

PEDRO AUGUSTO VIEIRA DE FREITAS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE EMBALAGENS
INTELIGENTES INCORPORADAS COM EXTRATO DE REPOLHO ROXO
PARA INDICAÇÃO COLORIMÉTRICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

F866d
2018

Freitas, Pedro Augusto Vieira de, 1993-

Desenvolvimento e caracterização de embalagens
inteligentes incorporadas com extrato de repolho roxo para
indicação colorimétrica / Pedro Augusto Vieira de Freitas. –
Viçosa, MG, 2018.

x, 53 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Nilda de Fátima Ferreira Soares.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Alimentos - Embalagens. 2. Embalagens. 3. Acetato de
celulose. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 664.09

PEDRO AUGUSTO VIEIRA DE FREITAS

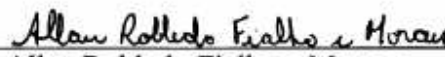
**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE EMBALAGENS
INTELIGENTES INCORPORADAS COM EXTRATO DE REPOLHO ROXO
PARA INDICAÇÃO COLORIMÉTRICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

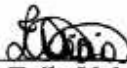
APROVADA: 13 de julho de 2018,



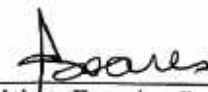
Ana Clarissa dos Santos Pires
(Coorientadora)



Allan Robledo Fialho e Moraes
(Coorientador)



Taíla Veloso de Oliveira



Nilda de Fátima Ferreira Soares
(Orientadora)

“Sem sonhos, as perdas se tornam insuportáveis, as pedras do caminho se tornam montanhas, os fracassos se transformam em golpes fatais.

Mas, se você tiver grandes sonhos...

Seus erros produzirão crescimento, seus desafios produzirão oportunidades, seus medos produzirão coragem.

Nunca desista dos seus sonhos. ”

Augusto Cury

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha mãe, meu maior exemplo e inspiração por tudo que passou por mim, Flávia e Phillipe. Mãe, tudo que sou, que fiz, que faço e que ainda quero fazer é por você!

Aos meus irmãos, Flávia e Vitor, que também são a minha fonte de força para seguir em frente e enfrentar todas as batalhas, que enfrentamos e enfrentaremos sempre unidos.

Aos meus maravilhosos avós, Benedito e Isabel. Os senhores são exemplos de seres humanos que um dia quero me tornar.

Aos meus tios Ronilson e Célia e à minha prima Julinha. Vocês sempre estiveram perto de nós, seja nos momentos mais difíceis como nos mais felizes. Vocês também fazem parte disso!

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de desenvolvimento como pessoa e aluno.

Ao Laboratório de Embalagens, às pessoas que conheci ali, pela amizade e suporte que todos me deram durante minha caminhada.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos, imprescindível para a realização dos trabalhos ao longo dos dois anos.

À Professora Nilda, pela inspiração e orientação nos trabalhos desde a graduação.

Ao Professor Eber, por ter me dado a oportunidade de entrar no Labem e ter mostrado meu trabalho. Muito obrigado, Eber.

Aos meus coorientadores Ana Clarissa e Allan pela grande ajuda no nosso trabalho. Vocês dois são exemplos de profissionalismo e dedicação que levarei sempre comigo.

Aos meus amigos e colegas de trabalho Rafael e Nelson. Sem vocês, não estaria aqui hoje cumprindo esta etapa. Agradeço a vocês por todo apoio e dedicação na minha/nossa pesquisa!

À minha grande amiga Raquel pelo companheirismo, amizade, alegria e por ter se dedicado e agregado tanto no meu/nosso trabalho. Você é uma pessoa sensacional e desejo que você cresça cada vez mais como pesquisadora!

Aos meus amigos de graduação, em especial ao Vinícius, Marciano, Cego e Iago, pela amizade de sempre e vários momentos alegres vividos em Viçosa. Vocês também fazem parte disso, meus amigos!!

Aos meus colegas e amigos do Labem Miriane, Taila, José, Alane, Vânia, Michele, Adassa, Laís e Fernando pelas conversas e alegrias de todos os dias de convívio.

Enfim, a todos que contribuíram para que eu cumprisse esta etapa maravilhosa, desafiadora e agregadora em minha vida. Essa vitória é de todos vocês!!!!!!

BIOGRAFIA

PEDRO AUGUSTO VIEIRA DE FREITAS, filho de Maria do Carmo Vieira, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 15 de março de 1993.

Em março de 2011, iniciou o curso de Engenharia de Alimentos, pela Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em julho de 2016.

Em agosto de 2016, ingressou no Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, concluindo-o em julho de 2018.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
FILMES INTELIGENTES À BASE DE ACETATO DE CELULOSE INCORPORADOS COM EXTRATO DE REPOLHO ROXO PARA INDICAÇÃO COLORIMÉTRICA	6
RESUMO	6
1. Introdução	7
2. Material e Métodos	8
2.1 Material	8
2.2 Obtenção do extrato.....	8
2.3 Espectro UV-vis do AERC.....	9
2.4 Preparo dos filmes inteligentes.....	9
2.5 Caracterização dos filmes.....	10
2.6 Análise estatística	12
3. Resultados e discussão	13
3.1 Espectro UV-vis do AERC.....	13
3.2 Cor e transmitância de luz dos filmes	14
3.3 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR).....	16
3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	18
3.5 Análise termogravimétrica (TGA)	19
3.6 Permeabilidade ao vapor d'água (PVA).....	20
3.7 Sensibilidade a ácido volátil.....	22
4. Conclusão.....	24
5. Referências Bibliográficas	25
FILMES INTELIGENTES À BASE DE ACETATO DE CELULOSE ADICIONADOS DE EXTRATO DE REPOLHO ROXO PARA DETECÇÃO VISUAL DE BASES VOLÁTEIS	29
RESUMO	29
1. Introdução	30
2. Material e Métodos	31

2.1 Material	31
2.2 Obtenção do extrato.....	32
2.3 Preparo dos filmes inteligentes.....	32
2.4 Caracterização dos filmes.....	33
2.5 Análise estatística	35
3. Resultados e discussão	35
3.1 Espessura e propriedades mecânicas	35
3.2 Microscopia de força atômica (AFM)	37
3.3 Permeabilidade ao oxigênio (PO ₂)	39
3.4 Sensibilidade à amônia	41
3.5 Mudança colorimétrica em diferentes valores de pH.....	43
3.6 Estabilidade de cor e potencial de aplicação dos filmes inteligentes	45
4. Conclusão.....	48
5. Referências Bibliográficas	49
CONSIDERAÇÕES FINAIS	53

RESUMO

FREITAS, Pedro Augusto Vieira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2018. **Desenvolvimento e caracterização de embalagens inteligentes incorporadas com extrato de repolho roxo para indicação colorimétrica.** Orientadora: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Coorientadores: Ana Clarissa dos Santos Pires e Allan Robledo Fialho e Moraes.

Monitorar e informar os constantes processos de alterações físico-químicas, enzimáticas e microbiológicas dos alimentos durante o armazenamento é de grande interesse por parte das indústrias que visam atender as demandas por produtos seguros e de qualidade. Considerando biodegradabilidade, simplicidade, sensibilidade e baixo custo de produção, extratos de antocianinas incorporados em matrizes poliméricas são considerados uma excelente alternativa para a monitoramento da qualidade dos alimentos durante a produção e estocagem. Nesse contexto, o objetivo com este trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes à base de acetato de celulose (AC) incorporados com plastificante trietil citrato (TEC) e extrato de antocianinas do repolho roxo (AERC) visando a identificação visual de variações de pH. Na primeira parte, o extrato obtido foi avaliado quanto ao potencial de mudança de cor em função de diferentes valores de pH do meio. Os filmes desenvolvidos foram caracterizados quanto às propriedades de cor, de barreira à luz e ao vapor d'água, propriedades moleculares, microscópicas, térmicas e de transição colorimétrica na presença de ácido acético volátil. Os filmes com adição de AERC apresentaram variações na cor, na intensidade da cor, menor estabilidade térmica, maior barreira ao vapor d'água e formaram estruturas dispersas em formato de esferas micrométricas na matriz polimérica. Além disso, os filmes foram excelentes dispositivos para detecção de ácido volátil. Na segunda parte, os filmes incorporados de AERC foram caracterizados quanto à espessura, às propriedades mecânicas, características microtopográficas, barreira ao oxigênio, mudança de cor na presença de amônia volátil e em diferentes valores de pH, além de terem sido avaliados em relação à estabilidade de cor dos filmes ao longo de 30 dias de estocagem, com e sem incidência de luz LED. O AERC adicionado à matriz de AC promoveu aumento da espessura e efeito plastificante nos filmes, além de ter causado maior permeabilidade ao oxigênio e maior rugosidade dos filmes. Os filmes não apresentaram boas propriedades de mudança colorimétrica em soluções contendo diferentes valores de pH, porém foram capazes de detectar amônia volátil. Além disso, o tempo e a incidência de luz influenciaram na estabilidade da cor

dos filmes, sendo possível prever tanto o potencial de aplicação dos filmes desenvolvidos após 30 dias, bem como a transmissão de informações confiáveis a respeito da qualidade e segurança durante o armazenamento de alguns tipos de alimentos.

ABSTRACT

FREITAS, Pedro Augusto Vieira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2018. **Development and characterization of intelligent packages incorporated with extract from red cabbage for colorimetric indication.** Adviser: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Co-advisers: Ana Clarissa dos Santos Pires and Allan Robledo Fialho e Moraes.

Physico-chemical, enzymatic and microbiologic changes can occur during food storage. These changes monitoring can serve food industries to ensure the supply of safe and quality products. Monitoring systems should consider important characteristics such as biodegradability, simplicity, sensitivity and low cost. Intelligent devices can be developed by anthocyanins extract incorporation into polymer matrix for food quality control. Therefore, in this context, the objective of this work was to develop and characterize films of cellulose acetate incorporated with triethyl citrate as plasticizer and anthocyanins extract from red cabbage (AERC) for visual identification under different pH values. Firstly, the extract was evaluated for color change potential in different pH values. Color properties; light barrier; water vapor barrier; molecular, microscopic and thermal properties and color change of the films under volatile acid presence were characterized. The films incorporated with AERC undergo color variations, color intensity changes, thermal stability reduction, and water vapor barrier were enhancement. By microscopic characterization, microspheres dispersed into polymer matrix were observed. Beside the properties mentioned, the films were excellent devices to detect volatile acid. In next step, the thickness, the mechanical properties, microtopographic features, oxygen barrier, color change under volatile base presence and under different pHs were evaluated. The color stabilities of the AERC films were also evaluated during 30 days of storage, in the presence or absence of light. The addition of AERC in the polymer matrix promoted an enlargement in the thickness and caused a plasticizer effect in the films, besides trigger an increment an incremented in the rate of permeability to oxygen and roughness of the treatments. The films did not showed good colorimetric change properties in solutions containing different pH values, but they were able to detect volatile ammonia. In addition, the time and the lighting incidence influenced in the films color stability. Therefore, this intelligent device enable to be applied even after 30 days, of its production conveying reliable information about the quality and safety of food during the storage time.

INTRODUÇÃO GERAL

A produção e comercialização de alimentos seguros e de qualidade são de grande interesse por parte da indústria e dos comerciantes que visam atender às crescentes demandas dos consumidores (Yam *et al.*, 2005). Estes, por sua vez, buscam cada vez mais por alimentos que possuam características de conveniência, propriedades nutritivas, de inocuidade e de frescor. Dessa forma, as embalagens de alimentos têm grande influência no emprego da correta manipulação e transporte desses produtos durante toda sua cadeia produtiva (Lagaron *et al.*, 2005; Dainelli *et al.*, 2008; Jorge, 2013). Além das funções tradicionais, aliado às exigências dos consumidores, o desenvolvimento de embalagens que interagem e informam as condições do alimento em tempo real tem atraído a atenção dos pesquisadores em todo o mundo.

Estas embalagens que apresentam a capacidade de detectar e comunicar as condições em que o alimento se encontra em tempo real são denominadas embalagens inteligentes (Yam *et al.*, 2005; Dainelli *et al.*, 2008). Existem vários dispositivos inteligentes que podem ser empregados em embalagens de alimentos, como por exemplo os indicadores de pH, indicadores de tempo-temperatura, indicadores de integridade de embalagens, biossensores, etc (Hogan e Kerry, 2008; Siro, 2012).

Existe um considerável aumento no consumo de artigos e embalagens plásticas de origem petroquímica, como o polietileno de baixa densidade (PEBD) e o polipropileno (PP) (Mahalik e Nambiar, 2010; Imre e Pukánszk, 2013). Esses materiais demoram muito tempo para se decomporem, gerando impactos negativos ao meio ambiente. Dessa forma, pesquisas têm sido desenvolvidas na área de embalagens de alimentos elaboradas com materiais biodegradáveis e provenientes de recursos renováveis de curta duração, como é o caso dos derivados de celulose (Laycock *et al.*, 2017). Estes materiais poliméricos oriundos da celulose passaram por processos químicos em sua estrutura, normalmente oxidação, formando ésteres e éteres de celulose (Gilbert, 2017). Estes polímeros estão sendo estudados e aplicados em diversos tipos de embalagens para alimentos, inclusive para embalagens inteligentes.

Uma vez definido o material para formar a base da embalagem, faz-se necessário a adição de dispositivos inteligentes capazes de monitorar em tempo real as condições dos alimentos. Um grupo de compostos que apresenta potencial para o desenvolvimento de embalagens inteligentes é o das antocianinas. As antocianinas são

compostos fenólicos que estão presentes em muitas as plantas terrestres (He e Giusti, 2010; Davies *et al.*, 2017). Sua função na planta é fornecer grande parte da pigmentação de flores, frutos e vegetais, sendo um atrativo visual para vários animais polinizadores de sementes. Além das várias possibilidades de aplicação das antocianinas em alimentos e bebidas, este grupo de compostos apresenta a propriedade de serem sensíveis ao pH e mudam de cor de forma reversível dependendo das concentrações de espécies ácidas ou básicas presentes no sistema (Davies *et al.*, 2017).

Aliado ao fato de que alguns alimentos podem sofrer processos bioquímicos e microbiológicos que alteram o seu pH, a propriedade de mudança de cor torna as antocianinas potenciais indicadores colorimétricos para desenvolvimento de embalagens inteligentes, monitorando e informando ao consumidor as condições em que os alimentos se encontram durante o tempo de armazenamento. Estudos aplicando extratos de antocianinas de diferentes origens vegetais em matrizes poliméricas estão sendo desenvolvidos como potenciais dispositivos inteligentes (Silva-Pereira *et al.*, 2015; Choi *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017; Prietto *et al.*, 2017; Luchese *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2018).

Wei *et al.* (2017) produziram filmes à base de goma gelana incorporados com batata doce roxa (*Ipomoea batatas* L.) em pó. Aliado ao fato das embalagens desenvolvidas terem apresentado mudança colorimétrica visível quando em contato com soluções de diferentes pH, os pesquisadores detectaram que os filmes apresentaram consideráveis propriedades antioxidantes. Além disso, os dispositivos foram eficientes na transição colorimétrica devido alterações de pH causada por compostos básicos voláteis produzidos por *Escherichia coli* quando este micro-organismo metabolizava proteínas *in vitro*.

Pourjavaher *et al.* (2017) elaboraram um filme a base de nanofibras de celulose de origem bacteriana incorporado com extrato de repolho roxo (*Brassica oleraceae* L. var. *Capitata f. rubra*) para ser utilizado como um dispositivo inteligente indicador de pH. Além de determinar o efeito da incorporação do extrato de repolho nas propriedades térmicas, mecânicas, microscópicas, estruturais e de interação com matriz polimérica, o indicador desenvolvido foi eficiente na detecção de variações de pH *in vitro*, apresentando potencial de aplicação em monitorar as condições de conservação de alimentos ao longo do seu armazenamento.

Ma *et al.* (2018) desenvolveram filmes à base de uma blenda composta de poli(vinil álcool) (PVOH) e nanopartículas de quitosana incorporados com extrato de

amora visando a detecção de variações de pH em soluções e alimentos. Além dos filmes adicionados de extrato de amora terem apresentado maior resistência comparado ao filme controle, estes foram capazes de detectar alterações de pH em amostras de peixe durante o armazenamento.

É fato que as antocianinas apresentam excelente potencial para agirem como dispositivos inteligentes em alimentos. Porém, estas moléculas apresentam algumas limitações devido à sensibilidade a fatores intrínsecos ao meio como pH, luz, metais, sulfito (Markakis, 1982; Francis, 1989). Com isso, estudos devem ser realizados buscando identificar a real estabilidade de filmes incorporados com extratos de antocianinas, para que, estes sejam capazes de fornecer informações confiáveis e corretas a respeito da qualidade e segurança dos alimentos.

Nesse contexto, objetivou-se com este trabalho desenvolver e caracterizar embalagens inteligentes à base de acetato de celulose incorporadas com extrato de repolho roxo para indicação colorimétrica de pH.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Choi, I.; Lee, J. Y.; Lacroix, M.; Han, J. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. **Food Chemistry**, v. 218, p. 122-128, 2017.
- Dainelli, D.; Gontard, N.; Spyropoulos, D.; Beuken E. Z.; Tobback, P. Active and inteligente food packaging: legal aspects and safety concerns. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p. 103-112, 2008.
- Davies, K. M.; Schwinn, K. E.; Gould, K. S. Anthocyanins. **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**, v. 2, p. 355-363, 2017.
- Francis, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v. 28, p. 273-314, 1989.
- Gilbert, M. Cellulose Plastics. In: GILBERT, M (Ed). **Brydson's plastics materials**. 8ª ed. UK and US: Butterworth-Heinemann, 2017.
- He, J.; Giusti, M. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, p. 163-187, 2010.
- Hogan, S. A.; Kerry, J. Smart packaging of meat and poultry products. In: J. Kerry; P. Butler (Eds.). **Smart packaging technologies for fast moving consumer goods**. England: John Wiley & Sons Ltd, 2008. p. 33.
- Imre, B.; Pukánszky, B. Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. **European Polymer Journal**, v. 49, p. 1215-1233, 2013.
- Jorge, N. **Embalagens para alimentos**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2013. 194 p.
- Lagaron, J. M.; Cabedo, L.; Cava, D.; Feijoo, J. L.; Gavara, R.; Gimenez, E. Improving packaged food quality and safety part 2: nanocomposites. **Food Additives and Contaminants**, v. 22, p. 994-998, 2005.
- Laycock, B.; Nikolic, M.; Colwell, J. M.; Gauthier, E.; Halley, P.; Bottle, S.; George, G. Lifetime prediction of biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 71, p. 144-189, 2017.
- Liu, B.; Xu, H.; Zhao, H.; Liu, W.; Zhao, L.; Li, Y. Preparation and characterization of intelligent starch/PVA films for simultaneous colorimetric indication and antimicrobial activity for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 842-849, 2017.
- Luchese, C. L.; Frick, J. M.; Patzer, V. L.; Spada, J. C.; Tessaro, I. C. Synthesis and characterization of biofilms using native and modified *pinhão* starch. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 203-210, 2015.

Ma, Q.; Liang, T.; Cao, L.; Wang, L. Intelligent poly (vinyl alcohol)-chitosan nanoparticles-mulberry extracts films capable of monitoring pH variations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 576-584, 2018.

Mahalik, N. P.; Nambiar, A. N. Trends in food packaging and manufacturing systems and technology. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 117-128, 2010.

Markakis, P. **Stability of anthocyanins in food**. In: P. Markakis (Ed.), Anthocyanins as food colors (pp. 163–180). London, UK: Academic Press Inc. 1982.

Pourjavaher, S.; Almasi, H.; Meshkini, S.; Pirs, S.; Parandi, E. Development of a colorimetric pH indicator based on bacterial cellulose nanofibers and red cabbage (*Brassica oleraceae*) extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 193-201, 2017.

Prietto, L.; Mirapalhete, T. C.; Pinto, V. Z.; Hoffmann, J. F.; Vanier, N. L.; Lim, L.; Dias, A. R. G.; Zavareze, E. R. pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. **LWT – Food Science and Technology**, v. 80, p. 492-500, 2017.

Silva-Pereira, M. C., Teixeira, J. A., Pereira-Junior, V. A., & Stefani, R. Chitosan/corn starch blend films with extract from *Brassica oleraceae* (red cabbage) as a visual indicator of fish deterioration. **LWT-Food Science and Technology**, v. 61, p. 258–262, 2015.

Siro, I. Active and intelligent packaging of food. In: Bhat, R.; Alias, A. K.; Paliyath, G. (Eds). **Progress in food preservation**. New York: John Wiley and Sons Inc, 2012. p. 23-48.

Wei, Y.; Cheng, C.; Ho, Y.; Tsai, M.; Mi, F. Active gellan gum/purple sweet potato composite films capable of monitoring pH variations. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 491-502, 2017.

Yam K. L.; Takhistov P.T; Miltz J. Intelligent Packaging: Concepts and Applications. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, p. 1-10, 2005.

CAPÍTULO 1

FILMES INTELIGENTES À BASE DE ACETATO DE CELULOSE INCORPORADOS COM EXTRATO DE REPOLHO ROXO PARA INDICAÇÃO COLORIMÉTRICA

RESUMO

O acompanhamento da degradação de alimentos durante o armazenamento e que pode ser caracterizada pela variação do pH inicial é de grande importância para atender a crescente demanda dos consumidores por produtos de qualidade e seguros. Nesse contexto, foram desenvolvidos filmes à base de acetato de celulose (AC) incorporados com extrato de antocianinas do repolho roxo (AERC) para indicação colorimétrica de pH. O AERC foi caracterizado quanto ao espectro de absorção em diferentes valores de pH (1-12). Os filmes foram produzidos por *casting* na proporção AC e acetona de 1:10 (m/v), adicionados de 15% (m/m) de trietil citrato (TEC) e quatro diferentes concentrações de AERC, juntamente com o controle. Os tratamentos foram analisados quanto às propriedades de cor, de barreira à luz e ao vapor d'água, propriedades moleculares, microscópicas, térmicas e de transição colorimétrica na presença de ácido volátil. O AERC apresentou variações de cor quando em contato com soluções de diferentes valores de pH. Os filmes inteligentes exibiram alterações de cor, na intensidade da cor, além de terem sido excelentes barreira à luz. Por espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR), inferiu-se que o AERC foi imobilizado fisicamente na matriz polimérica, sendo possível relacionar tal resultado com o aparecimento de pequenas esferas micrométricas de AERC na matriz polimérica visualizadas por microscopia eletrônica de varredura. Por análise termogravimétrica, detectou-se que os filmes apresentaram menor estabilidade térmica quando adicionados de AERC, em contraponto à menor permeabilidade ao vapor de água. Além disso, os filmes com maiores concentrações de AERC apresentaram melhores transições colorimétricas ao ácido acético volátil, apresentando possibilidade de aplicação desses dispositivos como sensores em embalagens inteligentes de alimentos.

1. Introdução

Além das funções tradicionais, embalagens de alimentos vêm sendo estudadas e desenvolvidas com o propósito de interagir intencionalmente e, ou, identificar e informar em tempo real as condições que o alimento se encontra (Dainelli *et al.*, 2008; Sung *et al.*, 2013). Estas embalagens são conhecidas como ativas e inteligentes, respectivamente. As embalagens que são ou que contêm dispositivos inteligentes fornecem aos consumidores informações corretas e confiáveis sobre as condições dos alimentos, da integridade da embalagem e do ambiente em que o alimento está acondicionado (Vanderroost *et al.*, 2014).

Em função da elevada demanda de embalagens plásticas para uso em embalagens de alimentos e a preocupação com o impacto ambiental que os polímeros plásticos de origem petroquímica proporcionam ao meio ambiente, tem crescido o interesse em pesquisas e aplicações de embalagens biodegradáveis em vários setores (Imre e Pukánszk, 2013). Nesse contexto, um polímero com grande potencial de aplicação em embalagens é o acetato de celulose (AC). O AC apresenta algumas propriedades interessantes, como possibilidade de formar filmes, inodoro, não tóxico, biodegradável e possibilidade de dispersão em uma série de solventes como acetona (Yang, 1999).

Os alimentos, de forma geral, encontram-se em constantes processos de modificações de suas composições, seja por alterações físico-químicas, microbiológicas ou enzimáticas que influenciam diretamente a qualidade e segurança dos produtos alimentícios (Lagaron *et al.*, 2005). Em muitos alimentos, alterações de pH podem indicar que o mesmo se encontra em processo de alteração ou deterioração, seja quimicamente, enzimaticamente ou microbiologicamente (Silva-Pereira *et al.*, 2015). Dessa forma, substâncias capazes de detectar variações de pH podem ser adicionadas em matrizes poliméricas com o propósito desenvolvimento e aplicação de embalagens inteligentes.

Um grupo dessas substâncias que podem ser utilizadas como dispositivos inteligentes são as antocianinas. As antocianinas são compostos fenólicos classificados como flavonoides. Os flavonoides apresentam uma estrutura básica composta por três anéis carbônicos, em que o anel central é denominado de cátion flavílio (He e Giusti, 2010). Essas moléculas são sensíveis ao pH do meio e mudam de cor de forma reversível. Em outras palavras, a medida em que o pH da solução varia, as estruturas

moleculares das antocianinas absorvem a luz em comprimentos de ondas diferentes. Esse comportamento é explicado pela existência de quatro formas estruturais em equilíbrio na solução aquosa à medida que o pH se altera: o cátion flavílio (vermelho), a pseudobase carbinol (incolor), a base quinoidal (violeta a azul) e a chalcona (amarelo pálido/incolor) (Brouillard e Lang, 1990; Oliveira *et al.*, 2014).

Muitos estudos vêm sendo desenvolvidos pela aplicação de diversos tipos extratos em matrizes poliméricas. Esses extratos são oriundos de vegetais e frutas que possuem antocianinas em sua composição original (Silva-Pereira *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2017; Wei *et al.*, 2017; Choi *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2018). Já as matrizes poliméricas utilizadas são basicamente materiais com um caráter mais hidrofílico. Isso se deve à maior facilidade de incorporação dos extratos e consequente formação do filme. Vale ressaltar que existe poucos estudos que desenvolveram filmes com caráter mais hidrofóbico, como o AC, adicionados de extratos de antocianinas.

Correspondendo ao conceito de embalagens inteligentes, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de filmes à base de acetato de celulose incorporados com extrato de antocianinas do repolho roxo (AERC) para a indicação colorimétrica de pH.

2. Material e Métodos

2.1 Material

Repolho roxo (*Brassica oleraceae* L. var. *Capitata f. rubra*) foi obtido no comércio local da cidade de Viçosa (Minas Gerais, Brasil). AC (GS = 2,5; MM= 2.024.000 g.mol⁻¹) foi disponibilizado pela Rhodia Solvay Group (Santo André, SP, Brasil). Ácido clorídrico (HCl) foi obtido de SPLabor (São Paulo, Brasil). Hidróxido de sódio (NaOH) foi comprado de Synth (São Paulo, Brasil). Álcool etílico, cloreto de lítio (LiCl), ácido acético glacial, trietil citrato (TEC) e cloreto de sódio (NaCl) foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha).

2.2 Obtenção do AERC

A obtenção do extrato de antocianinas do repolho roxo (AERC) foi realizada de acordo com Pereira Jr *et al.* (2015), com modificações. Aproximadamente 150 g de

repolho roxo ralado foram macerados e misturados com 100 mL de solução de álcool etílico 70% (v/v). A suspensão foi adicionada de HCl ($1,0 \text{ mol.L}^{-1}$) até pH 2,0 e armazenada sob refrigeração à temperatura de $4 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h ao abrigo de luz. Decorrido o tempo, o sistema foi filtrado utilizando filtro de tecido e centrifugado a 484g (Sigma Laboratory Centrifuges, Modelo 4K15) por 10 min. O sobrenadante foi filtrado a vácuo utilizando filtro de papel quantitativo (Unifil, Ø 11), neutralizado a pH 7,0 com NaOH ($2,5 \text{ mols.L}^{-1}$) e armazenado sob congelamento a temperatura de $-18 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.3 Espectro UV-vis do AERC

O espectro UV-vis do AERC submetido a diferentes valores de pH (1-12) foi realizado em espectrofotômetro UV-vis (Shimadzu, Japão, modelo UV 1800) entre comprimentos de onda de 200 a 800 nm. A diluição do extrato utilizada foi de 1% (v/v).

2.4 Preparo dos filmes inteligentes

Uma proporção de AC e acetona de 1:10 (m/v) foi adicionada de 15% (m/m) de plastificante TEC, vedada e mantida em repouso durante 24 h. Decorrido o tempo, a dispersão foi adicionada de quatro diferentes quantidades de AERC (Tabela 1) contendo uma concentração de antocianinas de $0,35 \pm 0,05 \text{ mg.mL}^{-1}$ (previamente determinada em espectrofotômetro). Após a homogeneização e repouso de 20 min, a dispersão polimérica foi vertida em placas de vidro ($25 \times 10 \text{ cm}^2$) e a evaporação do solvente foi realizada em temperatura ambiente com circulação forçada de ar durante 30 min. Os filmes foram armazenados sob vácuo em embalagens de polietileno/nylon até o momento da sua utilização.

Tabela 1. Tratamentos avaliados (proporção AC e acetona de 1:10).

Tratamento	Massa de TEC (g)	Volume de AERC (mL)
TRAc-0	0,15	0,0
TRAc-1	0,15	0,2
TRAc-2	0,15	0,6
TRAc-3	0,15	1,0
TRAc-4	0,15	1,5

2.5 Caracterização dos filmes

2.5.1. Cor e transmitância de luz dos filmes

As propriedades cromáticas dos filmes foram avaliadas pela mensuração dos parâmetros de cor L^* (luminosidade, que varia do preto ao branco), a^* (cromaticidade que vai do verde ao vermelho) e b^* (cromaticidade do azul ao amarelo) em colorímetro Colorquest® XE (HunterLab, USA). O C^* (índice de saturação) e o h^* (ângulo de tonalidade) foram determinados pelas Equações 1 e 2, respectivamente. Além disso, espectros de transmitância dos filmes contendo AERC no intervalo de 200 a 800 nm foram obtidos pela leitura direta das amostras em espectrofotômetro UV/VIS (Shimadzu, Japão, modelo UV-1800).

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Equação 1}$$

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad \text{Equação 2}$$

2.5.2 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)

Os espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) dos filmes foram obtidos no equipamento FT-IR NICOLET 6700 (Thermo Scientific), com 32 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} , operando em amplitude de $4000\text{-}700 \text{ cm}^{-1}$.

2.5.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias dos filmes inteligentes foram obtidas por meio do Microscópio Eletrônico de Varredura (Modelo TM3000, Hitachi Hi-Tech). Amostras de cada filme com dimensões de $(0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2)$ foram fixadas em *stubs* recobertas com uma camada de carbono (20 a 30 nm) com auxílio de uma pinça (Camilloto *et al.*, 2009). A tensão de aceleração de elétrons foi usada no modo automático. A magnificação das imagens obtidas foi de 1200x.

2.5.4 Análise termogravimétrica (TGA)

A TGA dos filmes foi realizada em analisador térmico DTG (SHIMADZU, modelo 60H, Japão). Aproximadamente 4 mg de cada filme foram aquecidos em panelas de alumina de 30 °C a 900 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min⁻¹. A estabilidade térmica das amostras foi avaliada pelas curvas termogravimétricas (TG) e pela derivada da TG (DTG).

2.5.5 Permeabilidade ao vapor d'água (PVA)

A PVA dos filmes foi determinada gravimetricamente, de acordo com ASTM E96/E96M (ASTM, 2005), com modificações (Olivato *et al.*, 2012). Previamente à análise, as amostras foram armazenadas a 25 °C e 53% umidade relativa (UR) por 12 h. Os filmes foram cortados nos diâmetros de cápsulas circulares de parafina (Ø = 80 mm) e vedados com parafina líquida na junção filme/cápsula. O interior das cápsulas foi preenchido com solução saturada de LiCl (12% UR). Este sistema foi armazenado a 25 °C em dessecador contendo solução saturada de NaCl (75% UR), o que promoveu um gradiente de UR constante através do filme de 63%. As amostras foram pesadas a cada 3 h durante 72 h de teste. O ganho de massa (m) foi plotado em função do tempo (t) e a inclinação da curva foi calculada por meio de regressão linear (R²>0,999). A taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA) foi calculada pela Equação 3.

$$TPVA \text{ (g.m}^{-2}\text{h}^{-1}\text{)} = \left(\frac{m}{t}\right) \cdot \left(\frac{1}{A}\right) \quad \text{Equação 3}$$

Em que m/t corresponde ao coeficiente angular da curva e A (m²) corresponde a área de permeação da amostra de filme. Os valores da permeabilidade ao vapor d'água (PVA) dos filmes foram calculados de acordo com a Equação 4.

$$PVA \text{ (g.Pa}^{-1}\text{s}^{-1}\text{m}^{-1}\text{)} = \frac{TPVA \cdot st}{sp.(RH_1 - RH_2)} \quad \text{Equação 4}$$

Em que s_t é a média da espessura da amostra (m), s_p é a pressão de saturação do vapor da água a 25 °C (Pa), RH_1 é a UR do dessecador e RH_2 é a UR do interior da cápsula.

2.5.6 Sensibilidade a ácido volátil

A resposta colorimétrica dos filmes na presença de ácido volátil foi determinada de acordo com Ma *et al.*, (2017), com modificações (Figura 1). Os filmes contendo AERC e o filme controle foram condicionados por 12 h a 25 °C e 53% de UR. Após esse tempo, as amostras (6 x 6 cm²) foram depositadas em placas de Petri e este sistema inserido em dessecador. Um béquer contendo 5 mL de solução de ácido acético foi depositado no interior do dessecador e nos tempos de 0, 2, 5, 8, 11, 15, 20, 25 min foram determinados os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* . Além disso, considerando L_0^* , a_0^* e b_0^* como os parâmetros colorimétricos dos filmes no tempo inicial, foi determinada a Diferença Total de Cor (ΔE^*) pela Equação 5 (Hunt, 1991).

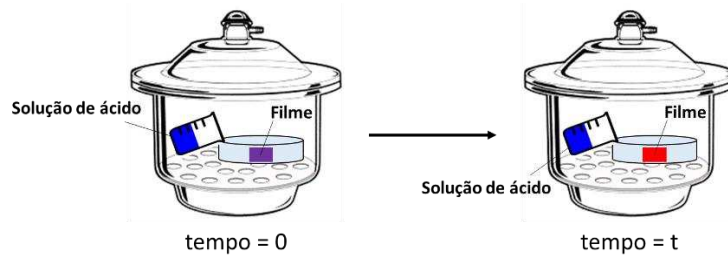


Figura 1. Esquema para avaliação da sensibilidade colorimétrica dos filmes a ácido volátil.

$$\Delta E^* = \sqrt{[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]} \quad \text{Equação 5}$$

Em que:

$$\Delta L^* = (L^* - L_0^*); \Delta a^* = (a^* - a_0^*); \Delta b^* = (b^* - b_0^*).$$

2.6 Análise estatística

Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e, para cada resposta, foi ajustada uma equação de regressão (com significância de 5% de probabilidade) quando possível, levando em consideração os fatores avaliados. Todas

as análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico Minitab, versão 17.

3. Resultados e discussão

3.1 Espectro UV-vis do AERC

Buscando investigar a possibilidade de utilização do AERC como dispositivo que detecta variações de pH do meio, o extrato foi colocado em soluções contendo diferentes valores de pH (Figura 2). Foi observado a olho nu que o AERC apresentou coloração vermelha em pH de 1,0 e 2,0 e alterou a cor para rosa em pH 3,0, para violeta em pH de 4,0 a 6,0, para azul em pH de 7,0 e 8,0, para verde em pH de 9,0 a 11,0 e para amarelo em pH 12,0.

Considerando a luz visível (350 a 750 nm), o pico de absorção máxima sofre um efeito batocrômico com o aumento de pH (Figura 2). O pico de absorção altera de 523 nm em pH 1,0 e 2,0 para valores maiores até alcançar o comprimento de onda 610 nm em pH 9,0, 10,0 e 11,0, o que corresponde a cor verde (Tewari e Vishnoi, 2009). Vale ressaltar que em pH 12,0 a intensidade do pico a 610 nm diminui com um aumento da intensidade no comprimento de onda de absorção máxima em 378 nm, característico da cor amarelo. Comportamentos semelhantes de extratos contendo antocianinas foram reportados por outros autores (Cuchinski *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2017; Wei *et al.*, 2017; Luchese *et al.*, 2017).

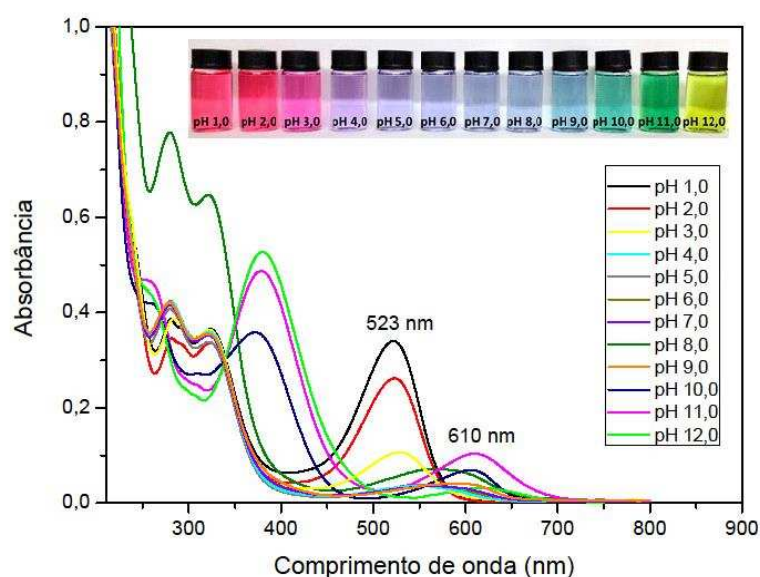


Figura 2. Espectro de absorbância do AERC em diferentes valores de pH e suas respectivas cores características em cada pH.

A mudança de cor das soluções está relacionada a alterações estruturais das antocianinas presentes no meio em função do pH (Brouillard e Lang, 1990; Oliveira *et al.*, 2014). No AERC, tais mudanças foram oriundas de um conjunto de antocianinas, principalmente pelas cianidinas-3,5-O-diglicosídeos, em que os açúcares presentes na estrutura podem estar monoacilados, diacilados ou nonacilados por ácidos orgânicos (Wiczowski *et al.*, 2013). Essas estruturas apresentam comportamento ácido-base e, à medida em que o pH varia, absorvem a radiação eletromagnética na região do visível e do ultravioleta de forma diferente com consequente mudança de cor.

Pelos resultados observados, o AERC apresentou potencial de aplicação em matrizes poliméricas para serem utilizados como dispositivos sensíveis ao pH em embalagens inteligentes.

3.2 Cor e transmitância de luz dos filmes

As coordenadas de cor dos filmes L^* , a^* , b^* , h^* e C^* foram determinadas e, um modelo estatístico foi ajustado, quando possível, para descrever cada uma das propriedades colorimétricas em função da adição de AERC (Tabela 2). A coordenada a^* aumentou linearmente ($p < 0,05$), enquanto as coordenadas h^* e C^* aumentaram e a coordenada b^* diminuiu de forma significativa e quadrática ($p < 0,05$). Tal resultado

indica a tendência dos filmes apresentarem cor do azul para o violeta, juntamente com aumento da intensidade da saturação da cor à medida que aumenta a concentração de AERC incorporado nos filmes. Em trabalhos feitos por Zhai *et al.* (2017), Pourjavaher *et al.* (2017) e Ma *et al.* (2018) também foi detectado o aumento da intensidade de cores em filmes de diferentes bases poliméricas biodegradáveis incorporados com extratos que continham antocianinas.

Tabela 2. Variação dos parâmetros colorimétricos L^* , a^* , b^* , C^* e h^* dos filmes de AC com a adição de diferentes volumes (v) de AERC.

Propriedade	Equação	Faj*	v**	v2**	R ²
L^*	$\hat{Y}_{L^*} = 34,65$	-	-	-	-
a^*	$\hat{Y}_{a^*} = 0,17 + 1,93v$	0,24	<0,01	-	0,96
b^*	$\hat{Y}_{b^*} = -1,31 - 3,99v + 1,17v^2$	0,22	<0,01	0,01	0,94
C^*	$\hat{Y}_{C^*} = 1,29 + 4,47v - 1,01v^2$	0,17	<0,01	0,02	0,95
h^*	$\hat{Y}_{h^*} = 277,99 + 28,14v - 7,77v^2$	0,52	<0,33	0,02	0,92

* - Valor-p para a falta de ajuste do modelo (não significativo para $p > 0,05$).

** - Coeficiente significativo pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

Além de influenciar na cor, a adição de AERC também interferiu na transmitância de luz pela matriz polimérica (Figura 3). Quanto maior é a concentração de AERC incorporado nos filmes, menor foi a quantidade de luz transmitida pelos filmes, principalmente para os tratamentos TRAc-2, TRAc-3 e TRAc-4, que apresentaram considerável diferença para os tratamentos TRAc-0 (controle) e o TRAc-1. Esse comportamento está relacionado com a distribuição do AERC entre as cadeias de polímeros e, quanto maior é a concentração de extrato, maior é a fração de luz absorvida ou refletida pela matriz polimérica. Ma e Wang (2016), que trabalharam com filme à base de goma tara incorporado com nanocelulose e extrato de casca de uva, e, Ma *et al.* (2018), que trabalharam com filmes de álcool polivinílico (PVOH) incorporados nanopartículas de quitosana e extrato de amora, reportaram resultados similares aos encontrados no presente estudo. Além disso, os autores afirmaram que apesar de maior transparência dos filmes ser desejável, um maior bloqueio de luz pode ser viável em produtos que necessitam ser protegidos de reações indesejáveis, como a foto-oxidação.

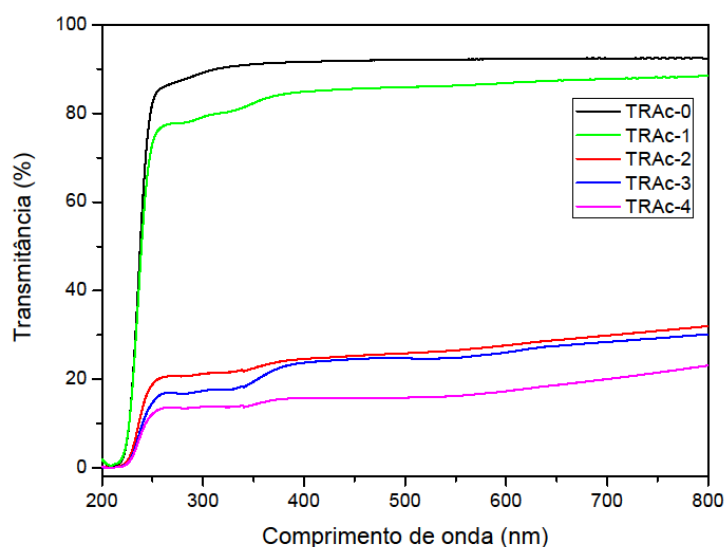


Figura 3. Espectro de transmitância da luz para os filmes TRAc-0, TRAc-1, TRAc-2, TRAc-3 e TRAc-4 com comprimento de onda variando de 200 a 800 nm.

3.3 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)

Os espectros FT-IR do AERC e dos filmes contendo diferentes concentrações de AERC são mostrados na Figura 4. O espectro do AERC (Figura 4, espectro a) apresentou uma banda em formato de sino com máximo em 3360 cm^{-1} , relacionada com as vibrações de estiramento do OH de álcoois e fenóis que participam de ligações de hidrogênio. Além disso, uma banda fina em 3000 cm^{-1} foi detectada, correspondendo ao estiramento da ligação C-H devido à deformação deste grupo funcional presente no anel aromático, sendo confirmado com a banda em 1030 cm^{-1} (Silva-Pereira *et al.*, 2015). A banda com máximo em 1640 cm^{-1} corresponde ao estiramento de ligações C=C presentes em anéis aromáticos, indicando a presença de compostos aromáticos no AERC. Segundo Pereira Jr *et al.* (2015), ruídos de bandas aparecendo entre 1300 e 1380 cm^{-1} pode ser indicativo de deformação angular de C-O presente em fenóis.

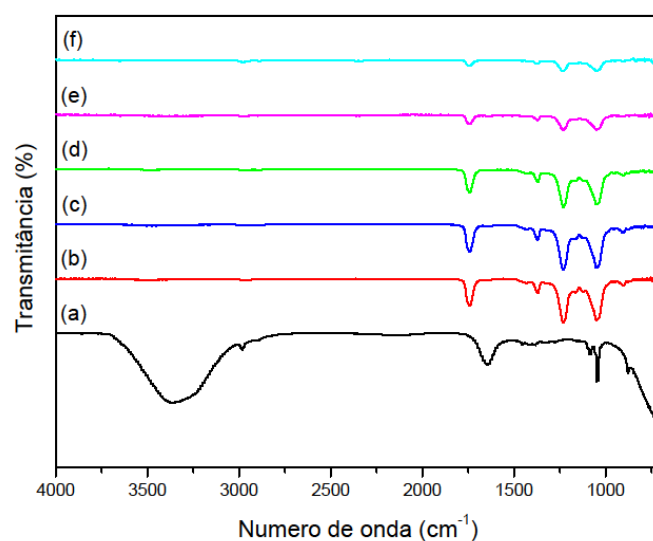


Figura 4. Espectros FT-IR do extrato de antocianinas do repolho roxo (AERC) (a) e dos filmes à base de AC contendo diferentes concentrações de AERC: TRAc-0 (b), TRAc-1 (c), TRAc-2 (d), TRAc-3 (e) e TRAc-4 (f).

A incorporação de AERC na matriz polimérica não influenciou a posição das bandas características do AC (Figura 4, espectros b, c, d, e, f). A banda com máximo em 1741 cm^{-1} corresponde a vibrações de estiramento de C=O presente na molécula de AC. As duas fortes bandas detectadas em 1230 cm^{-1} e 1049 cm^{-1} correspondem ao estiramento assimétrico e simétrico, respectivamente, das ligações C-O-C presentes na molécula de celulose e de acetato. O pico a 1371 cm^{-1} pode estar associado a deformação angular do CH_3 presente no radical acetato do polímero (Barbosa, 2008; Gopiraman *et al.*, 2013).

O não aparecimento de novas bandas com a incorporação do extrato pode ser devido à baixa concentração dos componentes do AERC presentes no filme, resultando em nenhum pico proeminente (Ma *et al.*, 2017). Além disso, todas as bandas características do AC diminuíram de intensidade para maiores concentrações de extrato. Isso pode ser explicado pela falta de homogeneidade dos filmes a medida em que a incorporação de extrato na matriz polimérica foi aumentada.

Pelos comportamentos dos espectros obtidos, pode-se inferir que o AERC foi incorporado fisicamente na matriz polimérica, o que provavelmente manteve o comportamento das mudanças colorimétricas similar ao AERC. A possível interação entre as antocianinas presentes no extrato com o polímero poderia interferir na sensibilidade da mudança colorimétrica (Pereira Jr *et al.*, 2015).

3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os filmes à base de AC contendo diferentes quantidades de AERC foram analisados por MEV (Figura 5). É possível observar em todos os tratamentos a presença de aglomerados de AC (apontados na Figura 5a), representados por pequenos agregados de diferentes formatos. Estes aglomerados indicam dispersão incompleta do polímero originados pelo método *casting*, sendo também encontrados em estudos como o de Rodríguez *et al.*, 2012.

Os filmes com diferentes concentrações de antocianinas apresentaram superfície microscopicamente heterogênea, com aumento considerável no número de pequenas esferas de diferentes tamanhos micrométricos à medida que a concentração de AERC aumentou (Figura 5b, c, d, e). A formação dessas partículas pode estar atribuída à baixa interação dos componentes, predominantemente hidrofílicos, presentes no AERC, com o polímero e o plastificante TEC. Tal proposição está de acordo com os resultados obtidos por espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR). Luchese *et al.* (2015) e Prietto *et al.*, 2017 (4) desenvolveram filmes à base de amido incorporados com extratos de antocianinas e observaram aumento na heterogeneidade na superfície dos filmes devido à baixa interação de seus componentes. Além disso, os autores reportaram que este resultado não influenciou na mudança colorimétrica dos filmes.

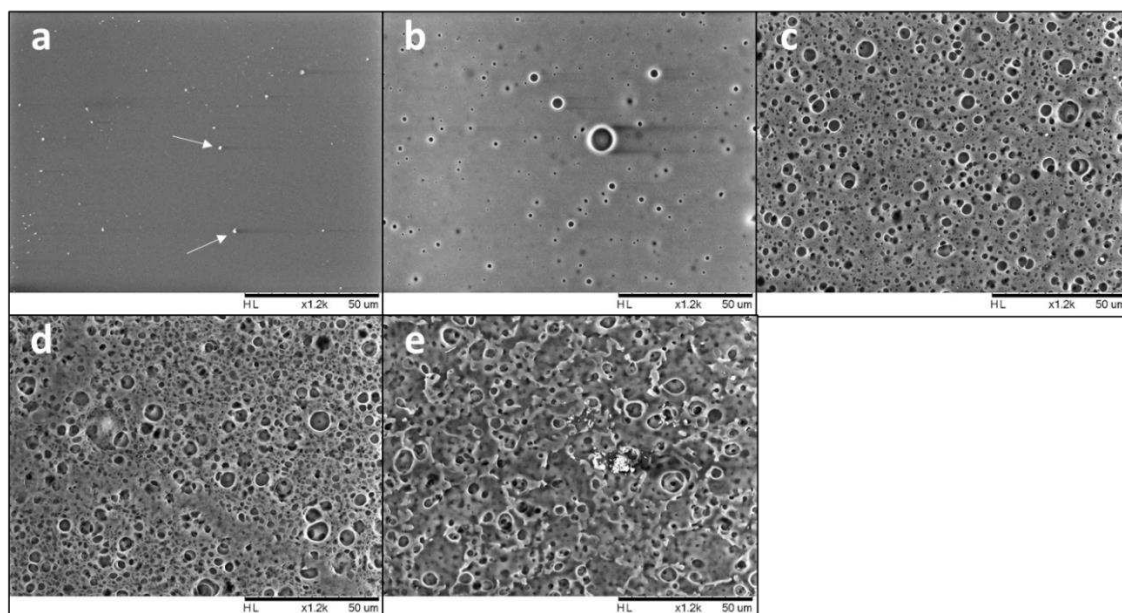


Figura 5. Micrografias obtidas por MEV para os filmes à base de acetato de celulose incorporados com diferentes concentrações de extrato de antocianinas do repolho roxo: TRAc-0 (a), TRAc-1 (b), TRAc-2 (c), TRAc-3 (d) e TRAc-4 (e) (magnificação de 1200x).

3.5 Análise termogravimétrica (TGA)

O comportamento da decomposição térmica dos filmes sob atmosfera inerte é mostrado nas curvas de análise termogravimétrica (TGA) e sua derivada (DTG) (Figura 6a e b).

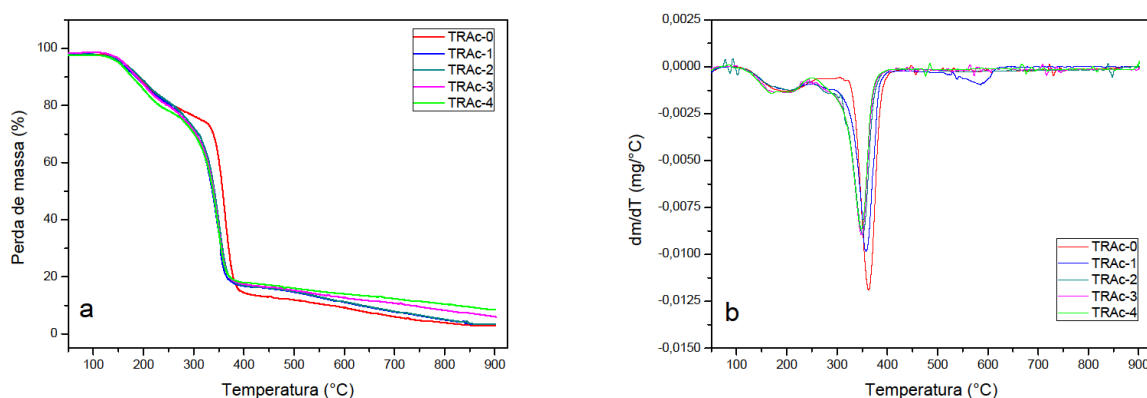


Figura 6. Curvas termogravimétricas (TGA) (a) e suas derivadas (DTG) (b) para os filmes incorporados com diferentes concentrações de AERC.

A degradação térmica dos filmes inteligentes foi dividida em eventos. Para todos os tratamentos, o primeiro evento ocorreu entre 103 e 250 °C, com aproximadamente 20% (m/m) de variação de massa. Essa etapa está associada principalmente à desidratação do filme pela evaporação das moléculas de água ligadas

a grupos hidroxilas do AC (Pola *et al.*, 2016) e evaporação do plastificante TEC presente na matriz polimérica. Maiza *et al.*, 2015 reportaram comportamento similar de degradação do TEC para filmes à base de poli (ácido lático) (PLA) incorporados com este plastificante.

Para o filme sem adição de AERC (TRAc-0), um segundo evento foi observado entre 324 a 430 °C, com 87% (m/m) de perda de massa e temperatura de máxima degradação em 363 °C. Esse evento pode ser atribuído à decomposição do material polimérico (Ouajai e Shanks, 2009).

A temperatura inicial de decomposição e a temperatura de máxima degradação do AC adicionado de extrato foi menor em comparação ao TRAc-0. O segundo evento para esses tratamentos ocorreu entre 255 e 415 °C, com 83% (m/m) de variação da massa total e temperatura de degradação máxima diminuindo com o aumento da concentração de extrato no filme. Isso pode ser devido à decomposição de moléculas com caráter mais volátil presentes no AERC. Prietto *et al.*, (2017) encontraram resultados similares avaliando filmes de amido incorporados com extrato de repolho roxo, sugerindo menor estabilidade térmica dos filmes. Além disso, outra explicação para este comportamento seria que, a presença do AERC pode ter reduzido a interação entre as cadeias poliméricas, facilitando sua decomposição térmica em temperaturas mais baixas quando comparadas com a temperatura de decomposição do filme controle.

O terceiro e último evento ocorreu de forma similar para todos os tratamentos e em temperaturas acima de 515 °C. Esse comportamento está relacionado à carbonização dos produtos oriundos da fragmentação de estruturas orgânicas (Rodríguez *et al.*, 2012; Bruna *et al.*, 2014).

3.6 Permeabilidade ao vapor d'água (PVA)

Para cada tratamento avaliado, o ganho de massa em função do tempo foi plotado e a TPVA dos filmes foi calculada. Com os valores de TPVA, calculou-se a PVA dos mesmos e ajustou-se um modelo estatístico que descreve a variação da PVA em função do volume de AERC adicionado nos filmes de AC (Figura 7).

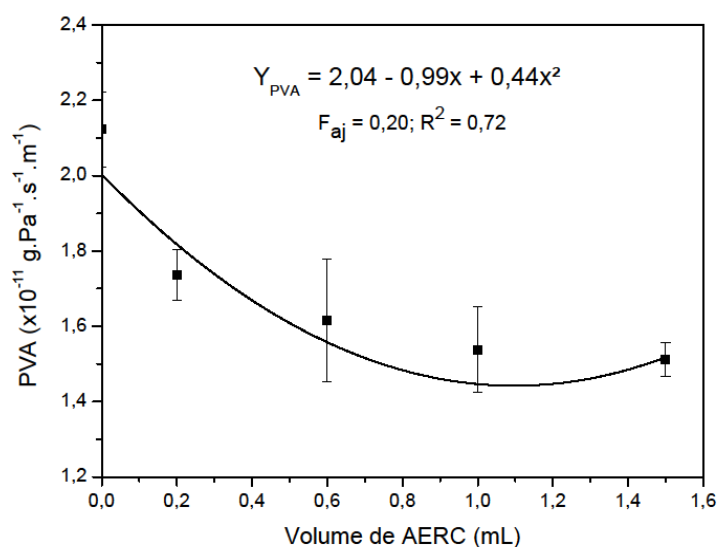


Figura 7. Comportamento da PVA em relação a diferentes quantidades de AERC adicionados nos filmes juntamente com seu modelo estatístico ($p < 0,05$), falta de ajuste ($p > 0,05$), coeficiente de determinação (R^2) e os coeficientes da equação (x) ajustada significativos ($p < 0,05$).

Por análise de regressão, com o aumento de AERC nos filmes, a PVA diminuiu de forma quadrática e significativa ($p < 0,05$), apresentando uma zona de decaimento máxima entre TRAc-2 (0,6 mL de AERC) e o TRAc-4 (1,5 mL de AERC).

Visto que o AERC é um material com caráter mais hidrofílico, o resultado encontrado está em desacordo com as proposições feitas por Hernandez (1994) e Farias *et al.* (2012). Tais autores afirmam que a permeação e solubilidade de vapor de água através das cadeias poliméricas estão relacionadas com a relação de hidrofiliicidade e hidrofobicidade dos filmes. Assim, os tratamentos contendo maiores concentrações de AERC deveriam ter apresentado maior PVA. Porém, outras características dos filmes devem ser analisadas.

Considerando as imagens obtidas por MEV, nota-se que, com a incorporação de AERC na matriz polimérica, ocorre um aumento da heterogeneidade da superfície dos filmes, o que possivelmente promoveu uma maior desorganização das cadeias poliméricas de AC durante toda a sua sessão transversal. Esse fato pode ter levado a um maior impedimento físico para a permeação das moléculas de água através do filme, explicando assim, os menores valores de PVA encontrados.

Apesar da diminuição da PVA com a incorporação de AERC nos filmes de AC, estes resultados ainda estão distantes dos encontrados para polímeros à base de petróleo, como por exemplo o polietileno de alta densidade (PEAD), que possui PVA

de $2,31 \times 10^{-13} \text{ g.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$ (Smith, 1986). Assim, vale ressaltar a importância de se estudar e melhorar as características de barreiras ao vapor d'água de filmes biodegradáveis que têm potencial de aplicação em embalagens de alimentos (Wei *et al.*, 2017).

3.7 Sensibilidade a ácido volátil

Visando detectar o comportamento colorimétrico dos filmes inteligentes a ácidos voláteis, os filmes contendo AERC foram colocados em ambiente a 25 °C e 75% de UR contendo solução de ácido acético por 25 min (Figura 8). Pela Figura 8, nota-se visualmente que os filmes apresentaram mudança de cor durante o tempo de teste em contato com ácido acético.



Figura 8. Comportamento visual da mudança colorimétrica de filmes de AC contendo diferentes quantidades de AERC na presença de ácido acético em diferentes tempos.

A coordenada de cor a^* dos filmes variou claramente ao longo do tempo e em relação à concentração de AERC no filme de AC. Assim, foi ajustado um modelo estatístico que descreve o comportamento de variação da coordenada a^* em função do tempo e da concentração de AERC (Equação 6). O modelo ($R^2 = 0,95$ e falta de ajuste não significativa) e o seu comportamento podem ser observados na superfície de resposta da Figura 9a.

$$Y = -0,367 + 3,163 v + 0,173 t - 0,0061 t^2 + 0,285 v * t. \quad \text{Equação 6}$$

Em que:

Y = coordenada de cor a^* ;

v = volume de AERC adicionado nos filmes de AC (mL);

t = tempo (min).

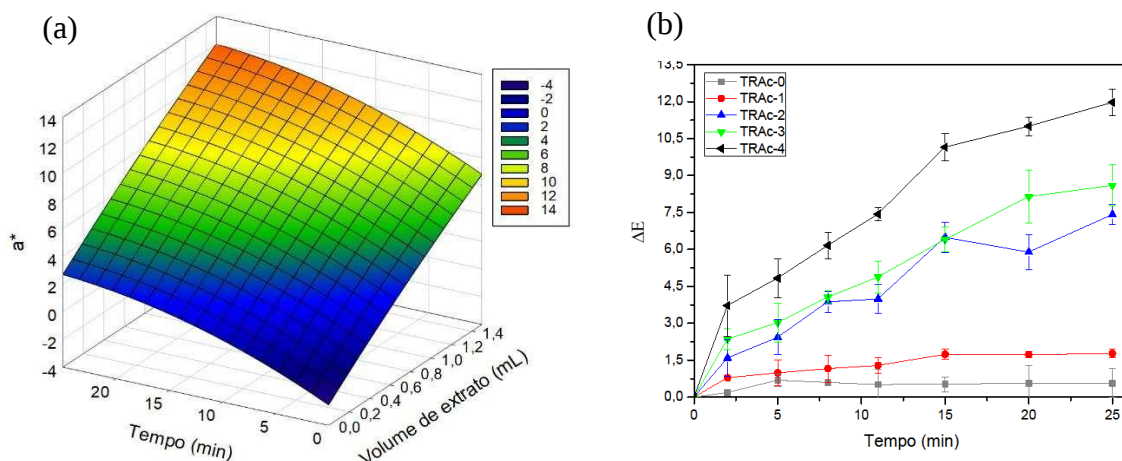


Figura 9. Superfície de resposta da coordenada a^* em função do tempo e da concentração de AERC nos filmes (a) e comportamento da variação do ΔE^* em função do tempo para cada tratamento avaliado (b).

A mudança colorimétrica dos filmes, que está relacionada com a variação da coordenada de cor a^* , foi influenciada pelo efeito linear e positivo da concentração de AERC adicionado na matriz polimérica (v) ($p < 0,05$), assim como o efeito quadrático e negativo do tempo de contato com ácido acético (t) ($p < 0,05$). Além disso, o coeficiente significativo e negativo $v \cdot t$ (volume e tempo) indica a existência do efeito de interação entre os dois fatores avaliados. Os coeficientes do modelo mostram que a quantidade de AERC adicionada foi o efeito que mais influenciou na variação de cor, e, quanto maior foi a concentração de AERC aliada a um maior tempo de contato, maior foi a variação da coordenada a^* . Esse resultado está de acordo com a Diferença Total de Cor (ΔE^*) calculado com as coordenadas L^* , a^* e b^* (Figura 9b), indicando que quanto maior o valor de a^* e o ΔE^* , mais visual é a mudança de cor (Schubring, 2002).

O mecanismo de mudança de cor dos filmes está primeiramente relacionado com a interação do ácido acético volátil e as moléculas de água presentes na superfície e entre as cadeias poliméricas de AC, formando CH_3COO^- e H_3O^+ . Essa última espécie apresenta caráter ácido, e, ao entrar em contato com as antocianinas presentes na

matriz polimérica, influencia no comportamento ácido-base das mesmas e favorece a mudança de cor para o vermelho (Zhang *et al.*, 2017).

Para determinar a reversibilidade de cor dos filmes incorporados de AERC, após o contato com ambiente contendo ácido acético, o tratamento TRAc-4 foi inserido em dessecador juntamente com solução de amônia durante 25 min. Pela Figura 10, nota-se que o filme inteligente apresentou considerável reversibilidade da cor quando em contato com amônia. Ma *et al.*, (2017) encontraram resultados semelhantes na reversão da cor em filmes à base de goma tara e PVOH incorporados com curcumina.



Figura 10. Comportamento para a reversibilidade de cor do filme TRAc-4 na presença de ácido acético e, logo em seguida, amônia.

Os resultados obtidos com a mudança colorimétrica dos filmes de AC contendo diferentes concentrações de AERC na presença de ácido volátil podem ser vistos como uma importante ferramenta no desenvolvimento de sensores visuais de pH para serem aplicados em embalagens inteligentes de alimentos, considerando sensibilidade, simplicidade, facilidade de produção e baixo custo (Gupta e Sharma, 1998).

4. Conclusão

Embalagens desenvolvidas com polímeros de fontes renováveis e biodegradáveis como o AC podem ser uma excelente alternativa aos plásticos de origem petroquímica. Nesse contexto, o presente estudo revelou que filmes de AC incorporados com AERC apresentaram características positivas quanto às propriedades avaliadas. Os resultados mostraram que a incorporação de AERC na matriz polimérica produz filmes com excelentes propriedades de barreira à luz e ao vapor d'água, apesar da menor estabilidade térmica. Outra característica interessante foi a forma de distribuição do extrato, sendo indicativo de baixa interação com a matriz polimérica, o que foi possivelmente confirmado pelas características moleculares dos filmes. Além disso, os filmes apresentaram mudança de cor na presença de ácido volátil, o que revela o grande potencial de aplicação destes dispositivos inteligentes

em alimentos que produzem tais compostos quando alterados ou degradados, monitorando e garantindo sua qualidade e segurança.

5. Referências Bibliográficas

American Society for Testing and Material (ASTM). **Standard test methods for water vapor transmission of materials**. E96/E96M. Philadelphia: ASTM. 2005.

Barbosa, L. C. A. **Espectroscopia no Infravermelho**. Viçosa: Editora UFV, 2008.

Brouillard, R.; Lang, J. The hemiacetal-*cis*-chalcone equilibrium of malvin, a natural anthocyanin. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 68, p. 755-761, 1990.

Bruna, J. E.; Galotto, M. J.; Guarda, A.; Rodríguez, F. A novel polymer based on MtCu²⁺/cellulose acetate with antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 317-323, 2014.

Camilloto, G. P. **Desenvolvimento e avaliação de embalagem ativa incorporada com produto à base de triclosan para aplicação em carne bovina**. 2009. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

Choi, I.; Lee, J. Y.; Lacroix, M.; Han, J. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. **Food Chemistry**, v. 218, p. 122-128, 2017.

Cuchinski, A. S.; Caetano, J.; Dragunski, D. C. Extração do corante da beterraba (*Beta vulgaris*) para utilização como indicador ácido-base. **Eclética química**, v. 35, n. 4, 2010.

Dainelli, D.; Gontard, N.; Spyropoulos, D.; Beuken E. Z.; Tobback, P. Active and inteligente food packaging: legal aspects and safety concerns. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p. 103-112, 2008.

Farias, M. G.; Carvalho, C. W. P.; Takeiti, C. Y.; Ascheri, J. L. R. **O efeito da permeabilidade ao vapor de água, atividade de água, molhabilidade e solubilidade em água em filmes de amido e polpa de acerola**. In: VI Workshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio. 2012.

Gopiraman, M., Fujimori, K. K., Zeeshan, K., Kim, B. S., & Kim, I. S. Structural and mechanical properties of cellulose acetate/graphene hybrid nanofibers: Spectroscopic investigations. **eXPRESS Polymer Letters**, v.7, n.6, p. 554-563, 2013.

Gupta, B. D.; Sharma, S. A long-range fiber optic pH sensor prepared by dye doped sol-gel immobilization technique. **Optics Communications**, v. 154, p. 5-6, 1998.

He, J.; Giusti, M. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, p. 163-187, 2010.

Hernandez, E. **Edible coatings from lipids and resins**. In J. M. Krochta, E. A. Baldwin, & M. G. Nispero-Carriedo (Eds.), *Edible coatings and films to improve food quality* (pp. 279–303). Lancaster, PA, USA: Technomic Publ. Co. 1994.

Hunt, R. W. G. **Measuring Colour**, 2^a ed., Ellis Horwood Ltd., Chichester, UK, 1991.

Imre, B.; Pukánszky, B. Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. **European Polymer Journal**, v. 49, p. 1215-1233, 2013.

Lagaron, J. M.; Cabedo, L.; Cava, D.; Feijoo, J. L.; Gavara, R.; Gimenez, E. Improving packaged food quality and safety part 2: nanocomposites. **Food Additives and Contaminants**, v. 22, p. 994-998, 2005.

Luchese, C. L.; Frick, J. M.; Patzer, V. L.; Spada, J. C.; Tessaro, I. C. Synthesis and characterization of biofilms using native and modified *pinhão* starch. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 203-210, 2015.

Luchese, C. L.; Sperotto, N.; Spada, J. C.; Tessaro, I. C. Effect of blueberry agro-industrial waste addition to cornstarch-based films for the production of a pH-indicator film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 11-18, 2017.

Ma, Q.; Wang, L. Preparation of a visual pH-sensing film based on tara gum incorporating cellulose and extracts from grape skins. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 235, p. 401-407, 2016.

Ma, Q.; Du, L.; Wang, L. Tara gum/polyvinyl alcohol-based colorimetric NH₃ indicator films incorporating curcumin for intelligent packaging. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 244, p. 759-766, 2017.

Ma Q.; Ren Y.; Gu, Z.; Wang, L. Developing an intelligent film containing Vitis amurensis husk extracts: The effects of pH value of the film-forming solution. **Journal of Cleaner Production**, v. 166, p. 851-859, 2017.

Ma, Q.; Liang, T.; Cao, L.; Wang, L. Intelligent poly (vinyl alcohol)-chitosan nanoparticles-mulberry extracts films capable of monitoring pH variations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 576-584, 2018.

Maiza, M.; Benaniba, M. T.; Quintard, G.; Massardier-Nageotte, V. Biobased additive plasticizing Polylactic acid (PLA). **Polímeros**, v. 25, n. 6, p. 581-590, 2015.

Olivato, J. B.; Nobrega, M. M.; Muller, C. M. O.; Shirai, M. A.; Yamashita, F.; Grossmann, M. V. E. Mixture design applied for the study of the tartaric acid effect on starch/polyester films. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 1705-1710, 2013.

Oliveira, J.; Brás, N. F.; Silva, M. A.; Mateus, N.; Parola, A. J.; Freitas, V. Grape anthocyanin oligomerization: A putative mechanism for red color stabilization?. **Phytochemistry** (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.05.006>.

Ouajai, S.; Shanks, R. A. Biocomposites of cellulose acetate butyrate with modified hemp cellulose fibres. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 294, n.3, p. 213–221, 2009.

Pereira, V. A. J.; Arruda, I. N. Q.; Stefani, R. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as TimeeTemperature Indicators for application in intelligent food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 180-188, 2015.

Pourjavaher, S.; Almasi, H.; Meshkini, S.; Pirs, S.; Parandi, E. Development of a colorimetric pH indicator based on bacterialcellulose nanofibers and red cabbage (*Brassica oleraceae*) extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 193-201, 2017.

Pola, C. C.; Medeiros, E. A. A.; Pereira, O. L.; Souza, V. G. L.; Otoni, C. G.; Camilloto, G. P.; Soares, N. F. F. Cellulose acetate active films incorporated with oregano (*Origanum vulgare*) essential oil and organophilic montmorillonite clay control the growth of phytopathogenic fungi. **Food packaging and shelf life**, v. 9, p. 69-78, 2016.

Prietto, L.; Mirapalhete, T. C.; Pinto, V. Z.; Hoffmann, J. F.; Vanier, N. L.; Lim, L.; Dias, A. R. G.; Zavareze, E. R. pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. **LWT – Food Science and Technology**, v. 80, p. 492-500, 2017.

Rodríguez, F. J.; Galotto, M. J.; Guarda, A.; Bruna, J. E. Modification of cellulose acetate films using nanofillers based on organoclays. *Journal of Food Engineering*, v. 110, p. 262-268, 2012.

Schubring, R. Influence of freezing/thawing and frozen storage on the texture and colour of brownshrimp (*Crangon crangon*). **Archiv Lebensmittelhygiene**, v. 53, n. 2, p. 34-36, 2002.

Silva-Pereira, M. C., Teixeira, J. A., Pereira-Junior, V. A., & Stefani, R. Chitosan/corn starch blend films with extract from *Brassica oleraceae* (red cabbage) as a visual indicator of fish deterioration. **LWT-Food Science and Technology**, v. 61, p. 258–262, 2015.

Smith, S. A. **Polyethylene, low density**. In M. Bakker (Ed.), *The wiley encyclopedia of packaging technology* (pp. 514–523). New York: Wiley. 1986.

Sung, S.; Sin, L.; Tee, T.; Bee, S.; Rahmat, A. R.; Rahman, W.; Tan, A.; Vikhraman, M. Antimicrobial agentes for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 33, p. 110-123, 2013.

Tewari, K. S.; Vishnoi, N. K. **A textbook of organic chemistry**. 3^a ed. New Delhi, India: Vikas Publishing House Pvt Limited.

Vanderroost, M.; Ragaert, P.; Devlieghere, F.; De Meulenaer, B. Intelligent food packaging: The next generation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 39, p. 47-62, 2014.

Wei, Y.; Cheng, C.; Ho, Y.; Tsai, M.; Mi, F. Active gellan gum/purple sweet potato composite films capable of monitoring pH variations. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 491-502, 2017.

Wiczowski, W.; Szawara-Nowak, D.; Topolska, J. Red cabbage anthocyanins: Profile, isolation, identification, and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 51, p. 303-309, 2013.

Yang, Y. **Polymer Data Handbook**. Editor: Mark, J. E. Oxford University Press. New York, 1999.

Zhai, X.; Shi, J.; Zou, X.; Wang, S.; Jiang, C.; Zhang, J.; Huang, X.; Zhang, W.; Holmes, M. Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 308-317, 2017.

Zhang, X. H.; Lu, S. S.; Chen, X. A visual pH sensing film using natural dyes from *Bauhinia blakeana* Dunn. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 198, p. 268-273, 2014.

CAPÍTULO 2

FILMES INTELIGENTES À BASE DE ACETATO DE CELULOSE ADICIONADOS DE EXTRATO DE REPOLHO ROXO PARA DETECÇÃO VISUAL DE BASES VOLÁTEIS

RESUMO

Tecnologias de monitoramento e informação das condições de qualidade e segurança dos alimentos em tempo real apresentam grande interesse por parte dos consumidores. Nesse contexto, o objetivo com o estudo foi desenvolver dispositivos à base de acetato de celulose (AC) incorporados com extrato de antocianinas do repolho roxo (AERC) visando a detecção visual de bases voláteis. As dispersões poliméricas foram preparadas pela proporção constante de AC e acetona de 1:10 (m/v), adicionados de plastificante trietil citrato (15% (m/m)) e cinco diferentes concentrações de AERC (0; 0,2; 0,6; 1,0 e 1,5 mL). Os filmes foram caracterizados quanto à espessura, propriedades mecânicas, microtopográficas, permeabilidade ao oxigênio (PO_2), mudança de cor em diferentes valores de pH (1,0-12,0) e a bases voláteis e estabilidade de cor ao longo do tempo com incidência ou não de luz. A adição de AERC causou aumento da espessura e promoveu efeito plastificante nos filmes. As topografias da superfície das amostras observadas por microscopia de força atômica mostraram filmes cada vez mais heterogêneos e rugosos, além da PO_2 dos filmes ter aumentado. Os filmes com AERC não apresentaram boas propriedades de mudança de cor em diferentes valores de pH, porém foram excelentes na transição de cor na presença de amônia volátil. Além disso, os filmes sem incidência de luz foram mais estáveis durante a estocagem e apresentaram transição colorimétrica perceptível na presença de amônia após 30 dias de armazenamento, indicando assim, potencial de aplicação em alimentos em que a degradação é caracterizada pela produção de aminas voláteis e que podem estar relacionadas com o crescimento microbiano.

1. Introdução

O acetato de celulose (AC) é um dos polímeros biodegradáveis mais comuns derivados quimicamente da celulose. Este material é definido como sendo um éster de celulose em que os grupos hidroxilas da celulose nativa foram substituídos por grupos acetil (Mano e Mendes, 1999; Gilbert, 2017). Devido ao seu maior caráter hidrofóbico comparado com outros polímeros biodegradáveis e que influenciam na baixa solubilidade em água, filmes a base de AC podem ser empregados tanto como embalagens ativas para incorporação de compostos antimicrobianos (Almeida, 2010; Bruna *et al.*, 2014; Pola *et al.*, 2016), compostos antioxidantes (Yang *et al.*, 2016), entre outros fins ativos, bem como para desenvolvimento de dispositivos inteligentes que monitoram e transmitem informações para os consumidores sobre a segurança e qualidade dos alimentos em tempo real.

Os alimentos de um modo geral são altamente instáveis e perecíveis e sua degradação pode ser proveniente de reações que ocorrem pelo próprio alimento, por condições ambientais de armazenamento ou mesmo por sua contaminação química, física ou microbiológica. Visando monitorar tais alterações, os indicadores inteligentes de frescor devem ser equipados com dispositivos que sejam sensíveis às alterações da qualidade dos alimentos em todas as etapas de armazenamento e transporte. Estes indicadores transmitem informações diretas ou indiretas sobre a qualidade do produto e podem detectar crescimento microbiológico, alterações causadas pelas condições de processamento, ou mesmo por mudanças bioquímicas que envolvem alterações de pH do alimento que podem ocorrer ao longo do armazenamento (Siro, 2012).

Os alimentos, dependendo da sua composição, são altamente susceptíveis à ação de enzimas descarboxilases endógenas e exógenas, ou seja, enzimas naturalmente encontradas no do próprio alimento ou produzidas por microrganismos, respectivamente. Um dos produtos da ação dessas enzimas são as aminas biogênicas, que podem apresentar efeitos tóxicos ao organismo. Uma classe das principais aminas biogênicas produzidas em alimentos são bases nitrogenadas voláteis, que podem ou não proporcionar odores e sabores desagradáveis, sendo relacionadas a degradação e, ou, contaminação do alimento (Connel e Shewan, 1980; Cardozo *et al.*, 2013). Portanto, estudos devem ser realizados com o objetivo de desenvolver dispositivos inteligentes capazes de detecção de aminas biogênicas em alimentos.

Considerando simplicidade, baixo custo e sensibilidade, pigmentos como as antocianinas podem ser uma excelente alternativa para a elaboração de dispositivos inteligentes (Gupta e Sharma, 1998). As antocianinas são estruturas moleculares que estão presentes em muitas plantas terrestres e podem ser classificadas como flavonoides. Elas apresentam a capacidade de formar várias estruturas secundárias, quando dissolvidas em água, em resposta a fatores do ambiente como pH, temperatura, hidratação e interação com outras moléculas (Davies *et al.*, 2017). Apesar do grande potencial que as antocianinas possuem, estas moléculas são estruturas que apresentam limitações por serem sensíveis e afetadas por pH, sulfito, calor, luz e metais (Markakis, 1982; Francis, 1989).

Aliando o conceito de embalagens de alimentos ao comportamento de alteração de cor das antocianinas presentes em um sistema, dispositivos inteligentes podem ser desenvolvidos pela incorporação desses extratos que contenham antocianinas em filmes poliméricos com o intuito de acompanhar alterações e, ou, degradação de alimentos. Além disso, tal incorporação pode fornecer maior estabilidade às antocianinas durante o armazenamento, o que está relacionado diretamente com a capacidade de transmissão de informações sobre o alimento de forma confiável e satisfatória aos consumidores. Nos últimos anos, muitos estudos vêm sendo desenvolvidos pela adição de extratos em matrizes poliméricas, basicamente hidrofílicas, visando o desenvolvimento de dispositivos inteligentes (Ma *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2016; Luchese *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2017; Zhai *et al.*, 2017).

Nesse contexto, o objetivo com este trabalho foi elaborar e caracterizar filmes à base de AC adicionados de extrato de antocianina de repolho roxo (AERC) para a detecção visual de bases voláteis.

2. Material e Métodos

2.1 Material

Acetato de celulose (GS = 2,5; MM = 2.024.000 g.mol⁻¹) foi disponibilizado pela Rhodia Solvay Group (Santo André, SP, Brasil). Repolho roxo (*Brassica oleraceae* L. var. *Capitata f. rubra*) foi comprado na cidade de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Ácido clorídrico (HCl) foi obtido de SPLabor (São Paulo, Brasil). Hidróxido de sódio (NaOH) e cloreto de amônio (NH₄Cl) foram obtidos da Empresa Synth (São

Paulo, Brasil). Álcool etílico, trietil citrato (TEC) e cloreto de sódio (NaCl) foram comprados da Merck (Darmstadt, Alemanha).

2.2 Obtenção do AERC

A metodologia de obtenção do AERC (AERC) foi descrita por Pereira *et al.* (2015), com modificações. Uma quantidade de 150 g de repolho roxo ralado foi macerada e misturada com 100 mL de solução de álcool etílico 70% (v/v). O material foi adicionado de HCl (1,0 mol.L⁻¹) até pH 2,0 e armazenado sob refrigeração à temperatura de 4 ± 2 °C durante 24 h ao abrigo de luz. Decorrido o tempo, o sistema foi filtrado com filtro de tecido e centrifugado a 484g (Sigma Laboratory Centrifuges, Modelo 4K15) durante 10 min. O sobrenadante foi filtrado à vácuo utilizando filtro de papel quantitativo (Unifil, Ø 11), neutralizado a pH 7,0 com NaOH (2,5 mol.L⁻¹) e armazenado sob congelamento a temperatura de -18 ± 2 °C até o momento da sua utilização.

2.3 Preparo dos filmes inteligentes

Uma proporção de AC e acetona de 1:10 (m/v) foi adicionada de 15% (m/m) de TEC, vedada e mantida em repouso durante 24 h. Decorrido o tempo, a dispersão foi adicionada de quatro diferentes concentrações de AERC (Tabela 1). Após a homogeneização, a dispersão polimérica foi vertida em placas de vidro (25 x 10 cm²) e a evaporação do solvente foi realizada com circulação forçada de ar durante 30 min em temperatura ambiente. Os filmes foram armazenados sob vácuo em embalagens de polietileno/nylon até o momento da sua utilização.

Tabela 1. Filmes contendo diferentes concentrações de AERC (proporção AC e acetona de 1:10).

Tratamento	Massa de TEC (g)	Volume de AERC (mL)
TRAc-0	0,15	0,0
TRAc-1	0,15	0,2
TRAc-2	0,15	0,6
TRAc-3	0,15	1,0
TRAc-4	0,15	1,5

2.4 Caracterização dos filmes

2.4.1 Espessura e propriedades mecânicas

A espessura dos filmes foi determinada com o auxílio de micrômetro digital (Modelo 547-401, Mitutoyo, Japão; precisão de 0,001 mm). As medidas foram realizadas em 10 pontos aleatórios de cada amostra, realizadas em três repetições e em seis réplicas.

A resistência máxima à tração (MPa), o alongamento na ruptura (mm) e o módulo de elasticidade (MPa) foram determinados utilizando-se a Máquina Universal de Testes Mecânicos (Instron Corporation, Norwood, MA, USA) de acordo com a norma ASTM D882 (2012). As amostras (17,5 x 2,0 cm) foram fixadas por duas garras, com distância inicial de 125 mm e velocidade de separação de 12,5 mm.min⁻¹. A análise foi realizada em três repetições e em seis réplicas por tratamento.

2.4.2 Microscopia de força atômica (AFM)

A AFM dos filmes foi avaliada no Microscópio de Força Atômica (NT-MDT, modelo NTEGRA PRIMA). O método empregado na análise foi o modo de contato intermitente com *cantilever* macio e constante de força 0,02 N.m⁻¹ (Camilloto, 2009). A rugosidade média da superfície dos filmes foi determinada pela análise da imagem topográfica obtida por AFM com auxílio do programa *Image Analysis* (NT-MDT, Moscow, Rússia), expressa em nm.

2.4.3 Permeabilidade ao oxigênio (PO₂)

A taxa de permeabilidade ao oxigênio dos filmes foi determinada no VAC-V1 (Labthink, China), de acordo com norma ASTM D1434 (ASTM, 2009). As medidas foram obtidas a 23 ± 1 °C e umidade relativa menor que 1%. A diferença na pressão parcial de oxigênio foi de 0,1013 kPa. Os resultados foram obtidos em cm³.m⁻².d⁻¹. Com a taxa de permeabilidade ao oxigênio, a PO₂ dos filmes foi determinada, sendo expressa em cm³.mm.m⁻².d⁻¹.MPa⁻¹.

2.4.4 Sensibilidade à amônia

A variação de cor dos filmes na presença de amônia foi realizada de acordo com Ma *et al.*, (2017), com modificações. Os filmes contendo AERC e o filme controle foram condicionados por 12 h a 25 ± 2 °C e 53% de UR. Após esse tempo, as amostras (6×6 cm²) foram depositadas em placas de Petri e este sistema inserido em dessecador. Um béquer contendo 5 mL de solução saturada de NH₄Cl adicionada de NaOH (2,5 mols.L⁻¹) para a liberação de NH₃ foi depositado no interior do dessecador. Nos tempos de 0, 2, 5, 8, 11, 15, 20, 25 min foram determinados os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* . Além disso, considerando L_0^* , a_0^* e b_0^* como os parâmetros colorimétricos dos filmes no tempo inicial, foi determinada a Diferença Total de Cor (ΔE^*) (Equação 1).

$$\Delta E^* = \sqrt{[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]} \quad \text{Equação 1}$$

Em que:

$$\Delta L^* = (L^* - L_0^*); \Delta a^* = (a^* - a_0^*); \Delta b^* = (b^* - b_0^*).$$

2.4.5 Mudança colorimétrica dos filmes em diferentes valores de pH

Para investigar a mudança colorimétrica em relação ao pH, os filmes inteligentes foram imersos em soluções com valores de pH variando de 1,0-12,0 durante 3 min. Em seguida, os filmes foram secos com circulação forçada de ar por 15 min e as coordenadas de cor L^* , a^* e b^* foram determinadas. Além do ΔE^* (Equação 1), foram calculados o índice de saturação (C^*) e o ângulo de tonalidade (h^*) de acordo com as Equações 2 e 3, respectivamente.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Equação 2}$$

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad \text{Equação 3}$$

2.4.6 Estabilidade de cor e potencial de aplicação dos filmes inteligentes

Os filmes inteligentes foram avaliados quanto a estabilidade da cor em função do tempo e da luminosidade. Amostras de cada tratamento (6 x 6 cm) foram fixadas em duas placas de plástico e armazenadas na temperatura de 25 ± 5 °C e $55 \pm 5\%$ UR. Uma das placas foi armazenada na ausência de luz e a outra em ambiente com incidência de luz LED (potência de 6W e a 20 cm dos filmes). A cada dois dias, durante 30 dias, foram mensurados os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* em colorímetro Colorquest® XE (HunterLab, USA). Os parâmetros C^* (índice de saturação) e h^* (ângulo de tonalidade) foram determinados pelas Equações 2 e 3, respectivamente. Considerando L_0^* , a_0^* e b_0^* como as coordenadas de cor dos filmes no tempo inicial, foi determinada a Diferença Total de Cor (ΔE^*) (Equação 1).

2.5 Análise estatística

Os dados de propriedades mecânicas, permeabilidade ao oxigênio e mudança de cor na presença de amônia foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), e para cada resposta, foi ajustada uma equação de regressão (com significância de 5% de probabilidade) quando possível, levando em consideração os fatores avaliados. Já os dados de mudança de cor em diferentes valores de pH e o do potencial de aplicação dos filmes após a estocagem foram submetidos à ANOVA e teste de Tukey (com nível de significância de 5% de probabilidade), quando necessário. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico Minitab, versão 17.

3. Resultados e discussão

3.1 Espessura e propriedades mecânicas

Foram ajustados, quando possível, modelos de regressão estatística para a espessura (EP) e para as propriedades mecânicas como a resistência máxima à tração (RT), alongamento na ruptura (AR) e módulo de elasticidade (ME) dos filmes em função da adição de AERC (Tabela 2).

Tabela 2. Propriedades físico-mecânicas e seus respectivos modelos estatísticos ajustados em função da adição de diferentes volumes de AERC (v) nos filmes de AC.

Resposta ^a	Equação	Faj*	v**	v ² **	R ²
EP (mm)	$\hat{Y}_{EP} = 0,0291 + 0,0031v$	0,94	0,02	-	0,58
RT (MPa)	$\hat{Y}_{RT} = 33,44 - 7,92v$	0,30	<0,01	-	0,84
AR (mm)	$\hat{Y}_{AR} = 8,46 + 13,16v - 5,74v^2$	0,21	<0,01	0,03	0,69
ME (MPa)	$\hat{Y}_{ME} = 1959,37$	-	-	-	-

^a – EP: espessura; RT: resistência máxima à tração; AR: alongamento na ruptura; ME: módulo de elasticidade.

* - Valor-p para a falta de ajuste do modelo (não significativo para p>0,05).

** - Coeficiente significativo pelo teste t de Student (p<0,05).

A EP dos filmes aumentou linearmente (p<0,05) com a adição de AERC nos filmes. Pela Figura 1a, é possível observar que houve baixa variação dos dados obtidos para cada tratamento avaliado, indicando considerável homogeneidade dos filmes desenvolvidos. Além disso, apesar de a EP ter exibido ajuste de modelo, os valores médios não foram tão diferentes, apresentando amplitude de EP entre 0,029 mm e 0,033 mm para a menor e maior concentração de AERC adicionado, respectivamente. Wei *et al.* (2017), trabalhando com filmes à base de goma gelana incorporados com extrato de batata doce roxa (*Ipomoea batatas* L.) também reportaram aumento na espessura dos filmes desenvolvidos.

O ME não variou (p>0,05) com a adição de extrato, indicando a manutenção da rigidez dos filmes de AC para os diferentes tratamentos. Já as propriedades mecânicas RT e AR foram influenciadas (p<0,05) com a incorporação de AERC na matriz polimérica. A RT diminuiu linearmente (Figura 1b), enquanto o AR aumentou de forma quadrática (Figura 1c). Este resultado sugere que o AERC adicionado apresentou efeito plastificante nos filmes. Segundo Ma *et al.* (2018), extratos que contém antocianinas apresentam vários tipos de polissacarídeos, o que diminuem as interações intermoleculares das cadeias poliméricas e aumentam a mobilidade das mesmas, diminuindo a resistência máxima à tração e aumentando o alongamento na ruptura dos filmes. De maneira similar, extratos vegetais adicionados em diferentes matrizes poliméricas, como em nanofibras de celulose adicionadas de extrato de repolho roxo (Pourjavaher *et al.*, 2017) e em blendas de alginato e carragena incorporados com extrato de semente de *grape fruit* (Cha *et al.*, 2002) também foram reportados como substâncias que apresentaram efeito plastificante nos filmes avaliados.

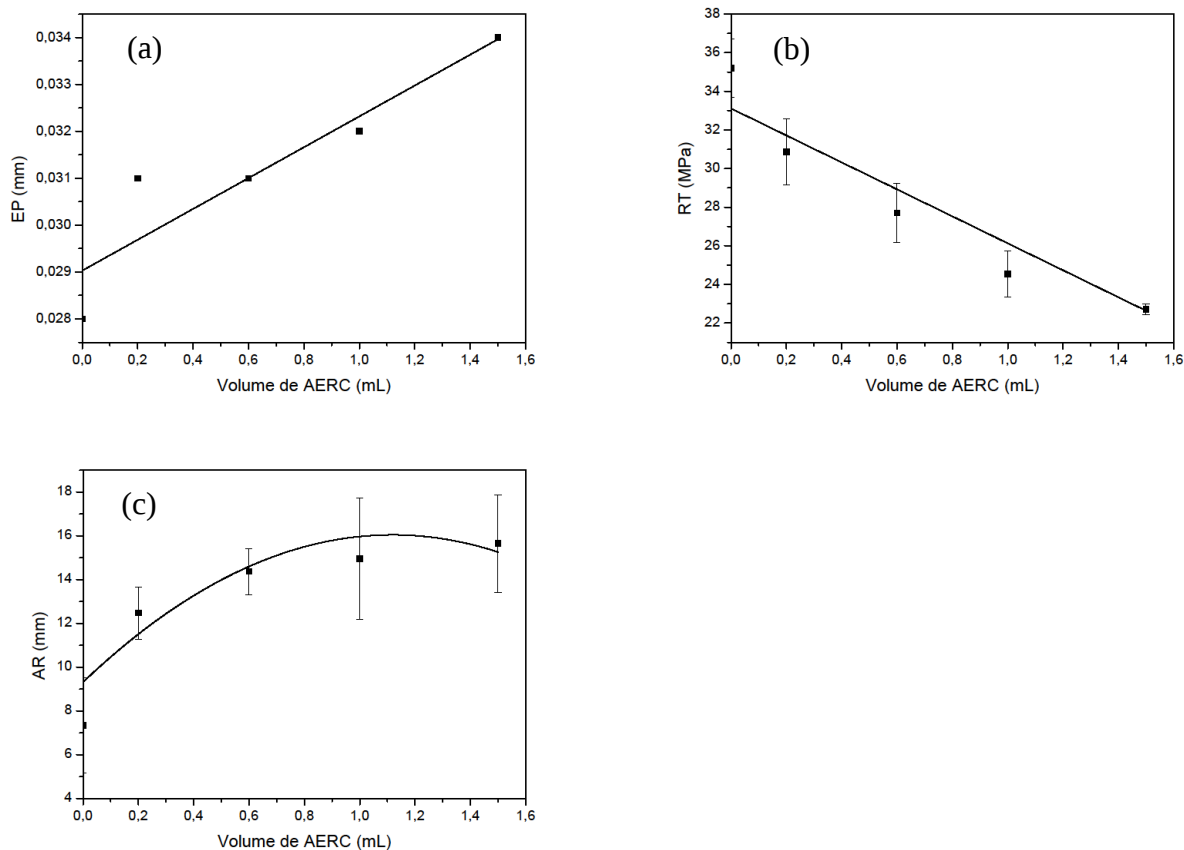


Figura 1. Comportamento da espessura (a) e das propriedades mecânicas de resistência máxima à tração (b) e alongamento na ruptura (c) dos filmes de AC incorporados com diferentes concentrações de AERC.

3.2 Microscopia de força atômica (AFM)

Visando obter informações sobre a superfície dos filmes inteligentes, a técnica de AFM foi empregada. A Figura 2 mostra que as microtopografias dos filmes foram claramente influenciadas com a adição de extrato.

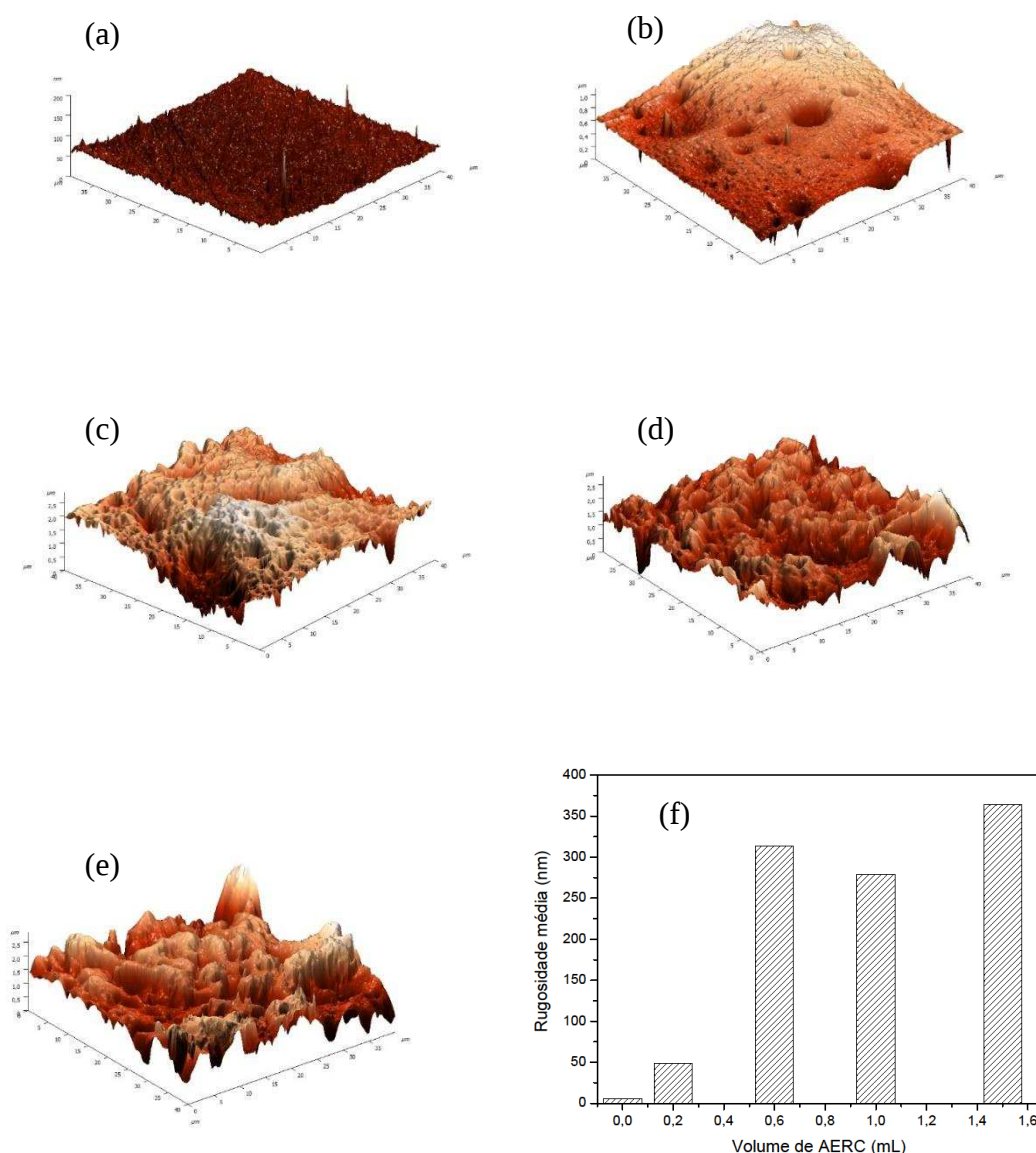


Figura 2. Fotomicrografias em três dimensões obtidas por AFM dos filmes de AC: TRAc-0 (a), TRAc-1 (b), TRAc-2 (c), TRAc-3 (d) e TRAc-4 (e). Comportamento para a rugosidade média, expressa em nm, dos filmes adicionados de diferentes concentrações de AERC (f).

A superfície em três dimensões obtida do tratamento sem adição de AERC (TRAc-0, Figura 2a) apresentou-se de forma homogênea e suave. Contudo, as topografias dos filmes inteligentes se tornaram cada vez mais heterogêneas e rugosas à medida que a concentração de AERC aumentou (Figura 2b, c, d, e). Isso pode ser visualizado tanto na variação de escalas das fotomicrografias obtidas (Figura 2a, b, c, d, e), como pela variação da rugosidade média em função da adição de AERC nos filmes. Pela Figura 2c, a rugosidade média variou consideravelmente de 5,53 nm no TRAc-0 para 48,5 nm no TRAc-1, 313,7 nm no TRAc-2, 278,8 nm no TRAc-3 e 363,7

nm no TRAc-4. Segundo Ghaemi *et al.* (2012), filmes de AC puro, que possuem superfície plana e homogênea, tendem a apresentar topografia heterogênea e rugosa quando forem adicionados de aditivos em sua matriz devido a uma maior desorganização da rede polimérica.

O resultado encontrado pode indicar baixa interação entre o polímero e o AERC. Esse comportamento pode gerar instabilidade termodinâmica, o que culmina no aumento do grau de heterogeneidade e na formação de agregados nos filmes com a maior incorporação de extrato. Resultados parecidos foram encontrados por Ma *et al.* (2012), Almeida *et al.* (2013) e Han *et al.* (2013) e Harini *et al.* (2018), que trabalharam com substâncias que possuíam baixa interação com as matrizes poliméricas estudadas pelos autores.

Vale ressaltar que a AFM é uma importante ferramenta para a caracterização de materiais uma vez que, além da desorganização da superfície dos filmes, a incorporação de AERC possivelmente influenciou na estrutura tridimensional e na disposição das cadeias poliméricas de AC, o que pode auxiliar na explicação dos comportamentos em outras propriedades dos filmes, como por exemplo, o aumento da espessura.

3.3 Permeabilidade ao oxigênio (PO_2)

Investigando a característica de barreira ao oxigênio, para cada tratamento avaliado, a PO_2 dos filmes foi determinada. Em seguida, um modelo estatístico foi ajustado para descrever a variação da PO_2 em função da incorporação de AERC nos filmes. Pela análise de regressão, a adição de extrato em filmes de AC teve efeito significativo ($p < 0,05$) na PO_2 . Como mostrado na Figura 3, um aumento linear da PO_2 foi observado, indicando maior permeabilidade dos filmes ao oxigênio à medida que o AERC é adicionado. Pela equação ajustada, o filme com adição máxima de extrato, ou seja, TRAc-4, apresentou um aumento de 55% na PO_2 .

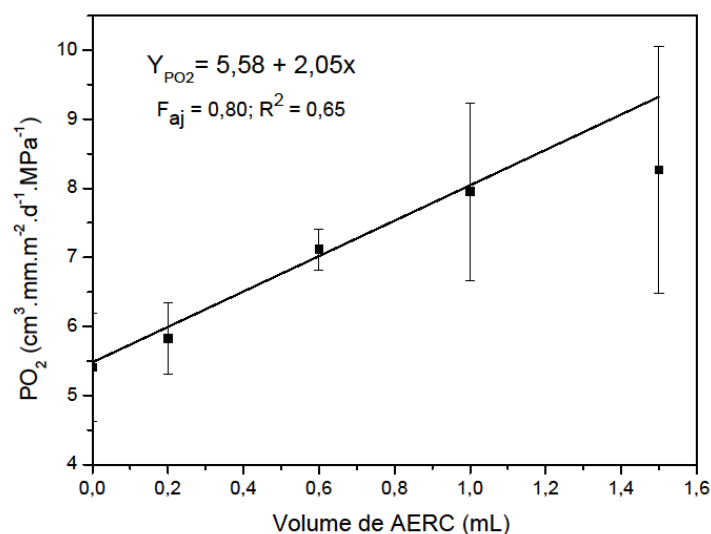


Figura 3. Comportamento obtido para a PO_2 , expressa em $\text{cm}^3.\text{mm}.\text{m}^{-2}.\text{d}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$, em função de diferentes concentrações de AERC no filme de AC juntamente com o modelo estatístico ajustado ($p < 0,05$), falta de ajuste não significativa ($p > 0,05$), coeficientes da equação significativos ($p < 0,05$) e coeficiente de determinação de 0,65.

Os resultados encontrados apresentam discordância com Yoo e Krochta (2011) e Sarantópulos *et al.* (2012), que afirmaram que a interação química entre o polímero e a molécula permeante é determinante na permeabilidade dos filmes. Nesse contexto, o comportamento encontrado deveria ter sido o contrário, pois, quanto maior é a concentração de extrato, maior é a adição de moléculas hidrofílicas ao polímero e menor seria a permeabilidade ao oxigênio, molécula de caráter hidrofóbico.

Porém, algumas proposições devem ser analisadas. O aumento da PO_2 está em consonância com os resultados encontrados na AFM, uma vez que com a maior desorganização polimérica devido a formação de agregados, é factível que moléculas de oxigênio consigam permear com maior facilidade pelas cadeias poliméricas, que estão desorganizadas e com menores interações entre elas, aumentando assim, a PO_2 . Além disso, também pela técnica de AFM é possível visualizar que com a desorganização, filmes com maiores concentrações de AERC apresentam uma maior área superficial, o que permite que mais moléculas de oxigênio atravessem o filme por unidade de área.

O comportamento da PO_2 também pode ser relacionado com o efeito plastificante obtido pelas propriedades mecânicas. O enfraquecimento das interações intermoleculares e aumento da mobilidade das cadeias de AC facilitam o processo de difusão do oxigênio através dos filmes (Pola *et al.*, 2016; Ma *et al.*, 2018). Resultados

similares foram encontrados por Pastor *et al.* (2013) trabalhando com filmes à base de quitosana e metilcelulose incorporados com resveratrol.

3.4 Sensibilidade à amônia

A transição colorimétrica dos filmes contendo diferentes concentrações de AERC na presença de amônia e em condições de 25 °C e 75% de UR durante 25 min encontra-se na Figura 4. Pela análise visual dos tratamentos, os filmes com maiores concentrações de AERC, principalmente TRAc-3 e TRAc-4, possuíram as maiores intensidades de variação da cor. O TRAc-4, em particular, mudou de violeta para verde em apenas 15 min de contato com o ambiente contendo amônia, indicando elevada rapidez na transição de cor.



Figura 4. Comportamento da mudança visual de filmes contendo diferentes concentrações de AERC nos tempos de 0, 2, 5, 8, 11, 15, 20 e 25 min de contato com um mesmo ambiente contendo amônia volátil.

Para acompanhar quantitativamente a variação de cor dos filmes, um modelo estatístico que explicam a variação da coordenada de cor a^* , que varia do vermelho ao verde, em função do tempo de contato (t) e da quantidade de AERC adicionada nos filmes de AC (v) foi ajustado (R^2 de 0,89 e falta de ajuste do modelo não significativa). A equação e o comportamento de variação do modelo proposto pode ser visualizado pela utilização da metodologia de superfície de resposta, como mostrado na Equação 4 e na Figura 5a, respectivamente.

$$Y = 1,220 + 0,131 v + 0,012 t^2 - 0,297 t + 0,267 v * t. \quad \text{Equação 4}$$

Em que:

Y = coordenada de cor a^* ;

v = volume de AERC adicionado nos filmes de AC (mL);

t = tempo (min).

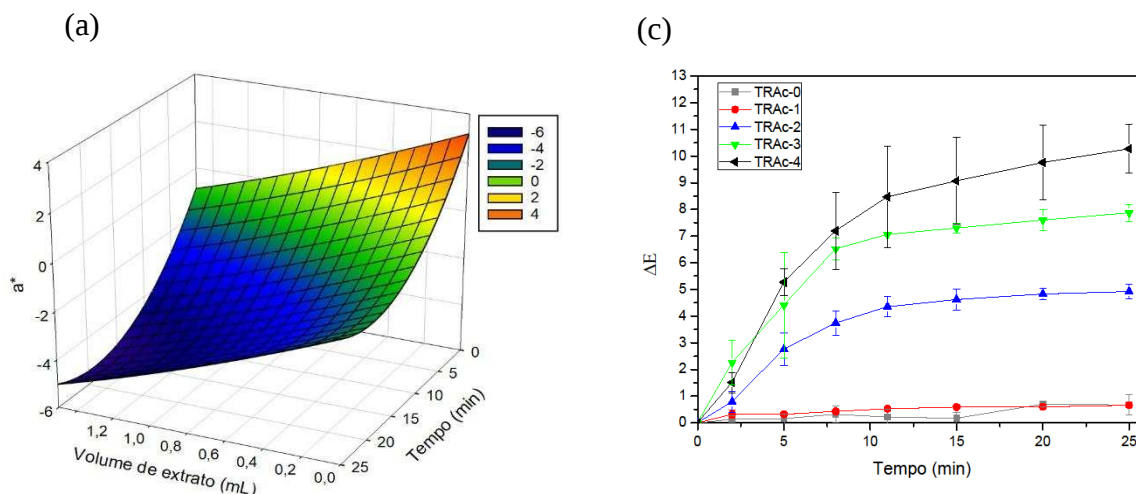


Figura 5. Comportamento de variação da coordenada de cor a^* em função do tempo e de diferentes volumes de AERC incorporados nos filmes de AC (a) variação do ΔE^* em função do tempo de contato para cada tratamento (b).

De acordo com os coeficientes da regressão ajustada, o efeito linear e positivo da concentração de AERC (v), assim como o efeito quadrático e positivo do tempo de contato dos filmes com a amônia (t) e o efeito positivo de interação $v*t$ foram significativos na variação da coordenada de cor a^* , ou seja, na variação de cor dos filmes na presença de amônia volátil ($p < 0,05$). Como pode ser visualizado na Figura 5a, o efeito de interação dos fatores avaliados v e t indicaram que a maior variação de cor dos filmes está relacionada com maiores concentrações de AERC na matriz polimérica, bem como maiores tempos de contato com amônia. A variação do ΔE^* (Figura 4c), que é a Diferença Total de Cor, ratifica que a alteração da coordenada a^* é a responsável na mudança visual da cor.

Ma *et al.* (2017) e Zhai *et al* (2017) reportaram resultados similares de mudança de cor em filmes na presença de amônia volátil. Ainda no estudo, Zhai *et al* (2017) também ajustaram curvas de calibração que descrevem o comportamento da absorbância de filmes ao longo do tempo. Além disso, os autores explicaram que o mecanismo de transição de cor está relacionado com a interação entre amônia e água,

que libera íon amônio (NH_4) e íon hidroxila (OH^-), sendo esta última a espécie que induz o comportamento ácido-base das antocianinas presentes e que consequentemente influencia a mudança de cor.

Durante o transporte e armazenamento, muitos alimentos são susceptíveis à degradação, seja de forma enzimática ou microbiológica. Esse processo pode ser acompanhado pela produção de bases, seja elas voláteis ou não, oriundas do metabolismo microbiano (Pacquit *et al.*, 2007). Nesse contexto, dispositivos como o desenvolvido neste estudo pode ser uma ferramenta atrativa e valiosa na monitorização da segurança e qualidade de alimentos.

3.5 Mudança colorimétrica em diferentes valores de pH

Após o tempo de contato com soluções com pH variando de 1,0 a 12,0, os parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , ΔE^* e h^* dos filmes foram determinados. Na Tabela 4 e na Figura 6 estão representados os dados obtidos com o TRAc-4. Nota-se tanto pela Figura 6 (a, b) como pela Tabela 4 que os filmes apresentaram mudança de cor somente em valores de pH mais baixos. Os valores de ΔE^* , determinado com as coordenadas de cor iniciais, apresentaram valores maiores apenas em pH 1,0 e 2,0. Além disso, analisando o parâmetro de cor h^* , somente nestes dois valores de pH os filmes apresentaram cor vermelha ($p < 0,05$), sendo que nos demais os filmes foram classificados como violetas, revelando que os filmes não apresentaram o mesmo potencial de variação de cor como o do AERC em solução (Figura 6a).



Figura 6. Comportamento do AERC em diferentes valores de pH (a) e do filme TRAc-4 contendo AERC em diferentes valores de pH (b).

Os resultados encontrados para a variação de cor em função de soluções em diferentes valores de pH não estão de acordo com grande parte da literatura que estuda filmes de bases poliméricas incorporadas com extratos contendo antocianinas e que apresentaram considerável transição de cor em diferentes valores de pH (Ma *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2016; Luchese *et al.*, 2017; Halász e Csóka, 2018). Além disso, Pereira Jr *et al.* (2015), Silva-Pereira *et al.* (2015) e Pourjavaher *et al.* (2017) ao trabalhar com filmes incorporados com extrato de repolho roxo também reportaram variações de cor mais proeminentes para diferentes valores de pH.

Uma das possíveis causas para este resultado pode ser devido ao pH da solução. Vos *et al.* (1966) estudaram a cinética de degradação do AC em diferentes temperaturas e valores de pH, e, os autores detectaram que a taxa de hidrólise do AC na temperatura de 23 °C é maior em pH mais alto, porém, também ocorre em pH baixo. A hidrólise de moléculas de AC leva a liberação de grupos acetil, que pode tornar a molécula de AC possivelmente reativa com a molécula de antocianina presente. Além disso, vale ressaltar que as antocianinas se tornam cada vez mais desprotonadas e instáveis com o aumento de pH (Prietto *et al.*, 2017). Essa possível interação entre AC e antocianinas pode induzir a uma imobilização destas últimas ao polímero, não apresentando assim, potencial de mudança de cor.

Outra possível causa para este resultado pode ser feita pela comparação com a mudança de cor dos filmes na presença de amônia (seção 3.4). A polaridade de uma molécula é medida pelo seu momento de dipolo (μ) e depende da soma vetorial dos

momentos relacionados às ligações polares individuais desta mesma molécula (Martins *et al.*, 2013). Apesar de serem moléculas polares, a água é consideravelmente mais polar que a amônia, possuindo μ de 1,85 e 1,47, respectivamente (McMurry, 2011). Considerando o AC como um polímero de caráter hidrofóbico, um maior número de moléculas de amônia “consegue” se difundir pelas cadeias do polímero em comparação com a água presente na solução contendo diferentes valores de pH, apresentando uma melhor transição de cor como foi detectado.

Com isso, pode-se inferir que o dispositivo desenvolvido apresenta melhor potencial de aplicação em alimentos em que a sua alteração ou degradação é caracterizada pela produção de compostos voláteis, como as aminas biogênicas voláteis (amônia e trimetilamina, por exemplo).

Tabela 4. Valores dos atributos colorimétricos L^* , a^* , b^* , ΔE^* e h^* para o filme TRAc-4 em contato com diferentes valores de pH.

pH	L^* [£]	a^* [£]	b^* [£]	ΔE^*	h^* [£]
1,0	37,02 ± 5,66 ^a	13,50 ± 1,60 ^a	-5,27 ± 0,63 ^a	10,52 ± 1,96	338,68 ± 0,57 ^a
2,0	36,19 ± 2,06 ^a	9,37 ± 0,47 ^b	-5,66 ± 0,22 ^a	7,02 ± 0,77	328,84 ± 1,08 ^{ab}
3,0	38,54 ± 3,37 ^a	5,33 ± 1,99 ^c	-5,75 ± 0,36 ^a	4,50 ± 2,11	311,71 ± 11,22 ^{bc}
4,0	37,62 ± 7,13 ^a	2,79 ± 1,28 ^{cd}	-5,44 ± 0,69 ^a	3,01 ± 2,29	296,13 ± 7,62 ^{cd}
5,0	39,32 ± 2,91 ^a	2,34 ± 0,45 ^{cd}	-4,67 ± 2,01 ^a	4,26 ± 1,35	299,00 ± 13,28 ^{cd}
6,0	37,01 ± 5,73 ^a	2,31 ± 0,57 ^d	-5,38 ± 0,22 ^a	2,29 ± 1,58	293,09 ± 4,94 ^{cd}
7,0	39,97 ± 4,78 ^a	1,98 ± 0,54 ^d	-5,15 ± 0,91 ^a	4,50 ± 1,41	290,74 ± 2,17 ^d
8,0	39,63 ± 5,78 ^a	2,55 ± 0,04 ^d	-6,09 ± 0,40 ^a	4,02 ± 0,62	292,73 ± 1,04 ^d
9,0	37,20 ± 5,31 ^a	2,53 ± 0,09 ^d	-6,72 ± 0,24 ^a	3,47 ± 2,18	290,61 ± 0,14 ^d
10,0	37,24 ± 8,90 ^a	2,37 ± 0,34 ^d	-6,37 ± 0,61 ^a	3,85 ± 1,75	290,38 ± 1,10 ^d
11,0	35,91 ± 5,01 ^a	2,19 ± 0,24 ^d	-5,19 ± 0,35 ^a	3,38 ± 0,95	292,83 ± 0,94 ^d
12,0	36,37 ± 2,31 ^a	1,52 ± 0,86 ^d	-5,20 ± 0,85 ^a	4,04 ± 1,61	286,02 ± 7,44 ^d

[£] Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem pelo Teste de Tukey com significância de 0,05.

3.6 Estabilidade de cor e potencial de aplicação dos filmes inteligentes

O comportamento da estabilidade de cor dos filmes contendo AERC e que está diretamente relacionada com a estabilidade das antocianinas presentes na matriz polimérica pode ser visualizado pela Figura 7. Por meio da observação visual das imagens encontradas na Figura 7 (a, b, c), o tempo e a incidência da luz influenciaram tanto na cor dos filmes em contato com a luz (Figura 7b) como nos filmes com ausência de luz (Figura 7c).

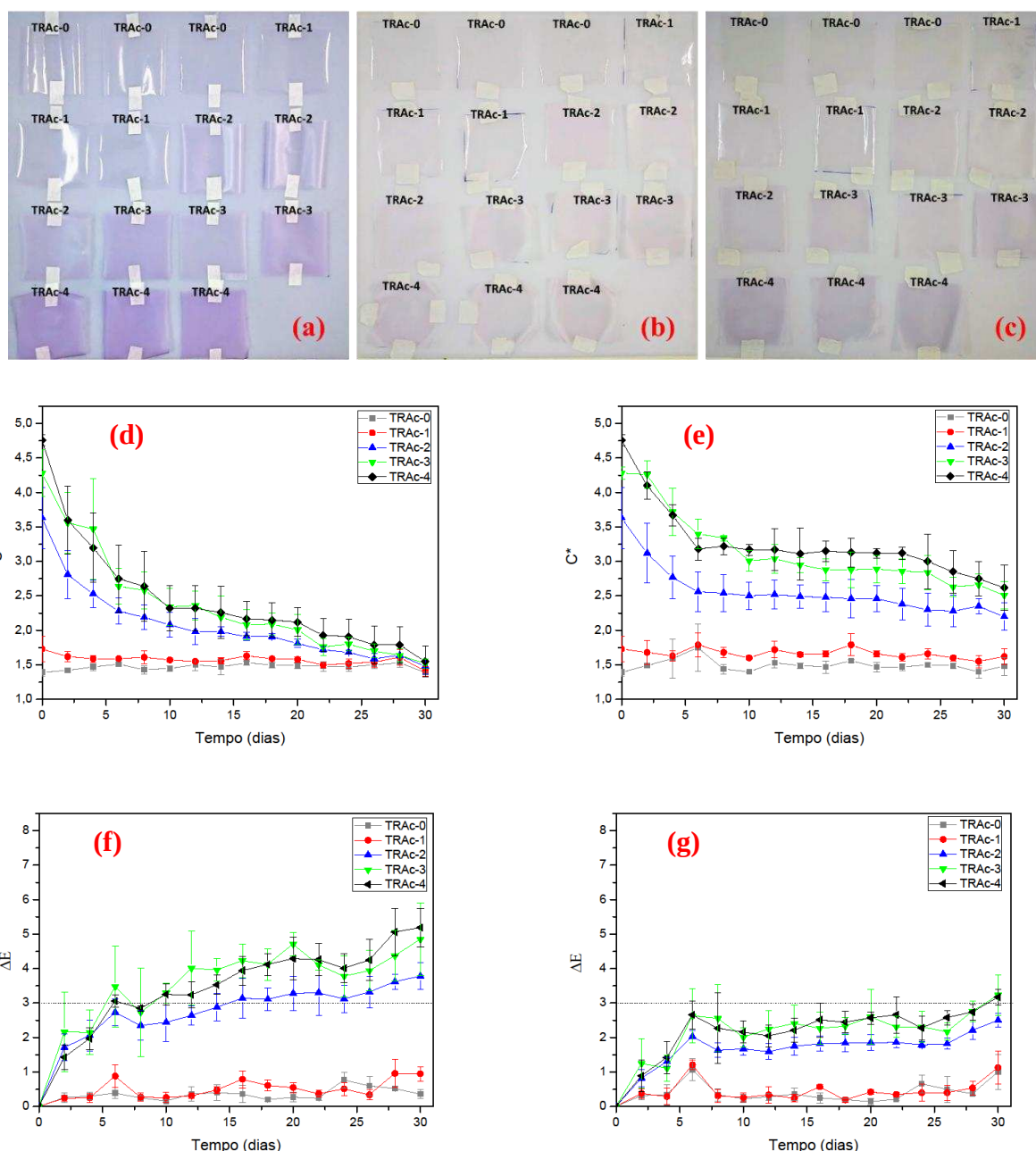


Figura 7. Alteração na cor dos filmes submetidos ao teste de estabilidade colorimétrica nos tempos: inicial (a), após 30 dias sob incidência de luz (b) e após 30 dias na ausência de luz (c). Variação dos parâmetros de cor: índice de saturação (C^*) sob incidência de luz (d) e ausência de luz (e) e da Diferença Total de Cor (ΔE^*) sob incidência de luz (f) e ausência de luz (g).

A alteração da cor dos tratamentos adicionados de AERC foi confirmada pelo cálculo a cada dois dias dos atributos colorimétricos durante o tempo de 30 dias de estocagem. O índice de saturação ou cromaticidade (C^*) é um atributo quantitativo de intensidade de cor e informa a pureza da cor em relação ao branco, e, quanto maior o seu valor, mais intensa é a cor do material (Minolta, 2007; Ramos e Gomide, 2009). Já a diferença total de cor (ΔE^*) é um atributo que detecta o quanto a impressão de cor de uma amostra é diferente sensorialmente de um determinado padrão (Ramos e

Gomide, 2009). Nota-se que tanto o C^* como o ΔE^* dos filmes na presença e ausência de luz apresentaram diminuição (Figura 6 d, e) e variação da cor inicial (Figura 6 f, g) ao longo do tempo, respectivamente.

Nitidamente a luz também influenciou na variação da cor dos filmes. Principalmente para os tratamentos com maiores concentrações de AERC (TRAc-2, TRAc-3 e TRAc-4), o C^* diminuiu de forma muito mais proeminente para os filmes com incidência de luz. Por exemplo, para o TRAc-4 na presença de luz, os filmes perderam a metade de sua intensidade inicial (C_0^*) com aproximadamente 8 dias de estocagem, já o mesmo tratamento armazenado na ausência de luz não atingiu este valor de perda durante os 30 dias. Além disso, esse comportamento pode ser descrito pela variação do ΔE^* . Segundo Schubring (1999), diferenças da ordem de 3 são classificadas como “muito pronunciadas” ao olho humano e, os tratamentos TRAc-3 e TRAc-4 sem incidência de luz só apresentou esse valor 30 dias de estocagem, indicando que a ausência de luz fornece filmes mais estáveis ao longo do tempo.

Os resultados encontrados foram similares aos reportados por Prietto *et al.* (2017), que trabalharam com filmes à base de amido incorporados com extrato de feijão preto e extrato de repolho roxo. Os filmes contendo extrato de repolho roxo na incidência de luz também apresentaram maior variação do ΔE^* em relação aos filmes na ausência da luz. Porém, estes filmes foram mais estáveis que os filmes contendo extrato de feijão preto. Os autores alegaram que o extrato de repolho roxo é mais estável devido à presença de antocianinas acetiladas à vários tipos de ácidos, o que fornece maior impedimento estérico para sua degradação. De fato, as antocianinas presentes no extrato de repolho roxo são principalmente as cianidinas-3,5-O-diglicosídeos em que os açúcares ligados à antocianidina podem estar monoacilados, diacilados ou nonacilados por ácidos orgânicos (Bridle e Timberlake, 1997; Wiczowski *et al.*, 2013).

Para comparar o potencial de utilização dos filmes como dispositivos inteligentes sensíveis a variações de pH durante o armazenamento de alimentos, após 30 dias de estocagem, os tratamentos TRAc-4 (na incidência e ausência de luz) foram inseridos em dessecador contendo solução de amônia durante 25 min. Após esse tempo, foram determinadas as coordenadas de cor L^* , a^* , b^* e calculado o ΔE^* (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios $\pm$ desvio padrão para as coordenadas de cor L^* , a^* , b^* e o parâmetro colorimétrico ΔE^* dos filmes em contato com amônia por 25 min após diferentes condições de armazenamento.

Armazenamento	L^* [£]	a^* [£]	b^* [£]	ΔE^* [£]
Tempo 0	31,90 $\pm$ 1,54 ^a	-6,90 $\pm$ 0,68 ^a	-2,31 $\pm$ 0,47 ^a	11,33 $\pm$ 0,24 ^a
30 dias sem luz	34,34 $\pm$ 1,27 ^a	-2,76 $\pm$ 0,43 ^b	-0,26 $\pm$ 0,01 ^b	4,96 $\pm$ 0,22 ^b
30 dias com luz	35,30 $\pm$ 1,36 ^a	-1,34 $\pm$ 0,23 ^c	-0,39 $\pm$ 1,07 ^b	2,64 $\pm$ 0,13 ^c

[£] Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem pelo Teste de Tukey com significância de 0,05.

Pela Tabela 5, conclui-se que o coordenada de cor a^* (que varia do vermelho ao verde) foi o atributo de cor que mais influenciou na variação do ΔE^* . Em função disso, o ΔE^* apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as três condições avaliadas. Porém, vale ressaltar que apesar do tratamento na ausência de luz ter sido menor que o tratamento sem estocagem ($p < 0,05$), o valor médio do ΔE^* de $4,96 \pm 0,22$ ainda pode ser classificado como uma mudança de cor “muito pronunciada” (Schubring, 1999).

É fato que as antocianinas apresentam grande potencial para serem aplicadas como dispositivos em filmes inteligentes, porém, elas podem ser afetadas por vários fatores como temperatura, luz, metais e oxigênio (Markakis *et al.*, 1982; Zhai *et al.*, 2017). Nesse contexto, é necessário avaliar a estabilidade e manutenção de cor das antocianinas presentes em filmes para que estes sirvam como embalagens inteligentes confiáveis aos consumidores durante o armazenamento dos alimentos.

4. Conclusão

Os resultados encontrados neste estudo apresentaram características interessantes no que diz respeito ao desenvolvimento de dispositivos baseados em fontes renováveis e biodegradáveis com a função de embalagem inteligente. Apesar da adição de extrato de antocianinas do repolho roxo em filmes de acetato de celulose terem apresentado menores características de barreira ao oxigênio e mudança de cor em diferentes valores de pH, os filmes desenvolvidos possuíam excelentes propriedades de transição colorimétrica para identificação de bases voláteis de forma simples, visual e rápida. Além disso, o presente estudo proporcionou consideráveis informações sobre a estabilidade das antocianinas adicionadas na matriz polimérica,

e, que está relacionada ao potencial de aplicação e de fornecimento de informações confiáveis sobre a qualidade e segurança de alimentos durante o armazenamento.

5. Referências Bibliográficas

Almeida, G. W. R. **Desenvolvimento e caracterização de filme nanocompósito de base celulósica e sua avaliação como embalagem ativa antimicrobiana**. 2010. 95f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2010.

ASTM - American Society Standard Testing and Materials. **Standard Test Method for Determining Gas Permeability Characteristics of Plastic Film and Sheeting**. D1434-82, p. 13, 2009.

ASTM - American Society Standard Testing and Materials. **Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting**. D882-12, p. 12, 2012.

Bridle, P.; Timberlake, C. F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. **Food Chemistry**, v. 58, n. 1-2, p. 103-109, 1997.

Bruna, J. E.; Galotto, M. J.; Guarda, A.; Rodríguez, F. A novel polymer based on MtCu²⁺/cellulose acetate with antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 317-323, 2014.

Camilloto, G. P. **Desenvolvimento e avaliação de embalagem ativa incorporada com produto à base de triclosan para aplicação em carne bovina**. 2009. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

Cardozo, M.; Lima, K. S. C.; França, T. C. C.; Lima, A. L. S. Aminas Biogênicas: Um Problema de Saúde Pública. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 2, p. 149-168, 2013.

Cha, D. S.; Choi, J. H.; Chinnan, M. S.; Park, H. J. Antimicrobial Films Based on Na-alginate and κ -carrageenan. **LWT - Food Science and Technology**, v. 35, p. 715-719, 2002.

Connel, J. J.; Shewan, J. M. **Past, present and future of fish science**. In: Connel, J. J (Editor). *Advances in fish science and technology*. England: Fishing News Book Ltd; 1980. p. 56-65.

Davies, K. M.; Schwinn, K. E.; Gould, K. S. Anthocyanins. **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**, v. 2, p. 355-363, 2017.

Francis, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v. 28, p. 273-314, 1989.

Ghaemi, N.; Madaeni, S. S.; Alizadeh, A.; Darei, P.; Vatanpour, V.; Falsafi, M. Fabrication of cellulose acetate/sodium dodecyl sulfate nanofiltration membrane:

Characterization and performance in rejection pesticides. **Desalination**, v. 290, p. 99-106, 2012.

Gilbert, M. Cellulose Plastics. In: GILBERT, M (Ed). **Brydson's plastics materials**. 8^a ed. UK and US: Butterworth-Heinemann, 2017.

Gupta, B. D.; Sharma, S. A long-range fiber optic pH sensor prepared by dye doped sol-gel immobilization technique. **Optics Communications**, v. 154, p. 5-6, 1998.

Halász, K.; Csóka, L. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace extract immobilized in chitosan for colorimetric pH indicator film application. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 185-193, 2018.

Han, B.; Zhang, D.; Shao, Z.; Kong, L.; Lv S. Preparation and characterization of cellulose acetate/carboxymethyl cellulose acetate blend ultrafiltration membranes. **Desalination**, v. 311, p. 80-89, 2013.

Harini, K.; Mohan, C.; Ramya, K.; Karthikeyan, S.; Sukumar, M. Effect of Punica granatum peel extracts on antimicrobial properties in Walnut shell cellulose reinforced Bio-thermoplastic starch films from cashew nut shells. **Carbohydrate Polymers**, v. 184, p. 231-242, 2018.

Liu, B.; Xu, H.; Zhao, H.; Liu, W.; Zhao, L.; Li, Y. Preparation and characterization of intelligent starch/PVA films for simultaneous colorimetric indication and antimicrobial activity for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 842-849, 2017.

Luchese, C. L.; Frick, J. M.; Patzer, V. L.; Spada, J. C.; Tessaro, I. C. Synthesis and characterization of biofilms using native and modified *pinhão* starch. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 203-210, 2015.

Ma, W.; Tang, C.; Yin, S.; Yang, X.; Wang, Q.; Liu, F.; Wei, Z. Characterization of gelatin-based edible films incorporated with olive oil. **Food Research International**, v. 49, p. 572-579, 2012.

Ma, Q.; Wang, L. Preparation of a visual pH-sensing film based on tara gum incorporating cellulose and extracts from grape skins. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 235, p. 401-407, 2016.

Ma, Q.; Du, L.; Wang, L. Tara gum/polyvinyl alcohol-based colorimetric NH₃ indicator films incorporating curcumin for intelligent packaging. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 244, p. 759-766, 2017.

Ma, Q.; Liang, T.; Cao, L.; Wang, L. Intelligent poly (vinyl alcohol)-chitosan nanoparticles-mulberry extracts films capable of monitoring pH variations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 576-584, 2018.

Mano, E. B.; Mendes, L. C. **Introdução a Polímeros**. 2^a edição. Rio de Janeiro: Editora Blucher, 1999. 191 p.

Markakis, P. **Stability of anthocyanins in food**. In: P. Markakis (Ed.), Anthocyanins as food colors (pp. 163–180). London, UK: Academic Press Inc. 1982.

Martins, C. R.; Lopes, W. A.; Andrade, J. B. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, v. 36, n. 8, p. 1248-1255, 2013.

McMurry, J.; **Química Orgânica**, 7^a ed., Cengage Learning: São Paulo, 2011.

Minolta. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation**. JAPAN: Minolta Co. Ltda. p. 59. 2007.

Pacquit, A.; Lau, K. T.; McLaughlin, H.; Frisby, J.; Quilty, B.; Diamond, D. Development of a volatile amine sensor for the monitoring of fish spoilage. **Talanta**, v. 69, p. 515-520, 2006.

Pastor, C.; Sánchez-González, L.; Chiralt, A.; Cháfer, M.; González-Martínez, C. Physical and antioxidant properties of chitosan and methylcellulose based films containing resveratrol. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 272–280, jan. 2013.

Pereira Jr, V. A.; Arruda, I. N. Q.; Stefani, R. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as TimeeTemperature Indicators for application in intelligent food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 180-188, 2015.

Pola, C. C.; Medeiros, E. A. A.; Pereira, O. L.; Souza, V. G. L.; Otoni, C. G.; Camilloto, G. P.; Soares, N. F. F. Cellulose acetate active films incorporated with oregano (*Origanum vulgare*) essential oil and organophilic montmorillonite clay control the growth of phytopathogenic fungi. **Food packaging and shelf life**, v. 9, p. 69-78, 2016.

Pourjavaher, S.; Almasi, H.; Meshkini, S.; Pirsá, S.; Parandi, E. Development of a colorimetric pH indicator based on bacterialcellulose nanofibers and red cabbage (*Brassica oleraceae*) extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 193-201, 2017.

Prietto, L.; Mirapalhete, T. C.; Pinto, V. Z.; Hoffmann, J. F.; Vanier, N. L.; Lim, L.; Dias, A. R. G.; Zavareze, E. R. pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. **LWT – Food Science and Technology**, v. 80, p. 492-500, 2017.

Ramos, E. M.; Gomide, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologia**. Viçosa: Editora UFV. 2009.

Sarantópoulos, C. G. L.; Oliveira, L. M.; Padula, M.; Coltro, L.; Alves, R. M. V.; Garcia, E. C. **Embalagens plásticas flexíveis: Principais polímeros e avaliação de propriedades**. Editora Cetea/ITAL. Campinas. 2002.

Schubring, R. Influence of freezing/thawing and frozen storage on the texture and colour of brownshrimp (*Crangon crangon*). **Archiv Lebensmittelhygiene**, v. 53, n. 2, p. 34-36, 2002.

Silva-Pereira, M. C., Teixeira, J. A., Pereira-Junior, V. A., & Stefani, R. Chitosan/corn starch blend films with extract from *Brassica oleraceae* (red cabbage) as a visual indicator of fish deterioration. **LWT-Food Science and Technology**, v. 61, p. 258–262, 2015.

Siro, I. Active and intelligent packaging of food. In: Bhat, R.; Alias, A. K.; Paliyath, G. (Eds). **Progress in food preservation**. New York: John Wiley and Sons Inc, 2012. p. 23-48.

Vos, K. D.; Burris, F. O.; Riley, R. L. Kinetic Study of the Hydrolysis of Cellulose Acetate in the pH Range of 2-10. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 10, p. 825–832, 1966.

Wiczowski, W.; Szawara-Nowak, D.; Topolska, J. Red cabbage anthocyanins: Profile, isolation, identification, and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 51, p. 303-309, 2013.

Wei, Y.; Cheng, C.; Ho, Y.; Tsai, M.; Mi, F. Active gellan gum/purple sweet potato composite films capable of monitoring pH variations. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 491-502, 2017.

Yang, W.; Sousa, A. M. M.; Fan, X.; Jin, T.; Li, X.; Tomasula, P. M.; Liu, L. Electrospun ultra-fine cellulose acetate fibrous mats containing tannic acid-Fe³⁺ complexes. **Carbohydrate Polymers**, 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.078>.

Yoo, S.; Krochta, J. M. Whey protein-polysaccharide blended edible film formation, barrier, tensile, thermal, and transparency properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 91, p. 2628-2636, 2011.

Zhai, X.; Shi, J.; Zou, X.; Wang, S.; Jiang, C.; Zhang, J.; Huang, X.; Zhang, W.; Holmes, M. Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 308-317, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível a produção de filmes à base de acetato de celulose, polímero com caráter hidrofóbico, incorporado com extrato de repolho roxo, que apresenta considerável hidrofiliabilidade. Isso pode ser considerado um diferencial do trabalho comparando com a literatura. Na maioria dos trabalhos desenvolvidos ocorre a incorporação de extratos vegetais em bases de caracteres mais hidrofílicos devido à uma melhor compatibilidade de materiais, ou seja, entre o polímero e o extrato.

Devido a facilidade de obtenção e produção do extrato de antocianinas do repolho roxo, os filmes desenvolvidos se tornam uma excelente alternativa para a sua utilização como embalagem inteligente, considerando aspectos de simplicidade, sensibilidade e baixo custo.

Considerando a natureza dos componentes do dispositivo elaborado, além da capacidade inteligente, este filme possivelmente pode agir como um filme ativo antioxidante, sugerindo mais estudos a respeito do seu potencial ativo e consequente liberação das antocianinas presentes na matriz polimérica para o meio.

Possivelmente devido à maior hidrofobicidade, os filmes elaborados apresentaram características interessantes quanto à mudança de cor, principalmente para espécies voláteis, como o ácido acético e amônia. Nesse contexto, o estudo sugere um excelente potencial de aplicação do dispositivo em alimentos que apresentem a produção desse tipo de substâncias quando estão em processo de alteração ou degradação, monitorando assim a qualidade e segurança desses alimentos.