sub>2</sub> nanoparticles (0.25 and 1% w/w) and characterised in terms of physicochemical properties. The results indicate that the properties of films related to water (permeability, solubility, and water sorption) and mechanical (tension, elongation, and Young's modulus) are strongly influenced by the characteristics of the biopolymers used and can be improved with the introduction of TiO<sub>2</sub>. The water sorption was reduced with the addition of TiO<sub>2</sub>, which makes the film more hydrophobic and exhibits a higher tensile strength by more than 15% and elongation by more than 100%. The addition of 1% TiO<sub>2</sub> also leads to a reduction in transmittance of 97% in UVA, UVB, and UVC regions, which is a valuable feature for food preservation.

**Keywords:** Bionanocomposite. Biopolymers. Titanium Dioxide. Cassava Starch. Chitosan.



## RESUMO

Filmes biopoliméricos com adição de nanopartículas têm sido estudados como alternativa para substituir as embalagens sintéticas à base de petróleo, que são de difícil reciclagem e causam um grande problema ambiental. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes biopoliméricos de quitosana e fécula de mandioca com adição de nanopartículas de dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) para uso como embalagem de alimentos. Filme de quitosana (2% p / p), filme de fécula de mandioca (2% p / p) e mistura de quitosana / fécula de mandioca (1:1) foram desenvolvidos na ausência e na presença de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  (0,25 e 1% p / p) e caracterizados em termos de propriedades físico-químicas. Os resultados indicaram que as propriedades dos filmes relacionadas à água (permeabilidade, solubilidade e sorção de água) e mecânicas (tensão, alongamento e módulo de Young) foram fortemente influenciadas pelas características dos biopolímeros utilizados e foram melhoradas com a introdução de  $\text{TiO}_2$ . A sorção de água foi reduzida com a adição de  $\text{TiO}_2$ , o que tornou o filme mais hidrofóbico e apresentou maior resistência à tração em mais de 15% e alongamento em mais de 100%. A adição de 1% de  $\text{TiO}_2$  também levou a uma redução na transmitância de 97% nas regiões UVA, UVB e UVC, o que é um recurso valioso para a preservação de alimentos.

**Palavras-chave:** Bionanocompósito. Biopolímeros. Dióxido de Titânio. Fécula de Mandioca. Quitosana.

## 1. INTRODUCTION

Food packaging is a fundamental element of food preservation. It protects food from external microbial and environmental influences and contributes to the preservation of food organoleptic and nutritional quality. Despite their excellent performance and durability, non-biodegradable petrochemical polymeric materials have introduced a significant ecological problem due to their energy-intensive recycling process and long degradation in the environment. Biopolymers are promising alternatives, as they exhibit low toxicity, can be degraded biologically, and are environmentally friendly (MANGARAJ *et al.*, 2019; THAKUR; VOICU, 2016; ZHONG *et al.*, 2020). The biophysical and mechanochemical properties of biopolymers are highly tailorable based on their origin, chemical structures, applied treatments, additives, and composition in the mixtures, making them versatile for use in a wide variety of applications (ATES *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2018; PATTANASHETTI; HEGGANAVAR; KARIDURAGANAVAR, 2017; PODSHIVALOV *et al.*, 2017; SORADECH *et al.*, 2017). Thin films of biopolymers, known as biofilms, have recently emerged as a viable option for food packaging or coating to allow safe storage and transportation of food (MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2017; PODSHIVALOV *et al.*, 2017).

Amongst a wide range of biodegradable biopolymers, chitosan and starch are of particular interest, as they are abundant, inexpensive, and can form films and coatings for food preservation (BALTI *et al.*, 2017). Chitosan, the second most abundant natural biopolymer after cellulose, is a natural antimicrobial polysaccharide-amino acid complex obtained mainly through the process of deacetylation of chitin from crustacean shells (BRAZ *et al.*, 2018; GOPI *et al.*, 2019; THAKUR; VOICU, 2016). Starch is a non-toxic, low-cost, stable, and gel-forming polysaccharide that has been widely used as the main constituent of edible coatings. The combination of these properties makes chitosan/cassava starch biofilms a strong contender in the development of eco-friendly food-preserving coatings and packaging (WANG; QIAN; DING, 2018). Nonetheless, like most biopolymers, these blends are still relatively hydrophilic, such that their mechanical stability, water resistance, and moisture barrier capabilities are still far from ideal (BALTI *et al.*, 2017; COLIVET; CARVALHO, 2017; ZHANG *et al.*, 2017). To overcome these shortcomings, many studies seek to improve the biofilm properties and thus food-preserving performance by incorporation of nanoparticles in a form of bionanocomposites (ATES *et al.*, 2020). Many previous studies have reported the development of bionanocomposite films based on potato, cassava starch and chitosan reinforced with cellulose

nanofiber (GOPI *et al.*, 2019), potato starch /TiO<sub>2</sub> (OLEYAEI *et al.*, 2016), wheat starch/TiO<sub>2</sub> (GOUDARZI; SHAHABI-GHAHFARROKHI; BABAEI-GHAZVINI, 2017), *Iberian Lallelantia* mucilage/TiO<sub>2</sub> (SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018), chitosan/TiO<sub>2</sub> (SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018), zein/chitosan/TiO<sub>2</sub> (QU *et al.*, 2019), hydroxypropyl methylcellulose/TiO<sub>2</sub> and gelatin/TiO<sub>2</sub> (FONSECA *et al.*, 2020), and chitosan/TiO<sub>2</sub> to prolong the storage life of tomato (KAEWKLIN *et al.*, 2018) and mango fruits (XING *et al.*, 2020).

Nanoparticulate metal oxides-based food additives have been at the forefront of the search for better functional properties of biopolymeric films. Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles are one of these metal oxides that have been frequently used as food additives, known as E171, to improve the texture, colour, longevity, and aesthetics of food (GONZÁLEZ-BENITO *et al.*, 2017; HOSEINNEJAD; MAHDI JAFARI; KATOZIAN, 2018; KAEWKLIN *et al.*, 2018). TiO<sub>2</sub> nanoparticles are UV absorbing materials with good dispersion properties, fast electron transfer rate, antimicrobial activities, and can interact with the polar groups of biopolymer matrices to enable economical bionanocomposites with improved characteristics (GOUDARZI; SHAHABI-GHAHFARROKHI; BABAEI-GHAZVINI, 2017; OLEYAEI *et al.*, 2016; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018). TiO<sub>2</sub> nanoparticles are also an excellent alternative to traditional UV blocking agents in food packaging to prevent detrimental effects on foods, such as breakdown of vitamins and proteins, changes in colours and flavours, degradation of antioxidants, and oxidation of lipid (FATHI ACHACHLOUEI; ZAHEDI, 2018). The capabilities of TiO<sub>2</sub> nanoparticles to produce reactive oxygen species by absorbing photoenergy in the UV-Visible wavelength range are highly sought after in food preservation, as they actively contribute to the inactivation of bacteria and fungi that cause food spoilage (KAEWKLIN *et al.*, 2018; XING *et al.*, 2020; ZHU; CAI; SUN, 2018).

In recent years, several studies have been carried out to explore the prospect of modifying the physicochemical properties of various biopolymer matrices through TiO<sub>2</sub> nanoparticles incorporation for use in food packaging materials (FATHI ACHACHLOUEI; ZAHEDI, 2018; GOUDARZI; SHAHABI-GHAHFARROKHI, 2018; GOUDARZI; SHAHABI-GHAHFARROKHI; BABAEI-GHAZVINI, 2017; KAEWKLIN *et al.*, 2018; OLEYAEI *et al.*, 2016; QU *et al.*, 2019; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018; XING *et al.*, 2020). To date, however, there is a knowledge gap in the development of TiO<sub>2</sub>-enhanced bionanocomposites, particularly on chitosan-cassava starch biopolymeric matrices for use in biodegradable food packaging. Considering this unprecedented work and the notable importance of obtaining a sustainable and

ecologically friendly solution for use in the growing global food industry and the ever-pressing challenges with food waste, it is timely and critical to further advance the understanding of the influence of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on the properties of chitosan-cassava starch biofilms. In this study, we systematically investigate the effect of two different concentrations of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on the mechanical properties, water interaction, optical characteristics of chitosan-cassava starch biofilms. We report herein the incorporation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles to enable improvement in tensile strength, hydrophobicity, and UV transmittance of chitosan-cassava starch bionanocomposite films.

## 2. MATERIALS AND METHODS

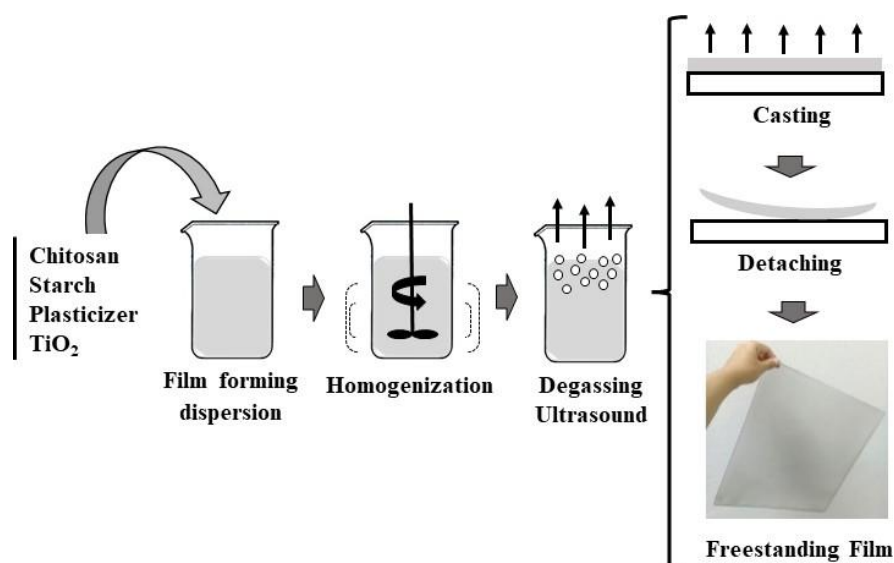
### Materials

The materials used in this study are chitosan (M<sub>w</sub> 50000 Da, deacetylation degree  $\geq$  88.91% Polymar Indústria e Com. Imp. e Exp. Ltda - Brazil), cassava starch [29.24 % ( $\pm$  0.68) amylose and 70.76% ( $\pm$  0.68) amylopectin] (Indústria Primícia do Brazil Ltda - Brazil), acetic acid (99.7%, purity, Dinâmica Química Contemporânea Ltda - Brazil), glycerol (99.5% purity, Dinâmica Química Contemporânea Ltda - Brazil), and TiO<sub>2</sub> nanoparticles (anatase, particle size of 20-25 nm, 99.7% purity, Sigma-Aldrich).

### Synthesis of chitosan/cassava starch/TiO<sub>2</sub> bionanocomposite films

Filmogenic solutions forming 2% w/w chitosan film (CH) and 2% w/w cassava starch film (ST) were prepared using methodologies adapted from previous studies (OLIVEIRA *et al.*, 2018; RAMBABU *et al.*, 2019). CH was prepared by adding 2% w/w of chitosan powder in a 1% w/w acetic acid solution and stirred for 24 hours to complete dissolution using a magnetic stirrer. ST was prepared by dispersing Cassava starch powder in distilled water at  $70 \pm 5$  °C for 30 min under constant agitation to complete the gelatinization process. To obtain the film-forming solutions for the blend of chitosan 1% w/w + cassava starch 1% w/w (CH/ST), the abovementioned CH and ST solutions are mixed with a ratio of 1:1 while keeping the total dry mass constant. Glycerol was used as a plasticizer at a concentration of 20% w/w in relation to the dry mass of biopolymer. Bionanocomposites were prepared by adding TiO<sub>2</sub> nanoparticles in concentrations of 0.25 and 1% (w/w) in relation to the dry mass of the biopolymeric mixture of cassava starch, chitosan, and glycerol.

Previous studies show that the incorporation above 1% of TiO<sub>2</sub> favours the formation of aggregates (ALIZADEH-SANI *et al.*, 2020; FONSECA *et al.*, 2020; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018), which justifies the optimization of concentrations of 0.25 and 1% of TiO<sub>2</sub> in our study to obtain nanocomposites with improved properties. Suspension of TiO<sub>2</sub> nanoparticles at a concentration of 0.25 and 1% were added slowly (1 mL min<sup>-1</sup>) with stirring (1000 rpm) over 5 min into the CH / ST filmogenic solution (CH / ST / T0.25%, CH / ST / T1% respectively). They were then cooled to room temperature (23 °C) and sonicated in an ultrasound bath (Quimis, Q3350) for 10 min with frequency and ultrasonic power of 40 KHz and 135 watts RMS, respectively. Subsequently, 60g of the solution were deposited on 15 cm wide, 15 cm long, and 2 cm deep acrylic plates and dried by evaporating the solvents in an air circulation oven for 4–6 hours, as has been described in detail elsewhere (OLIVEIRA *et al.*, 2018). All films were stored at 23 °C and 55% relative humidity. Figure 1 shows schematic representation of the film preparation and synthesis.



**Figure 1.** Schematic representation of the preparation of films CH, ST, CH/ST, CH/ST/T 0.25% and CH/ST/T 1%.

### Bionanocomposite films characterisation

The film thickness was determined by a digital micrometre (Mitutoyo MDC-25M, MFG-Japan) in 5 different positions and the obtained results were then averaged. The methodology for solubility measurement was adapted from a previous study (OLIVEIRA *et al.*, 2018), where the initial mass of the films was obtained by drying the films at 105 °C for 1 hour. The final mass was obtained by immersing the films in distilled water under agitation for 24

hours at 23°C and then dried under the same conditions. Solubility in water was calculated using Eq. (1):

$$S = (m_i - m_f/m_i) \times 100 \quad (1)$$

where  $S$  is the water solubility in %,  $m_i$  is the initial mass of the film in g, and  $m_f$  is the final mass of the film in g.

Water vapour permeability was determined using a gravimetric method (ASTM E96 / E96M-12), where the films were sealed in cells containing 6 mL of water. Each film was initially weighed and placed in silica-containing desiccators with a relative humidity of 50% and an internal temperature of 23 °C. Periodic weighing of each cell was carried out at intervals of 1 hour for a total of 8 hours. Water vapour permeability was obtained using Eq. (2):

$$WVP = W \cdot L / A \cdot t \cdot \Delta P \quad (2)$$

where WVP is the Water Vapour Permeability in g.mm/h. kPa.m<sup>2</sup>,  $W$  is the weight of the water that permeates across the film in g,  $L$  is the average film thickness in mm,  $A$  is the exposed area in m<sup>2</sup>,  $t$  is the permeation time in h, and  $\Delta P$  is the water vapour pressure differential across the film in kPa.

Tensile strength, elongation at break, and modulus of elasticity were assessed by a tensile test using a universal testing machine (DL5000/10000 Series Instron EMIC 23) under ASTM D882-83 method at a displacement rate of 5mm.min<sup>-1</sup>. Each test specimen was 50 mm long, 5 mm wide, and about 0.07 mm thick. The absorbance spectra of the films were measured using a UV-vis spectrophotometer (EVO-600PC, Thermo Scientific). Each test film was cut and placed in a test cell with a blank cell without film as the reference. The transmittance was obtained through the Beer-Lambert law and the opacity of the films was then calculated by Eq. (3).

$$Op = Abs_{600} / X \quad (3)$$

where  $Op$  is the opacity in AU.Nm.mm<sup>-1</sup>),  $Abs_{600}$  is the absorbance at a wavelength of 600 nm, and  $X$  is the film thickness in mm.

Colorimetric analysis was performed by reflectometry with a portable colorimeter (Konica Minolta Sensing Inc. Japan) using a methodology adapted from previous studies (OLEYAEI *et*

*al.*, 2016; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018). A standard black plate was used ( $L^* = 1$ ,  $a^* = 0$  and  $b^* = 0$ ) as the background for the films. Luminosity ( $L$ ) ranges from 0 (dark/opaque) to 100 (white),  $a$  represents green (negative) and red (positive), while  $b$  represents blue (negative) and yellow (positive). Equidistant points in the films were measured and the readings were averaged. The total color difference ( $\Delta E$ ), whiteness ( $WI$ ), and yellow ( $YI$ ) indices of the samples were calculated using Eq. (4–6), respectively.

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (4)$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2} \quad (5)$$

$$YI = 142.86b/L \quad (6)$$

The film morphology was evaluated under high magnification imaging with a scanning electron microscope (TESCAN VEGA 3). The samples were sputter-coated with a few nm of Au (Quorum Tech Q150R) prior to the microscopy. The film surfaces were imaged by applying an acceleration voltage of 10 kV with a magnification of 5 kx, while the fractured cross-sections were imaged with 5 kv acceleration voltage and 500x magnification. The crystalline phases of the films were analysed using an X-ray diffractometer (Shimadzu, XRC-6000) in a  $2\theta$  range of  $10^\circ$ – $60^\circ$ , with a source of Cu  $K\alpha$  radiation at a wavelength of 0.15 nm. Diffractograms were obtained using a voltage of 40 kV, a current of 40 mA, and a sweep rate of  $2 \text{ min}^{-1}$ . The amorphous and crystalline areas in diffractograms were analysed by deconvolution using OriginPro8 software.

The film behaviour under different relative humidity environments was investigated using water sorption isotherms measurements with the Guggenheim-Anderson and Boer (GAB) model. The water sorption measurements were adapted according to the method described in a previous study (SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018). Biopolymer films with dimensions of 30 mm x 30 mm were placed in separate silica gel (10%) containing hermetically-sealed plastic containers with supersaturated saline solutions at a relative humidity ( $U_{Req}$ ) range of 10–97%. The supersaturated saline solutions used here were comprised of  $\text{CH}_3\text{COOK}$  (23%),  $\text{CaCl}_2$  (27%),  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (33%),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (44%),  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  (55%),  $\text{KI}$  (68.9%),  $\text{NaCl}$  (75%),  $\text{KCl}$  (85%),  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  (88%), and  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (97%). The water activity values ( $a_w = U_{Req} / 100$ ) were calculated for a temperature of  $23^\circ\text{C}$  and the films were weighed at 24 hours intervals. They were then dried in an oven at  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  to determine the dry mass of the samples. Water content was calculated by subtracting the dry weight from the sample weight

prior to drying. The water sorption isotherms obtained were calculated using GAB model Eq. (7).

$$X = x_m c k a_w / (1 - k a_w) (1 - k a_w + c k a_w) \quad (7)$$

where  $X$  is equilibrium water content (g water / g dry matter),  $x_m$  is the water content in the monolayer (g water / g dry matter),  $a_w$  is the water activity,  $c$  indicates binding energy of sorption, and  $k$  indicates the degree of freedom of water.

## 2.4 Statistical analysis

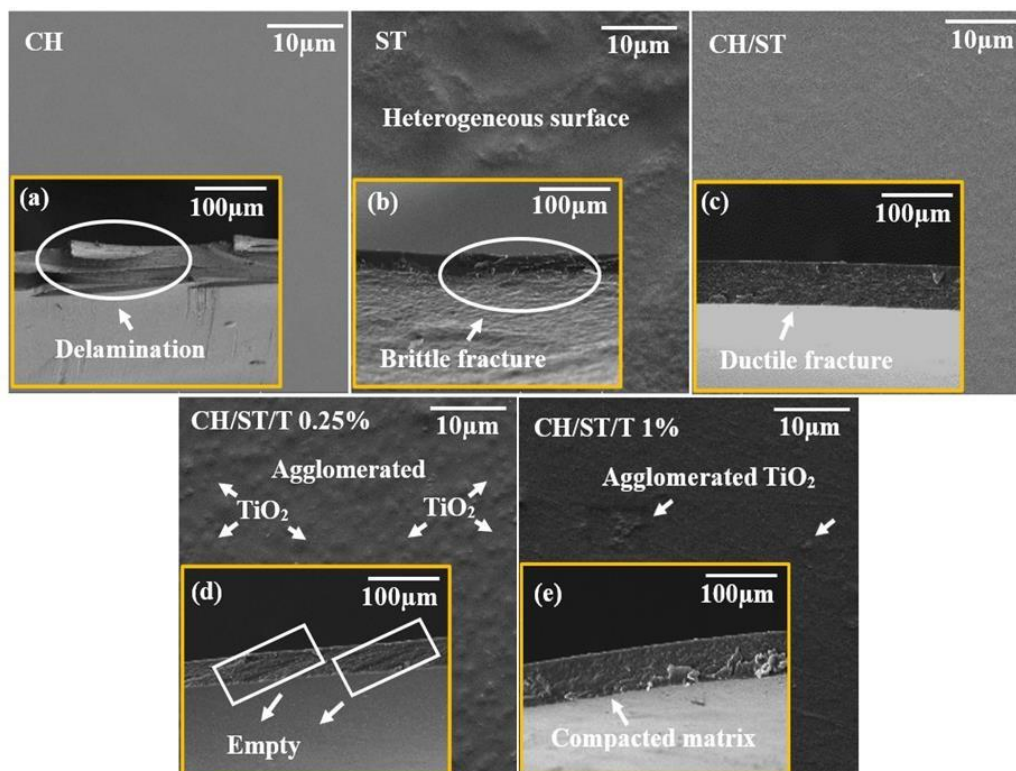
The experiment was randomized with five treatments and five repetitions (5 x 5), and the means were compared using the Tukey test at 5% significance level. The data of the sorption isotherms were adjusted using non-linear regression. The values of determination coefficients ( $R^2$ ) were calculated and used to evaluate the adjustment of the GAB model to experimental data.

## 3. RESULT AND DISCUSSION

### Morphological analysis

Figure 2 shows SEM images of the surface and cross-section of the mechanically cleaved edge in the biofilms of chitosan (CH), cassava starch (ST), chitosan/cassava blend (CH/ST), and the bionanocomposites with  $TiO_2$  concentrations of 0.25% and 1% (CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1%). CH films show a homogeneous surface, which is more homogeneous compared to the other films, and the fracture section shows the presence of dense exfoliations with ductile fracture behaviour. ST films show a heterogeneous surface with higher roughness and the fracture section exhibit cracks that indicate brittle fracture behaviour. ST contains a mixture of amylose and amylopectin with a great number of hydrophilic groups that can interact with water and thus higher mobility when wet. However, ST appears to be relatively brittle when dry. CH/ST blends show intermediate characteristics on the surface and in the fracture section, with a reduction of cracks indicating a more ductile fracture. This suggests that the interaction of different polymeric chains in the biopolymeric CH/ST blends leads to better mechanical properties that do not occur when each of the polymers is in isolation.



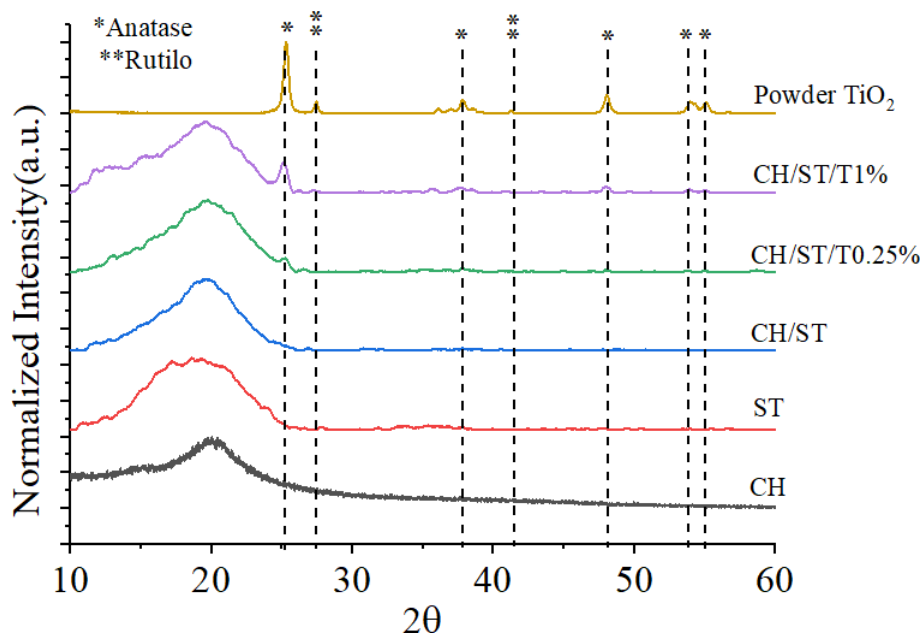


**Figure 2.** SEM images of the surface and the cross-section (insets) of the biofilms (top left to right: CH, ST, and CH/ST) and bionanocomposites (bottom left to right: CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1%).

The addition of  $\text{TiO}_2$  nanoparticles to the CH/ST blend changes the surface morphology of the films. CH/ST/T0.25% shows many agglomerated  $\text{TiO}_2$  nanoparticles in the polymer matrix and the fracture section shows small voids perpendicular to the rupture of the film. Anatase  $\text{TiO}_2$  nanoparticles are known to be easily agglomerated in mild acidic range of  $5 < \text{pH} < 7$  due to their surface charge neutralisation (GUIOT; SPALLA, 2013; LOOSLI; STOLL, 2017). These agglomerates have the tendency to further grow in size above certain critical radius and form micron-size networks, hence easily observable by SEM (Figure 2d), by solvent evaporation process during the film fabrication step (LUO *et al.*, 2014; THANH; MACLEAN; MAHIDDINE, 2014). Note that the biopolymeric blends are mildly acidic from the use of 1% w/w acetic acid to initiate the dissolution of CH. It is postulated herein that intermolecular forces are formed between  $\text{TiO}_2$  nanoparticles and the hydrophilic -OH and - $\text{NH}_2$  groups from starch and chitosan, respectively (AL-SAGHEER; MERCHANT, 2011; KAEWKLIN *et al.*, 2018). However, the poor distribution of low concentration of inorganic  $\text{TiO}_2$  nanoparticles (0.25% w/w) in the biopolymeric blends of organic CH/ST (1:1) matrix suggests that their interactions are relatively weak.

The increase in TiO<sub>2</sub> concentration to 1% results in more homogeneous surface morphology with few apparent agglomerations. The fracture section of CH/ST/T1% shows a more compacted matrix with small clusters. This finding is slightly counterintuitive, as one would expect further agglomeration with a higher concentration of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. However, previous study suggests that the abundance of TiO<sub>2</sub> nanoparticles improves the relatively weak interaction between the Lewis sites of TiO<sub>2</sub> with the -NH<sub>2</sub> groups from the chitosan (AL-SAGHEER; MERCHANT, 2011). The improved polymer-particle interactions through primary and secondary bonds increases the repulsive interaction potential and aggregation barrier, and thus reduces the agglomeration tendencies of TiO<sub>2</sub> in the CH/ST matrix (POLTE, 2015). This observation agrees with the previous study (SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018), where the incorporation of 1% of TiO<sub>2</sub> in chitosan films results in homogeneous films with improved properties, above which agglomeration of the nanoparticles is likely to reoccur. In agreement with this previous study, the maximum concentration of TiO<sub>2</sub> in biopolymer blends is constrained at 1% herein to avoid excessive agglomeration. Such a homogeneous and ordered distribution of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in CH/ST/T1% is expected to result in a modification of the film properties.

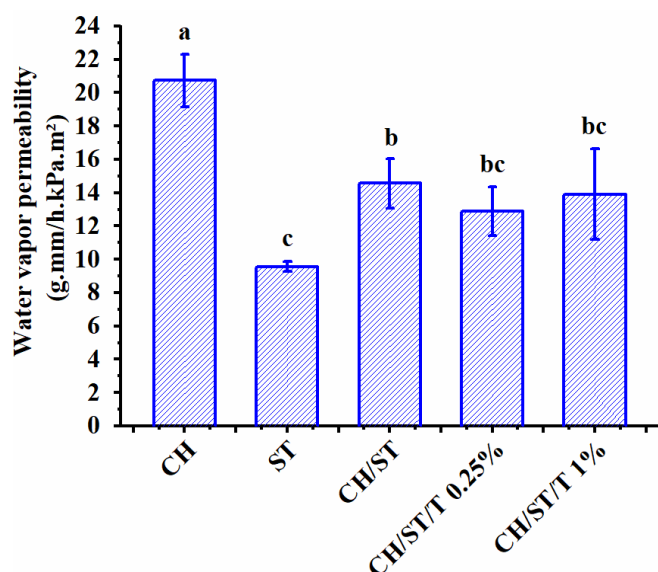
### Crystalline phase analysis



**Figure 3.** X-ray diffraction patterns of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1% films with that of TiO<sub>2</sub> nanoparticles powder as a comparison. The powdered TiO<sub>2</sub> nanoparticles exhibit 2θ diffraction peaks correspond to anatase phase (\*) at 25°, 37.5°, 48°, 54° and 55°, and to rutile phase (\*\*) at 27° and 42°.

The XRD patterns of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1%, along with that of pure TiO<sub>2</sub> nanoparticles are shown in Figure 3. As confirmed by XRD, the TiO<sub>2</sub> nanoparticles used in this study are mainly in anatase form with a small percentage of rutile as an impurity (SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018). CH shows a prominent peak at 2 $\theta$  of  $\sim 20^\circ$  that can be attributed to the (110) plane of deacetylated  $\alpha$ -chitosan, which is consistent with existing literature (LI, Bin *et al.*, 2016; LIN *et al.*, 2015; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018; ZHANG, Yongqin *et al.*, 2005) who reported the highest peak of crystallinity pure chitosan could be observed at 20.40°, 20.38° and 19.7° respectively. ST shows a much broader peak at 2 $\theta$  of 17–20° that suggests a less crystalline structure than that of CH. The relative crystallinities were calculated to be  $\sim 17\%$  and  $\sim 16\%$  for CH and ST, respectively. As shown by CH/ST, the blend of CH and ST results in a shifted peak at 2 $\theta$  of  $\sim 19^\circ$  with relative crystallinity of 14%. The addition of TiO<sub>2</sub> nanoparticles to the blend shows distinctive TiO<sub>2</sub> diffraction peaks that can be easily recognised in the spectra of CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1% films. These peaks become more pronounced with the increase in TiO<sub>2</sub> content and peaks attributed to crystalline TiO<sub>2</sub> can be easily observed in the CH/ST/T1%. The relative crystallinities were calculated to be  $\sim 12\%$  and  $\sim 17\%$  for CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1% films, respectively. As a comparison, the relative crystallinity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles was calculated to be  $\sim 68\%$ .

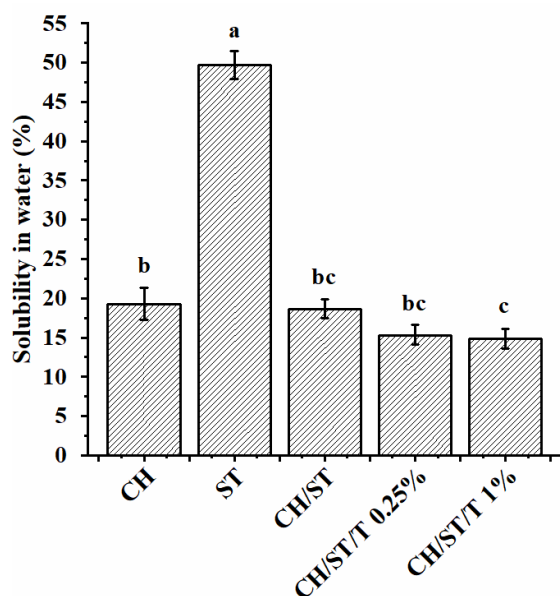
#### Water vapour permeability – WVP



**Figure 4.** Water vapour permeability of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1%. Different letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Vertical error bars indicate the standard deviation (SD) from the mean with  $n = 5$ .

Figure 4 shows water vapour permeability (WVP) for biopolymers without TiO<sub>2</sub> (CH, ST, and CH/ST) and bionanocomposites with TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1%). ST exhibits the lowest WVP at  $9.5746 \pm 0.3122$  g.mm/h.kPa.m<sup>2</sup>, while CH presents the highest WVP at  $20.7380 \pm 1.5643$  g.mm/h.kPa.m<sup>2</sup>. As expected, WVP of CH/ST is somewhere between that of CH and ST at  $14.5608 \pm 1.4807$  g.mm/h.kPa.m<sup>2</sup>. The addition of TiO<sub>2</sub> nanoparticles slightly reduces the WVP, although this is not significant ( $p < 0.05$ ). Nonetheless, the addition of TiO<sub>2</sub> nanoparticles sufficiently reduces WVP to the point of making it statistically equal ( $p < 0.05$ ) to ST, which has the lowest WVP obtained in this study. This reduction in WVP suggests that TiO<sub>2</sub> inhibits the diffusion of water vapour through the film. An interaction of TiO<sub>2</sub> with the hydrophilic groups -OH and -NH<sub>2</sub> within the films can also occur, decreasing the availability of the hydrophilic groups and reducing water interactions with the film (AL-SAGHEER; MERCHANT, 2011; KAEWKLIN *et al.*, 2018; LI, Yanxia *et al.*, 2011; OLEYAEI *et al.*, 2016; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018).

### Solubility in water



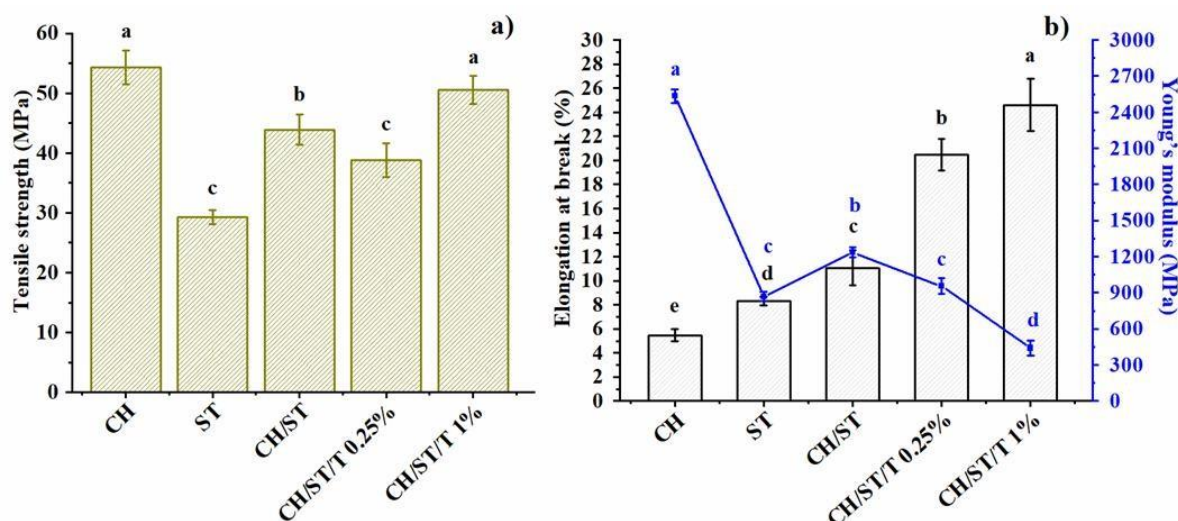
**Figure 5.** Water solubility of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1%. Different letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Vertical error bars indicate the standard deviation (SD) from the mean with  $n = 5$ .

Figure 5 shows water solubility for CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1%. The solubility for CH, ST, and CH/ST films were  $19.2760 \pm 2.0364$ ,  $49.7072 \pm 1.7766$ , and

18.6481  $\pm$  1.2091, respectively. This strongly suggests that chitosan content is a key determining factor in reducing the water solubility of the films. Adding chitosan to cassava starch reduced the water solubility by more than 62%. Note that starch by itself has the disadvantage of having high hydrophilicity. The introduction of chitosan leads to the formation of a chitosan/starch blend with reduced hydrophilic -OH groups due to the interactions between functional  $\text{NH}_3^+$  groups from the protonated chitosan and  $\text{OH}^-$  groups from the starch. The reduction in hydrophilic groups ultimately results in a more hydrophobic film (CAZÓN; MANUEL VÁZQUEZ, 2020; SANTACRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015).

The addition of  $\text{TiO}_2$  leads to a slight reduction in solubility, although such a reduction is not significant ( $p < 0.05$ ). However, the addition of 1% of  $\text{TiO}_2$  is sufficient to reduce the solubility to the point of making it statistically smaller ( $p < 0.05$ ) than either CH by 23% or ST by 70%. This suggests that the  $\text{TiO}_2$  nanoparticles interacted by hydrogen bonds with the remaining hydrophilic groups in the biopolymeric blend, leading to more hydrophobic nanocomposites (ALIZADEH-SANI *et al.*, 2020; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018). This result is consistent with studies by Fonseca *et al.* (2020), where a reduction in the solubility of the Gelatin- $\text{TiO}_2$  nanocomposites was observed from 69.13  $\pm$  4.75 to 45.83  $\pm$  0.94 (%) with the addition of 1% of  $\text{TiO}_2$  and the previous study with kefiran-whey-protein-isolate and potato starch (OLEYAEI *et al.*, 2016; ZOLFI *et al.*, 2014).

### Mechanical properties



**Figure 6.** Mechanical properties: (a) Tensile strength, (b) elongation at break, and Young's modulus of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1%. Different letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Vertical error bars indicate the standard deviation (SD) from the mean with  $n = 5$ .

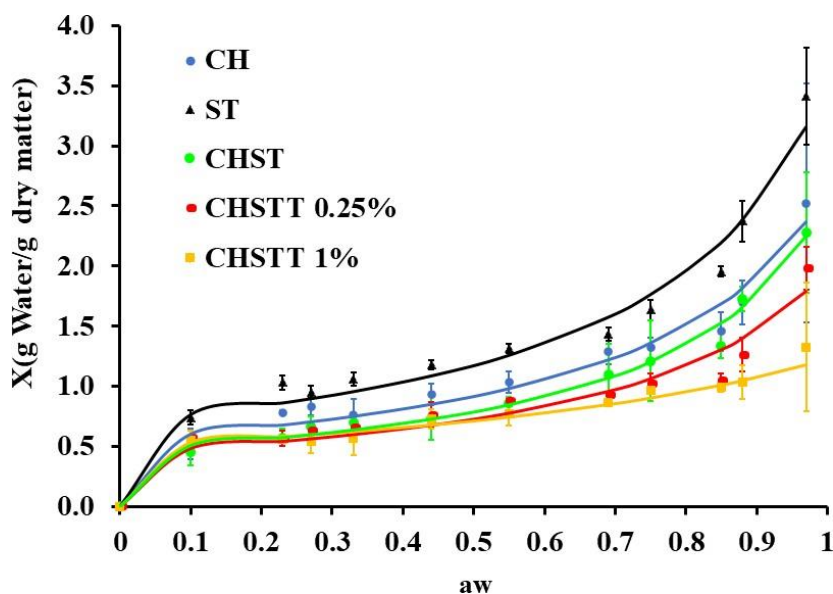
Figure 6 shows variations in tensile strength, elongation at break, and Young's modulus of the bionanocomposites. CH exhibits the highest tensile strength at  $54.3045 \pm 2.8686$  MPa, while ST exhibits the lowest at  $29.3046 \pm 1.1396$  MPa (Figure 6a). This can be related to the aforementioned XRD analysis (Figure 3), where CH is a semicrystalline biopolymer and ST is less crystalline than CH. It is expected that CH/ST blends show an intermediate tensile strength at  $43.8784 \pm 2.5346$  MPa, which is about 49% higher than that of ST. It is important to note that the presence of TiO<sub>2</sub> influences the tensile strength in both ways. Tensile strength significantly decreases ( $p < 0.05$ ) when 0.25% of TiO<sub>2</sub> was added (CH/ST/T0.25%), while the addition of 1% of TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T1%) leads to a significant increase ( $p < 0.05$ ) by 15% (Figure 6a). This may be due to the heterogeneous TiO<sub>2</sub> dispersion in the polymeric matrices at 0.25%, as evidenced in the morphological analysis (Figure 2). As shown by the irregularities in the fracture section, such heterogeneity may have acted as stress concentrators that weaken the mechanical properties of CH/ST/T0.25%. In contrast, the higher tensile strength of CH/ST/T1% can be attributed to a homogeneous dispersion of TiO<sub>2</sub> in the biopolymeric matrices.

For biopolymer films without TiO<sub>2</sub>, the CH/ST blend is found to be significantly ( $p < 0.05$ ) higher than individual CH and ST films. The incorporation of 0.25 and 1% TiO<sub>2</sub> into the blend increases the elongation at the fracture point by more than 85% and 100%, respectively (Figure 6b). CH/ST/T0.25% exhibit Young's modulus of  $955.2863 \pm 63.5443$  MPa, while that of CH/ST/T1% is found at  $440.4433 \pm 60.2287$  MPa. Note that the increase in TiO<sub>2</sub> concentration leads to a significant decrease in the stiffness ( $p < 0.05$ ), as reflected by an increase in elongation at break and a decrease in Young's modulus while improving the tensile strength (Figure 6a). This strongly suggests that the incorporation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in adequate amounts may indeed lead to improvements in mechanical properties through electrostatic interactions and hydrogen bonds. This finding is aligned with previous studies on wheat starch (GOUDARZI; SHAHABI-GHAHFARROKHI; BABAEI-GHAZVINI, 2017), gelatin (HE *et al.*, 2016), and whey protein (ZHOU; WANG; GUNASEKARAN, 2009).

### **Water sorption isotherms**

Figure 7 shows the water sorption experimental observation and the respective fitted GAB model isotherms for CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1% films at 25 °C. Experimental data show the sigmoidal behaviour of an increase in the amount of water per dry matter (X) as water activity ( $a_w$ ) increases.





**Figure 7.** Water sorption isotherms for CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1% films at 25 °C. Data points and lines represent experimental observation and GAB model fittings, respectively. Water sorption is presented as the amount of water per dry matter ( $X$ ) as a function of water activity ( $a_w$ ). Vertical error bars indicate the standard deviation (SD).  $n = 5$ .

The water sorption of the films shows a characteristic behaviour that shows changes in the polymeric matrix due to the interaction of water molecules and the hydrophilic groups of the polymers (GHAYAL *et al.*, 2013; LARA *et al.*, 2020; MOHAMMADI NAFCHI *et al.*, 2014; MONTE *et al.*, 2018; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018; ZHANG, Wei *et al.*, 2016; ZOMORODIAN; KAVOOSI; MOMENZADEH, 2011). A small increase in  $X$  at a low water activity ( $a_w < 0.2$ ) can be attributed to the interaction of water in the polymer monolayer. An increase in  $X$  at an intermediate water activity ( $0.2 < a_w < 0.75$ ) is related to the interaction of water with hydrophilic groups in the upper layers of polymers. A more significant increase in  $X$  at a higher water activity ( $a_w > 0.75$ ) is mostly due to water condensation in the biopolymer and subsequent dissolution of materials.

The observed behaviour can be considered as type II water sorption isotherm (ZHANG, Wei *et al.*, 2016) and is analogous to hydrophilic materials (MONTE *et al.*, 2018; TORRES *et al.*, 2012).  $X$  is found to be higher in CH and ST across a wide range of  $a_w$  than in CH/ST blends. This suggests that the interactions of polar groups with water are greater in separate biopolymers than in the polymer mixture. In the case of polymer mixture, the interactions that occur between polar groups of different polymer chains suppress its ability to interact with water molecules. Polymers with hydrophilic nature such as chitosan and cassava starch are often mixed to improve their properties (SANTACRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015). The increase in the concentration of TiO<sub>2</sub> nanoparticles leads to a reduction in water adsorption that

indicates greater water resistance. The interaction of TiO<sub>2</sub> with the remaining hydrophilic groups of the polymer effectively reduces further the number of interactions available for water molecules, which results in a less hygroscopic matrix. Such behaviour has been observed in other polymeric matrices (MOHAMMADI NAFCHI *et al.*, 2014; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018; ZHANG, Wei *et al.*, 2016) where the increase of TiO<sub>2</sub> concentration leads to a lower equilibrium X over a wide range of a<sub>w</sub>. The Guggenheim-Anderson and Boer (GAB) model can be applied to a wide range of a<sub>w</sub> and is widely used to describe water sorption phenomena in food products (ZHANG, Wei *et al.*, 2016). Table 1 shows the calculated constants for the GAB model.

**Table 1.** GAB parameters for the moisture sorption isotherms of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25% and CH/ST/T1% films at 25 °C.

| Film          | Model Constants GAB (a <sub>w</sub> = 0.11-0.96) |                       |        |                |                                    |
|---------------|--|-----------------------|--------|----------------|------------------------------------|
|               | X <sub>m</sub><br>(g water/g dry solid)          | C                     | K      | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> <sub>adjusted</sub> |
| CH            | 0.5565   | 5.59x10 <sup>5</sup>  | 0.7887 | 0.9684         | 0.9613                             |
| ST            | 0.7047   | 6.07x10 <sup>7</sup>  | 0.8009 | 0.9799         | 0.9755                             |
| CH/ST         | 0.4662   | 5.59x10 <sup>5</sup>  | 0.8169 | 0.9870         | 0.9841                             |
| CH/ST/T 0.25% | 0.4470   | 2.44x10 <sup>6</sup>  | 0.7735 | 0.9378         | 0.9240                             |
| CH/ST/T 1%    | 0.5010   | 1.52x10 <sup>11</sup> | 0.5914 | 0.9700         | 0.9633                             |

As observed in previous studies, the R<sup>2</sup> values show a good fit of the GAB model to experimental data (Table 1) (MOHAMMADI NAFCHI *et al.*, 2014; MONTE *et al.*, 2018; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018; ZHANG, Wei *et al.*, 2016). The adjusted GAB model provides an approximation of X<sub>m</sub>, which indicates the largest amount of water per dry material that can be fixed in just a single layer (DEBIAGI *et al.*, 2015). The highest value for X<sub>m</sub> is exhibited by ST film at 0.7047 g/g. X<sub>m</sub> is reduced with the introduction of chitosan to the CH/ST blend (0.4662 g/g) and is further reduced with the increase of TiO<sub>2</sub> concentration in the blend. This strongly suggests the importance of the blend formation and addition of TiO<sub>2</sub> nanoparticles to increase the hydrophobicity of biopolymer films. This finding is in agreement with the previous work on mucilage films of *Iberian Lallelantia* and chitosan/whey protein blend (SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018; ZHANG, Wei *et al.*, 2016) that shows a reduction of X<sub>m</sub> when TiO<sub>2</sub> is added into the films.



The fitting parameter C represents the binding energy of sorption (ENRIONE; HILL; MITCHELL, 2007), where a low value of C corresponds to weakly adsorbed water molecules on the biopolymer surface and consequently have a high degree of freedom. The fitting parameter K indicates the degree of freedom of water molecules in the adsorbent multilayer. K is important as it provides information on whether water is adsorbed as a multilayer or a free state. For K close to 1.0, the difference between multilayer sorption energy and water condensation energy is small, and thus the multilayer may have the properties of liquid water. The lowest K is observed on bionanocomposite films containing the highest concentration of TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T 1%) with a value of 0.5914. This result is consistent with the aforementioned solubility (Figure 5) and mechanical properties (Figure 6) of the bionanocomposite films, which suggests a significant decrease in the number of polar groups available for interactions with water molecules once various interactions between the polymer mixture with the added TiO<sub>2</sub> nanoparticles have been formed.

### Thickness and colour parameters

Table 2 shows the thickness and colour parameters of the biopolymer films. Many factors may influence the film colour, including the crystallinity and size of TiO<sub>2</sub> nanoparticles, the film thickness, and the film preparation and manufacturing processes (GOUDARZI; SHAHABI-GHAHFARROKHI; BABAEI-GHAZVINI, 2017).

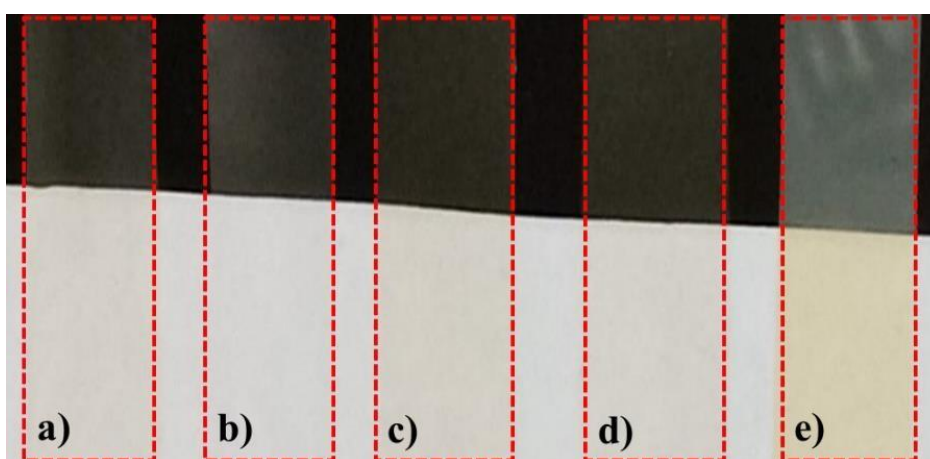
**Table 2.** Thickness and colour parameters of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T 025% and CH/ST/T1% films. Dataset is presented as mean  $\pm$  standard deviation. Different letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ).

| Film         | Thickness (mm)    | L                 | $\Delta E$        | WI                | YI                |
|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| CH           | 0.07 $\pm$ 0.01a  | 36.53 $\pm$ 0.06b | 37.96 $\pm$ 0.12b | 34.17 $\pm$ 0.04b | 49.72 $\pm$ 0.21a |
| ST           | 0.04 $\pm$ 0.01b  | 32.17 $\pm$ 0.06d | 33.22 $\pm$ 0.03d | 30.23 $\pm$ 0.12c | 47.36 $\pm$ 0.23b |
| CH/ST        | 0.06 $\pm$ 0.01ab | 32.47 $\pm$ 0.06d | 33.60 $\pm$ 0.08d | 30.47 $\pm$ 0.06c | 48.88 $\pm$ 0.48a |
| CH/ST/T0.25% | 0.05 $\pm$ 0.01ab | 35.87 $\pm$ 0.35c | 36.47 $\pm$ 0.35c | 34.00 $\pm$ 0.30b | 37.56 $\pm$ 0.59c |
| CH/ST/T1%    | 0.05 $\pm$ 0.01ab | 45.03 $\pm$ 0.38a | 45.14 $\pm$ 0.42a | 43.17 $\pm$ 0.32a | 20.87 $\pm$ 0.70d |

The incorporation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles does not significantly influence ( $p < 0.05$ ) the thickness of the films, which have an average thickness value of 0.057 nm, in alignment with previous studies (FATHI ACHACHLOUEI; ZAHEDI, 2018; SADEGHI-VARKANI; EMAM-

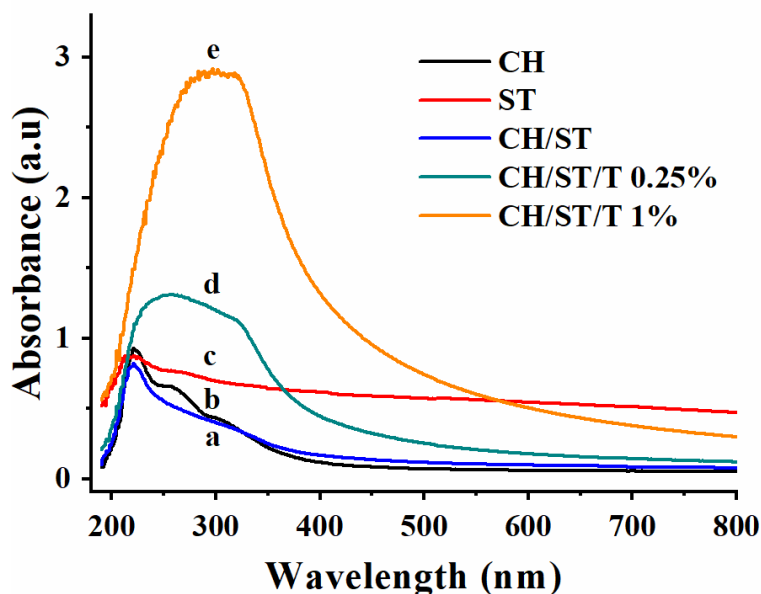
DJOMEH; ASKARI, 2018). The colour parameters are found to be highly dependent on the type of biopolymer used, the interaction between constituent biopolymers in the blends, and the content of  $\text{TiO}_2$ . Regarding the films without  $\text{TiO}_2$ , the values of lightness (L), colour difference ( $\Delta E$ ), and whiteness index (WI) for CH are higher than those of ST and CH/ST blends. Note that the cassava starch powder used for the manufacture of ST films was white while the chitosan powder for CH films was yellow. However, the obtained ST films are observed to be colourless with a WI of 30.23. Similar behaviour has been shown in previous study using potato starch with WI of 28.34 (OLEYAEI *et al.*, 2016). The yellow index (YI) is found to be significantly higher in the chitosan films and in the blend (CH/ST), which is inherent to the colour of the chitosan used.

With the incorporation of  $\text{TiO}_2$  into the blends, the bionanocomposites appear whiter due to the inherent whiteness of the powdered  $\text{TiO}_2$  nanoparticles. Therefore, L,  $\Delta E$ , and WI values are found to vary between 32.47-45.03, 33.60-45.14, and 30.47-43.17, respectively, which are higher than those of CH/ST blends. The addition of 1% of  $\text{TiO}_2$  to the biopolymer blend (CH/ST/T1%) results in a reduction of 57% in the yellow index (YI) and an increase of 38%, 34%, and 41% in the values of L,  $\Delta E$ , and WI, respectively. Similar behaviour was observed in a previous study for the addition of  $\text{TiO}_2$  into Iberian *Lallelantia mucilage* and potato starch films (OLEYAEI *et al.*, 2016; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018). The measurement data from the colorimeter (Table 2) are in agreement with the photographs of the samples (Fig. 8).



**Figure 8.** Photo taken of films a) CH, b) ST, c) CH/ST, d) CH/ST/T 0.25% and e) CH/ST/T 1%) on a standard black and white background.

### Opacity and transmittance



**Figure 9.** UV-vis absorbance spectra of films (a) CH, (b) ST, (c) CH/ST, (d) CH/ST/T0.25%, and (e) CH/ST/T1%.

Figure 9 shows the UV-vis absorbance spectra in the wavelength ranges of 200–800 nm for films of CH, ST, CH/ST, CH/ST/T0.25%, and CH/ST/T1%. There is a large difference between the absorption of biopolymer films without TiO<sub>2</sub> and that of bionanocomposites with TiO<sub>2</sub> across a wide range of UV and visible regions (Figure 9). The addition of TiO<sub>2</sub> results in a strong increase in absorbance, particularly in the UV region of 200–400 nm. This is similar to what has been previously observed when incorporating TiO<sub>2</sub> in wheat starch films (GOUDARZI; SHAHABI-GHAHFARROKHI; BABAEI-GHAZVINI, 2017). The strong absorption in the UV region can be attributed to the TiO<sub>2</sub> content, which is a semiconductor with a direct wide bandgap of ~3.05 eV for anatase (HOSEINNEJAD; MAHDI JAFARI; KATOUZIAN, 2018; ZHU; CAI; SUN, 2018). Biopolymer films without TiO<sub>2</sub> showed a lower absorbance in the UV and visible regions, except for the ST film, which shows a strong broadband absorbance in the region of 240–800nm. This suggests that film opacity is another determining factor that leads to higher absorption and consequently lower transmittance (Table 3). This is evident when comparing the photographs of the films (Figure 8) with the measurement data in Table 3.

Films with TiO<sub>2</sub> nanoparticles demonstrate a significantly lower ( $p < 0.05$ ) transmittance (%T) in UV-A (360 nm), UV-B (300 nm), UV-C (240 nm), and visible regions (600 nm) (Table 3). In comparison to CH/ST films, the bionanocomposite CH/ST/T1% films

that contain 1% of TiO<sub>2</sub> exhibit a lower transmittance of >97% in the UVA, UVB, and UVC, as well as >60% in the visible region. This is in agreement with previous studies that show an increase in absorbance of carboxymethylcellulose, gelatin, and potato starch films with the increase of TiO<sub>2</sub> nanoparticles concentration (FATHI ACHACHLOUEI; ZAHEDI, 2018; HE *et al.*, 2016; OLEYAEI *et al.*, 2016).

**Table 3.** Opacity and transmittance of films in the UV-C, UV-B, UV-A, and visible regions. Dataset is presented as mean  $\pm$  standard deviation. Different letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ).

| Film         | UVC<br>(240 nm)<br>T (%) | UVB<br>(300 nm)<br>T (%) | UVA<br>(360 nm)<br>T (%) | Visible<br>(600 nm)<br>T (%) | Opacity<br>(AU.Nm/mm) |
|--------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|-----------------------|
| CH           | 20.51 $\pm$ 0.83b        | 36.98 $\pm$ 1.25a        | 64.42 $\pm$ 0.88a        | 87.15 $\pm$ 0.50a            | 0.79 $\pm$ 0.03e      |
| ST           | 15.93 $\pm$ 0.38c        | 19.86 $\pm$ 1.05b        | 22.72 $\pm$ 1.22c        | 27.99 $\pm$ 1.90e            | 13.50 $\pm$ 0.70a     |
| CH/ST        | 23.21 $\pm$ 2.36a        | 38.48 $\pm$ 2.59a        | 58.51 $\pm$ 2.10b        | 79.49 $\pm$ 0.95b            | 1.75 $\pm$ 0.09d      |
| CH/ST/T0.25% | 5.53 $\pm$ 0.25d         | 6.64 $\pm$ 0.40c         | 21.29 $\pm$ 1.30c        | 66.10 $\pm$ 2.48c            | 4.09 $\pm$ 0.36c      |
| CH/ST/T1%    | 0.69 $\pm$ 0.17e         | 0.14 $\pm$ 0.07d         | 1.30 $\pm$ 0.36d         | 31.76 $\pm$ 1.58d            | 9.97 $\pm$ 0.42b      |

The opacity data presented in Table 3 strongly suggests that cassava starch and TiO<sub>2</sub> are the most decisive factors in increasing the opacity of the films. ST films exhibit a significantly greater opacity ( $p < 0.05$ ) than CH and CH/ST blend films. The addition of TiO<sub>2</sub> to the CH/ST blend leads to a significant increase ( $p < 0.05$ ) in opacity compared to the CH/ST without TiO<sub>2</sub>. These factors reflect in the reduction of the transmittance of the films due to the scattering from cassava starch dispersion and the absorption band of the TiO<sub>2</sub> nanoparticles (LI, Yanxia *et al.*, 2011; SMIJS; PAVEL, 2011). These results suggest that bionanocomposite films made of chitosan and cassava starch blends with the addition of 1% TiO<sub>2</sub> nanoparticles provide good optical properties with the potential to provide prevention against damage induced by UV light.

#### 4. CONCLUSION

Ecofriendly bioplastics consisting of chitosan/cassava starch/TiO<sub>2</sub> were developed and the results demonstrated that the properties of the films were strongly influenced by the properties of the constituent biopolymers and the concentration of the incorporated TiO<sub>2</sub> nanoparticles. Blend formulation leads to a decrease in water vapour permeability in

comparison to chitosan films and a reduction in solubility in relation to cassava starch films with intermediate values for tension, greater elongation, and less water sorption. The incorporation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles within the chitosan-cassava starch biofilms provides an opportunity to advance the fundamental understanding of the functional properties of bionanocomposite films. The increase in TiO<sub>2</sub> nanoparticles concentration of up to 1% w/w within the biopolymeric blend resulted in a more hydrophobic film with improved mechanical properties along with water solubility and vapour permeability. The addition of 1% TiO<sub>2</sub> in the film also leads to a reduction in light transmittance in the UV regions, thus showing a potential as UV light blocking agents for use as protective packaging to prevent detrimental effects on food. The chitosan/cassava starch/TiO<sub>2</sub>-based biopolymeric films developed in this work has the potential to enable the development of more sustainable packaging and contribute to the reduction of impacts caused by conventional plastics to the environment. The systematic approach introduced herein can be extrapolated for further development of functional biodegradable films with photoactive components that produces reactive oxygen species and hydroxyl radicals, which may inactivate microorganisms and deplete ethylene, for replacement of existing synthetic polymers.

## REFERENCES

AL-SAGHEER, F. A.; MERCHANT, S. Visco-elastic properties of chitosan–titania nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 2, p. 356–362, 2011.

ALIZADEH-SANI, M.; RHIM, J. W.; AZIZI-LALABADI, M.; HEMMATI-DINARVAND, M.; EHSANI, A. Preparation and characterization of functional sodium caseinate/guar gum/TiO<sub>2</sub>/cumin essential oil composite film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 145, p. 835–844, 2020.

ATES, B.; KOYTEPE, S.; ULU, A.; GURSES, C.; THAKUR, V. K. Chemistry, Structures, and Advanced Applications of Nanocomposites from Biorenewable Resources. **Chemical Reviews**, v. 120, n. 17, p. 9304–9362, 2020.

BALTI, R.; MANSOUR, M. Ben; SAYARI, N.; YACOUBI, L.; RABAOUI, L.; BRODU, N.; MASSÉ, A. Development and characterization of bioactive edible films from spider crab (*Maja crispata*) chitosan incorporated with Spirulina extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1464–1472, 2017.

BRAZ, E. M. de A.; SILVA, S. C. C. C. e.; DA SILVA, D. A.; CARVALHO, F. A. de A.; BARRETO, H. M.; SANTOS JÚNIOR, L. de S.; DA SILVA FILHO, E. C. Modified chitosan-based bioactive material for antimicrobial application: Synthesis and characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 117, p. 640–647, 2018.

CAZÓN, P.; MANUEL VÁZQUEZ. Mechanical and barrier properties of chitosan combined with other components as food packaging film. **Environmental Chemistry Letters**, v. 18, p. 257–267, 2020.

COLIVET, J.; CARVALHO, R. A. Hydrophilicity and physicochemical properties of chemically modified cassava starch films. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 599–607, 2017.

DEBIAGI, F.; MARIM, B. M.; MALI, S. Properties of Cassava Bagasse and Polyvinyl Alcohol Biodegradable Foams. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 23, n. 2, p. 269–276,

2015.

ENRIONE, J. I.; HILL, S. E.; MITCHELL, J. R. Sorption Behavior of Mixtures of Glycerol and Starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 8, p. 2956–2963, 2007.

FATHI ACHACHLOUEI, B.; ZAHEDI, Y. Fabrication and characterization of CMC-based nanocomposites reinforced with sodium montmorillonite and TiO<sub>2</sub> nanomaterials. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, p. 415–425, 2018.

FONSECA, J. M.; VALENCIA, G. A.; SOARES, L. S.; DOTTO, M. E. R.; CAMPOS, C. E. M.; MOREIRA, R. de F. P. M.; FRITZ, A. R. M. Hydroxypropyl methylcellulose-TiO<sub>2</sub> and gelatin-TiO<sub>2</sub> nanocomposite films: Physicochemical and structural properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 944–956, 2020.

GHAYAL, G.; JHA, A.; SAHU, J. K.; KUMAR, A.; GAUTAM, A.; KUMAR, R.; RASANE, P. Moisture sorption isotherms of dietetic Rabri at different storage temperatures. **International Journal of Dairy Technology**, v. 66, n. 4, p. 587–594, 2013.

GONZÁLEZ-BENITO, J.; TENO, J.; GONZÁLEZ-GAITANO, G.; XU, S.; CHIANG, M. Y. PVDF/TiO<sub>2</sub> nanocomposites prepared by solution blow spinning: Surface properties and their relation with *S. Mutans* adhesion. **Polymer Testing**, v. 58, p. 21–30, 2017.

GOPI, S.; AMALRAJ, A.; JUDE, S.; THOMAS, S.; GUO, Q. Bionanocomposite films based on potato, tapioca starch and chitosan reinforced with cellulose nanofiber isolated from turmeric spent. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 96, p. 664–671, 2019.

GOUDARZI, V.; SHAHABI-GHAHFARROKHI, I. Development of photo-modified starch/kefiran/TiO<sub>2</sub> bio-nanocomposite as an environmentally-friendly food packaging material. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 116, p. 1082–1088, 2018.

GOUDARZI, V.; SHAHABI-GHAHFARROKHI, I.; BABAEI-GHAZVINI, A. Preparation of ecofriendly UV-protective food packaging material by starch/TiO<sub>2</sub> bio-nanocomposite: Characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 306–313, 2017.

GUIOT, C.; SPALLA, O. Stabilization of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles in Complex Medium through a pH Adjustment Protocol. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 2, p. 1057–1064, 2013.

HE, Q.; ZHANG, Y.; CAI, X.; WANG, S. Fabrication of gelatin–TiO<sub>2</sub> nanocomposite film and its structural, antibacterial and physical properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v 84, p. 153–160, 2016.

HOSEINNEJAD, M.; MAHDI JAFARI, S.; KATOUZIAN, I. Inorganic and metal nanoparticles and their antimicrobial activity in food packaging applications. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 44, n. 2, p. 161–181, 2018.

KAEWKLIN, P.; SIRIPATRAWAN, U.; SUWANAGUL, A.; LEE, Y. S. Active packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, p. 523–529, 2018.

LARA, B. R. B.; DIAS, M. V.; GUIMARÃES JUNIOR, M.; DE ANDRADE, P. S.; DE SOUZA NASCIMENTO, B.; FERREIRA, L. F.; YOSHIDA, M. I. Water sorption thermodynamic behavior of whey protein isolate/ polyvinyl alcohol blends for food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 103, p. 105710, 2020.

LI, B.; ZHANG, Y.; YANG, Y.; QIU, W.; WANG, X.; LIU, B.; WANG, Y.; SUN, G. Synthesis, characterization, and antibacterial activity of chitosan/TiO<sub>2</sub> nanocomposite against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Carbohydrate Polymers**, v. 152, p. 825–831, 2016.

LI, Y.; JIANG, Y.; LIU, F.; REN, F.; ZHAO, G.; LENG, X. Fabrication and characterization of TiO<sub>2</sub>/whey protein isolate nanocomposite film. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 1098–1104, 2011.

LIN, B.; LUO, Y.; TENG, Z.; ZHANG, B.; ZHOU, B.; WANG, Q. Development of silver/titanium dioxide/chitosan adipate nanocomposite as an antibacterial coating for fruit storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 1206–1213, 2015.



LOOSLI, F.; STOLL, S. Effect of surfactants, pH and water hardness on the surface properties and agglomeration behavior of engineered TiO<sub>2</sub> nanoparticles. **Environmental Science Nano**, v. 4, p. 203–211, 2017.

LUO, L.; WANG, P.; JING, D.; WANG, X. Self-assembly of TiO<sub>2</sub> nanoparticles into chains, films and honeycomb networks. **CrystEngComm**, v. 16, n. 8, p. 1584–1591, 2014.

MACHADO, C. M.; BENELLI, P.; TESSARO, I. C. Sesame cake incorporation on cassava starch foams for packaging use. **Industrial Crops and Products**, v. 102, p. 115–121, 2017.

MANGARAJ, S.; YADAV, A.; BAL, L. M.; DASH, S. K.; MAHANTI, N. K. Application of Biodegradable Polymers in Food Packaging Industry: A Comprehensive Review. **Journal of Packaging Technology and Research**, v. 3, n. 1, p. 77–96, 2019.

MOHAMMADI NAFCHI, A.; MORADPOUR, M.; SAEIDI, M.; ALIAS, A. K. Effects of nanorod-rich ZnO on rheological, sorption isotherm, and physicochemical properties of bovine gelatin films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 142–149, 2014.

MONTE, M. L.; MORENO, M. L.; SENNA, J.; ARRIECHE, L. S.; PINTO, L. A. A. Moisture sorption isotherms of chitosan-glycerol films: Thermodynamic properties and microstructure. **Food Bioscience**, v. 22, p. 170–177, 2018.

OLEYAEI, S. A.; ZAHEDI, Y.; GHANBARZADEH, B.; MOAYEDI, A. A. Modification of physicochemical and thermal properties of starch films by incorporation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 256–264, 2016.

OLIVEIRA, V. R. L.; SANTOS, F. K. G.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; SILVA, K. N. O. Use of biopolymeric coating hydrophobized with beeswax in post-harvest conservation of guavas. **Food Chemistry**, v. 259, p. 55–64, 2018.

PATTANASHETTI, N. A.; HEGGANAVAR, G. B.; KARIDURAGANAVAR, M. Y. Smart Biopolymers and their Biomedical Applications. **Procedia Manufacturing**, v. 12, p. 263–279, 2017.

PODSHIVALOV, A.; ZAKHAROVA, M.; GLAZACHEVA, E.; USPENSKAYA, M. Gelatin/potato starch edible biocomposite films: Correlation between morphology and physical properties. **Carbohydrate Polymers**, v 157, p. 1162–1172, 2017.

POLTE, J. Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles – a new perspective. **CrystEngComm**, v. 17, n. 36, p. 6809–6830, 2015.

QU, L.; CHEN, G.; DONG, S.; HUO, Y.; YIN, Z.; LI, S.; CHEN, Y. Improved mechanical and antimicrobial properties of zein/chitosan films by adding highly dispersed nano-TiO<sub>2</sub>. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 450–458, 2019.

RAMBABU, K.; BHARATH, G.; BANAT, F.; SHOW, P. L.; COCOLETZI, H. H. Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 1234–1243, 2019.

SADEGHI-VARKANI, A.; EMAM-DJOMEH, Z.; ASKARI, G. Morphology and physicochemical properties of a novel *Lallemantia iberica* mucilage/titanium dioxide bio-nanocomposite. **Polymer Testing**, v. 67, p. 12–21, 2018.

SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 89–94, 2015.

SIRIPATRAWAN, U.; KAEWKLIN, P. Fabrication and characterization of chitosan-titanium dioxide nanocomposite film as ethylene scavenging and antimicrobial active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 125–134, 2018.

SMIJS, T.; PAVEL. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. **Nanotechnology, Science and Applications**, v. 4, p. 95–112, 2011.

SORADECH, S.; NUNTHANID, J.; LIMMATVAPIRAT, S.; LUANGTANA-ANAN, M. Utilization of shellac and gelatin composite film for coating to extend the shelf life of banana. **Food Control**, v. 73, p. 1310–1317, 2017.

THAKUR, V. K.; VOICU, S. I. Recent advances in cellulose and chitosan based membranes for water purification: A concise review. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 148–165, 2016.

THANH, N. T. K.; MACLEAN, N.; MAHIDDINE, S. Mechanisms of Nucleation and Growth of Nanoparticles in Solution. **Chemical Reviews**, v. 114, p. 7610–7630, 2014.

TORRES, M. D.; MOREIRA, R.; CHENLO, F.; VÁZQUEZ, M. J. Water adsorption isotherms of carboxymethyl cellulose, guar, locust bean, tragacanth and xanthan gums. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 2, p. 592–598, 2012.

WANG, H.; QIAN, J.; DING, F. Emerging Chitosan-Based Films for Food Packaging Applications. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 395–413, 2018.

XING, Y.; YANG, H.; GUO, X.; BI, X.; LIU, X.; XU, Q.; WANG, Q.; LI, W.; LI, X.; SHUI, Y.; CHEN, C.; ZHENG, Y. Effect of chitosan/Nano-TiO<sub>2</sub> composite coatings on the postharvest quality and physicochemical characteristics of mango fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 263, p. 109135, 2020.

ZHANG, B.; MEI, J. Q.; CHEN, B.; CHEN, H. Q. Digestibility, physicochemical and structural properties of octenyl succinic anhydride-modified cassava starches with different degree of substitution. **Food Chemistry**, v. 229, p. 136–141, 2017.

ZHANG, W.; CHEN, J.; CHEN, Y.; XIA, W.; XIONG, Y. L.; WANG, H. Enhanced physicochemical properties of chitosan/whey protein isolate composite film by sodium laurate-modified TiO<sub>2</sub> nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 59–65, 2016.

ZHANG, Y.; XUE, C.; XUE, Y.; GAO, R.; ZHANG, X. Determination of the degree of deacetylation of chitin and chitosan by X-ray powder diffraction. **Carbohydrate Research**, v. 340, n. 11, p. 1914–1917, 2005.

ZHONG, Y.; GODWIN, P.; JIN, Y.; XIAO, H. Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 3, n. 1, p. 27–35, 2020.

ZHOU, J. J.; WANG, S. Y.; GUNASEKARAN, S. Preparation and Characterization of Whey Protein Film Incorporated with TiO<sub>2</sub> Nanoparticles. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 7, p. 50–56, 2009.

ZHU, Z.; CAI, H.; SUN, D. W. Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) photocatalysis technology for nonthermal inactivation of microorganisms in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 23–35, 2018.

ZOLFI, M.; KHODAIYAN, F.; MOUSAVI, M.; HASHEMI, M. Development and characterization of the kefiran-whey protein isolate-TiO<sub>2</sub> nanocomposite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 340–345, 2014.

ZOMORODIAN, A.; KAVOOSI, Z.; MOMENZADEH, L. Determination of EMC isotherms and appropriate mathematical models for canola. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, n. 4, p. 407–413, 2011.

## CAPÍTULO II

### **TiO<sub>2</sub> INCORPORATED INTO A BLEND OF BIOPOLYMERIC MATRICES IMPROVES FILM PROPERTIES AND AFFECTS THE POSTHARVEST CONSERVATION OF PAPAYA FRUITS UNDER UV LIGHT**

#### **RESUMO**

Este trabalho investigou as propriedades de filmes contendo partículas nanométricas de TiO<sub>2</sub> em uma matriz biopolimérica de quitosana-fécula de mandioca e sua viabilidade na conservação pós-colheita de frutos de mamão. No desenvolvimento dos filmes, foi utilizado um planejamento fatorial completo associado a um ponto central e pontos axiais. As variáveis independentes foram a porcentagem de quitosana (0%;100%) e a porcentagem de TiO<sub>2</sub> (0%; 2%). A metodologia de superfície de resposta foi utilizada para avaliar a influência dos teores de quitosana e TiO<sub>2</sub> na permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, resistência à tração, alongamento na ruptura, módulo de elasticidade e opacidade de bionanocompósitos à base de fécula de mandioca. Filmes com adição de 40,8% a 67,5% de quitosana e 0,8% a 1,2% de TiO<sub>2</sub> mostraram propriedades melhoradas. Assim, para avaliar sua viabilidade como revestimento comestível para o mamão Formosa, três tratamentos foram aplicados: T1: mamão não revestido, T2: revestido com quitosana/fécula de mandioca (1:1) e T3: revestido com quitosana/fécula de mandioca (1:1) associado a 1% de TiO<sub>2</sub>, tanto na presença quanto na ausência de luz ultravioleta, a 15 ± 1°C, 90 ± 1% UR por 24 dias. Filmes de mistura de quitosana-fécula mostraram hidrofobicidade intermediária e propriedades mecânicas melhoradas. No entanto, a adição de TiO<sub>2</sub> superior a 1% levou à formação de aglomerados e redução da transparência do filme. A adição de 1% de TiO<sub>2</sub> à matriz polimérica de quitosana/fécula (1:1) melhorou as propriedades mecânicas, a solubilidade e reduziu a transmitância em mais de 97% nas regiões de UV, apresentando, assim, uma transparência adequada. A luz ultravioleta proporcionou danos superficiais na casca da fruta, o que foi evidenciado por uma maior perda de massa. No entanto, a adição de 1% de nano TiO<sub>2</sub> à mistura de biopolímero de quitosana/fécula reduziu a perda de massa e atrasou o amadurecimento dos frutos. Frutos revestidos apresentaram qualidades externas e internas adequadas para comercialização quando armazenados por até 24 dias a 15 °C e 90 ± 1% UR.

**Palavras-chave:** *Carica papaya* L. Revestimento. Qualidade. Dióxido de titânio. Mecânico. Barreira. Biopolímero.

## ABSTRACT

This work investigated the properties of films containing nanometric TiO<sub>2</sub> particles in a biopolymeric matrix of chitosan-cassava starch and its viability on the postharvest conservation of papaya fruits. In the development of the films, a complete factorial design associated with a central point and axial points was used. The independent variables were the percentage of chitosan (0%;100%) and percentage of TiO<sub>2</sub> (0%; 2%). The response surface methodology was used to evaluate the influence of chitosan and TiO<sub>2</sub> contents on water vapor permeability, solubility, tensile strength, elongation at break, modulus of elasticity and opacity of cassava starch-based bionancomposites. Films with the addition of 40.8% to 67.5% of chitosan and 0.8% to 1.2% of TiO<sub>2</sub> showed improved properties. So, to evaluate its viability as an edible coating for Formosa papaya, three treatments were applied: T1: uncoated papaya, T2: coated with chitosan/cassava starch (1:1), and T3: coated with chitosan/cassava starch (1:1) associated to 1% TiO<sub>2</sub>, under the presence and absence of UV light, at 15±1°C, 90±1% RH for 24 days. Chitosan-Starch blend films showed intermediate hydrophobicity and improved mechanical properties. However, the addition of TiO<sub>2</sub> exceeding 1% led to the formation of agglomerates and reduced film transparency. The addition of 1% TiO<sub>2</sub> into the polymeric matrix of chitosan/starch (1:1) improved the mechanical properties, solubility, and reduced transmittance by more than 97% within UV regions, thereby presenting suitable transparency. UV light provided superficial damage on the fruit peel, which was evidenced by a higher weight loss. However, the addition of 1% nano TiO<sub>2</sub> to the chitosan/starch biopolymer blend reduced weight loss and delayed fruit ripening. Coated fruits showed suitable external and internal qualities for commercialization when storage for up to 24 days at 15 °C and 90 ± 1% RH.

**Keywords:** *Carica papaya L.* Coating. Quality. Titanium Dioxide. Mechanical. Barrier. Biopolymer.

## 1. INTRODUCTION

In 2018, the global food exportation raised 1.4 trillion dollars, in which fruits and vegetables encompassed nearly 23% of this total, being greatly influenced by the production of 867.774.832 tons of fruits, (FAO 2020a). Papaya fruit (*Carica papaya* L.) is part of this volume, with a worldwide crop area of around 1.015 million hectares (13.290 million tons of fruits). Brazil is the second-largest producer of papaya in the world, with a growth area of 27.250 hectares, which produces about 1.060.392 tons (EMBRAPA, 2021).

Papaya fruit is considered a good source of vitamins A and C, calcium, iron, potassium, magnesium, and sodium, besides phenolic, carotenoid and flavonoid compounds, which bring health benefits, as it exhibits free radical's scavenger abilities (PARVEN *et al.*, 2020; SOMANAH *et al.*, 2018). On the other hand, since they present climacteric behavior, with high ethylene production and respiration rates, the fruit exhibits intense metabolic activity and high perishability (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020; MENDY *et al.*, 2019).

In order to prolong fruit shelf-life, innovative and inexpensive strategies have been exhaustively studied (GOPI *et al.*, 2019; ZHONG *et al.*, 2020) to reduce the waste of fruits, which is currently around 14% (FAO 2020b). In this context, the active and smart biodegradable packaging (edible coating or films) interacts with the product, thereby decreasing its metabolism and consequently preserving sensory and nutritional properties for a longer period (KAEWKLIN *et al.*, 2018; XING *et al.*, 2020). Additionally, both the high antifungal activity of polymers - such as chitosan (VANDEN BRABER *et al.*, 2021) - and the insertion of nanoparticles in the filmogenic solution has reduced water vapor permeability rate and microbiological growth (PAIVA *et al.*, 2020), thus delaying fruit and vegetable senescence.

Cassava starch and chitosan are polymers with high film-forming ability, providing important benefits when used alone and/or in blend compositions (GOPI *et al.*, 2019; LIM *et al.*, 2020; SANTACRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015). In general, blend films present improved properties due to interactions that may occur in the mixed matrix, such as those between the  $\text{NH}_3^+$  group from protonated chitosan and the hydroxyl groups of the starch (CAZÓN; MANUEL VÁZQUEZ, 2020; SANTACRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015). However, films based on biopolymers may display a great affinity with water, besides poor mechanical characteristics. In this context, the addition of nanoparticles into the biopolymer matrix has benefited edible coatings properties (ALIZADEH-SANI *et al.*, 2020; AREZOO *et al.*, 2020; FONSECA *et al.*, 2020; PAIVA *et al.*, 2020; QU *et al.*, 2019; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018).

Some studies have shown promising results on the postharvest conservation of papaya submitted to either chitosan (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020) or cassava starch-based coatings with essential oil (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020). However, there is still a lack of information about the use of blends and the incorporation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles into the mix of natural polymers concerning papaya fruit conservation. In general, papaya fruit shows a good appearance when preserved unpackaged, at 12 °C, for up to 20 days of storage (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020). On the other hand, if papaya is maintained at higher temperatures ( $25 \pm 2$  °C), its shelf life is reduced, thereby decreasing to seven days.

Film properties, such as water vapor barrier, solubility, mechanical, and optical characteristics, are important parameters in packaging procedure. Moreover, the incorporation of titanium dioxide - a substance with suitable dispersion and biocompatibility, and non-toxic characteristics - benefits hydrophobicity and mechanical properties of the matrix of biopolymer (ALIZADEH-SANI *et al.*, 2020; AREZOO *et al.*, 2020; FONSECA *et al.*, 2020; QU *et al.*, 2019; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018). Furthermore, it can block ultraviolet light (AREZOO *et al.*, 2020; FATHI ACHACHLOUEI; ZAHEDI, 2018; FONSECA *et al.*, 2020; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018) and/or absorb it, thereby producing reactive oxygen species and hydroxyl radicals, which may inactivate microorganisms and deplete ethylene (KAEWKLIN *et al.*, 2018; QU *et al.*, 2019; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018). Reactive oxygen species (ROS) and hydroxyl radicals are strong oxidizing agents, which oxidize ethylene to CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O, delaying the fruit's senescence, thus keeping nutritional quality for a longer time. Such effects were detected in chitosan/nano-TiO<sub>2</sub> coated mangoes (XING *et al.*, 2020) and in chitosan/nano-TiO<sub>2</sub> coated tomatoes (KAEWKLIN *et al.*, 2018).

Based on the previous understanding regarding the positive impact of the package on fruits' shelf life as their economic and nutritional elements importance, the response surface methodology was used to evaluate the influence of chitosan and nano-TiO<sub>2</sub> contents on the water vapor permeability, solubility, mechanical, and optical properties of cassava starch-based bio-nanocomposites and their application as coatings for papaya (*Carica papaya* L.) fruit, under both the absence and presence of UV light.



## 2. MATERIALS AND METHODS

### Synthesis of films

Commercial chitosan ( $M_w$  50000 Da, deacetylation degree  $\geq 88.91\%$ ) was purchased from Polymar Indústria e Com. Imp. and Exp. Ltda - Brazil; while cassava starch (29.24 % amylose and 70.76% amylopectin) was supplied by Indústria Primícia do Brasil Ltda - Brazil. The titanium dioxide (anatase, particle size of 20-25 nm, 99.7% purity) was obtained from Sigma-Aldrich, the glycerol (99.5% purity) and the acetic acid (99.7%, purity) was acquired from Dinâmica Química Contemporânea Ltda - Brazil. Chitosan films were prepared based on the method described by Rambabu et al. 2019. Cassava starch films were developed according to Oliveira *et al.* (2018) previous report. Biopolymers blend films (Chitosan/Starch-Cassava) were accomplished by mixing the filmogenic solutions and keeping the total biocomposite dry mass equal and constant to that of the pure polymer films. As a plasticizer, glycerol (20% w/w) was then used (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021). Films containing TiO<sub>2</sub> nanoparticles were obtained by adding gradually an aqueous suspension of TiO<sub>2</sub> nanoparticles to the filmogenic solutions composed of pure polymers and biopolymer blends under intense rotation (1000 rpm, 5 min). Then, 60 g of filmogenic solutions were placed on acrylic plates (15 cm wide, 15 cm long) to evaporate the solvent for 4 to 6 h in an air-renewal oven. After drying, the obtained films were conditioned at 23°C and 55% relative humidity.

### Experimental planning for films development

In this study, it was carried out a complete factorial design associated with a central point, and, whether the response variables were not adequately described throughout a linear empirical model, axial points were added to fit in a quadratic model. Two independent variables were then used (K=2 factors), coded as  $X_1$  = percentage of chitosan (CH);  $X_2$  = percentage of nano-TiO<sub>2</sub>, with a range of  $x_1 = (0; 100)$ ,  $x_2 = (0; 2)$  in %, to study its effects on the properties of water vapor permeability (WVP), solubility (Sol), tensile strength (TS), elongation on rupture (ER), modulus of elasticity (ME) and opacity (Op) of cassava starch-based bio-nanocomposites. The percentage of glycerol was kept constant (20%) with regards to biopolymers' dry mass. The experimental design besides coded and real values for independent variables are shown in Table I.

### Films characterization

Assessments related to thickness and water vapor permeability of the films were performed as described by Monteiro et al. (2018). Morphology evaluations were carried out on the fractured surface and cross-section of the film via mechanical tests coupled with a scanning electron microscope (SEM) (Model VEGA 3, TESCAN).

The samples were metalized with a thin layer of gold by using a vacuum metallizer (model Q150R) for 5 minutes at 20 mA. The film surface was evaluated by applying a voltage of 10 kV, with a magnitude of 5 kx; while the cross-section was submitted to a voltage of 5 kV and magnitude of 500x. Working distances were about 15 mm for all micrographs.

The mechanical properties were performed according to ASTM D882-83 applied to the Testing Machine DL5000/10000, Series EMIC 23, at speed of 5 mm/min with the application of a total force of 5 KN. The percentage of solubility was accomplished based on methods described by Oliveira *et al.* (2018).

Film absorbance and transmittance were assessed with a UV-vis spectrophotometer, model EVO-600PC, THERMO. Opacity (AU.Nm / mm) was calculated by dividing the absorbance at 600 nm by film thickness [in milimeters] (FATHI ACHACHLOUEI; ZAHEDI, 2018). The water vapor permeability (g.mm/kPa.m<sup>2</sup>.h) was calculated based on the weight ( $W$ ) of water that permeates a film of a certain average thickness ( $L$ ) and exposed area ( $A$ ), within a timeframe ( $t$ ), and at a given water vapor pressure differential ( $\Delta P$ ). The water vapor permeability was calculated according to Equation (1):

$$WVP = W \cdot L / A \cdot t \cdot \Delta P \quad (1)$$

Film color parameters,  $L$  (brightness),  $a$  (green and red), and  $b$  (blue and yellow), were estimated by reflectometry coupled with a portable colorimeter (Konica Minolta Sensing Inc. Japan) referenced by a standard black background ( $L^* = 1$ ,  $a^* = 0$  and  $b^* = 0$ ). Based on these parameters, the total color difference ( $\Delta E$ ), whiteness ( $WT$ ), and yellow ( $YT$ ) indices of the samples were also calculated by Eqs. (2)-(4), respectively, followed by an adapted method from Sadeghi-Varkani *et al.* (2018) and Oleyaei *et al.* (2016).

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

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2} \quad (3)$$

$$YI = 142.86b/L \quad (4)$$

### **Application of edible coatings on papaya fruits and experimental setup**

Papaya fruits (*Carica papaya L.*) were purchased from producers located in Mossoró, state of Rio Grande of Norte, Brazil, at commercial maturity (presenting 15% of yellow streaks), free of injuries and in standardized sizes. All fruits were immersed in a sterilized solution (100 ppm sodium hypochlorite for 10 min.) and dried under natural conditions on a bench. For the fruit coating process, the method of immersion of the fruits in filmogenic solutions was selected. Except for control fruits, the remaining ones were immersed in a specific filmogenic solution (with or without TiO<sub>2</sub> 1%) for 90 s, then removed and dried at a temperature of 23°C for 1.0 h. Shortly after, three treatments were arranged: T1: uncoated papaya (control), T2: coated papaya fruits containing chitosan/cassava starch edible coating (1:1), and T3: coated papaya fruits containing chitosan/cassava starch (1:1) associated to 1% TiO<sub>2</sub>. Fruits of each treatment were conditioned in different cold chambers, set up at 15 ± 1 °C and 90 ± 1% RH for 24 days. In one of the chambers, the samples received ultraviolet (UV) light irradiation through 9 W lamp of 25 mm x 120 mm (model CUH9L, GRECH) and with ultraviolet light emission in the wavelength range of 230 – 430 nm. In such conditions, coated and non-coated fruits were placed at 15 cm from the lamp and submitted to ultraviolet light for 2 minutes on the first day, followed by every seven days apart, corresponding to 8 min of exposure during storage at a quality level of 1.68 kJ m<sup>-2</sup> after 24 days of storage.

### **Quality of papaya fruits evaluations**

The weight loss of the papaya fruits was estimated by the difference between the initial and final weight over the storage time, which was expressed in percentage. Fruit firmness was evaluated by dividing it into two parts and, in one of them, five readings were carried out on the pulp, in random and equidistant locations, using a Penetrometer (model FT 327, McCormick, USA), with a tip diameter of 8 mm. The results were expressed in Newton. The soluble solids content (SS) was expressed in °Brix (digital refractometer model PR - 100 Palett, Atago, Japan), while titratable acidity (TA) was expressed in g of citric acid of 100 g<sup>-1</sup> of juice (PAIVA *et al.*, 2020). Fruit vitamin C content was expressed in mg of vitamin C per 100 g<sup>-1</sup>

pulp, as reported by Oliveira *et al.* (2018). Finally, the pH (digital potentiometer) was accomplished as previously described by Paiva *et al.* (2020).

The peel color was determined by reflectometry, using a CR-10 colorimeter (Konica Minolta®, Japan). The readings were expressed in parameters such as *L*, (brightness), *C* (chromaticity) and *H*, (angle Hue). The measurements were determined at three fixed and equidistant points, thereby considering the average.

External (*AE*) and internal (*AI*) appearances were evaluated by three trained and skilled persons using a visual and subjective rate scale, with grades ranging from 5 to 0, according to the severity of imperfections on external (depression, wilting, fungal lesions, or stains) and in the internal (internal collapse, aberrant seeds and/or the presence of liquids in the seed cavity) areas. Thus, the lower the score, the lower was the fruit overall quality (LIMA *et al.*, 2005). Fruits with a score below 3.0 were considered unsuitable for commercialization (PAIVA *et al.*, 2020).

### **Statistical analysis**

Regarding films, the behavior of each response was explained by an empirical polynomial model. The models were verified to be statistically significant at  $P < 0.05$  with an analysis of variance (ANOVA) and F test. The significant models were presented in response surface graphs. Concerning the quality of the fruits, a factorial design (2×3) was used by involving two conditions: (presence and absence of UV light) and three treatments: (T1, T2, T3), with four replicates. A two-way ANOVA and Tukey test were used, being considered significantly different at  $P < 0.05$ . All statistical analysis of the data was accomplished via experimental designs with the Statistica® software version 13.5 (TIBCO Software Inc., USA).

## **3. RESULTS**

### **Response Surfaces**

The used points in the experimental designs with both coded and real values for independent variables as well as the values obtained for the studied response variables at each point are shown in Table 1.

**Table 1.** Experimental matrix presenting coded and real values for independent variables and mean values based on response variables. Y1 - Water vapor permeability (g.mm/kPa.m<sup>2</sup>.h), Y2 - Solubility (%), Y3 - Tensile strength (Mpa), Y4 - Elongation on rupture (%), Y5 - Modulus of elasticity (Mpa), Y6 -Opacity (AU.Nm/mm), (\*) factorial design with center point.

| Run            | Composition              |  | Response variables     |                       |                      |                      |                      |                       |       |
|----------------|--------------------------|--|------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-------|
|                | %CH<br>(X <sub>1</sub> ) | %TiO <sub>2</sub><br>(X <sub>2</sub> ) | WVP*<br>Y <sub>1</sub> | Sol<br>Y <sub>2</sub> | TS<br>Y <sub>3</sub> | ME<br>Y <sub>4</sub> | EI<br>Y <sub>5</sub> | Op*<br>Y <sub>6</sub> |       |
| Factorial      | 1                        | 0 (-1)                                 | 0.0 (-1)               | 9.55                  | 49.71                | 29.30                | 8.32                 | 867.33                | 13.51 |
|                | 2                        | 100 (+1)                               | 0.0 (-1)               | 20.77                 | 19.28                | 54.30                | 5.46                 | 2534.27               | 0.79  |
|                | 3                        | 0 (-1)                                 | 2.0 (+1)               | 7.78                  | 32.54                | 8.01                 | 1.00                 | 2962.98               | 22.98 |
|                | 4                        | 100 (+1)                               | 2.0 (+1)               | 27.76                 | 18.18                | 44.79                | 5.61                 | 1726.48               | 9.01  |
| Axial points   | 5                        | 50(0)                                  | 0.0 (-1)               | -                     | 16.53                | 43.88                | 11.06                | 1236.01               | -     |
|                | 6                        | 100(+1)                                | 1.0 (0)                | -                     | 16.88                | 59.46                | 6.24                 | 1552.32               | -     |
|                | 7                        | 50(0)                                  | 2.0 (+1)               | -                     | 12.90                | 36.63                | 6.28                 | 1064.34               | -     |
|                | 8                        | 0(-1)                                  | 1.0 (0)                | -                     | 24.25                | 28.40                | 4.85                 | 1047.01               | -     |
| Central points | 9                        | 50 (0)                                 | 1.0 (0)                | 14.84                 | 16.04                | 49.76                | 24.61                | 440.44                | 9.97  |
|                | 10                       | 50 (0)                                 | 1.0 (0)                | 13.51                 | 16.52                | 50.44                | 25.96                | 459.63                | 10.18 |
|                | 11                       | 50 (0)                                 | 1.0 (0)                | 16.10                 | 16.10                | 54.53                | 25.01                | 469.00                | 9.34  |
|                | 12                       | 50 (0)                                 | 1.0 (0)                | 14.90                 | 15.51                | 49.00                | 25.02                | 470.00                | 10.18 |

Films absent of chitosan (starch films) plus TiO<sub>2</sub> showed lower WVP as compared to its counterparts, thereby presenting a value of 7.78 g.mm/kPa.m<sup>2</sup>.h in starch films containing 2 % TiO<sub>2</sub> (run 3). As for solubility, starch films with or without TiO<sub>2</sub> were more soluble (runs 1 and 3, respectively). Regarding this parameter, there is a strong influence of chitosan and TiO<sub>2</sub>, in which the lowest value was displayed by the formation of the biopolymer blend containing TiO<sub>2</sub> nanoparticles.

Greater tensile strength is evidenced in chitosan films as compared to starch films. The addition of 1% TiO<sub>2</sub> produced films with higher tensile strength; however, exceeding this concentration, TiO<sub>2</sub> leads to more fragile ones. The highest tensile strength values were found in run 6, which corresponds to chitosan films with 1% TiO<sub>2</sub>, and in run 11, namely the 1:1 blend of biopolymers containing 1% TiO<sub>2</sub>, thereby showing values of 59.46 MPa and 54.53 MPa, respectively.

Cassava starch films (run 1) showed a higher elongation than chitosan films (run 2). When these two biopolymers are mixed in a 1:1 ratio, there is an increase in elongation at break (run 5), which becomes more substantial with the addition of 1% TiO<sub>2</sub> to the blend (run 10). The elongation values of the starch, blend only, and blend with 1% TiO<sub>2</sub> films were 8.32%, 11.06% and 25.96% respectively, coupled with a reduction in the modulus of elasticity. The

opacity of the films increased in response to the addition of TiO<sub>2</sub>, while reduced by the addition of chitosan, showing a lower value (0.79 AU.Nm/mm) in chitosan films (run 2) and a higher value (22.98 AU.Nm/mm) in starch films containing increased TiO<sub>2</sub> levels (run 3). Blending with 1% TiO<sub>2</sub> shows intermediate values - around 9.92 AU.Nm/mm (Table 1).

Table 2 shows the coded models proposed to describe Y<sub>1</sub> - water vapor permeability, Y<sub>2</sub> - solubility, Y<sub>3</sub> - tensile strength, Y<sub>4</sub> - elongation at break, Y<sub>5</sub> - modulus of elasticity, and Y<sub>6</sub> - opacity of the studied bio-nanocomposites within the experimental domain and the values of R<sup>2</sup>, R<sub>adjusted</sub>, F<sub>calculated</sub> and F<sub>critical</sub> for the models. The omitted coefficients were not significant, thus being disregarded during the models' adjustment. The values of R<sup>2</sup> were higher than 0.85, except for the coded model that describes the elongation at break, which showed an R<sup>2</sup> of 0.69, and the F<sub>calculated</sub> > F<sub>critical</sub> for a 95% confidence level, indicating that the models were significant.

**Table 2.** Proposed coded models to describe Y<sub>1</sub> - Water vapor permeability, Y<sub>2</sub> - Solubility, Y<sub>3</sub> - Tensile strength, Y<sub>4</sub> -Elongation at break, Y<sub>5</sub> - Modulus of elasticity, Y<sub>6</sub> - Opacity of the studied bio-nanocomposites within the experimental domain. (\*) Statistically significant for P < 0.05.

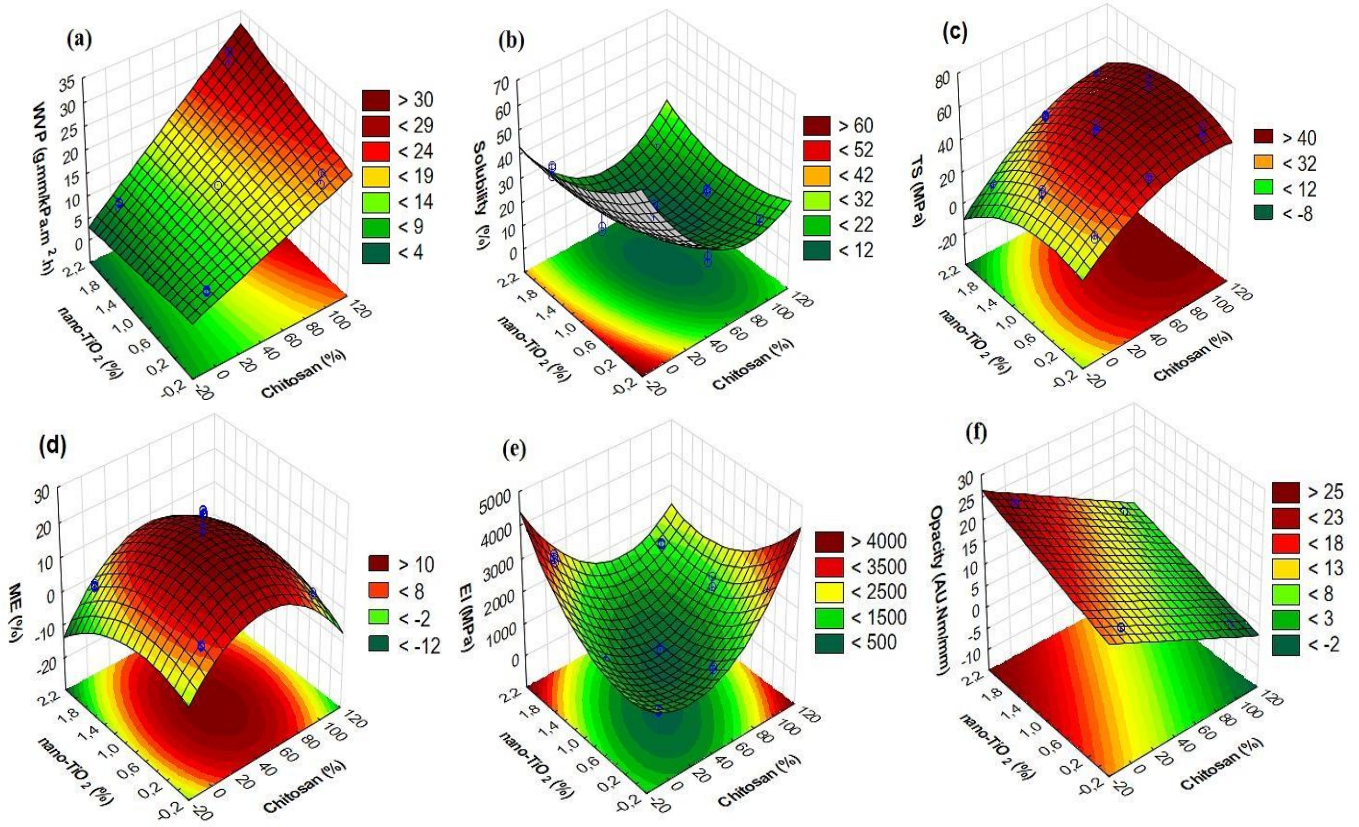
| Fitted models*  | R <sup>2</sup> | R <sub>adjusted</sub> | F <sub>calculated</sub> | F <sub>critical</sub> |
|---|----------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|
| Y <sub>1</sub> = 9.143 + 0.112·X <sub>1</sub> - 0.885·X <sub>2</sub> + 0.044·X <sub>1</sub> ·X <sub>2</sub>   | 0.970          | 0.962                 | 127.69                  | 3.49                  |
| Y <sub>2</sub> = 44.952 - 0.702·X <sub>1</sub> + 0.004·X <sub>1</sub> <sup>2</sup> - 18.374·X <sub>2</sub> + 5.352·X <sub>2</sub> <sup>2</sup> + 0.080·X <sub>1</sub> ·X <sub>2</sub>       | 0.858          | 0.826                 | 26.11                   | 2.66                  |
| Y <sub>3</sub> = 27.872 + 0.502·X <sub>1</sub> - 0.002·X <sub>1</sub> <sup>2</sup> + 10.651·X <sub>2</sub> - 9.970·X <sub>2</sub> <sup>2</sup> + 0.059·X <sub>1</sub> ·X <sub>2</sub>       | 0.967          | 0.963                 | 229.62                  | 2.42                  |
| Y <sub>4</sub> = 6.711 + 0.323·X <sub>1</sub> - 0.003·X <sub>1</sub> <sup>2</sup> + 7.360·X <sub>2</sub> - 5.609·X <sub>2</sub> <sup>2</sup> + 0.037·X <sub>1</sub> ·X <sub>2</sub>         | 0.691          | 0.652                 | 17.46                   | 2.42                  |
| Y <sub>5</sub> = 953.430 - 17.089·X <sub>1</sub> + 0.347·X <sub>1</sub> <sup>2</sup> - 525.394·X <sub>2</sub> + 718.645·X <sub>2</sub> <sup>2</sup> - 14.517·X <sub>1</sub> ·X <sub>2</sub> | 0.943          | 0.935                 | 128.58                  | 2.42                  |
| Y <sub>6</sub> = 13.186 - 0.127·X <sub>1</sub> + 4.738·X <sub>2</sub> - 0.006·X <sub>1</sub> ·X <sub>2</sub>  | 0.990          | 0.988                 | 535.07                  | 3.24                  |

Figure 1 shows the response surfaces to demonstrate how chitosan and nano-TiO<sub>2</sub> contents affect WVP(a), solubility (b), tensile strength (c), elongation at break (d), modulus of elasticity (e), and opacity (f) of the cassava starch/chitosan/TiO<sub>2</sub> nanocomposite films.

Figure 1a shows the WVP values as a function of the percentages of chitosan and nano-TiO<sub>2</sub>, showing higher WVP values as TiO<sub>2</sub> concentration increases, which was markedly evidenced by the presence of chitosan. Intermediate values are observed with the blend formation and a slight reduction in starch films.

Figure 1b shows the variation of solubility values, and the most soluble films contain only cassava starch. The contents of chitosan and TiO<sub>2</sub> have a strong influence on solubility,

and the films with blend formation by the addition of 67.5% of chitosan and 1.2% of  $\text{TiO}_2$  presented a minimum of solubility.



**Figure 1.** Variation of WVP (a), Solubility (b) Tensile strength (c), Elongation at break (d), Modulus of elasticity (e) and Opacity (f) of cassava starch nanocomposite films, as a function of chitosan and nano-TiO<sub>2</sub> percentages.

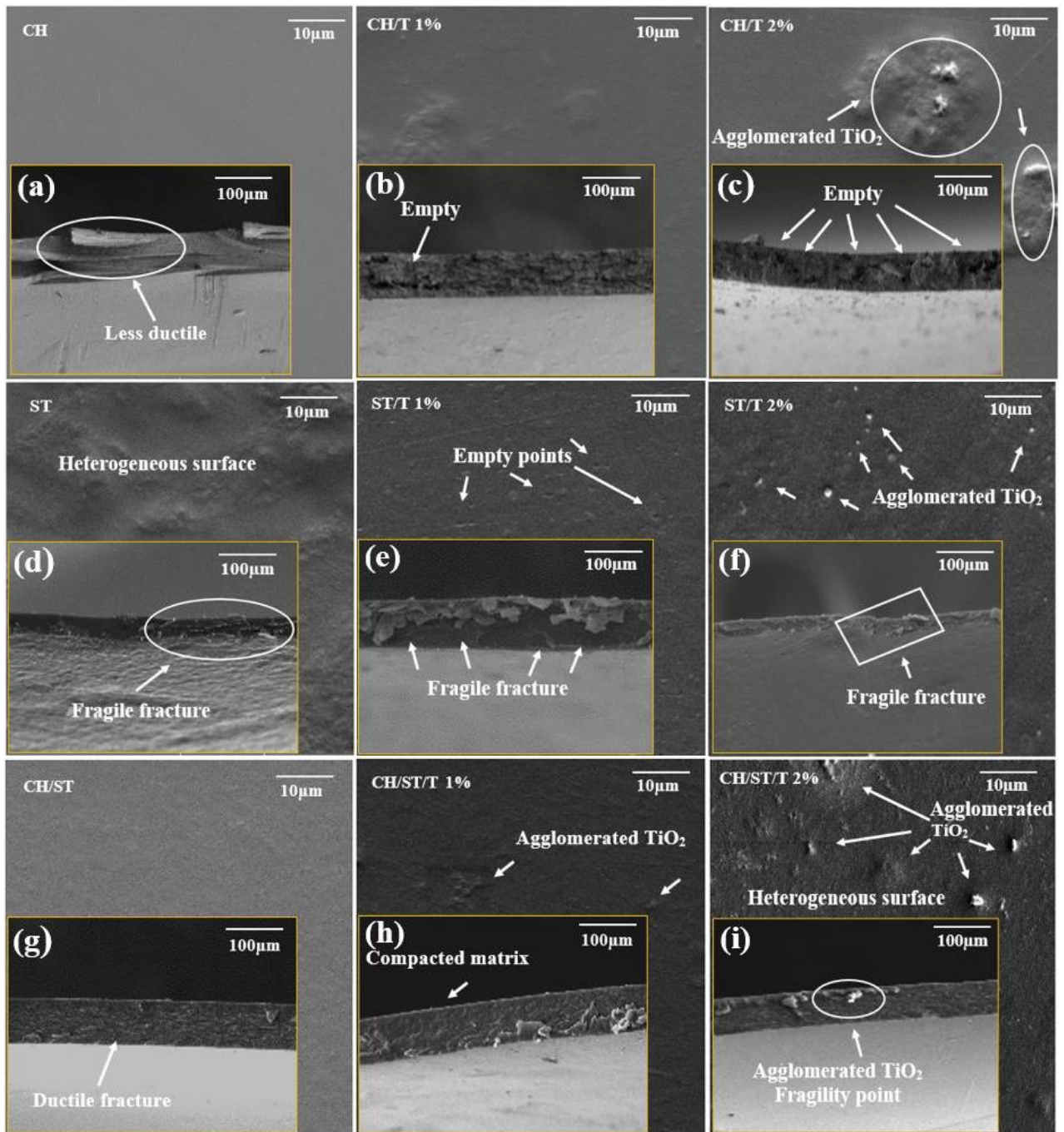
Figure 1c shows the response surface for the tensile strength of cassava starch films with the addition of percentages of nano-TiO<sub>2</sub> and chitosan. Starch films without the addition of chitosan show lower tensile strength values, thereby increasing with the addition of chitosan. Excess chitosan does not affect tensile strength, however, there are reductions when added concentrations higher than 1% of TiO<sub>2</sub>. This reduction is more evident in cassava starch films (0% chitosan). In the matrix of polymeric films, there is an optimal percentage with higher chitosan content and 0.8% nanoTiO<sub>2</sub>, in which there is higher stress on rupture.

Figure 1d shows the values of elongation at break in films without TiO<sub>2</sub> were higher in the 1:1 mixture of polymers and, with the incorporation of TiO<sub>2</sub>, there was a peak in elongation by the addition of 50.6% chitosan and 0.8% nano-TiO<sub>2</sub>. Figure 1e shows that the modulus of elasticity has the opposite behavior to the elongation. There is a minimum point observed at the



composition of 40.9% chitosan and 0.8%  $\text{TiO}_2$ , suggesting that films are less rigid and, consequently, more flexible (Fig. 1d). Figure 1f shows the opacity values, which increase as a function of decreases in chitosan concentration and increment in  $\text{TiO}_2$  levels.

### Morphological analysis



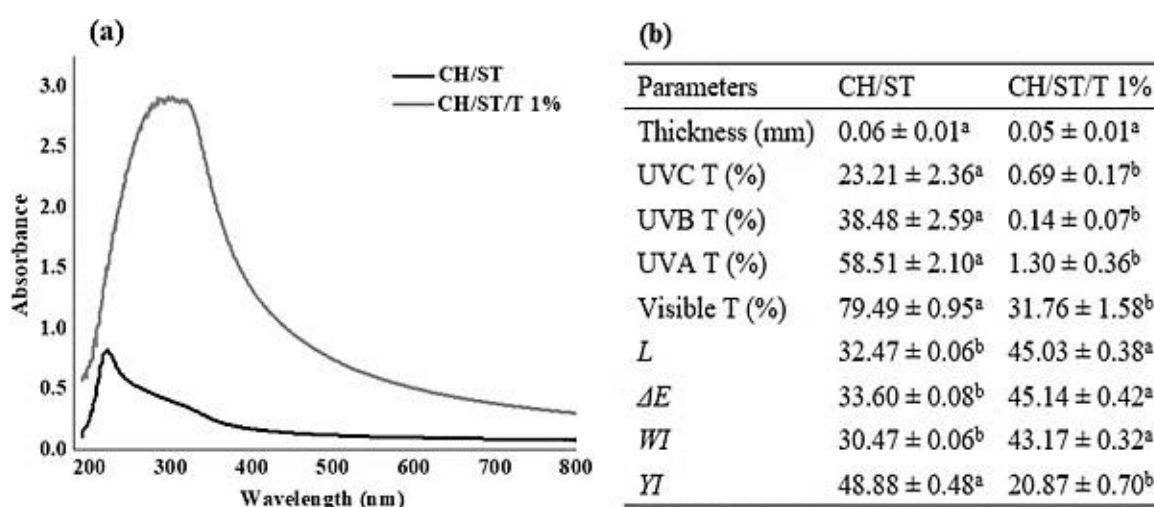
**Figure 2.** Scanning electron microscopy of the surface and cross section (inserts) of biofilms (a) CH, (b) CH/T 1%, (c) CH/T 2%, (d) ST, (e) ST/T 1 %), (f) ST/T 2%), (g) CH/ST, (h) CH/ST/T 1%) and (i) CH/ST/T 2%).



Figure 2 shows SEM obtained images from the surfaces and cross-sections of fractures revealed by mechanical assays of pure chitosan biofilms containing both 1.0 and 2.0% of nano-TiO<sub>2</sub> (CH, CH/T 1% and CH/T 2 % respectively), and pure cassava starch containing 1.0 and 2.0% nano-TiO<sub>2</sub> (ST, ST/T 1% and ST/T 2% respectively) and chitosan/cassava starch (1:1) with or without 1 and 2% nano-TiO<sub>2</sub> (CH/ST, CH/ST/T 1% and CH/ST/T 2% respectively).

The micrographs of the films, both on the surface and in the mechanical rupture section, showed a heterogeneous structure, except for the surface image of the chitosan and blend films, which displayed a homogeneous surface, however, the cross-section obtained by mechanical rupture showed specific characteristics (empty spaces, points of nano-TiO<sub>2</sub> agglomerations and fractures that suggest fragility, ductility, and compatibility), which reflects on the film properties, as previously demonstrated by the different films, isolated or together, interacting with TiO<sub>2</sub> (Figure 1).

Figure 3 shows the UV-vis absorbance spectra, thickness, transmittance in the UV-A, UV-B, UV-C, visible regions, and the color parameters of the films used as coatings.



**Figure 3.** UV-vis absorbance spectra (a), thickness, transmittance in the UV-A, UV-B, UV-C and visible regions and color parameters (b) of the films used as coatings. Dataset is presented as mean ± standard deviation (n = 5). Different letters indicate statistical difference by Tukey's test ( $p < 0.05$ ).

The blend containing 1% TiO<sub>2</sub> presented a higher absorbance in the visible and UV wavelengths (Figure 3a), and the absorbance was more expressive within the range from 240 nm to 360 nm.

The addition of TiO<sub>2</sub> did not influence the average thickness of the biopolymer blend films, which was 0.055 mm. The addition of 1% TiO<sub>2</sub> to the blend led to a significant reduction ( $p < 0.05$ ) in transmittance within UV-A, UV-B, UV-C, and visible regions. This reduction was 97% higher than in the UV region, as well as 60% higher in the visible region, as compared to the TiO<sub>2</sub>-absent film, respectively (Figure 3b).

Figure 3b shows the luminosity values ( $L$ ), total color difference indices ( $\Delta E$ ), whiteness indices ( $WI$ ), yellow indices ( $YI$ ) of the cassava and chitosan starch films (1:1) containing or not 1% nano-TiO<sub>2</sub>. All these color parameters were dependent on TiO<sub>2</sub> concentrations. Increases in TiO<sub>2</sub> levels led to significant increases in  $L$ ,  $\Delta E$ , and  $WI$ . The yellow index ( $YI$ ) shows the opposite behavior (Figure 3b), with higher values in the blend without TiO<sub>2</sub>.

### **Effects of coating on the quality of papaya fruit in the absence and presence of UV light**

Table 3 presents the results of physical and physicochemical parameters of papaya fruit submitted to different coatings, both in the presence and absence of UV light at  $15 \pm 1$  °C and  $90 \pm 1$  % RH for 24 days.

There was no significant effect of edible coatings as a barrier to prevent the papaya fruit weight loss. On the other hand, under light, the fruit showed a higher weight loss, except for those with coatings containing TiO<sub>2</sub> (Table 3).

Although the presence or absence of light does not affect the pulp firmness, it is worth noting that there was a significant effect of coatings (Table 3) under the dark, which presented a higher pulp firmness, namely  $1.58 \pm 0.16$ ,  $5.65 \pm 1.84$ ,  $4.77 \pm 0.29$  for uncoated, non-TiO<sub>2</sub> and with TiO<sub>2</sub> coating fruit, respectively. However, the presence of TiO<sub>2</sub> did not affect significantly between coatings. At zero time, the pulp firmness was 71.1 N, however, over the storage, it decreases of 97.25% (1.95 N), 93.38% (4.70 N), and 94.09% (4.19 N) were observed - on average - for the firmness of uncoating, non-TiO<sub>2</sub> and with TiO<sub>2</sub> coating fruit, respectively, in both presence and absence of UV light.

The application of UV light on the fruit led to a titratable acidity (TA) significantly lower in all fruits, as compared to the dark condition. Contrastingly, the acidity values of coated fruit under dark were higher than uncoated fruits under light conditions. Despite the presence of UV light has caused a slight reduction in the ascorbic acid (AA) content in the coated fruit, it was not significant. On the other hand, under dark conditions, there was a significant reduction in the AA in coated fruits containing TiO<sub>2</sub>. Both the presence of light and coating did not influence

the soluble solids (SS) and pH of papaya fruits. The SS contents was  $13.18 \pm 0.70\%$  and the pH of papaya fruit on average was  $5.47 \pm 0.13$  (Table 3).

**Table 3.** Results of physical-chemical parameters of papaya fruit upon different coatings, both in the presence and absence of UV light at  $15 \pm 1$  °C and  $90 \pm 1\%$  RH after 24 days of storage. Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ). Control: fruit without coating. Mean values on the same line with different lowercase letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) based on Tukey's test. Mean values in the same column with different capital letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) based on Tukey's test. \* Titratable acidity (g equivalent of citric acid per 100g of pulp). \*\* Ascorbic Acid (AA) (mg of AA/100 g Pulp). \*\*\* Soluble solids (%).

| Parameter       | Coating Formulations           |                                 |                                |
|-----------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
|                 | Control                        | Without TiO <sub>2</sub>        | With TiO <sub>2</sub>          |
| Weight loss (%) |                                |                                 |                                |
| Light           | $8.49 \pm 0.67$ <sup>aB</sup>  | $7.43 \pm 1.14$ <sup>aB</sup>   | $7.12 \pm 1.57$ <sup>aA</sup>  |
| Dark            | $5.80 \pm 0.40$ <sup>aA</sup>  | $4.63 \pm 0.38$ <sup>aA</sup>   | $5.27 \pm 0.31$ <sup>aA</sup>  |
| Firmness (N)    |                                |                                 |                                |
| Light           | $2.33 \pm 0.27$ <sup>aA</sup>  | $3.75 \pm 1.37$ <sup>aA</sup>   | $3.61 \pm 1.19$ <sup>aA</sup>  |
| Dark            | $1.58 \pm 0.16$ <sup>aA</sup>  | $5.65 \pm 1.84$ <sup>bA</sup>   | $4.77 \pm 0.29$ <sup>bA</sup>  |
| TA*             |                                |                                 |                                |
| Light           | $0.06 \pm 0.00$ <sup>aA</sup>  | $0.08 \pm 0.00$ <sup>bA</sup>   | $0.08 \pm 0.01$ <sup>bA</sup>  |
| Dark            | $0.10 \pm 0.01$ <sup>aB</sup>  | $0.10 \pm 0.00$ <sup>aB</sup>   | $0.10 \pm 0.01$ <sup>aB</sup>  |
| AA**            |                                |                                 |                                |
| Light           | $22.93 \pm 3.26$ <sup>aA</sup> | $21.87 \pm 0.92$ <sup>aA</sup>  | $22.53 \pm 2.41$ <sup>aA</sup> |
| Dark            | $28.27 \pm 1.01$ <sup>aA</sup> | $25.33 \pm 0.83$ <sup>abA</sup> | $21.60 \pm 2.80$ <sup>bA</sup> |
| SS***           |                                |                                 |                                |
| Light           | $12.97 \pm 0.30$ <sup>aA</sup> | $13.60 \pm 0.58$ <sup>aA</sup>  | $12.97 \pm 0.91$ <sup>aA</sup> |
| Dark            | $12.70 \pm 0.25$ <sup>aA</sup> | $13.00 \pm 0.93$ <sup>aA</sup>  | $13.58 \pm 0.44$ <sup>aA</sup> |
| pH              |                                |                                 |                                |
| Light           | $5.52 \pm 0.16$ <sup>aA</sup>  | $5.60 \pm 0.04$ <sup>aA</sup>   | $5.45 \pm 0.14$ <sup>aA</sup>  |
| Dark            | $5.41 \pm 0.12$ <sup>aA</sup>  | $5.55 \pm 0.02$ <sup>aA</sup>   | $5.50 \pm 0.05$ <sup>aA</sup>  |

The parameters of color, luminosity (coordinate  $L$ ), chroma (coordinate  $C$ ), and hue angle (coordinate  $H$ ) of the papaya peel are presented in Table 4.

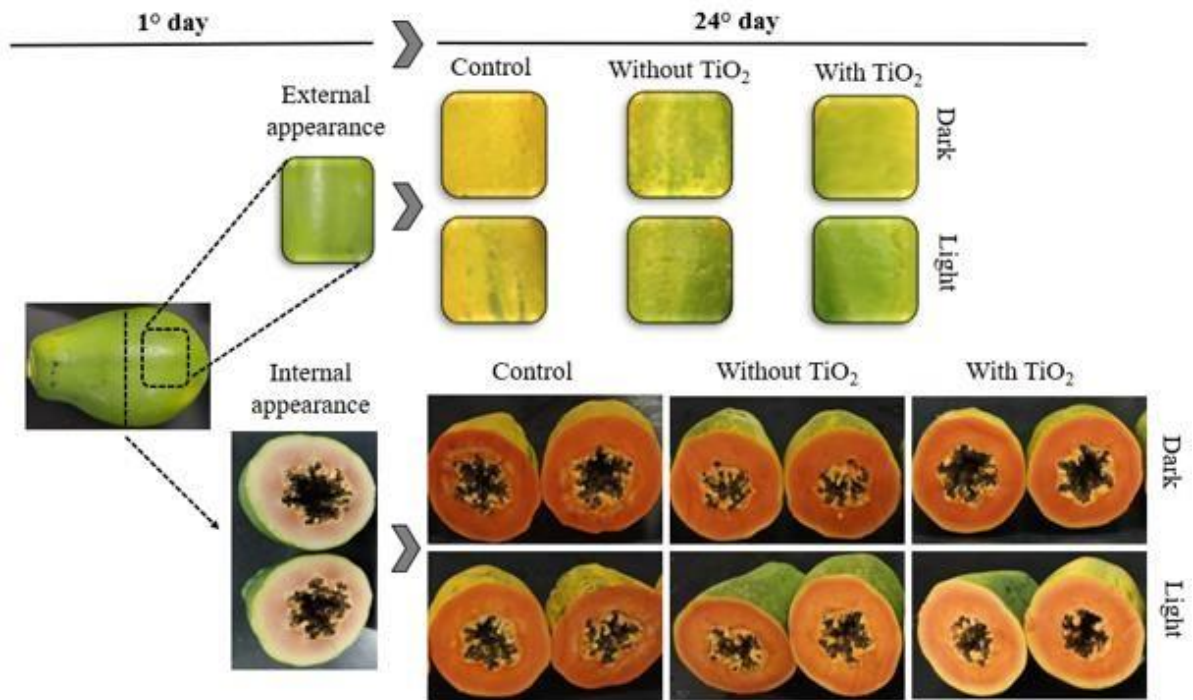
**Table 4.** Results of peel color parameters of papaya fruits upon different coatings, both under the presence and absence of UV light at  $15 \pm 1$  °C and  $90 \pm 1$  % RH for 24 days of storage. Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ). Control: uncoated fruit. Mean values on the same line with different lowercase letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) based on Tukey's test. Mean values in the same column with different capital letters indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) based on Tukey's test.

| Parameter                 | Coatings Formulations          |                                 |                                 |
|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
|                           | Control                        | Without TiO <sub>2</sub>        | With TiO <sub>2</sub>           |
| Lightness ( <i>L</i> )    |                                |                                 |                                 |
| Light                     | $57.56 \pm 2.32$ <sup>aB</sup> | $43.10 \pm 2.00$ <sup>bA</sup>  | $40.71 \pm 0.73$ <sup>bA</sup>  |
| Dark                      | $52.92 \pm 1.12$ <sup>aA</sup> | $49.38 \pm 1.75$ <sup>aB</sup>  | $49.27 \pm 0.92$ <sup>aB</sup>  |
| Chroma ( <i>C</i> )       |                                |                                 |                                 |
| Light                     | $64.36 \pm 0.94$ <sup>aB</sup> | $38.88 \pm 1.99$ <sup>bA</sup>  | $37.60 \pm 1.30$ <sup>bA</sup>  |
| Dark                      | $60.31 \pm 1.86$ <sup>aA</sup> | $45.49 \pm 1.01$ <sup>bB</sup>  | $45.78 \pm 1.21$ <sup>Bb</sup>  |
| Hue angle ( $^{\circ}H$ ) |                                |                                 |                                 |
| Light                     | $75.00 \pm 2.72$ <sup>aA</sup> | $101.69 \pm 0.72$ <sup>bA</sup> | $102.37 \pm 1.97$ <sup>bB</sup> |
| Dark                      | $74.67 \pm 4.05$ <sup>aA</sup> | $95.31 \pm 4.17$ <sup>bA</sup>  | $93.91 \pm 1.77$ <sup>bA</sup>  |

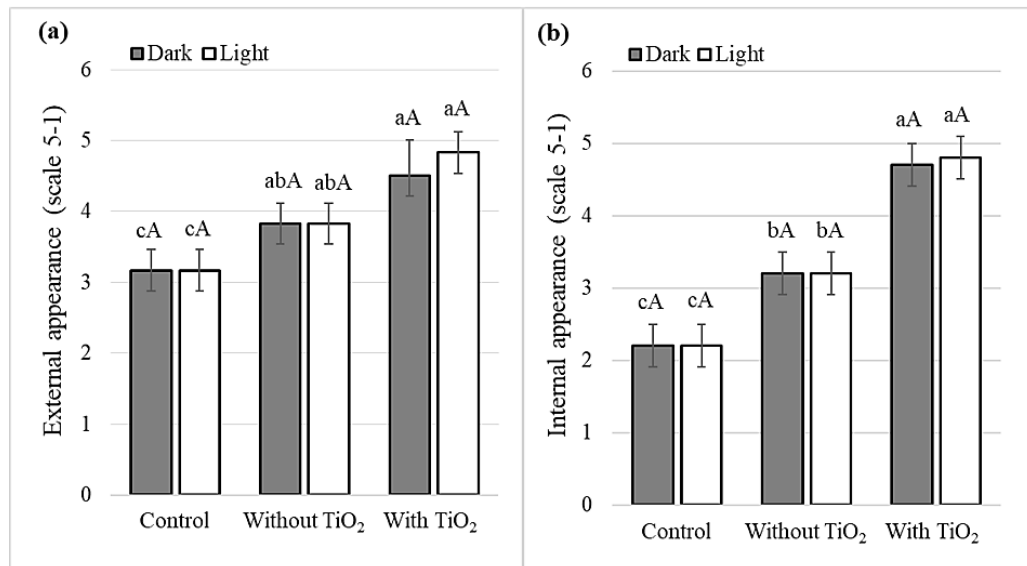
The application of UV light significantly modified the lightness of the fruit peel (Table 4). Contrasting uncoated fruit, under light conditions, the coated fruits showed a significant reduction in *L* and *C* values. However, under dark conditions, there was no significant difference between treatments for lightness. Nevertheless, the coated fruit had lower chromaticity values than the uncoated one.

Regardless of light or dark, the coated fruits showed hue angle values significantly higher than the control, evidencing that papaya fruits have maintained their green color as compared to more yellowish fruits (uncovered ones). In Figure 4, it is observed the influence of coatings and the presence of UV light on the color of the papaya fruit peel. The hue angle (coordinate *H*) of the skin of coated papaya fruit was influenced by the presence of UV light. The presence of TiO<sub>2</sub> in the coating provided a hue angle of  $102.37 (\pm 1.97)$ , under light conditions, which was significantly higher than that in the dark ( $93.91 \pm 1.77$ ) (Table 4).

In the absence of UV light, coated fruits kept external ratings above 3.8 on average (absence and/or traces of defects below 10%), thus highlighting coatings with TiO<sub>2</sub> (Figure 5a). The presence or absence of UV light did not affect the external appearance of the fruits by considering each treatment.



**Figure 4.** Illustration of papaya peel color (external appearance) and internal appearance upon different coatings, both in the presence and absence of UV light at  $15\pm 1^\circ\text{C}$  and  $90\pm 1\%$  RH for 24 days of storage.



**Figure 5.** External (a) and internal (b) appearance of papaya fruit upon different coatings, both in the presence and absence of UV light at  $15\pm 1^\circ\text{C}$  and  $90\pm 1\%$  RH for 24 days of storage. Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ). Different lower-case letters indicate the statistically significant difference among treatments at the same light condition by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). Different upper-case letters indicate the statistically significant difference among light condition at the same treatment by Tukey's test ( $p < 0.05$ ).

All coatings were effective in maintaining the internal appearance score above 3.0, in both under presence and absence of UV light (Figure 5b). Moreover, it was observed that coated fruits containing TiO<sub>2</sub>, under light conditions, kept a score above 4.0. However, only the control fruit did not present acceptable grade values for commercialization ( $\geq 3.0$ ).

#### 4. DISCUSSION

There was a strong influence of the concentrations of polymers used in the blend and increases in TiO<sub>2</sub> levels in the WVP values. The formation of the chitosan/starch blend may lead to interactions between NH<sub>3</sub><sup>+</sup> (protonated chitosan) and OH<sup>-</sup> (starch) functional groups that provide suitable properties (CAZÓN; MANUEL VÁZQUEZ, 2020; SANTACRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015). Likewise, the incorporation of nano-TiO<sub>2</sub> at suitable concentrations can prevent water vapor from diffusing from the film as it is insoluble in water, increasing the diffusion pathway, and can also interact with the hydrophilic groups -OH and -NH<sub>2</sub>, turning the film more hydrophobic (AL-SAGHEER; MERCHANT, 2011; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018).

Studies performed on sago starch films with TiO<sub>2</sub> incorporation showed a reduction in WVP as a function of increases in TiO<sub>2</sub> concentration (AREZOO *et al.*, 2020). In gelatin films, TiO<sub>2</sub> led to a reduction in water-polymer interactions with the addition of 1% TiO<sub>2</sub>, reducing the WVP from  $0.45 \pm (<10^{-2})$  to  $0.36 \pm (<10^{-3})$  (g·mm·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>·kPa<sup>-1</sup>) and, when 2% TiO<sub>2</sub> was added, there is an increase in WVP due to the formation of larger TiO<sub>2</sub> agglomerates (FONSECA *et al.*, 2020).

The contents of chitosan and TiO<sub>2</sub> have a strong influence on the film solubility. Studies with the incorporation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles (anatase, Hombikat UV 100<sup>®</sup>) in gelatin demonstrated a reduction in the solubility of the Gelatin-TiO<sub>2</sub> nanocomposites from  $69.13 \pm 4.75$  to  $45.83 \pm 0.94$  % with the addition of 1% of TiO<sub>2</sub> (FONSECA *et al.*, 2020). Sago starch films containing 1, 3, and 5% of TiO<sub>2</sub> led to a reduction in solubility from  $25.0 \pm 1.0$  to  $17.3 \pm 1.2$ % as a function of increases in TiO<sub>2</sub> concentration (AREZOO *et al.*, 2020). Therefore, it suggests that TiO<sub>2</sub> nanoparticles may interact with the biopolymer groups by hydrogen bonds, weakening the interactions between polymer and water (ALIZADEH-SANI *et al.*, 2020; AREZOO *et al.*, 2020; FONSECA *et al.*, 2020; KAEWKLIN *et al.*, 2018; SADEGHI-VARKANI; EMAM-DJOMEH; ASKARI, 2018; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018).

For the tensile strength the inherent properties of each polymer and its mixtures provided reductions when added concentrations higher than 1% of TiO<sub>2</sub>, which suggests likely

agglomerations of nanoparticles in the biopolymer matrix, acting as tension accumulation points, making the film fragile. A suitable dispersion of nano-TiO<sub>2</sub> depends on the concentration of the nanoparticle and the biopolymer matrix. Studies carried out by Fonseca *et al.* (2020), in films based on hydroxypropylmethylcellulose (HPMC-TiO<sub>2</sub>) and gelatin (gelatin-TiO<sub>2</sub>) showed that the incorporation of more than 1% of TiO<sub>2</sub> causes the agglomeration of nanoparticles in hydroxypropylmethylcellulose (HPMC-TiO<sub>2</sub>) nanocomposite films and it does not occur in gelatin-TiO<sub>2</sub> nanocomposite ones.

The increase in chitosan and TiO<sub>2</sub> contents leads to more fragile films; however, the importance of the biopolymer mixture and the convenient addition of TiO<sub>2</sub> in obtaining films with improved mechanical properties. Recent studies have used this strategy of mixing polymers to provide different interactions in the polymer matrix, improving the properties of the films, and, additionally, the incorporation of TiO<sub>2</sub> has been pointed out as promising (ALIZADEH-SANI *et al.*, 2020; QU *et al.*, 2019).

As expected, the more rigid films stretched less. TiO<sub>2</sub> contents have negative impacts on cassava starch-based films, which shows that in films with lower chitosan contents, the increase in nano-TiO<sub>2</sub> favors a higher elasticity modulus. However, without TiO<sub>2</sub>, films with higher contents of chitosan are more rigid. The opacity values thereby suggesting the influence of the white color of TiO<sub>2</sub> and the higher percentage of absorbance in cassava starch, leading to more opaque films.

Figure 2a shows that chitosan (CH) films have a more uniform surface with denser exfoliations in the mechanical rupture section, indicating less ductile fracture, as evidenced in the mechanical properties (Figure 1). The addition of TiO<sub>2</sub> in chitosan film favors agglomerations of nanoparticles and the appearance of voids in the fracture section, which are more evident with an increase of 2% in TiO<sub>2</sub> (Figure 2b, c), which justifies higher WVP values (Figure 1a) and higher solubility, showing an increase of 2% in TiO<sub>2</sub> (Figure 1b).

Starch films (ST) have a rougher surface and fracture section with cracks that characterize fragility (Figure 2d). The amylose and amylopectin present in the starch provide greater mobility and fragility due to the mixture of these polymers, besides the higher number of hydrophilic groups that can interact with water. It was observed that the addition of TiO<sub>2</sub> reduces the solubility. However, the addition of higher levels of TiO<sub>2</sub> also led to agglomerations of nanoparticles that may act as stress concentrators, which leads to fragile films, as evidenced by the fracture section in response to the addition of 1 and 2% of TiO<sub>2</sub> (Figure 2e, f). Those films with higher starch contents showed to be the most soluble and fragile in this study (Figure 1b, c, d).

Films with the biopolymeric mixture of chitosan and cassava starch showed intermediate characteristics in both the surface and fracture sections, with a crack reduction that indicates a more ductile fracture (Figure 2g). The addition of 1% TiO<sub>2</sub> into the blend affected the surface of the films, which presented an appearance of small TiO<sub>2</sub> agglomerations. However, this film showed a more compact matrix in the fracture section (Figure 2h), which reflected in suitable mechanical properties, with an intermediate WVP value and low solubility as compared to other films. Altogether, it suggests that there are different interactions in the mixture of biopolymers in addition to that with TiO<sub>2</sub>, at appropriate concentrations. The addition of 2% TiO<sub>2</sub> led to agglomerations of TiO<sub>2</sub> nanoparticles, as observed in other studied films in the present report, but more intense (Figure 2i).

The addition of 1% TiO<sub>2</sub> favored better incorporation of the biopolymeric matrix into the blend of chitosan and cassava starch. A suitable dispersion of TiO<sub>2</sub> in a biopolymer matrix was strongly influenced by the concentration of nanoparticles, as well as by the biopolymer matrix properties. Studies carried out by Fonseca *et al.* (2020), showed that the addition of TiO<sub>2</sub> favors the apparent increase in surface roughness of films based on hydroxypropylmethylcellulose (HPMC-TiO<sub>2</sub>) and gelatin (gelatin-TiO<sub>2</sub>), as compared to control films. Moreover, HPMC-TiO<sub>2</sub> nanocomposite films exhibited TiO<sub>2</sub> nanoparticle clusters; while it was not observed in gelatin-TiO<sub>2</sub> nanocomposite films.

Studies carried out by Alizadeh-Sani *et al.* (2020) in composite films of sodium caseinate/guar gum/TiO<sub>2</sub>/cumin essential oil showed that the TiO<sub>2</sub> is well distributed in the polymer matrix, with a particle size of less than 100 nm when added at a concentration of 1.0% (m/m). However, the formation of aggregates of about 100 nm occurred when the TiO<sub>2</sub> concentration increases to 2.0% (m/m).

Ecological cassava starch packaging with the addition of chitosan and nano-TiO<sub>2</sub> was developed and showed better mechanical properties, solubility, and suitable transparency in blends containing 40.8% to 67.5% of chitosan and 0.8% to 1.2% nano-TiO<sub>2</sub>, with intermediate WVP values. For this reason, two formulations were selected to be used as a coating to maintain the postharvest quality of papaya, the chitosan/cassava starch blend (1:1) - with 1% nano-TiO<sub>2</sub> - and TiO<sub>2</sub>-absent, thus, to also verify the properties of TiO<sub>2</sub> in the presence of UV light, as they are promising.

In addition a higher absorbance with increment of TiO<sub>2</sub> was reported by Fonseca *et al.* (2020) in films based on hydroxypropylmethylcellulose (HPMC-TiO<sub>2</sub>) and gelatin (gelatin-TiO<sub>2</sub>), and by Arezoo *et al.* (2020), studying sago starch films, which demonstrated an increase of 100% in UV absorbance caused by the addition of 5% TiO<sub>2</sub>. This behavior is attributed to



TiO<sub>2</sub> ability, which is a broadband semiconductor in the range of ~3.05 eV for the anatase form (HOSEINNEJAD; MAHDI JAFARI; KATOUIZIAN, 2018; ZHU; CAI; SUN, 2018). Similar behaviors were reported in the literature by Sadeghi-Varkani et al. (2018) and Fonseca et al. (2020), about maintenance of average thickness of the films with addition of TiO<sub>2</sub>, which suggest that the density of the films does not change at these concentrations of TiO<sub>2</sub>.

Increases in TiO<sub>2</sub> levels led to significant increases in  $L$ ,  $\Delta E$ , and  $WI$  due to the inherent white color of nano-TiO<sub>2</sub>. The increase in such parameters was also evidenced in studies carried out by Fonseca et al. (2020), using hydroxypropylmethylcellulose (HPMC-TiO<sub>2</sub>) based-films, with values ranging from 42.47-68.14, 5.71-27.20, and 42.44-67.37 for  $L$ ,  $\Delta E$ , and  $WI$ , respectively, and in gelatin films (gelatin-TiO<sub>2</sub>), with values of 50.25-66.89, 9.06-27.95 and 50.25-66.78 for  $L$ ,  $\Delta E$  and  $WI$ , respectively, by the addition of up to 1% TiO<sub>2</sub> to the polymer matrix. The yellow index (YI) was higher in the blend without TiO<sub>2</sub>, which suggests the influence of chitosan on the yellow color, since the chitosan and cassava starch films had a YI of  $49.72 \pm 0.21$  and  $47.36 \pm 0.23$ , respectively. There is a significant reduction in YI in the blend containing TiO<sub>2</sub> due to the white color of the nanoparticle.

The addition of 1% TiO<sub>2</sub> to the blend produced films with suitable optical properties and can provide excellent prevention against damage induced by ultraviolet light to the fruit, besides being promising to be used in packaging, since the results showed that TiO<sub>2</sub> delays the ripening of tomatoes due to the photocatalytic degradation of ethylene in the atmosphere (MANEERAT; HAYATA, 2008; KAEWKLIN *et al.*, 2018). Moreover, in an ethylene-enriched atmosphere conducted in a glass chamber, using ultraviolet light as a source of irradiation (DE CHIARA *et al.*, 2015), it reduced the respiratory peak in mangoes, preserving their sensory and nutritional properties for a longer period (XING *et al.*, 2020).

The weight loss (WL) is mainly related to water loss by transpiration of fruit, and thus it is necessary to prevent it to keep the product quality during storage (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020). Despite the strong influence of chitosan and TiO<sub>2</sub> contents in reducing the solubility of the films (Figure 1b), such coatings did not demonstrate the lowest WVP values (Figure 1a), which influenced the barrier properties.

The higher WL under light suggests the occurrence of damage to the fruit; however, an ideal level of UV light is an important factor in preventing the deterioration of this organ. Studies carried out by Terao et al. (2015) suggest that the application of a level lower than 3 kJ.m<sup>-2</sup> of UV-C irradiation contributes to the effective management of postharvest mango diseases. However, Sari *et al.* (2016) claimed that the highest level of UV-C radiation (39.6 kJ.m<sup>-2</sup>) led

to a lower incidence of the disease, an important factor related to increased postharvest losses of the pineapple fruit.

Furthermore, studies have shown that inadequate levels of UV light cause damage to the skin and increase the severity of postharvest diseases (TERAO *et al.*, 2015). Similarly, Cia *et al.* (2007) observed the deleterious effects of gamma and UV-C irradiation on *Colletotrichum gloeosporioides*, the causal agent of anthracnose in papaya, despite UV-C light (0.2-2.4 kJ.m<sup>-2</sup>) may be associated with physiological damage in fruits, boosting it during storage.

The presence of 1.0% of TiO<sub>2</sub> in the chitosan/starch blend reduces the damage in fruits, since this nanoparticle absorbs UV light, preserving its cell membrane and reducing the weight loss. Moreover, the presence of TiO<sub>2</sub> in coatings provided a reduction in the film transmittance (Figure 3b), due to the specific nano-TiO<sub>2</sub> absorption band, which promotes ethylene degradation in the presence of UV light via the generation of hydroxyl radicals ( $\bullet$ OH) and reactive oxygen species (ROS) (SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018).

In regarding to the pulp firmness, it was evidenced that the papaya fruit coated delayed its ripening during the shelf-life (with a certain amount of UV length). The decrease in pulp firmness occurs due to chemical and biochemical reactions during its maturation, in which there is synthesis and activation of hydrolytic enzymes that act in the depolymerization of pectic substances of the cell wall (ALI *et al.*, 2011; LAZAN; SELAMAT; ALI, 1995).

Studies conducted with mango fruit coated with chitosan/TiO<sub>2</sub> showed a delay in respiratory peak, maintenance of pulp firmness, and nutritional quality by more than five days as compared to control at 13 °C (XING *et al.*, 2020). Keeping pulp firmness is an important feature in the postharvest of fruits (MENDY *et al.*, 2019) and it is intrinsically related to fruit quality during handling and transport.

The lower titratable acidity values of the fruits under light suggest the occurrence of abiotic stress, being more evident for uncoated fruit, in which there was a higher incidence of UV light on the skin surface. Furthermore, studies have shown that coatings provide a barrier to modify the internal atmosphere of the fruit and delay the degradation of organic acids, which is associated with fruit ripening delaying (ALI *et al.*, 2011; HAN *et al.*, 2004). Furthermore, the reduction in acidity is associated with metabolic changes in fruits, since it is used as a substrate in the respiration process (MENDY *et al.*, 2019).

Ali *et al.* (2011) showed that ascorbic acid increases during the ripening of papaya fruit. In the present study, this reduction, suggests a delay in the ripening of the fruits upon edible coatings, which can also be evidenced by improved maintenance of the peel green color (Figure

4), and maintenance of ascorbic acid (AA) by the UV light - an important constituent for a healthy life (HERNÁNDEZ-MUÑOZ *et al.*, 2006).

The SS contents remained suitable for commercialization. Also, Bautista-Baños *et al.* (2003) showed that chitosan coatings did not affect the SS content during papaya storage. The pH of papaya fruit on average, demonstrates a low acidity level. Similar results were postulated by Parven *et al.* (2020), in papaya (*Carica papaya* L.) fruit submitted to an edible coating of *Aloe vera* gel, in which the pH was not affected ( $5.5 \pm 0.4$ ).

Appearance is a determining factor in the acceptance of fruits by consumers, and the change in skin color from green to yellow is one of the most evident changes during papaya maturation (BARRAGÁN-IGLESIAS; MÉNDEZ-LAGUNAS; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, 2018).

Fruits with less light than the control show lower chlorophyll degradation in the epidermal tissue of the fruit. Thus, lower lightness values of coated fruits under UV light, as compared to uncoated fruit, may indicate a metabolic delay, which can be associated with a lower respiration rate and probably a reduction in ethylene evolution (ALI *et al.*, 2011; CASTRICINI *et al.*, 2010).

The lowest chroma values detected in coated fruits suggest lower degradation of chlorophyll and synthesis of carotenoids in the papaya peel. Uncoated fruit presented a strong yellow and orange pigmentation in 24 days (Figure 4).

The hue angle significantly higher of the skin of coated papaya fruit with the presence of TiO<sub>2</sub>, under light conditions reflects in fruits of greener color, which suggests a photodegradation of ethylene when exposed to UV light, thereby delaying papaya fruit ripening since the appearance of the yellow color of the skin is due to the degradation of the chlorophyll molecule, which involves among others the activity of chlorophyllase enzyme and carotenoids biosynthesis (JING *et al.*, 2015). Studies have demonstrated that packaging with TiO<sub>2</sub> irradiated under UV light delays ripening processes in tomatoes due to photocatalytic degradation of ethylene (MANEERAT; HAYATA, 2008; KAEWKLIN *et al.*, 2018).

Regardless of the treatment, the external appearance was hence considered marketable after 24 days of storage. The internal appearance coated fruits containing TiO<sub>2</sub>, under light conditions, showed absence and/or traces of defects below 10% (internal collapse, aberrant seeds, and presence of liquids in the seed cavity) and in control fruits was evidenced advanced stage of senescence. Thus, the positive potential of the edible coatings in maintaining the quality of papaya fruit is evident. Coatings with TiO<sub>2</sub>, under the presence of light, delayed the

metabolism of the fruit, which was more effective than uncoated and non-TiO<sub>2</sub> coated fruit. Both dark and light conditions did not affect the treatments.

## 5. CONCLUSION

Cassava starch films containing chitosan and TiO<sub>2</sub> were developed, and the blend of cassava starch/chitosan (1:1) with the addition of 1% TiO<sub>2</sub> showed improved mechanical and physical barrier features. Moreover, there was a reduction in the film transmittance properties, which were higher than 97% in the UVA, UVB, UVC region as compared to the blend without TiO<sub>2</sub>. UV light caused abiotic stress evidenced by an increased weight loss of the fruits. However, the coating containing 1% nano-TiO<sub>2</sub> into the matrix chitosan/starch (1:1) biopolymer blend promoted stress alleviation, characterized by fruit weight loss reduction and ripening delay, which was associated with the maintenance of green color, pulp firmness, soluble solids, pH, and vitamin C for a longer period. Therefore, fruits coated by this renewable and biodegradable packaging kept their external and internal appearance with a suitable market quality for up to 24 days of storage under 15 °C and 90 ± 1% RH conditions.

## REFERENCES

AL-SAGHEER, F. A.; MERCHANT, S. Visco-elastic properties of chitosan–titania nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 2, p. 356–362, 2011.

ALI, A.; MUHAMMAD, M. T. M.; SIJAM, K.; SIDDIQUI, Y. Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. **Food Chemistry**, v. 124, n. 2, p. 620–626, 2011.

ALIZADEH-SANI, M.; RHIM, J. W.; AZIZI-LALABADI, M.; HEMMATI-DINARVAND, M.; EHSANI, A. Preparation and characterization of functional sodium caseinate/guar gum/TiO<sub>2</sub>/cumin essential oil composite film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 145, p. 835–844, 2020.

AREZOO, E.; MOHAMMADREZA, E.; MARYAM, M.; ABDORREZA, M. N. The synergistic effects of cinnamon essential oil and nano TiO<sub>2</sub> on antimicrobial and functional properties of sago starch films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 157, p. 743–751, 2020.

BARRAGÁN-IGLESIAS, J.; MÉNDEZ-LAGUNAS, L. L.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J. Ripeness indexes and physicochemical changes of papaya (*Carica papaya* L. cv. Maradol) during ripening on-tree. **Scientia Horticulturae**, v. 236, p. 272–278, 2018.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C. L. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **Crop Protection**, v. 22, n. 9, p. 1087–1092, 2003.

CASTRICINI, A.; CELI, R.; CONEGLIAN, C.; VASCONCELLOS, S. Qualidade e amadurecimento de mamões ‘golden’ revestidos por película de fécula de mandioca. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 1, p. 32–36, 2010.

CAZÓN, P.; MANUEL VÁZQUEZ. Mechanical and barrier properties of chitosan combined with other components as food packaging film. **Environmental Chemistry Letters**, v. 18, p.

257–267, 2020.

CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; BENATO, E. A.; CAMILI, E. C.; SANTOS, C. A. Effects of gamma and UV-C irradiation on the postharvest control of papaya anthracnose. **Postharvest Biology and Technology**, v. 43, n 3, p. 366–373, 2007.

DE CHIARA, M. L. V.; PAL, S.; LICCIULLI, A.; AMODIO, M. L.; COLELLI, G. Photocatalytic degradation of ethylene on mesoporous TiO<sub>2</sub>/SiO<sub>2</sub> nanocomposites: Effects on the ripening of mature green tomatoes. **Biosystems Engineering**, v. 132, p. 61–70, 2015.

DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA, D.; REIS, R. C.; ALMEIDA, J. M.; REZENDE, B.; BRAGANÇA, C. A. D.; DA SILVA, F. Edible coatings in post-harvest papaya: impact on physical–chemical and sensory characteristics. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 274–281, 2020.

DOS PASSOS BRAGA, S.; MAGNANI, M.; MADRUGA, M. S.; DE SOUZA GALVÃO, M.; DE MEDEIROS, L. L.; BATISTA, A. U. D.; DIAS, R. T. A.; FERNANDES, L. R.; DE MEDEIROS, E. S.; DE SOUZA, E. L. Characterization of edible coatings formulated with chitosan and Mentha essential oils and their use to preserve papaya (*Carica papaya* L.). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 65, p. 102472, 2020.

EMBRAPA (2021). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 2021. Disponível em <[http://www.cnpmf.embrapa.br/Base\\_de\\_Dados/index\\_pdf/dados/mundo/mamao/w1\\_mamao.pdf](http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/mundo/mamao/w1_mamao.pdf)> Acesso em 28 jan. 2021.

FATHI ACHACHLOUEI, B.; ZAHEDI, Y. Fabrication and characterization of CMC-based nanocomposites reinforced with sodium montmorillonite and TiO<sub>2</sub> nanomaterials. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, p. 415–425, 2018.

FAO. (2020a). World Food and Agriculture - Statistical Yearbook 2020. Rome. Disponível em <<https://doi.org/10.4060/cb1329en>> Acesso em 28 jan. 2021.

FAO. (2020b). International Day of Awareness of Food Loss and Waste 2020. Disponível em <<http://www.fao.org/international-day-awareness-food-loss-waste/en/>> Acesso em 28 jan.

2021.

FONSECA, J. de M.; VALENCIA, G. A.; SOARES, L. S.; DOTTO, M. E. R.; CAMPOS, C. E. M.; MOREIRA, R. de F. P. M.; FRITZ, A. R. M. Hydroxypropyl methylcellulose-TiO<sub>2</sub> and gelatin-TiO<sub>2</sub> nanocomposite films: Physicochemical and structural properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 944–956, 2020.

GOMES DE MENEZES, F. L.; DE LIMA LEITE, R. H.; GOMES DOS SANTOS, F. K.; ARIA, A. I.; AROUCHA, E. M. M. TiO<sub>2</sub>-enhanced chitosan/cassava starch biofilms for sustainable food packaging. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 630, p. 127661, 2021.

GOPI, S.; AMALRAJ, A.; JUDE, S.; THOMAS, S.; GUO, Q. Bionanocomposite films based on potato, tapioca starch and chitosan reinforced with cellulose nanofiber isolated from turmeric spent. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 96, p. 664–671, 2019.

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

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; ALMENAR, E.; OCIO, M. J.; GAVARA, R. Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, n. 3, p. 247–253, 2006.

HOSEINNEJAD, M.; MAHDI JAFARI, S.; KATOUZIAN, I. Inorganic and metal nanoparticles and their antimicrobial activity in food packaging applications. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 44, n. 2, p. 161–181, 2018.

JING, G.; LI, T.; QU, H.; YUN, Z.; JIA, Y.; ZHENG, X.; JIANG, Y. Carotenoids and volatile profiles of yellow- and red-fleshed papaya fruit in relation to the expression of carotenoid cleavage dioxygenase genes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 109, p. 114–119, 2015.

KAEWKLIN, P.; SIRIPATRAWAN, U.; SUWANAGUL, A.; LEE, Y. S. Active packaging

from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit.

**International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, p. 523–529, 2018.

LAZAN, H.; SELAMAT, M. K.; ALI, Z. M. beta-Galactosidase, polygalacturonase and pectinesterase in differential softening and cell wall modification during papaya fruit ripening.

**Physiologia Plantarum**, v. 95, n. 1, p. 106–112, 1995.

LIM, W. S.; OCK, S. Y.; PARK, G. D.; LEE, I. W.; LEE, M. H.; PARK, H. J. Heat-sealing property of cassava starch film plasticized with glycerol and sorbitol.

**Food Packaging and Shelf Life**, v. 26, p. 100556, 2020.

LIMA, M. A. C. de; ALVES, R. E.; BISCEGLI, C. I.; FILGUEIRAS, H. A. C. Qualidade pós-colheita de melão Galia submetido à modificação da atmosfera e ao 1-metilciclopropeno.

**Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 793–798, 2005.

MANEERAT, C.; HAYATA, Y. Gas-Phase Photocatalytic Oxidation of Ethylene with TiO<sub>2</sub>-Coated Packaging Film for Horticultural Products. **Transactions of the ASABE**, v. 51, n. 1, p. 163–168, 2008.

MENDY, T. K.; MISRAN, A.; MAHMUD, T. M. M.; ISMAIL, S. I. Application of Aloe vera coating delays ripening and extend the shelf life of papaya fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 246, p. 769–776, 2019.

MONTEIRO, M. K. S.; OLIVEIRA, V. R. L.; SANTOS, F. K. G.; BARROS NETO, E. L.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; SILVA, R. R.; SILVA, K. N. O. Incorporation of bentonite clay in cassava starch films for the reduction of water vapor permeability. **Food Research International**, v. 105, p. 637–644, 2018.

OLEYAEI, S. A.; ZAHEDI, Y.; GHANBARZADEH, B.; MOAYEDI, A. A. Modification of physicochemical and thermal properties of starch films by incorporation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 256–264, 2016.

OLIVEIRA, V. R. L.; SANTOS, F. K. G.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; SILVA, K. N. O. Use of biopolymeric coating hydrophobized with beeswax in post-harvest



conservation of guavas. **Food Chemistry**, v. 259, p. 55–64, 2018.

PAIVA, C. A.; VILVERT, J. C.; MENEZES, F. L. G.; LEITE, R. H. de L.; SANTOS, F. K. G.; MEDEIROS, J. F.; AROUCHA, E. M. M. Extended shelf life of melons using chitosan and graphene oxide-based biodegradable bags. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 11, p. 1–12, 2020.

PARVEN, A.; SARKER, M. R.; MEGHARAJ, M.; MD. MEFTAUL, I. Prolonging the shelf life of Papaya (*Carica papaya* L.) using Aloe vera gel at ambient temperature. **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109228, 2020.

QU, L.; CHEN, G.; DONG, S.; HUO, Y.; YIN, Z.; LI, S.; CHEN, Y. Improved mechanical and antimicrobial properties of zein/chitosan films by adding highly dispersed nano-TiO<sub>2</sub>. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 450–458, 2019.

RAMBABU, K.; BHARATH, G.; BANAT, F.; SHOW, P. L.; COCOLETZI, H. H. Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 1234–1243, 2019.

SADEGHI-VARKANI, A.; EMAM-DJOMEH, Z.; ASKARI, G. Morphology and physicochemical properties of a novel *Lallemantia iberica* mucilage/titanium dioxide bio-nanocomposite. **Polymer Testing**, v. 67, p. 12–21, 2018.

SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 89–94, 2015.

SARI, L. K.; SETHA, S.; NARADISORN, M. Effect of UV-C irradiation on postharvest quality of 'Phulae' pineapple. **Scientia Horticulturae**, v. 213, p. 314–320, 2016.

SIRIPATRAWAN, U.; KAEWKLIN, P. Fabrication and characterization of chitosan-titanium dioxide nanocomposite film as ethylene scavenging and antimicrobial active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 125–134, 2018.

SOMANAH, J.; PUTTEERAJ, M.; ARUOMA, O. I.; BAHORUN, T. fermentation Discovering the Health Promoting Potential of Fermented Papaya Preparation-Its Future Perspectives for the Dietary Management of Oxidative Stress During Diabetes. **Fermentation**, v. 83, p. 4, 2018.

TERAO, D.; DE CARVALHO CAMPOS, J. S.; BENATO, E. A.; HASHIMOTO, J. M. Alternative Strategy on Control of Postharvest Diseases of Mango (*Mangifera indica* L.) by Use of Low Dose of Ultraviolet-C Irradiation. **Food Engineering Reviews**, v. 7, n. 2, p. 171–175, 2015.

VANDEN BRABER, N. L.; DI GIORGIO, L.; AMINAHUEL, C. A.; DÍAZ VERGARA, L. I.; MARTIN COSTA, A. O.; MONTENEGRO, M. A.; MAURI, A. N. Antifungal whey protein films activated with low quantities of water soluble chitosan. **Food Hydrocolloids**, v. 110, p. 106156, 2021.

XING, Y.; YANG, H.; GUO, X.; BI, X.; LIU, X.; XU, Q.; WANG, Q.; LI, W.; LI, X.; SHUI, Y.; CHEN, C.; ZHENG, Y. Effect of chitosan/Nano-TiO<sub>2</sub> composite coatings on the postharvest quality and physicochemical characteristics of mango fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 263, p. 109135, 2020.

ZHONG, Y.; GODWIN, P.; JIN, Y.; XIAO, H. Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 3, n. 1, p. 27–35, 2020.

ZHU, Z.; CAI, H.; SUN, D. W. Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) photocatalysis technology for nonthermal inactivation of microorganisms in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 23–35, 2018.

### CAPÍTULO III

## REVESTIMENTO DE QUITOSANA E FÉCULA DE MANDIOCA COM ASSOCIAÇÃO DE TiO<sub>2</sub> NA QUALIDADE FISIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DO MAMÃO HAVAÍ

### RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de coberturas à base de quitosana/fécula de mandioca/TiO<sub>2</sub> na atividade respiratória, qualidade físico-química e sensorial de mamão Havaí. Para isto, foram aplicados três tratamentos: mamão sem cobertura, mamão com cobertura de quitosana/fécula de mandioca (1:1) (CH/ST) e mamão com cobertura de quitosana/fécula de mandioca (1:1) associado a 1% de TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T), na presença de luz fluorescente a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR ao longo de 18 dias. As coberturas bioplásticas atuaram como barreira física, reduziram a taxa respiratória e a perda de massa, retardando os eventos que conduzem a senescência, diminuindo a degradação da clorofila e síntese de carotenoides, bem como evidenciado maior manutenção da firmeza de polpa, sólidos solúveis, acidez, *ratio* (SS/AT), pH, cor da casca e da polpa, menor índice de podridão, enrugamento e melhor aparência interna, resultando em frutos mais atrativos sensorialmente para a comercialização. As coberturas apresentaram boa adesividade na casca do fruto, menor presença de fungo e melhor odor, cor, brilho e aceitação. O tratamento com a cobertura contendo TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T) obteve mais êxito no aumento da vida de armazenamento pós-colheita do mamão, em até seis e nove dias em comparação aos frutos com cobertura sem TiO<sub>2</sub> (CH/ST) e aos do controle, respectivamente.

**Palavras chaves:** Dióxido de Titânio. Conservação. Pós-colheita. Qualidade. *Carica papaya* L.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of chitosan/cassava starch/TiO<sub>2</sub> coatings on respiratory activity, physical-chemical and sensory quality of Hawaiian papaya. Three treatments were applied: uncoated papaya, papaya covered with chitosan/cassava starch (1:1) (CH/ST) and papaya covered with chitosan/cassava starch (1:1) associated with 1% TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T), in the presence of fluorescent light at  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  and  $80\% \pm 1\%$  RH) for 18 days. Bioplastic coatings acted as a physical barrier, reducing the respiratory rate and mass loss, delaying the events that lead to senescence, decreasing chlorophyll degradation and carotenoid synthesis, as well as evidenced greater maintenance of pulp firmness, soluble solids, acidity, ratio (SS/TA), pH, skin and pulp color, lower rot index, wrinkling and better internal appearance, resulting in more sensory attractive fruits for commercialization. The coatings showed good adhesion to the fruit peel, less fungi and better odor, color, shine and acceptance. Treatment with coating containing TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T) was more successful in increasing the postharvest storage life of papaya, up to six and nine days, compared to fruits with coating without TiO<sub>2</sub> (CH/ST) and of the control, respectively.

**Keywords:** Titanium dioxide. Conservation. Post-harvest. Quality. *Carica papaya* L.

## 1. INTRODUÇÃO

O mamão (*Carica papaya L.*) é um fruto climatérico com intensa atividade metabólica, apresenta produção de etileno de  $13 \mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$  e taxa de respiração (produção de dióxido de carbono) de  $60 \text{ mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$  a  $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$  e 95% de umidade relativa, sendo susceptível à incidência de patógenos, o que compromete sua qualidade e reduz a sua vida de prateleira (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020; FABÍ *et al.*, 2007; MENDY *et al.*, 2019). As alterações na cor, amaciamento, síntese de aroma e sabor durante o amadurecimento são processos físico-químicos e bioquímicos irreversíveis que ocorrem em paralelo com o aumento da taxa de etileno e da respiração (JOHN *et al.*, 2018). E, apesar de favorecerem as características comestíveis do fruto, propiciam uma rápida senescência e uma vida útil de prateleira curta (BARRAGÁN-IGLESIAS; MÉNDEZ-LAGUNAS; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, 2018).

No intuito de favorecer a distribuição e diminuir as perdas pós-colheita dos frutos, é imprescindível o uso de alguma tecnologia que retarde os eventos metabólicos (MENDY *et al.*, 2019), como a respiração, alterações físico-químicas envolvidas na maturação dos frutos (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020). Além disso, diminuir a transpiração é importante para evitar a perda de massa do fruto (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020), sendo esta influenciada também pela respiração e pressão de vapor do meio ambiente circundante (PARVEN *et al.*, 2020), uma vez que a aparência e o peso dos frutos são os principais parâmetros afetados pela transpiração.

Estrategicamente, tecnologias sustentáveis têm sido priorizadas para prolongar a vida útil dos frutos (GOPI *et al.*, 2019; ZHONG *et al.*, 2020). Nesse contexto, embalagens são importantes pois modificam a atmosfera gasosa ( $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ) e formam uma barreira à perda de vapor de água, o que pode atrasar os processos metabólicos associados ao amadurecimento e à senescência dos frutos (MENDY *et al.*, 2019). As inovações nessa área têm focado em fontes renováveis e baratas para a confecção de embalagens, as quais têm apresentado resultados promissores como coberturas e filmes biopoliméricos no prolongamento da vida útil de frutos (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020; DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020; MENDY *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2018; PAIVA *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2019). Nesse sentido, a quitosana e a fécula de mandioca, além de biopolímeros com boa capacidade filmogênica (BALTI *et al.*, 2017; GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021), quando associados às interações ocorridas na matriz mista, devido ao grupo  $\text{NH}_3^+$  da quitosana e os grupos hidroxila do amido, podem ter suas propriedades melhoradas (CAZÓN; MANUEL VÁZQUEZ, 2020;

SANTACRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015). Em acréscimo, a incorporação de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> em uma matriz biopolimérica pode diminuir a permeabilidade ao vapor de água e a solubilidade, além de melhorar as propriedades mecânicas dos filmes compósitos. Ressalta-se também que as partículas de TiO<sub>2</sub> atuam como agentes bloqueadores de luz UV, mostrando potencial para uso como embalagem de alimentos (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021). Na presença de luz UV, o dióxido de titânio pode produzir espécies reativas de oxigênio (ROS) e radicais hidroxilas, que são fortes agentes oxidantes, podendo assim inativar microrganismos e oxidar o etileno a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, retardando a senescência da fruta, mantendo a qualidade nutricional por mais tempo (KAEWKLIN *et al.*, 2018; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018).

Estudos demonstraram que embalagens contendo TiO<sub>2</sub> e irradiadas com luz ultravioleta atrasam os processos de amadurecimento em tomates (MANEERAT; HAYATA, 2008; KAEWKLIN *et al.*, 2018). Nesse contexto, a conservação de mamão com o uso de revestimentos biopoliméricos com propriedade funcionais melhoradas pode ser uma estratégia inovadora para diminuir a taxa de etileno e de respiração, bem como a perda de massa dos frutos, o que pode manter a qualidade desses por maior tempo e reduzir as perdas pós-colheita.

Estratégias promissoras na conservação pós-colheita do mamão têm sido utilizadas, como o uso de revestimentos ativos baseados em hidroxipropilmetilcelulose e nanopartículas de prata (VIEIRA *et al.*, 2020), com quitosana isolada (ALI *et al.*, 2011) ou associada a óleos essenciais de *Mentha* (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020), com fécula de mandioca e óleo essencial de cravo (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020), com *Aloe vera* (MENDY *et al.*, 2019; PARVEN *et al.*, 2020).

Sabendo-se das propriedades promissoras de barreira e de mecânicas das embalagens biopoliméricas à base de quitosana/fécula de mandioca com nanopartículas de TiO<sub>2</sub> em substituição aos materiais poliméricos petroquímicos não biodegradáveis (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021), este trabalho teve por finalidade estender a vida de prateleira do mamão avaliando o impacto das coberturas à base de quitosana/fécula de mandioca/TiO<sub>2</sub> na atividade respiratória, qualidade físico-química e sensorial de mamão Havaí a 22 ± 1 °C e 80 ± 1 % de umidade relativa durante 18 dias.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### **Materiais**

Os materiais utilizados neste estudo foram: quitosana ( $M_w = 50000$  Da, grau de desacetilação  $\geq 88,91\%$ , Polymar Indústria e Com. Imp. E Exp. Ltda - Brasil), fécula de mandioca (29,24% amilose e 70,76% amilopectina, Indústria Primícias do Brasil Ltda - Brasil), ácido acético (99,7%, pureza, Dinâmica Química Contemporânea Ltda - Brasil), glicerol (99,5% pureza, Dinâmica Química Contemporânea Ltda - Brasil) e  $TiO_2$  (anatase, tamanho de partícula de 20-25 nm, pureza de 99,7%, Sigma-Aldrich). Os frutos do mamão Havaí foram adquiridos de produtores localizados em Mossoró, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, na maturidade fisiológica, livres de lesões e em tamanhos padronizados.

### **Síntese das coberturas biopoliméricas**

As soluções filmogênicas para a mistura de quitosana 1% p/p + fécula de mandioca 1% p/p (CH/ST) foram preparadas usando metodologias adaptadas de estudos anteriores (GOMES DE MENEZES et al., 2021). O glicerol foi utilizado como plastificante na concentração de 20% p/p em relação à massa seca do biopolímero. Para obter as soluções filmogênicas para a mistura de quitosana 1% p/p + fécula de mandioca 1% p/p + 1%  $TiO_2$  (CH/ST/T), foi adicionado 1% de nanopartículas de  $TiO_2$  em relação à massa seca da mistura biopolimérica de fécula de mandioca, quitosana e glicerol. Uma suspensão aquosa de nanopartículas de  $TiO_2$  a 1% foi adicionada lentamente ( $1\text{mL min}^{-1}$ ) com agitação (1000 rpm) ao longo de 5 min na solução filmogênica CH/ST. Em seguida, foram resfriados à temperatura ambiente ( $23^\circ\text{C}$ ) e sonificados em um banho de ultrassom (Quimis, Q3350) por 10 min com frequência e potência ultrassônica de 40 KHz e 135 watts RMS, respectivamente.

### **Aplicação das coberturas em mamões**

Todas as frutas foram imersas em solução esterilizada (100 ppm de hipoclorito de sódio por 10 min.) e secas em ambiente natural em bancada. Para o processo de recobrimento dos frutos, foi selecionado o método de imersão dos frutos em soluções filmogênicas. Com exceção dos frutos controle (sem cobertura), os demais foram imersos em solução filmogênica sem  $TiO_2$  (CH/ST) e com  $TiO_2$  (CH/ST/T) por 90 s, sendo retirados e secos à temperatura de  $23^\circ\text{C}$  por uma hora. Assim, três tratamentos foram obtidos: T1 - mamão sem cobertura (controle), T2 -

mamão com cobertura de quitosana/fécula de mandioca (1:1) (CH/ST) e T3 - mamão com cobertura de quitosana/fécula de mandioca (1:1) associado a 1% de TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T). Os frutos de cada tratamento foram acondicionados a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR por 18 dias e expostos à luz fluorescente (lâmpada tubular universal de 40 W - OSRAM) durante 12 horas por dia. Os parâmetros de qualidade pós-colheita dos frutos de mamão foram coletados a cada três dias a partir do dia zero.

### **Avaliação das coberturas na qualidade pós-colheita do mamão**

A morfologia das cascas do mamão foi avaliada em imagens de alta magnificação com microscópio eletrônico de varredura (TESCAN VEGA 3). As amostras foram secas e revestidas por pulverização catódica com uma camada nanométrica de ouro (Quorum Tech Q150R) antes da microscopia. As superfícies das cascas foram fotografadas aplicando uma tensão de aceleração de 10 kV com uma ampliação de 3 kx, enquanto as seções transversais foram fotografadas com tensão de aceleração de 10 kv e ampliação de 250 x.

A resposta fisiológica do mamão foi avaliada por meio da determinação das taxas de liberação de CO<sub>2</sub> dos frutos dos diferentes grupos de tratamento ao longo de sete dias, a cada 12 horas, conforme metodologia adaptada de Isermeyer (1952). Para isso, amostras de frutas com massa entre 0,635 – 0,915 Kg foram pesadas e colocadas em recipientes hermeticamente fechados durante 2 horas, contendo 40 mL de NaOH (0,5 mol/L) para capturar o CO<sub>2</sub> liberado. Em cada recipiente, ventoinhas foram utilizadas para acelerar o contato do CO<sub>2</sub> com o NaOH.

Após o período de incubação, procedeu-se com a quantificação da massa do CO<sub>2</sub> a partir da titulação da solução de NaOH com HCl (0,5 mol/L), usando dois indicadores, inicialmente fenolftaleína e, em seguida, um indicador misto (0,1% de verde de bromocresol mais 0,1% de vermelho de metila). Em um recipiente sem frutas, foi determinado o CO<sub>2</sub> para prova em branco. Para determinar a massa de CO<sub>2</sub>, usou-se a seguinte fórmula:  $\text{CO}_2(\text{g}) = (\text{MM}_{\text{CO}_2} \cdot [\text{HCl}] \cdot f_{\text{HCl}} \cdot V_{\text{misto}}) - m_{\text{CO}_2}$ , em que:  $\text{MM}_{\text{CO}_2}$  = massa molecular do CO<sub>2</sub> em gramas/mol;  $[\text{HCl}]$  = concentração de HCl em mol/L;  $f_{\text{HCl}}$  = fator de correção do HCl;  $V_{\text{misto}}$  = volume gasto de HCl usando o indicador misto;  $m_{\text{CO}_2}$  = massa de CO<sub>2</sub> da prova em branco. A taxa respiratória foi expressa em  $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .

A perda de massa dos mamões foi obtida pela diferença da massa inicial e da massa final no tempo de armazenamento, e os resultados foram expressos em porcentagem. Para análise da firmeza, os frutos foram divididos longitudinalmente em duas partes e, em uma delas, foram determinadas cinco leituras na polpa, em locais aleatórios e equidistantes, utilizando um



penetrômetro (modelo FT 327, McCormick, EUA), com ponta de 8 mm de diâmetro. Os resultados foram expressos em Newton.

A coloração da casca e da polpa foi determinada por reflectometria, utilizando um colorímetro CR-10 (Konica Minolta®, Japão). As leituras foram expressas pelos parâmetros  $L$  (luminosidade),  $C$  (cromaticidade) e  $H$  (ângulo Hue). As leituras foram determinadas em cinco pontos fixos e equidistantes, sendo o resultado expresso pela média.

Os teores de clorofilas e de carotenoides da casca dos frutos foram quantificados conforme metodologia adaptada de Nagata & Yamashita (1992). Para isso foi coletada 1g de casca da região (equatorial) do mamão, colocada em um tubo de ensaio com 10 mL de acetona-hexano (4:6), agitado 3 vezes por 4 minutos e, posteriormente, o sobrenadante foi coletado e realizada a leitura da absorbância nos comprimentos de onda de 663, 645, 505 e 453nm com auxílio de um espectrofotômetro (EVO-600PC, Thermo Scientific). A partir desses valores, o conteúdo de clorofila  $a$ , clorofila  $b$ , licopeno e beta-caroteno foi estimado usando equações abaixo:

$$\text{Clorofila } a \text{ (mg/100ml)} = 0.999A_{663} - 0.0989A_{645}$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (mg/100ml)} = -0.328A_{663} + 1.77A_{645}$$

$$\text{Licopeno (mg/100ml)} = -0.0458A_{663} + 0.204A_{645} + 0.372A_{505} - 0.0806A_{453}$$

$$\text{Beta-Caroteno (mg/100ml)} = 0.216A_{663} - 1.22A_{645} - 0.304A_{505} + 0.452A_{453}$$

Em que:  $A_{663}$ ,  $A_{645}$ ,  $A_{505}$  e  $A_{453}$  são absorbâncias a 663nm, 645nm, 505nm e 453nm.

O teor de sólidos solúveis (SS) foi expresso em °Brix (refratômetro digital modelo PR - 100 Palett, Atago, Japão), a acidez titulável (TA) foi expressa em g de ácido cítrico por 100 g<sup>-1</sup> de suco, a relação SS/AT (*Ratio*) foi obtida dividindo-se os valores médios do teor de sólidos solúveis pelas médias da acidez titulável e o pH foi determinado pelo método potenciométrico em potenciômetro digital, pHmetro TECNAL (Tec 3MP), conforme metodologia descrita por Paiva *et al.*, 2020.

O índice de aparência, de podridão e de enrugamento foi determinado segundo Zillo *et al.* (2018), em que o índice de podridão foi evidenciado pelo crescimento de fungos visualizados na superfície do fruto e avaliado usando uma escala de pontuação, em que “Pontuação 1” correspondeu ao índice “Leve” (área de superfície com sintomas <25%), “Pontuação 2” correspondeu a “Moderado” (área de superfície com sintomas 26-50%), “Pontuação 3” correspondeu ao índice “Grave” (área de superfície com sintomas ≥ 50%). A aparência de enrugamento foi evidenciada pelo murchamento ou desidratação do mamão, seguindo uma

escala de pontuação de 1 a 3, em que a pontuação 1 (fruta túrgida), pontuação 2 (Semitúrgida) e Pontuação 3 (Murcha). A aparência interna (AI) foi avaliada por cinco pessoas treinadas, utilizando uma escala visual e subjetiva, com notas variando de 5 a 0, de acordo com a severidade dos defeitos na área interna (colapso interno, sementes soltas e/ou líquido na cavidade das sementes), sendo que, quanto menor a nota, maior a severidade dos defeitos (LIMA *et al.*, 2005). Frutos com nota inferior a 3,0 são considerados inadequados para a comercialização (PAIVA *et al.*, 2020).

A análise sensorial foi realizada em cada período de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias) por cinco provadores treinados. As amostras foram inicialmente codificadas com três dígitos e, para a avaliação, os avaliadores receberam lotes contendo cinco frutos inteiros de cada tratamento. Os exames foram realizados no período da manhã, das 7h às 11h, e os dados foram submetidos à análise da escala hedônica, que é o método de graduação da preferência em níveis de quantidade para os alimentos.

Os frutos foram avaliados em relação a seis categorias: aceitação, odor, cor, fungo, brilho e adesividade do filme, utilizando uma escala estruturada (1-4). Para a aceitação, a “pontuação 1” correspondeu ao índice “excelente” (fresco), a “pontuação 2” correspondeu a “bom” (desidratação leve, ainda parece fresco, vendável), a “pontuação 3” correspondeu a “aceitável” (desidratação moderada, vendável) e a “pontuação 4” correspondeu a “Inaceitável” (velho e/ou mofado, desidratação grave).

Para categoria odor, a “pontuação 1” correspondeu ao índice “excelente” (sem odor desagradável), a “pontuação 2” correspondeu a “bom” (odor desagradável muito leve apenas na abertura), a “pontuação 3” correspondeu a “aceitável” (odor desagradável leve) e a “pontuação 4” correspondeu a “inaceitável” (odor desagradável moderado ou grave).

Na avaliação da cor, a “pontuação 1” correspondeu ao índice “excelente” (uniformes, brilhantes), a “pontuação 2” correspondeu a “bom” (leve perda de frescor / brilho), a “pontuação 3” correspondeu a “aceitável” (leve perda do brilho e presença de machas escuras) e a “pontuação 4” correspondeu a “inaceitável” (perda do brilho, manchas muito intensas, desagradável).

Para categoria fungo, a “pontuação 1” correspondeu ao índice “excelente” (não fungo), a “pontuação 2” correspondeu a “bom” (fungo muito leve afetando pequena área), a “pontuação 3” correspondeu a “aceitável” (fungo moderado afetando até duas áreas) e a “pontuação 4” correspondeu a “inaceitável” (fungo severo afetando mais de 50% da fruta).

Na categoria brilho, a “pontuação 1” correspondeu ao índice “excelente” (brilhante), a “pontuação 2” correspondeu a “bom” (normal), a “pontuação 3” correspondeu a “aceitável” (levemente embaçado) e a “pontuação 4” correspondeu a “inaceitável” (embaçado).

E, por fim, para a categoria adesividade do filme, a “pontuação 1” correspondeu ao índice “excelente” (sem descamação), a “pontuação 2” correspondeu a “bom” (leve descamação), a “pontuação 3” correspondeu a “aceitável” (com descamação afetando até duas áreas) e a “pontuação 4” correspondeu a “inaceitável” (com descamação intensa afetando mais de 50% da fruta).

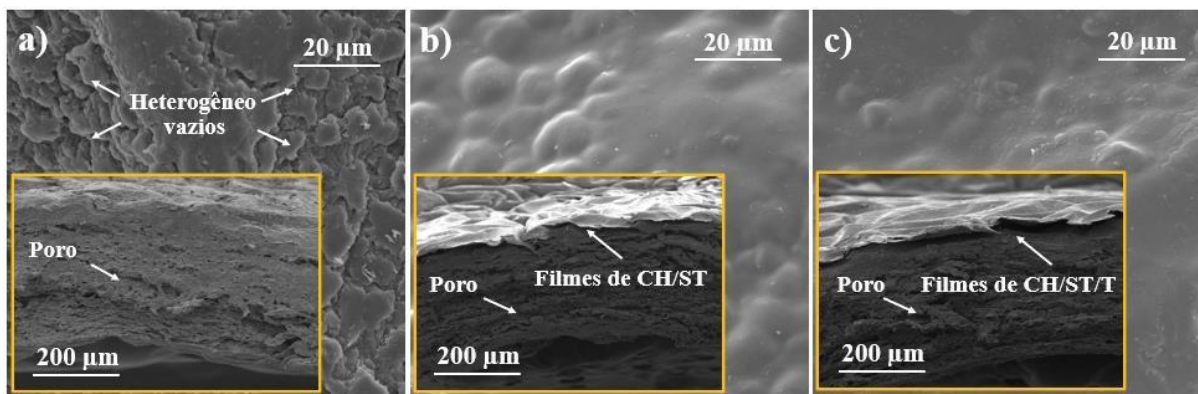
### **Estatística**

As análises físico-químicas foram conduzidas em delineamento inteiramente casualizado, em esquema de fatorial: 3x7, com três tratamentos (T1: mamão sem cobertura (controle), T2: mamão com cobertura de CH/ST e T3: mamão com coberturas de CH/ST/T) e sete períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias), com cinco repetições de um fruto por parcela experimental. Para os estudos da respiração dos frutos, o experimento foi conduzido no mesmo delineamento, esquema fatorial: 3x14, os mesmos tratamentos e quatorze períodos de armazenamento (12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 144, 156, 168 horas). Utilizou-se ANOVA de dois fatores e teste de Tukey, com nível de significância de  $P < 0,05$ . Toda a análise estatística dos dados foi realizada com o software Statistica® versão 13.5 (TIBCO Software Inc., EUA).

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Análise morfológica**

A Figura 1 mostra imagens de MEV da superfície e da seção transversal da casca do mamão sem cobertura, com cobertura de CH/ST e com cobertura de CH/ST/T. A casca do mamão sem cobertura apresenta uma superfície heterogênea, com espaços vazios e porosidade na seção transversal (Figura 1a). As imagens de MEV da superfície das cascas com as coberturas evidenciam que as coberturas de CH/ST e CH/ST/T proporcionaram o preenchimento dos espaços vazios na superfície da casca, cobriram os estômatos, bem como a cutícula e lenticelas, o que pode evitar perda de umidade e controlar a troca de gases como oxigênio e dióxido de carbono, retardando assim o amadurecimento do fruto.



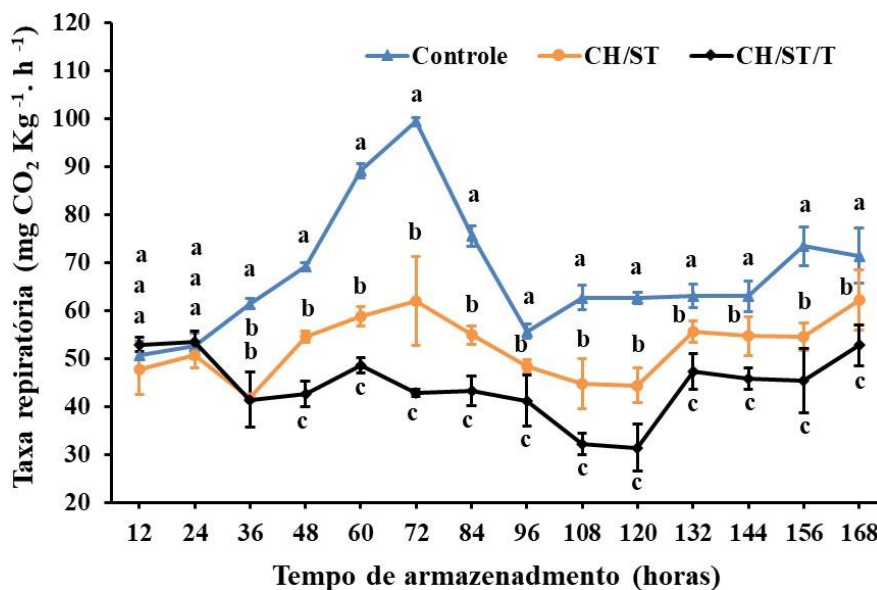
**Figura 1.** Imagens de MEV da superfície e da seção transversal (inserções) da casca do mamão sem cobertura (a), com cobertura de CH/ST (b) e com cobertura de CH/ST/T (c).

Estudos já evidenciaram que revestimentos são efetivos na conservação pós-colheita de mamão (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020; MENDY *et al.*, 2019; PARVEN *et al.*, 2020; ZILLO *et al.*, 2018) e que embalagens à base de quitosana/fécula de mandioca e nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  mostram potencial como filmes biodegradáveis na conservação de alimentos (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021).

### Taxa de respiração

Houve efeito dos tratamentos ao longo do armazenamento para a taxa de respiração ( $\text{mg CO}_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) dos frutos, com ênfase nos frutos com cobertura mais  $\text{TiO}_2$ , que apresentaram menor taxa de respiração ao longo do armazenamento (Figura 2). Os frutos sem coberturas apresentaram aumento acentuado na respiração a partir de 24 horas, chegando ao pico climatérico às 72 horas de armazenamento. Os frutos recobertos com CH/ST apresentaram aumento na respiração a partir de 48 horas de armazenamento, chegando ao pico climatérico às 72 horas em menor intensidade que os frutos controle. A cobertura com  $\text{TiO}_2$  (CH/ST/T) foi eficaz em retardar a ocorrência do pico do climatério respiratório, cujos valores experimentais foram os menores (Figura 2).

Estudos realizados por Castricini *et al.* (2010), com mamões ‘golden’ revestidos por filmes de fécula de mandioca, evidenciaram pico de respiração no período de 36 horas após o início das avaliações em todos os tratamentos e que foram maiores nos frutos controle (sem revestimento). Também, Xing *et al.* (2020) evidenciaram atraso no pico respiratório de manga revestida com quitosana/ $\text{TiO}_2$ . A menor intensidade da taxa respiratória nos frutos revestidos com CH/ST/T é um fator determinante no aumento de vida pós-colheita do mamão, visto que reduz os processos oxidativos no fruto, consequentemente, sua senescência.



**Figura 2.** Taxa de respiração ( $\text{mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR.

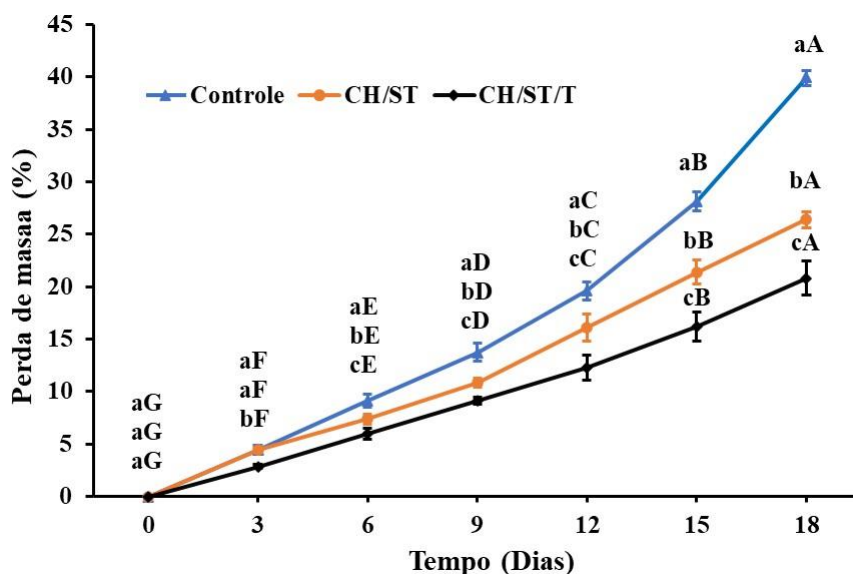
Ademais, os revestimentos com nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  favorecem uma maior conservação da fruta na presença de luz UV, devido à formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) que podem inativar microrganismos e oxidar o etileno a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  (KAEWKLIN *et al.*, 2018; SIRIPATRAWAN; KAEWKLIN, 2018). Os ROS podem ser ativados por luz visível, como observado por Zhang *et al.* (2017), em filme de quitosana- $\text{TiO}_2$ , em que foi evidenciado que a adição de nano- $\text{TiO}_2$  aumentou a atividade antimicrobiana do filme de quitosana pura por meio da formação de ROS. Além disso, estudos realizados em lâmpadas fluorescentes lineares no Irã (DEGHANI; BAZARGANI; MIRDORAGHI, 2019), lâmpadas fluorescentes compactas residenciais, lâmpadas incandescentes e halógenas convencionais evidenciaram que elas emitem luz UV (NUZUM-KEIM *et al.*, 2009).

### Perda de massa

Para todos os tratamentos houve aumento na perda de massa dos frutos durante o período de armazenamento (Figura 3). Resultados semelhantes foram relatados na literatura (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020; MENDY *et al.*, 2019; PARVEN *et al.*, 2020). Todavia, as coberturas mostraram-se mais efetivas na redução de perda de massa, com ênfase para a cobertura com  $\text{TiO}_2$  (CH/ST/T). A maior perda de massa foi registrada para frutas não revestidas após o sexto dia de armazenamento. A partir do sexto dia de armazenamento,

verificou-se que os frutos revestidos com a mistura CH/ST mostraram perda de massa inferior aos frutos do controle (sem revestimento) e maiores que os frutos cobertos com CH/ST/T.

A cobertura de CH/ST com  $\text{TiO}_2$  ( $20,81 \pm 1,60\%$ ) foi mais efetiva em impedir a perda de massa dos frutos, em relação aos frutos controle ( $39,88 \pm 0,68\%$ ) e aos frutos recobertos com CH/ST ( $26,40 \pm 0,75\%$ ) aos 18 dias de armazenamento. A ausência da cobertura, alta temperatura e baixa umidade relativa, favorecem uma maior perda de água e maior atividade respiratória dos frutos (MENDY *et al.*, 2019; PAIVA *et al.*, 2020; PARVEN *et al.*, 2020).



**Figura 3.** Perda de massa (%) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A perda de massa dos frutos é influenciada pela respiração e transpiração. Neste estudo, as coberturas foram mais efetivas na manutenção da massa dos frutos (Figura 3). A formação de um filme sobre as cascas (Figura 1), serviu como barreira contra oxigênio, dióxido de carbono e vapor de água, como evidenciado na redução da respiração (Figura 2). A respiração

é um processo oxidativo em que átomos de carbono são perdidos na forma de CO<sub>2</sub> e há formação de moléculas de água e energia (PARVEN *et al.*, 2020).

Os filmes de CH/ST/T mostraram ser mais hidrofóbicos e, na presença de luz UV, podem atuar na fotodegradação do etileno (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021), o que justifica menor perda de massa no fruto com o revestimento CH/ST/T na presença de luz fluorescente, visto que o etileno está associado ao aumento da respiração dos frutos (JOHN *et al.*, 2018). Menor perda de massa em frutos revestidos também foi relatada em estudos com mamão (MENDY *et al.*, 2019; VIEIRA *et al.*, 2020) e manga (XING *et al.*, 2020). Ademais, uma maior perda de massa, ao longo do armazenamento, sugere a perda da integridade da cutícula natural da casca do fruto com o amadurecimento (ALI *et al.*, 2011), mas as coberturas atuaram como barreira à difusão através dos estômatos e lenticelas (Figura 1).

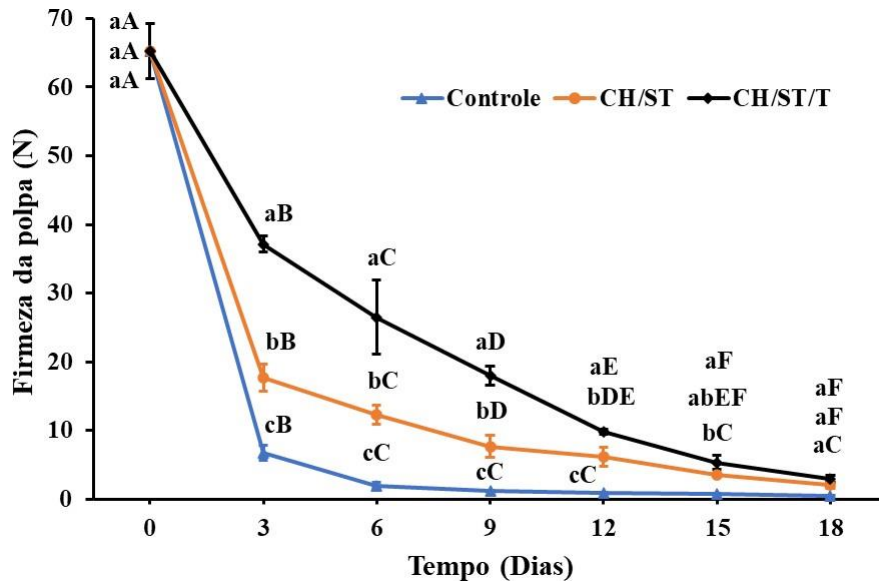
### **Firmeza**

A firmeza do mamão é um fator importante na determinação da comestibilidade e vida útil pós-colheita dos frutos (MENDY *et al.*, 2019). Houve diminuição da firmeza do mamão para todos os tratamentos ao longo do armazenamento (Figura 4). Resultados semelhantes em mamões foram relatados na literatura (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020; VIEIRA *et al.*, 2020). Os frutos sem cobertura (controle) apresentaram maior amaciamento de polpa em menor período de tempo, seguido pelos frutos revestidos com CH/ST e CH/ST/T, respectivamente. Ocorreu uma redução de  $65,20 \pm 3,99$  N inicialmente para  $6,75 \pm 1,05$  N,  $17,68 \pm 1,95$  N e  $37,14 \pm 1,20$  N para os frutos controle, com cobertura de CH/ST e CH/ST/T respectivamente, ao terceiro dia de armazenamento.

A firmeza dos frutos com cobertura de CH/ST/T ao décimo segundo dia ( $9,75 \pm 1,05$  N) e com cobertura de CH/ST ao nono dia ( $7,64 \pm 1,62$  N) foi superior à dos frutos controle aos três dias ( $6,75 \pm 1,05$  N) de armazenamento. A redução da firmeza, ao longo do tempo, nos frutos do controle (sem cobertura) evidenciou um maior amadurecimento da fruta, ficando evidente a eficácia do uso das coberturas no prolongamento da vida útil do fruto.

A redução na firmeza ocorre devido ao amadurecimento do fruto, provocada por enzimas que atuam nas estruturas da pectina e da hemicelulose, reduzindo a rigidez da parede celular dos frutos (GHAI; GUPTA; GUPTA, 2016; JOHN *et al.*, 2018). Atividade enzimática produzida pela poligalacturonase (PG) e a pectina metil esterase (PME) estão envolvidas nesse processo, sendo a maturação excessiva e redução da firmeza um dos principais fatores

causadores de perdas pós-colheita (BARRAGÁN-IGLESIAS; MÉNDEZ-LAGUNAS; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, 2018).



**Figura 4.** Firmeza de polpa (N) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os revestimentos mostraram ser capazes de manter a firmeza dos frutos por mais tempo, o que sugere diminuição da atividade enzimática na fruta, como consequência da redução da produção endógena de etileno e da taxa respiratória (Figura 2). As coberturas atuaram sobre a casca do fruto, formando um filme, cobrindo a cutícula e lenticelas (Figura 1), reduzindo a perda de massa e a taxa respiratória (Figura 2 e 3). Não obstante, os tratamentos com maiores perdas de massa, apresentaram menores valores de firmeza durante o armazenamento, comportamento semelhante ao evidenciado em mamão na literatura (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020). A redução da firmeza também foi relatada por Mendy *et al.* (2019), em frutos de mamão, em que o revestimento de *A. vera* foi capaz de reduzir a perda de firmeza do fruto, e por Xing *et al.* (2020), em manga, cuja manutenção da firmeza ocorreu em frutos revestido com



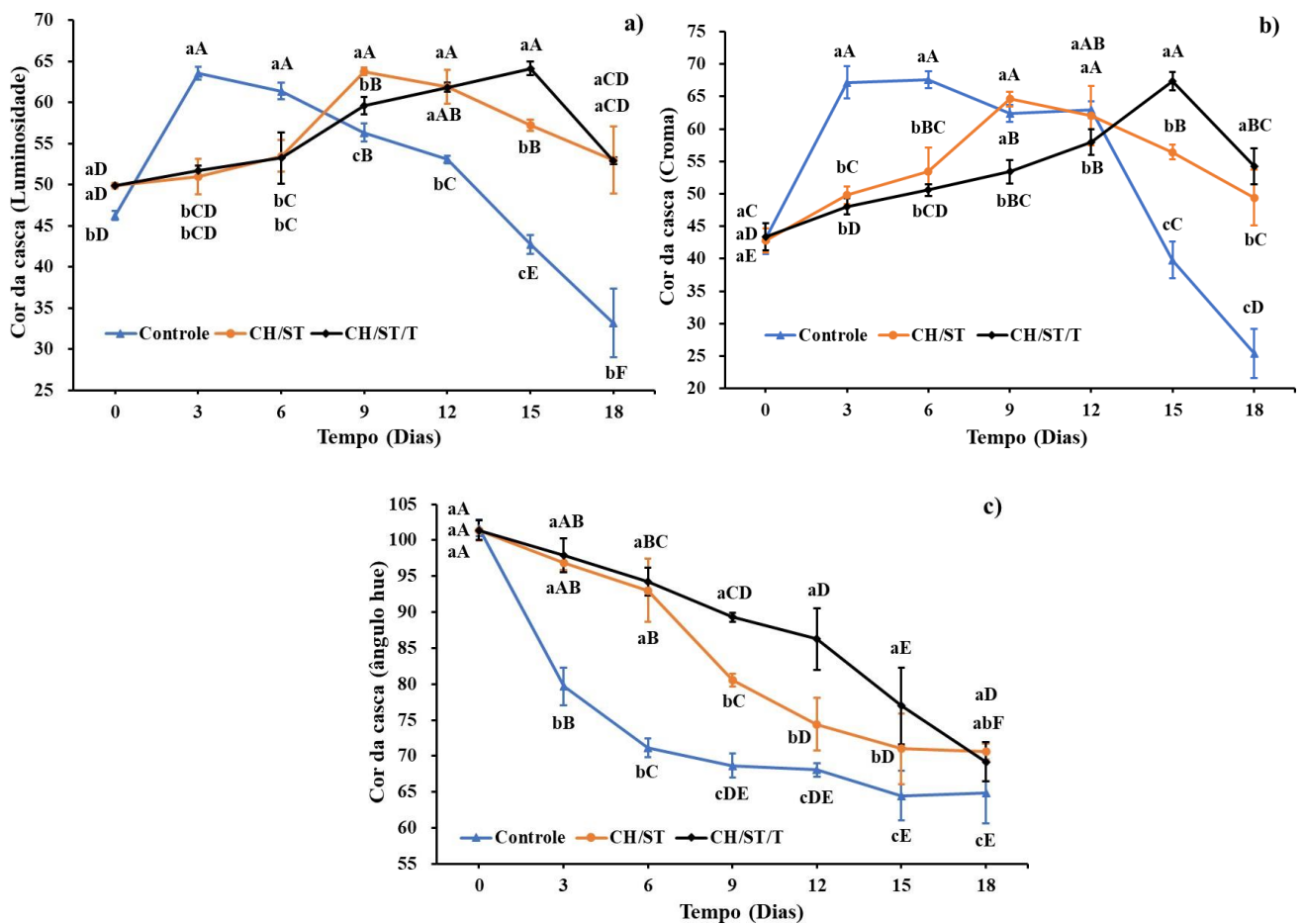
quitosana/TiO<sub>2</sub>. Estudos realizados por Kaewklin *et al.* (2018) com embalagens de quitosana/TiO<sub>2</sub> na presença de luz UV demonstraram que a fotodegradação do etileno, resultou na inibição da degradação da substância péctica e, conseqüentemente, retardou o amaciamento do tomate.

### **Coloração da casca e da polpa**

Observou-se interação significativa entre os fatores tratamentos e os períodos de armazenamento para as variáveis; luminosidade, croma e ângulo hue, da coloração da casca e da polpa dos frutos de mamão Havaí (Figuras 5 e 6). Em todos os tratamentos, ocorreram um aumento na luminosidade na casca dos frutos, com uma posterior redução durante o período de armazenamento. Ao final do armazenamento, os frutos controles apresentaram os menores valores. Ocorreu um pico de maior luminosidade, primeiro nos frutos do controle ao terceiro dia ( $63,54 \pm 0,75$ ), seguido pelos frutos revestidos com CH/ST e CH/ST/T ao nono dia ( $63,76 \pm 0,48$ ) e décimo quinto dia ( $64,13 \pm 0,82$ ), respectivamente (Figura 5a). Com isto, evidencia-se um efeito positivo do revestimento em retardar o processo metabólico dos frutos, com ênfase nos frutos com a cobertura CH/ST com TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T), como detectado pelo teor de clorofila no tecido epidérmico (Figura 7) e respiração mais lenta (Figura 2) o que sugere-se, também, que o TiO<sub>2</sub> pode ter atuado na fotodegradação de etileno (KAEWKLIN *et al.*, 2018).

No tempo zero, os revestimentos propiciaram maior luminosidade aos frutos, o que é coerente com a presença de uma fina camada aderida dos biopolímeros. Inicialmente, a luminosidade foi de  $46,25 \pm 0,58$ ,  $49,88 \pm 0,36$  e  $49,89 \pm 0,11$  para os frutos controles, com cobertura de CH/ST e de CH/ST/T, respectivamente (Figura 5a). Ao final do armazenamento, ocorreu uma redução da luminosidade da casca para todos os tratamentos, inerente ao processo de senescência dos frutos, sendo mais evidente nos frutos controles (Figura 8).

Os valores de croma (coordenada C) da casca aumentaram e, posteriormente, reduziram no final do armazenamento. Os frutos do controle apresentaram os maiores valores até o sexto dia, seguido pelos frutos revestidos com CH/ST, cujo valor máximo ocorreu no nono dia, e por frutos revestidos com cobertura CH/ST com TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T) no décimo quinto dia (Figura 5b). Os frutos controle (sem revestimento) apresentaram, em três dias, uma pigmentação amarela (Figura 8). No final do armazenamento, os valores de croma reduziram em todos os tratamentos, sendo significativamente maior para os frutos controles (Figura 5b). O retardo no acréscimo dos valores de croma sugere menor degradação de clorofila e síntese de carotenoides na casca do mamão, como evidenciado neste estudo (Figura 7).



**Figura 5.** Luminosidade (coordenada L) (a), cromia (coordenada C) (b) e ângulo hue (coordenada H (tonalidade)) (c) da casca de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os picos de maior luminosidade e de cromia nos frutos ocorreram no terceiro dia (sem cobertura), no nono dia (cobertura CH/ST) e décimo quinto dia (cobertura CH/ST/T), evidenciando-se o estágio final de maturação com biossíntese de carotenoides e degradação da clorofila (Figura 7). Esse comportamento de retardo no amadurecimento do mamão com aplicação de coberturas também foi evidenciado por Vieira *et al.* (2020), Parven *et al.* (2020), Mendy *et al.* (2019), Zillo *et al.* (2018) e Ali *et al.* (2011).

Ao analisar os tratamentos ao longo do tempo de armazenamento, observou-se redução do ângulo hue até o final do armazenamento (Figura 5c). Os frutos revestidos mostraram um menor decréscimo no valor do ângulo hue em comparação ao controle. Nos frutos controle, o decréscimo no valor fica evidente já no terceiro dia de armazenamento, enquanto que nos frutos com coberturas CH/ST, detectou-se somente a partir do sexto dia, seguido dos frutos com coberturas CH/ST/T, cuja redução foi maior a partir do décimo segundo dia de armazenamento.

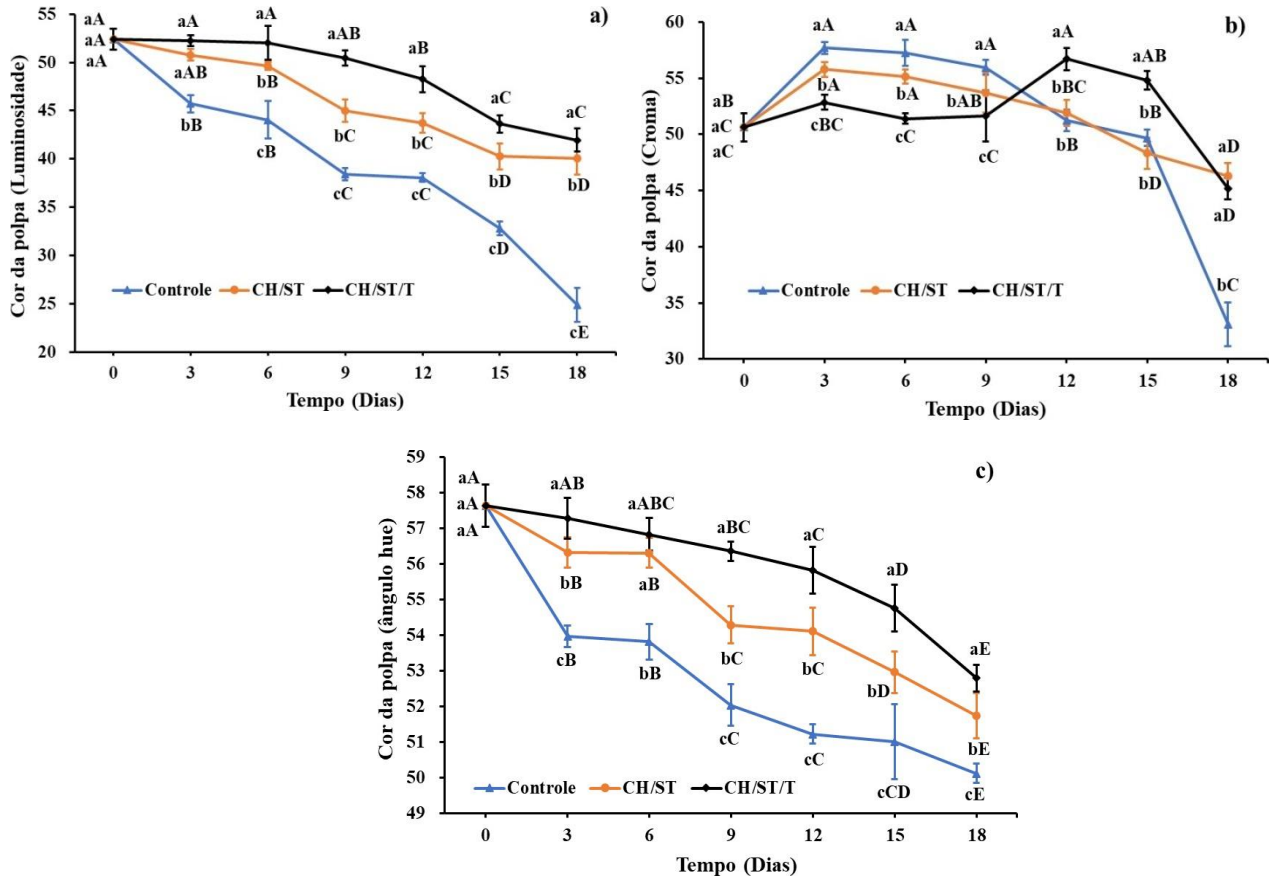
Ao terceiro dia de armazenamento, os frutos controles (sem cobertura) apresentaram valores do ângulo hue de  $79,69 \pm 2,61$ , inferiores aos frutos revestidos com CH/ST e CH/ST/T, que apresentaram ângulos hue equivalente a  $96,83 \pm 0,98$  e  $97,89 \pm 2,35$ , respectivamente. Entre o nono e o décimo quinto dia, os frutos revestidos com CH/ST mostraram valores significativamente inferiores aos revestidos com CH/ST/T, evidenciando um maior amadurecimento.

Ocorreram mudanças de cor na casca do mamão, de verde para amarelo, durante o armazenamento dos frutos, evidenciando-se que os frutos controle amadurecem primeiro, seguidos pelos frutos revestidos com CH/ST e CH/ST/T, respectivamente (Figura 8). A cor da casca dos frutos evoluiu de verde para amarelo, uma das alterações mais marcantes durante a maturação do mamão (BARRAGÁN-IGLESIAS; MÉNDEZ-LAGUNAS; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, 2018). Essa mudança de cor ocorreu devido a reações enzimáticas e químicas envolvidas na degradação da clorofila e/ou síntese de carotenoides (licopeno e caroteno) durante o período de armazenamento (ALI *et al.*, 2011; PARVEN *et al.*, 2020). Ocorreu alteração de verde para amarelo nos frutos controle no terceiro dia e de verde-amarelado para amarelo nos frutos revestidos com CH/ST e CH/ST/T no nono e décimo quinto dia, respectivamente (Figura 8).

O retardo no desenvolvimento da cor na casca do mamão nos frutos com coberturas sugere uma atividade fisiológica lenta, como evidenciado pela taxa de respiração (Figura 2), bem como uma possível redução na produção de etileno (ALI *et al.*, 2011; MENDY *et al.*, 2019; PARVEN *et al.*, 2020; VIEIRA *et al.*, 2020) e/ou para o revestimento com TiO<sub>2</sub> na fotodegradação de etileno (KAEWKLIN *et al.*, 2018), levando a uma modificação da atmosfera interna do fruto, atrasando o amadurecimento e a senescência.

Para a polpa dos frutos, nota-se, ao terceiro dia, que frutos com cobertura de CH/ST/T, CH/ST e o controle apresentaram valores de luminosidade equivalente a  $52,23 \pm 0,91$ ,  $50,76 \pm 0,60$  e  $45,73 \pm 0,57$ , respectivamente. Ao final do armazenamento, ao décimo oitavo dia, frutos com cobertura de CH/ST/T, CH/ST e o controle apresentaram valores de luminosidade equivalentes a  $41,96 \pm 1,75$ ,  $40,07 \pm 1,72$  e  $24,88 \pm 1,22$ , respectivamente (Figura 6a).

Semelhante a esses resultados, a maior manutenção da luminosidade da polpa também foi evidenciada em frutos de mamão revestidos com quitosana e óleos essenciais de *Mentha* (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020).



**Figura 6.** Luminosidade (coordenada L) (a), croma (coordenada C) (b) e ângulo hue (coordenada H (tonalidade)) (c) da polpa de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Independente do tratamento, observou-se redução nos valores de luminosidade da polpa dos frutos durante o armazenamento (Figura 6a). Os frutos revestidos apresentaram luminosidade de polpa superior ao do controle, com ênfase na formulação CH/ST com  $\text{TiO}_2$ ,

cujos valores foram maiores a partir do sexto dia. A redução da luminosidade no final do armazenamento pode ser atribuída ao acelerado amadurecimento do mamão (BASULTO *et al.*, 2009) e ao avanço do processo de senescência, quando a membrana celular perde sua integridade ocorrendo o escurecimento da polpa (Figura 8), fato evidenciado, principalmente, nos frutos controle (Figura 6a).

Ao terceiro dia, as polpas dos frutos com coberturas mostraram menores valores de croma (parâmetro C). Esses valores foram  $52,85 \pm 0,67$  (CH/ST/T),  $55,79 \pm 0,66$  (CH/ST) e  $57,68 \pm 0,56$  para o controle (Figura 6b). Já ao décimo segundo dia, os frutos revestidos com CH/ST/T mostraram um maior valor de croma ( $56,71 \pm 1,00$ ), seguido pelo controle e os frutos revestidos com CH/ST ( $51,91 \pm 1,15$ ), que apresentaram valores estatisticamente iguais. Ao décimo oitavo dia, pôde-se evidenciar os menores valores de croma, com ênfase nos frutos do controle ( $33,08 \pm 1,92$ ), o que pode ser atribuído à senescência dos frutos, em que ocorre escurecimento da polpa.

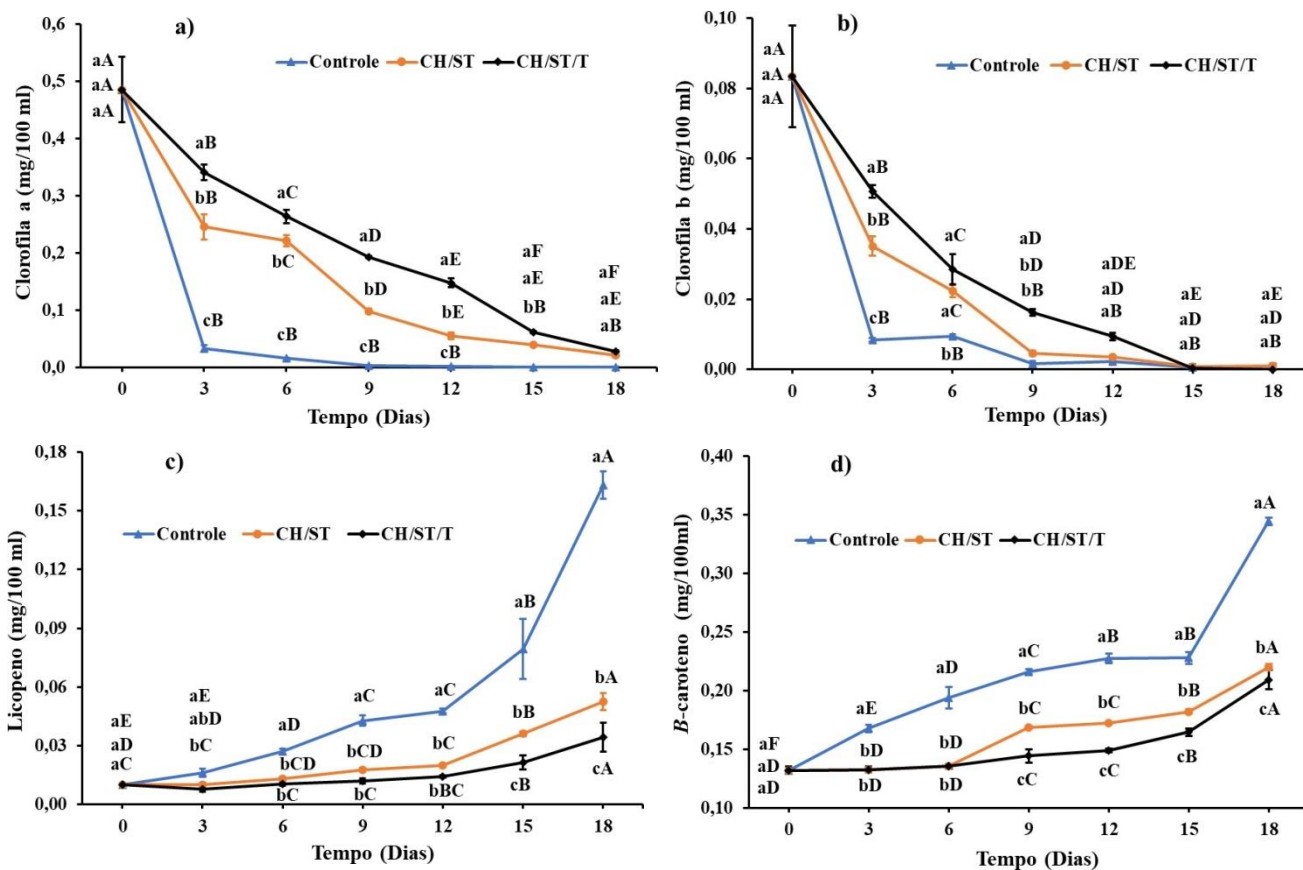
Independente do tratamento, houve aumento no valor do croma da polpa do mamão, esse aumento foi a partir do terceiro dia para o controle e para a cobertura (CH/ST), com posterior redução a partir do nono dia. Para os frutos revestidos com CH/ST/T, ocorreu uma manutenção desse parâmetro até o nono dia, mostrando aumento somente ao décimo segundo dia ( $56,71 \pm 1,00$ ) (Figura 6b). Basulto *et al.* (2009) evidenciaram aumento nos valores de croma da casca e da polpa de mamão com o amadurecimento.

Os frutos revestidos apresentaram maiores valores de ângulo hue (coordenada H) da polpa. Ao terceiro dia, os ângulos hue (coordenada H) da polpa dos frutos com coberturas de CH/ST/T, CH/ST e o controle foram  $57,28 \pm 0,57$ ,  $56,33 \pm 0,43$  e  $53,97 \pm 0,30$ , respectivamente. Ao décimo oitavo dia de armazenamento, os valores foram  $52,80 \pm 0,37$ ,  $51,75 \pm 0,64$  e  $50,13 \pm 0,27$  para os frutos com coberturas de CH/ST/T, CH/ST e controle, respectivamente. Os frutos revestidos com CH/ST/T apresentaram maior manutenção desse parâmetro na polpa durante todo armazenamento (Figura 6c). Maiores valores de ângulo hue da polpa do mamão revestido em comparação com a de mamão não revestido, também, foram evidenciados na literatura (DOS PASSOS BRAGA *et al.*, 2020).

### **Teores de clorofilas e carotenoides**

Os teores de clorofilas *a* e *b*, licopeno e beta-caroteno dos frutos de mamão Havaí foram influenciados pela interação entre os tratamentos (coberturas) e o tempo de armazenamento (Figura 7). Os teores de clorofila *a* e clorofila *b*, para todos os tratamentos, reduziram com o

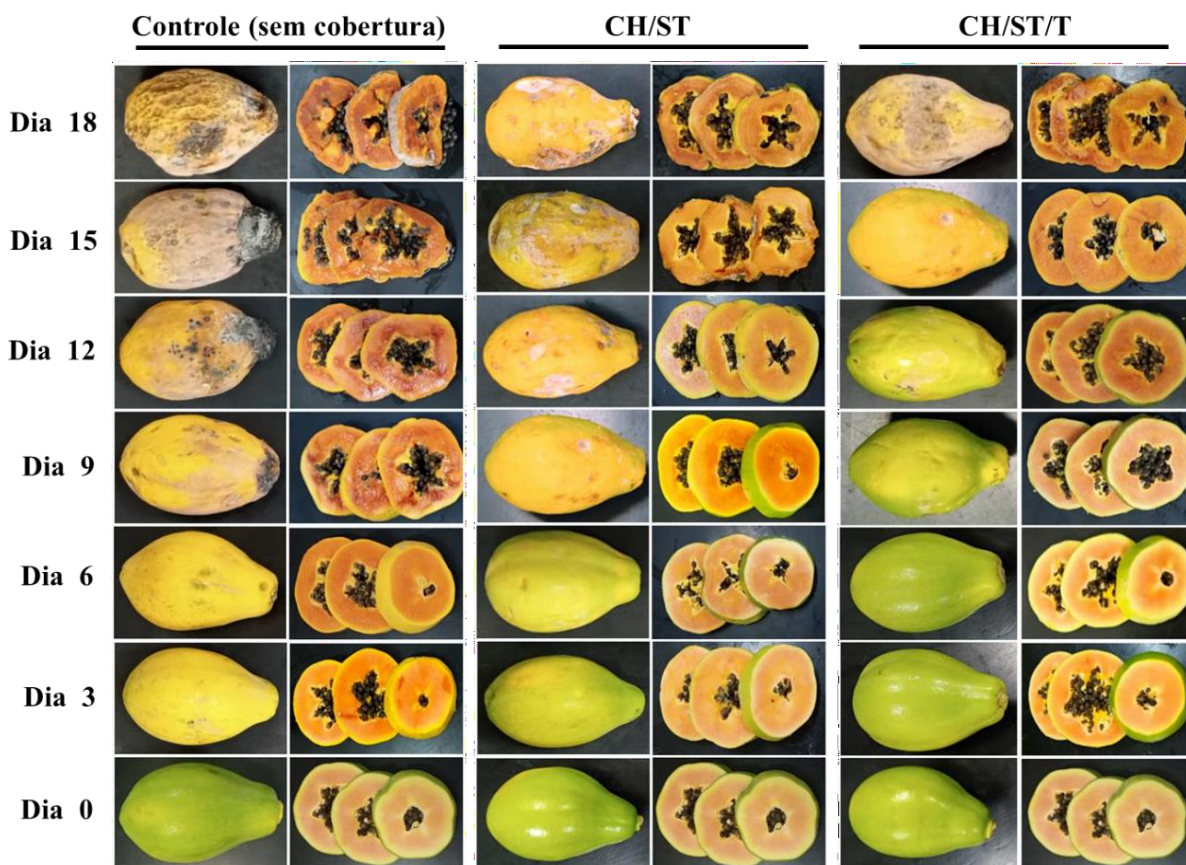
tempo de armazenamento, sendo que essa redução ocorreu em um período de tempo menor nos frutos sem cobertura (controle), seguido pelos frutos revestidos com CH/ST e CH/ST/T, respectivamente (Figura 7ab).



Os frutos revestidos com CH/ST/T apresentaram uma maior manutenção da clorofila *a* e *b* neste estudo. No terceiro dia, os frutos revestidos com CH/ST ( $0,246 \pm 0,02$  mg/100 ml) e CH/ST/T ( $0,340 \pm 0,01$  mg/100 ml) apresentaram valores de clorofila *a* superiores aos frutos controle ( $0,033 \pm 0,01$  mg/100 ml). Comportamento similar ao da clorofila *b*, cujos valores dos



frutos controles ( $0,008 \pm 0,001$  mg/100 ml) foram inferiores aos dos frutos revestidos com CH/ST ( $0,035 \pm 0,003$  mg/100 ml) e CH/ST/T ( $0,051 \pm 0,002$  mg/100 ml). Os frutos controle (sem cobertura) apresentaram redução expressiva nos teores de clorofila *a* e *b*, ao terceiro dia de armazenamento, o que não ocorreu com os frutos revestidos, evidenciando o efeito positivo dos revestimentos na manutenção da cor verde (Figura 8), com ênfase aos frutos revestidos com CH/ST/T, que mostraram, até o décimo segundo dia, uma cor verde. As coberturas atuaram como barreira, retardando o amadurecimento, sendo marcado pelo retardo na mudança de cor, de verde para amarelo, nos frutos revestidos. Ademais, filmes de CH/ST com  $\text{TiO}_2$  mostraram características funcionais eficientes na conservação de alimentos (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021). A Figura 8 pode-se notar os aspectos externos e internos dos frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes coberturas durante o armazenamento.



**Figura 8.** Ilustração da cor da casca do mamão Havaí, aspecto externo e aspecto interno, acondicionado com diferentes coberturas a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR por 18 dias.

Os teores de licopeno e  $\beta$ -caroteno, para todos os tratamentos, aumentaram com o tempo de armazenamento, sendo menores nos frutos com coberturas CH/ST/T e CH/ST, respectivamente. No terceiro dia de armazenamento, os valores de licopeno dos frutos

revestidos com CH/ST/T ( $0,008 \pm 0,001$  mg/100ml) foram menores que nos frutos controle ( $0,016 \pm 0,002$  mg/100ml) e estatisticamente iguais aos dos frutos revestidos com CH/ST ( $0,010 \pm 0,001$  mg/100ml). A partir do décimo quinto dia, os frutos revestidos com CH/ST/T apresentaram os menores valores de licopeno até o final do armazenamento. Ao terceiro dia, os teores de beta-caroteno dos frutos com cobertura (CH/ST, CH/ST/T) ( $0,133 \pm 0,003$  mg/100ml) foram menores que os do fruto controle ( $0,168 \pm 0,003$  mg/100ml). A partir do nono dia, os frutos revestidos com CH/ST/T apresentaram os menores valores de betacaroteno até o final do armazenamento. Comportamento oposto aos teores de clorofilas, como esperado, já que durante o amadurecimento do mamão ocorre síntese de carotenoides e degradação da clorofila, com a mudança visual de verde para amarelo e vermelho-alaranjado na senescência (Figura 8). Resultados condizentes com o trabalho de Mendy *et al.* (2019), mostram um aumento dos teores de carotenoides com o amadurecimento do mamão. Os carotenoides são parâmetros importantes à medida em que conferem cores atrativas como amarelo, laranja e vermelho (DA SILVA *et al.*, 2014).

#### **Teores de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação SS/AT e pH**

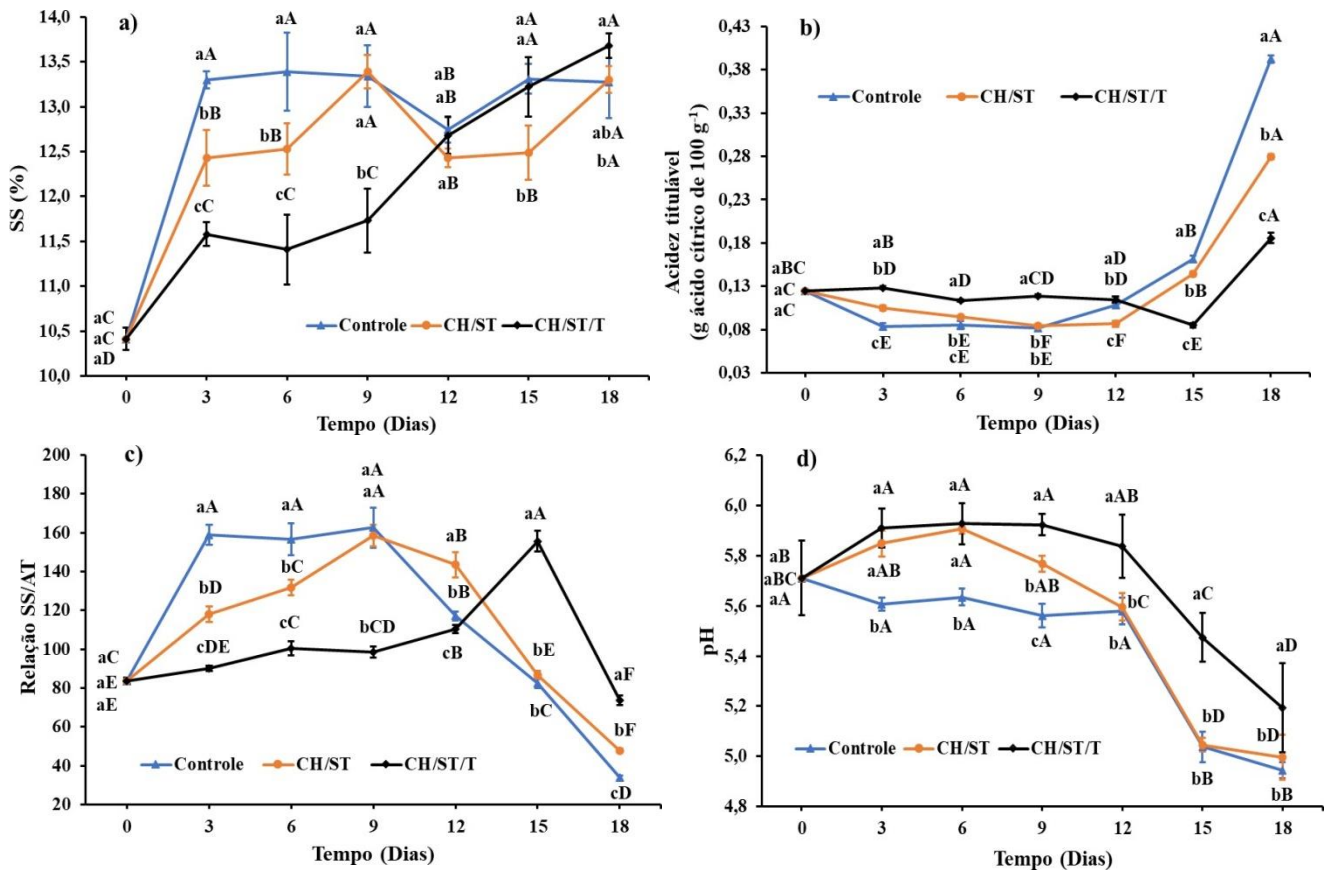
O teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação SS/AT e pH dos frutos de mamão Havaí foram influenciados pela interação entre os tratamentos (coberturas) e o tempo de armazenamento (Figura 9). Ao terceiro dia de armazenamento, o teor de sólidos solúveis foi menor nos frutos com coberturas de CH/ST/T ( $11,58 \pm 0,13$  %) e CH/ST ( $12,43 \pm 0,31$  %) em comparação ao controle ( $13,30 \pm 0,09$  %) (Figura 9a). Os frutos revestidos com CH/ST mostraram maiores valores de sólidos solúveis ( $13,39 \pm 0,19$  %) ao nono dia de armazenamento, e os revestidos com CH/ST/T a partir do décimo quinto dia ( $13,22 \pm 0,33$  %). As coberturas atuaram como barreira ao redor do fruto, o que proporcionou redução na taxa de respiração (Figura 2), com ênfase nos frutos revestidos com TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T), retardando o processo de amadurecimento, o que resultou em menor taxa de incremento de sólidos solúveis devido à hidrólise mais lenta de carboidratos em açúcares (ALI *et al.*, 2011). Resultados semelhantes foram relatados em outros trabalhos (PARVEN *et al.*, 2020; VIEIRA *et al.*, 2020).

Os frutos revestidos com TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T) sugerem menor amadurecimento decorrente da fotodegradação de etileno com formação de ROS na presença de luz visível (ZHANG *et al.*, 2017), mostrando taxa mais lenta das alterações físico-químicas.

Ocorreu uma redução inicial da AT com posterior aumento no final do armazenamento para todos os tratamentos (Figura 9b). A AT no primeiro dia foi  $0,124 \pm 0,001$  g de ácido cítrico



de  $100 \text{ g}^{-1}$  e pôde-se evidenciar que as coberturas mostraram uma manutenção da AT no tempo de armazenamento. Os frutos com cobertura de CH/ST/T apresentaram um valor mínimo AT ( $0,085 \pm 0,002 \text{ g}$  de ácido cítrico de  $100 \text{ g}^{-1}$ ) somente ao décimo quinto dia. Os frutos com cobertura de CH/ST apresentaram valores mínimos ao nono e décimo segundo dia ( $0,085 \pm 0,002$  e  $0,087 \pm 0,004 \text{ g}$  de ácido cítrico de  $100 \text{ g}^{-1}$ , respectivamente), e os frutos do controle mostraram uma redução significativa logo ao terceiro dia ( $0,084 \pm 0,003 \text{ g}$  de ácido cítrico de  $100 \text{ g}^{-1}$ ).



**Figura 9.** Teor de sólidos solúveis (SS) (a), acidez titulável (TA) (b), relação SS/AT (c) e pH (d) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os ácidos orgânicos, como málico e cítrico, que influenciam a acidez dos frutos, podem ser usados como substrato no processo respiratório dos frutos. Todavia, sob atmosfera modificada, ocorre um atraso no processo normal de amadurecimento dos mamões, visto que há manutenção por maior tempo da AT pelas coberturas (Figura 9b). Por outro lado, ocorre um incremento na acidez titulável dos frutos durante o processo de senescência (ZILLO *et al.*, 2018). Comportamento semelhante foi observado por Mendy *et al.* (2019) e Ali *et al.* (2011), em frutos de mamão.

Os frutos com coberturas mostraram maiores valores de pH, o que sugere amadurecimento mais lento, pois as coberturas reduziram a taxa de respiração (Figura 2), conseqüentemente há um menor teor de ácidos orgânicos usados como substrato no processo respiratório dos frutos, o que corrobora com os valores de AT encontrados (Figura 9b). Ao terceiro dia, os valores de pH foram  $5,91 \pm 0,08$ ,  $5,85 \pm 0,05$  e  $5,61 \pm 0,03$  para os frutos com cobertura de CH/ST/T, CH/ST e controle, respectivamente (Figura 9d). A cobertura de CH/ST/T favoreceu maior manutenção dos valores pH, apresentando os maiores valores a partir do nono dia de armazenamento, o que pode ser atribuído a uma maior redução da taxa de respiração (Figura 2) e/ou fotodegradação do etileno (KAEWKLIN *et al.*, 2018), visto a cobertura conter  $\text{TiO}_2$  e a luz fluorescente apresentar potencial de emissão de luz UV ((DEHGHANI; BAZARGANI; MIRDORAGHI, 2019; NUZUM-KEIM *et al.*, 2009). Maiores valores de pH e retardo no amadurecimento, também, foram evidenciados em frutos de mamão com revestimento à base de *A. vera* (MENDY *et al.*, 2019).

Verificou-se aumento na relação SS/AT para todos os tratamentos com redução ao final do armazenamento (Figura 9c). Isso devido ao decréscimo da acidez titulável e seu posterior aumento ao final do armazenamento, juntamente com o aumento do SS com amadurecimento e senescência dos frutos. Os frutos sem cobertura (controle) apresentaram maior aumento na relação SS/AT, ao terceiro dia ( $158,86 \pm 5,206$ ), seguido pelos revestidos com CH/ST, ao nono dia ( $158,44 \pm 5,636$ ), e com os revestidos com CH/ST/T, ao décimo quinto dia ( $155,45 \pm 5,328$ ). O valor do *ratio* é uma forma de avaliarmos o sabor das frutas, sendo importante no índice de maturação; quanto maior a relação SS/AT maior é o grau de doçura. Essa doçura é parcialmente condicionada por um equilíbrio entre o conteúdo de açúcares e outras substâncias, incluindo ácidos orgânicos (KELEBEK *et al.*, 2015).

Esse resultado foi condizente com os parâmetros apresentados anteriormente, que sugerem uma taxa maior de maturação nos frutos sem cobertura e que as coberturas favorecem a manutenção da vida de prateleira dos frutos, retardando seu metabolismo, atribuído à respiração mais lenta (Figura 2) e à redução provável na produção de etileno, fazendo com que

o *ratio* não mude tão rapidamente quanto nos frutos do controle. O mesmo comportamento foram detectados por Zillo *et al.* (2018) e Ali *et al.* (2016). A redução do *ratio*, ao final do período de armazenamento, compromete a palatabilidade dos frutos, decorrente do aumento da AT no processo de senescência.

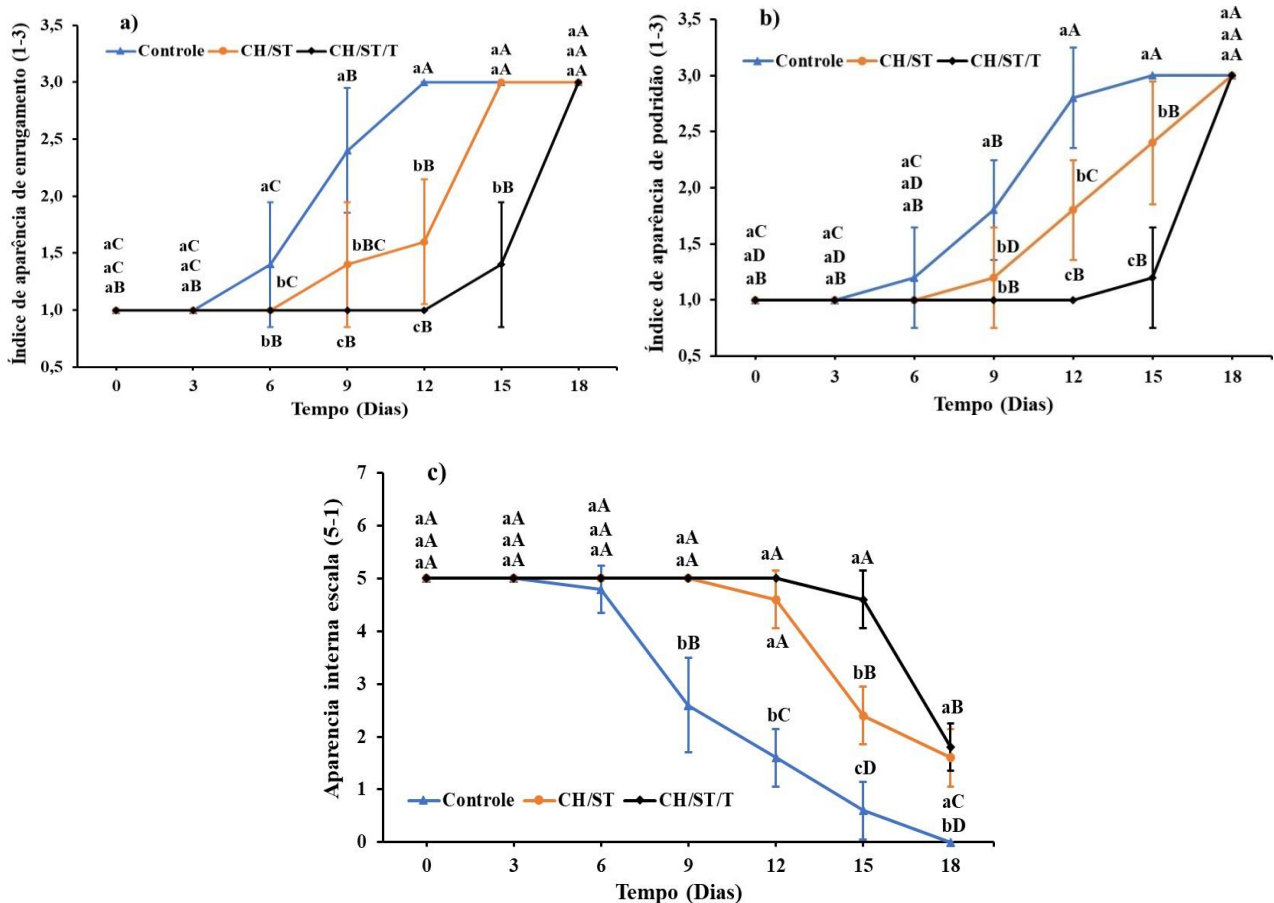
### **Índice de aparência externa de podridão, enrugamento e aparência interna**

O índice de aparência de podridão, de enrugamento e aparência interna dos frutos de mamão Havaí foram influenciados pela interação entre os tratamentos (coberturas) e o tempo de armazenamento (Figura 10). As coberturas foram efetivas na redução do índice de aparência de enrugamento e de podridão ao longo do armazenamento. Os frutos com a cobertura de CH/ST/T mostraram menores índices de enrugamentos até o décimo quinto dia. Nesse período, os índices de enrugamento foram  $1,40 \pm 0,55$ ,  $3,00 \pm 0,00$  e  $3,00 \pm 0,00$  para os frutos com cobertura de CH/ST/T, CH/ST e controle, respectivamente (Figura 10a). As coberturas também foram efetivas na redução da podridão dos frutos, com ênfase para a cobertura CH/ST/T que apresentou ao décimo quinto dia menores valores ( $1,20 \pm 0,45$ ) em relação à cobertura CH/ST ( $2,40 \pm 0,55$ ) e ao controle ( $3,00 \pm 0,00$ ) nesse período (Figura 10b). Os frutos controle foram os primeiros a mostrar aumento nos teores de SS durante o amadurecimento da fruta (Figura 9a), esse maior processo de amadurecimento pode ter favorecido o desenvolvimento de fungos e conseqüente podridão (ZILLO *et al.*, 2018).

Os parâmetros estudados até aqui evidenciaram que os frutos sem revestimento amadureceram primeiro, seguidos pelos revestidos com CH/ST e CH/ST/T, respectivamente. Conseqüentemente, nessa ordem, ocorreram a fase climatérica e a senescência dos frutos. Com o início da senescência, os frutos são mais suscetíveis à invasão fúngica, que leva à degradação dos frutos por morte celular (PARVEN *et al.*, 2020) (Figura 8). O potencial de biofilmes de quitosana/fécula de mandioca e TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T) na fabricação e na aplicação de embalagens sustentáveis foi enfatizado na literatura (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021). Além disso, a quitosana apresenta alta atividade antifúngica (VANDEN BRABER *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2017).

Verificou-se que os revestimentos CH/ST e CH/ST/T foram efetivos para manter a aparência interna dos frutos (Figura 10c). No nono dia de armazenamento, os frutos sem revestimento obtiveram nota de aparência interna de  $2,60 \pm 0,89$ , nota inferior a três, não sendo aceitável para comercialização. Nesse período, os frutos revestidos com CH/ST e CH/ST/T obtiveram nota  $5,00 \pm 0,00$ . Os frutos revestidos com CH/ST obtiveram nota inferior a três

( $2,40 \pm 0,55$ ) a partir do décimo quinto dia e os com revestimento CH/ST/T, ao décimo oitavo dia (Figura 10c). Os resultados evidenciaram que o revestimento de CH/ST/T foi mais efetivo em retardar o metabolismo dos frutos, prolongando a vida útil de prateleira do mamão por maior tempo.



**Figura 10.** Índice de aparência externa de enrugamento (a), índice de aparência externa de podridão (b) e aparência interna (c) de frutos de mamão Havaí acondicionados com diferentes revestimentos em função do período de armazenamento a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR. Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Ao longo do tempo de armazenamento, houve declínio nas notas de aparência interna em todos os tratamentos avaliados. Porém, as coberturas com  $\text{TiO}_2$  foram mais efetivas para

manter a aparência interna por maior período de tempo. Os resultados revelaram que o índice de enrugamento, podridão e aparências interna dos frutos foram dependentes dos tratamentos, que, por sua vez, influenciam a maturação e senescência dos frutos (Figura 8).

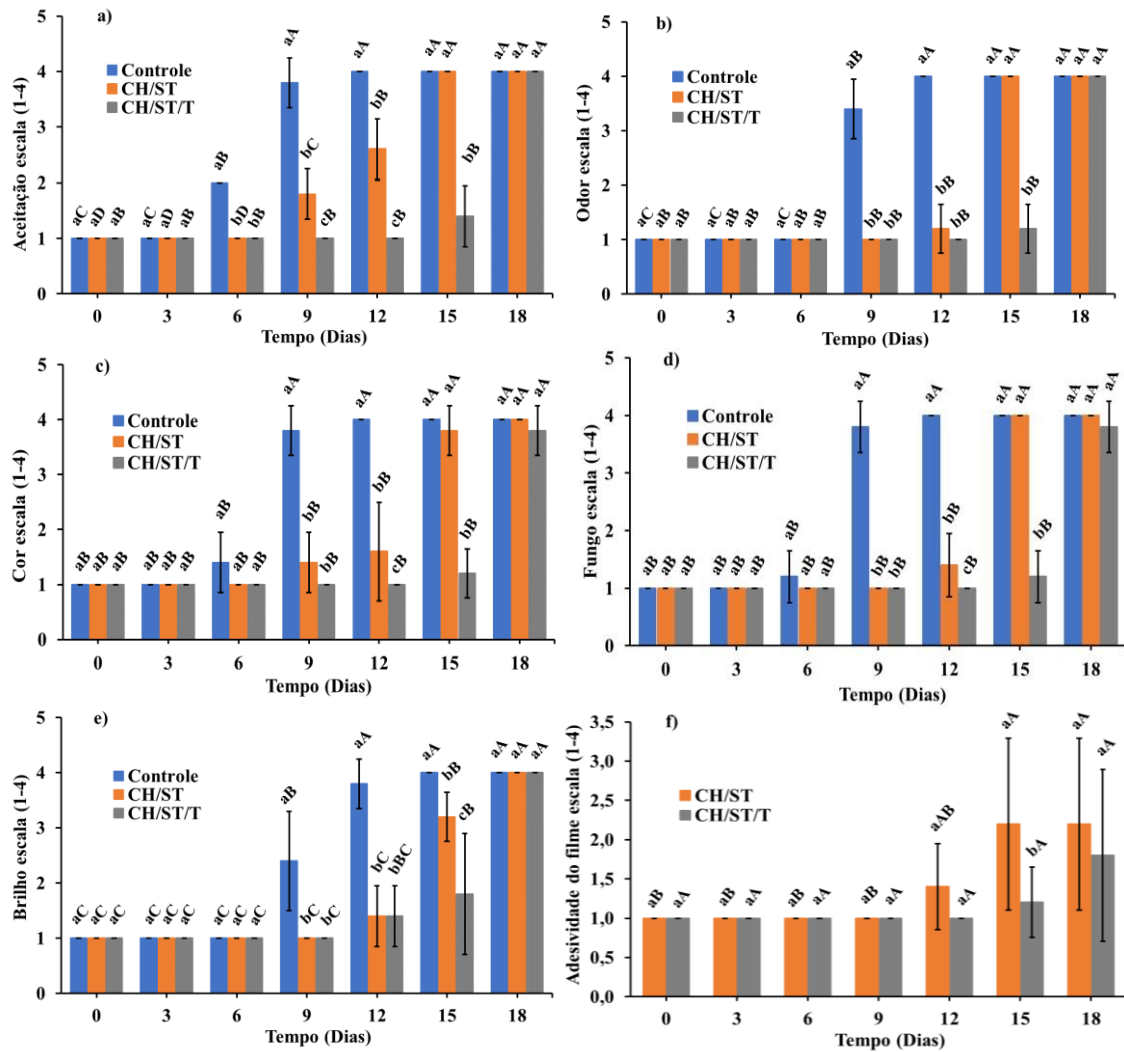
A eficiência da cobertura com  $\text{TiO}_2$  na redução do índice de podridão e de enrugamento, e na preservação da aparência interna dos frutos, foi devido à característica específica da formulação do revestimento, que retardou a taxa respiratória (Figura 2), evitou a perda de massa (Figura 3) e pode ter atuado na atividade antimicrobiana com a formação dos (ROS) na presença da luz visível como observado por Zhang *et al.* (2017).

Pelas alterações físico-químicas, observou-se que os frutos sem revestimento atingiram o estágio máximo de maturação ao sexto dia; os frutos revestidos com CH/ST, ao nono dia e, os frutos revestidos com CH/ST/T, ao décimo quinto dia. Os frutos controle (sem cobertura) chegaram à senescência primeiro. Mendy *et al.* (2019) evidenciaram que frutos de mamão do controle (sem cobertura) se deterioram primeiro e Xing *et al.* (2020), utilizando revestimento com quitosana/ $\text{TiO}_2$  em manga, mostraram que o revestimento favoreceu a redução da incidência de apodrecimento durante o armazenamento.

### **Análise sensorial**

A Figura 11 (a) representa a escala de aceitabilidade dos frutos conforme o tratamento: sem cobertura, com cobertura de CH/ST e CH/ST/T. É possível verificar que as coberturas foram efetivas para a maior aceitabilidade dos frutos. Ao longo do tempo de armazenamento em todos os tratamentos, ocorreu uma redução da aceitabilidade, primeiro nos frutos sem cobertura (controle), seguido pelos frutos com cobertura sem  $\text{TiO}_2$  (CH/ST) e com  $\text{TiO}_2$  (CH/ST/T), respectivamente. A cobertura de CH/ST/T foi a mais efetiva na aceitabilidade dos frutos, tornando-se inaceitável somente no último dia de armazenamento (décimo oitavo dia). Enquanto, a cobertura de CH/ST, tornou inaceitável os frutos ao décimo quinto dia e os frutos controle (sem cobertura) apresentaram inaceitáveis ao nono dia de armazenamento.

A Figura 11 (b) representa o odor sobre os grupos de mamão sem cobertura, revestido com CH/ST e CH/ST/T. As coberturas promoveram maior manutenção do odor dos frutos. Os frutos com cobertura de CH/ST/T promoveram melhor odor por um período de tempo maior, os frutos com essa cobertura mostraram odor excelente até o décimo quinto dia, os frutos com cobertura de CH/ST, até o décimo segundo dia e o controle, até o nono dia. Ao longo do tempo de armazenamento para todos os tratamentos, o odor foi ficando desagradável. Os frutos do controle (sem cobertura) foram os primeiros a apresentar odor desagradável grave.



**Figura 11.** Análise sensorial de mamões Havaí armazenados a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80\% \pm 1\%$  UR, utilizando escala hedônica, (a) aceitação: 1 = Excelente (fresco) a 4 = Inaceitável (velho e / ou mofado, desidratação grave), (b) odor: 1 = Excelente (sem odor desagradável) a 4 = Inaceitável (odor desagradável moderado ou grave), (c) cor: 1 = Excelente (uniformes, brilhantes) a 4 = Inaceitável (perda do brilho, manchas muito intensas, desagradável), (d) fungo: 1 = Excelente (não fungo) a 4 = Inaceitável (fungo severo afetando mais de 50% da fruta), (e) brilho: 1 = Excelente (brilhante) a 4 = Inaceitável (embaçado) e (f) adesividade do filme: 1 = Excelente (sem descamação) a 4 = Inaceitável (com descamação intensa afetando mais de 50% da fruta). Cada ponto de dados representa a média  $\pm$  desvio padrão. Barras verticais representam o desvio padrão das médias de cinco repetições. Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).  $n=5$ .

Essa diferenciação entre os grupos de tratamento se deve à atuação das coberturas, que retardaram o amadurecimento, devido à menor taxa respiratória (Figura 2), apresentando menor perda de massa (Figura 3), menor ataque de patógenos e menor período de senescência, com ênfase na cobertura CH/ST/T.

As coberturas foram efetivas na manutenção da cor (Figura 11c), com ênfase a cobertura com  $\text{TiO}_2$  (CH/ST/T), que apresentou, até o décimo quinto dia, cor uniforme e brilhante, seguido pelos frutos com cobertura de CH/ST (décimo segundo dia). A partir do nono dia de armazenamento, os frutos sem cobertura (controle) apresentaram perda do brilho e manchas acentuadas, o que justifica a sua baixa aceitabilidade nesse período (Figura 11a), pois a cor é um parâmetro importante para aceitabilidade dos frutos. Os frutos controle foram os primeiros a se tornarem inaceitáveis, devido à perda de brilho e ao aparecimento de manchas muito intensas, evidenciando a senescência dos frutos.

As coberturas apresentaram efeito positivo no controle de fungo (Figura 11d). Os frutos com cobertura de CH/ST/T não apresentaram fungo até o décimo quinto dia, também foi evidenciado aumento do tempo viável de armazenamento da fruta com essa cobertura. Os frutos com cobertura de CH/ST não apresentaram fungo até o décimo segundo dia e os do controle, até o sexto dia. Ao longo do tempo de armazenamento para todos os tratamentos, ocorreu um aumento na presença de fungo, sendo primeiro nos frutos sem cobertura (controle), cuja incidência, afetou mais de 50% da fruta ao nono dia de armazenamento.

As coberturas foram eficazes na manutenção do brilho dos frutos, mostrando maior brilho em relação aos frutos sem cobertura (controle) até o décimo quinto dia de armazenamento (Figura 11e). Os frutos revestidos com CH/ST/T apresentaram-se mais brilhantes que os revestidos com CH/ST, ao décimo quinto dia. Não obstante, ao longo do tempo de armazenamento, para todos os tratamentos, ocorreu redução do brilho. Essa redução decorreu de uma maior senescência dos frutos, em que se observou, também, maiores índices de podridão, enrugamento, odores desagradáveis e incidência severa de fungos. As coberturas foram eficazes na manutenção da qualidade sensorial e nas propriedades físico-químicas dos mamões por maior período de tempo.

Uma boa adesividade do filme ao fruto é importante, pois um fruto sem descamação do filme é mais aceitável, além de uma maior manutenção das qualidades, por atuar mais tempo no fruto. As coberturas apresentaram uma boa adesividade, nenhum revestimento apresentou descamação intensa com aumento do tempo de armazenamento (Figura 11f). Ao décimo quinto dia, os frutos revestidos com CH/ST mostraram maior descamação que os revestidos com CH/ST/T. Filmes com  $\text{TiO}_2$  (CH/ST/T) são mais hidrofóbicos, apresentam maior resistência à

tração e alongamento (GOMES DE MENEZES *et al.*, 2021), o que pode favorecer menor descamação. A aplicação de coberturas de fécula de mandioca e óleo essencial de cravo mostraram resultado diferente quanto à aceitabilidade, em que as coberturas comestíveis afetaram a aparência dos frutos, reduzindo sua aceitabilidade (DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA *et al.*, 2020). No entanto, a cor e o aroma da polpa foram consideravelmente realçados como evidenciado neste estudo.

#### 4. CONCLUSÃO

O presente estudo indicou que as coberturas à base de quitosana/fécula de mandioca e nanopartículas de TiO<sub>2</sub> podem atuar como bioconservante de mamão Havaí. As coberturas formaram um bioplástico e atuaram como barreira física, reduziram a taxa respiratória e a perda de massa, retardaram os eventos que conduzem à senescência, diminuíram a degradação da clorofila e síntese de carotenoides, bem como evidenciaram maior manutenção da firmeza de polpa, sólidos solúveis, acidez, *ratio* (SS/AT), pH, cor da casca e da polpa, menor índice de podridão, de enrugamento e melhor aparência interna, proporcionando frutos mais atrativos sensorialmente para a comercialização. As coberturas apresentaram boa adesividade na casca do fruto, menor incidência de fungo e melhor odor, cor, brilho e aceitação. O tratamento com a cobertura com TiO<sub>2</sub> (CH/ST/T) obteve maior êxito no aumento da vida útil de prateleira do mamão, em até seis e nove dias, em comparação aos frutos com cobertura sem TiO<sub>2</sub> (CH/ST) e aos do controle, respectivamente.



## REFERÊNCIAS

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**, v. 53, n. 3, p.1 435–1444, 2016.

ALI, A.; MUHAMMAD, M. T. M.; SIJAM, K.; SIDDIQUI, Y. Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. **Food Chemistry**, v. 124, n. 2, p. 620–626, 2011.

BALTI, R.; MANSOUR, M. Ben; SAYARI, N.; YACOUBI, L.; RABAOUI, L.; BRODU, N.; MASSÉ, A. Development and characterization of bioactive edible films from spider crab (*Maja crispata*) chitosan incorporated with *Spirulina* extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1464–1472, 2017.

BARRAGÁN-IGLESIAS, J.; MÉNDEZ-LAGUNAS, L. L.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J. Ripeness indexes and physicochemical changes of papaya (*Carica papaya* L. cv. Maradol) during ripening on-tree. **Scientia Horticulturae**, v. 236, p. 272–278, 2018.

BASULTO, F. S.; DUCH, E. S.; GIL, F. E; PLAZA, R. D.; SAAVEDRA, A. L.; SANTAMARÍA, J. M. Postharvest ripening and maturity indices for maradol papaya. **Interciencia**, v. 34, n. 8, p. 583–588, 2009.

CASTRICINI, A.; CELI, R.; CONEGLIAN, C.; VASCONCELLOS, S. Qualidade e amadurecimento de mamões ‘golden’ revestidos por película de fécula de mandioca. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 1, p. 32–36, 2010.

CAZÓN, P.; MANUEL VÁZQUEZ, . Mechanical and barrier properties of chitosan combined with other components as food packaging film. **Environmental Chemistry Letters**, v. 18, p. 257–267, 2020.

DA SILVA, M. R.; GALLI, V.; SILVA, S. D. A.; ROMBALDI C. V. Carotenoid biosynthetic and catabolic pathways: Gene expression and carotenoid content in grains of maize landraces. **Nutrition**, v. 6, p. 546–563, 2014.

DE VASCONCELLOS SANTOS BATISTA, D.; REIS, R. C.; ALMEIDA, J. M.; REZENDE, B.; BRAGANÇA, C. A. D.; DA SILVA, F. Edible coatings in post-harvest papaya: impact on physical–chemical and sensory characteristics. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 274–281, 2020.

DEHGHANI, M. H.; BAZARGANI, A.; MIRDORAGHI, M. Assessment of UV radiation emitted by linear fluorescent lamps in Iran. **MethodsX**, v. 6, p. 477–481, 2019.

DOS PASSOS BRAGA, S.; MAGNANI, M.; MADRUGA, M. S.; DE SOUZA GALVÃO, M.; DE MEDEIROS, L. L.; BATISTA, A. U. D.; DIAS, R. T. A.; FERNANDES, L. R.; DE MEDEIROS, E. S.; DE SOUZA, E. L. Characterization of edible coatings formulated with chitosan and Mentha essential oils and their use to preserve papaya (*Carica papaya* L.). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 65, p. 102472, 2020.

FABI, J. P.; CORDENUNSI, B. R.; DE MATTOS BARRETO, G. P.; MERCADANTE, A. Z.; LAJOLO, F. M.; OLIVEIRA DO NASCIMENTO, J. R. Papaya fruit ripening: response to ethylene and 1-methylcyclopropene (1-MCP). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 15, p. 6118-6123, 2007.

GHAI, K.; GUPTA, P. K.; GUPTA, A. K. Physiochemical behaviour changes during ripening in fruits of *Trewia nudiflora* Linn. **Perspectives in Science**, v. 8, p. 596–598, 2016.

GOMES DE MENEZES, F. L.; DE LIMA LEITE, R. H.; GOMES DOS SANTOS, F. K.; ARIA, A. I.; AROUCHA, E. M. M. TiO<sub>2</sub>-enhanced chitosan/cassava starch biofilms for sustainable food packaging. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 630, p. 127661, 2021.

GOPI, S.; AMALRAJ, A.; JUDE, S.; THOMAS, S.; GUO, Q. Bionanocomposite films based on potato, tapioca starch and chitosan reinforced with cellulose nanofiber isolated from turmeric spent. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, vol. 96, p. 664–671, 2019.

ISERMEYER, H. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. **Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde**, v. 56, n.

1-3, p. 26–38, 1952.

JOHN, A.; YANG, J.; LIU, J.; JIANG, Y.; YANG, B. The structure changes of water-soluble polysaccharides in papaya during ripening. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, p. 152–156, 2018.

KAEWKLIN, P.; SIRIPATRAWAN, U.; SUWANAGUL, A.; LEE, Y. S. Active packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, p. 523–529, 2018.

KELEBEK, H.; SELLI, S.; GUBBUK, H.; GUNES, E. Comparative evaluation of volatiles, phenolics, sugars, organic acids and antioxidant properties of Sel-42 and Tainung papaya varieties. **Food Chemistry**, v. 173, p. 912–919, 2015.

LIMA, M. A. C. de; ALVES, R. E.; BISCEGLI, C. I.; FILGUEIRAS, H. A. C. Qualidade pós-colheita de melão Galia submetido à modificação da atmosfera e ao 1-metilciclopropeno. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 793–798, 2005.

MANEERAT; Y. HAYATA. Gas-Phase Photocatalytic Oxidation of Ethylene with TiO<sub>2</sub>-Coated Packaging Film for Horticultural Products. **Transactions of the ASABE**, v. 51, n. 1, p. 163–168, 2008.

MENDY, T. K.; MISRAN, A.; MAHMUD, T. M. M.; ISMAIL, S. I. Application of Aloe vera coating delays ripening and extend the shelf life of papaya fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 246, p. 769–776, 2019.

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Journal of The Japanese Society for Food Science and Technology-nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, v. 39, n. 10, p. 925–928, 1992.

NUZUM-KEIM, A. D.; SONTHEIMER, R. D. Ultraviolet light output of compact fluorescent lamps: comparison to conventional incandescent and halogen residential lighting sources. **Lupus**, v. 18, n. 6, p. 556–60, 2009.

OLIVEIRA, V. R. L.; SANTOS, F. K. G.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; SILVA, K. N. O. Use of biopolymeric coating hydrophobized with beeswax in post-harvest conservation of guavas. **Food Chemistry**, v. 259, p. 55–64, 2018.

PAIVA, C. A.; VILVERT, J. C.; MENEZES, F. L. G.; LEITE, R. H. de L.; SANTOS, F. K. G.; MEDEIROS, J. F.; AROUCHA, E. M. M. Extended shelf life of melons using chitosan and graphene oxide-based biodegradable bags. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 11, p. 1–12, 2020.

PARVEN, A.; SARKER, M. R.; MEGHARAJ, M.; MD. MEFTAUL, I. Prolonging the shelf life of Papaya (*Carica papaya* L.) using Aloe vera gel at ambient temperature. **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109228, 2020.

SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 89–94, 2015.

SANTOS, N. L.; BRAGA, R. C.; BASTOS, M. S. R.; CUNHA, P. L. R.; MENDES, F. R. S.; GALVÃO, A. M. M. T.; BEZERRA, G. S.; PASSOS, A. A. C. Preparation and characterization of Xyloglucan films extracted from *Tamarindus indica* seeds for packaging cut-up 'Sunrise Solo' papaya. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 1163–1175, 2019.

SIRIPATRAWAN, U.; KAEWKLIN, P. Fabrication and characterization of chitosan-titanium dioxide nanocomposite film as ethylene scavenging and antimicrobial active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 125–134, 2018.

VANDEN BRABER, N. L.; DI GIORGIO, L.; AMINAHUEL, C. A.; DÍAZ VERGARA, L. I.; MARTIN COSTA, A. O.; MONTENEGRO, M. A.; MAURI, A. N. Antifungal whey protein films activated with low quantities of water soluble chitosan. **Food Hydrocolloids**, v. 110, p. 106156, 2021.

VIEIRA, A. C. F.; DE MATOS FONSECA, J.; MENEZES, N. M. C.; MONTEIRO, A. R.; VALENCIA, G. A. Active coatings based on hydroxypropyl methylcellulose and silver

nanoparticles to extend the papaya (*Carica papaya* L.) shelf life. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 489–498, 2020.

XING, Y.; YANG, H.; GUO, X.; BI, X.; LIU, X.; XU, Q.; WANG, Q.; LI, W.; LI, X.; SHUI, Y.; CHEN, C.; ZHENG, Y. Effect of chitosan/Nano-TiO<sub>2</sub> composite coatings on the postharvest quality and physicochemical characteristics of mango fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 263, p. 109135, 2020.

ZHANG, X.; XIAO, G.; WANG, Y.; ZHAO, Y.; SU, H.; TAN, T. Preparation of chitosan-TiO<sub>2</sub> composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 169, p. 101–107, 2017.

ZHONG, Y.; GODWIN, P.; JIN, Y.; XIAO, H. Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 3, n. 1, p. 27–35, 2020.

ZILLO, R. R.; DA SILVA, P. P. M.; DE OLIVEIRA, J.; DA GLÓRIA, E. M.; SPOTO, M. H. F. Carboxymethylcellulose coating associated with essential oil can increase papaya shelf life. **Scientia Horticulturae**, v. 239, p. 70–77, 2018.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos resultados obtidos nesta pesquisa, a indústria alimentícia poderá definir novas estratégias para aprimorar e associar conhecimentos, desenvolver e/ou implementar, no mercado, embalagens ativas e ecológicas, visando a manutenção da qualidade e a conservação dos alimentos, reduzindo custos e impactos ambientais.

Neste trabalho evidenciou-se a obtenção de um bioplástico constituídos por quitosana/fécula de mandioca/TiO<sub>2</sub>, com propriedades relacionadas à água (permeabilidade, solubilidade e sorção de água), propriedades mecânicas (tensão, alongamento e módulo de Young) melhoradas e proteção UV, recursos valiosos para a preservação de alimentos. Ademais, esta pesquisa possibilitou oportunidade para avançar no entendimento fundamental das propriedades funcionais dos filmes bionanocompósitos com componentes fotoativos (TiO<sub>2</sub>), os quais produzem espécies reativas de oxigênio e radicais hidroxila que podem inativar microrganismos e esgotar etileno, em substituição a polímeros sintéticos existentes.

Os benefícios desta pesquisa para os produtores e consumidores de mamão vão ao encontro de uma tecnologia eficiente e ecologicamente correta para minimizar perda pós-colheita da fruta, uma vez que o mercado consumidor busca por alimentos de melhor qualidade, mais seguros e com maior vida útil, bem como, para exportação, existe uma demanda por embalagens mais sustentáveis.

Esses pré-requisitos de qualidade e de sustentabilidade foram alcançados neste estudo, em que coberturas nanobiopoliméricas de quitosana/fécula de mandioca/1% de TiO<sub>2</sub> em mamão Formosa, na presença de luz ultravioleta a  $15 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $90 \pm 1\%$  UR, proporcionaram menor perda de peso e atrasaram o amadurecimento dos frutos, apresentando qualidades externas e internas adequadas para comercialização quando armazenados por até 24 dias.

Em mamão Havaí, essa mesma cobertura (quitosana/fécula de mandioca/1% de TiO<sub>2</sub>), em condições de temperatura mais alta ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ), menor umidade relativa ( $80\% \pm 1\%$ ) e na presença de luz fluorescente, obteve êxito no aumento da conservação pós-colheita do mamão em até nove dias em comparação aos frutos do controle.

Ademais, este trabalho abre perspectivas para o desenvolvimento de embalagens ativas e ecológicas à base de diferentes biopolímeros com a incorporação de componentes fotoativos (TiO<sub>2</sub>) e para o estudo da viabilidade comercial de sua utilização na manutenção da qualidade e conservação dos alimentos.