

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

MARIANY CRUZ ALVES DA SILVA

MANGAS DO NORDESTE DO BRASIL COMO FONTES DE
FITOQUÍMICOS E DESENVOLVIMENTO DE RECOBRIMENTOS DE
AMIDO CONTENDO SOLVENTE NATURAL EUTÉTICO PROFUNDO
PARA MANTER A QUALIDADE E O POTENCIAL FUNCIONAL

JOÃO PESSOA – PB

2020

MARIANY CRUZ ALVES DA SILVA

MANGAS DO NORDESTE DO BRASIL COMO FONTES DE
FITOQUÍMICOS E DESENVOLVIMENTO DE RECOBRIMENTOS DE
AMIDO CONTENDO SOLVENTE NATURAL EUTÉTICO PROFUNDO
PARA MANTER A QUALIDADE E O POTENCIAL FUNCIONAL

JOÃO PESSOA – PB

2020

MARIANY CRUZ ALVES DA SILVA

MANGAS DO NORDESTE DO BRASIL COMO FONTES DE
FITOQUÍMICOS E DESENVOLVIMENTO DE RECOBRIMENTOS DE
AMIDO CONTENDO SOLVENTE NATURAL EUTÉTICO PROFUNDO
PARA MANTER A QUALIDADE E O POTENCIAL FUNCIONAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFPB, em cumprimento dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Silvanda de Melo Silva, PhD – PPGCTA/UFPB

JOÃO PESSOA – PB

2020

S586m Silva, Mariany Cruz Alves da.

Mangas do Nordeste do Brasil como fontes de fitoquímicos e desenvolvimento de recobrimentos de amido contendo solvente natural eutético profundo para manter a qualidade e o potencial funcional / Mariany Cruz Alves da Silva. - João Pessoa, 2020.

172 f. : il.

Orientação: Silvanda de Melo Silva.

Tese (Doutorado) - UFPB/CT.

1. Mangifera indica L. (manga). 2. Carotenoides. 3. Aminoácidos livres. 4. Peptídeos. 5. Natural Deep Eutetic Solvents. 6. Plastificante. I. Silva, Silvanda de Melo. II. Título.

UFPB/BC

CDU 634.441(043)

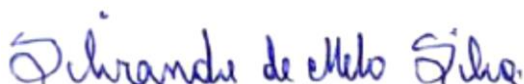
Elaborado por Larissa Silva Oliveira de Mesquita - CRB-15/746

MARIANY CRUZ ALVES DA SILVA

MANGAS DO NORDESTE DO BRASIL COMO FONTES DE FITOQUÍMICOS E
DESENVOLVIMENTO DE RECOBRIMENTOS DE AMIDO CONTENDO SOLVENTE
NATURAL EUTÉTICO PROFUNDO PARA MANTER A QUALIDADE E O POTENCIAL
FUNCIONAL

Tese Aprovada em 03/ 04/ 2020

BANCA EXAMINADORA

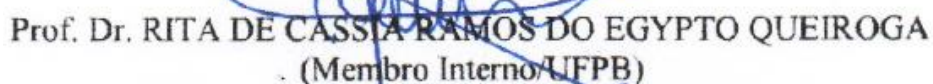


Profª Dra. Silvana de Melo Silva – PPGCTA/CT/UFPB

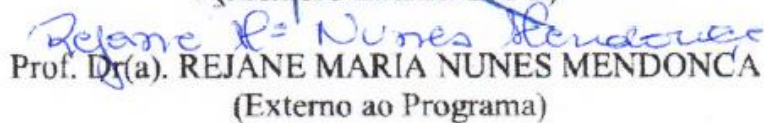
Coordenadora da Banca Examinadora



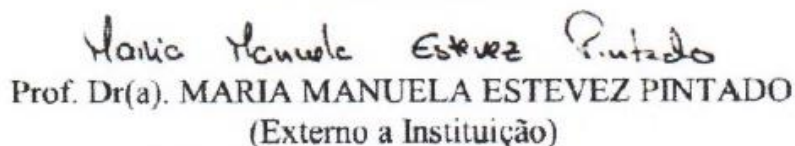
Prof. Dr(a). MARIA ELIEIDY GOMES DE OLIVEIRA
(Membro Interno/UFPB)



Prof. Dr. RITA DE CASSIA RAMOS DO EGYPTO QUEIROGA
(Membro Interno/UFPB)



Prof. Dr(a). REJANE MARIA NUNES MENDONÇA
(Externo ao Programa)



Prof. Dr(a). MARIA MANUELA ESTEVEZ PINTADO
(Externo a Instituição)

A Deus, pelo seu infinito amor

*Aos meus pais Maria José Cruz Silva e José Alves da Silva e
irmã Rafaela Cruz Alves da Silva, minhas motivações*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e proteção contínua.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão das bolsas de Doutorado e de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE – Proc. 88881.131644/2016-01).

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA da Universidade Federal da Paraíba, os coordenadores que o representaram durante a minha passagem pelo programa, Prof. Flavio e Prof.^a Taliana, bem como todos os docentes que o compõe e as secretárias Lindalva e Fernanda, sempre prestativas e gentis.

A Prof.^a, Silvanda de Melo Silva, pela orientação, paciência, atenção e exemplo profissional em mais esta etapa de minha formação. Muito obrigada.

A Prof.^a. Manuela Pintado (Universidade Católica Portuguesa - UCP, Porto, Portugal) pela supervisão durante o doutorado sanduíche, o qual foi repleto de aprendizados em muitos aspectos. Muito obrigada por todo o suporte e confiança.

Aos meus pais, José e Maria, e à minha irmã, Rafaela, pelo amor e apoio incondicionais e essenciais em mais um desafio. A quem eu devo tudo de melhor em mim. E os meus demais familiares que torceram e oraram por mim. Especialmente minha avó, Augusta, minha grande referência de simplicidade e amor.

A Darlan, pela paciência, carinho e companheirismo, mesmo à distância, ao nosso modo. Obrigada por não desistir de mim. Amo você.

Aos colegas do Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita, pela colaboração fundamental em minha pesquisa. Agradeço a parceria diária durante todos esses anos. Eduardo, Fernando, Augusto, Assis, George, Rosana, Cristiane, Bruna, Luana, Tatiana, Vanessa, Natália, Bruno, Wesley, Fabiano, Thiane, Lucélia e Jardel com mais tempo de convívio e também as de aproximação mais recente, Kagianne Pricila, e Paula. Agradeço o companheirismo, incentivo e inúmeros favores. Em especial, agradeço a Alex, Renato Pereira, Ricardo e Vandinha pela infinita paciência e amizade de todas as horas. Obrigada por todo suporte e por me fortalecerem nos meus momentos mais frágeis.

A sempre querida Dona Rozani, pelos cuidados, carinho e companhia para o cafezinho, tão especial. MUITÍSSIMO obrigada, jamais esquecerei.

Aos pós-doutorandos Ana e Renato Dantas pelo apoio crucial em muitas etapas de minha experiência no LBTPC, em especial na transição para o doutorado. Grandes amigos, sempre disponíveis, exemplos de integridade e trajetória de sucesso no LBTPC.

Ao apoio dos técnicos de laboratório Rosana Sousa e Saulo de Tarso sempre prestativos em suas funções, estimados companheiros de trabalho e de convivência.

A Embrapa Semiárido, na pessoa da Pesquisadora Maria Auxiliadora Lima, e ao Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal – LAPOA/CCA/UFPB pelos suportes para a liofilização das amostras e para as análises estruturais dos filmes, respectivamente. Obrigada pela solicitude de sempre.

A todos do Centro de Biotecnologia e Química Fina da Escola Superior de Biotecnologia – UCP, Porto que me auxiliaram nas análises durante o PDSE, Ana Amaro, Ana Oliveira, Tânia, Marta, Pedro, Manuela, Cristina, Anita e Raquel. Um agradecimento especial às brasileiras Glenise Voss e Roberta Melquiades, companheiras essenciais no dia-a-dia, não somente para as atividades de bancada, mas especialmente para além delas, MUITÍSSIMO obrigada!

Aos professores, Rita Queiroga, Maria Elieidy, Dayse Moreira, Rejane Mendonça e Renato Dantas pela disponibilidade em integrar as bancas de qualificação e de defesa e por todas as melhorias sugeridas neste trabalho. Obrigada.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e a conclusão deste desafio.

*“Já viste coisa mais bela
Do que uma bela mangueira,
E a doce fruta amarela,
Sorrindo entre as folhas dela,
E a leve copa altaneira?
Já viste coisa mais bela
Do que uma bela mangueira?”*

(Gonçalves Dias)

RESUMO

O Brasil é o sétimo maior produtor de manga do mundo, com destaque para produção da região Nordeste. Entretanto, ainda encontram-se diversas variedades subexploradas, que produzem frutos de alta qualidade e aceitação sensorial, dos quais conhecer o potencial funcional é importante para valorização, ampliação de mercado e desenvolvimento socioeconômico regional. Quanto ao mercado exportador da manga, apesar de ser consolidado busca-se alternativas para prolongar a vida útil deste fruto altamente perecível de forma sustentável e econômica, sendo a aplicação de recobrimentos biodegradáveis uma alternativa promissora. Neste cenário, tecnologias verdes, como formulações inovadoras de amido plastificados com Solvente Eutético Profundo Natural – NADES, em substituição ao glicerol, podem ser eficientes. Diante disso, avaliou-se o potencial funcional de mangas subexploradas no Nordeste, bem como, desenvolveu-se formulações de recobrimentos plastificados com NADES para aplicação em manga de exportação, acompanhando as mudanças na qualidade e nos compostos bioativos. Em um primeiro experimento, avaliaram-se os perfis de carotenoides, aminoácidos livres (FAA) e peptídeos de seis variedades de manga do Nordeste do Brasil ('Maranhão', 'Cunha', 'Espada', 'Jasmim', 'Extrema' e 'Rosa'), aqui chamadas regionais, em comparação com duas comerciais ('Alphonso' e 'Tommy Atkins'). 'Jasmim' e 'Rosa' apresentaram o maior conteúdo de carotenoides, tendo 'Rosa' os maiores conteúdos de β -caroteno e zeaxantina. 'Rosa' também apresentou o maior conteúdo das FAA entre as regionais. 'Cunha' apresentou a maior violaxantina, enquanto 'Tommy Atkins', a menor. 'Maranhão' foi a única com metionina e isoleucina. Foram observados perfis de peptídeos com mais picos nas regionais, destacando-se 'Rosa' e 'Extrema'. Os diferentes perfis permitiram discriminar facilmente as variedades evidenciando as mangas regionais como ricas em compostos bioativos, podendo representar marcadores de qualidade adequados para valor de autenticidade das variedades. 'Rosa', 'Jasmim' e 'Maranhão' foram discriminados como superiores em termos de aporte de fitoquímicos. O segundo experimento objetivou formular recobrimentos com NADES em substituição total ou parcial do glicerol, sendo desenvolvido previamente um NADES de cloreto de colina e ácido cítrico, para aplicação pós-colheita em mangas 'Palmer' do Vale do Submédio São Francisco. O NADES desenvolvido e o uso proposto gerou um depósito de patente. Avaliaram-se filmes, obtidos dos recobrimentos, quanto a propriedades estruturais e os efeitos de sua aplicação na qualidade físico-química e sensorial de mangas 'Palmer'. Observou-se influência do NADES na permeabilidade ao vapor d'água, espessura, alongamento, solubilidade e opacidade dos filmes e na diminuição da taxa respiratória, perda de massa, perda de firmeza e no avanço dos sólidos solúveis, assegurando melhor aceitação sensorial frente aos frutos não recobertos. No aspecto funcional, as formulações 0,72% NADES + 0,85% G; 1,78% NADES + 0,15% G; 1,25% de NADES + 0,5% de G e 1,25% de NADES, comparadas aos frutos controle – C, influenciaram nos teores de Ácido ascórbico - AsA, carotenoides - CT, fenólicos totais - FT, atividade antioxidante - AA, aminoácidos livres e perfil de peptídeos - FAA. Recobrimentos com 1,25% de NADES promoveram maior CT, AsA e AA além de melhorarem FAA importantes como isoleucina, leucina, valina, triptofano, tirosina e alanina. Entretanto, ainda são necessárias mais pesquisas para compreender os efeitos do recobrimento com NADES na síntese de carotenoides e metabolismo de aminoácidos.

Palavras-chave: *Mangifera indica* L. Carotenoides. Aminoácidos livres. Peptídeos. Natural Deep Eutetic Solvents. Plastificante.

ABSTRACT

Brazil is the seventh largest mango producer in the world, especially in the Northeast region. However, there are several under-explored varieties, that produce fruits with high quality and sensory acceptance, of which, is important to know the functional potential seeking at adding value, market expansion and regional socio economic development. Regarding the mango export market, although it is consolidated, alternatives are sought to extend the useful life of this highly perishable fruit in an economical manner, and in this way the application of biodegradable coatings can be a sustainable and promising alternative. In this scenario, green technologies, such as innovative starch formulations plasticized with Natural Deep Eutectic Solvent - NADES, in substitution to glycerol, can be efficient. In view of this, the functional potential of under-exploited mangoes in the Northeast was evaluated, as well as formulations of plasticized coatings with NADES for application in export mangoes were developed, following changes in quality and bioactive compounds. First experiment, analysed carotenoids, free amino acids (FAA) and peptides profiles of six mango varieties from Northeastern Brazil ('Maranhão', 'Cunha', 'Espada', 'Jasmim', 'Extrema' and 'Rosa'), here designated regional, compared to two commercials ('Alphonso' and 'Tommy Atkins'). 'Jasmine' and 'Rosa' had the highest carotenoid content, with 'Rosa' having the highest contents of β -carotene and zeaxanthin. 'Rosa' also showed the highest FAA content among regionals. 'Cunha' had the highest violaxanthin, while 'Tommy Atkins' the lowest. 'Maranhão' was the only one with methionine and isoleucine. Regionals presented more peaks in the peptide profiles, especially 'Rosa' and 'Extrema'. The different profiles made it possible to easily distinguish the varieties, showing the regional mangoes as rich in bioactive compounds, and may represent quality markers suitable for the varieties authenticity value. 'Rosa', 'Jasmim' and 'Maranhão' were classified as superior in terms of inputs of phytochemicals. The second experiment aimed to formulate coatings with NADES in total or partial replacement of glycerol, having previously developed a NADES of choline chloride and citric acid, for postharvest application in 'Palmer' mangoes from Vale do Submédio São Francisco. The developed NADES and the proposed use generated a patent filing. Films obtained from the coatings were evaluated for structural properties and the effects of their application on 'Palmer' mangoes quality physical-chemical and sensory. NADES influenced in water vapor permeability, thickness, elongation, solubility and opacity of the films and in the reduction of the respiratory rate, loss of mass, loss of firmness and in the advance of soluble solids, ensuring better sensory acceptance compared to uncoated fruits. As to functional aspect, the formulations 0.72% NADES + 0.85% G; 1.78% NADES + 0.15% G; 1.25% of NADES + 0.5% of G and 1.25% of NADES, compared to the control - C fruits, influenced the levels of ascorbic acid - AsA, carotenoids - CT, total phenolics - FT, antioxidant activity - AA, free amino acids and peptide profile - FAA. Coatings with 1.25% NADES promoted higher TC, AsA and AA in addition to improving important FAA such as isoleucine, leucine, valine, tryptophan, tyrosine and alanine. However, further research is still needed to understand the effects of NADES coating on carotenoid synthesis and amino acid metabolism.

Keywords: *Mangifera indica* L Carotenoids. Free amino acids. Peptides. Natural Deep Eutectic Solvents. Plasticizer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma do delineamento do Experimento 1.....	27
Figura 2	Fluxograma do delineamento do Experimento 2.....	28
ARTIGO 1		
Figure 1	Biplot (loadings and scores) of PC1 vs. PC2 and PC1 vs. PC3 corresponding to a full-data PCA model for regional mango varieties from Northeast Brazil in comparison with commercial cultivars.....	77
	TOC Graphic.....	88
ARTIGO 2		
Figura 1	Características dos filmes de amido de inhame em relação as concentrações dos plastificante NADES e glicerol adicionada. (A) espessura, (B) solubilidade, (C) opacidade aparente, (D) índice de brancura e (E) permeabilidade ao vapor de água.	100
Figura 2	Taxa respiratória (A), perda de massa (B) e firmeza (C) de mangas ‘Palmer’ recobertas por soluções filmogênicas de amido de inhame plastificadas com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico e glicerol durante 15 dias de armazenamento em condições ambientes ($24 \pm 2^\circ \text{C}$ e $75 \pm 4\% \text{RH}$).....	108
Figura 3	Parâmetros de cor de casca e polpa de mangas ‘Palmer’ recobertas por soluções filmogênicas de amido de inhame plastificadas com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico e glicerol durante 15 dias de armazenamento em condições ambientes ($24 \pm 2^\circ \text{C}$ e $75 \pm 4\% \text{RH}$).....	112
Figura 4	Sólidos solúveis - SS (A), acidez titulável - AT (B), relação SS/AT (C) e pH (D) de mangas ‘Palmer’ recobertas por soluções filmogênicas de amido de inhame plastificadas com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico e glicerol durante 15 dias de armazenamento em condições ambientes ($24 \pm 2^\circ \text{C}$ e $75 \pm 4\% \text{RH}$).....	115
Figura 5	Aspectos sensoriais de aparência: brilho (A), desidratação (B) e intenção de compra (C) de mangas ‘Palmer’ recobertas por soluções filmogênicas de amido de inhame plastificadas com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico e glicerol durante 15 dias de armazenamento em condições ambientes ($24 \pm 2^\circ \text{C}$ e $75 \pm 4\% \text{RH}$).....	118
ARTIGO 3		
Figure 1	Total carotenoid (A), β -carotene (B), Violaxanthin (C) and Zeaxanthin (D) contents of ‘Palmer’ mangoes under yam starch-based coatings incorporated with NADES during 15 days of storage at room conditions ($23 \pm 1^\circ \text{C}$ and $75 \pm 4\% \text{RH}$).....	139
Figure 2	Ascorbic acid content (A), Total phenolics content (B), Antioxidant activity by DPPH (C) and ABTS (D) assays of yam starch-based coated ‘Palmer’ mangoes incorporating NADES during 15 days of storage at room conditions ($23 \pm 1^\circ \text{C}$ and $75 \pm 4\% \text{RH}$).....	143
Figure 3	Free amino acids (mg/g FW) FAA contents in the extracts of ‘Palmer’ mangoes coated with yam starch-based coatings incorporating NADES at 0, 9 and 15 days of storage at room conditions ($24 \pm 2^\circ \text{C}$ and $75 \pm 4\% \text{RH}$).....	148
Figure 4	Biplot (loadings and scores) of PC1 vs. PC2 corresponding to a full-data PCA model for yam starch with NADES based coated and uncoated ‘Palmer’ mango....	157

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Soluções filmogênicas produzidas com diferentes combinações entre NADES e glicerol aplicados como plastificantes em matriz de amido de inhame.....	35
ARTIGO 1		
Table 1	Total carotenoid content mango pulp varieties extracts, expressed in β -carotene equivalents.....	60
Table 2	Carotenoid content in the mango pulp varieties extracts	62
Table 3	Free amino acids content (dry matter basis) in mango pulp varieties extracts	66
Table 4	Peak areas of chromatographic peaks obtained by size exclusion chromatography (at 280 nm) of mango varieties.....	72
Table 5	Eigenvectors of PC1, PC2 and PC3 corresponding to a full-data PCA model for regional mango varieties from Northeast Brazil in comparison with commercial cultivar.....	76
ARTIGO 2		
Tabela 1	Delineamento composto central rotacional – DCCR com variáveis decodificadas e codificados entre parêntesis.....	94
Tabela 2	Testes mecânicos para filmes de amido de inhame em relação as concentrações dos plastificante NADES e glicerol adicionada	104
Tabela 3	Parâmetros de cor* de filmes de amido de inhame em relação as concentrações dos plastificante NADES e glicerol adicionada	107
ARTIGO 3		
Table 1	Peak areas through in size exclusion chromatograph of yam starch-based coated ‘Palmer’ mangoes incorporating NADES, at 0 and 15 days of storage at room conditions (24 ± 2 °C and $75 \pm 4\%$ RH) by FPLC	154

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 MANGA.....	15
2.1.1. Aspectos de conservação pós-colheita	16
2.2 RECOBRIMENTOS BIODEGRADÁVEIS	18
2.2.1 Aplicações na pós-colheita de mangas.....	19
2.2.2 Fécula de inhame como matéria-prima promissora.....	19
2.3 LÍQUIDOS IÔNICOS.....	20
2.3.1 <i>Deep Eutectic Solvents - DES</i>	22
2.4 PLASTIFICANTES EM BIOPOLÍMEROS DE AMIDO	23
2.4.1 <i>DES</i> com cloreto de colina e/ou ácido cítrico em filmes biodegradáveis	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 EXPERIMENTO 1.....	29
3.1.1 Matéria-prima.....	29
3.1.2 Preparação de extratos.....	29
3.1.3 Caracterização química	30
3.1.4 Análise Estatística	31
3.2 EXPERIMENTO 2.....	31
3.2.1 Material vegetal.....	31
3.2.2 Elaboração e escolha do NADES	32
3.2.3 Incorporação do NADES à matriz de amido.....	32
3.2.4 Caracterização dos filmes.....	33
3.2.5 Experimento com mangas ‘Palmer’ – taxa respiratória, qualidade físico-química e sensorial	35
3.2.6 Experimento com mangas ‘Palmer’ – qualidade funcional.....	37
REFERÊNCIAS	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1 ARTIGO 1.....	51
REGIONAL BRAZILIAN MANGO VARIETIES AS HEALTH-PROMOTING PHYTOCHEMICALS SOURCES	51
4.2 ARTIGO 2.....	89
FILMES E RECOBRIMENTOS BIODEGRADÁVEIS À BASE DE AMIDO DE INHAME PLASTIFICADOS COM NADES: PROPRIEDADES DO FILME E EFEITO DE REVESTIMENTOS NA QUALIDADE DE MANGAS 'PALMER'	89
4.3 ARTIGO 3.....	127

YAM STARCH BASED COATINGS ADDED WITH NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENT MAINTAIN QUALITY AND FUNCTIONAL POTENTIAL OF ‘PALMER’ MANGO	127
4.4 PATENTE	167
PLASTIFICANTE EM SOLUÇÕES FILMOGÊNICAS DE AMIDO DE INHAME PARA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, PROCESSO E PRODUTO	167
5 CONSIDERAÇÕES GERAIS	169

1 INTRODUÇÃO

A manga está entre as frutas de maior importância socioeconômica para o Brasil, em especial para a região Nordeste onde se localiza o Vale do Submédio São Francisco, que dispõe das maiores áreas cultivadas da fruta no país e da maior receita com exportação de frutas frescas. Dominam o mercado brasileiro de exportação as cultivares de origem norte-americana com ampla representação das cultivares ‘Palmer’, ‘Tommy Atkins’, ‘Keitt’, ‘Kent’ e ‘Haden’. Estima-se que 50% da área colhida no Vale do São Francisco, em 2018, foi correspondente à cv. ‘Palmer’ e 30 % à ‘Tommy Atkins’ (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI&FRUTI 2018, 2019; CARVALHO et al., 2004).

Entretanto, existe um grande número de variedades de manga de ocorrência regional, importantes para o mercado local, tais como 'Amarelinha', 'Espada', 'Rosa', 'Jasmim', 'Extrema', 'Felipe', 'Oliveira Neto', 'Soares Gouveia', 'Taú' e 'Ubá, ainda pouco exploradas e sobre as quais faltam informações sobre qualidade, principalmente quanto ao aspecto funcional (RIBEIRO et al., 2010; RIBEIRO et al., 2007; SILVA et al., 2012).

Valorizada em todo o mundo por suas características sensoriais particulares, bem como, pelo teor nutritivo, a manga é fonte de compostos bioativos como carotenoides e vitamina C. Entretanto, a apresenta caráter altamente perecível, sendo um fruto climatérico, e está sujeita à expressivas modificações bioquímicas, que refletem em suas propriedades, além das perdas pós-colheita principalmente àquelas provocadas por microrganismos (BURTON-FREEMAN et al., 2017; KHALIQ et al., 2017; ZERBINI et al., 2015).

Pela riqueza em compostos antioxidantes, as frutas tem ganhado cada vez mais popularidade como alimentos funcionais, capazes de reduzir a incidência de doenças relacionadas à dietas prejudiciais, a exemplo do câncer, doenças coronárias e hipertensão (NARESH et al., 2014; SEPTEMBRE-MALARTE et al., 2018). A manga é uma das principais fontes de fitocompostos antioxidantes para o ser humano a exemplo do ácido ascórbico, carotenoides e polifenóis, como leucocianidina, catequina, epicatequina, ácido clorogênico e quercetina, os quais podem proteger o organismo de doenças, portanto, seu consumo regular pode fornecer quantidades significativas de compostos com benefícios à saúde (MALDONADO-CELLIS et al., 2019; PALAFOX-CARLOS et al., 2012).

Nesse contexto, tecnologias de conservação capazes de manter a qualidade da manga de maneira sustentável, que permitam o prolongamento da vida útil pós-colheita do fruto e que

ainda visem a diminuição do uso de fungicidas, têm-se feito necessárias. Um exemplo promissor de tais tecnologias é a utilização de coberturas biodegradáveis obtidas de materiais naturais e seguros ao ser humano, como ceras, proteínas e polissacarídeos, as quais retardam o metabolismo dos frutos e com isso os fatores responsáveis pelas transformações do amadurecimento que podem ainda ser enriquecidas com compostos antimicrobianos naturais, alternativos aos sintéticos. (NCAMA et al., 2018; SHIT; SHAH, 2014). Entre os materiais com potencial para síntese de recobrimentos, porém sem ampla exploração com este fim, está a fécula (amido) de inhame que possui características favoráveis, inclusive para ser combinado com demais compostos que venham fortalecer a estrutural e funcionalmente (GUTIÉRREZ et al., 2015a; 2015b).

No âmbito da elaboração de materiais biodegradáveis, a inserção de líquidos iônicos (LIs) nas matrizes poliméricas, ou no processo de obtenção dessas matrizes, tem acontecido e gerado resultados significativos quanto à influência dos LIs em melhorar as propriedades gerais dos materiais (FARRÁN et al., 2015; STEFANESCU, et al., 2012; XIE et al., 2014). Entre as inovações na síntese de LIs está o uso de aminoácidos e ácido orgânicos como ânions ou cátions que possam substituir àqueles de alta toxicidade, gerando ‘Bio-LIs’ com baixa toxicidade, seguros ao ser humano e ao meio ambiente (FUKAYA et al., 2007; OHNO; FUKOMOTO, 2007), os quais são desenvolvidos para variadas aplicações, entre elas, para ação antimicrobiana (PENDLETON; GILMORE, 2015).

Ademais, um novo grupo de meios, que compartilham características de solvente dos LIs, denominados Solventes Eutéticos Profundos (Deep Eutetic Solvents – DES) tem se destacado como agentes plastificantes de matrizes de amido (ZDANOWICZ, WILPISZEWSKA; SPYCHAJ, 2018; VAN OSCH et al, 2017). Os DES atendem aos princípios da Química Verde e são definidos como misturas de dois ou mais componentes, baratos e seguros, que se associam através da complexação de um aceitador de ligação de hidrogênio (por exemplo, sais de halogenetos de cátions quaternários de amônio) com porções de doadores de ligação de hidrogênio, como ácido cítrico, uréia e glicerol (PAIVA et al., 2014). Um grande número de DESs com base em compostos naturais (NADES), tais como como ácidos orgânicos, aminoácidos e açúcares tem sido relatados (VAN OSCH et al, 2017). Entretanto, quanto a elaboração de recobrimentos comestíveis, sobretudo para aplicação em frutos e seus produtos, não há registros da incorporação de Bio-Lis, DES ou NADES à matriz polimérica.

Dada a importância da manga como uma cultura de expressivo valor para o agronegócio brasileiro, percebe-se a relevância em inovar em tecnologias de conservação pós-colheita para

o aumento da competitividade do produto e do valor agregado, uma vez que, após sua colheita há redução da vida útil, com perda de qualidade além da maior vulnerabilidade a ação microbiana, e produção de espécies reativas ao oxigênio. Neste contexto, abrem-se oportunidades para tecnologias como a aplicação de coberturas biodegradáveis inovadoras originadas de polímeros naturais, assim como, a síntese de novas composições e funcionalidades para solventes eutéticos profundos, de modo que sejam capazes de preservar a qualidade, aparência e atributos nutricionais de frutas, promovendo um sistema antioxidante mais eficiente. Pesquisas focadas na qualidade de mangas sob recobrimentos comestíveis armazenadas ou não sob refrigeração, bem como submetidas à outras tecnologias, são abundantes, entretanto, nem todas consideram avaliar as transformações nos compostos bioativos como fenólicos e carotenoides.

Assim, a presente Tese tem o objetivo de contribuir com a valorização da manga produzida no Nordeste brasileiro por meio de um estudo para valorização do potencial funcional de variedades subexploradas, de plantios não comerciais, e outro estudo de desenvolvimento de recobrimento inovador, contendo NADES, para aplicação em mangas ‘Palmer’, uma das cultivares mais importantes para o agronegócio de exportação da fruta pelo país, acompanhando evolução da qualidade e compostos bioativos presentes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MANGA

A manga (*Mangifera indica* L.) é um fruto climatérico tropical de relevante importância econômica, popular em todo o mundo devido às propriedades como cor e sabor, além dos teores de vitamina C, β -caroteno, vitamina E e compostos fenólicos, que são bastante significativos (KHALIQ et al., 2016; MALDONADO-CELIS et al., 2019).

O Brasil é o sétimo maior produtor mundial de manga, tendo produzido 1.897.904 toneladas da fruta em 2018, alcançando US\$ 177,3 milhões com a safra exportada no mesmo ano sendo um dos 3 maiores exportadores desta fruta (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORT&FRUTI 2019, 2018; FAOSTAT, 2018).

Em 2018, a maior receita, em exportação de frutas frescas pelo Brasil, resultou do embarque de 179,6 mil toneladas de manga, sendo o Vale do São Francisco, entre Bahia e Pernambuco, responsável por 87% destas exportações, embarcando, para destinos como União Europeia, Estados Unidos, Canadá (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2016, 2016). Quanto à oferta no mercado interno, estima-se para manga um aumento de volume de 25,9% entre 2014/2015 e 2024/2025 (BRASIL, 2015).

Cultivada em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo, a manga ocupa o 4º lugar na produção total entre as principais culturas frutíferas, com mais de 1000 variedades disponíveis e demanda de mercado crescente a cada ano (BURTON-FREEMAN et al., 2017; DAR et al., 2016; MARQUES et al., 2016).

As mangas comerciais brasileiras são baseadas em algumas cultivares americanas com destaque para Tommy Atkins que por muito tempo representou aproximadamente 80% da área plantada (SILVA et al., 2014). Entretanto, estima-se que 50% da área colhida no Vale do São Francisco, em 2018, foi da variedade 'Palmer' enquanto 'Tommy Atkins' correspondeu a 30% (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORT&FRUTI 2019, 2018). Destacam-se ainda as mangas 'Keitt', 'Kent' e 'Haden' entre as variedades comerciais mais produzidas no Brasil (PINTO et al., 2011).

Contudo, existe um grande número de variedades de manga de ocorrência regional, importantes para o mercado regional, tais como 'Amarelinha', 'Espada', 'Rosa', 'Jasmim', 'Extrema', 'Felipe', 'Oliveira Neto', 'Soares Gouveia', 'Taú' e 'Ubá' (SILVA et al., 2012, RIBEIRO

et al., 2010, RIBEIRO et al., 2007), ainda pouco exploradas em larga escala, das quais são escassas as informações sobre a qualidade, principalmente quanto aos aspectos funcionais.

Nessa perspectiva, considerando que há uma demanda cada vez maior, para produzir frutas nutritivas, de bom sabor, saudáveis e com maior vida útil, bem como, a valorização que a manga tem por suas características sensoriais particulares, sua composição nutricional e atividade antioxidante, sendo por muitos designada como “rainha das frutas”, esforços substanciais devem ser direcionados para fortalecer coletivamente o conhecimento da diversidade e potenciais da manga, tanto para desenvolver cultivares melhores nutricionalmente, quanto para aprimorar práticas pós-colheita cada vez mais adequadas e promover o desenvolvimento de novas estratégias de cadeia de abastecimento (DAR et al., 2016; LAURICELLA et al., 2017).

2.1.1. Aspectos de conservação pós-colheita

Embora a produção de manga tenha grande importância econômica mundial, Marques et al. (2016) alertam que questões relacionadas com a qualidade dos frutos ainda limitam seu consumo. Cissé et al. (2015) sinalizam para a problemática dos altos níveis de perdas pós-colheita de frutas nos países em desenvolvimento, como o Brasil, apresentando a manga entre as mais afetadas especialmente por danos gerados por fungos e bactérias, os quais tem se tornado difíceis de controlar tanto pela resistência dos microrganismos, quanto pelo rigor das regulamentações e é neste ponto que se fortalece a proposta do uso alternativo de compostos naturais com ação antimicrobiana.

De acordo com Zerbini et al. (2015), entre os eventos mais importantes do amadurecimento de manga, regulados pelo etileno, estão a perda de firmeza, a degradação da clorofila e o acúmulo de carotenoides, ocorrendo também desenvolvimento de voláteis. No que se refere às propriedades sensoriais, a manga é altamente valorizada devido ao sabor atrativo que possui o qual é variável entre os estádios de maturação e após certo período de armazenamento refletindo não só em alterações perceptível pelos sentidos humanos, mas também, mudanças fisiológicas e bioquímicas (JAHURUL et al., 2015; LI et al., 2009).

A temperatura de refrigeração está entre as tecnologias mais utilizadas pelos produtores de manga. Contudo, há a dependência da forma de transporte, do destino final, da maturação e da temperatura de acondicionamento dos frutos que são fatores determinantes na conservação da qualidade. Após longo período de exposição a baixas temperaturas, a transferência para as gôndolas de supermercados e centrais de distribuição pode afetar a qualidade dos frutos,

reduzindo o tempo de vida útil (KHALIQ et al., 2016; KHALIQ et al., 2015; SIVAKUMAR et al., 2011).

Para que se atendam aos requisitos fitossanitários dos países receptores, a exportação de mangas requer aplicação de tratamentos específicos, sendo o tratamento térmico (46,1 °C por 90-110 min) um dos mais empregados no Brasil (SABATO et al., 2009). Uma outra prática pós-colheita, aplicada nos galpões de embalagens, de mangas destinadas à exportação é a aspersão de emulsão aquosa, à base de cera de carnaúba, nos frutos limpos passando em esteiras com roletes que, em sequência, são conduzidos à um túnel com circulação de ar a 45 °C e polidos para adquirirem melhor aparência e menores taxas de perda de água no armazenamento (ASSIS; LIMA, 2008).

Muitos tratamentos pós-colheita com potencial de alterar as concentrações fitoquímicas vem sendo empregados para ampliar a vida útil da manga e ajudar na distribuição para os mercados de varejo. A ênfase principal destes tratamentos se concentra no amadurecimento e condições de manuseio que afetam a qualidade estética, o desenvolvimento de cor e a resistência a doenças, mas ainda há pouca informação disponível sobre os fatores que influenciam as concentrações fito-químicas antioxidantes, tais como polifenóis, carotenóides e ácido ascórbico (MALDONADO-CELIS et al., 2019; TALCOTT et al., 2005).

Durante o amadurecimento a atividade celular da manga é notadamente elevada, especialmente quanto à produção de radicais livres e espécies reativas o oxigênio - EROs, o que leva à ativação de mecanismos de defesa antioxidantes para combater o estresse oxidativo, a exemplo da biossíntese de compostos fenólicos que envolve expressão de genes e a ativação de diversas enzimas (PALAFOX-CARLOS et al., 2012; ROSALIE et al., 2015). A biossíntese de carotenóides é uma das mais importantes alterações bioquímicas que ocorrem em manga, tanto que estes tem sido alvo de estudos com diferentes cultivares, reconhecidos por serem percussores da vitamina A, além do importante papel na coloração dos frutos (ORNELAS-PAZ et al., 2008).

Em demonstração da importância de se acompanhar as alterações de qualidade da manga, ao longo do amadurecimento, para fornecer conhecimento que suporte a seleção de frutos com maior concentração de moléculas bioativas, Ibarra-Garza et al. (2015) constataram os maiores níveis de compostos fenólicos totais, ácido ascórbico e maior atividade antioxidante no 2º estágio, enquanto que os níveis mais elevados de fibra dietética foram observados a partir do 2º estágio até o 5º, ao avaliarem as mudanças nos compostos bioativos, ao longo de 6 estágios de maturação da manga 'Keitt'.

Ao aplicar qualquer que seja o tratamento pós-colheita em manga, deve-se preocupar em não prejudicar as propriedades químicas, físico-químicas bem como os aspectos sensoriais que são, particularmente, mais importantes pois são determinantes na escolha do consumidor e do sucesso do fruto no mercado consumidor de frutas frescas (MALDONADO-CELIS et al., 2019; SABATO et al., 2009).

2.2 RECOBRIMENTOS BIODEGRADÁVEIS

Os recobrimentos ou coberturas comestíveis são uma das mais recentes alternativas para auxiliar na conservação de alimentos. O interesse no seu desenvolvimento desses materiais comestíveis ou degradáveis biologicamente tem crescido principalmente por satisfazerem preocupações ambientais e responderem à demanda dos consumidores por alimentos de alta qualidade (ARNON et al., 2015; NCAMA et al., 2018).

Os recobrimentos biodegradáveis podem ser usados para controlar a permeabilidade à água, oxigênio e dióxido de carbono, bem como a permeabilidade lipídica em um sistema alimentar uma vez que consistem em camadas finas de materiais comestíveis que, quando aplicados em produtos alimentícios, desempenham um papel importante na sua preservação durante sua distribuição e comercialização (CALDERÓN-CASTRO et al., 2018; FAKHOURI et al. 2015).

A barreira ao redor dos frutos, formada pelos recobrimentos modifica a atmosfera interna, diminuindo as taxas metabólicas e retardando o amadurecimento (RODRIGUES et al., 2018). Assim, diversos estudos tem demonstrado que a tecnologia de polímeros comestíveis permite a melhoria na integridade mecânica ou características de manuseio dos alimentos além de contribuir para torná-los mais atraentes e seguros, uma vez que, podem ser inseridos ingredientes ou coadjuvantes de tecnologia, como antioxidantes, antimicrobianos e flavorizantes, nas matrizes filmogênicas (TAVASSOLI-KAFRANI et al., 2016; SHIT; SHAH, 2014).

Entre as principais matérias-primas usadas na elaboração de recobrimentos biodegradáveis estão as ceras (lipídeos) (MOALEMIYAN et al., 2012), as proteínas (FAKHOURI et al., 2015; BAHRAM et al., 2013) e os polissacarídeos (KHALIQ et al., 2016; CISSÉ et al., 2015; BIBI; BALOCH 2014), entre os quais se destacam os hidrocolóides como o amido e as mucilagens.

2.2.1 Aplicações na pós-colheita de mangas

Encontram-se na literatura diversos estudos com variadas cultivares de manga tratadas, em pós-colheita, com recobrimentos biodegradáveis elaborados dos mais diversos materiais. No Vietnã, em simulação das condições ambientais de comercialização, a cultivar ‘Cat Hoa Loc’ foi tratada à base de cera de carnaúba e lecitina de soja (HOA; DUCAMP, 2008). No Semiárido brasileiro, a manga ‘Tommy Atkins’ foi recoberta com diferentes combinações de carboximetilcelulose e dextrina para observações ao longo de 20 dias sob refrigeração seguidos de 9 dias em condições ambientes (AMARIZ et al., 2010). No Canadá, diferentes combinações distintas de pectina, cera de abelha, sorbitol e monoglicerídeos foram aplicadas em coberturas de mangas ‘Ataulfo’ expostas por 15 dias a temperatura ambiente em simulação de mercado (MOALEMIYAN et al., 2012).

No Paquistão, Bibi e Baloch (2014) aplicaram recobrimentos baseados em amido, azeite e cera de abelha nas variedades ‘Langra’ e ‘S. B. Chaunsa’ para comparação com os efeitos do benzoato de sódio. Em Montpellier, França, Cissé et al. (2015), avaliaram a qualidade de mangas ‘Kent’ originárias do Brasil sob recobrimentos de quitosana com e sem adição de sistema lactoperoxidase antimicrobiano. Na Malásia, avaliou-se o efeito de recobrimentos constituídos de goma arábica e/ ou cloreto de cálcio em mangas da cv. Choke Anan sob refrigeração por 28 dias com transferência para condição ambiente por 5 dias adicionais (KHALIQ et al., 2016). Azeredo et al. (2016) em uma das mais recentes publicações da temática, apresentam a eficiência de recobrimento de fécula de mandioca associada à quitosana no aumento da vida útil pós-colheita manga ‘Tommy Atkins’ do Vale do Submédio São Francisco, considerando duas condições de armazenamento sucessivas.

2.2.2 Fécula de inhame como matéria-prima promissora

O inhame (*Dioscorea sp.*), é um tubérculo apontado como fonte promissora para extração de amido (fécula) para fins comerciais, uma vez que, sua abundante disponibilidade e alto teor de amilose propicia alta competitividade para com as fontes usuais, como a mandioca (MALI et al., 2010; REIS et al., 2013).

O cultivo dos tubérculos de inhame (*Dioscorea spp.*) é um negócio agrícola muito promissor, especialmente para a região Nordeste do Brasil, dada a excelente qualidade nutricional e energética dos tubérculos, bem como, sua produção e a de derivados (REIS et al., 2013). Essa cultura, juntamente com a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) representa a

principal fonte de carboidratos e energia para cerca de 700 milhões de pessoas que vivem nas áreas tropicais e subtropicais (FERRARO et al., 2016).

O amido de inhame pode ser aplicado não apenas para a indústria alimentícia, mas também para a indústria não alimentícia por apresentar algumas características físico-químicas diferentes dos amidos de batata, arroz e mandioca sendo considerado um material apropriado para formação de matriz com uma boa barreira à transmissão de oxigênio e dióxido de carbono, embora com uma barreira pobre à vaporização de água e caráter hidrofílico que confere limitações do uso de amido para filmes e revestimentos é a deste material (RUGCHATI; THANACHAROENCHANAPHAS, 2015).

As altas perdas pós-colheita de inhame, devido ao descumprimento das regulamentações alimentares, representam um esgotamento do valor econômico e da renda e pode limitar seriamente a renda potencial dos agricultores, além de ameaçar a segurança alimentar e exacerbar as condições de pobreza entre os domicílios rurais de regiões produtoras (FERRARO et al., 2016). Portanto, o uso do amido de inhame para o preparo de biofilmes pode ser significativo para o Nordeste, evitando a perda do tubérculo in natura (REIS et al., 2013).

Por se tratar de uma matéria-prima de baixo custo, obtida a partir de recursos renováveis em grande escala, o amido pode gerar produtos sustentáveis, como uma alternativa aos polímeros sintéticos, associados ao acúmulo de resíduos plásticos no meio ambiente, visto que pode ser transformado em um material termoplástico (TPS) por tratamento termomecânico na presença de plastificantes (FERREIRA et al., 2015).

Neste contexto, estudos sobre o potencial da fécula de inhame para o desenvolvimento de géis e filmes na forma nativa (KOUAMÉ et al., 2011; GUTIÉRREZ et al., 2015a; 2015b) tem comprovado as boas propriedades da fécula de inhame e indicado diversas possibilidades de aplicação deste material, entre elas a elaboração de filmes comestíveis. No entanto, aplicações pós-colheita de coberturas à base de fécula de inhame são escassas na literatura científica.

2.3 LÍQUIDOS IÔNICOS

Os Líquidos Iônicos (LIs) podem ser definidos, resumidamente, como sais fundidos a temperatura ambiente formados apenas por íons, sem solvente (OHONO; FUKOMOTO, 2008). Numerosos LIs podem ser sintetizados através da combinação de diferentes porções de ânions e cátions ou pela manipulação das suas características, tais como o comprimento da cadeia alquilada ou pela introdução de grupos oxigenados, permitindo o controle de propriedade físicas

como hidrofobicidade, viscosidade, densidade solubilidade e também na sua capacidade de biodegradação ou características toxicológicas (VENTURA et al., 2012).

Líquidos iônicos tem sido constantemente apontados, na literatura de processos químicos, como potenciais substitutos ‘verdes’ para compostos orgânicos voláteis, no entanto, quando baseados no cátion imidazólio podem ser significativamente prejudiciais ao meio ambiente quando descartados, o que desafia a ciência para síntese de LIs com baixa toxicidade. (FOULET et al., 2016).

Fukaya et al. (2007) apresentam o conceito de ‘BIO-LIs’ como sendo líquidos iônicos compostos completamente por biomateriais, àqueles com propriedades biodegradáveis e toxicológicas bem caracterizadas, defendendo-os como alternativas para LIs halogenados, por exemplo, os quais oferecem certa toxicidade.

Dentro da proposta de BIO-LIs, a amina natural colina, tem sido bastante testada como cátion pois é esperado que esta não apresente toxicidade e seja totalmente biodegradável, uma vez que é aplicada como aditivo na alimentação humana e de animais (RUß; KÖNIG, 2012). Um dos estudos de maior relevância quanto a colina, e também um dos primeiros a evidenciá-la como fonte catiônica alternativa para LIs é o de Abbott et al. (2004), que obtiveram bons resultados combinando-a aos ácidos carboxílicos oxálico, malônico, adípico, fenilacético, fenilpropionico, tricarbálico, succínico e cítrico na formação de produtos alternativos aos LIs convencionais, os *Deep Eutectic Solvents* – DES os quais vem sendo explorados de forma crescente em termos de síntese, funções e aplicações desde 2004 (PAIVA et al., 2014).

LIs preparados a partir de colina e dos aminoácidos arginina, glutamina ácido glutâmico e cisteína, reconhecidamente biodegradáveis, foram facilmente obtidos, com bons rendimentos, solubilidade em água, caráter líquido à temperatura ambiente e baixa toxicidade (GOUVEIA et al., 2014). Quanto aos ácidos carboxílicos, Fukaya et al. (2007) complementam que com um levantamento dos diversos ácidos carboxílicos existentes, bem como de seus derivados obtidos naturalmente, é possível a criação ótima de LIs.

A síntese de LIs tem sido objeto de um grande número de desenvolvimentos e, hoje em dia, o principal foco está na produção de líquidos iônicos com características biológicas adequadas às demandas ecológicas e ambientais que considerem questões como degradação química, bioacumulação e biodegradabilidade (VENTURA et al., 2012).

De acordo com Gilmore (2011) diversos estudos recentes tem demonstrado excelente potencial de certos LIs em exibir atividade antimicrobiana, apresentando assim a possibilidade encorajadora que os líquidos iônicos podem ter aplicação como agentes biocidas no controle de

microrganismos no ambiente de contaminação e infecção controle. Pendleton e Gilmore (2015) esclarecem que trata-se de uma linha completamente nova e diferente de pensamento, dentro da ciência de LIs, a pretensão em aproveitar-se das propriedades biológicas sintonizáveis desses compostos na concepção de novos potentes agentes antimicrobianos.

Registros de elaboração de materiais biodegradáveis, especialmente filmes, com incorporação de LIs tem revelado influência destes nas matrizes em que são inseridos como em filmes de aragose com LIs de cloreto de colina/ ureia (SHAMSURI; DAIK, 2012); em filme misto de quitosana e celulose elaborado com LI de acetato de 1-butil-3-metilimidazolium (STEFANESCU, et al., 2012); em hidrogel de celulose com a participação de LI de 1-butil-3-metilimidazolium (KIM et al., 2012) e em filmes de amido plastificados com LI 1-butil-3-metilimidazolium (XIE et al., 2014). Entretanto, essas associações não tem focado ainda na obtenção de materiais comestíveis.

2.3.1 Deep Eutectic Solvents - DES

Os DES também podem ter um caráter iônico mas diferenciam-se dos LI's convencionais por serem constituídos de uma mistura de compostos orgânicos, que têm um ponto de fusão significativamente inferior ao de qualquer componente de sua formulação individualmente. Quando os compostos que constituem o DES são metabolitos primários, isto é, aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares ou derivados de colina, o DES são chamados solventes eutéticos profundos naturais (NADES) (PAIVA et al., 2014; TOMÉ et al., 2018; VAN OSCH et al., 2017).

Estudos recentes tem demonstrado o sucesso do emprego de DES na formulação de materiais poliméricos biodegradáveis, como filmes a base de polissacarídeos. A mistura eutética de coreto de colina e ácido cítrico, por exemplo, influenciou as propriedades de filme de quitosana moldado por termo compressão (GALVIS-SÁNCHEZ et al., 2016). Por sua vez, DES formado por cloreto de colina em conjunto com ureia também desempenharam com sucesso a função de plastificante na preparação, de modo a afetar propriedades das películas, de filmes de ágar (SOUSA et al., 2015), celulose (WANG et al., 2015), amido de batata (ZDANOWICZ; JOHANSSON, 2016; ZDANOWICZ; SPYCHAJ, 2011) e amido de milho (COLOMINES et al., 2016; ABBOTT et al., 2012; LEROY et al., 2012).

As publicações constantemente retratam que os NADESs e/ou DES são capazes de influenciar significativamente as propriedades dos materiais poliméricos em que são inseridos na formulação. Entretanto, há muito o que estudar à respeito dessas alterações as quais são

completamente dependentes da estrutura dos compostos utilizados para se obter o NADES ou DES.

2.4 PLASTIFICANTES EM BIOPOLÍMEROS DE AMIDO

Cada vez mais espera-se que os materiais bioplásticos complementem e gradualmente substituam aqueles à base de óleo fóssil e isto se reflete nos esforços multidisciplinares de pesquisa com um nível significativo de sucesso técnico e comercial para esses materiais de base biológica. Contudo, a aplicação desses plásticos de base biológica ainda não é extensiva devido as suas possíveis limitações inerentes, como baixa processabilidade, fragilidade, hidrofilia, baixa umidade e barreira a gases, compatibilidade inferior, propriedades elétricas, térmicas e físicas ruins (MEKONNEN et al., 2013).

Para aumentar a flexibilidade e resistência, interrompendo as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas são aplicados os plastificantes, comumente compostos hidrofílicos tais como polióis (glicerol, sorbitol e poli (etilenoglicol)) (SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005; LAOHAKUNJIT; NOOMHORM, 2004).

Os plastificantes aumentam a mobilidade das cadeias de biopolímeros e, assim, melhoram a flexibilidade dos filmes, impedindo-os de rachar ou lascar durante a sua preparação, manuseamento e armazenamento. No entanto, aumentam a permeabilidade do filme à umidade, oxigênio, aroma e óleos, reduzindo as ligações internas de hidrogênio (MARAN et al., 2013; TURHAN et al., 2007; SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005).

Dependendo da aplicação do filme comestível é importante conhecer as condições ótimas em que a permeabilidade ao vapor de água é favorável, afinal é uma das propriedades mais importantes destes filmes (TURHAN et al., 2007). Outro fenômeno desvantajoso que pode ocorrer merece atenção é a antiplastização que pode refletir em aumento do módulo elástico e fragilidade do filme devido à presença de moléculas plastificantes rígidas adjacentes aos grupos polares do polímero (SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005).

Em busca de novas dimensões de seleção de plastificantes e de fornecer alta segurança no contexto de filmes e embalagens de alimentos, tem-se desenvolvido e utilizado plastificantes de base biológica, como polióis, ácidos graxos e derivados de ácidos graxos, óleo de soja epoxidado, amidas de éster, citratos e líquidos iônicos, como cloreto de metilimidazólio e solvente eutéticos profundos são amplamente relatados como soluções alternativas a tais questões (MEKONNEN et al., 2013).

O glicerol está entre os plastificantes mais empregados em filmes comestíveis e sabe-se que sua adição diminui a resistência à tração, promovendo o alongamento destes filmes, no

entanto, a permeabilidade ao oxigênio aumenta significativamente com concentrações crescentes de glicerol (LAOHAKUNJIT; NOOMHORM, 2004).

Em filmes de amido, a adição de plastificantes supera a fragilidade e melhora flexibilidade e extensibilidade, assim, é importante que plastificantes sejam compatíveis com polímeros formadores de filme, reduzam as forças intermoleculares e aumentem a mobilidade das cadeias poliméricas polares (LAOHAKUNJIT; NOOMHORM, 2004).

Compostos hidrofílicos, como sorbitol, glicerol, xilitol, açúcar e maltitol são usados para melhorar as propriedades de filmes comestíveis à base de amido (MARAN et al. 2013). Plastificação de blends de amido e zeína com glicerol, cloreto de glicerol-colina ou acetato de colina resultou em uma tendência de um material elastoplástico com grau variável de estágio de plasticidade (FAVERO et al., 2017). Em filmes de amido e álcool polivinílico a combinação entre glicerol e ácido cítrico melhoraram significativamente a ligação entre os dois polímeros além de aumentarem a flexibilidade e a homogeneidade densa do filme (WU et al., 2017).

A adição do NADES para atuar como plastificante é sugestionada diante da constatação do crescente e expressivo número de trabalhos científicos voltados para a inserção *deep eutectic solvents* – DES (termo como também são identificados líquidos iônicos de compostos naturais como a colina) com esta finalidade em materiais poliméricos biodegradáveis, especialmente em filmes de polissacarídeos como quitosana (GALVIS-SANCHEZ et al., 2016), celulose (WANG et al., 2015) e amidos de batata (ZDANOWICZ; JOHANSSON, 2016; ZDANOWICZ; SPYCHAJ, 2011) e milho (ABBOT et al. 2012; COLOMINES et al., 2016).

2.4.1 DES com cloreto de colina e/ou ácido cítrico em filmes biodegradáveis:

O cloreto de colina é um dos compostos mais comuns para síntese do DES, por ter relevância como fonte catiônica alternativa, com bom desempenho em combinações de ácidos carboxílicos, como oxálico, malônico, adípico, fenilacético, fenilpropionico, tricarbálico, succínico e cítrico. (ABBOTT et al., 2004). DES de colina em conjunto com ureia também desempenharam com sucesso a função de plastificante na preparação de filmes de ágar, de modo a afetar propriedades das películas (SOUSA et al., 2015), assim como em filmes obtidos de celulose (WANG et al., 2015).

Diversos DES com base no cátion colina demonstraram sucesso na plastificação de amido de milho pela técnica de *casting* e a estrutura do ânion escolhido para formação do DES, ou NADES, influenciou significativamente nas propriedades termo e hidro dinâmicas tornando moduláveis as propriedades do material final (COLOMINES et al., 2016). Em processo de

obtenção de plástico sustentável de amido de milho, a incorporação de coreto de colina e ureia conduziu a obtenção de plástico semelhante aos derivados de petróleo (ABBOT et al., 2012).

Solvente eutético profundo à base de colina com ureia foi empregado tanto como plastificante, quanto como solvente para amido de batata e demonstrou propriedades boas o suficiente para ser solvente deste polissacarídeo (ZDANOWICZ; SPYCHAJ, 2011). Na termoplastificação de amido de milho foi atestada a eficiência de DES ambientalmente corretos elaborados de colina com ureia e colina com glicerol como plastificantes, de modo a permitir inclusive a redução de algumas desvantagens do amido, como a recristalização e a sensibilidade à água (LEROY et al., 2012).

Solventes eutéticos profundos de cloreto de colina, citrato de colina dihidrogenada, glicerol, ureia e sorbitol influenciaram propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água de filmes elaborados com amido de batata (ZDANOWICZ; JOHANSSON, 2016). Películas baseadas em amido plastificadas com novos solventes eutéticos profundos com atividade de reticulação paralela podem ser utilizadas como películas ou revestimentos, para a indústria agrícola ou de papel por exemplo (ZDANOWICZ; JOHANSSON, 2018).

O ácido cítrico é um produto químico essencial na bioeconomia emergente (CRIMINNA et al., 2017). Assim como outros ácidos carboxílicos como málico e ascórbico, que podem ser obtidos de origem natural, são empregados como agentes de reticulação (crosslinking) para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira além de aumentar a hidrofobicidade de materiais de amido (ZDANOWICZ; JOHANSSON, 2016).

A inserção de ácido cítrico em matrizes poliméricas biodegradáveis bem como em solução aquosa, individual ou combinado a outros compostos GRAS, tem ocorrido na tecnologia pós-colheita, tanto de frutas, hortaliças e até cogumelos íntegros (APAI et al., 2009; ALI et al. 2014; CHEN et al., 2016; KHAN et al., LIU et al. 2016; 2015; RAMANA RAO et al., 2016; WU et al. 2017) quanto em minimamente processados (BENÍTEZ et al., 2015; CHIUMARELLI et al., 2010; DJIOUA et al., 2010; MARTÍNEZ-ROMERO et al., 2013; PLOTTO et al., 2010; ROBLES-SÁNCHEZ et al., 2009; ROBLES-SANCHEZ et al., 2013; SANCHÍS, et al. 2016), sobretudo devido à sua ação anti-escurecimento, pela inibição da polifenoloxidase.

Recobrimentos biodegradáveis e comestíveis elaborados a partir de polímeros biodegradáveis tem demonstrado eficácia em retardar processos de oxidação e senescência em diferentes frutos frescos tanto por assegurar maiores capacidades antioxidantes aos frutos recobertos, quanto por regularem o seu sistema enzimático antioxidante (SANTOS et al., 2018;

AWAD et al., 2017; CHEN et al., 2016; LIU et al., 2016; KOU et al., 2014; WANG,GAO, 2013) isto evidencia que a barreira promovida na superfície dos frutos, por mudar as condições para trocas gasosas e perda de água com o ambiente, reflete em importantes mudanças no metabolismo. Estudos recentes tem demonstrado o sucesso do emprego de solventes eutéticos profundos na formulação de materiais poliméricos biodegradáveis, como filmes a base de polissacarídeos (TOMÉ et al., 2018). A mistura eutética de coreto de colina e ácido cítrico, por exemplo, influenciou as propriedades de filme de quitosana moldado por termocompressão (GALVIS-SÁNCHEZ et al., 2016).

Entretanto, não há estudos sobre a aplicação de recobrimentos ou filmes poliméricos plastificados com DES ou NADES aplicados diretamente sobre frutos ou outros produtos alimentícios, embora estudos apontem, repetidamente, futuro papel do NADES nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica por esses solventes terem sido frequentemente aplicados com sucesso em processos verdes de extração e separação (ALMEIDA et al., 2018; DAI et al., 2015; TOMÉ et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Visando valorizar as mangas produzidas no Nordeste brasileiro, tanto aquelas sub-exploradas e de potencial funcional desconhecido, quanto aquelas variedades consagradas no mercado de exportação, que podem ter ainda mais expressividade ao serem submetidas à tecnologias pós-colheita inovadoras e efetivas, foram realizados dois experimentos:

Experimento I: Neste estudo avaliaram-se os perfis fitoquímicos e metabólitos (carotenoides, aminoácidos livres (FAA) e peptídeos) de seis variedades de manga do Nordeste do Brasil ('Maranhão', 'Cunha', 'Espada', 'Jasmim', 'Extrema' e 'Rosa') em comparação a duas comerciais ('Alphonso' e 'Tommy Atkins') (Figura 1).

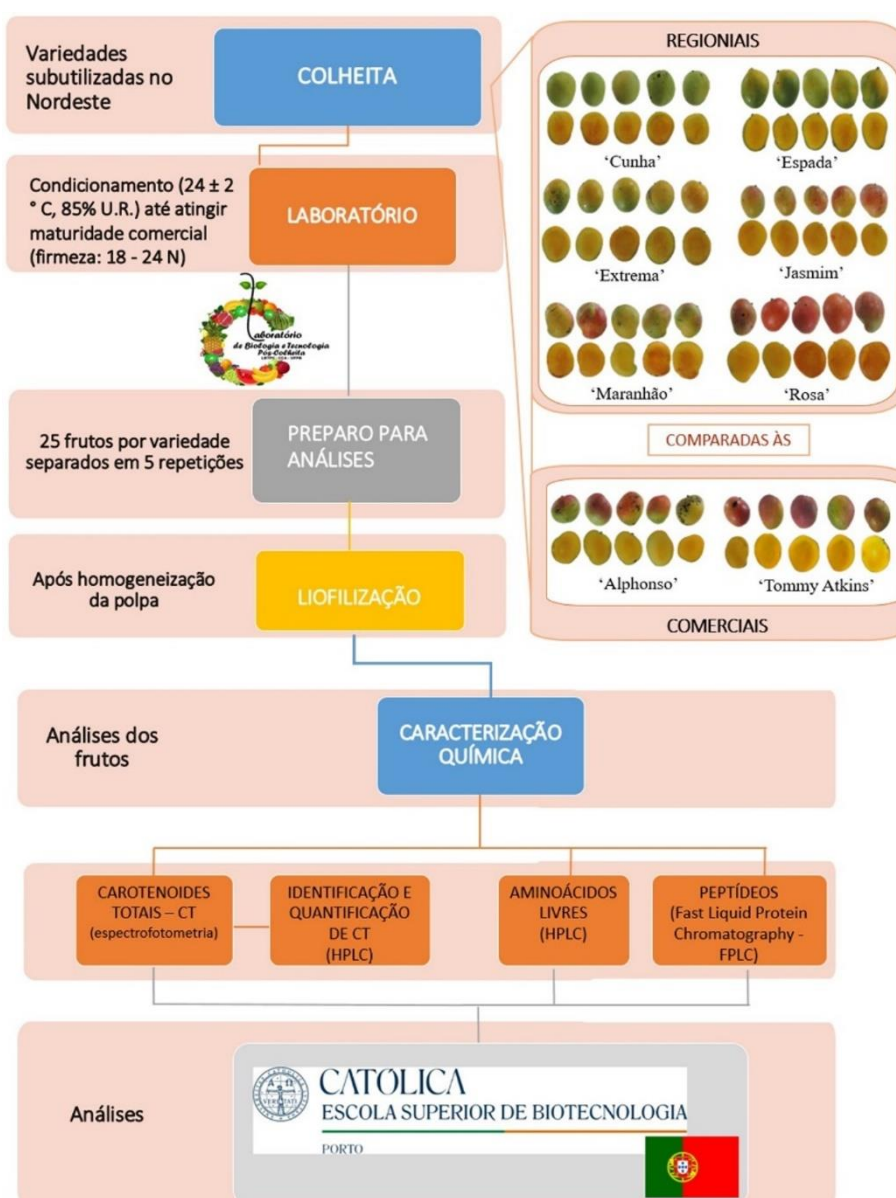


Figura 1. Fluxograma do delineamento do Experimento 1.

Experimento II: Objetivou-se desenvolver recobrimentos plastificados com solvente eutéctico natural profundo (natural deep eutectic solvent – NADES) em substituição total ou parcial do glicerol, desenvolvendo previamente um NADES de cloreto de colina e ácido cítrico, para aplicação pós-colheita em mangas ‘Palmer’ provenientes do Vale do Submédio São Francisco. Num primeiro momento, o desenvolvimento do NADES e sua incorporação nas soluções filmogênicas geraram uma proposta de patente. Em seguida o foco foi caracterizar filmes produzidos com essas soluções quanto às suas propriedades estruturais e físico-químicas e os efeitos de sua aplicação na qualidade físico-química e sensorial de mangas ‘Palmer’. Por fim, também foi avaliado o impacto dos recobrimentos na qualidade funcional dessas mangas com base nos perfis de compostos bioativos e metabolitos (Figura 2).

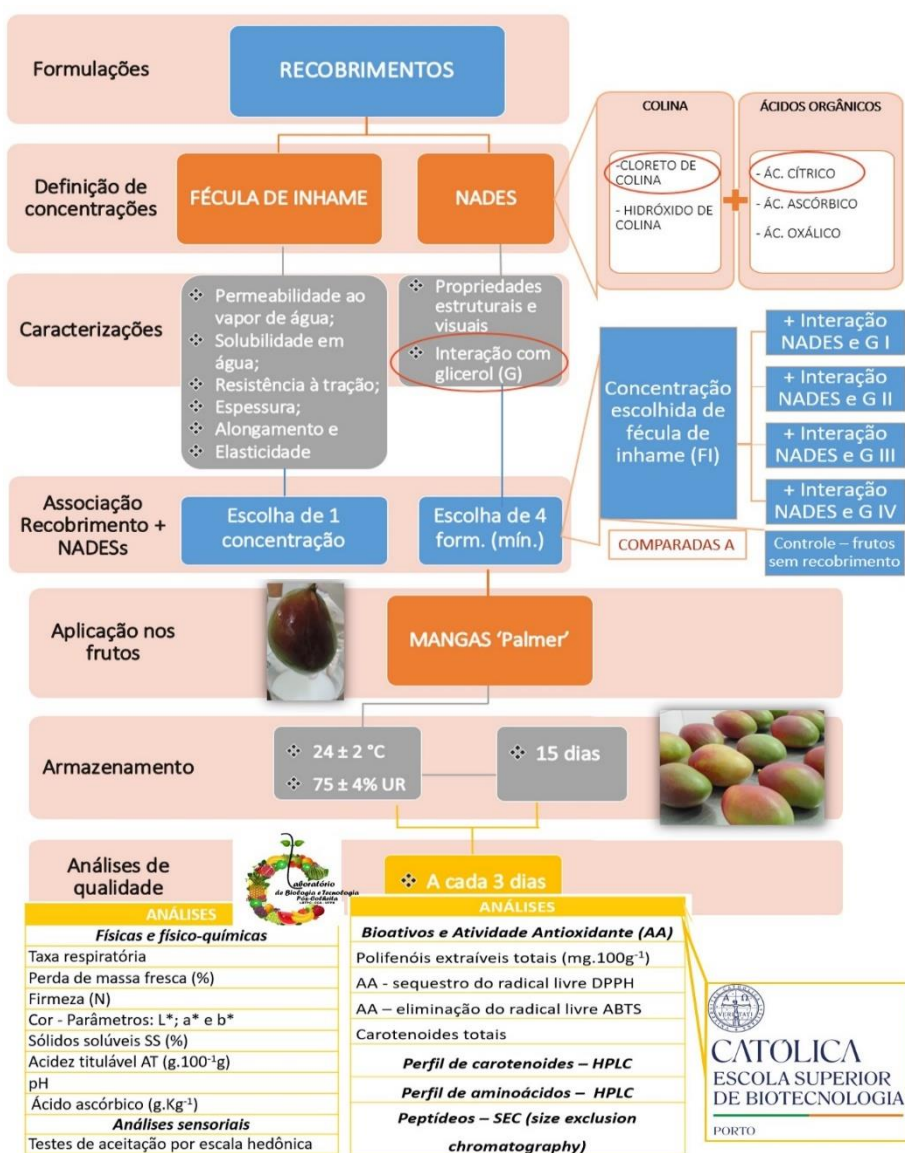


Figura 2. Fluxograma do delineamento do Experimento 2.

3.1 EXPERIMENTO 1

3.1.1 Matéria-prima

Frutos de seis variedades de manga, 'Cunha', 'Espada', 'Extrema', 'Jasmim', 'Maranhão' e 'Rosa'; e das variedades comerciais 'Alphonso' e 'Tommy Atkins' foram colhidos em áreas de populações de plantas de mangueiras município de Areia, Paraíba, região Nordeste do Brasil.

Após a colheita, foram transportados para o Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheta, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – LBTPC/CCA/UFPB, onde foram higienizadas com solução de hipoclorito de sódio a 100 mg.L⁻¹ e mantidos sob condições ambientes (24 ± 2 ° C, Umidade Relativa 85%) até atingirem a maturidade comercial para as análises (caracterizada por firmeza média da polpa entre 18 e 24 N ('Cunha', 18.17N; 'Espada' 23.3N; 'Extrema' 20.06N; 'Jasmim', 18.19N; 'Maranhão', 20.25N; 'Rosa', 20.76N e 'Alphonso', 23.7N; e 'Tommy Atkins', 19.45N). Foram processadas 25 mangas por variedade, separando as porções de polpa e casca, preparando cinco repetições para as avaliações. As polpas replicadas por variedade foram homogeneizadas e liofilizadas até as análises.

3.1.2 Preparação de extratos

3.1.2.1 Extratos de carotenoides

Os carotenóides foram extraídos conforme descrito por Wright e Kader, com algumas modificações. Resumidamente, para preparar os extratos de carotenóides, 500 mg de polpas liofilizadas foram homogeneizadas com 5 mL de etanol resfriado usando um Ultra-Turrax (IKA T18, Wilmington, NC, EUA), com 8 mL de hexano adicionado anteriormente. Após centrifugação ($5000 \times g$, 10 min, 4 °C), a camada de hexano foi transferida para um balão volumétrico. O resíduo foi re-extraído com 2,5 mL de solução saturada de cloreto de sódio e hexano (8 mL), centrifugado como acima, e os dois extratos de hexano foram combinados. A saponificação foi de acordo com Kimura et al. (1990). O extrato de hexano foi adicionado a 30 mL de hidróxido de potássio metanólico a 10% em um frasco de Pyrex selado embrulhado em papel alumínio para excluir a luz. A reação foi realizada por 16 h em temperatura ambiente (22 °C), com agitação suave. A mistura foi então lavada com NaCl a 10% (30 mL) e depois água deionizada, até o valor de pH do enxágue ser neutro. Todos os extratos foram realizados em amostras em triplicata.

3.1.2.2 Extrato de aminoácidos livres

Os aminoácidos livres foram obtidos a partir da homogeneização de 100 mg de manga liofilizada em 2,0 mL de H₂O ultrapura. O homogeneizado foi centrifugado a 5000 x g por 10 min e o sobrenadante foi filtrado através de uma membrana de filtro de 0,45 µm.

3.1.2.3 Extratos em tampão fosfato (pH 7) para FPLC

Para obter extratos para análise por FPLC, 60 mg da amostra foram dissolvidos em 4 mL de tampão fosfato 0,25 M (pH 7) contendo NaCl a 0,15 M e 0,2 g.L⁻¹ de NaN₃ e agitados. A solução aquosa foi então centrifugada a 5000 x g por 10 min a 4 ° C e o sobrenadante foi filtrado através de uma membrana de filtro de 0,45 µm, antes da análise por FPLC.

3.1.3 Caracterização química

3.1.3.1 Análise de carotenóides totais

Os carotenóides totais (expressos em equivalente de β-caroteno) foram quantificados medindo a absorbância a 454 nm (UV mini 1240, Shimadzu, Tokyo, Japan), como acima, usando uma curva de calibração do padrão puro de β-caroteno (0,005 e 0,021 mg.mL⁻¹) e expresso como µg.g⁻¹.

3.1.3.2 Identificação e quantificação de carotenóides

O conteúdo de carotenoides também foi analisado por HPLC (Waters Series 600, Mildford, MA, USA), usando uma coluna Vydac 201TP54 C18 (250 mm × 4,6 mm), equipada com uma pré-coluna C18. Os carotenóides foram eluídos com acetonitrila, metanol, diclorometano, hexano e acetato de amônio (55: 22: 11,5: 11,5: 0,02) sob condições isocráticas a 1,0 mL min⁻¹ de vazão ao longo de 20 min, a 25 °C. O volume de injeção foi de 40 µL e o detector foi ajustado em 454 nm. O β-caroteno, violaxantina e zeaxantina foram quantificados por meio de curvas de calibração (OLIVEIRA et al., 2016).

3.1.3.3 Identificação gratuita de aminoácidos

A avaliação do conteúdo e perfis dos aminoácidos livres da celulose foi realizada por derivatização pré-coluna, utilizando a metodologia de ortoftalaldeído (OPA). Os derivados fluorescentes do tipo isindol foram formados em uma solução alcalina (tampão de borato pH 10,4) a partir de OPA, 2-sulfaniletanol e o grupo amina primário do aminoácido. Os derivados foram separados por HPLC (Beckman coulter, California USA), acoplado a um detector de fluorescência (Waters, Milford. MA, USA), utilizando uma coluna Chromolith® Performance RP18 (100 - 4.6 mm) da Merck. Derivaram-se 100 µL de cada amostra, na concentração de 50

mg.mL⁻¹, de acordo com o método OPA, e o volume de injeção de derivados foi de 20 µL (PROESTOS et al., 2008).

3.1.3.4 *Análise de peptídeos por cromatografia de exclusão por tamanho*

A distribuição do peso molecular dos extratos liofilizados de manga em tampão fosfato foi realizada por cromatografia de filtração em gel usando o sistema AKLC Pure FPLC (cromatografia líquida de rápida proteína em gel), juntamente com duas colunas de filtração em gel: Superdex 200 raise10 / 300 GL e Superdexpeptide, 10/300 GL (GE Healthcare Life Sciences, Freiburg, Alemanha). A fase móvel foi de tampão fosfato 25 mM (pH 7,0), cloreto de sódio 150 mM e azida de sódio 0,2 g.L⁻¹. O fluxo de eluente foi de 0,5 mL.min⁻¹ e foi monitorado por absorvância a 280 nm.

Proteínas padrão com pesos moleculares conhecidos (tireoglobulina 669 KDa; ferritina 440 KDa; aldolase 158 KDa; conalbumina 75 KDa; ovalbumina 43 KDa; anidrase carbônica 29 KDa; ribonuclease A, 13,7 KDa; aprotinina 6,5 KDa) utilizado para estabelecer a curva padrão de MW de acordo com Campos et al (2019). O software usado para avaliar amostras foi o UNICORN 7.0.

3.1.4 **Análise Estatística**

Os dados obtidos para os carotenóides e perfis totais das variedades de manga foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-knott com probabilidade de até 5%.

Análise de componentes principais (ACP) e análise de agrupamento foram realizadas no software R para correlacionar as variáveis avaliadas. As variáveis significativas de cada componente principal foram obtidas considerando $0,6 / (\text{valor próprio do PC})^{0,5}$, adaptado de Collins e Ovalles (1988).

3.2 EXPERIMENTO 2

3.2.1 **Material vegetal**

Os inhames (*Dioscorea* spp.), utilizados para obtenção da fécula, foram selecionados quanto à uniformidade de maturação, ausência de danos e doenças, após serem adquiridos na Empresa Paraibana de Abastecimento - EMPASA de Campina Grande – PB e em seguida transportados ao Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita do CCA/UFPB.

Mangas ‘Palmer’ na maturidade fisiológica (caraterizada pela cor verde claro, tendendo ao amarelo, da casca dos frutos – estágio 2) foram colhidas em um pomar comercial localizado no Vale do São Francisco, no município de Juazeiro - BA - Brasil. Após a colheita os frutos

foram transportados, em caixas plásticas para transporte de frutos, via transporte rodoviário e ainda no mesmo dia da colheita, para o Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheta, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – LBTPC/CCA/UFPB. No LBTPC, os frutos foram selecionados quanto a uniformidade em tamanho, forma, cor e ausência de danos ou doenças, em seguida, foram higienizadas com solução de hipoclorito de sódio a 100 mg.L^{-1} , por 2 minutos, e deixadas a secar espontaneamente. Os recobrimentos foram aplicados em condições ambientes ($24 \pm 2^\circ \text{C}$ e $75 \pm 4\%$ de umidade relativa).

3.2.2 Elaboração e escolha do NADES

Cloreto de colina (peso molecular = $139,62 \text{ g/mol}$) e ácido cítrico (peso molecular = $192,13 \text{ g/mol}$), obtidos da Sigma Aldrich, foram utilizados como aceptor e doador de ligação de hidrogênio, respectivamente, na síntese de NADES. Após testes prévios com diferentes proporções molares entre os dois reagentes, foi escolhido o melhor *ratio* molar entre colina e ácido cítrico devido às características visíveis do líquido resultante, bem como e pela resposta de menor perda de massa de mangas ‘Tommy Atkins’ sob recobrimentos de fécula de inhame adicionados de diferentes proporções da mistura eutética obtida em ensaio piloto. Neste ensaio piloto, testaram-se 3 *ratios* (colina e ácido cítrico) adicionados como plastificantes à solução filmogênicas de amido de inhame a 3%.

3.2.3 Incorporação do NADES à matriz de amido

Optou-se por adicionar o NADES em substituição ao glicerol, plastificante tradicional em soluções filmogênicas de amido, sem excluir por completo este aditivo, justamente para contemplar a possibilidade de o NADES potencializar o efeito do glicerol ou vice-versa. Para isto, utilizou-se a estratégia de otimização de planejamento experimental composto central, com fatorial 2^2 , no qual as variáveis foram os percentuais de glicerol e NADES (Tabela 1).

Tabela 1. Soluções filmogênicas produzidas com diferentes combinações entre NADES e glicerol aplicados como plastificantes em matriz de amido de inhame.

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis decodificadas	
	NADES (%)	G (%)	NADES (%)	G (%)
1	-1	-1	0,72	0,15
2	1	-1	1,78	0,15
3	-1	1	0,72	0,85
4	1	1	1,78	0,85
5	(-1.41)	0	0,5	0,5
6	(+1.41)	0	2,0	0,5
7	0	(-1.41)	1,25	0
8	0	(+1.41)	1,25	1
9	0	0	1,25	0,5
10	0	0	1,25	0,5
11	0	0	1,25	0,5

Assim, 11 formulações foram elaboradas e a adicionadas como plastificantes a solução de amido de inhame gelificado. As soluções incorporadas de glicerol e NADES foram então vertidas em placas planas de vidro para a formação das películas.

3.2.4 Caracterização dos filmes

Os filmes resultantes foram removidos das placas de vidro e mantidos, durante 48 h, em uma caixa de acrílico, adaptada para ter umidade controlada em seu interior (50% de umidade relativa), antes das caracterizações. Posteriormente, os filmes foram avaliados pelo aspecto visual (para selecionar os filmes biodegradáveis homogêneos, que apresentavam uma cor uniforme, sem partículas de amido insolúveis, flexíveis no manuseio e sem rachaduras ou zonas propensas à ruptura) e posteriormente por suas propriedades estruturais.

3.2.4.1 Espessura

A espessura dos filmes foi medida com um micrômetro externo 0-25mm 0,01mm Mitutoyo 103-137, Japão), com os resultados expressos em valor médio de cinco medições em áreas diferentes do filme. Os dados obtidos foram usados para cálculos da permeabilidade ao vapor de água.

3.2.4.2 Solubilidade em água

A solubilidade em água foi medida de acordo com Romero-Bastidas et al. (2005), usando a modificação proposta por Hu et al. (2009). Inicialmente, o peso inicial (M0) da amostra seca, com um tamanho de 40 a 20 mm para cada filme, foi determinado após secagem a $40 \pm 2,0$ ° C, em estufa de circulação de ar forçado, até um peso constante. A amostra pesada foi imersa em frasco erlenmeyer cheio com 50 mL de água destilada. O frasco foi selado para evitar deposição de poeira e evaporação da água e permaneceu em mesa agitadora orbital

(Tecnal, Praticaba –SP) a 25 °C por 24 h, período durante o qual a água periodicamente oscilava levemente. A amostra foi retirada e seca a um peso constante a 40 ° C em estufa e, em seguida, pesada (M). A solubilidade da amostra foi calculada conforme a equação 1, a seguir:

$$\text{Solubilidade} = \frac{100 \times (M - M_0)}{M_0} \quad (1)$$

Onde M_0 e M foram o peso seco da amostra antes e após o teste, respectivamente. Os testes foram realizados em triplicata e o valor médio foi usado para representar a opacidade de cada filme.

3.2.4.3 Medição da cor da superfície

Os parâmetros de cor foram determinados usando um colorímetro Minolta CM-508d, colocando amostras de filme em uma placa padrão (L : 72.54, a : 1.73 e b : 19.7). A diferença de cor (DC) e o índice de brancura (IB) foram calculados com relação aos parâmetros padrão da placa usando as equações. (2) e (3), respectivamente (ABDOLLAHI et al., 2012):

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

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

Nas quais L^* , a^* , b^* são as coordenadas dos filmes e L_0 , a_0 , b_0 são aqueles valores correspondentes a placa de fundo branco (L : 72.54, a^* : 1.73 e b^* : 0.65).

3.2.4.4 Opacidade aparente

A opacidade aparente (OA) foi determinada usando um colorímetro Minolta CM-508d, e foi calculado com base na razão da luminosidade (sistema L^* - CIELab) do sistema, que foi medida com fundo preto (L_P^*) e fundo branco (L_B^*), dividido pela espessura de o filme ($Esp.$). Os resultados foram expressos em uma escala arbitrária (0–100% μm^{-1}) de acordo com a Eq. 4 (SHIRAI et al., 2013):

$$OA = \left[\frac{L_P^* / L_B^*}{Esp.} \right] \times 100 \quad (4)$$

3.2.4.5 Permeabilidade ao vapor de água

As taxas de transmissão de vapor de água (WVTRs) dos filmes foram medidas usando células de permeação de acordo com uma norma ASTM E96 / E96M-15 ligeiramente modificada (ASTM, 2015; ASTM, 2015. Norma AS96 E96 / E96M-15, Teste Padrão Métodos para transmissão de materiais por vapor de água, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2015, www.astm.org). Colocaram-se 10 mL de H_2O dentro de cada fundo de célula com a subsequente fixação da tampa da célula com parafusos. A tampa tinha 0,4 cm^2 de filme exposto e o restante coberto com máscara de alumínio. Todas as células foram armazenadas a $22 \pm 1^\circ$

C e $50 \pm 1\%$ de UR e seus pesos foram registrados com o valor mais próximo de 0,001 g, usando uma balança analítica a cada 24 h. Inclinações derivadas de regressão linear da parte do estado estacionário (linear) da perda de peso versus curvas de tempo foram usadas para obter WVTRs. A permeabilidade ao vapor de água ($\text{kg mm}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$) de cada tipo de filme à base de amido foi calculada usando a equação: $P = \text{WVTR} * L/\Delta P$ (onde L é a espessura do material em m e ΔP é a pressão diferencial WV em Pa). Os cálculos respondem pelas diferenças entre as condições de armazenamento e as áreas de exposição.

3.2.4.6 Propriedades mecânicas

Os testes de resistência à tração foram realizados com um analisador de textura (Stable Micro Systems, modelo TA XTplus, Inglaterra), baseado nos padrões da American Society for Testing and Material (ASTM, 2002). As amostras foram previamente condicionadas a $20 \pm 2^\circ \text{C}$ e $51 \pm 2\%$ de UR por 48 h. As propriedades medidas foram resistência à tração (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo de Young (MPa).

3.2.5 Experimento com mangas ‘Palmer’ – taxa respiratória, qualidade físico-química e sensorial

Optou-se aplicar nos frutos quatro formulações de interação entre NADES e glicerol - G que foram comparadas a frutos sem recobrimento, determinados como controle - C. As seguintes formulações foram selecionadas: 0,72% NADES + 0,85% G; 1,78% NADES + 0,15% G; 1,25% de NADES + 0,5% de G e 1,25% de NADES.

O experimento foi realizado no LBTPC/CCA/UFPB em Junho/2017 e durante 15 dias os frutos foram avaliados a cada 3 dias por meio de análises físico-químicas de perda de massa (%), firmeza, a cor da casca e polpa nos parâmetros luminosidade (L^*), a, b, cromaticidade (C^*) e o ângulo Hue ($^\circ\text{H}$), teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT – g ácido cítrico. 100 g^{-1} de polpa), relação SS/AT; pH e teor de ácido ascórbico. Foram mensuradas também a a qualidade sensorial pela avaliação de atributos específicos de aparência e de degustação. A taxa respiratória foi mensurada diariamente.

3.2.5.1 Delineamento experimental

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5×6 , combinando 4 recobrimentos (0,72NADES+0,85G; 1,78NADES+0,15G; 1,25NADES + 0,5G e 1,25NADES) e o Controle –C com 6 períodos de avaliação (0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias), cada tratamento representado por três repetições, compostas por 2 frutos, cada em cada período de avaliação.

3.2.5.2 Taxa respiratória

A avaliação da produção de CO₂ dos frutos sob os diferentes recobrimentos foi realizada na condição ambiente (25 ± 2°C) em três repetições, cada repetição composta por um fruto. Os frutos recobertos foram colocados em potes herméticos de 1500 mL sob sistema de fluxo contínuo de oxigênio. As leituras foram iniciadas após os frutos estarem 24 horas sob sistema de fluxo e foram realizadas durante 5 dias. Foi injetado 0,1 mL dos gases do fluxo em analisador de CO₂ (Sable Systems PA-10a) (DANTAS et al., 2016).

3.2.5.3 Perda de massa, firmeza e parâmetros de cor

A perda de massa foi obtida pela diferença percentual de massa dos frutos no dia da colheita e a cada dia da avaliação; A firmeza dos frutos íntegros (N) foi determinada através do penetrômetro manual Magness Taylor Pressure Tester, sendo realizada duas leituras na região equatorial do fruto inteiro em lados opostos; os parâmetros de cor (L^* , C^* , $^{\circ}H$) das mangas foram medidos usando um Konica Minolta CR-400 Chroma Meter (Minolta Corp., Japão) para casca e polpa. L^* expressa a luminosidade da cor com valores que variam de 0 = preto a 100 = branco. $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, com valores variando de 0 = menos intenso a 60 = mais intenso, e ângulo de matiz $^{\circ}H = \tan^{-1}(b^* / a^*)$, em que valores variando de 0 a 360, onde 0, 90 e 180 mostram vermelho, amarelo e verde, respectivamente. Foram realizadas duas leituras em diferentes locais de cada fruto da manga durante cada observação dos dados.

3.2.5.4 Determinação de parâmetros químicos

Sólidos solúveis (SS), por duas leituras diretas com refratômetro tipo Abbe digital, ATAGO N1 a 20 °C; Acidez titulável (AT – g ácido cítrico.100 g⁻¹ de polpa), por titulometria com solução de NaOH 0,1M; relação SS/AT, quociente de SS por AT; pH, com potenciômetro e teor de açúcares redutores e não redutores, conforme (LIMA et al., 2012).

3.2.5.5 Avaliação sensorial

A aparência dos frutos foi avaliada relativamente aos parâmetros de brilho, desidratação e à intenção de compra, conforme Rodrigues et al. (2018) através de um painel sensorial composto por 15 julgadores treinados. O julgamento das amostras codificadas foi realizado em escala não estruturada de 10 cm, na qual o participante do painel marcava a intensidade das características avaliadas com traço vertical. As amostras foram compostas por 4 frutos de cada revestimento, sendo avaliados os aspectos visuais de brilho e desidratação e a intenção de compra (entre não compraria / compraria) na qual 4 era a pontuação limite

Posteriormente, durante estágio de Programa de Doutorado Sanduíche – PDSE na Universidade Católica Portuguesa, Porto - Portugal, amostras dos frutos que constituíram o

experimento supracitado foram avaliadas quanto as transformações nos compostos funcionais e nutricionais (exceto o ácido ascórbico), descritas a seguir.

3.2.6 Experimento com mangas ‘Palmer’ – qualidade funcional

3.2.6.1 Design experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5×6 , com 5 tratamentos (0,72NADES + 0,85G; 1,78NADES + 0,15G; 1,25NADES + 0,5G e 1,25NADES e C) e 6 períodos de avaliação (0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias de armazenamento, a $23 \pm 1^\circ \text{C}$ e $75 \pm 5\% \text{UR}$). Foram consideradas 3 repetições (cada uma composta por 2 frutos) para todos os tratamentos em cada período de avaliação.

Ácido ascórbico, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante pelos ensaios DPPH e ABTS, carotenóides totais e análises individuais de conteúdo de carotenóides foram realizadas aos 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias de armazenamento. Por sua vez, aminoácidos livres foram quantificados em amostras de 0, 9 e 15 dias, enquanto a análise por cromatografia de exclusão foi realizada apenas nos tempos 0 e 15 dias de armazenamento.

Entre todos os compostos funcionais avaliados, o ácido ascórbico foi o único determinado ainda no LBTPC, com as amostras frescas, em virtude da alta susceptibilidade deste composto a degradação por oxidação após a remoção da casca e processamento para análises físico-químicas.

3.2.6.2 Preparação de extratos

Os extratos de carotenoides, aminoácidos livres e aqueles em tampão fosfato (pH 7) para FPLC foram obtidos conforme os itens 3.1.2.1, 3.1.2.2 e 3.1.2.3, respectivamente.

Os extratos metanólicos foram obtidos por meio da adição de dez mililitros de metanol aquoso (800 mL.L^{-1}) a 0,5 g de polpa de manga liofilizada e homogeneização em Ultra-Turrax por 2 min (IKA Ultra-turrax T18, Wilmington, EUA). A mistura foi centrifugada ($4000 \times g$, 10 min, 4°C) para remover detritos. O sobrenadante foi analisado quanto à atividade antioxidante e compostos fenólicos totais.

3.2.6.3 Caracterização química

O teor de ácido ascórbico foi determinado por titulação com solução de DFI (2,6-diclocofenolindofenol 0,002%) de acordo com AOAC (2005), e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹ de peso fresco.

As análises de carotenóides, a identificação de carotenoides individuais, a identificação de aminoácidos livres e a análise por cromatografia de exclusão por tamanho foram realizadas conforme os itens 3.1.3.1, 3.1.3.2 3.1.3.3 e 3.1.3.4, respectivamente.

O conteúdo total de compostos fenólicos nos extratos de manga foi determinado pelo método de Folin Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Resumidamente, foram misturados 50 mL de extrato metanólico, 50 mL de reagente Folin Ciocalteu, 1 mL de Na_2CO_3 (75 g.L⁻¹) e 1,4 mL de água ultra-pura. Os tubos triplicados de cada extrato foram deixados 60 minutos no escuro à temperatura ambiente. A absorbância da amostra foi lida a 750 nm, utilizando ácido gálico (0,0083 e 1 mg.mL⁻¹) como padrão. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por g de biomassa. As análises foram realizadas em triplicata.

Para a avaliação da atividade antioxidante pelo ensaio ABTS, resumidamente, o cátion do radical ABTS^+ foi obtido pela reação de 7 mmol.L⁻¹ de ABTS + e 2,45 mmol.L⁻¹ de persulfato de potássio. A solução ABTS^+ foi diluída com água até uma absorbância de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm. A solução ABTS^+ foi lida após 10 mL de extrato da amostra reagir por 6 min em triplicatas, para cada réplica do extrato. A capacidade antioxidante da amostra foi calculada e expressa em miligramas de capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico por g de polpa (GIÃO et al., 2007). As amostras foram analisadas em triplicado.

A capacidade antioxidante total foi expressa como porcentagem de inibição (PI), de acordo com a equação: $PI(\%) = \frac{Abs_{\text{ABTS}^{•+}} - Abs_{\text{Sample}}}{Abs_{\text{ABTS}^{•+}}} \times 100$, onde $Abs_{\text{ABTS}^{•+}}$ indica a absorbância inicial do $\text{ABTS}^{•+}$ diluído e Abs_{Sample} indica a absorbância da amostra por 6 minutos de reação. Usando a curva de calibração, previamente preparada com ácido ascórbico como padrão, os resultados finais foram assim expressos como concentração equivalente de ácido ascórbico (em mg / g).

Quanto a atividade antioxidante pelo ensaio DPPH, realizada de acordo com Brand-Williams et al. (1995), resumidamente, uma solução-mãe de DPPH 600 μM (2,2'-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)) (Sigma-Aldrich) foi preparada adicionando 24 mg a 100 mL de etanol e armazenada a -20 ° C até ser necessário. A solução de trabalho foi preparada diariamente diluindo a solução-mãe com etanol a 60 μM de DPPH até a absorbância de $0,600 \pm 0,20$ a 515 nm, medida em um espectrofotômetro UV. Um volume de 250 μL de extrato da amostra foi adicionado a 1750 μL de solução de trabalho DPPH[•] e a absorbância foi lida após 30 min de incubação no escuro e à temperatura ambiente.

Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição, I (%), da DPPH[•] da seguinte maneira:

$$I(\%) = \frac{Abs_{DPPH} - Abs_{Sample}}{Abs_{DPPH}} \cdot 100$$

Onde Abs_{DPPH} é a absorvância do DPPH• e Abs_{Sample} é a absorbância da amostra. Os ensaios foram feitos em triplicata. Usando a curva de calibração, previamente preparada com Trolox como padrão. Assim, os resultados foram expressos como concentração equivalente de trolox (em mg.g⁻¹de polpa).

3.2.6.4 Análises multivariadas

A análise de componentes principais (ACP) e análise de agrupamento foram realizadas usando o software JMP 10, do instituto SAS, para correlacionar as variáveis aminoácidos livres, carotenóides totais e individuais, fenólicos totais, atividades antioxidantes e picos de perfis de FPLC. As variáveis significativas de cada componente principal foram obtidas considerando $0,7 / (\text{valor próprio do PC})^{0,5}$ (COLLINS; OVALLES, 1988).

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, A.P.; BALLANTYNE, A.D.; CONDE, J.P.; RYDER, K.S.; WISE, W.R. Salt modified starch: sustainable, recyclable plastics. **Green Chemistry**, v. 14, p. 1302-1307, 2012.
- ABBOTT, A.P.; BOOTHBY, D.; CAPPER, G.; DAVIES, D.L.; RASHEED, R.K. Deep Eutectic Solvents Formed between Choline Chloride and Carboxylic Acids: Versatile Alternatives to Ionic Liquids. **Journal of American Chemical Society**, v.126, p. 9142-9147, 2004.
- ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n.2, p. 343-350, 2012.
- ALI, H.M.; EL-GIZAWY, A.M.; EL-BASSIOUNY, R.E.I.; SALEH, M.A. Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-cysteine reaction products. **Journal of Food Science and Technology**, v.52, n.6, p. 3651-3659, 2014
- ALMEIDA, C. M.; MAGALHÃES, J. M.; SOUZA, H. K.; GONÇALVES, M. P. The role of choline chloride-based deep eutectic solvent and curcumin on chitosan films properties. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 456-466, 2018.
- AMARIZ, A.; LIMA, M.A.C.; TRINDADE, D.C.; SANTOS, A.C.N.; RIBEIRO, T.R. Recobrimentos à base de carboximetilcelulose e dextrina em mangas ‘Tommy Atkins’ armazenada sob refrigeração. **Ciência Rural**, v. 40, n.10, p. 2199-2205, 2010.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2016. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2016. 88 p
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI&FRUTI 2019. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018. 96p.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis of the association of Official Analytical Chemistry, Washington, WA, 17th edn, 2005.
- APAI, W.; SARDSUD, V.; BOONPRASOM, P.; SARDSUD, U. Effects of chitosan and acid citric on pericarp browning and polyphenol oxidase activity of longan fruit. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 31, n. 6, p. 621-628, 2009
- ARNON, H., GRANIT, R., PORAT, R., POVERENOV, E. Development of polysaccharides-based edible coatings for citrus fruits: A layer-by-layer approach. **Food Chemistry**, v. 166, p. 465–472, 2015.
- ASSIS, J.S.; LIMA, M. A. C. Produção integrada de manga: manejo pós-colheita e rastreabilidade. Embrapa Semiárido-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2008. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/143831/1/CTE89.pdf> >. Acesso em 27 de Junho de 2016.

ASTM, 2010. ASTM Standard D3985-05(2010) e1, Test Method for Oxygen Transmission Rate Through Plastic Film and Sheeting Using a Coulometric Sensor, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2015, www.astm.org

ASTM, 2012. ASTM Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882-12. In: Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, Philadelphia (PA).

AWAD, A.M.; AL-QURASHI, A.D.; MOHAMED, S.A.; EL-SHISHTAWY, R.M. Quality and biochemical changes of ‘Hindi-Besennara’ mangoes during shelf life as affected by chitosan, gallic acid and chitosan galate. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 13, p. 4139-4148, 2017

AZEREDO, L.P.M.; SILVA, S.M.; LIMA, M.A.C.; DANTAS, R. L.; PEREIRA, W.E. Qualidade de manga ‘Tommy Atkins’ da produção integrada recoberta com fécula de mandioca associada a óleos essenciais e quitosana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 1, p. 141-150, 2016.

AZEVEDO, V.M.; SILVA, E.K.; PEREIRA, C.F.G.; COSTA, J.M.G.; BORGES, S.V. Whey protein isolate biodegradable films: influence of the citric acid and montmorillonite clay nanoparticles on the physical properties. **Food Hydrocolloids**, v.43, p. 252-258, 2015

BAHRAM, S.; REZAEI, M.; SOLTANI, M.; KAMALI, A.; OJAGH, S. M.; ABDOLLAHI, M., Whey protein concentrate edible film activated with cinnamon essential oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, p. 1251–1258, 2014.

BEAUDRY, R. M. et al. Modified-atmosphere Packaging of Blueberry Fruit: Effect of Temperature on Package O₂ and CO₂. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v. 117, n. 3, p. 436-441, 1992.

BENÍTEZ, S.; ACHAERANDIO, I.; PUJOLÀ, M.; SEPULCRE, F. *Aloe vera* as na alternative to traditional edible coatings used in fresh-cut fruits: a case of study with kiwifruit slices. **LWT – Food Science and Technology**, v. 61, p. 184-193, 2015

BIBI, F.; BALOCH, M.K. Postharvest quality and shelf life of mango (*Mangifera indica* L.) fruit as affected by various coatings. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, p. 499-507, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio: BRASIL 2014/2015 a 2024/2025, Assessoria de Gestão Estratégica, Brasília, 2015, 133 p.

BURTON-FREEMAN, B. M., SANDHU, A. K., EDIRISINGHE, I.. Mangos and their bioactive components: Adding variety to the fruit plate for health. **Food & Function**, v.8, n.9, p.3010-3032. 2017.

CALDERÓN-CASTRO, A., VEGA-GARCÍA, M. O., DE JESÚS ZAZUETA-MORALES, J., FITCH-VARGAS, P. R., CARRILLO-LÓPEZ, A., GUTIÉRREZ-DORADO, R., ... & AGUILAR-PALAZUELOS, E. Effect of extrusion process on the functional properties of high amylose corn starch edible films and its application in mango (*Mangifera indica* L.) cv. Tommy Atkins. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n.3, p. 905-914. 2018.

CAMPOS, D.A.; COSCUETA, E.R.; VALETTI, N.W.; PASTRANA-CASTRO, L.M.; TEIXEIRA, J.A.; PICÓ, G.A.; PINTADO, M.M. Optimization of bromelain isolation from pineapple byproducts by polysaccharide complex formation. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 792-804, 2019.

CARVALHO, C. R. L.; ROSSETTO, C. J.; MANTOVANI, D. M. B.; MORGANO, M. A.; CASTRO, J. V. D.; BORTOLETTO, N. Avaliação de cultivares de mangueira selecionadas pelo Instituto Agrônomo de Campinas comparadas a outras de importância comercial. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n.2, p. 264-271. 2004

CHEN, C.; PENG, X.; ZENG, R.; CHEN, M.; WAN, M.; WAN, C.; CHEN, J. Ficus hirta fruits extract incorporated into an alginate-based edible coating for Nanfeng mandarin preservation. *Scientia Horticulturae*, v. 202, p. 41-48, 2016

CHIUMARELI, M.; PEREIRA, L.M.; FERRARI, C.C.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; HUBINGER, M.D. Cassava starch coating and citric acid to preserve quality parameters of fresh-cut “Tommy Atkins” mango. *Journal of Food Science*, v.75, n. 5, p. E297-E304, 2010

CISSÉ, M.; KOUAKOU, C.A.; MONET, D.; LOISEAU, G.; DUCAMP-COLLIN, M.N. Antimicrobial and physical properties of edible chitosan films enhanced by lactoperoxidase system. **Food Hydrocolloid**, v. 30, n. 2, p. 576-580, 2013.

CISSÉ, M.; POLIDORI, J.; MONET, D.; LOISEAU, G.; DUCAMP-COLLIN, M.N. Preservation of mango quality by using functional chitosan-lactoperoxidase systems coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 101, p. 10-14, 2015.

COLLINS, M. E.; OVALLES, F. A. Variability of northwest Florida soils by principal component analysis. **Soil Science Society of America Journal**, v. 52, n.5, p. 1430-1435, 1988.

COLOMINES, G.; DECAEN, P.; LOURDIN, D.; LEROY, E. Biofriendly ionic liquids for starch plasticization: a screening approach. **Royal Society of Chemistry**, v. 6, p. 90331-90337, 2016.

CRIMINNA, R.; MENEGUZZO, F.; DELISI, R.; PAGLIARO, M. Citric acid: emerging applications of key biotechnology industrial product. *Chemistry Central Journal*, 11: 22, 2017

DAI, Y.; WITKAMP, G. J.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H.. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. **Food Chemistry**, v. 187, p. 14-19, 2015.

DANG, K.M.; YOKSAN, R. Development of thermoplastic starch blown film by incorporating plasticized chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 575 – 581, 2015.

DANTAS, A.L.; SILVA, S.M.; DANTAS, R.L.; SCHUNEMANN, A.P.P. Desenvolvimento, fisiologia da maturação e indicadores do ponto de colheita de frutos da umbugeleira (*Spondias* sp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.38, p. 33-42. 2016.

DAR, M. Saleem et al. Nutrient and flavor content of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars: an appurtenance to the list of staple foods. In: **Nutritional composition of fruit cultivars**. Academic Press, 2016. p. 445-467.

DICK, M.; COSTA, T.M.H.; GOMAA, A.; SUBIRADE, A.; SUBIRADE, M.; RIOS, A.O.; FLÔRES, S.H. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties; **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 198 – 205, 2015

DJIOUA, T.; CHARLES, F.; FREIRE JR, M.; FILGUEIRAS, H.; DUCAMP-COLLIN, M.N; SALLANON, H. Combines effects of postharvest heat treatment and chitosan coating on

quality of fresh-cut mangoes (*Magifera indica* L.). **International Journal of Food Science and Technology**, v.45, p. 849-855, 2010

FAKHOURI, F.M.; MARTELLI, S.M.; CAON, T.; VELASCO, J.I.; MEI, L.H.I. Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 109, p. 57-64, 2015.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMÉNEZ, A., MUÑOZ; J. A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 6, p. 292-303. 2011

FAOSTAT, 2018. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. Statistics Division. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>> Acesso em: 27 de Junho. 2019.

FARRÁN, A.; CAI, C.; SANDOVAL, M.; XU, Y.; LIU, J.; HERNÁIZ, M. J.; LINHARDT, R. J. Green solvents in carbohydrate chemistry: From raw materials to fine chemicals. **Chemical Reviews**, v.115, n.14, p. 6811-6853. 2015.

FAVERO, J.; BELHABIB, S.; GUESSASMA, S.; DECAEN, P.; REGUERRE, A.L.; LOURDIN, D.; LEROY, E. On the representative elementary size concept to evaluate the compatibilisation of a plasticized biopolymer blend. **Carbohydrate Polymers**, v. 172 120–129, 2017

FERRARO, V.; PICIRILLO, C.; TOMLINS, K.; PINTADO, M.E. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and Yam (*Discorea* spp.) Crops and Their Derived Foodstuffs: Safety, Security and Nutritional Value. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. v. 56, n. 16, p.2714-2727. 2016.

FERREIRA, W.H.; ANDRADEE, C.T. Characterization of glycerol-plasticized starch and grapheme oxide extruded hybrids. **Industrial Crops and Products**. v. 77, p. 684-690. 2015

FOULET, A.; GHANEM, O.B.; EL-HARBAWI, M.; LÉVÊQUE, J.M.; MUTALIB, M.I.A.; YIN, C.Y. Understanding the physical properties, toxicities and anti-microbial activities of choline-amino acid-based salts: Low-toxic variants of ionic liquids. **Journal of Molecular Liquids**, v. 221, p. 133-138, 2016.

FUKAYA, Y.; IIZUKA, Y.; SEKIKAWA, K.; OHNO, H. Bio ionic liquids: room temperature ionic liquids composed wholly of biomaterials. **Green Chemistry**, v. 9, p. 1155-1157, 2007.

GALVIS-SÁNCHEZ, A.C.; SOUSA, A.M.M.; HILLIOU, L.; GONÇALVES, M.P.; SOUZA, H.K.S. Thermo-compression molding of chitosan with deep eutectic mixture for biofilms development. **Green Chemistry**, v. 18, p. 1571-1580, 2016.

GIÃO, M. S.; GONZALEZ-SANJOSE, M. L.; RIVERO-PEREZ, M. D.; PEREIRA, C. I.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Infusions of portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. **Journal of the Science of Food Agriculture**, v.87, n.14, p. 2638-2647, 2007.

GILMORE, B.F. Antimicrobial Ionic Liquids. In: Kokorin, A. **Ionic liquids: applications and perspectives**, Rijeka, Croatia, InTech 2011. pp. 587–604.

- GONZÁLES-AGUILAR, G.A.; VILLA-RODRIGUEZ, J.A.; AYALA-ZAVALLA, J.F.; YAHIA, E.M. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as secondary response to some postharvest treatments. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, p. 475-482, 2010.
- GOUVEIA, W.; JORGE, T.F.; MARTINS, S.; MEIRELES, M.; CAROLINO, M.; CRUZ, C.; ALMEIDA, T.V.; ARAÚJO, M.E.M. Toxicity of ionic liquids prepared from biomaterials. **Chemosphere**, v. 104, p.51-56, 2014.
- GUTIÉRREZ, T. J., MORALES, N. J.; PÉREZ, E.; TAPIA, M. S.; FAMÁ, L. Physico-chemical properties of edible films derived from native and phosphated cush-cush yam and cassava starches. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 3, p. 1–8, 2015a.
- GUTIÉRREZ, T. J.; TAPIA, M. S.; PÉREZ, E.; FAMÁ, L. Structural and mechanical properties of edible films made from native and modified cush-cush yam and cassava starch. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 211–217, 2015b
- HOA, T.T.; DUCAMP, M.N. Effects of different coatings on biochemical changes of ‘Cat Hoa loc’ mangoes in storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p. 150-152, 2008.
- HU, G.; CHEN, J.; GAO, J. Preparation and characteristics of oxidized potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n.2, p. 291–298. 2009.
- IBARRA-GARZA, I.; RAMOS-PARRA, P.A.; HERNÁNDEZ-BRENES, C.; JACOBO-VELÁZQUEZ, J. Effects of postharvest ripening on the nutraceutical and physicochemical properties of mango (*Mangifera indica* L. cv Keitt). **Postharvest Biology and Technology**, v. 103, p. 45-54. 2015.
- JAHURUL, M.H.A.; ZAIDUL, I.S.M.; GHAFOR, K.; AL-JUHAIMI, F.; NYAM, K.L.; NORULAINI, N.A.N.; SAHENA, F.; OMAR, A.K.M. Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. **Food Chemistry**, v. 183, p. 173-180, 2015.
- KHALIQ, G., NISA, M., RAMZAN, M., KOONDHAR, N. Textural Properties and Enzyme Activity of Mango (*Mangifera indica* L.) Fruit Coated with Chitosan during Storage. **Journal of Agricultural Studies**, v.5, n.2, p. 32-50.2017.
- KHALIQ, G.; MOHAMED, M.T.M.; GHAZALI, H.M.; DING, P.; ALI, A. Influence of gum arabic coating enriched with calcium chloride on physiological, biochemical and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit stored under low temperature stress. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 362-369, 2016.
- KHALIQ, G.; MUDA MOHAMED, M. T.; ALI, A.; DING, P.; GHAZALI, H. M. Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. **Scientia Horticulturae**, 190, 187–194, 2015.
- KHAN, U.; BU, J.; KH, N.M.; KHAN, R.U.; JIANG, Z.; MOU, W.; LUO, Z.; MAO, L.; YING, T. Integrated treatment of CaCl₂, citric acid and sorbitol reduces loss of quality of button mushroom (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.39, n.6, p.2008-2016. 2015
- KIM, M.H.; AN, S.; WON, K.; KIM, H.J.; LEE, S.H. Entrapment of enzymes into cellulose–biopolymer composite hydrogel beads using biocompatible ionic liquid. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 75, p. 68-72, 2012.

- KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; GODOY, H. T. Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamin A. **Food Chemistry**, v. 35, p. 187-195. 1990.
- KOU, X.H.; GUO, W.; GUO, R.; LI, X.; XUE, Z. Effects of chitosan, calcium chloride, and pullulan coating treatments on antioxidant activity in pear cv. "Huang guan" during storage. **Food Bioprocess Technology**, v.7, p. 671-681, 2014
- KOUAMÉ, V. N.; HANDSCHIN, S.; DERUNGS, M.; AMANI, G. G.; CONDE-PETIT, B. Thermal properties of new varieties of yam starches. **Starch/ Stärke**. v.63, p. 747 – 753. 2011
- LAOHAKUNJIT, N.; NOOMHORM, A. Effect of plasticizers on mechanical and barrier properties of rice starch film. **Starch – Stärke**, v. 56, v. 8, p. 348-356. 2004
- LAURICELLA, M.; EMANUELE, S.; CALVARUSO, G.; GIULIANO, M.; D'ANNE, A. Multifaceted health benefits of *Mangifera indica* L. (mango): the inestimable value of orchards recently planted in Sicilian rural areas. **Nutrients**, v.9, n.5, p. 525. 2017
- LEROY, E.; DECAEN, P.; JACQUET, P; COATIVY, G.; PONTOIRE, B.; REGUERRE, A.L.; LOURDIN, D. Deep eutectic solvents as functional additives for starch based plastics. **Green Chemistry**, v. 14, p. 3063-3066, 2012.
- LI, Z.; WANG, N.; VIJAYA RAGHAVAN, G.S.; VIGNEAULT, C. Ripeness and rot evaluation of 'Tommy Atkins' mango fruit through volatiles detection. **Journal of Food Engineering**, v. 91, p. 319-324, 2009.
- LIMA, A.B.; SILVA, S.M.; ROCHA, A.N.; NASCIMENTO, L.C.; RAMALHO, F.S. Conservação pós-colheita de manga 'Tommy Atkins' orgânica sob recobrimentos bio-orgânicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 3, p. 704 – 710, 2012.
- LIU, K.; LIU, J.; YUAN, C.; ZHONG, J.; CHEN, Y. Influence of postharvest citric acid and chitosan coating treatment on ripening attribute and expression of cell wall related genes in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) fruit. *Scientia Horticulturae*, v.198, p. 1-11, 2016
- MALDONADO-CELIS, M. E.; YAHIA, E. M.; BEDOYA, R.; LANDÁZURI, P.; LOANGO, N.; AGUILLÓN, J., RESTREPO, B.; OSPINA, J. C. G.. Chemical composition of mango (*Mangifera indica* L.) fruit: nutritional and phytochemical compounds. **Frontiers in Plant Science**, v.10, 2019.
- MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F. Starch films: production, properties and potential of utilization. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.
- MARAN JP, SIVAKUMAR V, THIRUGNANASAMBANDHAM K, SRIDHAR R Response surface modeling and analysis of barrier and optical properties of maize starch edible films. **International Journal of Biological Macromolecules** v.60, p.412–421. 2013.
- MARQUES, E.J.N; FREITAS, S.T.; PIENTEL, M.F.; PASQUINI, C. Rapid and non-destructive determination of quality parameters in the 'Tommy Atkins' mango using a novel handheld near infrared spectrometer. **Food Chemistry**, v. 197, Part B, p. 1207-1214, 2016.
- MARTÍNEZ-ROMERO, D.; CASTILLO, S.; GUILLÉN, F.; DÍAZ-MULA, H.M.; ZAPATA, P.J.; VALERO, D.; SERRANO, M. *Aloe vera* gel coating maintains quality and safety of ready-to-eat pomegranate arils. **Postharvest Biology and Technology**, v.86, p. 107-112, 2013

- MEKONNEN, T.; MUSSONE, P.; KHALIL, H.; BRESSLER, D. Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 1, n. 43, p. 13379-13398, 2013
- MOALEMIYAN, M.; RAMASWAMY, H.S.; MAFTOONAZAD, N. Pectin-based coating for shelf-life extension of 'Ataulfo' mango. **Journal of Food Process Engineering**, v. 35, n. 4, p. 572-600, 2012
- NARESH, K.; VARAKUMAR, S.; VARIYAR, P.S.; SHARMA, A.; REDDY, O.V.S. Enhancing antioxidant activity, microbial and sensory quality of mango (*Mangifera indica* L.) juice by γ -irradiation and its in vitro radioprotective potential. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 7, p. 4054-4065, 2015.
- NCAMA, K.; MAGWAZA, L. S.; MDITSHWA, A.; TESFAY, S. Z. Plant-based edible coatings for managing postharvest quality of fresh horticultural produce: A review. **Food Packaging and Shelf Life**, v.16, p.157-167, 2018.
- OHNO, H.; FUKOMOTO, K. Amino acid ionic liquids. **Accounts of Chemical Research**, v. 40, n. 11, p. 1122-1129, 2008.
- OLIVEIRA, A.; ALEXANDRE, E.M.C.; COELHO, M.; BARROS, R.M.; ALMEIDA, D.P.F.; PINTADO, M. Peach polyphenol and carotenoid content as affected by frozen storage and pasteurization. **LWT – Food Science and Technology**, v. 66, p. 361-368. 2016.
- ORNELAS-PAZ, J.J.; YAHIA, E.M.; GARDEA, A.A. Changes in external and internal color during postharvest ripening of 'Manila' and 'Ataulfo' mango fruit and relationship with carotenoid content determined. **Postharvest Biology and Technology**, v. 50, p. 145-152. 2008.
- PAIVA, A.; CRAVEIRO, R.; AROSO, I.; MARTINS, M.; REIS, R.L.; DUARTE, A.R.C. Natural Deep Eutectic Solvents – Solvents for the 21st Century. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**. v.2, n.5, p.1063-1071. 2014.
- PALAFIX-CARLOS, H.; YAHIA, E.M.; GONÁZLEZ-AGUILAR, G.A. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. **Food Chemistry**, v. 135, p. 105-111. 2012.
- PENDLETON, J.N.; GILMORE, B.F. The antimicrobial potential of ionic liquids: A source of chemical diversity for infection and biofilm control. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 46, n. 2, p. 131–139, 2015.
- PINTO, A.C.Q.; PINHEIRO NETO, F.; GUIMARÃES, T.G. Mango breeding strategies on focus to the dynamic of the market. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 64-72. 2011.
- PLOTTO, A.; NARCISO, J.A.; RATTANAPANONE, N.; BALDWIN, E.A. Surface treatments and coatings to maintain fresh-cut mango quality in storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 13, p. 2333-2341, 2010
- PROESTOS, C.; LOUKATOS, P.; KOMAITIS, M. Determination of biogenic amines in wines by HPLC with precolumn dansylation and fluorimetric detection. **Food Chemistry**, v. 106, n.3, p. 1218-1224, 2008.

RAMANA RAO, T.V.; BARAIYA, N.S.; VYAS, P.B.; PATEL, D.M. Composite coating of alginate-olive oil enriched with antioxidants enhances postharvest quality and shelf life of Ber fruit (*Ziziphus mauritiana* Lamk. Var. Gola). **Journal of Food Science Technology**, v.53, n.1, p. 748-756, 2016

REIS, R.C.; CORREA, P.C.; DEVILLA, I.A.; SANTOS, E.S.; ASCHERI, D.P.R.; SERVULO, A.C.O.; SOUZA, A.B.M. Drying of yam starch (*Dioscorea* ssp.) and glycerol filmogenic solutions at different temperatures. **LWT –Food Science and Technology**. v. 50, p. 651-656, 2013.

RIBEIRO, S. M. R.; SCHIEBER, A. Bioactive compounds in mango (*Mangifera indica* L.). In: **Bioactive foods in promoting health**. Academic Press, 2010. p. 507-523.

RIBEIRO, S.M.R.; QUEIROZ, J.H.; QUEIROZ, M.E.L.; CAMPOS, F.M.; SANT'ANA, M.P. Antioxidant in Mango (*Mangifera indica* L.) Pulp. **Plants Food for Human Nutrition**, v. 62, n.1, p. 13–17. 2007.

ROBLES-SANCHEZ, R.M., ROJAS-GRAÜ, M.A., ODRIOZOLA-SERRANO, I., GONZÁLEZ-AGUILAR, G. & MARTÍN-BELLOSO, O. Influence alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. **LWT – Food Science and Technology**, v.50, p.240-246.2013

ROBLES-SANCHEZ, R.M.; ROJAS-GRAÜ, M.A.; ODRIOZOLA-SERRANO, I.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut mango (*Mangifera indica* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v.51, p. 384-390, 2009.

RODRIGUES, A.A.M.; SILVA, S.M.; DANTAS, A.L., SILVA, A. F. S., SILVA, L; MOREIRA, D.N. Physiology and postharvest conservation of 'Paluma' guava under coatings using Jack fruit seed-based starch. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, .2, p. e-352. 2018.

ROMERO-BASTIDA, C. A.; BELLO-PÉREZ, L. A.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; SOLORZA-FERIA, J.; ZARITZKY, N. E. Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, n.2, p. 235–244. 2005.

ROSALIE, R.; JOAS, J.; DEYTIEUX-BELLEAU, C.; VULCAIN, E.; PAYET, B.; DUFOSSÉ, L.; LÉCHAUDÉL, M. Antioxidant and enzymatic responses to oxidative stress induced by pre-harvest water supply reduction and ripening on mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Cogshall') in relation to carotenoid content. **Journal of Plant Physiology**, v. 184, p. 68-78. 2015.

RUGCHATI, O.; THANACHAROENCHANAPHAS, K. Application of Biodegradable Film from Yam (*Dioscorea alata*) Starch in Thailand for Agriculture Activity. **International Journal of Environmental and Rural Development** v. 6, n. 1, p. 28-33, 2015.

RUß, C; KÖNIG, B. Low melting mixtures in organic synthesis – an alternative to ionic liquids? **Green Chemistry**, v. 14, p. 2969-2982, 2012.

SABATO, S.F.; SILVA, J.M.; CRUZ, J.N.; SALMIERI, S.; RELA, P.R.; LACROIX, M. Study of physical–chemical and sensorial properties of irradiated Tommy Atkins mangoes (*Mangifera indica* L.) in an international consignment. **Food Control**, v. 20, n. 3, p. 284-288, 2009.

SANCHÍS, E.; GONZÁLEZ, S. GHIDELLI, C.; SHETH, C.; MATEOS, M.; PALOU, L.; PÉREZ-GAGO, M.B. Browning inhibition and microbial control in fresh-cut persimmon (*Diospyros kaki* Thunb, cv. Rojo Brillante) by apple pectin-based edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 112, p. 186-193, 2016

SEPTEMBRE-MALARTE, A.; REMIZE, F.; POUCHERET, P. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. **Food Research International**, v.104, p. 89-99, 2018.

SHAMSURI, A.A.; DAIK, R. Plasticizing effect of choline choline/urea eutectic-based ionic liquid on physicochemical properties of aragose films. **BioResources**, v. 74, p.4760-4775, 2012.

SHIRAI, M. A.; GROSSMANN, M. V. E.; MALI, S.; YAMASHITA, F.; GARCIA, P. S.; MÜLLER, C. M. O. Development of biodegradable flexible films of starch and poly (lactic acid) plasticized with adipate or citrate esters. **Carbohydrate Polymers**, v.92, n.1, p.19-22. 2013.

SHIT, S.; SHAH, P.M. Edible Polymers: Challenges and Opportunities. **Journal of Polymers**. v. 2014, 13p. 2014.

SILVA, AC.; SOUZA, A.P.; LEONEL, S.; SOUZA, M.E.; RAOS, D.P.; TANAKA, A.A. Growth and flowering of five mango cultivar under subtropics conditions of Brazil. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 3, p. 302-402, 2014.

SILVA, D. F. P.; SIQUEIRA, D. L.; ROCHA. A.; SALOMÃO. L. C. C.; MATIAS, R. G. P.; STRUIVING, T. B. Diversidade genética entre cultivares de mangueiras baseada em caracteres de qualidade dos frutos. **Revista Ceres**, v.59, n.2, p. 225-232. 2012.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, n.3, p.144-158. 1965.

SIVAKUMAR, D.; JIANG, Y.; YAHIA, E. M. Maintaining mango (*Mangifera indica* L.) fruit quality during the export chain. **Food Research International**, v. 44, p. 1254–1263, 2011.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J.M. Plasticizers in edible films and coatings. In: HAN, J.H., **Innovations in Food Packaging**. London: Academic Press, 2005, p. 403-433

SOUSA, A.M.M.; SOUZA, H.K.S.; LIU, L.; GONÇALVES, M.P. Alternative plasticizers for the production of thermo-compressed agar films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 76, p. 138-1145, 2015.

STEFANESCU, C.; DALY, W.H.; NEGULESCU, I.I. Biocomposite films prepared from ionic liquid solutions of chitosan and cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 435-443, 2012.

STROHECKER, R.; HENNING, H.M. **Análises de vitaminas: métodos comprovados**, Madrid: Paz Montolvo, 1967. 428 p.

TALCOTT, S.T., MOORE, J.P., LOUNDS-SINGLETON, A.J., PERCIVAL, S.P. Ripening associated phytochemical changes in mangoes (*Mangifera indica*) following thermal quarantine and low-temperature storage. *Journal of Food Science*, v. 70, n. 5, p. 337–341. 2005.

- TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans - Review Article. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, n. 10, p. 360 – 374, 2016.
- TOMÉ, L. I., BAIÃO, V., DA SILVA, W., BRETT, C. M. Deep eutectic solvents for the production and application of new materials. **Applied Materials Today**, v.10, p.30-50. 2018.
- TURHAN, K.N.; SSANCAK, Z.O.E.; AYANA, B.; ERDOĞDU, F. Optimization of glycerol effect on the mechanical properties and water vapor permeability of whey protein-methylcellulose films. **Journal of Food Process Engineering**. v. 30, n.4, p. 485-500, 2007
- VAN OSCH; D. J., KOLLAU; L. J.; VAN DEN BRUINHORST, A.; ASIKAINEN, S.; ROCHA, M. A.; KROON, M. C. Ionic liquids and deep eutectic solvents for lignocellulosic biomass fractionation. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v.19, n.4, p. 2636-2665. 2017.
- VENTURA, S.P.M.; MARQUES, C.S.; ROSATELLA, A.A.; AFONSO, C.A.M.; GONÇALVES, F.; COUTINHO, J.A.P. Toxicity assessment of various ionic liquid families toward *Vibrio fischeri* marine bacteria. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 162-168, 2012.
- WANG, S.; PENG, X.; ZHONG, L.; JING, S.; JING, S.; CAO, X.; L, F.; SUN, R. Choline chloride/urea as an effective plasticizer for production of cellulose films. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p.133-139, 2015.
- WANG, S.Y.; GAO, H. Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) **LWT – Food Science and Technology**, v. 52, p. 71-79, 2013
- WU, Z.; WU, J.; PENG, T.; LI, Y.; LI, D.; XING, B.; LI, C.; YANG, Y.; ZHANG, L.; MA, R.; WU, W.; LV, X.; DAI, J.; HAN, G. Preparation and application of starch/polyvinyl alcohol/citric acid ternary blend antimicrobial functional food packaging films. **Polymers**, v. 9, n. 3, 102, 2017.
- XIE, F.; FLANAGAN, B.M.; LI, M.; SANGWAN, P.; TRUSS, R.W.; HALLEY, P.J.; STROUNINA, E.V.; WHITTAKER, A.K.; GIDLEY, M.J.; DEAN, K.M.; SHAMSHINA, J.L.; ROGERS, R.D.; McNALLY, T. Characteristics of starch-based films plasticized by glycerol and by the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate: A comparative study. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 841-848, 2014.
- ZDANOWICZ, M.; JOHANSSON, C. Mechanical and barrier properties of starch-based films plasticized with two- or three component deep eutectic solvents. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p.103-112, 2016.
- ZDANOWICZ, M.; SPYCHAJ, T. Ionic liquids as starch plasticizers solvents. **Polimery**, n. 56, p. 861-864, 2011.
- ZDANOWICZ, M.; WILPISZEWSKA, K.; SPYCHAJ, T. Deep eutectic solvents for polysaccharides processing. A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 200, p. 361-380, 2018.
- ZERBINI, P.E.; VANOLI, M.; RIZZOLO, A.; GRASSI, M.; PIMENTEL, R.M.A.; SPINELLI, L.; TORRICELLI, A. Optical properties, ethylene production and softening in mango fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 101, p. 58-65, 2015.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do Experimento 1 foram organizados sob forma de um artigo científico para submissão no periódico *Journal of Agriculture and Food Chemistry* (ISSN: 0021-8561, fator de Impacto: 3.154 e Qualis CAPES A1 em Ciência de Alimentos), apresentado no item 4.1, a seguir.

Os resultados do Experimento 2, por sua vez, originaram dois artigos científicos e a elaboração de uma patente de processo e produto:

a) O primeiro artigo do segundo experimento (item 4.2) foi escrito nas normas de submissão do periódico *Postharvest Biology and Technology* (ISSN: 0925-5214 Fator de Impacto: 3.927 Qualis CAPES A1 em Ciência de Alimentos:) contendo os dados da elaboração dos recobrimentos e seus filmes, contendo *natural deep eutectic solvent* – NADES, e do efeito da aplicação desses recobrimentos na taxa respiratória, qualidade física, físico-química e sensorial de mangas ‘Palmer’.

b) O segundo artigo do experimento 2 (item 4.3) foi preparado para submissão no periódico *Innovative Food Science & Emerging Technologies* (ISSN: 1466-8564, fator de Impacto: 4.085 e Qualis CAPES A1 em Ciência de Alimentos) com os dados referentes a qualidade funcional da manga ‘Palmer’ sob os recobrimentos contendo NADES:

c) A patente (item 4.4), relativa ao processo de formulação do NADES de cloreto de colina com ácido cítrico, incluindo a proposta de utilização deste NADES como plastificante para filmes e recobrimentos à base de amido, foi elaborada para submissão na Agência UFPB de Inovação Tecnológica (INOVA-UFPB) - Núcleo de Inovação Tecnológica (NIT) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

4.1 ARTIGO 1

REGIONAL BRAZILIAN MANGO VARIETIES AS HEALTH-PROMOTING PHYTOCHEMICALS SOURCES

Artigo Submetido

(Journal of Agriculture and Food Chemistry, fator de Impacto: 3.154)

Regional Brazilian mango varieties as health-promoting phytochemicals sources

Mariany Cruz Alves da Silva ^a, Alex Sandro Bezerra de Sousa ^a, Ana Amaro^b; Ana Oliveira ^b,
Silvanda de Melo Silva ^{a*}, Manuela Pintado ^b

Affiliations:

^a *Universidade Federal da Paraíba, LBTPC - Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita, Centro de Ciências Agrárias - Campus II, Rodovia BR 079 - Km 12, CEP: 58.397-000, Areia – PB, Brasil*

^b *Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Diogo de Botelho, 1327 | 4169-005 Porto, Portugal*

* Corresponding author. Silvanda Silva, Tel +55 83 99928-8165, E-mail address: silvasil@cca.ufpb.br

ABSTRACT

This study evaluates the carotenoids, free amino acids (FAAs), and peptides profiles of mango varieties from Northeast Brazil ('Maranhão', 'Cunha', 'Espada', 'Jasmim', 'Extrema' and 'Rosa') comparing with the commercial's ('Alphonso' and 'Tommy Atkins'). 'Rosa' and 'Jasmim' presented the highest carotenoids with 'Rosa' showing the highest β -carotene and zeaxanthin contents (50.4 and 0.17 $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectively). 'Cunha' showed the highest violaxanthin (7.71 $\mu\text{g.g}^{-1}$), contrarily to 'Tommy Atkins' (1.63 $\mu\text{g.g}^{-1}$). Regarding FAAs, 'Rosa' presented the highest content (1990.14 $\mu\text{g.g}^{-1}$) and 'Maranhão' was the only one with methionine and isoleucine (31.0 and 104.8 $\mu\text{g.g}^{-1}$). Regional varieties exhibit most diverse peptides profiles, especially 'Rosa' and 'Extrema'. 'Rosa' was also discriminated as superior in term of phytochemicals. The distinct metabolites profiling allowed to discriminate the varieties and demonstrated that these regional mangos are rich in bioactive compounds (β -carotene, zeaxanthin and tyrosine) that promote health and can represent suitable quality markers to establish distinct traceability of varieties authenticity.

KEYWORDS: *Mangifera indica* L., regional varieties, β -carotene, zeaxanthin, violaxanthin, proteome, peptides, essential amino acids

INTRODUCTION

Brazil is the seventh largest mango producer in the world with the Northeast region emerging as the largest producing region, accounting in 2017 for 74% of the national production¹ destined to internal and external fresh fruit markets². According to data from the Agrostat system of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA), in 2017, mango was the most exported fruit in Brazil, with a value of US \$ 205,111,150.00.

The commercial Brazilian mangos are based on a few American cultivars with Tommy Atkins representing approximately 80% of the planted area ³. Among the most produced commercial varieties in Brazil are also ‘Keitt’, ‘Kent’ and ‘Palmer’ ⁴. However, there is a large number of mango varieties of regional occurrence, important for the regional market, such as ‘Amarelinha’, ‘Espada’, ‘Rosa’, ‘Jasmim’, ‘Extrema’, ‘Felipe’, ‘Oliveira Neto’, ‘Soares Gouveia’, ‘Taú’ and ‘Ubá’ ⁵⁻⁷, which are still underexploited. There is a lack of information about the quality of the fruit, especially regarding their nutritional aspects.

The mango is valued throughout the world for its particular sensory characteristics, as well as for its composition, usually designated as “king of fruits”, with a high nutritional value and antioxidant activity and, thus, considered a relevant source of bioactive compounds such as phenolics, carotenoids and vitamin C ⁶⁻⁹.

In terms of chemical composition, the nutritional components of mango can be grouped into macronutrients in which are carbohydrates, proteins, amino acids, lipids, fatty and organic acids, micronutrients including vitamins and minerals, and phytochemicals namely phenolics, pigments, and volatile constituents ¹⁰.

In view of the escalating increase in the world’s population, mango may exert a strategic role among fruit crops to serve as a staple food, since, in addition to its worthy nutritional value, it has a comparatively better potential for growing in poor and marginal soils, with less inputs, tending to withstand stress or climatic extremities ¹¹.

The biosynthesis of carotenoids is one of the most important biochemical processes in mangoes. For that reason, these have been the target of studies with different cultivars. Their pathways have been recognized as the precursors of vitamin A, besides the important role in fruit color and functional value ^{7,12-16}.

Despite studies focusing on metabolites such as phenolic compounds and carotenoids in mangoes, not much is known about the fruit proteome ¹⁷, its peptide profile and amino acids

composition are not widely known, although important transcriptome and proteome studies have been published ^{18–19}.

Free amino acids (FAAs) are significantly beneficial to human health because they can be used as nutrients and/or act as messengers that target specific receptors ²⁰. The presence of FAAs in plants suggests that they also provide a benefit to these species, used as signaling molecules to regulate cellular functions, including gene expression, redox-homeostasis ²¹, ester biosynthesis ²² and enzymatic activity ²³.

It is important to emphasize that when comparing the chemical distribution of bioactive compounds in different varieties of the same species, differences or similarities can be used to explain variations such as pharmacological activity. In addition, the difference in the presence or absence of compounds also depend on the fruit to fruit variability, which can be explained by the maturation and fruit growth conditions ²⁴.

Compounds such as free sugars, organic and amino acids (free and included in proteins) are natural components of many fruits and vegetables. In addition to the contribution for the nutritional value, these compounds also play important roles in maintaining sensorial quality of these products. Moreover, these bioactive compounds can be used as quality markers for authenticity, which consequently has an impact on the value of the food on product market ²⁵.

Mangoes regional varieties characterization holds promise to add value increasing the possibilities of exploration by establishing the base for new scientific advances in the development of new cultivars, development of derived products and/or extraction of functional compounds ¹⁰⁻¹¹.

Based on the above, this study aims to explore and discriminate the nutritional and functional value of mango varieties from Northeast Brazil, ('Cunha', 'Espada', 'Extrema', 'Jasmim', 'Maranhão', and 'Rosa') compared with commercial cultivars ('Alphonso' and 'Tommy

Atkins') establishing the metabolic profiling of pulp carotenoids, FAAs and peptides and explore the value as a authenticity strategy.

MATERIAL AND METHODS

Chemicals

β -carotene standard was purchased from Sigma-Aldrich (Sintra, Portugal) and violaxanthin and zeaxanthin from Extrasynthese (Lyon, France). o-Phthalaldehyde, o-phthalic dicarboxaldehyde, benzene-1,2-dicarboxaldehyde (OPA), and amino acid standards were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Protein standards (thyroglobulin, 669 KDa; ferritin, 440 KDa; aldolase, 158 KDa; conalbumin, 75 KDa; Ovalbumin, 43 KDa; carbonic anhydrase, 29 KDa; ribonuclease A, 13.7 KDa; aprotinin, 6.5 KDa) were purchase from GE Healthcare (USA). All reagents were analytical grade.

Raw Material

Fruit from 5 local mango varieties 'Cunha', 'Espada', 'Extrema', 'Jasmim', 'Maranhão' and 'Rosa'; and the commercial cultivars 'Alphonso' and 'Tommy Atkins' were manually harvested from state of Paraíba, Northeast Brazil area. After harvest, the fruit was exposed to ambient conditions (24 ± 2 °C, Relative Humidity 85%) for maturity evaluation (characterized by firmness from 23.7 N to 'Alphonso', 15.17 N to 'Cunha', 26.3 N to 'Espada', 20.06 N to 'Extrema', 6.19 N to 'Jasmim', 38.09 N to 'Manguita', 20.25 to 'Maranhão', to 20.76 to 'Rosa' and 19.45 to 'Tommy Atkins'). Twenty-five mangoes per variety were processed, separating the pulp and peel portions, preparing 5 replicates for the evaluations. The pulps replicated by variety were homogenized and freeze-dried until analysis.

Extracts preparation

Carotenoids extracts

Carotenoids were extracted as described by Wright and Kader ²⁶, with some modifications. Briefly, to prepare the carotenoids extracts, 500 mg of freeze-dried pulps were homogenized with 5 mL of cooled ethanol using an Ultra-Turrax (IKA T18, Wilmington, NC, USA), with 8 mL of hexane added before. Following centrifugation (5000 g for 10 min at 4 °C) the hexane layer was transferred to a volumetric flask. The residue was re-extracted with 2.5 mL of saturated sodium chloride solution and hexane (8 mL), centrifuged as above, and the two hexane extracts were combined. Saponification was according to Kimura et al. (1990)²⁷. Hexane extract was added to 30 mL of 10% methanolic potassium hydroxide in a sealed Pyrex bottle wrapped in aluminum foil to exclude light. The reaction was carried out for 16 h at room temperature, with gentle agitation. The mixture was then washed with 10% NaCl (30 mL) and then deionized water, until the pH value of the rinse was neutral. All extracts were performed in triplicate samples.

Free amino acids extracts

FAAs extracts were obtained from the homogenization of 100 mg of freeze-dried mangoes in 2.0 mL ultrapure H₂O. The homogenate was centrifuged at 5000 g for 10 min, and the supernatant was filtered through a 0.45- μ m filter membrane.

Extracts in phosphate buffer (pH 7) for FPLC

To obtain extracts for FPLC analysis, 60 mg of sample were dissolved in 4 mL of 0.25 M phosphate buffer (pH 7) containing 0.15 M NaCl and 0.2 g.L⁻¹ NaN₃ and agitated. The aqueous solution was then centrifuged at 5000 g for 10 min at 4 °C and the supernatant was filtered through a 0.45 μ m filter membrane, prior to FPLC analysis.

Chemical characterization

Total Carotenoids analysis

Total carotenoids (expressed in β -Carotene equivalent) were quantified by measuring absorbance at 454 nm as above, using a calibration curve of pure β -Carotene (0.005 e 0.021 mg.mL⁻¹) standard and expressed as $\mu\text{g.g}^{-1}$ ²⁸.

Identification and quantification of carotenoids

Carotenoid content was also analyzed by HPLC using a Vydac 201TP54 C18 column (250 mm $\times$ 4.6 mm), equipped with a C18 pre-column. Carotenoids were eluted using acetonitrile, methanol, dichloromethane, hexane and ammonium acetate (55:22:11.5:11.5:0.02) under isocratic conditions at 1.0 mL min⁻¹ flow rate over 20 min, at 25 °C. Injection volume was 40 μL and the detector was set at 454 nm. β -Carotene, violaxanthin and zeaxanthin were quantified using calibration curves ²⁸.

Free amino acids identification

The evaluation of the pulp FAAs content and profiles was performed by pre-column derivatization using orthophthalaldehyde (OPA) methodology. Isoindole-type fluorescent derivatives were formed in an alkaline solution (borate buffer pH 10.4) from OPA, 2-sulfanylethanol and the primary amine group of the amino acid. The derivatives were separated by HPLC, using a Chromolith® Performance RP18 (4.6 * 100 mm) column from Merck, coupled to a fluorescence detector. 100 μL of each sample, at concentration of 50 mg.mL⁻¹ were derivatized according to the OPA method and injection volume of derivatives was 20 μL ²⁹.

Analysis by size exclusion chromatography

The freeze-dried mango extracts molecular weight distribution in phosphate buffer was performed by gel filtration chromatography using the FPLC (fast protein liquid chromatography-gel filtration) AKTA Pure 25 system coupled with two gel filtration columns: Superdex 200 increase10/300 G L and Superdexpeptide, 10/300 G L (GE Healthcare Life Sciences, Freiburg, Germany). The mobile phase was 25 mM phosphate buffer (pH 7.0), 150

mM sodium chloride and 0.2 g.L⁻¹ sodium azide. The flow of eluent was 0.5 mL.min⁻¹ and was monitored by absorbance at 280 nm.

Standard proteins with known molecular weights (thyroglobulin, 669 KDa; ferritin, 440 KDa; aldolase, 158 KDa; conalbumin, 75 KDa; ovalbumin, 43 KDa; carbonic anhydrase, 29 KDa; ribonuclease A, 13.7 KDa; aprotinin, 6.5 KDa) were used to establish the MW standard curve according to Campos et al.³⁰. The software used to evaluate samples was UNICORN 7.0.

Statistical Analysis

Data obtained for mango varieties total carotenoids and profiles were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the means were compared by the Scott-knott test at up to 5% probability.

Multivariate analysis

Principal components analysis (PCA) and clustering analysis were performed in *R* software to correlate the variables FAAs, total and individual carotenoids and peptides. The significant variables of each principal component were obtained considering $0.6/(\text{PC eigenvalue})^{0.5}$, adapted from Collins & Ovalles (1988)³¹.

RESULTS AND DISCUSSION

Total Carotenoids

Total carotenoids (TC) differed significantly ($p < 0.05$) among varieties (see Table 1). Overall, mean TC contents were superior in the regional varieties. The ‘Jasmim’ mango may be highlighted by the highest content of TC (350.74 $\mu\text{g.g}^{-1}$ DW), followed by ‘Rosa’ (292.87 $\mu\text{g.g}^{-1}$), both regional varieties, demonstrating the superior content among all the varieties including the commercial ones (Table 1). Comparing within the commercial varieties, ‘Alphonso’ mango presented superior TC content than ‘Tommy Atkins’.

Table 1. Total carotenoid content mango pulp varieties extracts, expressed in β -carotene equivalents.

Mango variety		Total carotenoid ($\mu\text{g } \beta\text{-carotene.g}^{-1}$ FW)
Commercial	Alphonso	95.88 ± 0.0018 c
	Tommy Atkins	80.90 ± 0.0014 e
Mean		88.39
Regional	Cunha	70.86 ± 0.0005 f
	Espada	54.02 ± 0.0016 g
	Extrema	34.25 ± 0.0012 h
	Jasmim	207.54 ± 0.008 a
	Maranhão	89.28 ± 0.0007 d
	Rosa	173.30 ± 0.0039 b
Mean		104.87

Values are mean $\pm$ SD (n = 3). Means followed by the same lowercase letter in the column do not differ by the Scott-Knott test ($P < 0.05$). FW = fresh weight.

'Jasmim' and 'Rosa' TC contents were more than 2.5-fold higher than the commercial cultivars and more than 5-fold higher than the regional 'Extreme'. The significant difference in the TC levels was reported by Sellamuthu et al.³² in six commercial mango varieties from South Africa, ranging from 9.0 ('Tommy Atkins') to 92 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW ('Sabre'). On the other hand, the relationship between Pakistani mango cultivars for TC was not significant despite averages in the range of 17.71 – 69.99 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW for 'Faiz Kareem' and 'Chaunsa', respectively³³.

In the case of the mango varieties produced in Brazil, cultivars from Instituto Agronômico de Campinas showed values of TC ranging from 21 and 94 $\mu\text{g.g}^{-1}$ in 'Van Dyke' and 'Espada Vermelha', respectively³⁴. For ripe mangoes from 22 foreign samples belonging to the Active Germplasm Bank of Embrapa Semiárido, state of Bahia - Brazil, Ribeiro et al.⁹ reported levels ranging from 3.8 $\mu\text{g.g}^{-1}$ ('Olour' and 'Black Java') to 23.0 $\mu\text{g.g}^{-1}$ ('Amrapali') of TC in fresh weight, which is lower than those determined herein, since the lowest TC content was 34.25 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW for 'Extrema'. Ribeiro et al.⁷ reported TC average levels of 25.00 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW for 'Palmer', 'Ubá' and 'Tommy Atkins' mangoes from Minas Gerais, Brazil. However, the

TC content found in the present study for 'Tommy Atkins' was more than 3-fold highest (80.90 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW).

In the tropical and subtropical areas the climate enhances carotenoids biosynthesis and this is reflected in the results found in the literature for fruits of the same cultivars produced in Northern and Northeastern Brazil (hot climate regions) containing distinctly higher carotenoid contents than those produced in temperate climates (Rodriguez-Amaya et al. 2008) ³⁵.

Furthermore, factors such as cultivar or variety, geographic site of production, stage of maturity, part of the plant consumed, harvesting and postharvest handling, processing and storage can affect carotenoid composition of foods ³⁶.

Carotenoids are responsible for the mango mesocarp yellow/orange coloration. Up to 25 diverse carotenoids have been already identified in this portion of fruit, such as lutein, provitamin A, α -carotene, β -cryptoxanthin and β -carotene ¹³, which are among the most commonly found in human plasma, along with zeaxanthin that has been frequently regarded by its health-promoting benefits ³⁵. Fresh mangoes have been regarded as staple food ¹¹, since they provide higher systemic levels of provitamin A than the processed form, such as juice and dried mango ¹⁶.

Carotenoid profile

The main carotenoid identified in mangoes was β -carotene, followed by violaxanthin and zeaxanthin. 'Rosa' was distinguished by the highest content of β -carotene and zeaxanthin, while 'Cunha' showed the highest content of violaxanthin (2.333 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). The commercial 'Tommy Atkins' showed the disadvantage of presenting the lowest content of violaxanthin and the second lowest content of β -carotene when compared to the regional mango varieties (Table 2).

Table 2. Carotenoid content in the mango pulp varieties extracts

Mango variety	Carotenoid ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
---------------	--

		Violaxanthin		Zeaxanthin		β -carotene	
		$\mu\text{g.g}^{-1}$ FW	%RSD	$\mu\text{g.g}^{-1}$ FW	%RSD	$\mu\text{g.g}^{-1}$ FW	%RSD
Commercial	Alphonso	3.505 d	10.121	0.101 b	5.144	29.073 c	0.448
	Tommy Atkins	1.628 f	0.711	0.055 e	2.324	11.047 g	0.437
	Mean	2.566		0.078		20.060	
Regional	Cunha	7.712 a	2.333	0.079 c	7.633	14.223 e	1.882
	Espada	4.686 c	2.268	0.069 d	1.133	12.851 f	2.031
	Extrema	2.147 e	0.233	0.042 g	1.173	5.752 h	0.239
	Jasmim	4.824 c	1.503	0.048 f	2.230	46.420 b	0.526
	Maranhão	2.395 e	0.378	0.070 d	0.629	16.149 d	1.341
	Rosa	6.237 b	3.216	0.174 a	2.146	50.421 a	0.55
	Mean	4.667		0.080		24.302	

Values are mean $\pm$ SD (n = 3). In the column, means followed by the same lowercase letter do not differ by the Scott-Knott test ($P < 0.05$). FW = Fresh weight

β -carotene and zeaxanthin are phytochemicals of great importance since these are among the 20 carotenoids normally found in the human blood and tissues, which are regarded as the main components to promote eye health^{37 - 38}. Moreover, these carotenoids are well-known for their excellent reactive oxygen species (ROS) scavenging properties³⁹. As for violaxanthin, this xanthophyll is present in many green vegetables and fruits⁴⁰. Biehler et al. (2011)⁴¹ reported that luteoxanthin/auroxanthin are resultant from this epoxycarotenoid conversion products, which were detected in the resulting mixed micelles, following digestion and in the Caco-2/TC-7 cells after uptake experiments under controlled conditions without the addition of divalent minerals.

Studies have shown that β -carotene is a chemopreventive phytochemical and other compounds such as, neoxanthin and violaxanthin, may contribute to the lower cancer risk associated with fruit and vegetables intake⁴².

Mango commercial varieties ‘Tommy Atkins’, ‘Haden’, ‘Kent’, ‘Keitt’ and ‘Ataulfo’, from four countries (Brazil, Mexico, Peru and Ecuador), showed β -carotene content varying from 5 to 30 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW, which was a range inferior to that observed in the present study with β -carotene’s highest content of 50.42 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW in ‘Rosa’¹⁵. Furthermore, ‘Tommy Atkins’

mango from Northeast of Brazil herein evaluated showed 2-fold β -carotene content ($11.047 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW) than this same cultivar reported by Manthey and Perkins-Veazie (2009) ($4.9 \pm 1.5 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW)¹⁵.

On other hand, four main mango cultivars grown in southern China showed β -carotene mean superior to that observed herein, varying from 25.7 (cv. JinHwang) to $61.4 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW (cv. Keitt)⁴³.

Unlike the profiles observed herein, in which β -carotene predominated in all cultivars, in ‘Keitt’ mango Mercadante, Rodriguez-Amaya and Britton (1997)⁴⁴ identified that *all-trans*-violaxanthin was the principal carotenoid, followed by *all-trans*- β -carotene and 9-*cis*-violaxanthin (21.0, 15.0 and $10.0 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW, respectively).

In a group of seven cultivars grown in Mexico, ‘Haden’ mango is highlighted having the highest concentration of *all-trans*- β -carotene ($28 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW), similar to commercials and regional mangoes herein evaluated (20.060 and $24.302 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW, respectively)⁴⁵. However, among these same seven cultivars, the *all-trans*-violaxanthin and 9-*cis*-violaxanthin ranges were superior ($5 - 28$ and $4 - 20 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW) to violaxanthin range showed by mangoes herein evaluated ($1.628 - 7.712 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW)⁴⁵.

‘Cunha’ variety showed the lowest β -carotene percentage (64.6%) and remarkable violaxanthin content (35.0%) among all varieties. Camiro-Cabrera et al (2016)⁴⁶ reported that violaxanthin corresponded to 30.0% of total carotenoid content identified in ‘Tommy Atkins’ mango from Mexico, while *all-trans*- β -carotene and zeaxanthin represented 30.3 and 3.2%, respectively.

Zeaxanthin was the third carotenoid in concentration ranging from $0.042 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW for ‘Extrema’ to $0.174 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW for ‘Rosa’. Mercadante and Rodrigues-Amaya (1998)⁴⁷ observed superior averages of *all-trans*-zeaxanthin in ripe cultivars ‘Tommy Atkins’ ($0.4 \pm 0.2 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW) and ‘Keitt’ ($0.8 \pm 0.3 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW), from the Brazilian state São Paulo. In turn, in freeze-

dried Taiwanese mango, Chen et al. (2004) identified zeaxanthin amount of $1.16 \mu\text{g.g}^{-1}\text{DW}$, which also was superior to the quantified value in the present study in ‘Rosa’ in dry weight basis ($0.293 \mu\text{g.g}^{-1}$)⁴⁸.

The carotenoid profile observed herein for regional and commercial mangoes produced in northeastern Brazil is in agreement with most of the profiles reported in the literature as it contains three of the most cited as main carotenoids in several mango cultivars around the world. However, the β -carotene content in the regional ‘Rosa’ mango found herein is far superior to the reported values for other varieties, highlighting this as a possible staple food^{12, 14-15, 44 – 49}.

It should be highlighted that the differences in carotenoid profiles between same or different mango varieties are explained as the results of environmental and genetic factors, production and postharvest techniques, maturation stage (Mercadante e Rodriguez-Amaya, 1998; Manthey and Perkins-Veazie, 2009)^{15, 47} and they may also be due to the analytical procedures employed (mainly extraction and derivatization methods) and the carotenoids unstable nature (Burton-Freeman et al., 2017)⁵⁰.

Free amino acid profile

In general, fifteen amino acids were identified (Table 3) and there is a clear discrimination among the studied varieties. Aspartic acid, glutamic acid, alanine, asparagine, glutamine, serine, tyrosine and threonine were detected in all varieties. Alanine was the most abundant FAA in the pulps, mostly in the commercials ‘Alphonso’ and ‘Tommy Atkins’. Notably, regarding essential amino acids, threonine was present in all the regional varieties studied. In turn, in ‘Maranhão’ mango, valine, phenylalanine and tryptophan were not detected.

The commercial ‘Alphonso’ and ‘Tommy Atkins’ mangoes were mostly superior to the regional’s regarding the content of five (aspartic acid, glutamic acid, arginine, serine and tryptophan) and six (alanine, asparagine, phenylalanine, glutamine, threonine and valine)

FAs, respectively. In turn, tyrosine, a precursor of the catecholamines, was more abundant in the pulp of regional mangoes.

Table 3. Free amino acids content (dry matter basis) in mango pulp varieties extracts

Mango variety		FAA (μg.g ⁻¹ FW)															
		Hydrophobic (nonpolar)							Hydrophilic (polar)								Total
									Neutral R groups				Basic R group	Acid R groups			
		Ala	Val	Leu	Ile	Phe	Trp	Met	Asn	Gln	Ser	Thr		Tyr	Arg	Asp	
Commercial	Alphonso	1542.37	40.41	ND	ND	ND	195.77	ND	47.98	221.73	238.07	51.94	31.99	311.30	403.24	369.33	3454.14
	Tommy Atkins	1562.32	61.82	12.16	ND	47.29	23.37	ND	105.84	570.02	152.45	65.25	29.87	176.06	300.42	332.03	3438.90
	Mean	1552.35	51.12	12.16	ND	47.29	109.57	ND	76.91	395.87	195.26	58.59	30.93	243.68	351.83	350.68	3476.24
Regional	Cunha	376.96	23.18	ND	ND	31.31	71.88	ND	15.20	109.28	89.23	18.97	27.06	40.11	79.14	188.12	1070.43
	Espada	493.41	20.45	5.68	ND	23.86	122.81	ND	24.69	219.39	127.99	24.20	30.31	166.18	115.97	183.91	1558.85
	Extrema	497.77	20.94	5.95	ND	23.17	124.01	ND	24.73	221.26	129.49	24.33	30.68	166.93	117.18	185.86	1572.29
	Jasmim	453.50	21.78	16.12	ND	23.02	18.66	ND	21.42	21.50	87.35	21.80	14.23	24.46	124.88	128.76	977.47
	Maranhão	477.63	ND	8.46	104.83	ND	ND	31.04	18.39	81.27	127.15	25.11	83.21	67.99	148.57	283.23	1456.87
	Rosa	791.98	29.85	12.60	ND	33.70	55.28	ND	55.94	124.25	172.91	49.44	45.67	234.83	245.50	138.22	1990.14
	Mean	515.21	23.24	9.76	104.83	27.01	78.53	31.04	26.73	129.49	122.35	27.31	38.52	116.75	138.54	184.68	1573.99

Ala– Alanine; Val – Valine; Leu – Leucine; Ile – Isoleucine; Phe – Phenylalanine; Trp – Tryptophan; Met – Methionine; Asn – Asparagine; Gln – Glutamine; Ser – Serine; Tyr – Tyrosine; Thr – Threonine; Arg – Arginine; Asp – Aspartic acid; Glu – Glutamic acid; FW = Fresh weight

The fruit amino acid content varies depending upon maturation level ¹¹. In this context, during mango ripening, aspartate and glutamate increased for about three days after harvest and their concentration decreased as the climacteric maximum was reached ²².

In the present study, with mangoes analyzed at the consumption maturity (fully ripe), aspartic and glutamic acids appeared at higher levels immediately after to alanine. In ‘Rosa’ and ‘Alphonso’, the contents of alanine were followed by aspartic acid while in ‘Cunha’, ‘Jasmim’ and ‘Maranhão’ was followed by glutamic acid. In turn, in ‘Espada’, ‘Extrema’ and ‘Tommy’ the alanine content was followed by glutamine.

On seed kernel of mango cultivars from Malaysia, glutamic acid was the major amino acid, with contents ranging from 109.00 (‘Dusheri’) to 208.00 mg.g⁻¹ FW. (‘Harumanis’), remarkably superior to that observed in the present study ⁵¹.

Among the regional mangoes, ‘Rosa’ presented the most significant contents for alanine, aspartic acid, arginine, asparagine, phenylalanine and serine. Regarding alanine levels, regional mangoes here evaluated showed superior mean (515.21 µg.g⁻¹ FW) to that reported for ‘Palmer’ mango (300 µg.g⁻¹ FW) in Tabela Brasileira da Composição dos Alimentos – TACO (NEPA, 2011) ⁵², which was similar to ‘Cunha’ content (376.96 µg.g⁻¹ FW). In turn, comparing to Food Data Central report (United States Department of Agriculture, 2020) ⁵³ (820 µg.g⁻¹ FW) ‘Rosa’ variety showed a similar alanine content (791.98 µg.g⁻¹ FW), superior to 510 µg.g⁻¹ FW, reported by Dar et al. (2016) ¹¹.

It has been reported that in ‘Tommy Atkins’ pulp, alanine increased significantly, and suggested that a separate biosynthetic process may exist for alanine, probably involving a link between pyruvic acid (or pyruvate) and alanine⁵⁴. In ‘Ataulfo’ mango, Dautt-Castro et al. (2018) ⁵⁵ observed that, among the most representative pathways of the Kyoto Encyclopedia of Genes

and Genomes (KEGG) into the up-regulated genes, were those related to the “biosynthesis of amino acids” and “metabolism of alanine, aspartate and glutamate”.

Pérez et al. (1992) ²² also observed, during ripening of ‘Chandler’ strawberry, that alanine exhibited more significant changes and suggested that those related to FAAs content may reflect differences in volatile composition. Those authors also inferred that differences in amino acid profile among varieties could explain different aroma patterns and suggest that in strawberry, high alanine content could be primarily responsible for high ethyl ester levels in the volatile composition

Alanine, arginine, glycine, serine, leucine and isoleucine were reported as the only ones present at the peak stage of maturation, while all other amino acids were present in traces ⁵⁶. ‘Jasmim’ mango was highlighted with the higher leucine content (16.12 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW) among regional and commercial cultivars, which was inferior to that reported to raw mango by the Food Data Central ⁵², by Dar et al. (2016) ¹⁰ and by TACO (NEPA, 2011) ⁵³ (500, 310 and 300 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW, respectively).

‘Maranhão’ was the only one in which isoleucine and methionine were detected and with inferior concentrations (104.83 and 31.04 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW) to that reported to ‘Palmer’ mango (200 and 100 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW) ⁵² and raw mangos (290 and 80 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW) ⁵³. Tyrosine content was detected in this cultivar (83.21 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW), which was the highest among all varieties herein evaluated, and was similar to that ‘Palmer’ mango (100 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW) ⁵² and to that reported by Dar et al. (2016) (100 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW) ¹¹.

The aromatic amino acids phenylalanine, tryptophan and tyrosine are recognized for their beneficial effects for the brain function as precursors for the monoamine neurotransmitters serotonin (whose substrate is tryptophan) and the catecholamines [dopamine, norepinephrine, epinephrine; substrate tyrosine (Tyr)] ⁵⁷. Herein, the mean tyrosine (Tyr) content was 38.52

$\mu\text{g.g}^{-1}$ FW to regional, while the commercial showing $30.93 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW. In turn, tryptophan (Trp) content for ‘Espada’ and ‘Extrema’ represented more than 7.9% of total FAA content of those varieties which supplied the percentages of Trp for ‘Alphonso’ and ‘Tommy Atkins’ (5.6 and 0.7 %, respectively). Phenylalanine was not detected in ‘Alphonso’ and ‘Maranhão’, however represented the highest content of total FAAs in regional ‘Cunha’ (2.92%) than that commercial in ‘Tommy Atkins’ (1.37%).

According to TACO (NEPA, 2011) ⁵², ‘Palmer’ mango had $200 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW of tryptophan, while the FoodData Central (United States Department of Agriculture, 2020) ⁵³ reported $130 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW for raw mango, both similar to ‘Alp’, ‘Esp’ and ‘Ext’ herein contents which were 195, 122.8 and $124.01 \mu\text{g.g}^{-1}$ FW, respectively.

Phenylalanine, leucine and isoleucine are important amino acids for the fruit metabolism as, for instance, as precursors of the formation of volatile compounds in tomato⁵⁸. In this context, amino acid metabolism was related to volatile profile and, therefore, aroma quality attribute of mangoes ⁵⁹.

However, ‘Maranhão’ was the only one in which isoleucine and methionine were detected. Isoleucine is one of the three branched-chain amino acids (BCAAs) and as well as leucine and valine both detected in most cultivars with valine absent only in ‘Maranhão’ and leucine absent in ‘Alphonso’ and ‘Cunha’. BCAAs are important essential amino acids, because they are concentrated in the muscle tissue and used to stimulate protein synthesis ⁶⁰ and to fuel working muscles ⁶¹.

In tomato fruits, BCAA are listed as precursors of seven volatiles, among which are 2-methyl-1-butanol and 3-methyl-1-butanol ⁵⁸, also identified in twenty Cuban mango cultivars ⁵⁹.

With the use of nuclear magnetic resonance spectroscopy, it was observed that during the maturation of 'Tommy Atkins' mango there was an increase in the aliphatic peaks of isoleucine, valine and leucine, which is indicative of a possible common biosynthetic pathway for these amino acids ⁵⁴.

When evaluating transcriptome and proteome of mango fruit during the development and ripening stages, Wu et al. (2014) ¹⁸ noticed that one of the pathways most represented by transcribed genes was the metabolic pathway of amino acids. In the 'Kensington Pride' pulp mango, Lalel et al. (2003) ⁶² reported an increase in the total glycosidically-bound volatiles compounds produced via aromatic amino acids metabolism, as the maturity progressed to the ripe stage.

In eleven species of fruits, as fresh or processed, in dried or canned products twenty-five FAAs were found, which distributions varied considerably ⁶³. These authors reported that asparagine was the FAA present at higher concentration for most vegetables (from 15.69 to 24,587.53 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW), however, for dried white fig (*Ficus carica*) and dried goji berry (*Lycium chinense*), the predominant FAAs were the combo Proline + β -Alanine, which eluted together. In the present study, asparagine showed as total mean of 39.27 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW with amounts from 15.20 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW in 'Cunha' to 105.84 $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW in 'Tommy Atkins'.

Based on the action of certain amino acids, namely alanine, valine, leucine and isoleucine, as precursors of fruit aroma, 'Rosa', 'Maranhão' and 'Jasmim' presenting relevant contents of these compounds may indicate that these varieties could be recognized with richer volatile profiles ^{22,58,59,62}. Still, based on literature reports about phenylalanine, tyrosine and tryptophan ⁵⁷, which act as precursors of neurotransmitter monoamines and catecholamines (serotonin and dopamine, for example) the profiles of 'Cunha', 'Espada', 'Estrema', 'Rosa' and

Maranhão' that are rich in the amino acids, may highlight their functional quality, especially when comparing regional varieties within each other.

Gel filtration chromatography

Herein, for the first time a peptide profiling for mango cultivars is shown by size exclusion chromatography.

Careri and Mangia (2003)⁶⁴ underlines the increasing use of emerging techniques, such as fast protein liquid chromatography (FPLC) for food evaluation and explains that the analysis of peptides is of great importance also for feed evaluation scientists, as the area of biologically active peptides starts to open up.

Nine peaks were detected among the varieties evaluated, eight of them were individual peaks representing proteins or peptides, and the ninth we have considered the sum of those eluted after 40 mL, which corresponds to molecular weight lower than 0.5 KDa, for which is not possible to discriminate each molecular weight. Seven of these detected peaks had a molecular weight greater than 1 KDa and most of them represented low percentages of the total peak area detected. However, peaks P5 (from 1.3 to 1.5 KDa) and P6 (from 1.1 to 1.2 KDa), eluted respectively at 34 and 35 mL, representing a percentage of area superior to 10% in the varieties in which these were detected (Table 4).

Table 4. Peak areas of chromatographic peaks obtained by size exclusion chromatography (at 280 nm) of mango varieties

	Peaks (mL.mAU ⁻¹)	Commercial			Regional				
		Alp	TA	Cun	Esp	Ext	Jas	Mar	Ros
P1	Ret. (mL)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	12.88
	KDa	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1532.08
	Peak area	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	3.25
	%Peak area	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	13.26
P2	Ret. (mL)	15.06	15.26	15.21	nd	15.10	15.13	15.18	nd
	KDa	762.58	715.13	726.48	nd	752.85	744.43	733.04	nd
	Peak area	0.15	0.56	0.12	nd	0.20	0.12	0.27	nd
	%Peak area	1.90	6.84	0.82	nd	2.32	1.36	3.95	nd
P3	Ret. (mL)	nd	22.05	22.07	22.19	22.16	22.10	22.01	ND
	KDa	nd	80.60	80.06	77.11	77.85	79.27	81.75	nd
	Peak area	nd	0.66	0.54	0.54	0.44	0.71	0.70	nd
	%Peak area	nd	8.07	3.80	7.66	5.09	8.15	10.32	nd
P4	Ret. (mL)	nd	33.95	nd	nd	33.09	nd	nd	nd
	KDa	nd	1.76	nd	nd	2.33	nd	nd	nd
	Peak area	nd	0.22	nd	nd	0.09	nd	nd	nd
	%Peak area	nd	2.75	nd	nd	1.08	nd	nd	nd
P5	Ret. (mL)	34.415	34.931	nd	34.808	nd	34.809	nd	nd
	KDa	1.519	1.287	nd	1.339	nd	1.338	nd	nd
	Peak area	0.8319	1.756	nd	1.641	nd	2.29	nd	nd
	%Peak area	10.83	21.48	nd	23.11	nd	26.31	nd	nd
P6	Ret. (mL)	35.17	nd	35.17	nd	35.20	nd	35.17	35.36
	KDa	1.19	nd	1.19	nd	1.18	nd	1.19	1.12
	Peak area	1.00	nd	3.15	nd	0.94	nd	1.09	1.87
	%Peak area	12.99	nd	22.30	nd	10.76	nd	16.17	7.62
P7	Ret. (mL)	36.36	nd	36.47	36.53	36.80	36.53	36.42	nd
	KDa	0.81	nd	0.79	0.77	0.71	0.77	0.80	nd
	Peak area	3.61	nd	5.78	1.03	3.75	2.61	1.30	nd
	%Peak area	46.92	nd	40.92	14.49	43.11	30.01	19.20	nd
P8	Ret. (mL)	nd	37.21	nd	37.50	nd	nd	37.48	37.38
	KDa	nd	0.62	nd	0.56	nd	nd	0.57	0.59
	Peak area	nd	1.73	nd	0.89	nd	nd	1.47	15.87
	%Peak area	nd	21.20	nd	12.51	nd	nd	21.73	64.75
P9	Ret. (mL)	40.5+	40.5+	40.6+	40.5+	40.5+	40.6+	40.7+	41.6+
	KDa	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$
	Peak area	1.90	3.24	4.54	2.72	3.18	2.97	1.94	3.52
	%Peak area	24.76	39.65	32.17	38.36	36.54	34.16	28.63	14.36
Total peak area		3.88	8.17	14.12	6.83	8.61	8.70	6.76	24.51

nd: not detected; Alp : Alphonso, TA : Tomy Atkins, Cun : Cunha; Esp : Espada, Ext : Extrema, Jas : Jasmim, Mar : Marahão, Ros : Rosa

Jasmim' presented the highest peak area for P5 (2.29), while 'Alphonso' had the lowest (0.83 mL.mAU⁻¹). In turn 'Cunha' showed the highest peak area for P6 (3.149 mL.mAU⁻¹) while 'Alphonso' presented the lowest (0.99 mL.mAU⁻¹).

'Rosa' presented 24.51 mL.mAU⁻¹ for total peak area, the highest among all varieties, 6-fold and 3-fold greater than 'Alphonso' and 'Tommy Atkins', respectively. This cultivar also highlighted for showing a peak at 12.8 mL of elution, representing 13.26% from total peak area, corresponding to 1532 KDa of molecular weight and by the lower percentage representation of sum of MW < 0.5 KDa peptides (P9). 'Cunha' showed the second highest total peak area (14.12 mL.mAU⁻¹).

For 'Cunha', 'Extrema' and 'Alphonso' varieties, the P7 peak was the major percentage of total peak area representing, respectively, 40.92, 43.11 and 46.92 %. In turn, for 'Espada', 'Jasmim', 'Maranhão' and 'Tommy Atkins' the greater peak area was represented by P9 (38.36, 34.16 and 28.63%) while for 'Rosa' was P8 (64.75%).

For 'Espada', 'Maranhão' and 'Rosa' P8 represented molecular weights of ca. 0.50 KDa, and it claimed that the high antioxidant activity peptides present in vegetables foods are in the range of 500 to 1500 (García et al., 2013)⁶⁵.

Fasoli and Righetti (2013)¹⁷ found, both in mango peel and pulp, peptides which were not recognized as part of known proteins due to the lack of complete mango proteome knowledge. Those authors emphasized that in the peel, a greater number of peptides were not associated with a known protein because the number of proteins identified in that fruit portion was lower than in the pulp. Therefore, they suggested to test those peptides biological activities, because among them, some could be associated with nutritional and allergenic functions.

In 2D-DIGE analysis of the mango fruit (cv. Keitt) proteome during ripening, Andrade et al. (2012)¹⁹ observed that the presence of one heat shock protein (HSP) was down-regulated

during ripening, and consisted of peptides around 70 KDa, involved in protein folding and repair, as well as in the protein degradation during the stress response. These authors also identified accumulation of peptides representing a plastid lipid-associated protein or fibrillin (32.8 KDa) and related that to the differentiation of chloroplasts into chromoplasts and, thus, the change in pulp color during maturation, since fibrillins play an important role in the stabilization of carotenoids fibrils, plastoglobules and thylakoids ¹⁹. However, that protein was not detected in our FPLC profiles.

Low molecular weight peptides (< 3KDa), formed in the autolysis and hydrolysis of spent brewer's yeast showed antihypertensive and antioxidant properties in spontaneously hypertensive rats, causing noticeable decrease in systolic, diastolic and mean blood pressure (Amorim et al., 2019) ⁶⁶.

In *Zizyphus jujuba* fruits-derived protein hydrolysates, Memarpour-Yazdi et al. (2013) ⁶⁷ observed potent antioxidant peptides with molecular weight of 678.36 and 428.27 Da. On the other hand, Zhuang et al. (2013) ⁶⁸ identified hydrolysates peptides in corn gluten meal with good free radical scavenging activity and lipid peroxidation inhibitory effect at 375.46, 488.64 and 522.64 Da.

In gold kiwi, Xia and Ng (2004) ⁶⁹, through FPLC analysis, isolated an antifungal protein called actinichinin, with 25 KDa, which demonstrated not only molecular weight different from the known taumatococin of the green kiwi variety (21 KDa), but also different N-terminal sequences and specificities for fungi. This is a clear example of how the FPLC profiles of different varieties of the same fruit may be distinct in peaks size and functionality and may allow discriminating among varieties, and may constitute a good tool to evaluate authenticity.

Principal component – PCA and cluster analysis

Regional and commercial mangoes produced in Northeast Brazil showed significant differences in terms of nutritional compounds contents, notably due to the FAAs and total carotenoid's composition. Three principal component satisfactorily explained the variability of this experiment, which amounted by 69.84% of cumulative variance, where the PC1 accounted for 29.24%, the PC2 23.59% and PC3 17.01%.

The higher contents of alanine, valine, asparagine, glutamine, serine, threonine, arginine, aspartic acid, glutamic acid and FPLC peak eluted at 33 mL (P4), MW around 2 KDa, were the variables that best explained the variability in the PC1. In turn, the PC2 was explained by β -carotene, zeaxanthin and violaxanthin, and by P1, P3 P8 and total peak (TP) area from FPLC peaks, while phenylalanine, serine and P9 FPLC peak explained the PC3 variability (Table 4).

Table 5. Eigenvectors of PC1, PC2 and PC3 corresponding to a full-data PCA model for regional mango varieties from Northeast Brazil in comparison with commercial cultivars

Variables	PC1	PC2	PC3
Ala	0,32906*	0,01601	-0,06369
Val	0,30084*	0,05071	0,15859
Leu	0,02076	0,05895	0,26077
Ile	-0,10253	-0,14614	-0,21458
Phe	0,08363	0,09194	0,38792*
Trp	0,08547	0,03354	-0,22547
Met	-0,10253	-0,14614	-0,21458
Asn	0,31270*	0,04779	0,12781
Gln	0,29329*	-0,10196	0,12131
Ser	0,24565*	0,11502	-0,27736*
Thr	0,32086*	0,10440	-0,00438
Tyr	-0,05042	-0,03602	-0,26503
Arg	0,24737*	0,14462	-0,20594
Asp	0,29393*	0,08821	-0,16357
Glu	0,23717*	-0,15899	-0,21609
TC	-0,03977	0,20958	0,11357
Viol	-0,18431	0,23892*	0,06680
Zeax	0,03140	0,34968*	-0,13727
βcar	-0,02730	0,28316*	0,02462
P1	0,01239	0,35293*	0,00154
P2	0,20090	-0,21558	0,10624
P3	-0,11002	-0,28211*	0,22755
P4	0,23744*	-0,13373	0,21549
P5	0,10274	-0,09852	0,23740
P6	-0,14044	0,16137	-0,10274
P7	-0,14841	-0,07055	-0,07088
P8	0,02936	0,33521*	0,00680
P9	-0,08959	0,12916	0,28949*
TP	-0,06724	0,32802*	0,11479
Eingvalue	8.4805	6.8404	4.9329
Cumulative percentage	29.2	46.25	69.84

*significantly important considering $0.6/(\text{PC eigenvalue})^{0.5}$, adapted from Collins & Ovalles (1988);

Ala: alanine, Val: valine, Leu: leucine, Ile: isoleucine, Phe: phenylalanine, Trp: tryptophan, Met: methionine, Asn: asparagine, Gln: glutamine, Ser: serine, Thr: threonine, Tyr: tyrosine, Arg: arginine, Asp: aspartic acid, Glu: glutamic acid TC: total carotenoids, Viol: violaxanthin, Zeax: zeaxanthin, βcar: β-carotene, P1 - TP: total peak area

From the similarities observed among varieties, the cluster analysis formed four groups (Figure 1). The commercial cultivars ‘Alphonso’ (Alp) and ‘Tommy Atkins’ (TA) formed the

Groups 1 and 2, respectively, especially due to the higher contents of the FAAs alanine, arginine, aspartic acid, glutamic acid and threonine and by FPLC profile, namely P2 and P4 peaks.

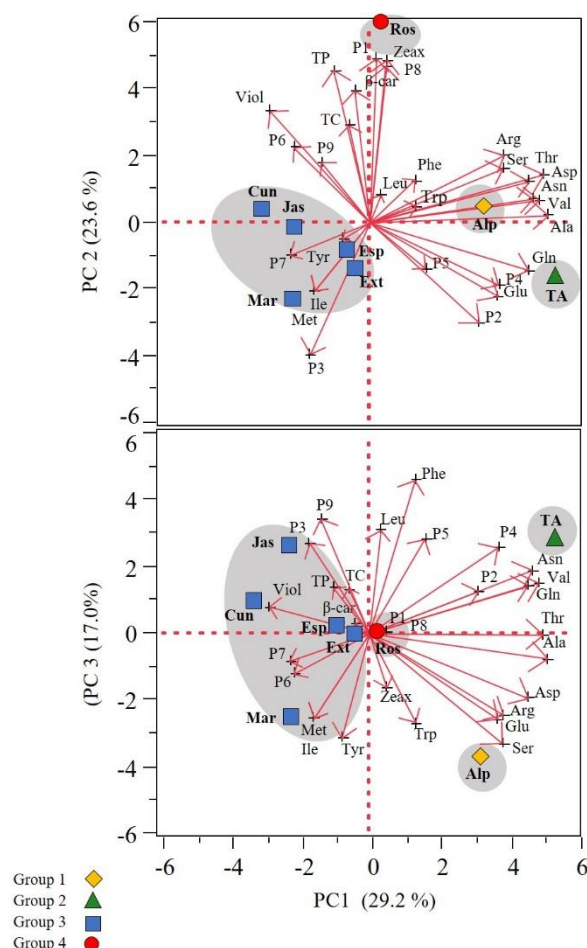


Figure 1. Biplot (loadings and scores) of PC1 vs. PC2 and PC1 vs. PC3 corresponding to a full-data PCA model for regional mango varieties from Northeast Brazil in comparison with commercial cultivars

In turn, Group 3 was formed by ‘Cunha’ (Cun), ‘Espada’ (Esp) and ‘Extrema’ (Ext) varieties, mainly due to the mean contents of the FAA alanine, glutamic acid, serine, threonine and valine. Finally, Group 4 was composed by ‘Rosa’ (Ros) variety, which had the highest peak area for P8. Besides, it was the only one exhibiting P1 peak and that also showed the far highest

total carotenoids, and zeaxanthin and β -carotene contents, which distinguished itself from the others as the most pigmented and with a pronounced aroma, based on the higher contents of FAA precursors (alanine, valine, leucine).

All together, the tools of principal component and cluster analyses allowed a powerful discrimination of the evaluated parameters, since it easily distinguished the regional from the commercial mangoes. Based on that, four clusters were formed, two of them isolated the regionals, especially differencing 'Rosa' due to their peculiarities in terms of phytochemical and metabolites profiling as comparing to the other varieties.

The carotenoid content, mainly β -carotene and zeaxanthin in 'Rosa' and violaxanthin in 'Cunha', showed the advantage in terms of carotenoids availability for regional varieties above commercial lines, especially 'Tommy Atkins', the most commercialized.

Regarding the profile of FAAs, the contents of the aroma precursors alanine, valine, leucine and isoleucine, as well as the phenylalanine, a precursor of important phytochemical compounds, were important for the differentiation of regional varieties and their separation from commercial ones.

To our knowledge, profiles of peptides by size exclusion chromatographic analysis of mango varieties produced in Brazil have been published for the first time in this study. Based on the profiles observed, further research is suggested focusing on the identification of the peptides present and their possible biological activities, mainly for 'Rosa', 'Cunha' and 'Jasmim' mangoes.

Most importantly, these compounds may act as suitable quality markers for the authenticity of the regional varieties and thus may be used as markers for geographical indication adding value to the mango regional production.

AUTHOR INFORMATION

Corresponding author

*(S.M.S.) Phone: +55-83 99928-8165. E-mail: silvasil@cca.ufpb.br

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by National Funds from FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia through project UID/Multi/50016/2019. The authors thank to the Brazilian's Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES – Abroad Doctoral Sandwich Program (CAPES/PDSE) - fellowship to the first author (Grant # 88881.131644/2016-01), and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPQ) for the financial support (Grant # 401515/2014-1; 403847/2013-3).

ABBREVIATIONS

FAA, Free Amino Acids; Ala, Alanine; Val, Valine; Leu, Leucine, Ile, Isoleucine; Phe, Phenylalanine; Trp, Tryptophan; Met, Methionine; Asn, Asparagine; Gln, Glutamine; Ser, Serine; Tyr, Tyrosine; Thr, Threonine; Arg, Arginine; Asp, Aspartic acid Glu, Glutamic acid

REFERENCES

1. FAO. 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. URL (<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E/>) (most recent access 20 November 2018).

2. IBGE. 2018. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. URL (<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1613#resultado/>) (most recent access 10 December 2018).
3. Silva, A.C.; Souza, A.P.; Leonel, S.; Souza, M.E.; Raos, D.P.; Tanaka, A.A. Growth and flowering of five mango cultivar under subtropics conditions of Brazil. *Am. J. Plant Sci.* 2014. 5(03), 302-402.
4. Pinto, A.C.Q.; Pinheiro neto, F.; Guimarães, T.G. Mango breeding strategies on focus to the dynamic of the market. *Rev. Bras. Frutic.* 2011. 33, 64-72.
5. Silva, D. F. P.; Siqueira, D. L.; Rocha. A.; Salomão. L. C. C.; Matias, R. G. P.; Struiving, T. B. Diversidade genética entre cultivares de mangueiras baseada em caracteres de qualidade dos frutos. *Rev. Ceres.* 2012. 59(2), 225-232.
6. Ribeiro, S. M. R.; Schieber, A. Bioactive Compounds in Mango (*Mangifera indica* L.). In: *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables*. edition 1; Watson, R.R., Preedy. V.R. (Eds.). Academic Press: London-UK, 2010; 507-523.
7. Ribeiro, S.M.R.; Queiroz, J.H.; Queiroz, M.E.L.; Campos, F.M.; Sant’ana, M.P. Antioxidant in Mango (*Mangifera indica* L.) Pulp. *Plant Food Hum. Nutr.* 2007. 62(1), 13–17.
8. Abbasi, A. M.; Guo, X.; Fu. X.; Zhou, L.; Chen, Y; Zhu. Y.; Yan, H.; Liu, R. H. Comparative Assessment of Phenolic Content and in vitro antioxidant capacity in the pulp and peel of mango cultivars. *Int. J. Mol. Sci.* 2015. 16, 13507-13527.
9. Ribeiro, T.P.; Lima, M.A.C.; Trindade, D.C.G.; Neto, F.P;L.; Ristow. N.C. Quality and bioactive compounds in fruit of foreign accessions of mango conserved in an Active Germplasm Bank. *Rev. Ciênc. Agron..* 2015. 46(1), 117-125.

10. Maldonado-Celis, M. E.; Yahia, E. M.; Bedoya, R.; Landázuri, P.; Loango, N.; Aguillón, J., Restrepo, B.; Ospina, J. C. G.. Chemical composition of mango (*Mangifera indica* L.) fruit: nutritional and phytochemical compounds. *Front. Plant Sci.* 2019..
11. Dar, M. S., Oak, P.; Chidley, H.; Deshpande, A.; Giri, A.; Gupta, V. (2016). Nutrient and flavor content of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars: an appurtenance to the list of staple foods. In *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*. Simmonds, M.S.J.; Preedy, V.R., Eds.; Academic Press. 2016. pp. 445-467.
12. Petry, F.C.; Mercadante, A.Z. New method for carotenoid extraction and analysis by HPLC-DAD-MS/MS in freeze-dried citrus and mango pulp. *J. Braz. Chem. Soc.* 2018. 29(1), 205-215.
13. Lauricella, M.; Emanuele, S.; Calvaruso, G.; Giuliano, M.; D'anne, A. Multifaceted health benefits of *Mangifera indica* L. (mango): the inestimable value of orchards recently planted in Sicilian rural areas. *Nutrients*. 2017. 9(5), 525.
14. Ibarra-Garza, I.P.; Ramos-Parra, P.A.; Hernández-Brenes, C.; Jacobo-Velázquez, D.A. Effects of postharvest ripening on the nutraceutical and physicochemical properties of mango (*Mangifera indica* L. cv Keitt). *Postharvest Biol. Technol.* 2015. 103, 45-54.
15. Manthey, J.A.; Perkins-Veazie, P. Influences of harvest date and location on the levels of β -carotene, ascorbic acid, total phenols, the in vitro antioxidant capacity, and phenolic profiles of five commercial varieties of mango (*Mangifera indica* L.). *J. Agr. Food Chem.* 2009. 57. 10825-10830.
16. Gouado, I.; Schweigert, F.J.; Ejoh, R.A.; Tchouanguep, M.F.; Camp, J.V. Systemic levels of carotenoids from mangoes and papaya consumed in three forms (juice, fresh and dry slice). *Eur. J. Clin. Nutr.* 2007. 61, 1180-1188.

17. Fasoli. E.; Righetti. P.G. The peel and pulp of mango fruit: A proteomic samba. *Biochim. Biophys. Acta. Proteins. Proteom.* 2013. 1834, 2539–2545.
18. Wu. H.; Jia. H.; Ma. X.; Wang. S.; Yao. Q.; Xu. W.; Gao. Z.; Zhab. R. Transcriptome and proteomic analysis of mango (*Mangifera indica* Linn) fruits. *J. Proteomics.* 2014. 105, 19-30.
19. Andrade, J.M.; Toledo, T.T.; Nogueira, S.B.; Cordenusi, N.R.; Lajolo, F.M.; Nascimento, J.R.O. 2D-DIGE analysis of mango (*Mangifera indica* L.) fruit reveals major proteomic changes associated with ripening. *J. Proteomics.* 2012. 75, 3331-3341, 2012.
20. Ito, H.; Ueno, H.; Kikuzaki, H. Construction of a free-form amino acid database for vegetables and mushrooms. *Integr. Food. Nutr. Metab.* 2017a. 4. 1-9.
21. Rai, V.K. Role of amino acids in plant responses to stresses. *Biol. Plantarum.* 2002. 45(4), 481–487.
22. Pérez, A.G.; Sanz, J.J.R.; Sanz, C.; Olías, J.M. Aroma components and free amino acids in strawberry variety chandler during ripening. *J. Agr. Food. Chem.* 1992. 40, 2232-2235.
23. KRISHNAMURTHY. S.; PATWARDHAN. M.V.; SUBRAMANYAM. H. Biochemical changes during ripening of the mango fruit. *Phytochemistry.* 1971. 10(11), 2577-2581.
24. Pierson, J.T.; Montheith, G.R.; Roberts-Thomson, S.R.; Diestzgen, R.G.; Gildley, M.J.; Shaw, P.N. Phytochemical extraction, characterization and comparative distribution across four mango (*Mangifera indica* L.) fruit varieties. *Food Chem.* 2014. 149, 253-263.

25. Glew, R.H.; Ayaz, F.A, Sanz, C.; Vanderjagt, D.J.; Huang, H.S.; Chaung, L.T.; Strnad, M. Changes in sugars, organic acids and amino acids in medlar (*Mespilus germanica* L.) during fruit development and maturation. *Food Chem.* 2003. 83(3), 363-369.
26. Wright, K. P.; Kader, A. A. Effect of controlled-atmosphere storage on the quality and carotenoid content of sliced persimmons and peaches. *Postharvest Biol. Technol.* 1997. 10(8), 9-97.
27. Kimura. M.; Rodriguez-Amaya. D. B.; Godoy. H. T. Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamin A. *Food Chem.* 1990. 35, 187-195.
28. Oliveira, A.; Alexandre, E.M.C.; Coelho, M.; Barros, R.M.; Almeida, D.P.F.; Pintado, M. Peach polyphenol and carotenoid content as affected by frozen storage and pasteurization. *LWT – Food Sci. Technol.* 2016. 66, 361-368.
29. Proestos, C.; Loukatos, P.; Komaitis, M. Determination of biogenic amines in wines by HPLC with precolumn dansylation and fluorimetric detection. *Food Chem.* 2008. 106(3), 1218-1224.
30. Campos, D.A.; Coscueta, E.R.; Valetti, N.W.; Pastrana-Castro, L.M.; Teixeira, J.A.; Picó, G.A.; Pintado, M.M. Optimization of bromelain isolation from pineapple byproducts by polysaccharide complex formation. *Food Hydrocoll.* 2019. 87,792-804.
31. Collins, M. E.; Ovalles, F. A. Variability of northwest Florida soils by principal component analysis. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1988. 52(5), 1430-1435.
32. Sellamuthu. P.S.; Denoya. G.I.; Sivakumar. D.; Polenta. G.A.; Soundy. P. Comparison of the contents of bioactive compounds and quality parameters in selected mango cultivars. *J. Food Qual.* 2013. 36, 394-402.

33. Rajwana, I. A., Malik, A. U., Khan, A. S., Saleem, B. A., & Malik, S. A.. A new mango hybrid shows better shelf life and fruit quality. *Pak. J. Bot.* 2010. 42(4), 2503-2512.
34. Carvalho, C. R. L., Rossetto, C. J., Mantovani, D. M. B., Morgano, M. A., Castro, J. V. D., Bortoletto, N.. Evaluation of mango cultivars selected by" Instituto Agrônômico de Campinas" compared to others of commercial importance. *Rev. Bras. de Frutic.* 2004. 26(2), 264-271.
35. Rodriguez-Amaya, D. B.; Kimura, M.; Godoy, H. T.; Amaya-Farfan, J.. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. *J. Food Compos. Anal.* 2008. 21(6), 445-463.
36. Rodriguez-Amaya, D. B. *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington: ILSI press. 2001; Vol. 71, 64p.
37. Fiedor, J.; Burda, K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*. 2014. 6(2), 466-488.
38. Ribaya-Mercado, J.D.; Blumberg, J.B. Lutein and zeaxanthin and their potential roles in disease prevention. *J. Am.Coll. Nutr.* 2004. 23(6), 567S–587S.
39. Rao, A.V.; Rao, L.G. Carotenoids and human health. *Pharmacol. Res.* 2007. 55(3), 207-216.
40. Barua, A.B.; Olson, J.A. Xanthophyll epoxides, unlike β -carotene monoepoxides, are not detectibly absorbed by humans. *J. Nutr.* 2001. 131, 3212-3215.
41. Biehler, E.; Hoffmann, L.; Krause, E.; Bohn, T. Divalent minerals decrease micellarization and uptake of carotenoids and digestion products into Caco-2 Cells¹⁻³. *J. Nutr.* 2011. 141(10), 1769-1776.

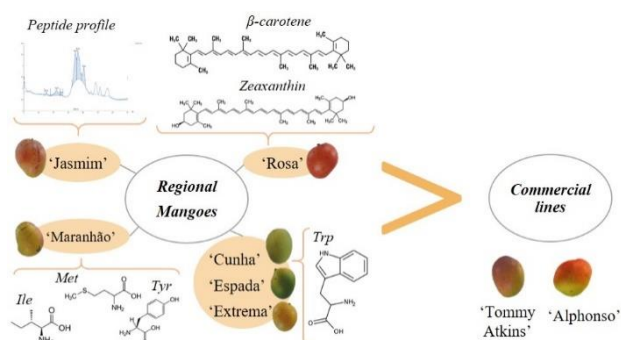
42. Assai, A.; Terasaki, M.; Nagao, A. An epoxide–furanoid rearrangement of spinach neoxanthin occurs in the gastrointestinal tract of mice and in vitro: formation and cytostatic activity of neochrome stereoisomers. *Nutr. Cancer*. 2004. *134*(9), 2237-2243.
43. Liu, F.X.; Fu, S.F.; Bi, X.F.; Chen, F.; Liao, X.C.; Hu, X.S, Wu, J.H. Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. *Food Chem*. 2013. *138*, 396–405.
44. Mercadante. A.Z.; Rodriguez-Amaya. D.B, Britton. G. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. *J. Agr. Food Chem*. 1997. *45*(1), 120-123.
45. Ornelas-Paz, J. D. J.; Yahia, E. M.; Gardea-Bejar, A. Identification and quantification of xanthophyll esters, carotenes, and tocopherols in the fruit of seven mexican mango cultivars by liquid chromatography– atmospheric pressure chemical ionization– time-of-flight mass spectrometry [LC-(APCI+)-MS]. *J. Agr.Food Chem*. 2007. *55*(16), 6628-6635.
46. Camiro-Cabrera. M.; Escobedo-Avellaneda. Z.; Salinas-Roca. B.; Martin-Belloso. O.; Welte-Chanes. J. High hydrostatic pressure and temperature applied to preserve the antioxidant compounds of mango pulp (*Mangifera indica* L.). *Food Bioprocess Tech*. 2017. *10*(4), 639-649.
47. Mercadante, A. Z.; Rodriguez-Amaya, D. B. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. *J. Agr. Food Chem*. 1998.*46*(1), 128-130.
48. Chen, J.P.; Tai, C.Y.; Chen, B.H. Improved Liquid Chromatographic Method for Determination of Carotenoids in Taiwanese Mango (*Mangifera Indica* L.). *J. Chromato. A*. 2004. *1054*, 261–268

49. Pott. I.; Breithaupt. D.E.; Carle. R. Detection of unusual carotenoid esters in fresh mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Kent'). *Phytochemistry*. 2003. 64(4), 825-829.
50. Burton-Freeman, B. M., Sandhu, A. K., and Edirisinghe, I. Mangos and their bioactive components: adding variety to the fruit plate for health. *Food Funct.* 2017. 8, 3010–3032.
51. Augustin, M. A.; Ling, E. T. Composition of mango seed kernel. *Pertanika J. Sci.* 1987.10(1), 53-59.
52. NEPA–Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)*. 4 Eds.; Universidade de Campinas-UNICAMP: Campinas, São Paulo, 2011; 160 pp.
53. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. (2020). FoodData Central, FDC Published: 4/1/2019. URL (<https://https://fdc.nal.usda.gov/index.html>) (most recent access date: 01/10/2020)
54. Gil, A.M.; Duarte, I.F.; Delgadillo, I.; Colquhoun, I.J.; Casuscelli, F.; Humpfer, E.; Spraul, M. Study of the compositional changes of mango during ripening by us of nuclear resonance spectroscopy. *J. Agr. Food Chem.* 2000. 38(5), 1524-1536.
55. Dautt-Castro, M.; Ochoa-Leyva, A.; Contreras-Vergara, C. A.; Muhlia-Almazán, A.; Rivera-Domínguez, M.; Casas-Flores, S.; Martinez-Tellez, M.A.; SAÑUDO-BARAJAS, A.; Osuna-Enciso, T.; Baez-Sañudo, M.A.; Quiroz-Figueroa, F.R.; Kuhn, D.N.; Islas-Osuna, M.A. Mesocarp RNA-Seq analysis of mango (*Mangifera indica* L.) identify quarantine postharvest treatment effects on gene expression. *Sci. Hortic.* 2018. 227, 146–153.
56. Tharanathan, R. N.; Yashoda, H. M.; Prabha, T. N. Mango (*Mangifera indica* L.), the king of fruits—an overview. *Food Rev. Int.* 2006. 22, 95–123.

57. Fernstrom, J.D.; Fernstrom, M.H. Tyrosine, phenylalanine, and catecholamine synthesis and function in the brain. *J. Nutr.* 2007. *137*(6), 1539S–1547S.
58. Klee, H.J.; Giovannoni, J.J. Genetics and Control of Tomato Fruit Ripening and Quality Attributes. *Annu. Rev. Genet.* 2011. *45*(1), 41-59.
59. Pino, J.A.; Mesa, J.; Muñoz, Y.; Martí, M.P.; Marbot, R. Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *J. Agr. Food Chem.* 2005. *54*(6), 2213-2223.
60. Kimball. S.R.; Jefferson. L.S. Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis. *J. Nut.* 2006.*136*, 227S–231S.
61. Blomstrand. E.; Eliasson. J.; Karlsson. H.K.R.; Köhnke. R. Branched-chain amino acids activate key enzymes in protein synthesis after physical exercise. *J. Nut.* 2006. *136*, 269S–273S.
62. Lalel. H.J.; Singh. Z.; Tan. S.C. Glycosidically-bound aroma volatile compounds in the skin and pulp of “Kensington Pride” mango fruit at different stages of maturity. *Postharvest Biol. Technol.* 2003. *29*(2), 205-218.
63. Ito. H.; Ueno. H.; Kikuzaki. H. Free amino acid compositions for fruits. *J. Nutr. Diet. Pract.* 2017b. *1*(1), 1-5. 2017b
64. Careri, M.; Mangia, A. Analysis of food proteins and peptides by chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2003. *1000*(1-2), 609-635.
65. García, M. C., Puchalska, P., Esteve, C., & Marina, M. L. Vegetable foods: A cheap source of proteins and peptides with antihypertensive, antioxidant, and other less occurrence bioactivities. *Talanta*, 2013. *106*, 328-349.

66. Amorim. M.; Marques. C.; PEreira. J.O.; Guardão. L.; martins. M.J.; OSÓRIO. H.; Moura. D.; Calhau. C.; Pinheiro. H.; Pintado. M. Antihypertensive effect of spent brewer yeast peptides. *Process Biochem.* 2019. 76, 213-218.
67. Memarpoor-Yazdi, M.; Mahaki, H.; Zare-Zardini, H. Antioxidant activity of protein hydrolysates and purified peptides from *Zizyphus jujuba* fruits. *J. Funct. Foods.* 2013. 5(1), 62-70.
68. Zhuang, H.; Tang, N.; Yuan, Y. Purification and identification of antioxidant peptides from corn gluten meal. . *J. Funct. Foods.* 2013. 5(4), 1810-1822.
69. Xia, L.; Ng, T.B. Actinichinin, a novel antifungal protein from the gold kiwi fruit. *Peptides.* 2004. 25(7), 1093-1098.

TOC Graphic



4.2 ARTIGO 2

**FILMES E RECOBRIMENTOS BIODEGRADÁVEIS À BASE DE AMIDO DE
INHAME PLASTIFICADOS COM NADES: PROPRIEDADES DO FILME E EFEITO
DE REVESTIMENTOS NA QUALIDADE DE MANGAS 'PALMER'**

Trabalho em fase de tradução para submissão no periódico *Postharvest Biology and
Technology*

(Fator de impacto: 3.927)

Filmes e recobrimentos biodegradáveis à base de amido de inhame plastificados com NADES: propriedades do filme e efeito de revestimentos na qualidade de mangas 'Palmer'

Resumo

Filmes e recobrimentos de amido são potenciais alternativas ecológicas e funcionais à saúde e para conservação pós-colheita de fruto e quando plastificados adequadamente podem ser ainda mais eficientes. Neste contexto, Solventes Eutéticos Profundos Naturais (NADES) despontam como plastificantes verdes e inovadores. Assim, este estudo objetivou desenvolver e avaliar as propriedades (espessura, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, cor, opacidade, resistência à tração e alongamento e elasticidade) de filmes de amido de inhame plastificado com diferentes proporções de NADES de ácido cítrico e cloreto de colina e glicerol – G. Baixos níveis dos plastificantes contribuíram para a coesão e baixa flexibilidade dos filmes enquanto altas proporções, até certo limite, diminuíram a rigidez. A resistência e a flexibilidade dos filmes plastificados com NADES e/ou G foram modificadas alterando-se as proporções de plastificantes. Após experimento inicial, as formulações 0.72%NADES+0.85%G; 1.78%NADES+0.15%G; 1.25%NADES+0.5%G, 1.25%NADES e controle (sem recobrimento), foram aplicadas como recobrimento de mangas ‘Palmer’. O NADES de cloreto de colina (1.25NADES), isoladamente, plastificou satisfatoriamente dispersões filmogênicas de amido de inhame resultando em propriedades adequadas para produção de filmes e sua aplicação como recobrimentos e quando aplicado em mangas ‘Palmer’ reduziu o metabolismo, retardou o amadurecimento, além de proporcionar avaliações sensoriais e intenção de compra da manga ‘Palmer’ superiores à dos demais recobrimentos.

Palavras-chave: recobrimento biodegradável, plastificante, natural deep eutectic solvent, *Mangifera indica* L., aceitação sensorial

1. Introdução

É crescente o interesse pelo desenvolvimento e uso de recursos renováveis para diversas aplicações, muitas delas na área da ciência e tecnologia de alimentos, como o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis. Neste sentido, polissacarídeos como o amido têm sido amplamente estudados no desenvolvimento de filmes e recobrimentos biodegradáveis que tem desempenhado um papel importante na preservação, distribuição e comercialização de produtos alimentícios (Wu et al., 2017; Fakhouri, Martelli, Caon, Velasco & Mei, 2015, Bertuzzi, Gottifredi & Armada, 2012).

Os recobrimentos comestíveis quando aplicados em frutas formam uma película transparente na superfície da fruta, atuando como uma barreira à água e aos gases (O_2 e CO_2), capaz de conferir brilho, melhorar a cor, reduzir a perda de massa e assim prolongar a vida útil de armazenamento (Singh, Singh, Sane & Nath, 2013). Além do apelo ambiental, estes biopolímeros são excelentes veículos para incorporar uma ampla variedade de aditivos, como antioxidantes, agentes antifúngicos, antimicrobianos, cores e outros nutrientes (Abdollahi, Rezaei, & Farzi, 2012).

O amido extraído do inhame (*Dioscorea* spp.) está entre os materiais com potencial para o desenvolvimento de revestimentos, uma vez que possui características favoráveis em sua matriz que permitem a combinação com outros compostos, para fortalecer sua estrutura e funcionalmente (Gutiérrez et al., 2015). Entretanto, para a produção de recobrimentos e filmes de amido deve-se considerar que filmes deste polímero nativo puro são quebradiços em comparação com polímeros sintéticos como o polietileno e geralmente precisam da adição de plastificantes, sendo o glicerol um dos mais utilizados e que apesar de evitar a rachaduras do filme durante o manuseio e armazenamento, promovendo o alongamento destes, também leva ao aumento da permeabilidade ao oxigênio (Hu, Chen, & Gao, 2009, Laohakunjit &

Noomhorm, 2004). Outro ponto negativo do glicerol é que ele tende a migrar para materiais amiláceos, o que pode levar à retrogradação do amido após períodos mais longos de armazenamento (Zdanowicz, 2020). Nesse contexto, um novo e amplo grupo de meios denominados solventes eutéticos profundos - DES vem sendo testado como agentes plastificantes de amido (Zdanowicz, Wilpiszewska & Spychaj, 2018).

DES de base natural que atendem aos princípios da Química Verde são definidos como misturas de dois ou mais componentes baratos e seguros capazes de se associarem através da complexação de um aceitador de ligação de hidrogênio (por exemplo, sais de halogenetos de cátions quaternários de amônio) com porções de doadores de ligação de hidrogênio, como ácido cítrico, uréia e glicerol (Paiva et al., 2014). A colina é um dos compostos mais comuns na síntese do DES, por ter relevância como fonte catiônica alternativa, com bom desempenho em combinações de ácidos carboxílicos, como os ácidos oxálico, malônico, adípico, succínico e cítrico (Abbott et al., 2004). O baixo custo, a biodegradabilidade e a não toxicidade dos DESs à base de cloreto de colina (ChCl) os tornam compostos muito atraentes para serem utilizados na produção de bioplásticos (Almeida, Magalhães, Souza & Gonçalves, 2018).

O ácido cítrico bem como outros ácidos carboxílicos como málico e ascórbico, que podem ser obtidos de origem natural, são empregados como agentes de reticulação (crosslinking) para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira além de aumentar a hidrofobicidade de materiais de amido (Zdanowicz & Johansson, 2016).

Características moleculares de um plastificante como peso molecular e estrutura estão altamente relacionadas à eficiência no mecanismo de plastificação, entre essas o número de grupos carboxil ($-COOH$) e hidroxil ($-OH$), ambos capazes de ligação de hidrogênio, sendo que o ácido cítrico possui 3 carboxilas e o grupo $-OH$ mais fortemente polarizado do que o grupo $-OH$ do polióis como o glicerol devido à presença da fração carbonila adjacente,

podendo assim formar ligações de hidrogênio mais fortes (Galvis-Sánchez, Castro, Biernacki & Gonçalves, 2018).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes comestíveis baseados em misturas de amido de inhame e plastificantes para aplicação na superfície de mangas ‘Palmer’, a fim de reduzir a taxa metabólica e melhorar a aparência. O efeito do recobrimento sobre a vida útil dessas mangas após armazenamento em condições de comercialização também foi avaliado. Uma triagem das propriedades de diversas formulações de filmes de recobrimento foi realizada para otimizar a composição final dos recobrimentos biodegradáveis a serem aplicados em mangas.

2. Material e Métodos

Material vegetal

Inhames (*Dioscorea* spp.), selecionados quanto à uniformidade de maturação, ausência de danos e doenças, foram adquiridos na Empresa Paraibana de Abastecimento - EMPASA de Campina Grande – PB e em seguida transportados ao Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita do CCA/UFPB.

Mangas ‘Palmer’ na maturidade fisiológica (caraterizada pela cor verde claro, tendendo ao amarelo, da casca dos frutos – estágio 2) foram colhidas em um pomar comercial localizado em Juazeiro - BA - Brasil. Os frutos selecionados eram uniformes em tamanho, forma, cor e ausência de danos ou doenças. As mangas foram higienizadas com solução de hipoclorito de sódio a 100 mg.L⁻¹, por 2 minutos, e deixadas secar. Os recobrimentos foram aplicados em condições ambientes (24 ± 2 ° C e 75 ± 4% de umidade relativa).

Preparação do NADES

O cloreto de colina e o ácido cítrico foram utilizados como aceitador e doador de ligação do hidrogênio, respectivamente. A razão molar 2: 1 entre colina e ácido cítrico foi escolhida,

após testes anteriores com diferentes proporções molares entre os dois compostos, devido às características visuais e táteis do líquido resultante.

Elaboração do das soluções filmogênicas à base de amido

A dispersão do amido de inhame foi gelificada por aquecimento a 85 °C, sob agitação constante. O amido foi pesado considerando o teor de matéria seca (após a determinação da umidade), para obter dispersões com polissacarídeo a 3% (peso / volume). O NADES foi adicionado para substituir o glicerol em soluções filmogênico de amido, no entanto, o glicerol não foi completamente excluído, considerando a possibilidade de o NADES reforçar o efeito do glicerol ou vice-versa. Para tanto, utilizamos a estratégia de otimização do composto central experimental, com fatorial 2² (Tabela 1), no qual as variáveis foram as porcentagens de glicerol e NADES. Foram considerados os valores mínimo e máximo: 0 e 1% para o glicerol e 0,5 e 2,0% para o NADES.

Tabela 1. Delineamento composto central rotacional – DCCR com variáveis decodificadas e codificados entre parêntesis

Formulação	Variáveis independentes	
	NADES (% m/v de dispersão de amido)	Glicerol - Gly (% m/v de dispersão de amido)
1	0.72 (-1)	0.15 (-1)
2	0.72 (-1)	0.85 (+1)
3	1.78 (+1)	0.15 (-1)
4	1.78 (+1)	0.85 (+1)
5	0.5 (- 1.41)	0.5 (0)
6	2 (+1.41)	0.5 (0)
7	1.25 (0)	0 (-1.41)
8	1.25 (0)	1 (+1.41)
9	1.25 (0)	0.5 (0)
10	1.25 (0)	0.5 (0)
11	1.25 (0)	0.5 (0)

Assim, onze formulações foram preparadas e adicionadas como plastificantes à solução de amido gelificado. As soluções incorporadas de glicerol e NADES foram então vertidas em placas de vidro planas para formar os filmes.

Os filmes resultantes foram removidos das placas de vidro e mantidos, por pelo menos 48h antes das avaliações, em uma caixa de acrílico adaptada para ter umidade relativa controlada no interior igual a 50%. Posteriormente, os filmes foram avaliados pelo aspecto visual (para selecionar os filmes biodegradáveis homogêneos, que apresentavam uma cor uniforme, sem partículas de amido insolúveis, flexíveis no manuseio e sem rachaduras ou zonas propensas à ruptura) e posteriormente por suas propriedades estruturais. Em seguida, as seguintes formulações foram selecionadas para aplicação nos frutos: 0,72% NADES + 0,85% G; 1,78% NADES + 0,15% G; 1,25% de NADES + 0,5% de G e 1,25% de NADES, que foram comparados aos frutos sem revestimento, determinados como controles - (C).

Caracterização dos filmes

Espessura

A espessura dos filmes foi medida com um micrômetro externo 0-25mm 0,01mm Mitutoyo 103-137, Japão), com os resultados expressos em valor médio de cinco medições em áreas diferentes do filme. Os dados obtidos foram usados para cálculos da permeabilidade ao vapor de água.

Solubilidade em água

A solubilidade em água foi medida de acordo com Romero-Bastidas et al. (2005) usando a modificação proposta por Hu et al. (2009). Inicialmente, o peso inicial (M0) da amostra seca, com um tamanho de 40 a 20 mm para cada filme, foi determinado após secagem a $40 \pm 2,0$ °C, em estufa de circulação de ar forçado, até um peso constante. A amostra pesada foi imersa em frasco erlenmeyer cheio com 50 mL de água destilada. O frasco foi selado para evitar deposição de poeira e evaporação da água e permaneceu em mesa agitadora orbital a 25 °C por 24 h, período durante o qual a água periodicamente oscilava levemente. A amostra foi retirada

e seca a um peso constante a 40 ° C em estufa e, em seguida, pesada (M). A solubilidade da amostra foi calculada conforme a equação 1, a seguir:

$$Solubilidade = \frac{100 \times (M - M_0)}{M_0} \quad (1)$$

Onde M_0 e M foram o peso seco da amostra antes e após o teste, respectivamente. Para cada filme OPS, os testes foram realizados em triplicado e o valor médio foi usado.

Medição da cor da superfície

Os parâmetros de cor foram determinados usando um colorímetro Minolta CM-508d, colocando amostras de filme em uma placa padrão (L : 72.54, a : 1.73 e b : 19.7). A diferença de cor (DC) e o índice de brancura (IB) foram calculados com relação aos parâmetros padrão da placa usando as seguintes Eqs. (2) e (3), respectivamente (Abdollahi, Rezaei, & Farzi, 2012):

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

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

Nas quais L^* , a^* , b^* são as coordenadas dos filmes e L_0 , a_0 , b_0 são aqueles valores correspondentes a placa de fundo branco (L : 72.54, a^* : 1.73 e b^* : 0.65).

Opacidade aparente

A opacidade aparente (OA) foi determinada usando um colorímetro Minolta CM-508d, e foi calculado com base na razão da luminosidade (sistema L^* - CIELab) do sistema, que foi medida com fundo preto (L_p^*) e fundo branco (L_B^*), dividido pela espessura de o filme ($Esp.$). Os resultados foram expressos em uma escala arbitrária (0–100% μm^{-1}) de acordo com a Eq. 4 (Shirai, Grossmann, Mali, Yamashita, Garcia & Müller, 2013):

$$OA = \left[\frac{L_p^* / L_B^*}{Esp.} \right] \times 100 \quad (4)$$

Propriedades mecânicas

Os testes de resistência à tração foram realizados com um analisador de textura (Stable Micro Systems, modelo TA XTplus, Inglaterra), baseado nos padrões da American Society for Testing and Material (ASTM, 2002). As amostras foram previamente condicionadas a 20 ± 2 °C e $51 \pm 2\%$ de UR por 48 h. As propriedades medidas foram resistência à tração (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo de Young (MPa).

Caracterização das mangas

Delineamento experimental

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5×6 , combinando 4 recobrimentos (0.72NADES+0.85G; 1.78NADES+0.15G; 1.25NADES + 0.5G and 1.25NADES) e 6 períodos de avaliação (0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias). A cada período de avaliação as análises foram feitas utilizando-se três repetições por tratamento, compostas por três bandejas com 2 frutos, cada.

Taxa respiratória

A avaliação da produção de CO₂ dos frutos sob os diferentes recobrimentos foi realizada na condição ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) em três repetições, cada repetição composta por um fruto. Os frutos recobertos foram colocados em potes herméticos de 1500 mL sob sistema de fluxo contínuo de oxigênio. As leituras foram iniciadas após os frutos estarem 24 horas sob sistema de fluxo e foram realizadas durante 5 dias. Foi injetado 0,1 mL dos gases do fluxo em analisador de CO₂ (Sable Systems PA-10a) (Dantas, Silva, Dantas & Schunemann, 2016).

Perda de massa, firmeza e parâmetros de cor

A perda de massa foi obtida pela diferença percentual de massa dos frutos no dia da colheita e a cada dia da avaliação; A firmeza dos frutos íntegros (N) foi determinada através do penetrômetro manual Magness Taylor Pressure Tester, sendo realizada duas leituras na região

equatorial do fruto inteiro em lados opostos; os parâmetros de cor (L^* , C^* , $^{\circ}H$) das mangas foram medidos usando um Konica Minolta CR-400 Chroma Meter (Minolta Corp., Japão) para casca e polpa. L^* expressa a luminosidade da cor com valores que variam de 0 = preto a 100 = branco. $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, com valores variando de 0 = menos intenso a 60 = mais intenso, e ângulo de matiz $^{\circ}H = \tan^{-1}(b^* / a^*)$, em que valores variando de 0 a 360, onde 0, 90 e 180 mostram vermelho, amarelo e verde, respectivamente. Foram realizadas duas leituras em diferentes locais de cada fruto da manga durante cada observação dos dados.

Determinação de parâmetros químicos

Sólidos solúveis (SS), por duas leituras diretas com refratômetro tipo Abbe digital, ATAGO N1 a 20 °C; Acidez titulável (AT – g ácido cítrico.100 g⁻¹ de polpa), por titulometria com solução de NaOH 0,1M; relação SS/AT, quociente de SS por AT; pH, com potenciômetro e teor de açúcares redutores e não redutores, conforme (Lima et al.(2012).

Avaliação sensorial

A aparência dos frutos foi avaliada relativamente aos parâmetros de brilho, desidratação e à intenção de compra, conforme Rodrigues et al. (2018) através de um painel sensorial composto por 15 julgadores treinados. O julgamento das amostras codificadas foi realizado em escala não estruturada de 10 cm, na qual o participante do painel marcava a intensidade das características avaliadas com traço vertical. As amostras foram compostas por 4 frutos de cada revestimento, sendo avaliados os aspectos visuais de brilho e desidratação e a intenção de compra (entre não compraria / compraria) na qual 4 era a pontuação limite.

3. Resultados e Discussão

Caracterização dos filmes

Os filmes biodegradáveis amido de inhame plastificados com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico em substituição total ou parcial ao glicerol (Gly) foram visualmente

homogêneos, transparentes e flexíveis, sem poros, rachaduras ou partículas insolúveis e facilmente destacados das placas de vidro onde foram formados e isto atesta a boa capacidade de formação de filme que tem o amido, especialmente por conter amilose em sua composição (Fakhouri et al., 2015; Jiménez, Talens & Chiralt, 2012; Bertuzzi, Gottifredi & Armada, 2012).

Analisando os dados apresentados na Figura 1, pode-se observar que o aumento da concentrações de NADES e Gly tem impacto no aumento da espessura, contudo o impacto do NADES é mais brando que aquele do Gly que é diretamente proporcional ao aumento da espessura, de modo que concentrações acima de 0.8% de glicerol levam a espessuras maiores que 100 μm (Figura 1A). Plastificação com NADES de colina e ácido cítrico, comparada aquela somente com ácido cítrico, aumentou a espessura de filmes de quitosana (Galviz-Sanches et al., 2016).

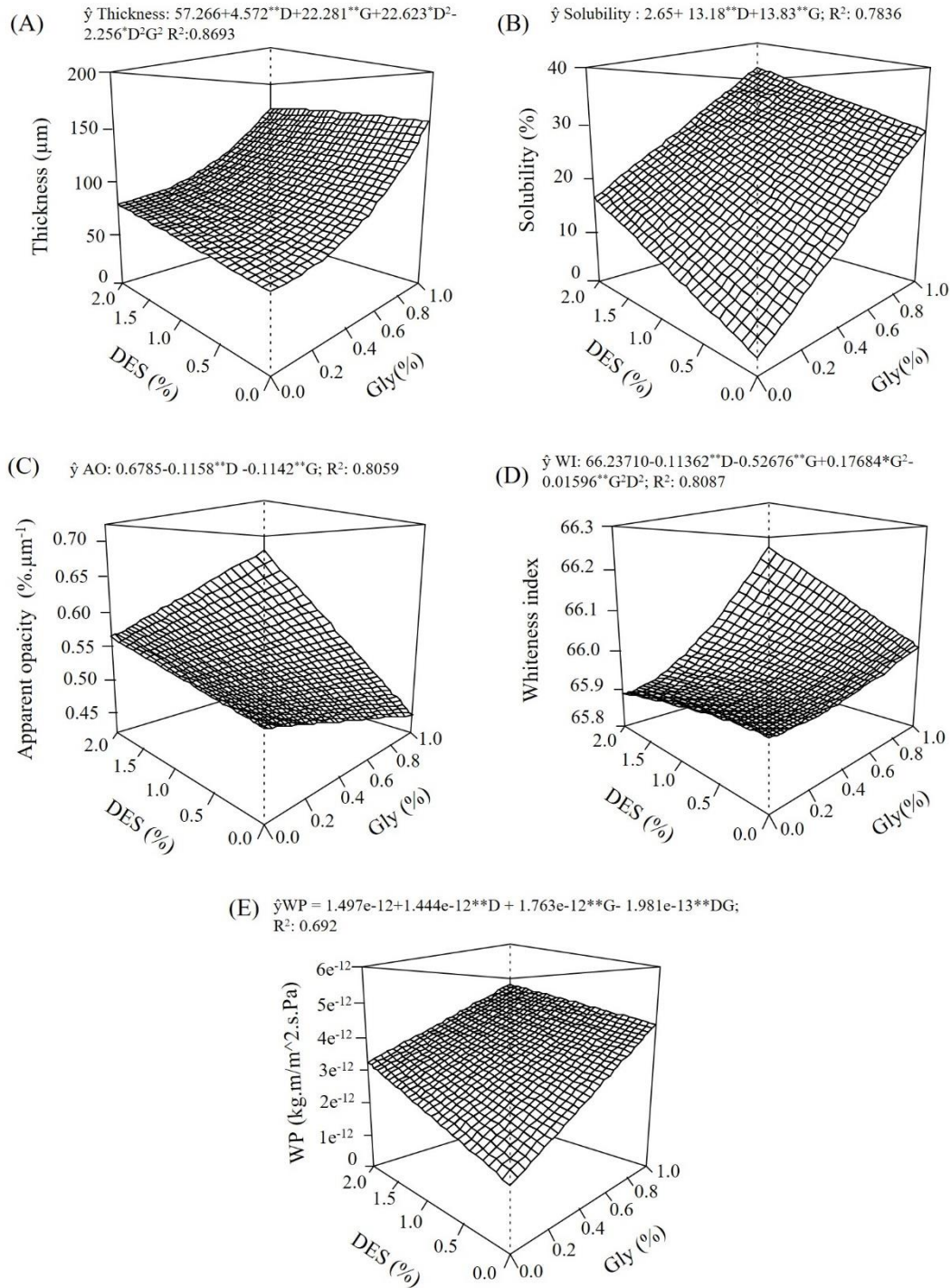


Figura 1. Características dos filmes de amido de inhame em relação as concentrações dos plastificante NADES (DES) e glicerol (Gly) adicionada. (A) espessura, (B) solubilidade, (C) opacidade aparente, (D) índice de brancura e (E) permeabilidade ao vapor de água.

As propriedades de barreira como a permeabilidade a vapor de água e a outros gases são amplamente afetadas pela espessura dos filmes e quando estes são de caráter hidrofílico, como é o caso dos filmes de amido, o impacto é maior na permeabilidade ao vapor de água pois pode haver diferenças entre a pressão do vapor de água e o acúmulo de umidade na interface do filme (Gutierrez, Tapia, Pérez & Fani, 2015).

Quanto a solubilidade, ambos os plastificantes proporcionam aumento sendo percentuais de Gly acima de 0.2% e de NADES acima de 1.5% capazes de conferir maior solubilidade aos filmes (Figura 1B).

Filmes de quitosana plastificados com NADES de cloreto de colina e ácido láctico também apresentaram aumento da solubilidade com aumento da concentração de plastificante (Andrade, Magalhães, Souza & Gonçalves, 2018).

Por sua vez, Gutiérrez et al. (2015) observaram que filmes comestíveis preparados a partir de amido de inhame e de mandioca fosfatados plastificados com glicerol apresentaram solubilidade de 47 ± 5 e $36.6 \pm 5\%$, maiores que aqueles preparados dos mesmos amidos nativos (32 ± 2 e $24 \pm 1\%$) e maiores que os aqui encontrados entre 9.8 a 35.7%.

Filmes de amido e álcool polivinílico apresentaram aumento na solubilidade em água quando adicionados de ácido cítrico Wu et al (2017). A solubilidade do filme comestível indica sua integridade em um ambiente aquoso, e uma maior solubilidade indica menor resistência à água (Romero-Bastida, Bello-Pérez, García, Martino, Solorza-Feria & Zaritzky, 2005). Neste sentido, Gutiérrez, Morales, Pérez & Famá, (2015a) apontam que controlar a solubilidade e difusividade dos filmes é importante para o seu uso bem-sucedido como material de embalagem.

Concentrações em torno de 0.5% de NADES e de 0.2% de Gly proporcionam as mais altas opacidades aparentes e índice de brancura dos filmes (Figura 1C, 1D) e à medida que se

aumentam NADES e Gly estas características perderam intensidade. Em filmes de amido com ácido polilático plastificados com ésteres de adipatos o aumento na concentração destes plastificantes diminuiu significativamente a opacidade do filmes em decorrência do possível aumento do volume livre resultante da maior mobilidade das cadeias e diminuição da cristalinidade (Shirai et al., 2013). Efeito semelhante foi reportado por Fakhouri et al. (2015) em filmes de amido após adição de gelatina que levou a uma abertura na estrutura helicoidal tripla da matriz amilácea, permitindo uma penetração mais profunda da luz no filme, reduzindo assim sua opacidade.

É importante notar que todos os filmes apresentavam excelente transparência, apesar das diferenças de opacidade que é uma característica importante de ser alta quando o filme se destina a produtos em que a proteção contra luz incidente é necessária, sensíveis à reação de degradação catalisada pela luz (Hu, Chen & Gao, 2009).

Quanto à permeabilidade ao vapor de água o aumento das concentrações de ambos os plastificantes favoreceu as mais altas taxas, seguindo a mesma tendência da solubilidade conforme Andrade et al. (2018), tendo-se observado valores superiores a $5e^{-12}$ (kg.m/m².s.Pa) com as concentrações acima de 1.5 de NADES e de 0.8% de Gly.

Filmes de amido de inhame foram influenciados linearmente pela concentração de glicerol aumentando conforme o aumento da concentração do plastificante (entre 1.3 a 2.0% v/v) que torna menos densa a estrutura da rede de amido (Mali, Grossmann, García, & Zaritzky, 2004). Contrariamente ao observado no presente trabalho, a permeabilidade a vapor de água de filmes de amido de inhame a 4% (g/100g de solução) plastificados com glicerol a 1.3 e 2.0% não diferiu em função do plastificante.

Entre filmes de quitosana plastificados com diferentes NADES, aqueles com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico apresentaram a menor permeabilidade ao vapor de água

($3.97 \times 10^{-10} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$) conferindo superfícies homogêneas e as estruturas mais compactas (Galvis-Sánchez et al., 2018).

A seleção apropriada de plastificantes e suas concentrações seria útil no controle do teor de umidade e da taxa de adsorção de umidade de um filme de amido e pode melhorar a estabilidade do filme de amido sob condições variadas de umidade relativa, uma vez que dada a sua natureza hidrofílica inerente, os filmes de amido tendem a absorver grandes quantidades de água em condições de umidade relativa elevada umidade e a sobrecarga de água pode tornar o filme de amido instável. (Hu, Chen & Gao, 2009).

Moléculas de plastificante entre cadeias adjacentes de um biopolímero diminuem as atrações intermoleculares, facilitando a migração de moléculas de vapor de água (Galvis-Sánchez, Castro, Biernacki & Souza, 2018).

A permeabilidade ao vapor de água pode ser usada para prever a perda ou ganho de água nos alimentos cobertos pelo filme e por isto é uma das características mais importantes dos filmes comestíveis, uma vez que espera-se uma boa embalagem de alimentos seja capaz de impedir ou reduzir a transferência de umidade do ambiente circundante para os alimentos (Gutiérrez et al., 2015b).

Entre recobrimentos de uso comercial para aplicação em mangas observam-se diferenças nas características de permeabilidade que podem afetar fatores importantes como maturação, sabor e perda de peso (Baldwin, Burns, Kazokas, Brecht, Hagenmaier, Bender & Pesis, 1999).

Quanto as propriedades mecânicas (Tabela 2), para a tensão de ruptura (TS) a formulação 5, com 0.5% tanto para NADES quanto para G, foi a maior seguida pela formulação 9, plastificada com 1.25NADES e 0.5G, enquanto as formulações 4 (1.78NADES+0.85G) e 6 (2NADES+0.5G) apresentaram a menor TS, indicando que combinações em que o total de

plastificante (soma de NADES e Gly) é entre 1.0 e 1.75% conferem uma maior tensão de ruptura enquanto totais fora dessa faixa, para mais ou para menos, diminuem a tensão. Filmes de amido com álcool polivinílico apresentaram aumento da TS quando adicionados de ácido cítrico (Wu et al., 2017).

Tabela 2. Testes mecânicos para filmes de amido de inhame em relação as concentrações dos plastificante NADES e glicerol adicionada

Edible coatings	Independent variables		Dependent variables		
	NADES (%)	Glycerol (%)	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Young modulus (MPa)
1	0.72 (-1)	0.15 (-1)	0.50cd	19.61ab	0.29b
2	0.72 (-1)	0.85 (+1)	0.97abcd	7.28b	1.37ab
3	1.78 (+1)	0.15 (-1)	0.60cbd	10.77ab	0.62b
4	1.78 (+1)	0.85 (+1)	0.42d	19.32ab	0.22b
5	0.5 (-1.41)	0.5 (0)	1.42a	5.84b	2.66a
6	2 (+1.41)	0.5 (0)	0.39d	20.72ab	0.19b
7	1.25 (0)	0 (-1.41)	1.05abc	11.51ab	1.58ab
8	1.25 (0)	1 (+1.41)	0.58cbd	24.82a	0.23b
9	1.25 (0)	0.5 (0)	1.14ab	6.32b	1.84ab
10	1.25 (0)	0.5 (0)	1.14ab	6.32b	1.84ab
11	1.25 (0)	0.5 (0)	1.14ab	6.32b	1.84ab

Valores na mesma coluna com letras diferentes (a – d) indicam diferença estatisticamente significante entre os tratamentos ($p \leq 0,05$).

Filmes de quitosana plastificados com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico (1:1) tiveram a maior TS, quando comparados a filmes da mesma matriz plastificados com NADES de colina com outros ácidos orgânicos e glicerol, apresentando estrutura mais rígida (Galvis-Sánchez et al., 2018).

Entre as alterações nas propriedades mecânicas do filme esperadas com a adição de um agente plastificante, está uma redução na tensão do material e um aumento no alongamento na ruptura (Galvis-Sánchez et al., 2016), assim como observado em filmes de amido de milho gelatinizados a baixas temperaturas, nos quais houve diminuição na resistência à tração (TS) e

aumento do alongamento com o aumento da concentração do plastificante glicerol (Bertuzzi, Gottifredi & Armada, 2012).

A formulação 8 (1.25NADES+1G) apresentou a maior taxa de alongamento com 24.8% enquanto as formulações 2 (0.72NADES+0.85G), 5 (0.5NADES+0.5G) e aquela do ponto central (1.25NADES+0.5G) apresentaram as mais baixas (7.28, 5.84 e 6.32%) e as demais formulações foram intermediária; Sendo a formulação 8 uma das com maior adição de plastificante total (2.25%) e a formulação 5 a com a menor adição (1%), os resultados de alongamento concordam com os de TS, mostrando que baixa adição de NADES e G contribuem para a maior coesão e baixa flexibilidade (aumentando TS e diminuindo o alongamento) dos filmes enquanto altas proporções, especialmente acima de 1,75% total de plastificantes, diminuem a rigidez dos filmes.

É importante notar que a formulação 7, plastificada apenas com 1.25NADES desempenhou TS e alongamento intermediários sem diferir estatisticamente das formulações mais flexíveis sendo diferente da mais rígida. Ou seja, mostrando que o DES de colina e ácido cítrico aqui testado para plastificar filme de amido de inhame é capaz de interferir na matriz polimérica influenciando em suas propriedade mecânicas relativas a flexibilidade.

Relativamente ao módulo de Young (elasticidade) a formulação 5 (0.5NADES+0.5G) se destacou com a maior média (2.66 MPa) enquanto as formulações 1 (0.72NADES+0.15G), 3 (1.78NADES+0.15G), 4 (1.78NADES+0.85G), 6 (2NADES+0.5G) e 8 (1.25NADES+1G) mostraram as menores elasticidades (0.29, 0.62, 0.22, 0.19 e 0.23%, respectivamente).

Resistência à tração, alongamento e módulo de Young estão entre as respostas mais comumente relatadas para descrever as propriedades mecânicas dos filmes comestíveis (Maran et al., 2013).

O módulo de Young é a razão entre tensão e tensão sobre a parte linear da curva do trem de tensão. É a medida fundamental da rigidez dos filmes, pois quanto maior o módulo de Young, maior a rigidez dos materiais, tendo sido reportado que baixos níveis de plastificantes em filmes biodegradáveis aumentam o módulo de Young (Maran, Sivakumar, Sridhar & Immanuel, 2013, Al-Hassan & Norziah, 2012, Mali et al., 2005). Entretanto, em filmes de amido com álcool polivinílico observou-se aumento da elasticidade quando houve aumento do glicerol acompanhado do ácido cítrico (Wu et al., 2017).

O parâmetro L expressa a luminosidade e foi mais alta para a formulação 5 (0.5NADES+0.5G), que tinha o menor total de plastificante (1%), com 72.28 enquanto a formulação 4 (1.78NADES+0.85G), a com o maior total de plastificante (2.63%), teve a menor L (71.95), indicando que menores percentuais de plastificantes favorecem maior transparência. Uma vez que a formulação 7 não apresentou L diferente da formulação 5, constatou-se que a plastificação apenas com 1.25% do NADES de colina e ácido cítrico confere alta transparência ao filme (Tabela 3). A presença da proporção 0.08 ácido cítrico em formulação de filme 3:3 de amido e álcool polivinílico levou a alta transparência (L de 71.2) (Wu et al., 2017).

Para a coordenada a^* o mais alto valor foi encontrado na formulação 4 (1.78NADES+0.85G). Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) entre os filmes quanto ao parâmetro b^* , tendo todos os filmes apresentado uma leve coloração amarela que, contrariamente ao reportado por Bourtoom (2008), não aumentou com ao aumento da concentração de plastificante. Segundo Acevedo-Fani e al. (2015) as propriedades ópticas dos filmes comestíveis podem alterar a aparência geral dos produtos alimentícios, afetando a aceitação do consumidor.

A menor diferença de cor observada para a formulação 5 (0.5NADES+0.5G), 0.34 enquanto a maior foi para a formulações 4 (1.78NADES+0.85G) com 0.61, uma das de maior

concentração de NADES. Efeito de NADES de cloreto de colina e ácido cítrico como plastificante no aumento da diferença de cor de filme de quitosana foi reportado por Galvis-Sánchez et al. (2016).

É válido salientar que apesar das diferenças de L e diferença de cor, todos os filmes apresentavam excelente aspecto e transparência e, assim como filmes de amido de milho ceroso (Gutiérrez et al., 2014), tornando-os adequados as expectativas dos consumidores.

Tabela 3. Parâmetros de cor* de filmes de amido de inhame em relação as concentrações dos plastificante NADES e glicerol adicionada

Edible coating	Independent variables		Dependent variables			
	NADES (%)	Glycerol (%)	L	a*	b*	Color difference
1	0.72 (-1)	0.15 (-1)	72.15ab	1.82ab	19.62a	0.47abc
2	0.72 (-1)	0.85 (+1)	72.08bc	1.75abc	19.67a	0.48abc
3	1.78 (+1)	0.15 (-1)	72.03bc	1.77abc	19.57a	0.58ab
4	1.78 (+1)	0.85 (+1)	71.95c	1.83a	19.63a	0.61a
5	0.5 (-1.41)	0.5 (0)	72.28a	1.80abc	19.58a	0.34c
6	2 (+1.41)	0.5 (0)	72.08bc	1.68bc	19.62a	0.49abc
7	1.25 (0)	0 (-1.41)	72.20ab	1.75abc	19.67a	0.35bc
8	1.25 (0)	1 (+1.41)	72.08bc	1.67c	19.78a	0.44abc
9	1.25 (0)	0.5 (0)	72.15ab	1.75abc	19.78a	0.38abc
10	1.25 (0)	0.5 (0)	72.15ab	1.75abc	19.78a	0.38abc
11	1.25 (0)	0.5 (0)	72.15ab	1.75abc	19.78a	0.38abc

*Ao parâmetros de cor foram medidos sobre uma placa branca (L: 72.54, a: 1.73 e b: 19.7); Valores na mesma coluna com letras diferentes (a – d) indicam diferença estatisticamente significante entre os tratamentos ($p \leq 0,05$).

Caracterização das mangas

Taxa respiratória, perda de massa e firmeza

A taxa de produção de CO₂ aumentou ao longo dos dias de armazenamento e este aumento foi mais significativo nos frutos controle – C (Figura 2A), até o nono dia de armazenamentom tendo declinado em seguida, enquanto as mangas ‘recobertas com soluções filmogênicas de amido de inhame, plastificadas com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico (ChCl-CA) em substituição total ou parcial ao glicerol, apresentaram as menores taxas.

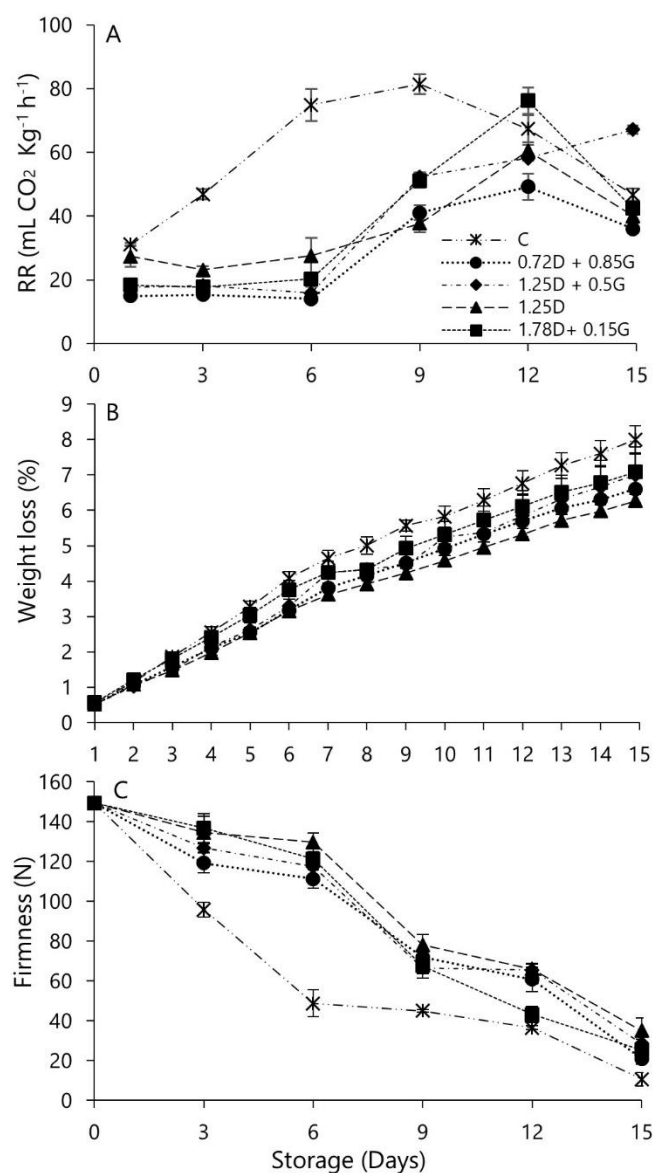


Figura 2 Taxa respiratória (A), perda de massa (B) e firmeza (C) de mangas ‘Palmer’ recobertas por soluções filmogênicas de amido de inhame plastificadas com NADES (D) de cloreto de colina e ácido cítrico e glicerol (G) e controle (C) durante 15 dias de armazenamento em condições ambientes (24 ± 2 °C e $75 \pm 4\%$ RH)

O recobrimento 1.78NADES+ 0.15G destacou-se com a menor taxa média geral do armazenamento ($28.43 \text{ mLCO}_2.\text{Kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Todos os recobrimentos aplicados mantiveram as taxas de CO₂ abaixo de 30 até o sexto dia de armazenamento, ao passo que o controle, um dia

após a montagem do experimento, já demonstrava $31.1 \text{ mLCO}_2.\text{Kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$. O recobrimento plastificado somente com NADES (1.25D) manteve-se até o nono dia de armazenamento com taxa inferior a $40 \text{ CO}_2.\text{Kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ tendo apresentado pico aos 12 dias, 3 dias depois dos frutos C.

O aumento significativo no processo respiratório é uma das características mais marcantes do processo do amadurecimento e desencadeia intensas alterações metabólicas, aumento da taxa de oxidação dos substratos, com um aumento do fluxo glicolítico, resultando em aumentos nos níveis de ATP e no pool de energia (Silva et al., 2017).

Os recobrimentos de polissacarídeos, sendo hidrofílicos por natureza, provocam uma barreira semipermeável contra CO_2 e O_2 , umidade e o movimento de solutos reduzindo assim a taxa respiratória a perda de massa e as reações de oxidação do processo de amadurecimento dos frutos (Nayik, Majid & Kumar, 2015; Wang, Wang, Jiang & Zhao. 2007).

Retardo no aumento da taxa respiratória, provocado por recobrimentos, também já foram reportados por Silva et al. (2017) e por Zhu, Wang, Cao & Jiang (2008) em mangas ‘Tommy Atkins’ e ‘Tainong’, respectivamente, recobertas com quitosana e também por Dang, Singh & Swinny (2008) em mangas recobertas com cera de caraúba e *Aloe vera* gel. Por sua vez, em mangas ‘Kent’ recobertas com quitosana Cissé, Polidori, Montet, Loiseau & Ducamo-Colin, (2015) observaram redução das taxas respiratórias pela diminuição nos níveis de O_2 , mesmo sem observar diferenças entre controle e frutos recobertos nos níveis de CO_2 .

A perda de massa (PM) aumentou em função do tempo de armazenamento tanto nos frutos controle como nos recobertos (Figura 2B), entretanto os recobrimentos retardaram esta taxa, sendo aquele plastificado somente com NADES (1.25NADES) o mais eficiente, com PM 1.27 vezes menor que a do controle (4.7%). Em frutos recobertos com 0.72NADES + 0.85G, 1.25NADES + 0.5G e 1.78NADES + 0.15G a redução da PM foi de 1.20, 1.16 e 1.10 vezes, respectivamente.

Perda de massa em mangas, durante o armazenamento, ocorre devido a transpiração e evaporação da água da casca, que levam a perda de valor comercial dos frutos, tendo sido reportado que PM acima de 10% levam as mangas a murchar e perder sabor fresco (Liu, Wang & Young, 2014). Os recobrimentos atuam como uma barreira física na superfície da fruta, capaz de bloquear as lenticelas e cicatrizes na haste do fruto, criando uma atmosfera modificada restringindo não apenas as trocas gasosas (O_2 e CO_2), como também a perda de água (Khaliq, Mohamed, Ghazali, Ding & Ali, 2016, Dang Singh & Swinny, 2008).

Impactos benéficos da aplicação de recobrimentos na redução da perda de massa foram observados em mangas ‘Tommy Atkins’ sob recobrimentos de amido de mandioca e quitosana (Azeredo, Silva, Lima, Dantas & Pereira, 2016), bem como em mangas ‘Kesar’ sob recobrimentos de zeína e gelatina (Gol & Rao, 2014) e em manga ‘Tommy Atkins’ recobertas com fécula de mandioca com extrato de erva doce (Lima, Silva, Rocha, Nascimento & Ramalho, 2012).

Quanto a firmeza, os frutos recobertos com 1.25NADES foram os que mantiveram a maior retenção (Figura 2C), seguidos por aqueles recobertos por 1.25NADES + 0.5G que chegaram ao final do armazenamento com firmezas médias de 98.7 e 92.4 N enquanto os frutos não recobertos – C apresentaram média geral de 64.32 N, atingindo 10.6 N no 15º dia.

De acordo com Zerbini et al. (2015) firmezas menores que 25N são características de frutas prontas para consumo ou maduras, no presente experimento as mangas recobertas com 0.72NADES+0.85G foram as únicas recobertas com firmeza menor que este referencial ao décimo quinto dia (20.9N), entretanto, ainda duas vezes superior ao observado nos frutos controle.

A perda de firmeza característica do amadurecimento da manga se dá devido à digestão da parede celular pela pectinesterase, poligalacturonase e outras enzimas da parede celular (Bibi

& Baloch, 2014). A explosão respiratória que define o amadurecimento da manga é refletida em redução marcantes na firmeza e mudanças na cor da casca além da redução no teor de amido e aumento nos teores de açúcares (Osorio & Fernie 2013).

Parâmetros de cor

A cor da casca juntamente com a textura e aroma são parâmetros importantes para definir a maturação de mangas sendo o avanço da cor verde para amarela ou vermelha uma mudança progressiva durante o armazenamento (Khaliq, Muda Mohamed, Ali, Ding & Ghazali, 2015). Observou-se aumento nos valores de L e C^* (Figura 3A, 3B) e decréscimo nos valores de $^{\circ}H$ (Figura 3C) mais intenso dos frutos controle, indicando que nestes frutos a cor da casca avançou mais rapidamente para o vermelho mais intenso.

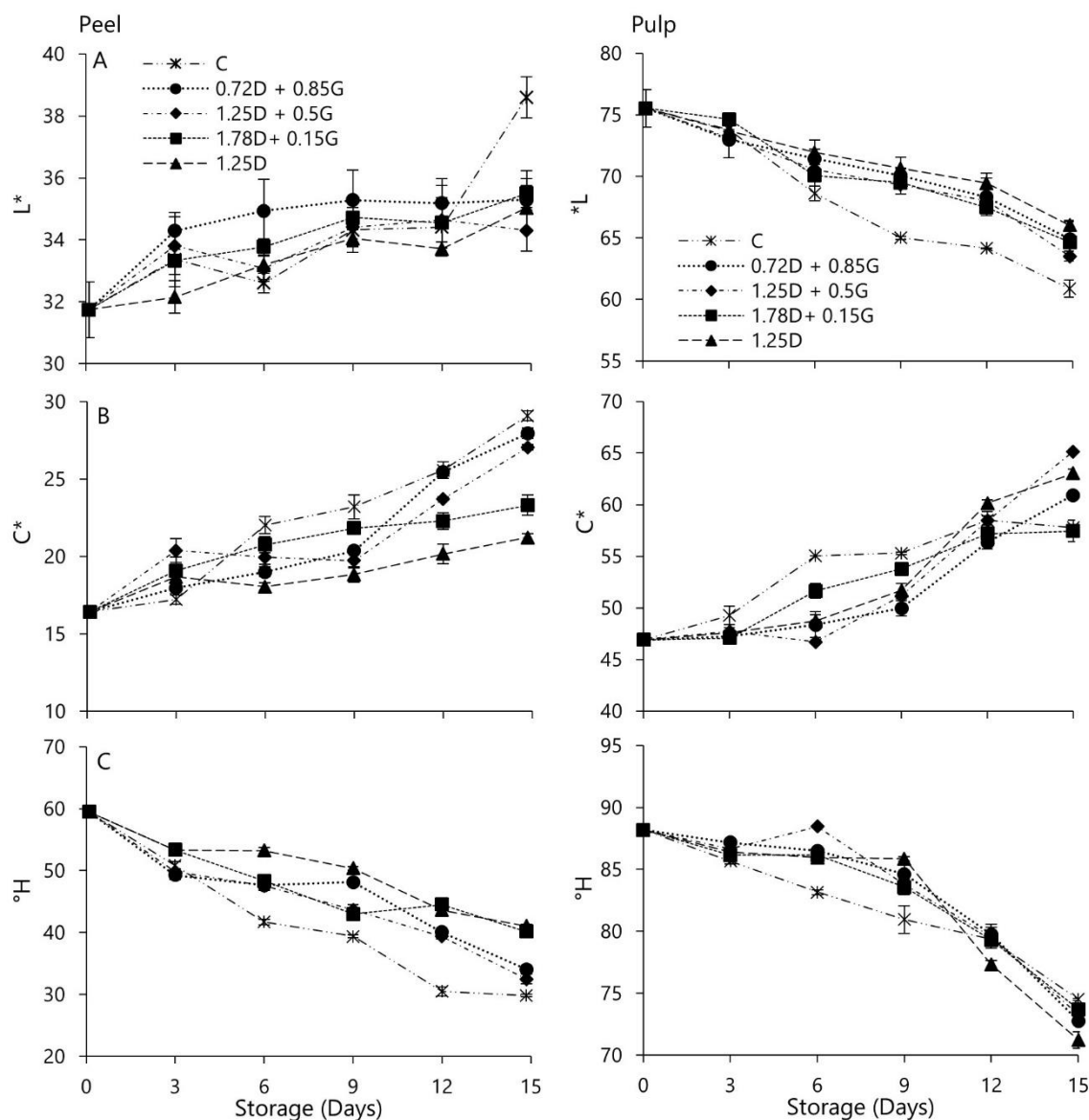


Figura 3 Parâmetros de cor de casca e polpa de mangas ‘Palmer’ recobertas por soluções filmogênicas de amido de inhame plastificadas com NADES (D) de cloreto de colina e ácido cítrico e glicerol (G) e controle (C) durante 15 dias de armazenamento em condições ambientes ($24 \pm 2^\circ \text{C}$ e $75 \pm 4\% \text{RH}$)

Esta tendência também foi observada em todos os frutos recobertos, entretanto, aqueles sob 1.25NADES e 1.25NADES + 0.5G tiveram os menores avanços de L , C^* e $^{\circ}H$ mantendo-se assim com a casca mais esverdeada e isto, somado ao fato de que os frutos sob estes recobrimentos também foram os de maior manutenção da firmeza, concorda com o que

constatarem Nassur (2015) em diferentes cultivares manga, que a cor da casca expressa em ângulo de matiz ($^{\circ}H$) é significativamente maior (mais verde) em frutas com alta firmeza.

Quanto a cor de polpa (Figura 3D) observou-se decréscimo nos valores de L em todos os frutos, tendo os frutos C perdido 19.4% da luminosidade de sua cor de polpa enquanto os frutos sob 1.25NADES apresentaram a menor perda (12.6%).

Por sua vez, os valores de *C foram crescente de modo geral, indicando que a tonalidade da cor da polpa se tornou mais intensa ao longo do armazenamento e este fenômeno foi mais expressivo nos frutos sob 1.25NADES+0.5G e 1.25NADES, que ao 15º dia tinham, respectivamente, *C de 18.2% e 16.1% mais altos que no dia 0, enquanto os frutos não recobertos tiveram aumento de 10.86%. Decréscimo nos valores de *C da polpa possivelmente refletem a perda de luminosidade e pequenas variações nos tons de matiz da polpa de manga e acompanhar sua evolução pode ser mais representativo para acompanhar o processo de amadurecimento, uma vez que o parâmetro CIE a^* muda ligeiramente (Ibarra-Garza, Ramos-Parra, Hernandez-Brenes & Jacobo-Velázquez, 2015).

Os valores médios do ângulo Hue ($^{\circ}H$) da polpa decresceram em todos os frutos, evoluindo da tonalidade amarela-esverdeada do dia 0 ($^{\circ}H = 88.2$) para uma amarela mais intensa com $^{\circ}H$ entre 71.2 (frutos sob 1.25NADES) e 74.5 (frutos sob C). A maior tonalidade de amarelo na polpa foi obtida nas mangas recobertas com 1.25NADES, com $L = 66.02$ no décimo quinto dia enquanto C apresentavam 60.89.

Diminuição no L da polpa de mangas ‘Tommy Atkins’ recobertas com amido de mandioca combinado a quitosana e pectina também foi observada e, similarmente aos resultados do presente estudo, essa diminuição foi maior nos frutos não recobertos (Oliveira et al., 2017).

Medições de cor em mangas podem ser usadas para estimar o conteúdo de carotenoides entre eles o β -caroteno, o mais importante precursor da vitamina A, uma vez que a medida que a cor amarelo-alaranjada do mesocarpo fica mais intensa, o teor de carotenoides aumenta (Ornelas-Paz, Yahia & Gardea, 2008). Neste sentido, pode-se inferir que as mangas recobertas por 1.25NADES+0.5G e 1.25NADES, que tiveram a cor de polpa mais intensificada, possivelmente tiveram o metabolismo de carotenoides estimulado.

Determinação de parâmetros químicos

O teor de sólidos solúveis - SS foi crescente em todos os frutos (Figura 4A), entretanto naqueles sob recobrimentos esse aumento foi retardado, de modo que os frutos recobertos com 1.25NADES e 0.72NADES+0.85G apresentaram, chegando ao 15º dia, os menores percentuais de aumento (101.8 e 109.7%, respectivamente) em relação a dia 0. Frutos do controle a partir do 6 dia de armazenamento já apresentavam o dobro dos SS do dia 0.

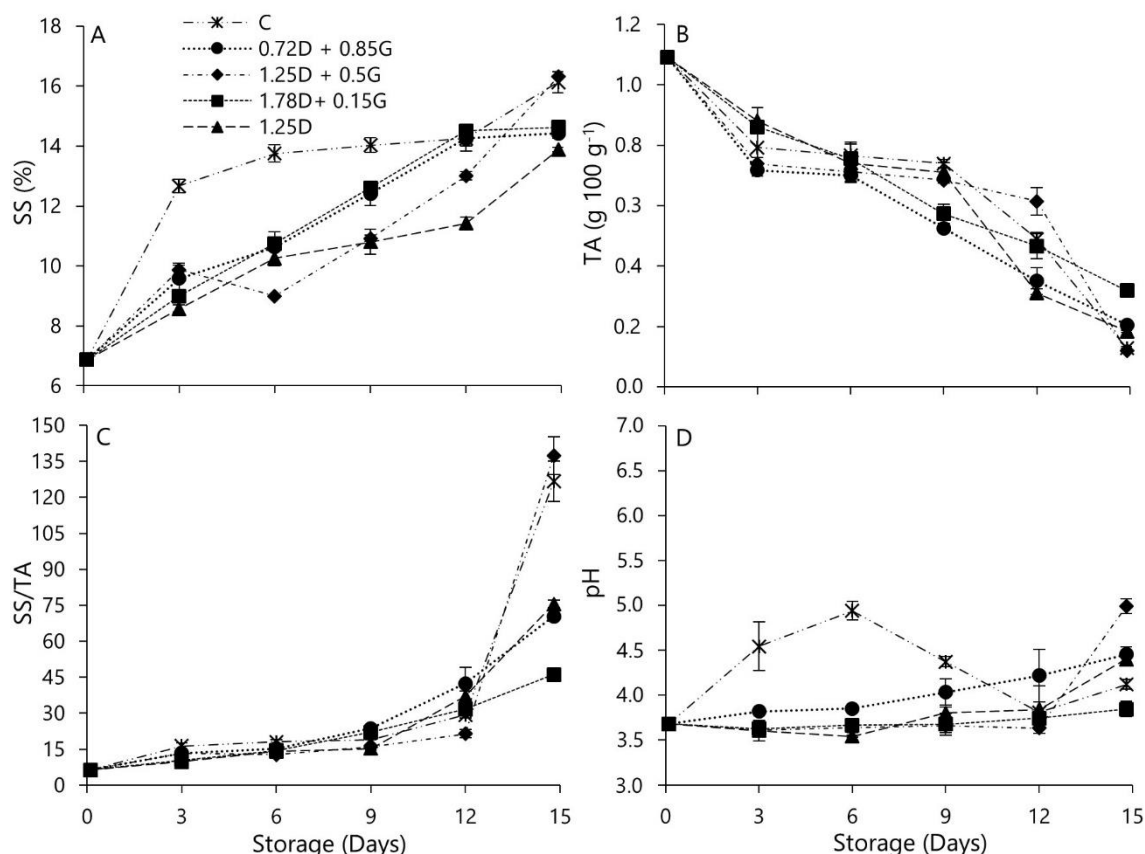


Figura 4 Sólidos solúveis - SS (A), acidez titulável - AT (B), relação SS/AT (C) e pH (D) de mangas ‘Palmer’ recobertas por soluções filmogênicas de amido de inhame plastificadas com NADES (D) de cloreto de colina e ácido cítrico e glicerol (G) e controle (C) durante 15 dias de armazenamento em condições ambientes ($24 \pm 2^\circ \text{C}$ e $75 \pm 4\% \text{RH}$).

Desenvolvimento da maturação com aumento de SS menos pronunciado que o de frutos controle, em mangas recobertas com soluções de diversos polímeros biodegradáveis também foram reportados por Silva et al. (2017), Azeredo et al. (2016), Khaliq et al. (2015), Gol & Rao (2014), Dang, Singh & Swamy (2008), Wang et al. (2007), Baldwin et al. (1999).

As modificações de sólidos solúveis estão relacionadas às alterações metabólicas no processo respiratório que ativam enzimas relacionadas à degradação do amido e gliconeogênese, que aumentam o teor de açúcar redutor e a doçura dos frutos pós-colheita (Mali

& Grossmam, 2003). Assim, uma vez que a barreira ocasionada pelos recobrimentos retarda o metabolismo dos frutos, uma redução do acúmulo dos SS é esperada (Silva et al., 2017).

Mangas maduras contém de 10 a 20% de açúcares totais em peso fresco, a depender da cultivar e estágio de maturação, sendo que os níveis de açúcares não redutores são altos no início do amadurecimento e diminuem em frutos totalmente maduros, com aumento simultâneo de açúcares redutores (Singh, Singh, Sane & Nath, 2013).

Quanto a acidez titulável – AT, houve decréscimos nos valores médios para todos os frutos (Figura 4B), sendo os frutos recobertos com 0.72NADES+0.85G aqueles com a menor AT média (0.60 g.100g^{-1}). De acordo com Khaliq e al. (2015) alta diminuição da acidez titulável induz senescência mais rápida dos frutos, sendo um dos parâmetros mais essenciais que reflete as características de armazenamento dos frutos.

O filme elaborado pela solução 0.72NADES+0.85G apresentou a menor taxa e alongamento, menor elasticidade e foi o mais efetivo em retardar a perda de massa dos frutos.

A acidez da manga resulta da presença de vários ácidos orgânicos entre os quais predominam o cítrico e málico seguidos por tartárico, oxálico e α -cetoglutárico em menores concentrações, todos responsáveis por conferir o sabor ácido dos frutos (Singh et al., 2013).

A relação SS/AT foi crescente em todos os frutos e, assim como observado para os SS, este aumento foi mais intenso nos frutos C e foi minimizado pelos recobrimentos, especialmente por 1.25NADES e 1.78NADES+0.15G que apresentaram médias gerais de 26.3 e 21.84, respectivamente, ao passo que os frutos C apresentaram 35.9 de SS/AT (Figura 4C).

Em mangas ‘Palmer’ recobertas com quitosana Silva et al (2017) observaram ao final de vinte dias de armazenamento que os frutos recobertos com solução a 1% do polímero atingiram SS/AT duas vezes inferiores aos do controle, semelhante aos resultados aqui

observados para os recobrimentos 1.25NADES e 1.78NADES+0.15G que ao 15º dia apresentavam SS/AT 1.7 e 2.7 vezes, respectivamente, menores que o dos frutos C.

O pH aumentou ao longo do tempo de armazenamento tanto nos frutos controle quanto nos recobertos (Figura 4D), entretanto, as mangas recobertas contiveram este aumento sendo aquelas sob 1.25NADES e 1.78NADES+0.15G as com menores médias gerais ao fim dos 15 dias (3.8 e 3.7, respectivamente). A manutenção do pH mais próximo ao inicial (3.68) para os referidos recobrimentos concorda com os resultados da taxa respiratória, dos SS e da AT que indicam o clara redução do processo respiratório e do amadurecimento, conforme também observado por Silva et al. (2017) em mangas ‘Palmer’ recobertas com quitosana.

Valores de pH menores que o controle em mangas sob recobrimentos biodegradáveis também foram observados por Wang et al. (2007), Baldwin et al (1999).

Avaliação sensorial

Aparência e frescor são os principais critérios de qualidade considerados pelos consumidores no momento da compra e/ou consumo (Nassur, Gonzales-Moscoso, Crisosto, Lima, Vilas-Boas & Crisosto, 2015).

A avaliação sensorial das mangas recobertas com soluções filmogênicas de amido de inhame, plastificadas com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico em substituição total ou parcial ao glicerol, considerou os atributos brilho e desidratação, relativos a aparência, e ainda a intenção de compra (comercialização) (Figura 5). Os recobrimentos conferiram aos frutos médias de brilho significativamente maiores que as dos frutos controle, além de preservarem as mangas da desidratação e garantirem maior intenção de compra.

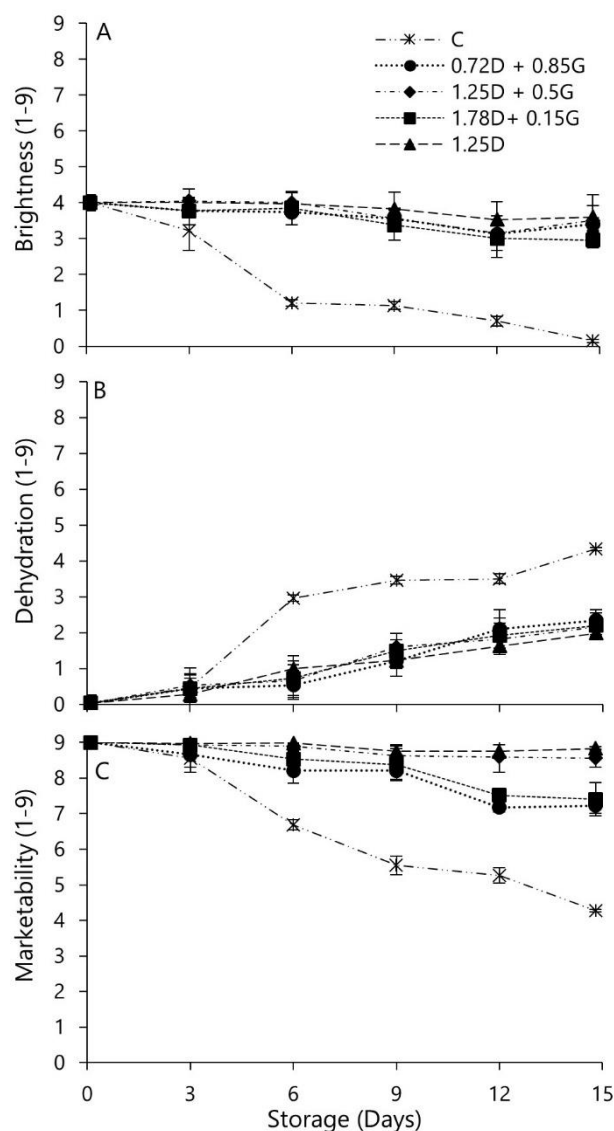


Figura 5 Aspectos sensoriais de aparência: brilho (A), desidratação (B) e intenção de compra (C) de mangas ‘Palmer’ recobertas por soluções filmogênicas de amido de inhame plastificadas com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico e glicerol durante 15 dias de armazenamento em condições ambientes ($24 \pm 2^\circ \text{C}$ e $75 \pm 4\% \text{RH}$)

As mangas recobertas com 1.25NADES e 1.25NADES+0.5G se destacaram com maiores pontuações para brilho e intenção de compra, ao passo que, os frutos C recebeu as notas mais baixas destes atributos e as mais altas para desidratação.

Recobrimientos de amido de mandioca, quitosana e pectina garantiam a mangas ‘Tommy Atkins’ escores mais elevados do que aos frutos não recobertos para a aparência externa, provendo uma superfície mais brilhante (Oliveira et al., 2017). Também em mangas ‘Tommy Atkins’ recobrimento associando fécula com erva-doce conferiu mais brilho e melhor aparência além de ter minimizado a incidência de desordem fisiológica (Lima et al., 2012). Ainda, recobrimento com cera de carnaúba também garantiu uma aparência brilhante e túrgida em mangas revestidas (Dang Singh & Swinny, 2008).

Maior intenção de compra ao longo do armazenamento também foi registrada para mangas ‘Tommy Atkins’ sob recobrimento combinando amido de mandioca e quitosana (Azeredo et al., 2016). Pontuações mais altas para brilho e aceitação pelos consumidores também foram reportadas em uvas ‘Red Crimson’ recobertas com diferentes misturas de amido de milho e plastificantes (Fakhouri et al., 2015).

4. Conclusões

Os resultados deste estudo indicam que, entre as diferentes formulações de amido de inhame, plastificadas com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico ou glicerol, observou-se que a interação entre os dois plastificantes e a matriz polimérica, afetou a tensão de ruptura, o percentual de alongamento e o módulo de Young. No geral, o aumento das concentrações de ambos os plastificantes tornam os filmes mais solúveis em água e mais permeáveis ao vapor de água. Formulações com total de plastificante (somatório de NADES e G) entre 1.0 e 1.75% conferem uma maior tensão de ruptura. Entretanto, os resultados de alongamento e de TS, mostraram que baixos níveis de NADES e G contribuem para a coesão e baixa flexibilidade dos filmes enquanto altas proporções, especialmente acima de 1,75%, diminuem a rigidez. A plastificação da solução filmogênicas de amido de inhame apenas com NADES (1.25NADES)

provou ser completamente viável, resultando em propriedades adequadas para produção de filmes e aplicação como recobrimientos.

Quanto ao uso de soluções filmogênicas de amido de inhame plastificadas com diferentes proporções de NADES e glicerol para a conservação pós-colheita de mangas ‘Palmer’, observou-se eficácia no retardo do metabolismo destes frutos com maior manutenção da qualidade físico-química e sensorial em relação aos frutos sem recobrimento. Destacaram-se as formulações 1.78NADES+0.15G, 1.25NADES+0.5G e 1.25NADES pelas menores taxas respiratórias e de perda de massa, maior preservação da firmeza e da cor da casca, bem como pelo retardo no acúmulo de sólidos solúveis e no aumento da relação entre sólidos solúveis e acidez titulável. As mangas sob 1.25NADES e 1.25DES ainda se diferenciaram por apresentarem maior intensificação da cor da polpa e por receberem as notas mais altas nas avaliações sensoriais, com superfícies mais brilhantes apresentando a maior intenção de compra durante todo o armazenamento.

Referências

- Abbott, A.P., Boothby, D., Capper, G., Davies, D.L. & Rasheed, R.K. (2004). Deep Eutectic Solvents Formed between Choline Chloride and Carboxylic Acids: Versatile Alternatives to Ionic Liquids. *Journal of American Chemical Society*, 126, 9142-9147.
- Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G. (2012). A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering*, 111(2), 343-350.
- Al-Hassan, A. A., & Norziah, M. H. (2012). Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 108–117.

- Almeida, C. M. R., Magalhães, J. M. C. S., Souza, H. K. S., & Gonçalves, M. P. (2018). The role of choline chloride-based deep eutectic solvent and curcumin on chitosan films properties. *Food Hydrocolloids*, 81, 456–466.
- American Society for Testing Material (ASTM). (2002). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D-882-02. Philadelphia:ASTM.
- Azerêdo, L. P. M., Silva, S. D. M., Lima, M. A. C., Dantas, R. L., & Pereira, W. E. (2016). Quality of ‘Tommy Atkins’ mango from integrated production coated with cassava starch associated with essential oils and chitosan. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 38(1), 141-150.
- Bertuzzi, M.A., Gottifredi, J.C., & Armada, M. (2012). Mechanical properties of a high amylose content corn starch based film, gelatinized at low temperature. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15(3), 219-227.
- Bibi, F. & Baloch, M.K. (2014). Postharvest quality and shelf life of mango (*Mangifera indica* L.) fruit as affected by various coatings. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 499-507.
- Bourtoom, T. (2008). Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice starch-chitosan. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 30.
- Campos, C. A., Gerschenson, L. N., & Flores, S. K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 849-875.
- Cissé, M., Polidori, J., Montet, D., Loiseau, G., & Ducamp-Collin, M. N. (2015). Preservation of mango quality by using functional chitosan-lactoperoxidase systems coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 101, 10-14.
- Dang, K. T., Singh, Z., & Swinny, E. E. (2008). Edible coatings influence fruit ripening, quality, and aroma biosynthesis in mango fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(4), 1361-1370.

- Dantas, A.L., Silva, S.M., Dantas, R.L. & Schunemann, A.P.P. (2016) Desenvolvimento, fisiologia da maturação e indicadores do ponto de colheita de frutos da umbugueira (*Spondias* sp.). Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, 38, 33-42.
- Fakhouri, F. M., Martelli, S. M., Caon, T., Velasco, J. I., & Mei, L. H. I. (2015). Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. Postharvest Biology and Technology, 109, 57-64.
- Galvis-Sánchez, A. C., Castro, M. C. R., Biernacki, K., Gonçalves, M. P., & Souza, H. K. S. (2018). Natural deep eutectic solvents as green plasticizers for chitosan thermoplastic production with controlled/desired mechanical and barrier properties. Food Hydrocolloids, 82, 478–489.
- Galvis-Sánchez, A. C., Sousa, A. M., Hilliou, L., Gonçalves, M. P., & Souza, H. K. (2016). Thermo-compression molding of chitosan with a deep eutectic mixture for biofilms development. Green chemistry, 18(6), 1571-1580.
- Gol, N. B., & Rao, T. R. (2014). Influence of zein and gelatin coatings on the postharvest quality and shelf life extension of mango (*Mangifera indica* L.). Fruits, 69(2), 101-115.
- Gutiérrez, T. J., Morales, N. J., Pérez, E., Tapia, M. S., & Famá, L. (2015a). Physico-chemical properties of edible films derived from native and phosphated cush-cush yam and cassava starches. Food Packaging and Shelf Life, 3, 1-8.
- Gutiérrez, T. J., Tapia, M. S., Pérez, E., & Famá, L. (2015b). Structural and mechanical properties of edible films made from native and modified cush-cush yam and cassava starch. Food Hydrocolloids, 45, 211-217.
- Hu, G., Chen, J., & Gao, J. (2009). Preparation and characteristics of oxidized potato starch films. Carbohydrate Polymers, 76(2), 291–298.

- Ibarra-Garza, I. P., Ramos-Parra, P. A., Hernández-Brenes, C., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2015). Effects of postharvest ripening on the nutraceutical and physicochemical properties of mango (*Mangifera indica* L. cv Keitt). *Postharvest Biology and Technology*, 103, 45-54.
- Khaliq, G., Mohamed, M. T. M., Ghazali, H. M., Ding, P., & Ali, A. (2016). Influence of gum arabic coating enriched with calcium chloride on physiological, biochemical and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit stored under low temperature stress. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 362-369.
- Khaliq, G., Muda Mohamed, M. T., Ali, A., Ding, P., & Ghazali, H. M. (2015). Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. *Scientia Horticulturae*, 190, 187–194.
- Laohakunjit, N., & Noomhorm, A. (2004). Effect of Plasticizers on Mechanical and Barrier Properties of Rice Starch Film. *Starch - Stärke*, 56(8), 348–356.
- Lima, A.B.D., Silva, S.D.M., Rocha, A., Nascimento, L.C.D., & Ramalho, F.D.S. (2012). Conservação pós-colheita de manga 'Tommy Atkins' orgânica sob recobrimentos bio-orgânicos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(3), 704-710.
- Liu, K., Wang, X., & Young, M. (2014). Effect of bentonite/potassium sorbate coatings on the quality of mangos in storage at ambient temperature. *Journal of Food Engineering*, 137, 16-22.
- Mali, S., & Grossmann, M. V. E. (2003). Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(24), 7005-7011.
- Mali, S., Grossmann, M. V. E., García, M. A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. (2004). Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. *Carbohydrate Polymers*, 56(2), 129-135.

- Mali, S., Sakanaka, L. S., Yamashita, F., & Grossmann, M. V. E. (2005). Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. *Carbohydrate Polymers*, 60(3), 283–289.
- Maran, J. P., Sivakumar, V., Sridhar, R., & Immanuel, V. P. (2013). Development of model for mechanical properties of tapioca starch based edible films. *Industrial crops and products*, 42, 159-168
- Nassur, R. D. C. M. R., González-Moscoso, S., Crisosto, G. M., Lima, L. C. D. O., Vilas Boas, E. V. D. B., & Crisosto, C. H. (2015). Describing quality and sensory attributes of 3 mango (*Mangifera indica* L.) cultivars at 3 ripeness stages based on firmness. *Journal of food science*, 80(9), S2055-S2063.
- Nayik, G. A., Majid, I., & Kumar, V. (2015). Developments in edible films and coatings for the extension of shelf life of fresh fruits. *American Journal of Nutrition and Food Science*, 2(1), 16-20.
- Oliveira, T.A., Paiva, C. A., Silva, A. C., Costa, T. L. E., Nascimento, L. V., Leite, R. H. L., & Aroucha, E. M. M. (2017). Tommy Atkins mango (*Mangifera indica* L.) postharvest quality with cassava starch, chitosan and pectin based coatings. *African Journal of Biotechnology*, 16(29), 1596-1610.
- Ornelas-Paz, J.D.J., Yahia, E.M., Gardea, A.A., 2008. Changes in external and internal color during postharvest ripening of Manila and Ataulfo mango fruit and relationship with carotenoid content determined by liquid chromatography–APCI+–time-of-flight mass spectrometry. *Postharvest Biology and Technology* 50, 145–152.
- Osorio, S., & Fernie, A. R. (2013). Biochemistry of fruit ripening. *The molecular biology and biochemistry of fruit ripening*, 1-19.

- Paiva, A., Craveiro, R., Aroso, I., Martins, M., Reis, R.L. & Duarte, A.R.C. (2014) Natural Deep Eutectic Solvents – Solvents for the 21st Century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(5), 1063-1071.
- Rodrigues, A. A. M., Silva, S. de M., Dantas, A. L., Silva, A. F. da, Santos, L. da S., & Moreira, D. das N. (2018). Physiology and postharvest conservation of “Paluma” guava under coatings using Jack fruit seed-based starch. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(2).
- Romero-Bastida, C. A., Bello-Pérez, L. A., García, M. A., Martino, M. N., Solorza-Feria, J., & Zaritzky, N. E. (2005). Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. *Carbohydrate Polymers*, 60(2), 235–244.
- Shirai, M. A., Grossmann, M. V. E., Mali, S., Yamashita, F., Garcia, P. S., & Müller, C. M. O. (2013). Development of biodegradable flexible films of starch and poly (lactic acid) plasticized with adipate or citrate esters. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 19-22.
- Silva, G. M. C., Silva, W. B., Medeiros, D. B., Salvador, A. R., Cordeiro, M. H. M., da Silva, N. M., ... & Mizobutsi, G. P. (2017). The chitosan affects severely the carbon metabolism in mango (*Mangifera indica* L. cv. Palmer) fruit during storage. *Food chemistry*, 237, 372-378.
- Singh, Z., Singh, R. K., Sane, V. A., & Nath, P. (2013). Mango-postharvest biology and biotechnology. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32(4), 217-236.
- Wang, J., Wang, B., Jiang, W., & Zhao, Y. (2007). Quality and Shelf Life of Mango (*Mangifera Indica* L. cv. ‘Tainong’) Coated by Using Chitosan and Polyphenols. *Food Science and Technology International*, 13(4), 317–322.
- Wu, Z., Wu, J., Peng, T., Li, Y., Lin, D., Xing, B.,... & Ma, R. (2017). Preparation and application of starch/polyvinyl alcohol/citric acid ternary blend antimicrobial functional food packaging films. *Polymers*, 9(3), 102.

- Zdanowicz, M. (2020). Starch treatment with deep eutectic solvents, ionic liquids and glycerol. A comparative study. *Carbohydrate Polymers*, 229, 115574.
- Zdanowicz, M., & Johansson, C. (2016). Mechanical and barrier properties of starch-based films plasticized with two-or three component deep eutectic solvents. *Carbohydrate Polymers*, 151, 103-112.
- Zdanowicz, M., Wilpiszewska, K. & Szychaj, T. (2018) Deep eutectic solvents for polysaccharides processing. A review. *Carbohydrate Polymers*, 200, 361-380.
- Zerbini, P. E., Vanoli, M., Rizzolo, A., Grassi, M., de Azevedo Pimentel, R. M., Spinelli, L., & Torricelli, A. (2015). Optical properties, ethylene production and softening in mango fruit. *Postharvest biology and technology*, 101, 58-65.
- Zhu, X., Wang, Q., Cao, J., & Jiang, W. (2008). Effects of chitosan coating on postharvest quality of mango (*Mangifera indica* L. cv. Tainong) fruits. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32(5), 770-784.

4.3 ARTIGO 3

**YAM STARCH BASED COATINGS ADDED WITH NATURAL DEEP EUTECTIC
SOLVENT MAINTAIN QUALITY AND FUNCTIONAL POTENTIAL OF ‘PALMER’
MANGO**

Trabalho em fase de revisão final pelos autores para submissão no periódico *Innovative Food
Science & Emerging Technologies*

(Fator de impacto: 4.085)

Yam starch based coatings added with natural deep eutectic solvent maintain quality and functional potential of ‘Palmer’ mango

Mariany Cruz Alves da Silva^a, Alex Sandro Bezerra de Sousa^a, Renato Pereira Lima^a Ana Luísa Amaro^b, Glenise Voss^b, Silvanda de Melo Silva^{a*} Manuela Pintado^b

^a Universidade Federal da Paraíba, LBTPC - Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita, Centro de Ciências Agrárias - Campus II, Rodovia BR 079 - Km 12, CEP: 58.397-000, Areia – PB, Brasil

^b Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Diogo de Botelho, 1327 | 4169-005 Porto, Portugal

*** Corresponding author.**

Address: Universidade Federal da Paraíba, LBTPC - Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita, Centro de Ciências Agrárias - Campus II, Rodovia BR 079 - Km 12, CEP: 58.397-000, Areia – PB, Brasil

Tel: +55 83 3362-1700. E-mail address: silvandasilva@gmail.com

Abstract

Mango is a highly perishable fruit that requires proper technologies for maintaining post-harvest quality. Green technologies as innovative starch-based coatings plasticized with Natural Deep Eutectic Solvent – NADES may be efficient. Thus, to evaluate the functional potential of ‘Palmer’ mango coated by yam starch-based coatings added by choline: citric acid NADES, which is first reported herein, in substitution to glycerol (G), as plasticizer, the formulations 0.72%NADES+0.85%G; 1.78%NADES+0.15%G; 1.25%NADES+0.5%G and 1.25%NADES were applied in comparison with uncoated fruits (control – C). Ascorbic acid – AsA, total carotenoids – TC, total phenolic – TP, antioxidant activity –AA, free amino acid and peptides profile – FAA were influenced by the NADES: G proportions. Coatings with 1.25% NADES promoted highest TC, AsA and AA, also enhanced important FAA such isoleucine, leucine, valine, tryptophan, tyrosine and alanine. More research is still needed to understand fully the effects of coating plastiscized with NADES in the carotenoids synthesis and amino acid metabolism.

Keywords: *Mangifera indica* L., biodegradable coating, plasticizer, NADES

1. Introduction

Mango is one the most relevant commercial fruit crops worldwide and is among those of major socioeconomic importance for Brazil (Ribeiro Barbosa, Queiroz, Knödler, Schieber 2008; Ribeiro, Queiroz, Queiroz, Campos, Sant’ana, 2007). This fruit is highly appreciated and consumed, not only by its particular sensory characteristics and nutritive value, but also by the allegations of the contribution of important bioactive compounds, such as carotenoids, phenolics and vitamin C, which are beneficial to health (Robles-Sanchez, Rojas-Graü, Odriozola-Serrano, González-Aguilar & Martín-Belloso, 2013). However, it is highly perishable and subject to significant and fast biochemical modifications during ripening, leasing

to high levels of postharvest losses (Andrade, Toledo, Nogueira, Cordenusi, Lajolo & Nascimento, 2012).

In this context, the development of clean postharvest technologies, able to maintain quality in a sustainable and safer manner, is needed, allowing postharvest life extension. A promising example of such technologies is the use of biodegradable coatings obtained from natural polysaccharides, which can be enriched with natural functional compounds, as an alternative to synthetic materials (Cissé et al., 2015). These coatings can efficiently reduce the metabolic rate of the fruit and delay the changes caused by maturation and ripening (Khaliq et al., 2016; Chiumarelli, Pereira, Ferrari, Sarantópoulos & Hubinger, 2010). Starch extracted from yam (*Dioscorea* spp.) is among the materials with potential for the development of coatings, once it possesses favorable characteristics in its matrix that allow the combination with other compounds, to strengthen its structure and functionally (Gutiérrez et al., 2015).

Glycerol is one of the most common plasticizers applied to starch edible coating. However, it tends to migrate into starchy materials, which may lead to starch retrogradation after longer storage periods (Zdanowicz, 2020). In this context, a novel, wide group of media named deep eutectic solvents - DES, have been tested as starch plasticizing agents (Zdanowicz, Wilpiszewska & Szychaj, 2018).

Deep Eutectic Solvents (DES) are defined as a mixture of two or more components, which may be solid or liquid, and present a high melting point depression becoming liquids at room temperature and at a very particular composition (Paiva et al. 2014). DES are denominated natural deep eutectic solvents – NADES, when formed by mixtures containing metabolites combinations (sugars, carboxylic acids, amino acids) that occur in large amounts in living organisms cells (Tomé, Baião, Silva & Brett, 2018).

Choline is one of the most common compounds to DES synthesis, since it has relevance as alternative cationic source with good performance in combinations of carboxylic acids, such as oxalic, malonic, adipic, phenylacetic, phenylpropionic, tricarbalílico, succinic, and citric acids (Abbott et al., 2004).

Recent studies have demonstrated the successful use of DES in biodegradable polymeric materials synthesis, such as polysaccharide-based films. The eutectic mixture of choline chloride and citric acid, for example, influenced the chitosan film leading to better mechanical properties and lowest energetic requirements (Galvis-Sánchez et al., 2016).

Research focused on the quality of mangoes under edible coatings are abundant (Bibi & Baloch, 2014; Cissé et al. 2015; Khaliq et al. 2016). However, impacts of an innovative clean technology, such as NADES added in starchy coating on the changes in bioactive compounds such as phenolic compounds, carotenoids and free amino acids, and the functional potential of fruits has not been evaluated. In this sense, to our knowledge, the use of NADES as plasticizers in biodegradable coating for fruits is reported for the first time herein.

Considering the need of developing a clean, sustainable and innovative postharvest technology to maintain the quality and functional potential of fruits, the aim of this study was to evaluate the effect of coating ‘Palmer’ mangoes with starch-based polymer incorporated with NADES in substitution to glycerol.

2. Material and methods

2.1. Fruit and Chemicals

Mangoes (*Mangifera indica* L.) cv. Palmer at the commercial maturity stage (the physiological maturity stage was used as standard, based on fruit peel color) were harvested from a commercial orchard located in Juazeiro – BA – Brazil. Selected fruit were uniform in size, shape, color and absence of damage or disease. The mangoes were sanitized with sodium

hypochlorite solution at 100 mg.L⁻¹, for 2 minutes, and allowed to dry. The coatings were applied under room conditions (24 ± 2 °C and 75 ± 4% RH).

β-Carotene standard was purchased from Sigma-Aldrich (Sintra, Portugal) and violaxanthin and zeaxanthin from Extrasynthese (Lyon, France). O-phthalaldehyde, o-phthalic dicarboxaldehyde, benzene-1,2-dicarboxaldehyde (OPA) and amino acid standards were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Protein standards (Thyroglobulin, 669 kDa; Ferritin, 440 kDa; Aldolase, 158 kDa; Conalbumin, 75 kDa; Ovalbumin, 43 kDa; Carbonic anhydrase, 29 kDa; Ribonuclease A, 13.7 kDa; Aprotinin, 6.5 kDa) were purchased from GE Healthcare (USA). All other reagents were analytical grade.

2.2. Preparation of NADES

Choline chloride and citric acid were used as the acceptor and binding donor of hydrogen, respectively. The 2:1 molar ratio between choline and citric acid was chosen, after previous tests with different molar ratios between the two compounds, due to visual and tactile characteristics of the resulting liquid.

2.3. Elaboration of the starch-based coating

Yam starch dispersion was gelled by heating at 85 °C, under constant stirring. The starch was weighed considering its dry matter content (after moisture determination), to obtain dispersions with 3% (weight/volume) polysaccharide. NADES was added to replace glycerol in filmogenic starch solutions, however, it was not completely excluded, considering the possibility of NADES to reinforce the effect of glycerol or vice versa. Therefore, we used the optimization strategy of experimental central composite, with factorial 2², in which the variables were the glycerol and NADES percentages.

It considered the minimum and maximum values: 0 and 1% for glycerol and 0.5 and 2.0% for NADES. Thus, nine formulations were prepared and added as plasticizers to the gelled starch solution. The incorporated solutions of glycerol and NADES were then poured into flat glass plates to form the films.

The resulting films were removed from the glass plates and kept in an acrylic box adapted to have controlled humidity inside (50% relative humidity). Thereafter, the films were evaluated by visual aspect (in order to select the homogeneous biodegradable films, which presented a uniform color, no insoluble starch particles, flexible on handling and with no cracks or zones prone to breakage) and later by their structural properties. Then, the following formulations were selected for application to fruits: 0.72% NADES + 0.85% G; 1.78% NADES + 0.15% G; 1.25% NADES + 0.5% G and 1.25% NADES, which were compared to fruits without coating, determined as controls— (C).

2.4. Experimental design

The experiment was conducted in a completely randomized design (CDR), in a 5×6 factorial scheme, with 5 treatments (0.72NADES + 0.85G; 1.78NADES + 0.15G; 1.25NADES + 0.5G and 1.25NADES and C) and 6 evaluation periods (0, 3, 6, 9, 12 and 15 storage days, at 23 ± 1 °C and $75 \pm 5\%$ UR). 3 replicates (each composed by 2 fruits) were considered for all treatments in each evaluation period.

Ascorbic acid, total phenolic compounds, antioxidant activity by DPPH and ABTS assays, total carotenoids and the individual carotenoid content analyzes were performed at 0, 3, 6, 9, 12 and 15 days of storage. In turn, free amino acids were performed on samples from 0, 9 and 15 days, while analysis by exclusion chromatography was performed only at 0 and 15 days of storage.

2.5. Extracts preparation

2.5.1. Carotenoids extracts

Carotenoids were extracted as described by Wright and Kader (1997), with some modifications. Briefly, to prepare the carotenoids extracts, 500 mg of freeze dried pulps were homogenized with 5 mL of cooled ethanol, using an Ultra-Turrax (IKA T18, Wilmington, NC, USA) before 8 mL of hexane were added. Following centrifugation (5000 g for 10 min at 4 °C) the hexane layer was transferred to a volumetric flask. The residue was re-extracted with 2.5 mL of saturated sodium chloride solution and hexane (8 mL), and centrifuged as above, and the two hexane extracts were combined. Saponification was according to Kimura et al. (1990). Hexane extract was added to 30 mL of 10 % methanolic potassium hydroxide, in a sealed Pyrex bottle wrapped in aluminum foil to exclude light. The reaction was carried out for 16 h at room temperature, with agitation. The mixture was then washed with 10% NaCl (30 mL) and then deionized water, until the pH of the rinse was neutral. All extracts were performed in triplicate samples.

2.5.2. Methanolic extract

Ten milliliters from aqueous methanol (800 mL.L⁻¹) was added to 0.5 g of freeze dried mango pulp and homogenized with Ultra-Turrax for 2 min (IKA Ultra-turrax T18, Wilmington, USA). The slurry was centrifuged (4000 × g, 10 min, 4 °C) to remove debris. The supernatant was analyzed for antioxidant activity and total phenolic compounds.

2.5.3. Free amino acids extracts

Free amino acid extracts were obtained from homogenization of 100 mg of freeze dried mangoes in 2.0 mL ultrapure H₂O. The homogenate was centrifuged at 5000 g for 10 min, and the supernatant was filtered through a 0.45-μm filter membrane.

2.5.4. Extracts in phosphate buffer (pH 7) for Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC) analysis

To obtain extracts for FPLC, 60 mg of freeze dried mango pulps were weighed and dispersed in 4 mL of 0.025 M phosphate buffer (pH 7) containing 0.15 M NaCl and 0.2 g.L⁻¹ NaN₃ and agitated. The aqueous solution was then centrifuged at 5000 g for 10 minutes at 4 °C and the supernatant was filtered through a 0.45 µm filter membrane prior to HPLC analysis.

2.6. Total Carotenoids - TC analysis

Total carotenoid content, expressed in β-Carotene, was quantified by measuring absorbance at 454 nm as above, using a calibration curve of pure β-Carotene (0,005 e 0,021 mg/mL) standard and expressed as µg /g. The samples were analyzed in triplicate.

2.7. Identification and quantification of carotenoids

Carotenoid profile was also analyzed by HPLC using a Vydac 201TP54 C18 column (250 mm × 4.6 mm), equipped with a C18 pre-column. Carotenoids were eluted using acetonitrile, methanol, dichloromethane, hexane and ammonium acetate (55:22:11.5:11.5:0.02) under isocratic conditions at 1.0 mL.min⁻¹ flow rate over 20 min, at 25 °C. Injection volume was 40 µL and the detector was set at 454 nm. β-Carotene, violaxanthin and zeaxanthin were quantified using calibration curves. The samples were analyzed in triplicate (Oliveira et al., 2016).

2.8. Ascorbic acid content

Ascorbic acid content was determined by titration using DFI solution (2,6-dichlorophenolindophenol 0.002%) according to AOAC (2005), and the results were expressed as mg of ascorbic acid.100 g⁻¹ fresh weight (FW).

2.9. Determination of the total phenol content

The total phenolic compounds content of mangoes extracts was determined according the Folin Ciocalteu method (Singleton & Rossi, 1965). Briefly, 50 mL of methanolic extract, 50 mL Folin Ciocalteu reagent, 1 mL of Na₂CO₃ (75 g.L⁻¹) and 1.4 mL of ultra-pure water

were mixed. The triplicate tubes of each extract were left 60 min in dark at room temperature. The absorbance of the sample was read at 750 nm using gallic acid ($0.0083 \pm 1 \text{ mg.mL}^{-1}$) as standard. Results were expressed as mg of gallic acid equivalent per g of biomass. The samples were analyzed in triplicate.

2.10. Antioxidant activity

2.10.1. ABTS assay

Briefly, ABTS^+ radical cation was obtained by the reaction of 7 mmol.L^{-1} of ABTS^+ and 2.45 mmol.L^{-1} potassium persulfate. The ABTS^+ solution was diluted with water to an absorbance of 0.70 ± 0.02 at 734 nm. The ABTS^+ solution was read after 10 mL sample extract react for 6 min in triplicates, for each extract replica. The antioxidant capacity of sample was calculated and expressed as milligrams of ascorbic acid equivalent antioxidant capacity per g biomass (GIÃO et al., 2007). The samples were analyzed in triplicate.

The total antioxidant capacity was expressed as percentage of inhibition (PI), according to the equation: $PI(\%) = \frac{Abs_{\text{ABTS}^{\bullet+}} - Abs_{\text{Sample}}}{Abs_{\text{ABTS}^{\bullet+}}} \times 100$, where $Abs_{\text{ABTS}^{\bullet+}}$ denotes the initial absorbance of diluted $\text{ABTS}^{\bullet+}$, and Abs_{Sample} denotes the absorbance of the sample by 6 min of reaction. Using the calibration curve, previously prepared with ascorbic acid as standard, the final results were thus expressed as equivalent concentration of ascorbic acid (in mg/g).

2.10.2. DPPH assay

The DPPH assay was performed according to Brand-Williams et al. (1995). Briefly, a stock solution of $600 \mu\text{M}$ DPPH (2,2'-diphenyl-1-picryl-hyrazyl (DPPH)) (Sigma-Aldrich) was prepared adding 24 mg to 100 mL ethanol and stored at -20°C until needed. The working solution was prepared daily by diluting the stock solution with ethanol to $60 \mu\text{M}$ DPPH with an absorbance of 0.600 ± 0.20 at 515 nm, measured on a UV spectrophotometer. A volume of 250

μL of sample extract was added to 1750 μL of DPPH• working solution and the absorbance was read after 30 min of incubation in the dark and at ambient temperature.

Results were expressed as percentage inhibition, I (%), of DPPH• as follows:

$$I(\%) = \frac{AbsDPPH - AbsSample}{AbsDPPH} \cdot 100$$

Where AbsDPPH• is the absorbance of DPPH• and AbsSample is the absorbance of sample. Assays were done in triplicate. Using the calibration curve, previously prepared with trolox as standard. Thus, the results were expressed as equivalent concentration of trolox (in mg.g⁻¹W). The samples were analyzed in triplicate.

2.11. Free amino acids identification

Pulp free amino acids profile was performed by pre-column derivatization using orthophthalaldehyde (OPA) methodology. Isoindole-type fluorescent derivatives were formed in an alkaline solution (borate buffer pH 10.4) from OPA, 2-sulfanylethanol and the primary amine group of the amino acid. The derivatives were separated by HPLC, using a Chromolith® Performance RP18 (4.6 * 100 mm) column from Merck, coupled to a fluorescence detector. 100 μL of each sample, at concentration of 50 mg/mL was derivatized according to the OPA method and injection volume of derivatives was of 20 μL (Proestos et al., 2008).

2.12. Analysis by size exclusion chromatography

Freeze-dried mango extracts molecular weight distribution in phosphate buffer was performed by gel filtration chromatography using the FPLC (fast protein liquid chromatography-gel filtration) AKTA Pure 25 system coupled with two gelfiltration columns: Superdex 200 increase10/300 G L and Superdexpeptide, 10/300 G L (GE Healthcare Life Sciences, Freiburg, Germany). The mobile phase was 25 mM phosphate buffer (pH 7.0), 150

mM so-dium chloride and 0.2 g/ L sodium azide. The flow of eluent was 0.5 mL/min and was monitored by absorbance at 280 nm.

Standard proteins with known molecular weights (Thyroglobulin, 669 kDa; Ferritin, 440 kDa; Aldolase, 158 kDa; Conalbumin, 75 kDa; Ovalbumin, 43 kDa; Carbonic anhydrase, 29 kDa; Ribonuclease A, 13.7 kDa; Aprotinin, 6.5 kDa) were used to establish the MW standard curve, according to Campos et al. (2019). The software used to evaluate samples was UNICORN 7.0.

2.13. Statistical analysis

The experiment was performed in a completely randomized design (CRD), with three repetitions. Statistical analyzes were performed using SISVAR software. The averages of the treatments were compared by the Tukey's test ($p \leq 5$).

2.14. Principal component analysis

Principal components analysis (PCA) and clustering analysis were performed using JMP 10 software from SAS institute, to correlate the variables free amino acids, total and individual carotenoids, total phenolic, antioxidant activities and peaks from FPLC profiles. The significant variables of each principal component were obtained considering $0.7/(\text{PC eigenvalue})^{0.5}$ (Collins & Ovalles, 1988).

3. Results and discussion

3.1. Total carotenoids content

At the end of the storage period at room conditions, fruits coated with 1.25NADES+ 0.5G presented higher β -carotene content, followed by the control fruits, and in sequence by fruits coated with 0.72NADES+ 0.85G, 1.25NADES and 1.78NADES+0.15G. Thus, the formulation with the lowest percentage of glycerol and the one with only NADES were highlighted as most effective in maintaining the levels of total carotenoid contents (Figure 1A).

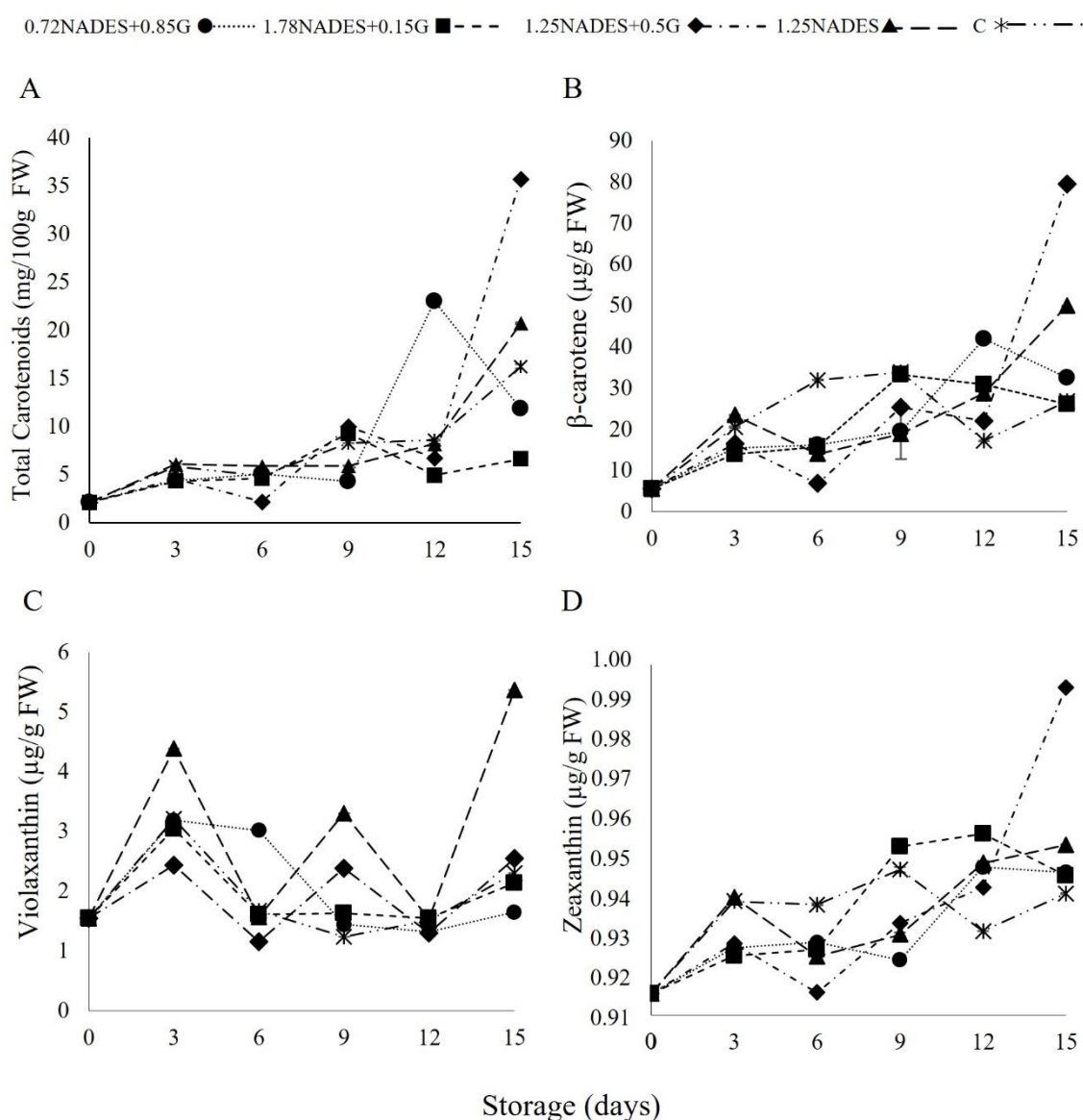


Figure 1 Total carotenoid (A), β -carotene (B), Violaxanthin (C) and Zeaxanthin (D) contents of 'Palmer' mangoes under yam starch-based coatings incorporated with NADES during 15 days of storage at room conditions (23 ± 1 °C and $75 \pm 4\%$ RH).

The beneficial effect of glycerol in starch-based coating on the increase of carotenoid synthesis in mango pulp was also reported by Chiumareli et al. (2010) who evaluated 'Tommy Atkins' mango slices coated by cassava starch with glycerol, previously immersed in citric acid solution. Those authors indicate that the hygroscopicity of glycerol increased water availability

on the fruits surface, enhancing the occurrence of metabolic reactions associated with mango ripening, and consequently increasing the carotenogenesis.

Contrarily to that observed in the present study, different edible coatings applied to 'Kensington Pride' did not affect the total carotenoids content compared to uncoated fruits (Dang et al., 2008). In turn, 'Langra' and 'Samar Bahisht Chaunsa' mangoes coated with olive-based coating presented lower accumulation of total carotenoids than uncoated fruits while those coated with starch presented highest carotenoids increase during ripening process, irrespective of the varieties and storage temperature (Bibi & Baloch, 2014).

In addition, alginate based coating applied on fresh-cut 'Kent' mango previously treated with sodium ascorbic acid and calcium chloride solutions immersion (Robles-Sanchez et al., 2009) were not effective in controlling the build up of β -carotene. On the other hand, Chiumarelli et al. (2010) reported delays in the synthesis of carotenoids during storage for 'Tommy Atkins' mango slices coated by cassava starch-based edible coating without glycerol previously immersed in citric acid, due the respiration rate decrease promoted by the edible coating, delaying fruit ripening, and consequently the formation of carotenoids.

During mango ripening, the increase in the intensity of pulp color generally is directly related to an increase in total carotenoids that is paralleled to the degradation of chlorophyll (Rodriguez-Amaya et al., 2008). However, carotenoids are susceptible to oxidation during processing and storage so that color loss and biological activity are the main practical consequences of this process that occurs due to the presence of oxygen, among other factors, such as exposure to light (Rodriguez-Amaya, 2001). In this context, coatings provide a semipermeable barrier that may reduce oxidative reaction rates, gas exchange and respiration, as well as suppress physiological disorders of fruits (Robl  z-Sanches et al., 2013).

In the present study, the coatings formulations plasticized with 1.25% of NADES, combined or not with glycerol, may enhance carotenoids biosynthesis or/and their preservation. Carotenoids contents higher than controls (uncoated) for biodegradable-based coated mangoes (Bibi & Baloch, 2014) and other fruits (Yan et al., 2019; González-Saucedo et al., 2019) have been reported at literature.

3.2 Carotenoids profile

The main carotenoid identified in mangoes by HPLC analysis was β -carotene, followed by violaxanthin and zeaxanthin, detected in coated and uncoated mangoes. During 15 days of storage, these carotenoids contents increased for all coated and uncoated mangoes with those coated with 0.72NADES+0.85G presenting the lowest increased throughout storage ($p < 0.05$). However, fruits coated by 1.25NADES+0.5G presented higher contents of these pigments (Figure 1B, 1C and 1D).

The carotenoid profile observed herein is in agreement with most of the profiles reported in the literature on mango composition, since it contains three of the most cited carotenoids in several mango cultivars around the world (Petry & Mercadante, 2018, Ibarra-Garza, Ramos-Parra, Hernández-Brenes & Jacobo-Velázquez, 2015, Camiro-Cabrera; Escobedo-Avellaneda, Salinas-Roca; Martin-Belloso & Welti-Chanes, 2017, Mercadante, Rodriguez-Amaya & Britton, 1997).

Carotenoids are responsible for the mango mesocarp yellow coloration and it is estimated that up to 25 different carotenoids have already been identified in this portion of the fruit (among them lutein, α -carotene, β -cryptoxanthin and β -carotene (Fasoli & Righetti, 2013)), which are among the most commonly found in human plasma, along with zeaxanthin, and have been frequently studied in relation to health promoting effects, especially to reduce

incidence of age-related diseases of the eye (Fraser & Bramley, 2004, Rodriguez-Amaya et al., 2008).

Similar to that observed for total carotenoids, the highest β -carotene content after 15 days of storage was recorded in fruit coated with 1.25NADES+0.5G, with 2.59 mg.100⁻¹g β -carotene FW, with lower content than the observed for 'Tainong No. 1' and 'Keitt' ripe mangoes with respectively 5.23 and 6.14 mg of β -carotene.100⁻¹g FW (Liu et al., 2013).

At the end of storage, fruits under 1.25NADE+0.5G and 1.25NADES increased their zeaxanthin content by 1.08 and 1.04 times respectively, compared to day 0, whereas C fruits showed the lowest accumulation (1.02). As the mango matures, lutein is converted to cryptoxanthin and zeaxanthin, which subsequently gives rise to carotenoid epoxy (John, Subbarayan & Cama, 1970).

Regarding to violaxanthin contents, total experiment averages indicate highest percentage for mangoes coated with 1.25NADES (10.8%) while uncoated mangoes (C) showed 7.5%. Camiro-Cabrera et al (2016) reported that violaxanthin composed 30.0% of total carotenoid content identified in 'Tommy Atkins' mango from Mexico while *all-trans*- β -carotene and zeaxanthin represented 30.3% and 3.2%, respectively. Herein highest β -carotene percentage was 90% for 1.25NADES+0.5G.

Environmental and genetic factors, production and postharvest techniques, maturation stage as well as analytical procedures employed and the carotenoids unstable nature contribute to differences in carotenoid profiles between the same or different mango cultivars (Rodriguez-Amaya et al., 2008, Rodriguez-Amaya, 2001).

3.3. Ascorbic acid

In general, the ascorbic acid content decreased in all coated fruits and the controls throughout storage. However, fruits coated with 1.25LI+0.5G and 1.25LI were highlighted with an increase at the end of storage (Figure 2A).

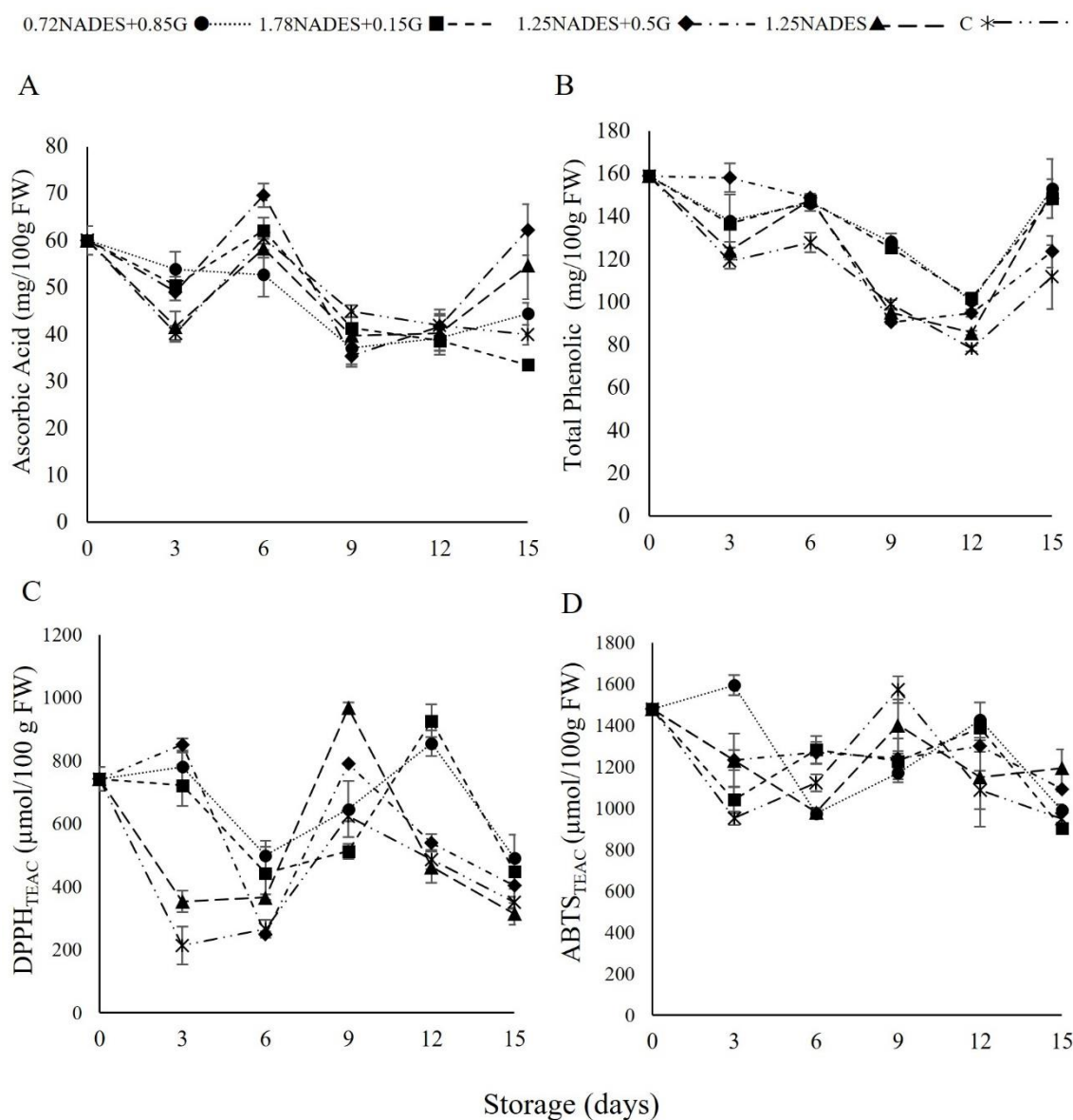


Figure 2 Ascorbic acid content (A), Total phenolics content (B), Antioxidant activity by DPPH (C) and ABTS (D) assays of yam starch-based coated ‘Palmer’ mangoes incorporating NADES during 15 days of storage at room conditions (23 ± 1 °C and $75 \pm 4\%$ RH).

The positive effect of polysaccharide coatings in delaying the loss of ascorbic acid in mangoes were also reported by Khaliq et al. (2016), Cissé et al. (2015), Bibi & Baloch (2014) and Dang Singh & Swinny et al. (2008).

A decrease in ascorbic acid levels is expected during mango ripening and storage due to its susceptibility to oxidation (Bibi & Baloch, 2014, Robles-Sánchez et al., 2009). In this context, edible coatings act as water and gas exchange (O_2 and CO_2) barrier, in order to modify the composition of its internal atmosphere, delaying ripening and reducing ascorbic acid losses or even increasing its contents (Ntsoane 2019).

Ascorbic acid, also known as vitamin C, is often regarded as an indicator of freshness of fruit (Robles-Sánchez et al., 2009), considered the most important water-soluble antioxidant for humans and is one of the most commonly analyzed vitamin, as well as β -carotene and tocopherols, since that their suboptimal intake has been associated with oxidative stress-related degenerative diseases (Miret & Munne'-Bosch (2014).

3.4. Phenolic compounds

The phenolic compounds content after 15 days of storage revealed that the mango coated with 0.72NADES+0.85G and 1.78NADES+0.15G were those that maintained the highest contents of these compounds, however, not differing from each other. On the other hand, fruits coated with 1.25NADES also presented phenolic compounds content higher than the control fruits but did not differ from 1.25NADES+0.5G. Thus, the different combinations of NADES and G tested herein are effective in inhibiting total phenolic content loss throughout the storage, and it has to be noted that the coating formulation containing only NADES as the plasticizer is also effective (Figure 2B).

Palmer mango evaluated in the present study showed 159 mg. 100^{-1} g FW total phenolic compounds content at day 0, which was superior to the one found between 100 and 150 mg

GAE/100 g FW recorded by Ribeiro et al. (2007), for this same cultivar. The methanolic pulp extract from Palmer variety, at a concentration of 0.05 mg/mL, showed reduction power against $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ 1.3 times greater than galic acid (Ribeiro et al., 2008).

Total phenolics (TP) declining trend was more evident for the control fruit as well as observed by Khaliq et al. (2016) in ‘Choke Anan’ mango coated with arabic gum alone or in combination with calcium chloride. Gallic acid and gallotannins are two of the main mango phenolic compounds, which naturally decrease during storage, due to ripening, resulting in loss of astringency, a major characteristic of mango (Ntsoane et al. 2019).

TP preservation on coated mangoes proves that edible coatings act delaying the ripening process, preserving the levels of the biochemical compounds by reducing their changes (Roblez 2013). The citric acid/ChCl based NADES addition may have increased the effect of coatings on TP preservation since citric acid has a recognized effect on polyphenoloxidase that catalyzes oxidation of phenolic, and for this reason has been incorporated into polymeric matrices or in aqueous solutions, as an anti-browning agent in mango and other fruit (Robles-Sánchez et al., 2009; Chiumarelli et al., 2010; Robles-Sanchez et al., 2011; Robles-Sanchez et al., 2013).

3.5. Antioxidant activity

3.5.1. DPPH assay

Inhibition of the DPPH radical decreased over the 15 days of storage for all coating mangoes and controls. At the end of the storage, fruits coated with 0.72NADES+0.85G and 1.78NADES+0.15G differ, presenting the highest antioxidant activity among all treatments. Fruits coated with 1.25NADES+0.5G and 1.25G also showed antioxidant activity higher than the controls, however those coated with 1.25% NADES + 0.5% G did not differ from all other three coatings. Thus, it can be noted that NADES combined or not with G contributed to the maintenance of antioxidant activity against DPPH (Figure 2C).

As observed in the present study, 'Choke Anan' mangoes under gum arabic and calcium chloride coatings presented antioxidant activity by DPPH higher than control fruits during storage at 25 °C for 5 days, after transferring from a period under refrigeration. (Khaliq et al., 2016).

Similar to that observed in the ABTS assay, previous studies with different mango cultivars revealed that immersion in citric acid solution with ascorbic acid and CaCl_2 singly (Robles-Sanchez et al., 2009) or associate with alginate-based edible coating (Robles-Sanchez et al, 2013) provide a better response, in relation to the controls, in the DPPH assay conferring higher antioxidant activities.

Biodegradable and edible coatings from biopolymers have demonstrated efficacy in delaying oxidation and senescence processes in different fresh fruits both by ensuring greater antioxidant capacities to the coated fruits and by regulating their antioxidant enzyme system (Ntsoane, et al., 2019; Khaliq et al., 2016). The results herein shown that coatings interfered on mangoes quality during storage possibly by the barrier promoted on the fruit surface, which affect gas exchange and loss of water, reflecting on important changes in metabolism.

3.5.2. ABTS assay

The inhibition of the free radical ABTS^+ decreased during the 15 days of storage for all fruits, regardless of the coating applied, however at the end of storage it was higher in fruits coated with 1.25 NADES (Figure 2D).

In minimally processed 'Kent' mango Robles-Sanchez et al. (2009) observed that immersion in aqueous solution with citric acid with ascorbic acid and CaCl_2 provided higher TEAC than the control throughout the storage. These authors recorded activity between $449.8 \mu\text{mol TE} \cdot 100^{-1} \text{FWg}$ and approximately $600 \mu\text{mol TE} \cdot 100^{-1} \text{FWg}$, in slices treated with citric acid solution, lower than those determined in the present work for the 'Palmer' mango, ranging

from 1480.67 μmol to 904.31 $\mu\text{mol TE} \cdot 100^{-1} \text{FWg}$. It seems that the action of citric acid by incorporation in a NADES is more effective due to its chemical interaction in the matrices, which provides its gradual release in the coating.

In minimally processed 'Kent' mango previously immersed in aqueous solution of citric acid with ascorbic acid, and coated with sodium alginate (Robles-Sanchez et al., 2013) higher TEAC throughout the storage was found when compared to control fruits and slices, treated only with these organic acids solutions. Like the observed by Robles-Sanchez et al. (2009), the highest TEAC averages of Robles-Sanchez et al. (2013) did not exceed 500 $\mu\text{mol TE} / 100 \text{ g fresh mass}$.

The antioxidant capacity of mango fruits is largely influenced by its phenolic and flavonoid content, although, there are a large number of different types of antioxidant compounds that might contribute to the total antioxidant capacity (Ma et al., 2011).

3.6. Free amino acids (FAA) profile

At the day 0, the most abundant free amino acid was arginine (7.49 mg/g), which was more than two-fold higher than the aspartic acid content, which, in turn, was the second FAA in the sequence of the amino acids identified at this day. Alanine, glutamic acid, glutamine, serine, asparagine, threonine, phenylalanine, valine and tyrosine were identified at this evaluation period in descending order of content (Figure 3).

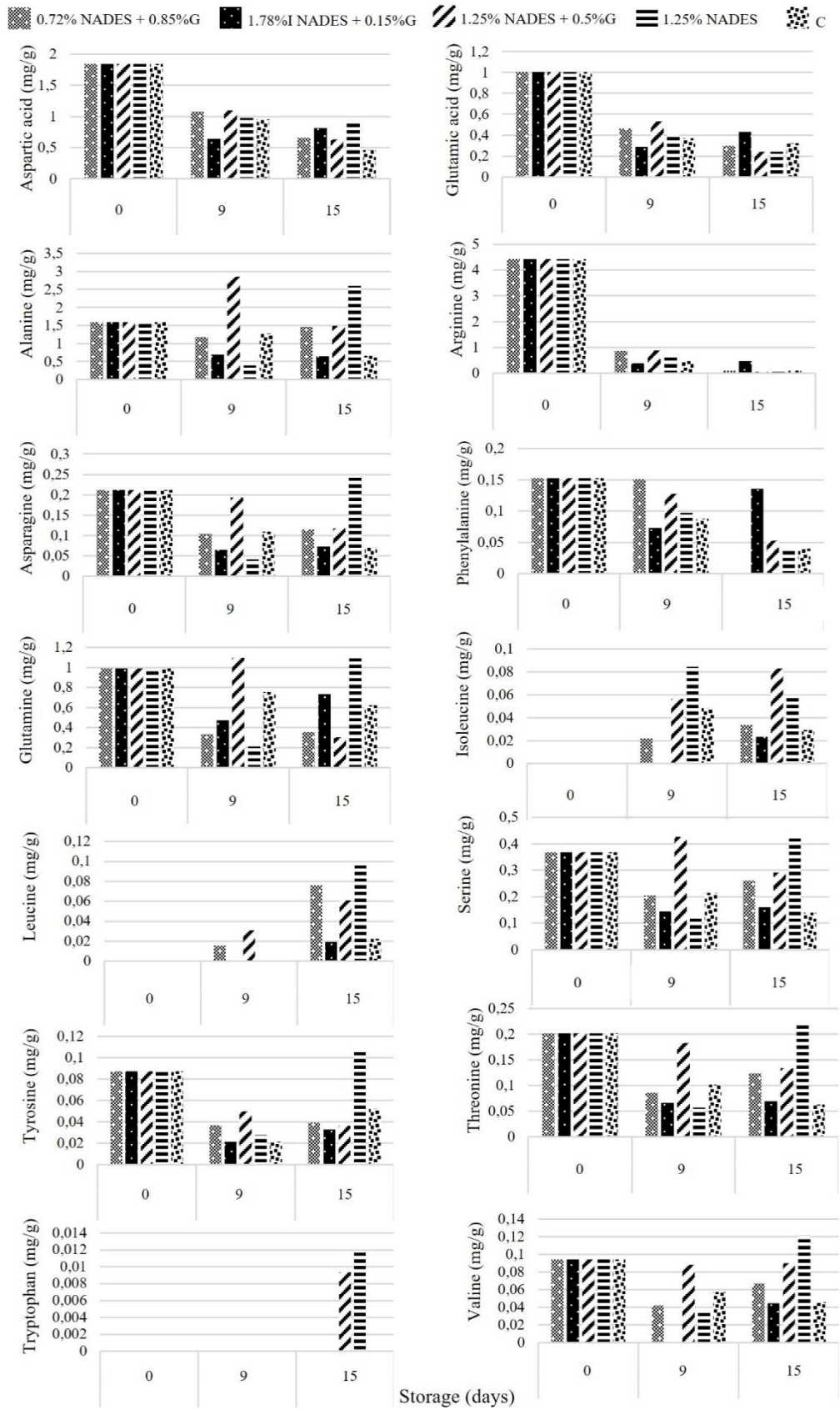


Figure 3. Free amino acids (mg/g FW) FAA contents in the extracts of ‘Palmer’ mangoes coated with yam starch-based coatings incorporating NADES at 0, 9 and 15 days of storage at room conditions (24 ± 2 °C and $75 \pm 4\%$ RH)

However, at 9th day of storage, alanine was the major FAA in the controls and 0.72NADES+0.85G, 1.78NADES+0.15G and 1.25NADES+0.5G fruits, whereas aspartic acid predominated for fruits coated with 1.25NADES. Threonine and phenylalanine, fruit aroma precursors (Pino et al., 2005), were highlighted as the only essential amino acids present in fruits, both under coatings and control. Arginine, aspartic acid, glutamic acid and glutamine were the other FAAs with contents above 0.2 mg.g⁻¹FW in most coated fruits. On other hand, valine was identified in all coated fruits, isoleucine was absent except in those under 1.78NADES+0.15G, whereas leucine was detected only in mangoes coated with 0.72NADES+0.85G and 1.25NADES+0.5G.

At the 15th day of storage, alanine remained predominant in mangoes with 0.72NADES+0.85G, 1.25NADES+0.5G, C and 1.25NADES whereas aspartic acid prevailed in 1.78NADES+0.15G. In this evaluation period, glutamine content was 5-fold higher than that determined at day 9 in 1.25NADES coated fruits. Alanine, asparagine, glutamine, serine, threonine, tyrosine and valine also showed considerable increases in fruits under the 1.25NADES coating.

In study of the compositional changes of ‘Tommy Atkins’ mango, Gil et al (2000) reported a remarkable increase of alanine content during ripening, then suggested that a distinct biosynthetic process may exist for alanine, probably involving a link between pyruvic acid (or pyruvate) and this amino acid. Those authors also reported an increase in the aliphatic peaks of isoleucine, valine and leucine, which is indicative of a possible common biosynthetic pathway for these amino acids.

Studies of free amino acid identification as well as proteome analysis of mangos are reduced, however it is already known that some of the most representative metabolic routes transcribed by the identified genes, during ripening of ‘Ataulfo’ and ‘Tommy Atkins’ mangos, involve metabolism and biosynthesis of amino acids as alanine, aspartate and glutamate (Wu et al., 2014; Dautt-Castro et al., 2018).

In present study, aspartic acid and glutamic acid decreased during storage for all coated and uncoated mangos. However, Ala content for 1.25NADES+0.5G mangos from 0 to 9th day and 1.25NADES mangos at 9th to 15th day showed increases of 44.2% and 84.8%, respectively.

According to Tabela Brasileira da Composição dos Alimentos – TACO (NEPA, 2011) fresh ‘Palmer’ mango has 0.3 mg.g⁻¹ FW of Ala while Food Data Central (United States Department of Agriculture, 2020) reported 0.82 mg.g⁻¹ FW, whose values are based on Tommy Atkins, Keitt, Kent, and/or Haden cultivars. Herein, Ala mean content at day 0 was superior than those databases, 1.59 mg.g⁻¹ FW, while at 15th day 1.78NADES+0.15G coated and C mangos presented, respectively, 0.65 and 0.67 mg.g⁻¹ FW, the lowest mean contents of whole experiment.

Pérez et al. (1992) had identified significant changes in alanine content during ripening of ‘Chandler’ strawberry and inferred that differences in amino acid profile among varieties could explain different aroma patterns, suggesting that high alanine content could be primarily responsible for high ethyl ester levels in the volatile composition of this cultivar.

Amino acids are recognized as aroma precursors in various fruits such as tomatoes (Klee & Giovannoni, 2011), banana (Wyllie & Fellman, 2000), melon (Gonda et al., 2010), and strawberry (Perez et al., 1992), mainly the branched chain which are leucine, isoleucine and

valine, as well as, aromatic amino acids as phenylalanine, typtophan and even methionine (Tzin; Galili, 2010) and alanine (Oms-Oliu et al., 2011).

Branched chain amino acids (Ile, Leu and Val) were indicated as precursors of seven volatiles of tomatoes (Klee & Giovannoni, 2011), including 2-methyl-1-butanol and 3-methyl-1-butanol which are also identified by Pino et al (2005) in 20 mangoes varieties from Cuba. In addition, phenylacetaldehyde and two other volatiles were identified in mango, which were originated from phenylalanine (Pino et al., 2005).

1.25NADES and 1.25 NADES+0.5G presented highest Ile (0.08 and 0.07 mg.g⁻¹ FW) and Leu (0.053 and 0.053 mg.g⁻¹ FW) mean contents which were inferior to that reported by NEPA (2011) to fresh ‘Palmer’ mango (0.2 and 0.3 mg.g⁻¹ FW, for Ile and Leu, respectively) and by Food Data Central (2020) for mangos (0.29 and 0.5 mg.g⁻¹ FW for Ile and Leu, respectively).

Aromatic amino acids phenylalanine, tyrosine and tryptophan are essential as component of proteins synthesis in plants as well as to serve as precursors for several secondary metabolites important for plant growth, human nutrition and health (Tzin & Galili, 2010). During storage, the mean Tyr content decreased between the 0 and 9th day, increasing again from the 9th to the 15th day, with the exception of 1.25NADES+0.5G coated mangoes, in which the decreasing trend was maintained, although fruits with this coating as well as 1.25NADES showed the highest Tyr mean content throughout storage (0.058 and 0.074 mg.g⁻¹ FW, respectively). In turn, phenylalanine contents decreased during storage except for 1.78NADES+0.15G coated mangoes, in which occurred an increase from the 9th to the 15th day, thus presenting the highest Phe mean content (0.120 mg.g⁻¹ FW).

As for tryptophan, this aromatic amino acid was detected only in 1.25NADES+0.5G and 1.25NADES, at 15th day (0.009 and 0.011 mg.g⁻¹ FW, respectively) at contents lower than

those recorded in the TACO Table (NEPA, 2011) ($0.2 \text{ mg.g}^{-1} \text{ FW}$) and in the USDA (United States Department of Agriculture, 2020) ($0.13 \text{ mg.g}^{-1} \text{ FW}$). It is highlighted that, although detected in traces, the Trp detection indicates that somehow this percentage of NADES added as plasticizer changed the free amino acid profile of coated mangoes.

Based on the action of certain amino acids, such as alanine, valine, leucine and isoleucine as precursors of fruit aroma, the profiles of mangoes coated with 1.25NADES showed these compounds found in higher contents, which can infer that these coating formulation stimulate volatile biosynthesis (Klee & Giovannoni, 2011; Pino et al., 2005; Lalel et al., 2003). In addition, taking into account that tryptophan and tyrosine act as precursors of neurotransmitter monoamines and catecholamines (serotonin and dopamine, for example) (Fernandez-Cruz et al., 2019, Miret & Munné-Bosch, 2014, Fernstrom & Fernstrom, 2007) the profiles of 1.25NADES coated mangoes at 15th day were notable by their functional quality, especially when comparing with the C fruits.

According to Hildebrandt, Nesi, Araújo & Hans-Peter-Braun (2015), amino acid biosynthesis is of pivotal importance in virtually every aspect of plant metabolism thus, studies focused to elucidate the diverse mechanisms by which amino acid catabolizing pathways are regulated, interacting with other pathways and influencing plant physiology at the whole-plant level and affecting stress responses are encouraged.

3.7. FPLC

By gel filtration chromatography peptides are separated based on the size exclusion, thus, the fraction with longer retention time has lower molecular weight (Campos et al., 2019). In this context, studies with vegetable foods and their by-products, hydrolyzed or not, have identified low molecular weight peptides, capable to exert antihypertensive, antioxidant,

hypcholesterolemic, antithrombotic, and immunostimulating capacities or ability to reduce food intake (García, Puchalska, Esteve & Marina, 2013).

At day 0, the gel filtration chromatography analysis revealed three peaks corresponding to the molecular weights of 57.935 KDa (P22-23), 1.788 (P34-35) and 0.707 (P36) that represent respectively 2.37%, 17.24 and 43.15% from total peak area. Peaks corresponding to molecular weights lower than 0.5 KDa were summed representing 37.24% from total FPLC area. At 15th day, mangoes coated with 1.25NADES + 0.5G showed the same peaks as on day 0, however increasing P22-23 and P36 peaks areas, which now represent respectively 5.12% and 48.62% of the total area (Table 1).

Table 1. Peak areas through in size exclusion chromatograph of yam starch-based coated ‘Palmer’ mangoes incorporating NADES, at 0 and 15 days of storage at room conditions ($24 \pm 2^\circ\text{C}$ and $75 \pm 4\%$ RH) by FPLC

	Peak	Day 0	15 th day				C
			0.72NADES + 0.85G	1.78NADES + 0.15G	1.25NADES+ 0.5G	1.25NADES	
P0	Retention (mL)	ND	0.008	ND	ND	0.002	0.232
	KDa	ND	95826.14	ND	ND	96011	185246.2
	Peak area	ND	0.074	ND	ND	0.125	1.055
	%Peak area	ND	1.59	ND	ND	0.58	4.99
P12	Retention (mL)	ND	12.305	12.486	ND	12.395	12.677
	KDa	ND	1845.238	1741.017	ND	1792.658	1637.414
	Peak area	ND	0.3373	0.3279	ND	0.7115	1.913
	%Peak area	ND	7.26	5.83	ND	3.31	9.05
P22-23	Retention (mL)	23.08	ND	ND	22.906	22.896	ND
	KDa	57.93487	ND	ND	61.26508	61.462	ND
	Peak area	0.2463	ND	ND	0.5691	0.708	ND
	%Peak area	2.37	ND	ND	5.12	3.3	ND
P34-35	Retention (mL)	34.774	35.106	35.009	35.148	35.306	35.167
	KDa	1.354	1.217063	1.25558	1.200	1.141	1.193
	Peak area	1.788	0.6294	1.008	1.887	3.177	2.159
	%Peak area	17.24	13.55	17.93	16.99	14.79	10.21
P36	Retention (mL)	36.797	36.73	36.716	36.746	36.747	36.793
	KDa	0.707	0.722	0.725635	0.718676	0.718	0.708
	Peak area	4.476	2.665	3.478	5.401	9.949	9.563
	%Peak area	43.15	57.35	61.86	48.62	46.32	45.23
Σ P40+	Retention (mL)	41.1+	41.0+	41.19+	41.0+	40.9+	40.8+
	KDa	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$	$\Sigma < 0.5$
	Peak area	3.862	0.941	0.8083	3.250	6.808	6.453
	%Peak area	37.24	20.26	14.38	29.26	31.7	30.52

ND, not detected

At 15th day, fruits coated with 1.78NADES+0.15G, 0.72NADES+0.85G, 1.25NADES and uncoated mangoes presented a peak at 12mL, corresponding to MW around 1700 KDa, which represent 7.26, 5.83, 3.31 and 9.05% from total peak areas of those fruits.

The P22-23 peak was maintained and increased in 125NADES fruits as well as 1.25NADES+0.5G ones, indicating that formulations with 1.25% NADES were able to preserve and stimulate a peptide of molecular weight around 60 KDa.

By 2D-DIGE analysis of cv. Keitt mango fruit proteome during ripening, Andrade et al. (2012) observed that the heat shock proteins (HSPs) were down-regulated during ripening, and consisted of peptides of 70 KDa that were involved in protein folding and repair, as well as in the protein degradation during stress response. Those authors also identified accumulation of peptides representing a plastid lipid-associated protein or fibrillin (32.8 KDa) and related that to the differentiation of chloroplasts into chromoplasts and the change in pulp color during maturation, since fibrillins play an important role in the stabilization of fibrils of carotenoids.

The peaks P34-35, P36 and those eluted after 40mL, which correspond around to 1.2 KDa, 0.71 KDa and MW less than 0.5 KDa, were detected in all mangoes at day 0 and 15. In this context, at 15th day 1.25NADES maintained the highest areas for these peaks (3.177, 9.949 and 31.7, respectively).

The peak at 36mL may be considered a typical peak for ‘Palmer’ mango since it corresponded to the most representative area from FPLC profile of all mangoes, at 0 and 15 days, representing more than 46% of coated fruits total peak area at 15th day (Table 1). Future research is needed to identify this peptide and its possible bioactive potential since, as reported by García et al. (2013), peptides with molecular weight < 1 KDa from plant foods showed significant antioxidant activity.

Peaks eluted after 40 mL (size < 0.5 KDa) could be corresponding to peptide fragments or just amino acids even as noted to fermented tomato seeds peptide profile, in which the most of the identified peptides were smaller than 1000 Da and had different aromatic and hydrophobic amino acid residues (Moayedi et al., 2018).

Fasoli and Righetti (2013) found peptides, in both mango pulp and peel, which were not recognized as part of known proteins due to the lack of knowledge of the complete mango proteome. Those authors emphasized that a greater number of peptides in the peel were not associated with a known protein due to the number of proteins identified in that portion was lower than in the pulp, so they suggested experiments to test the biological activities of these peptides, because among them, some could be connected with nutritional and allergenic functions.

3.8. Principal component - PCA and cluster analysis

Coated and uncoated mangoes showed significant differences in functional attributes and free amino acid profile, notably by antioxidant activity, carotenoids profile (TC, β -carotene, zeaxanthin and violaxanthin contents), the most free amino acids as alanine, aspartic acid, asparagine, glutamic acid, isoleucine and tryptophan content and by FPLC peak areas, especially P22-23 and P34-35 that corresponded to molecular weights more than 1 KDa (Figure 4).

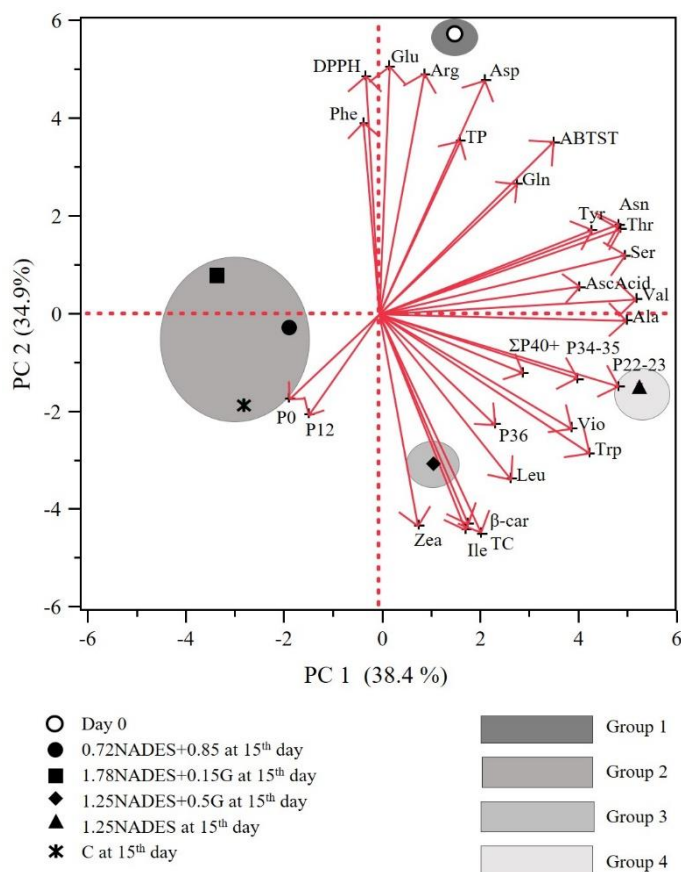


Figure 4. Biplot (loadings and scores) of PC1 vs. PC2 corresponding to a full-data PCA model for yam starch with NADES based coated and uncoated ‘Palmer’ mango

Two principal component satisfactorily explained the variability of this experiment, which amounted 78.3% of cumulative variance, where 38.4% corresponds to PC1 and 39.9% to PC2. Violaxanthin, ascorbic acid, alanine, asparagine, serine, tyrosine, threonine, valine and P22-23 and P34-35 peaks were the significant variables to explain variability the PC1. While PC2 was explained by DPPH, TC, zeaxanthin, β -carotene, aspartic acid, glutamic acid, arginine, phenylalanine and isoleucine .

The cluster analysis resulted in formation of four groups based on similarities among considered in PCA analysis variables (Figure 4). Group 1 includes mangoes at day 0 before coatings application, due that this mangoes showed high content of glutamic acidlu, aspartic

acid, arginine, glutamine and phenylalanine, high antioxidant activity (DPPH assay), as well as low content of TC and individual carotenoids (β -car and Zea) and by absence of Ile.

Group 2 combined mangoes from C, 0.72NADES+0.85G and 1.78NADES+0.15G at 15 days of storage, mainly due to the intermediate levels of Zea, β -car, Vio, Arg, Ile, also due to the absence of tryptophan and presence of P12.

Mangoes coated by 1.25NADES+0.5G at 15th day formed Group 3 due that the highest TC, Zea, β -car and Ile. In addition, considering only means at 15th day, these mangoes presenting ascorbic acid contents higher than the other coatings. In turn, Group 4 includes mangoes with 1.25NADES highlighted at 15th day by highest Vio, Ala, Asn, Ser, Thr, Tyr, Val, Asp, Gln, Tyr contents and higher increase in FPLC peak areas especially P22-23, P34-35, P36 and Σ P40+. 1.25NADES and 1.25NADES+0.5G at 15th day were the only ones to show Trp traces.

Groups 3 and 4 formation suggest that in some way this level of NADES (1,25%) added as coating plasticizer, affected fruit's metabolism, especially the related with the biosynthesis of carotenoids (Yan et al., 2019; González-Saucedo et al., 2019), and volatile compounds, which are originated from some amino acids such as Ala, Ile and Val (Pérez et al, 1992; Klee & Giovannoni, 2011; Pino et al. 2005).

It is noteworthy that the fruits coated with 1.25% NADES as plasticizer maintained higher antioxidant properties in view of the content of tryptophan and tyrosine, which are aromatic amino acids precursors of indole-3-acetic acid (Fernandez-Cruz et al., 2019) and α -tocopherol (Miret & Munné-Bosch, 2014) respectively, and the antioxidant activity by ABTS assay at the 15th day of storage.

4. Conclusions

Mangoes coated with 1.25NADES + 0.5G and 1.25NADES maintained higher ascorbic acid levels than fruits from others coatings and controls. In turn, mangoes with 0.72NADES+ 0.85G and 1.78NADES+0.15G had greater phenolic compounds retention followed by the formulations 1.25NADES and 1.25NADES + 0.5G. Coated mangoes also showed greater maintenance of antioxidant activity by ABTS and DPPH assays.

The coating with the lowest percentage of glycerol (0.78NADES+0.15G) was effective in delaying the increases in total carotenoids contents, delaying ripening in mangoes. However, mangoes coated with 1.25NADES and 1.25NADES+0.5G had promoted the highest levels of β -carotene, violaxanthin and zeaxanthin, indicating that this NADES percentage (1.25%) gives the coating a favorable structure, which maintains the increase in carotenoid contents, preventing their oxidation.

Free amino acid profile was affected by different coatings since that mangoes coated with 1.25NADES + 0.5G and 1.25NADES presented highest total FAA, while uncoated fruits had the lowest. Increases in alanine, isoleucine, leucine, valine and tryptophan in coated fruits were determinant to differentiate mangoes coated with 1.25NADES + 0.5G and 1.25NADES, which also had an increase of peak area of the typical peak normally found in 'Palmer' mango.

Therefore, further study should focus on the investigation of citric acid/ChCl NADES real effects on metabolism of fruit coated by formulations containing this natural eutectic solvent.

5. Acknowledgments

This work was supported by National Funds from FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia through project UID/Multi/50016/2019. The authors thank to the Brazilian's Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES – Abroad Doctoral

Sandwich Program (CAPES/PDSE) - fellowship to the first author (Grant # 88881.131644/2016-01), and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPQ) for the financial support (Grant # 401515/2014-1; 403847/2013-3).

References

- Abbott, A.P., Boothby, D., Capper, G., Davies, D.L. & Rasheed, R.K. (2004). Deep Eutectic Solvents Formed between Choline Chloride and Carboxylic Acids: Versatile Alternatives to Ionic Liquids. *Journal of American Chemical Society*, 126, 9142-9147.
- Andrade, J.M., Toledo, T.T., Nogueira, S.B., Cordenusi, N.R., Lajolo, F.M. & Nascimento, J.R.O. (2012). 2D-DIGE analysis of mango (*Mangifera indica* L.) fruit reveals major proteomic changes associated with ripening. *Journal of Proteomics*, 75, 3331-3341.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. (2005). *Official methods of analysis of the association of Official Analytical Chemistry*, Washington, WA, 17th edn.
- Bibi, F. & Baloch, M.K. (2014). Postharvest quality and shelf life of mango (*Mangifera indica* L.) fruit as affected by various coatings. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 499-507.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Science and Technology*, 28, 25–30.
- Camiro-Cabrera, M., Escobedo-Avellaneda, Z., Salinas-Roca, B., Martin-Belloso, O. & Welte-Chanes, J. (2017) High hydrostatic pressure and temperature applied to preserve the antioxidant compounds of mango pulp (*Mangifera indica* L.). *Food Bioprocess Technology*, 10 (4), 639-649.
- Campos, D.A., Coscueta, E.R., Valetti, N.W., Pastrana-Castro, L.M., Teixeira, J.A., Picó, G.A. & Pintado, M.M. (2019). Optimization of bromelain isolation from pineapple byproducts by polysaccharide complex formation. *Food Hydrocolloids*, 87, 792-804.
- Chiumarelli, M., Pereira, L.M., Ferrari, C.C., Sarantópoulos, C.I.G.L. & Hubinger, M.D. (2010). Cassava starch coating and citric acid to preserve quality parameters of fresh-cut “Tommy Atkins” mango. *Journal of Food Science*, 75 (5), E297-E304.

Cissé, M., Polidori, J., Monet, D., Loiseau, G. & Ducamp-Collin, M.N. (2015). Preservation of mango quality by using functional chitosan-lactoperoxidase systems coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 101, 10-14.

Collins, M. E. & Ovalles, F. A. (1988). Variability of northwest Florida soils by principal component analysis. *Soil Science Society of America Journal*, 52 (5), 1430-1435.

Dang, K.T., Singh, Z. & Swinny, E. (2008). Edible coatings influence fruit ripening, quality and aroma biosynthesis in mango fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1361-1370.

Dautt-Castro, M., Ochoa-Leyva, A., Contreras-Vergara, C. A., Muhlia-Almazán, A.; Rivera-Domínguez, M., Casas-Flores, S., Martinez-Tellez, M.A., Sañudo-Barajas, A.; Osuna-Enciso, T., Baez-Sañudo, M.A., Quiroz-Figueroa, F.R., Kuhn, D.N. & Islas-Osuna, M.A. (2018). Mesocarp RNA-Seq analysis of mango (*Mangifera indica* L.) identify quarantine postharvest treatment effects on gene expression. *Scientia Horticulturae*, 227, 146–153.

Fasoli, E. & Righetti, P.G. (2013). The peel and pulp of mango fruit: A proteomic samba. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1834, p. 2539–2545.

Fraser, P. D., & Bramley, P. M. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research*, 43(3), 228-265.

Fernández-Cruz, E., Cerezo, A. B., Cantos-Villar, E., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2019). Time course of l-tryptophan metabolites when fermenting natural grape musts: effect of inoculation treatments and cultivar on the occurrence of melatonin and related indolic compounds. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 25(1), 92-100.

Fernstrom, J.D. & Fernstrom, M.H. (2007). Tyrosine, phenylalanine, and catecholamine synthesis and function in the brain. *The Journal of Nutrition*. 137(6), 1539S–1547S.

Galvis-Sánchez, A.C., Sousa, A.M.M., Hilliou, L., Gonçalves, M.P. & Souza, H.K.S. (2016). Thermo-compression molding of chitosan with deep eutectic mixture for biofilms development. *Green Chemistry*, 18, 1571-1580.

García, M. C., Puchalska, P., Esteve, C. & Marina, M. L. (2013). Vegetable foods: A cheap source of proteins and peptides with antihypertensive, antioxidant, and other less occurrence bioactivities. *Talanta*, 106, 328-349.

- Gião, M. S., Gonzalez-Sanjose, M. L., Rivero-Perez, M. D., Pereira, C. I., Pintado, M. E. & Malcata, F. X. (2007). Infusions of portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 87 (14), 2638-2647.
- Gil, A.M., Duarte, I.F., Delgadillo, I., Colquhoun, I.J., Casuscelli, F., Humpfer, E. & Spraul, M. (2000). Study of the compositional changes of mango during ripening by us of nuclear resonance spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1524-1536.
- Gonda, I., Bar, E., Portnoy, V., Lev, S., Burger, J., Schaffer, A. A., Tadmor, Y., Gepstein, S., Giovannoni, J.J., Katzir, N. & Lewinsohn, E. (2010). Branched-chain and aromatic amino acid catabolism into aroma volatiles in *Cucumis melo* L. fruit. *Journal of Experimental Botany*, 61 (4), 1111-1123.
- González-Saucedo, A., Barrera-Necha, L. L., Ventura-Aguilar, R. I., Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., & Hernández-López, M. (2019). Extension of the postharvest quality of bell pepper by applying nanostructured coatings of chitosan with *Byrsonima crassifolia* extract (L.) Kunth. *Postharvest Biology and Technology*, 149, 74–82.
- Gutiérrez, T. J., Tapia, M. S., Pérez, E. & Famá, L. (2015). Structural and mechanical properties of edible films made from native and modified cush-cush yam and cassava starch. *Food Hydrocolloids*, 45, 211–217.
- Hildebrandt, T.M., Nesi, A.N., Araujo, W.L. & Brau, H.P. (2015). Amino acid catabolism in plants. *Molecular Plant*, 8, 1563-1579.
- John, J., Subbarayan, C. & Cama, H. R. (1970). Carotenoids in 3 stages of ripening of mango. *Journal of Food Science* 35, 262-265.
- Khaliq, G., Mohamed, M.T.M., Ghazali, H.M., Ding, P. & Ali, A. (2016). Influence of gum arabic coating enriched with calcium chloride on physiological, biochemical and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit stored under low temperature stress. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 362-369.
- Kimura, M., Rodriguez-Amaya, D. B. & Godoy, H. T. (1990). Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamin A. *Food Chemistry*, 35, 187-195.

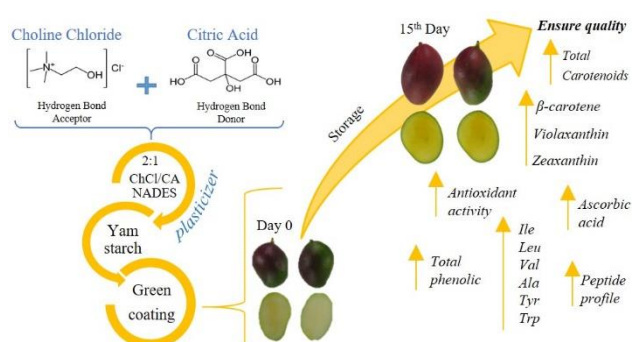
- Klee, H.J. & Giovannoni, J.J. (2011). Genetics and Control of Tomato Fruit Ripening and Quality Attributes. *Annual Review of Genetics*, 45 (1), 41-59.
- Liu, F.X., Fu, S.F., Bi, X.F.; Chen, F., Liao, X.C., Hu, X.S. & Wu, J.H. (2013). Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. *Food Chemistry*, 138, 396-405.
- Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., Xing, S. & Zhou, Y. (2011). Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 129 (1), 102-107.
- Mercadante, A.Z., Rodriguez-Amaya, D.B & Britton, G. (1997). HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. *Journal of Food Science*, 45, 120-123.
- Miret, J. A., & Munné-Bosch, S. (2014). Plant amino acid-derived vitamins: biosynthesis and function. *Amino Acids*, 46 (4), 809-824.
- Moayed, A., Mora, L., Aristoy, M. C., Safari, M., Hashemi, M., & Toldrá, F. (2018). Peptidomic analysis of antioxidant and ACE-inhibitory peptides obtained from tomato waste proteins fermented using *Bacillus subtilis*. *Food Chemistry*, 250, 180–187.
- NEPA–Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. (2011). *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)*. 4 Eds.; Universidade de Campinas-UNICAMP: Campinas, São Paulo, 160 pp.
- Ntsoane, M. L., Zude-Sasse, M., Mahajan, P. & Sivakumar, D. (2019). Quality assesment and postharvest technology of mango: A review of its current status and future perspectives. *Scientia Horticulturae*, 249, 77-85.
- Oms-Oliu, G., Hertog, M. L. A. T. M., Van de Poel, B., Ampofo-Asiama, J., Geeraerd, A. H., & Nicolai, B. M. (2011). Metabolic characterization of tomato fruit during preharvest development, ripening, and postharvest shelf-life. *Postharvest Biology and Technology*, 62 (1), 7-16.
- Paiva, A., Craveiro, R., Aroso, I., Martins, M., Reis, R.L. & Duarte, A.R.C. (2014) Natural Deep Eutectic Solvents – Solvents for the 21st Century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(5), 1063-1071.

- Pérez, A.G., Sanz, J.J.R., Sanz, C. & Olías, J.M. (1992). Aroma components and free amino acids in strawberry variety chandler during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 2232-2235.
- Petry, F.C. & Mercadante, A.Z. (2018) New method for carotenoid extraction and analysis by HPLC-DAD-MS/MS in freeze-dried citrus and mango pulp. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 29 (1), 205-215.
- Pino, J.A., Mesa, J., Muñoz, Y., Martí, M.P. & Marbot, R. (2005). Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food and Chemistry*, 54 (6) 2213-2223.
- Proestos, C., Loukatos, P. & Komaitis, M. (2008). Determination of biogenic amines in wines by HPLC with precolumn dansylation and fluorimetric detection. *Food Chemistry*, 106 (3), 1218-1224.
- Ribeiro, S.M.R., Barbosa, L.C.A., Queiroz, J.H., Knödler, M. & Schieber, A. (2008) Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*, 110, 620-626,
- Ribeiro, S.M.R., Queiroz, J.H., Queiroz, M.E.L.R., Campos, F.M. & Sant'ana, H.M.P. (2007). Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62, 13-17.
- Robles-Sanchez, R.M., Rojas-Graü, M.A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G. & Martín-Belloso, O. (2013) Influence alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *LWT – Food Science and Technology*, 50, 240-246,
- Robles-Sánchez, R.M., Rojas-Grau, M.A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G.A. & Martín-Belloso, O. (2009) Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut 'Kent' mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 51, 384-390.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington: ILSI press.

- Rodriguez-Amaya, D. B., Kimura, M., Godoy, H. T. & Amaya-Farfan, J. (2008) Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 6, p. 445-463.
- Singleton, V. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Tomé, L.I.N., Baião, V., Silva, W. & Brett, M.A. (2018) Deep eutectic solvents for the production and application of new materials. *Applied Materials Today*, 10, 30-50.
- Tzin, V. & Galil, G. (2010) New insights into the Shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. *Molecular Plant*, 3(6), 956-972.
- United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. (2020). FoodData Central, FDC Published: 4/1/2019. URL ([https:// https://fdc.nal.usda.gov/index.html](https://fdc.nal.usda.gov/index.html)) (most recent access date: 01/10/2020)
- Wright, K. P. & Kader, A. A. (1997) Effect of controlled-atmosphere storage on the quality and carotenoid content of sliced persimmons and peaches. *Postharvest Biology and Technology*, 10(8), 9-97.
- Wu, H., Jia, H., Ma, X., Wang, S., Yao, Q., Xu, W., Gao, Z. & Zhab, R. (2014). Transcriptome and proteomic analysis of mango (*Mangifera indica* Linn) fruits. *Journal of Proteomics*, 105, 19-30.
- Wyllie, S.G. & Fellman, J. (2000) Formation of volatile branched chain esters in bananas (*Musa sapientum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3493-3496.
- Yan, J., Luo, Z., Ban, Z., Lu, H., Li, D., Yang, D., Solemani, M. & Li, L. (2019). The effect of the layer-by-layer (LBL) edible coating on strawberry quality and metabolites during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 147, 29-38.
- Zdanowicz, M. (2020). Starch treatment with deep eutectic solvents, ionic liquids and glycerol. A comparative study. *Carbohydrate Polymers*, 229, 115574.
- Zdanowicz, M., Wilpiszewska, K. & Spychaj, T. (2018) Deep eutectic solvents for polysaccharides processing. A review. *Carbohydrate Polymers*, 200, 361-380.

Highlights

- NADES of choline chloride (ChCl) and citric acid (CA) was used as green plasticizer
- Coatings with NADES were effective in extend functional quality of 'Palmer' mango
- Total phenolic, ascorbic acid and antioxidant activity were influenced by NADES
- Coatings with 1.25% NADES promote increase of carotenoids and free amino acids
- Coatings with 1.25%NADES led to highest levels of functional FAA as trp and tyr



4.4 PATENTE

PLASTIFICANTE EM SOLUÇÕES FILMOGÊNICAS DE AMIDO DE INHAME PARA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, PROCESSO E PRODUTO

Primeira página da patente em processo de submissão na Agência UFPB de Inovação Tecnológica (INOVA-UFPB) - Núcleo de Inovação Tecnológica (NIT) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Natureza Patente: Patente de Invenção (PI)

Título da invenção: Processo e produto de Natural Deep Eutectic Solvent – NADES de cloreto de colina e ácido cítrico como plastificante em soluções filmogênicas de amido de inhame para conservação pós-colheita de frutas

Resumo: A presente invenção tem aplicação na área de química verde e tecnologia pós-colheita de frutos frescos e refere-se ao desenvolvimento de um natural deep eutectic solvents – NADES de cloreto de colina e ácido cítrico para uso como plastificante em solução filmogênicas de amido de inhame para uso como recobrimento biodegradável para conservação da qualidade pós-colheita de frutos, como uma alternativa sustentável visando a substituição total ou parcial do glicerol, que é um plastificante tradicional para este tipo de formulação mas pode aumentar a permeabilidade ao oxigênio ou provocar retrogradação do amido inviabilizando a função de recobrir o fruto com redução da taxa metabólica. O NADES, compreendido do ratio molar entre 3:1 – 1:3 entre cloreto colina e ácido cítrico, é adicionado (0,5 – 2,0% (v/v)) à dispersão filmogênica de amido de inhame a 2,0 – 3,0% (peso / volume) podendo ter adição de glicerol (0,0 – 1,0% v/v) resultando numa dispersão plastificada com NADES pronta para aplicação em frutos que se dá pela imersão destes (30 – 60 segundos) na solução filmogênica (20 – 30 °C), seguida da secagem espontânea a 25 °C.

Classificações: A23B7/16 Coating with a protective layer; Compositions or apparatus therefor; B65D65/463 Edible packaging materials; C08J2403/02 Starch; Degradation products thereof, e.g. dextrin; B01J20/24 Naturally occurring macromolecular compounds, e.g. humic acids or their derivatives;

Campo da Invenção

[001] A presente invenção dispõe sobre a elaboração de um NADES de cloreto de colina e ácido cítrico e sua incorporação como plastificante em soluções filmogênicas biodegradáveis à base de amido de inhame (*Dioscorea sp*) destinadas a recobrir frutos e aumentar assim seu período de conservação na pós-colheita. Além disso, as soluções plastificadas por este NADES com ou sem glicerol, aqui propostas são adequadas para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis.

5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

No primeiro experimento deste trabalho se apresenta uma caracterização inédita do perfil de fitoquímicos e metabólitos de mangas regionais do Nordeste do Brasil identificando suas peculiaridades em termos de perfil de carotenoides, aminoácidos livres e peptídeos, aqui reportados pela primeira vez em mangas, em comparação com outras variedades comerciais.

As ferramentas de análise de componentes principais e agrupamentos permitiram uma discriminação poderosa dos parâmetros avaliados por distinguirem facilmente as mangas regionais das comerciais. Destacou-se especialmente a variedade 'Rosa' dado seu conteúdo de carotenoides, principalmente β -caroteno e zeaxantina e pelo seu perfil de peptídeos

A variedade 'Cunha' se sobressaiu pelo teor de violaxantina mostrando vantagem, em termos de disponibilidade de carotenóides para variedades regionais, acima das linhas comerciais, especialmente 'Tommy Atkins', a mais comercializada.

Quanto ao perfil das FAAs, o conteúdo dos precursores de aroma alanina, valina, leucina e isoleucina, bem como a fenilalanina, precursora de importantes compostos fitoquímicos, foram importantes para a diferenciação de variedades regionais e sua separação das comerciais.

Com base nos perfis de peptídeos observados, sugerem-se novas pesquisas com foco na identificação de quais estão presentes e suas possíveis atividades biológicas, principalmente nas mangas 'Rosa', 'Cunha' e 'Jasmim'.

Foi possível constatar o potencial dos perfis de compostos avaliados como marcadores de qualidade adequados para a autenticidade das variedades regionais e, portanto, podem ser usados como marcadores para indicação geográfica, agregando valor à produção regional de manga.

O segundo experimento, por sua vez, trouxe uma abordagem verde e inovadora para a conservação pós-colheita da manga destinada à exportação, ao testar um novo uso eficiente para um natural deep eutectic solvents – NADES. Pela primeira vez testou-se a incorporação de um NADES em solução filmogênicas de amido de inhame, uma fonte subexplorada mas com amplo potencial para o desenvolvimento de filmes e recobrimentos biodegradáveis.

Os resultados deste estudo sugeriram que, entre as diferentes formulações de amido de inhame, plastificadas com NADES de cloreto de colina e ácido cítrico ou glicerol, houve um

certo nível em que a interação entre os dois plastificantes e a matriz polimérica, afetou as características estruturais dos filmes

A formulação plastificada apenas com NADES não diferiu estatisticamente das formulações mais flexíveis e elásticas, sendo diferente da mais rígida, provando que o uso de NADES de cloreto de colina para plastificar soluções filmogênicas de amido de inhame é completamente possível e resulta em propriedades adequadas para produção de filmes e aplicação como recobrimentos

A aplicação dos recobrimentos de amido de inhame plastificadas com diferentes proporções de NADES e glicerol foi eficaz como tratamento pós-colheita de mangas ‘Palmer’, retardando o metabolismo destes frutos conferindo maior manutenção da qualidade físico-química e sensorial em relação ao grupo controle, sem recobrimento. Destacaram-se as formulações 1.78NADES+0.15G, 1.25NADES+0.5G e 1.25NADES pelas menores taxas respiratórias e de perda de massa, maior preservação da firmeza e da cor na casca, bem como pelo retardo no acúmulo de sólidos solúveis e no aumento da relação entre sólidos solúveis e acidez titulável. As mangas sob 1.25NADES e 1.25DES ainda se diferenciaram por apresentarem maior intensificação da cor da polpa e por receberem as melhores avaliações sensoriais, com superfícies mais brilhantes que levaram a maior intenção de compra durante todo o armazenamento, tendo ainda mantido os níveis mais elevados de ácido ascórbico.

Por sua vez, mangas com 0,72NADES + 0,85G e 1,78NADES + 0,15G apresentaram maior retenção de compostos fenólicos, seguidas pelas formulações 1,25NADES e 1,25NADES + 0,5G. As mangas recobertas também tiveram maior manutenção da atividade antioxidante pelos ensaios ABTS e DPPH.

Mangas recobertas com 1,25NADES e 1,25NADES + 0,5G promoveram os níveis mais altos de β -caroteno, violaxantina e zeaxantina, bem como total de aminoácidos livres mas alto, indicando que essa porcentagem de NADES (1,25%) confere ao recobrimento uma estrutura favorável, o que mantém o aumento do teor de carotenoides, impedindo sua oxidação. Portanto, estudos mais aprofundados devem se concentrar na investigação dos efeitos reais do ácido cítrico / ChCl NADES no metabolismo de frutas recobertas por formulações contendo este solvente eutético natural.