

SAMIRIS CÔCCO TEIXEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE FILME INTELIGENTE INCORPORADO DE
ANTOCIANINAS DE AÇAÍ COMO INDICADOR DE QUALIDADE DE
ALIMENTOS**

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*.

Orientadora: Nilda de Fátima Ferreira Soares

Coorientadores: Paulo César Stringheta
Taíla Veloso de Oliveira

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

T266d
2021
Teixeira, Samiris Côcco, 1995-
Desenvolvimento de filme inteligente incorporado de antocianinas
de açaí como indicador de qualidade de alimentos / Samiris Côcco
Teixeira. - Viçosa, MG, 2021.
80 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

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

1. Filmes plásticos. 2. Antocianinas. 3. Camarões (Animal).
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. 664.07

Bibliotecário(a) responsável: Renata de Fatima Alves CRB6/2578

SAMIRIS CÔCCO TEIXEIRA

DESENVOLVIMENTO DE FILME INTELIGENTE INCORPORADO DE
ANTOCIANINAS DE AÇAÍ COMO INDICADOR DE QUALIDADE DE
ALIMENTOS

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: 21 de julho de 2021.

Assentimento:



Samiris Côcco Teixeira
Autora


Nilda de Fátima Ferreira Soares
Professora Titular
DTAUFV

Nilda de Fátima Ferreira Soares
Orientadora

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer especialmente à minha mãe Regiane e à minha avó Dalzira, que sempre me apoiaram e confiaram em mim! Devo-vos tudo!

À Leticia, que esteve ao meu lado desde o início, encorajou-me, deu-me forças e garantiu-me sempre um ambiente calmo e mais leve! Agradeço à família Minette, Gislene, Enivaldo, Marcelo e Ricardo pelo acolhimento!

À família Côcco, muito obrigada por me ensinarem, através das vossas ações, a ser uma pessoa empenhada e a não desistir tão facilmente!

À minha orientadora, Nilda, por me acolher no laboratório, pela compreensão e pela orientação. Sou muito grata ao meu querido professor Stringheta pelas palavras sábias, o incentivo, o acolhimento e as ideias!

À Taíla, pela valiosa cooperação, conselho e apoio ... Taíla, muito obrigada por acreditar no meu potencial! Você é uma excelente profissional, sem você, eu não estaria aqui! Tenho certeza que seu futuro será brilhante, assim como você é!

Ao Professor Marcos, pelas ideias, correções e apoio desde a época do Ifes.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela grande oportunidade.

Ao CNPq, pela atribuição da bolsa de estudo.

Aos meus amigos Matheus, Liz, Renata. Obrigada pelas conversas e conselhos.

Ao Rafael, eu não estaria aqui hoje sem os vossos ensinamentos! Obrigada pelos longos dias de pesquisa no laboratório, que foram cansativos, mas de alguma forma foram interessantes, o que me impulsionou cada vez mais buscar novos conhecimentos!

Agradeço a Alane, Mariah e Laís pelo acolhimento, convívio dentro e fora do laboratório. Além de serem grandes pesquisadoras, vocês são especiais! A amizade que construímos tornou-se imprescindível na minha vida! À Rafaela, pela convivência no laboratório e por ter sempre respostas rápidas às minhas perguntas.

Aos meus colegas de laboratório Wilher, João, Clara, Tarsila, Laura, Mariane. Ao técnico Fernando, obrigada pelas conversas, pelos momentos felizes que me trouxe! Ao técnico Victor, por passar finais de semana comigo no laboratório! À Thaís Gregorio, com as correções executadas do português, obrigada pela paciência!

Essa dissertação não é apenas o resultado de um esforço pessoal, mas também o apoio intelectual e emocional de várias pessoas, direta ou indiretamente, por esta razão gostaria de expressar os meus sinceros agradecimentos a todos em geral!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior – Brasil (CAPES) e também pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

*“Se soubéssemos o que estávamos fazendo, não se chamaria
pesquisa, não é mesmo?”
Albert Einstei*

RESUMO

TEIXEIRA, Samiris Côcco, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Desenvolvimento de filme inteligente incorporado de antocianinas como indicador de qualidade de alimentos.** Orientadora: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Coorientadores: Paulo César Stringheta e Taíla Veloso de Oliveira.

Os plásticos à base de petróleo são utilizados principalmente na indústria de embalagens devido à sua excelente versatilidade, propriedades mecânicas e propriedades de barreira. Apesar das suas muitas vantagens, os plásticos à base de petróleo são uma importante fonte de poluição. Tal preocupação despertou interesse crescente na substituição dos plásticos à base de petróleo por materiais poliméricos biodegradáveis. A este respeito, biopolímeros como o acetato de celulose (AC), são potenciais alternativas para mitigar as desvantagens supracitadas. No entanto, o uso de polímeros de base biológica é limitado devido às suas características mecânicas frágeis e a baixa estabilidade térmica, mecânica e de barreira. A introdução de plastificantes diminui a temperatura de transição vítrea, aumenta a flexibilidade e propriedades de proteção a agentes externos, dos filmes biodegradáveis semelhantes aos polímeros plásticos convencionais. Aliado a isso, filmes inteligentes produzidos com AC, plastificantes e antocianinas são uma excelente alternativa para monitoramento real da vida de prateleira de diversos alimentos. O uso das antocianinas nos filmes se dá referente a sua capacidade de mudança de cor em decorrência da variação do pH. As antocianinas são pigmentos naturais hidrossolúveis de estrutura polifenólica. No primeiro estudo, foram examinados o efeito do aumento da concentração dos plastificantes GLI ou TEC nas propriedades físico-químicas dos filmes de AC, utilizando técnicas tais como espectroscopia infravermelha (FT-IR), análise termogravimétrica (TGA), permeabilidade ao vapor de água (PVA), microscopia eletrônica de varredura (SEM), análise de transmissão de luz, opacidade, exsudação de plastificantes e testes mecânicos. Os filmes com a adição de GLI reduziram a transmissão da luz de 79,6 (%) para 16,8 (%) para concentrações molares mais elevadas do plastificante, exibindo uma opacidade de 38,22% quando concentração de 3,6 mols de GLI foi usada. Ademais, foi observada uma exsudação baixa de plastificantes, com um valor aproximado de 2,3% para os filmes plastificados com 7,2 mols de GLI, em comparação aos filmes com TEC. Os filmes desenvolvidos com TEC exibiram boas propriedades mecânicas e uma baixa permeabilidade ao vapor de água, quando comparado aos filmes de GLI. No segundo estudo, os filmes plastificados com GLI ou TEC foram incorporados na matriz polimérica de AC, assim como os extratos de antocianinas de açaí em concentrações molares de 0; 1,8; 3,6; 5,4; e 7,2 mols, para

os quais foram desenvolvidos indicadores colorimétricos da degradação de camarão. O estudo consistiu principalmente em avaliar a influência da variação da concentração dos plastificantes TEC e GLI na resposta colorimétrica e na sensibilidade das antocianinas de açaí incorporadas na matriz de AC. As diferentes concentrações molares dos plastificantes GLI ou TEC utilizadas modificaram a resposta colorimétrica dos indicadores colorimétricos quando expostos ao meio pH básico e aos vapores de amoníaco. Os indicadores colorimétricos com 1,8 e 7,2 mols de GLI e TEC, respectivamente, exibiram uma cor rosa que mudou para cinza juntamente com a transição do camarão cinza do estado fresco para o estado deteriorado, o que mostrou concordância entre os indicadores colorimétricos e a condição de frescor de alimentos.

Palavras-chave: Filmes inteligentes. Plastificantes. Indicador Colorimétrico. Antocianinas. Camarão.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Samiris Côcco, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Development of intelligent film incorporating anthocyanins as food quality indicator.** Adviser: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Co-advisers: Paulo César Stringheta and Taíla Veloso de Oliveira.

Petroleum-based plastics are mainly used in the packaging industry because of their excellent versatility, mechanical properties, and barrier properties. Despite their many advantages, petroleum-based plastics is a major source of pollution because they are non-biodegradable and come from non-renewable sources. Such concerns have sparked a growing interest in replacing petroleum-based plastics with biodegradable polymer materials. In this regard, polysaccharide-biopolymers from agricultural sources such as cellulose acetate (CA) are potential alternatives to alleviate the significant disadvantages of petroleum-based plastics supra cited. However, bio-based polymers are brittle and do not have good thermal, mechanical, and barrier properties. The introduction of plasticizers increases the flexibility, the glass transition temperature, and the protective properties against external influences of biodegradable films similar to conventional plastic polymers. Therefore, the goal of this study was to understand the potential influence of plasticizers on the chromic capacity of indicator substances into polymeric bases. For that, colorimetric indicators were produced by acai anthocyanin extract (AE) incorporation into AC added to different concentrations of the plasticizers: glycerol (GLI) and triethyl citrate (TEC), to evaluate the ability to discriminate between fresh and spoiled shrimp. In the first study, the films were plasticized with different molar concentrations of TEC or GLI, and they were analyzed concerning their physical and chemical aspects, using techniques such as infrared spectroscopy (FT-IR), thermogravimetric analysis (TGA), water vapor transmission (WVP), scanning electron microscopy (SEM), transmission analysis, opacity, plasticizer precipitation, and mechanical tests. , the light transmission sank from 79.6 (%) to 16.8 (%) for higher molar concentrations and with an opacity of 38.22% for the 3.6 mol plasticization. In addition, it was observed a low plasticizer exudation, with an approximate value of 2.3% when 7.2 mols of GLI was used. The films developed with TEC exhibited good mechanical properties and low water vapor permeability. In the second study, the acai-anthocyanin extracts (0; 1.8; 3.6; 5.4, and 7.2 mols) were incorporated into GLI or TEC plasticized AC filmes to produce colorimetric indicators for shrimp degradation detection. The study evaluated the influence of different TEC or GLI plasticizer concentrations on the acai anthocyanins' colorimetric response and sensitivity incorporated into AC matrices. The different molar concentrations of the plasticizers used, GLI or TEC, modified the colorimetric response of the colorimetric indicators

when they were exposed to a basic pH medium and ammonia vapors. The 1.8 and 7.2 mole GLI and TEC colorimetric indicators exhibited a pink color that changed to gray along with the transition from gray shrimp when fresh to spoiled, indicating that the colorimetric indicators accurately indicate the freshness of food can.

Keywords: Intelligent films. Plasticizers. Colorimetric Indicator. Anthocyanins. Shrimp.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
OBJETIVO GERAL.....	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
EFEITOS DOS PLASTIFICANTES GLICEROL E TRIETIL CITRATO SOBRE AS PROPRIEDADES MOLECULARES, TÉRMICAS, MECÂNICAS E DE BARREIRA DOS FILMES DE ACETATO DE CELULOSE	19
RESUMO.....	19
1. INTRODUÇÃO.....	20
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.1 Material	21
2.2 Preparo dos filmes	22
2.3 Caracterização dos filmes.....	22
2.3.1 Espessura e propriedades mecânicas	22
2.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	22
2.3.3 Análise termogravimétrica (TGA).....	22
2.3.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)	23
2.3.5 Permeabilidade ao vapor d'água (PVA).....	23
2.3.6 Determinação da transmitância e opacidade	24
2.3.7 Exsudação de plastificantes – Resistência química em n-heptano	24
2.4 Análise estatística.....	24
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
3.1 Espessura e propriedades mecânicas.....	25
3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	27
3.3 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)	28
3.4 Análise termogravimétrica (TGA).....	31
3.5 Análise de transmitância e opacidade	32
3.6 Permeabilidade ao vapor d'água (PVA).....	34
3.7 Exsudação de plastificantes.....	35
4. CONCLUSÕES	37
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
PRODUÇÃO DE INDICADORES COLORIMÉTRICOS A BASE DE ACETATO DE CELULOSE INCORPORADOS COM EXTRATO DE AÇÁI E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES MOLARES DE PLASTIFICANTES, PARA MONITORAR O FRESCOR DE CAMARÃO CINZA	42

RESUMO.....	42
1. INTRODUÇÃO.....	43
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.1 Materiais.....	45
2.2 Obtenção dos frutos de açaí (<i>Euterpe oleraceae</i> Mart.).....	45
2.3 Obtenção do extrato fenólico bruto.....	45
2.4 Caracterização dos extratos obtidos.....	46
2.5 Preparo dos indicadores colorimétricos.....	46
2.6 Caracterização dos indicadores colorimétricos.....	46
2.6.1 Propriedades mecânicas.....	46
2.6.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	46
2.6.3 Espectro UV-vis de EA e de indicadores colorimétricos submetidos a diferentes valores de pH 47	
2.6.4 Análise termogravimétrica (TGA).....	47
2.6.5 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR).....	47
2.6.6 Índice de intumescimento e Índice de solubilidade.....	47
2.6.7 Avaliação colorimétrica do indicador colorimétrico em condição simulada em vapores de amônia e reversibilidade.....	48
2.6.8 Estabilidade de cor dos indicadores colorimétricos inteligentes após detecção de NH ₃	49
2.6.9 Capacidade de alteração de cor após armazenamento.....	49
2.6.10 Aplicação dos indicadores colorimétricos na deterioração do camarão cinza.....	49
2.7 Determinação de nitrogênio básico total volátil (TVB-N) e pH.....	50
2.8 Análise colorimétrica dos indicadores em tempo real.....	50
2.9 Análise estatística.....	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
3.1 Caracterização do extrato etanólico de EA.....	51
3.2 Propriedades mecânicas.....	53
3.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	55
3.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR).....	56
3.5 Propriedades termogravimétricas (TGA).....	58
3.6 Índice de solubilidade e Índice de intumescimento.....	61
3.7 Comportamento cromático dos indicadores colorimétricos em condição simulada pela exposição a vapores de amônia e da capacidade de reversibilidade em vapores ácidos	63
3.8 Alteração de cor dos indicadores colorimétricos em de pH básico.....	66

3.9	Estabilidade de cor após exposição a NH ₃	67
3.10	Capacidade de alteração de cor após armazenamento	70
3.11	Aplicação dos indicadores de EA/AC para o monitoramento da deterioração de camarão 72	
4.	CONCLUSÃO.....	75
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
	CONCLUSÃO GERAL	80

INTRODUÇÃO GERAL

O Índice de Desperdício de Alimentos 2021, organizado pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (UNEP), estimou que em 2019 foram desperdiçados 931 milhões de toneladas de alimentos, o que equivale a 17 % da produção global. O relatório apresenta também que os setores doméstico, serviços de alimentação e varejo são responsáveis, respectivamente, por 61%, 26%, e 13% do desperdício global de alimentos.

A quantidade de resíduos tem impactos ambientais, sociais e econômicos, dos quais entre 8% e 10% das emissões globais de gases de efeito estufa estão relacionados aos alimentos não consumidos (UNEP, 2021). Sendo assim, as embalagens desempenham papel fundamental na redução do desperdício alimentar.

As embalagens plásticas feitas de petroquímicos são amplamente utilizadas, pois são baratas, têm boas propriedades de tração e são uma barreira eficaz contra oxigênio, dióxido de carbono e vapor de água (NCUBE *et al.*, 2020). Contudo podem se tornar um problema pois a indústria de embalagens consome as maiores quantidades de plástico produzidas no mundo, gerando resíduos plásticos que entram no meio ambiente a um ritmo alarmante.

Em 2012, o volume global de produção de plásticos foi de 288 milhões de toneladas, sendo que em 2015 este número subiu para 448 milhões de toneladas (PARKER, 2015). Estima-se que 90 milhões de toneladas de resíduos plásticos das regiões costeiras acabam nos oceanos a cada ano, e só no Brasil 890 toneladas de plástico são despejadas diariamente nos oceanos, o que corresponde a 325.000 toneladas por ano, de acordo com o relatório da organização Oceana (HOWARD *et al.*, 2019; OCEANA, 2020). Portanto, os materiais de embalagem precisam ser adaptados utilizando recursos renováveis que tenham menor impacto sobre o meio ambiente.

Os plásticos biodegradáveis ou bioplásticos são ótimas alternativas para mudar o alarmante cenário. Os bioplásticos feitos a partir de recursos renováveis que podem ser naturalmente reciclados por processos biológicos, como é o caso do acetato de celulose.

O acetato de celulose é um bioplástico obtido por meio da esterificação da celulose com ácido acético, responsável pela substituição de grupos hidroxilas da celulose por grupos acetila (WATABE *et al.*, 2018). Suas aplicações são limitadas devido à baixa estabilidade térmica, fracas propriedades mecânicas e de barreira e altos custos de fabricação, o que limita suas aplicações de uso como embalagem (RAI *et al.*, 2021).

Com intuito de melhorar as propriedades mecânicas do acetato de celulose, a adição de plastificantes é crucial para produzir embalagens funcionais, econômicas e ecologicamente corretas. Os plastificantes são geralmente líquidos de baixa volatilidade que são usados para aumentar a flexibilidade e extensibilidade dos filmes, reduzindo as forças intermoleculares entre as cadeias de polímeros. Estes tendem a baixar o nível de energia necessário para ocasionar a mobilidade das cadeias poliméricas, diminuindo assim a temperatura de transição vítrea do polímero (MEKONNEN *et al.*, 2013). Os plastificantes mais utilizados para uso em acetato de celulose incluem o trietil citrato e o glicerol (ADAMOVIC *et al.*, 2018; FREITAS *et al.*, 2020; GONTIJO de MELO *et al.*, 2018; GONÇALVES *et al.*, 2019; TEIXEIRA *et al.*, 2021).

Alguns estudos recentes descreveram a interação entre acetato de celulose (AC) e plastificantes como citratos, ftalatos e polióis (BENZAZZOUZ *et al.*, 2017; GONTIJO de MELO *et al.*, 2018; QUINTANA *et al.*, 2013). Entretanto, a influência da plastificação a nível molecular nas propriedades químicas e físicas dos filmes não foi abordada, o que é de suma importância para evitar conclusões errôneas baseadas apenas no peso molecular dos compostos, cuja compreensão do fato permite controlar o efeito dos plastificantes para a obtenção das características desejadas dos filmes. Além disso, alguns estudos estão mais interessados nas propriedades mecânicas, térmicas e estruturais dos filmes, do que no entendimento do evento (BAO; LONG; VERGELATI, 2015; DECROIX *et al.*, 2020; QUINTANA *et al.*, 2016). Assim, uma compreensão aprofundada a fim de garantir um efeito eficiente do plastificante, requer o estudo da interação entre a matriz polimérica e plasificantes.

Além de utilizar embalagens biodegradáveis, há a necessidade de melhorar ainda mais as funções das embalagens tradicionais. Além das funções convencionais das embalagens que são a de conter o alimento, proteger, conservar, e informar sobre o produto e processo, outras funções tem surgido com o objetivo de atender as novas demandas exigidas pelo mercado consumidor, acrescidas da preocupação de atender às solicitações de um ambiente sustentável. Uma dessas novas funções são atendidas pelas chamadas embalagens inteligentes, que fornecem dados sobre os alimentos em tempo real, tais como valor de temperatura de armazenamento, valor de pH e detecção de compostos voláteis, assim, podem detectar alterações na qualidade dos alimentos no local em tempo real, identificar potenciais riscos à saúde e reduzir sua ocorrência, mantendo, a qualidade dos alimentos e garantindo a segurança alimentar. Dentre as embalagens inteligentes, os indicadores colorimétricos, desempenham um papel decisivo na redução dos danos acima mencionados, e além disso espera-se que o uso dos indicadores colorimétricos, reduzam o desperdício de alimentos, já que, as datas de validade

atualmente empregadas nos rótulos de alimentos, são baseadas em cálculos que nem sempre são altamente precisos, assim grande parte dos alimentos são descartados, mesmo que ainda estejam adequados para o consumo (VERGHESE *et al.*, 2015).

Muitos trabalhos estão sendo desenvolvidos nessa área e, geralmente, descrevem o desenvolvimento de filmes biodegradáveis com diferentes matrizes poliméricas com a adição de corantes naturais de várias frutas ou vegetais. Como é o caso do desenvolvimento de um filme inteligente detector de mudanças de pH e amônia baseado em goma de *Artemisia sphaerocephala* Krasch. com antocianinas de repolho vermelho feitas por Liang *et al.* (2019).

Tais descobertas também podem ser vistas em um estudo atual na literatura Moazami Goodarzi *et al.* (2020), desenvolveram um indicador colorimétrico de pH à base de amido, incorporando antocianinas de cenoura preta, para detectar a deterioração do leite. Além da caracterização do dispositivo inteligente por meio de análises como o índice de intumescimento e solubilidade, e a determinação das especificações microestruturais do sistema, os autores também avaliaram mudanças de cor quando os dispositivos foram expostos em soluções básicas, ácidas e neutras, e observaram uma alta correlação entre a resposta colorimétrica e as mudanças físico-químicas e microbianas do leite. Neste contexto, novas perspectivas foram abertas por esse estudo para a aplicação de materiais biológicos degradáveis à base de polímeros na área de embalagens para alimentos.

A fim de compreender melhor as interações entre a matriz polimérica e os plastificantes, o primeiro capítulo focou em estudar a relação entre o acetato de celulose adicionado de várias concentrações molares do glicerol ou do trietil citrato. Os filmes plastificados foram caracterizados para avaliar os efeitos sobre as propriedades moleculares, térmicas, mecânicas e de barreira, a fim de desenvolver embalagens biodegradáveis eficientes.

Uma vez constatado que as concentrações molares de plastificantes influenciaram nas propriedades dos filmes, no segundo capítulo foram estudados os efeitos do GLI e TEC no comportamento crômico de indicadores colorimétricos à base de acetato de celulose, incorporados com o extrato de antocianinas de açaí. Além do mais, foi investigado a capacidade desses indicadores em detectar mudanças no pH e a presença de amônia produzidas devido a degradação do camarão, com o objetivo de monitorar o frescor do camarão.

OBJETIVO GERAL

Desenvolver filmes biodegradáveis à base de acetato de celulose, incorporados com diferentes concentrações molares (0; 1,8; 3,6; 5,4; 7,2) dos plastificantes diferentes: glicerol ou trietil citrato. Ademais estudar a influência das concentrações dos plastificantes GLI ou TEC (1,8; 3,6; 5,4 e 7,2 mols) no comportamento crômico de indicadores colorimétricos elaborados em base biodegradável de acetato de celulose, incorporado com extrato de antocianinas de açaí para identificação colorimétrica da degradação do camarão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAO, C. Y.; LONG, D. R.; VERGELATI, C. Miscibility and dynamical properties of cellulose acetate/plasticizer systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 95–102, 2015.
- BENAZZOUZ, A.; DUDOGNON, E.; CORREIA, N. T.; MOLINIER, V.; AUBRY, J.-M.; DESCAMPS, M. Interactions underpinning the plasticization of a polymer matrix: a dynamic and structural analysis of DMP-plasticized cellulose acetate. **Cellulose**, v. 24, p. 487–503, 2017.
- DECROIX, C.; CHALAMET, Y.; SUDRE, G.; CAROLL, V. Thermo-mechanical properties and blend behaviour of cellulose acetate/lactates and acid systems: Natural-based plasticizers. **Carbohydrate Polymers**, v. 237, p. 116072, 2020.
- FREITAS, P. A. V.; SILVA, R. R. A.; DE OLIVEIRA, T. V.; SOARES, R. R. A.; JUNIOR, N. S.; MORAES, A. R. F.; PIRES, A. C. DOS S.; SOARES, N. F. F. Development and characterization of intelligent cellulose acetate-based films using red cabbage extract for visual detection of volatile bases. **LWT**, v. 132, p. 109780, 2020.
- GONÇALVES, S. M.; DOS SANTOS, D. C.; MOTTA, J. F. G.; SANTOS, R. R. DOS; CHÁVEZ, D. W. H.; MELO, N. R. DE. Structure and functional properties of cellulose acetate films incorporated with glycerol. **Carbohydrate Polymers**, v. 209, p. 190–197, 2019.
- GONTIJO DE MELO, P.; FORNAZIER BORGES, M.; AFONSO FERREIRA, J.; VICENTE BARBOSA SILVA, M.; RUGGIERO, R. Bio-Based Cellulose Acetate Films Reinforced with Lignin and Glycerol. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 1143, 2018.
- HOWARD, B. C.; GIBBENS, S.; ZACHOS, E.; Parker, L. **A running list of action on plastic pollution**, 2019. Disponível em: <https://www.nationalgeographic.com/environment/article/ocean-plastic-pollution-solutions?user.testname=none>. Acesso em: 12 maio. 2021.
- LIANG, T.; SUN, G.; CAO, L.; LI, J.; WANG, L. A pH and NH₃ sensing intelligent film based on *Artemisia sphaerocephala* Krasch. gum and red cabbage anthocyanins anchored by carboxymethyl cellulose sodium added as a host complex. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 858–868, 2019.
- MEKONNEN, T.; MUSSONE, P.; KHALIL, H.; BRESSLER, D. Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 1, p. 13379, 2013.
- MOAZAMI GOODARZI, M.; MORADI, M.; TAJIK, H.; FOROUGH, M.; EZATI, P.; KUSWANDI, B. Development of an easy-to-use colorimetric pH label with starch and carrot anthocyanins for milk shelf life assessment. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 153, p. 240–247, 2020.
- NCUBE, L. K.; UDE, A. U.; OGUNMUYIWA, E. N.; ZULKIFLI, R.; BEAS, I. N. Environmental Impact of Food Packaging Materials: A Review of Contemporary Development from Conventional Plastics to Polylactic Acid Based Materials. **Materials**, v. 13, p. 4994, 2020.
- OCEANA. **Um oceano livre de plástico [livro eletrônico]: desafios para reduzir a poluição marinha no Brasil**. 1. ed. Brasília, 2020.

- PARKER, L. **Eight million tons of plastic dumped in ocean every year**. 2015. Disponível em: <http://news.nationalgeographic.com/news/2015/02/150212-ocean-debris-plastic-garbage-patches-science/>. Acesso em: 12 mar. 2021.
- QUINTANA, R.; PERSENAIRE, O.; LEMMOUCHI, Y.; BONNAUD, L.; DUBOIS, P. Compatibilization of co-plasticized cellulose acetate/water soluble polymers blends by reactive extrusion. **Polymer Degradation and Stability**, v. 126, p. 31–38, 2016.
- QUINTANA, R.; PERSENAIRE, O.; LEMMOUCHI, Y.; SAMPSON, J.; MARTIN, S.; BONNAUD, L.; DUBOIS, P. Enhancement of cellulose acetate degradation under accelerated weathering by plasticization with eco-friendly plasticizers. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, p. 1556–1562, 2013.
- RAI, P.; MEHROTRA, S.; PRIYA, S.; GNANSOUNOU, E.; SHARMA, S. K. Recent advances in the sustainable design and applications of biodegradable polymers. **Bioresource Technology**, v. 325, p. 124739, 2021.
- TEIXEIRA, S. C.; SILVA, R. R. A.; DE OLIVEIRA, T. V.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, M. R. M. R.; SOARES, N. DE F. F. Glycerol and triethyl citrate plasticizer effects on molecular, thermal, mechanical, and barrier properties of cellulose acetate films. **Food Bioscience**, p. 101202, 2021.
- UNEP. **Food Wast Index**. 2021. Disponível em: <https://www.unep.org/pt-br/resources/relatorios/indice-de-desperdicio-de-alimentos-2021>. Acesso em: 12 mar. 2021.
- Vergheze, K.; Lewis, H.; Lockrey, S.; Williams, H. Packaging's Role in Minimizing Food Loss and Waste Across the Supply Chain. **Packaging Technology and Science**, v. 28, p. 603–620, 2015.
- WATABE, Y.; SUZUKI, Y.; KOIKE, S.; SHIMAMOTO, S.; KOBAYASHI, Y. Cellulose acetate, a new candidate feed supplement for ruminant animals: In vitro evaluations. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 10929–10938, 2018.
- ZIZOVIC, I.; SENEROVIC, L.; MORIC, I.; ADAMOVIC, T.; JOVANOVIC, M.; KRUSIC, M. K.; MISIC, D.; STOJANOVIC, D.; MILOVANOVIC, S. Utilization of supercritical carbon dioxide in fabrication of cellulose acetate films with anti-biofilm effects against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 140, p. 11–20, 2018.

EFEITOS DOS PLASTIFICANTES GLICEROL E TRIETIL CITRATO SOBRE AS PROPRIEDADES MOLECULARES, TÉRMICAS, MECÂNICAS E DE BARREIRA DOS FILMES DE ACETATO DE CELULOSE

RESUMO

As embalagens poliméricas de base biológica têm sido utilizadas como uma alternativa para polímeros à base de petróleo, já que estes são prejudiciais ao meio ambiente. Neste contexto, a fabricação de filmes de acetato de celulose (AC) se destaca no campo da embalagem por ser derivada da celulose, a matéria-prima renovável mais abundante da Terra, e devido às características do AC, de baixo custo, atoxicidade e, compatibilidade com vários solventes para a formação de filmes. Embora seja promissor o uso de AC como embalagem, este material requer a adição de auxiliares de processamento, tais como plastificantes com o objetivo de melhorar a flexibilidade, trabalhabilidade ou distensibilidade do polímero. Nesse sentido, este trabalho visou otimizar o efeito plastificante do glicerol (GLI) e trietil citrato (TEC), avaliados em diferentes concentrações (1,8, 3,6, 5,4, e 7,2 mols), adicionados às matrizes poliméricas AC, com o objetivo de produzir embalagens para alimentos pelo método de evaporação de solvente, usando acetona. Além do mais, o estudo caracterizou as propriedades moleculares, térmicas, mecânicas, de barreira ao vapor de água, de superfície e microtopográficas dos filmes plastificados. Assim, o aumento da concentração molar dos plastificantes adicionados à matriz polimérica induziram modificações físicas e químicas nos filmes de AC. Algumas propriedades dos filmes de AC aumentaram após a adição do GLI nas matrizes poliméricas, tais como espessura, opacidade e permeabilidade ao vapor de água, enquanto a homogeneidade dos filmes diminuiu. Os filmes plastificados com TEC exibiram comportamento oposto ao daqueles plastificados com GLI. Também foi observado, por técnicas de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), que os plastificantes foram incorporados à rede de polímeros AC, confirmando a imobilização física deles. Ademais, as propriedades mecânicas dos filmes foram similares, independentemente do tipo de plastificante adicionado nas matrizes de AC, uma vez que a resistência máxima à tração diminuiu e o alongamento na ruptura aumentou com o incremento das concentrações de plastificantes. Inesperadamente, os filmes plastificados com GLI foram mais resistentes ao n-heptano, analisados pelo teste de exsudação, do que os filmes com TEC, necessitando de mais estudos para entender este comportamento. Portanto, neste contexto, os dois plastificantes podem ser usados em matrizes de polímeros AC para melhorar e manipular as características do filme para a aplicação como alimento embalagem.

1. INTRODUÇÃO

Embalagens plásticas têm sido amplamente utilizadas em todo o mundo, devido a sua facilidade de produção e conveniência durante a sua aplicação como embalagens para produtos, especialmente para os alimentos. Contudo, a poluição causada pelas embalagens plásticas é um problema ambiental crítico, sendo considerado um problema sem fronteiras e universal, que necessita de diversas soluções, como o emprego de tecnologias que favoreçam a sustentabilidade, os esforços sistemáticos de gestão ambiental, a mudança de comportamento da sociedade e o emprego da reciclagem de resíduos. Na ausência de programas de reciclagem, os acúmulos de plásticos na natureza causam sérios danos ao ecossistema e à saúde animal e humana, os quais sofrem cada vez mais com as alterações climáticas. Portanto, com urgência em tratar essa questão, o governo, o setor privado, a sociedade civil e o meio acadêmico buscam por respostas imediatas para agir eficazmente em prol do equilíbrio do meio ambiente (BRAUN; TRAORE, 2015). Porém, para que o cenário atual mude, essas novas embalagens devem possuir propriedades mecânicas, térmicas e de barreira semelhantes ou melhores aos produtos petroquímicos, além de serem oferecidas no mercado com um preço acessível a todos (GALIANO *et al.*, 2018).

O acetato de celulose (AC) é um dos mais importantes ésteres orgânicos e é amplamente utilizado para diversas aplicações, como matéria-prima para a produção de filtros, filmes antimicrobianos, membranas para remoção de impurezas na indústria farmacêutica, biosensores e outros (BAHARIFAR *et al.*, 2017; RAICOPOL *et al.*, 2019; WEN *et al.*, 2015; ZIZOVIC *et al.*, 2018). AC é um biopolímero derivado de celulose obtido através da esterificação da celulose com o ácido acético, substituindo assim os grupos hidroxila por grupos acetil. O grau de substituição afeta as propriedades do AC, incluindo estabilidade térmica, hidrofobicidade, transparência, processabilidade, solubilidade e biodegradabilidade (PULS; WILSON; HÖLTER, 2011; ZHOU *et al.*, 2016). Além disso, AC é considerado uma matéria-prima renovável, não tóxica, altamente resistente, inodora e compatível com vários solventes, tais como acetona (KHOSHNEVISAN *et al.*, 2018; MILOVANOVIC *et al.*, 2016; WATABE *et al.*, 2018).

Apesar das boas propriedades, o AC tem uma alta temperatura de transição vítrea na qual se decompõe antes de atingir seu ponto de fusão, o que dificulta a otimização dos processos industriais, e é também muito rígido devido as fortes ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila dos anéis de β -D-glucose em sua cadeia principal (PHUONG *et al.*, 2014). Portanto, é necessário adicionar plastificantes para proporcionar maior extensibilidade aos filmes de AC

e produzir embalagens para alimentos com melhores propriedades mecânicas.

Os plastificantes, são moléculas com baixo peso molecular que se intercalam entre as cadeias de polímeros, quebram ligações de hidrogênio, reduzem as forças intermoleculares, aumentam a mobilidade da rede de polímeros, a flexibilidade, conseqüentemente reduzindo a temperatura de transição vítrea, o que pode facilitar o processamento e manipulação de filmes de AC. Por outro lado, essas novas propriedades podem acarretar no aumento da permeabilidade ao vapor de água e a gases pela matriz polimérica (JHA, 2020; SANYANG *et al.*, 2015).

Alguns estudos recentes descreveram a interação entre AC e plastificantes como citratos, ftalatos e polióis (BENAZZOUZ *et al.*, 2017; GONTIJO DE MELO *et al.*, 2018; QUINTANA *et al.*, 2013). Entretanto, o efeito dos plastificantes ao nível molecular não foi abordado por estes estudos, que limitaram-se a uma explicação superficial baseada em porcentagem (m/m) dos plastificantes, deixando dúvidas sobre a influência das interações intermoleculares nas propriedades físico-química dos filmes. Além do mais, a maioria dos estudos estão mais interessados nas propriedades mecânicas, térmicas e estruturais (BAO; LONG; VERGELATI, 2015; DECROIX *et al.*, 2020; QUINTANA *et al.*, 2016). Assim, o estudo da interação entre plastificantes e polímeros biodegradáveis requer uma compreensão das interações ao nível molecular, com o propósito de entender melhor e controlar as propriedades dos filmes poliméricos pelo efeito plastificante.

Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito das as concentrações molares (1,8; 3,6; 5,4 e 7,2 mols) de glicerol (GLI) ou trietil citrato (TEC) nas principais propriedades dos filmes AC por meio das técnicas de espectroscopia infravermelha (FT-IR), análise termogravimétrica (TGA), permeabilidade ao vapor de água (PVA), microscopia eletrônica de varredura (SEM), análise de transmitância, opacidade, exsudação de plastificantes e testes mecânicos.

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). Acetona, GLI e TEC foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich (San Luis, Missouri, Estados Unidos).

2.2 Preparo dos filmes

Concentrações molares iguais a 1,8; 3,6; 5,4 e 7,2 de plastificantes GLI ou TEC foram adicionados, individualmente, em dispersão polimérica de AC e acetona na proporção de 1:10 (m/v), vedada e mantida em repouso por 24h na temperatura de 25° C (\pm 5°C). Transcorrido o tempo, após a homogeneização manual por 2 min, a dispersão polimérica foi vertida em placas de vidro (25 x 10 cm) e a evaporação do solvente foi realizada em temperatura ambiente. Os filmes foram armazenados sob vácuo em embalagens de polietileno/nylon até o momento da sua utilização.

2.3 Caracterização dos filmes

2.3.1 Espessura e propriedades mecânicas

A espessura dos filmes foi determinada com o auxílio de um micrômetro digital com precisão de 0,001 mm (Mitutoyo Corporation, Japão). As medidas foram realizadas em 10 pontos aleatórios para cada amostra com três repetições e em sete réplicas. A resistência máxima à tração (MPa) e o alongamento na ruptura (mm) 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 tração de 12,5 mm.min⁻¹. A análise foi realizada em três repetições e em quatro réplicas por tratamento.

2.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias dos filmes foram obtidas por meio do Microscópio Eletrônico de Varredura (Modelo TM3000, Hitachi Hi-Tech). Amostras de cada filme, com dimensões de 0,2x 0,5 cm², foram fixadas em *stubs* com auxílio de uma pinça em uma fita condutora dupla face de carbono (20 a 30 nm) (Camilloto et al., 2009). A tensão de aceleração de elétrons foi usada no modo automático. A magnificação das imagens obtidas foi de 800x.

2.3.3 Análise termogravimétrica (TGA)

A TGA dos filmes foi realizada em analisador térmico DTG (SHIMADZU, modelo 60H, Japão). Aproximadamente 4 mg de cada filme foram acondicionadas em cadinhos de

alumina e aquecidas em uma faixa de temperatura de 30 °C a 600 °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).

2.3.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)

Os espectros na região do infravermelho dos filmes foram obtidos com auxílio do equipamento FT-IR NICOLET 6700 (Thermo Scientific), com 32 varreduras e resolução de 4cm⁻¹, operando em amplitude de 4000- 700 cm⁻¹.

2.3.5 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.*, 2013). Previamente à análise, as amostras foram armazenadas a 25 °C e 53 % umidade relativa (UR) por 12 h para condicionamento dos filmes. 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 1.

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

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 2.

$$PVA \text{ (g. Pa}^{-1}\text{s}^{-1}\text{m}^{-1}\text{)} = \left(\frac{TPVA.st}{sp.(RH_1 - RH_2)}\right) \quad \text{Equação 2}$$

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.

2.3.6 Determinação da transmitância e opacidade

A transmitância dos filmes (20 mm x 40 mm) foi analisada usando o espectrofotômetro ultravioleta-visível (UV-2600, Shimadzu, Japão) em uma faixa de comprimento de onda de 200 nm a 800 nm. A opacidade (Y) das amostras foi determinada no colorímetro Colorquest®XE (HunterLab) e foi calculada em função da relação entre a opacidade da amostra no padrão preto (Y_b) e a opacidade da amostra no padrão branco (Y_w). Este cálculo ($Y = Y_b/Y_w$) foi feito automaticamente pelo Software Universal V4.01 (Hunterlab Associates Laboratory).

2.3.7 Exsudação de plastificantes – Resistência química em n-heptano

Este teste foi baseado na portaria N° 105 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no qual foi avaliada, por variação de massa, a migração total dos aditivos presentes nas embalagens em contato direto com alimentos.

As amostras dos filmes foram cortadas em dimensões 100 mm x 100 mm, lavadas com água destilada e pesadas (0,00001). Posteriormente, as amostras foram imersas em 2 mL do simulador n-heptano PA (98%), à temperatura ambiente (25 ± 5 °C), em frascos vedados. Passadas 24 h e 168 h, as amostras foram retiradas dos frascos, lavadas com água destilada e pesadas. O teste foi realizado em triplicata.

2.4 Análise estatística

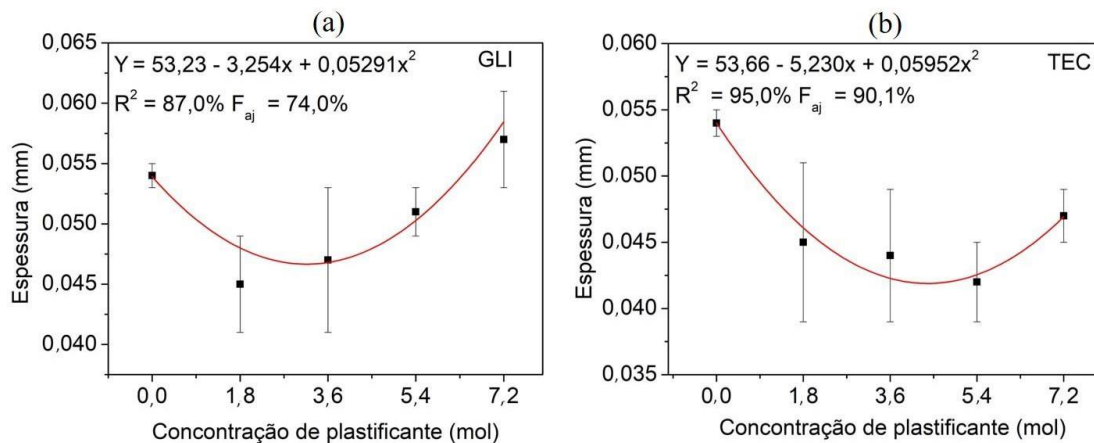
Os dados foram analisados por meio da Análise de Variância (ANOVA). Para cada variável resposta, uma curva de regressão foi ajustada, e os parâmetros estatísticos, tais como o coeficiente de determinação (R^2) e a falta de ajuste (F_{aj}) ($P < 0,05$) foram obtidos, quando possível, levando em consideração os fatores avaliados. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico Minitab, versão 17 e Origin Pro 8.5.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Espessura e propriedades mecânicas

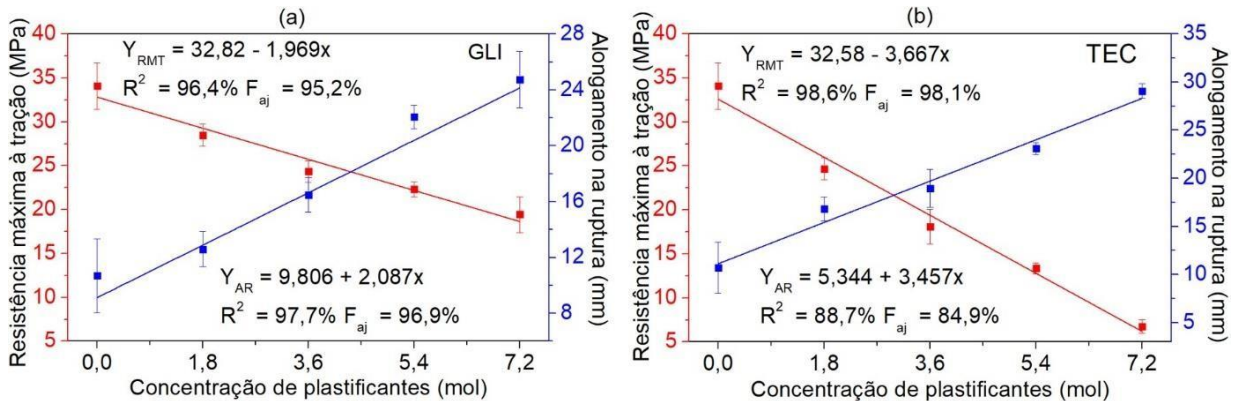
O efeito de concentração dos plastificantes GLI (a) e TEC (b) na espessura do filme exibiu comportamento quadrático ($P < 0,05$), e suas curvas são exibidas na Figura 1. O incremento na concentração dos plastificantes nas matrizes poliméricas causou uma redução da espessura, pois houve aumento da mobilidade das cadeias poliméricas facilitando sua organização e compactação até atingir um ponto mínimo (CANEVAROLO JR, S, 2006). A partir deste ponto, o aumento gradual na concentração dos plastificantes preencheu o interespaço da matriz ampliando a distância polímero-polímero e, conseqüentemente, ocasionando o aumento da espessura do filme (ARHAM *et al.*, 2016). Ademais, a maior concentração molar de GLI (7,2 mols) resultou no filme mais espesso, uma vez que o glicerol é uma substância hidrofílica e atua como um agente de contenção de água, o que leva a um aumento na espessura devido ao processo de intumescimento (AHMADI *et al.*, 2012). Pak *et al.* (2020), também relataram um aumento na espessura dos filmes desenvolvidos com goma Persian com a adição de glicerol.

Figura 1 – Comportamento da espessura dos filmes plastificados com GLI e TEC, 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 ($p < 0,05$).



Com relação às propriedades mecânicas dos filmes, as curvas de regressão da resistência máxima à tração (RMT) e alongamento na ruptura (AR) dos filmes de AC plastificados foram ajustadas e exibidas nas Figura 2.

Figura 2 – Curvas RMT e AR de filmes plastificados com GLI (a) e TEC (b), bem como seus respectivos modelos estatísticos ($P < 0,05$), falta de ajuste ($P > 0,05$), coeficiente de determinação (R^2), e os coeficientes da equação (x) ajustados ($P < 0,05$).



Pode-se observar que com o aumento do teor molar de GLI (Figura 2 (a)) na matriz polimérica AC, de 1,8 mols para 7,2 mols, a RMT (MPa) diminuiu de 35 MPa para 20 MPa, enquanto o AR (mm) aumentou de 10 mm para 24 mm. Este comportamento é esperado e ocorreu devido à inserção do plastificante na matriz polimérica dos filmes, o que provocou a distância entre as cadeias de AC, proporcionando maior liberdade e, conseqüentemente, melhorando a flexibilidade dos filmes, tornando-os menos rígidos (LIU *et al.*, 2013).

Os efeitos de TEC nas propriedades mecânicas dos filmes estão representados na Figura 2 (b). Da mesma forma, ao comportamento GLI, com o aumento do conteúdo de TEC ao filme de AC, a RMT diminuiu de 35 para 8 MPa, enquanto o AR aumentou de 12 mm para 30 mm. Entretanto, a flexibilidade dos filmes plastificados com TEC foi maior do que com o GLI nas mesmas concentrações e esse efeito pode ser explicado pela diferença de peso molecular dos compostos. O peso molecular do plastificante TEC é de 276 g/mol enquanto o do GLI é de 92,09 g/mol, assim, devido ao maior tamanho de cada molécula TEC, maior foi o efeito de distanciamento das cadeias de AC causado por esse composto, no qual o TEC atuou como um espaçador físico, melhorando a flexibilidade dos filmes plastificados por ele. Por outro lado, Cuq *et al.* (1997) ao desenvolver filmes baseados em proteínas observaram que o plastificante GLI, aparentemente, melhorou o efeito plastificante, por ser uma molécula hidrofílica de baixo peso molecular e facilmente se encaixar entre as cadeias de proteínas, estabelecendo ligações de hidrogênio. Portanto, neste trabalho, o plastificante TEC proporcionou mais mobilidade para

as cadeias poliméricas AC do que o GLI devido ao aumento da distância intercadeias. Os filmes AC não plastificados exibiram um comportamento típico com altos valores de RMT, igual a 34 MPa, e AR igual a 10 mm (CERQUEIRA *et al.*, 2012).

3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia da superfície dos filmes é apresentada na Figura 3. O filme não plastificado apresentou uma superfície lisa e homogênea, enquanto os filmes incorporados com GLI apresentaram microporos com diferentes formas, cujo número de microporos aumentou juntamente com a concentração de plastificante. Os resultados corroboraram com o trabalho de Gonçalves *et al.* (2019) que observaram alterações morfológicas internas causadas pela presença de GLI na matriz de acetato de celulose, que se refletiu com o aparecimento de microporos. O filme controle e os filmes contendo diferentes concentrações molares de TEC (1,8 a 7,2 mols) apresentaram superfícies microscopicamente homogêneas, com presença de aglomerado de AC devido à incompleta dispersão polimérica em acetona. Foi observado uma maior homogeneidade na superfície dos filmes plastificados à medida em que a concentração de TEC aumentou, indicando compatibilidade entre o TEC e a estrutura de AC. Esse efeito pode ser atribuído à composição atômica do TEC que é formado por um grupo hidroxila e seis moléculas de oxigênio capazes de interagir com os grupos oxigênio e hidroxila do AC, enquanto o composto GLI é composto por apenas três hidroxilas (Figura 4).

Figura 3 – Morfologia das superfícies dos filmes de acetato de celulose e filmes contendo GLI e TEC. Todas as ampliações são 800 \times .

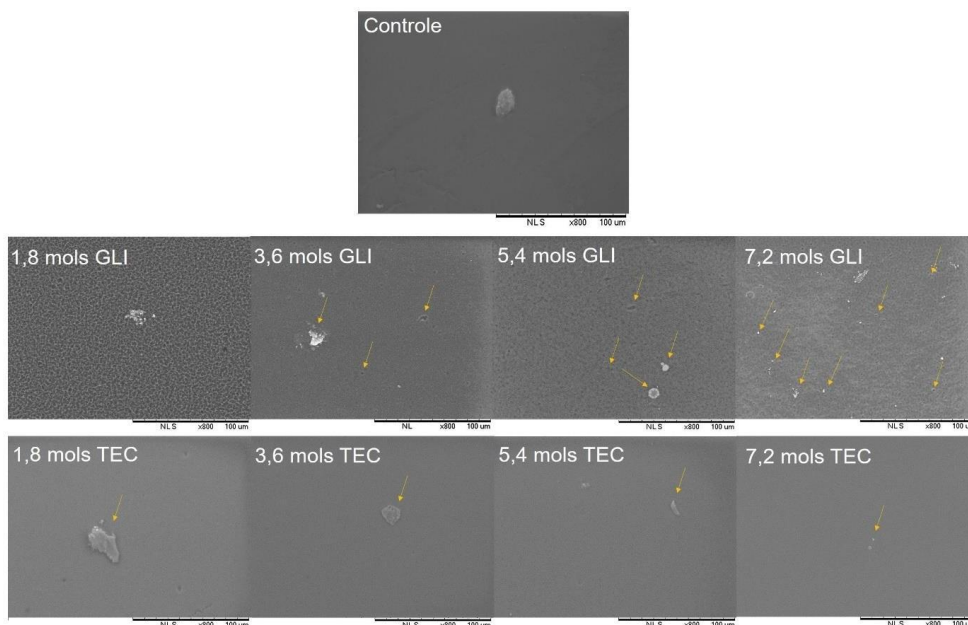
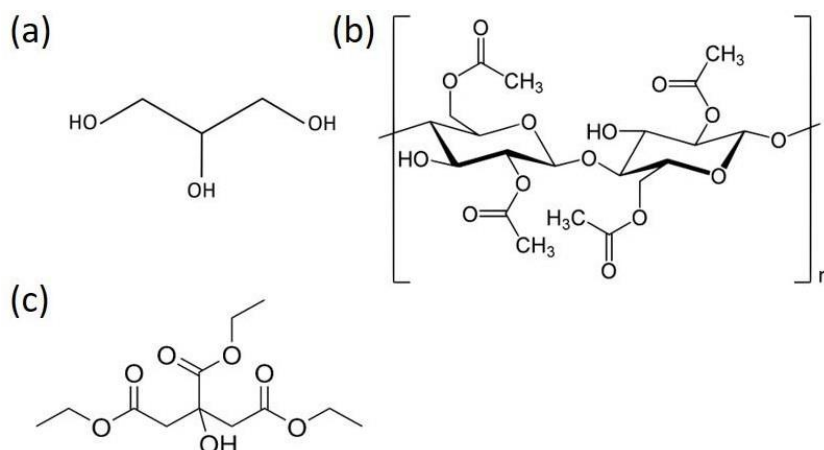


Figura 4 – Estrutura química de GLI (a), AC (b) e TEC (c).



3.3 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)

Na Figura 5 (a) e (b), foram observados os espectros de FTIR do plastificante puro GLI, do filme de AC (controle), e dos filmes plastificados com GLI. Para os espectros do filme de AC não plastificado, uma banda em 1745 cm^{-1} foi observada, e corresponde à característica de estiramento do éster carbonílico. As bandas identificadas em 1639 cm^{-1} , 1430 cm^{-1} e 1371 cm^{-1} correspondem à deformação da água, a deformação angular assimétrica de CH_2 e à deformação simétrica de CH_3 . Os dois picos em 1234 cm^{-1} e 1049 cm^{-1} correspondem ao estiramento assimétrico e simétrico de ligações C-O-C da molécula de celulose e de acetato (BARBOSA, 2007; MARK, 1999).

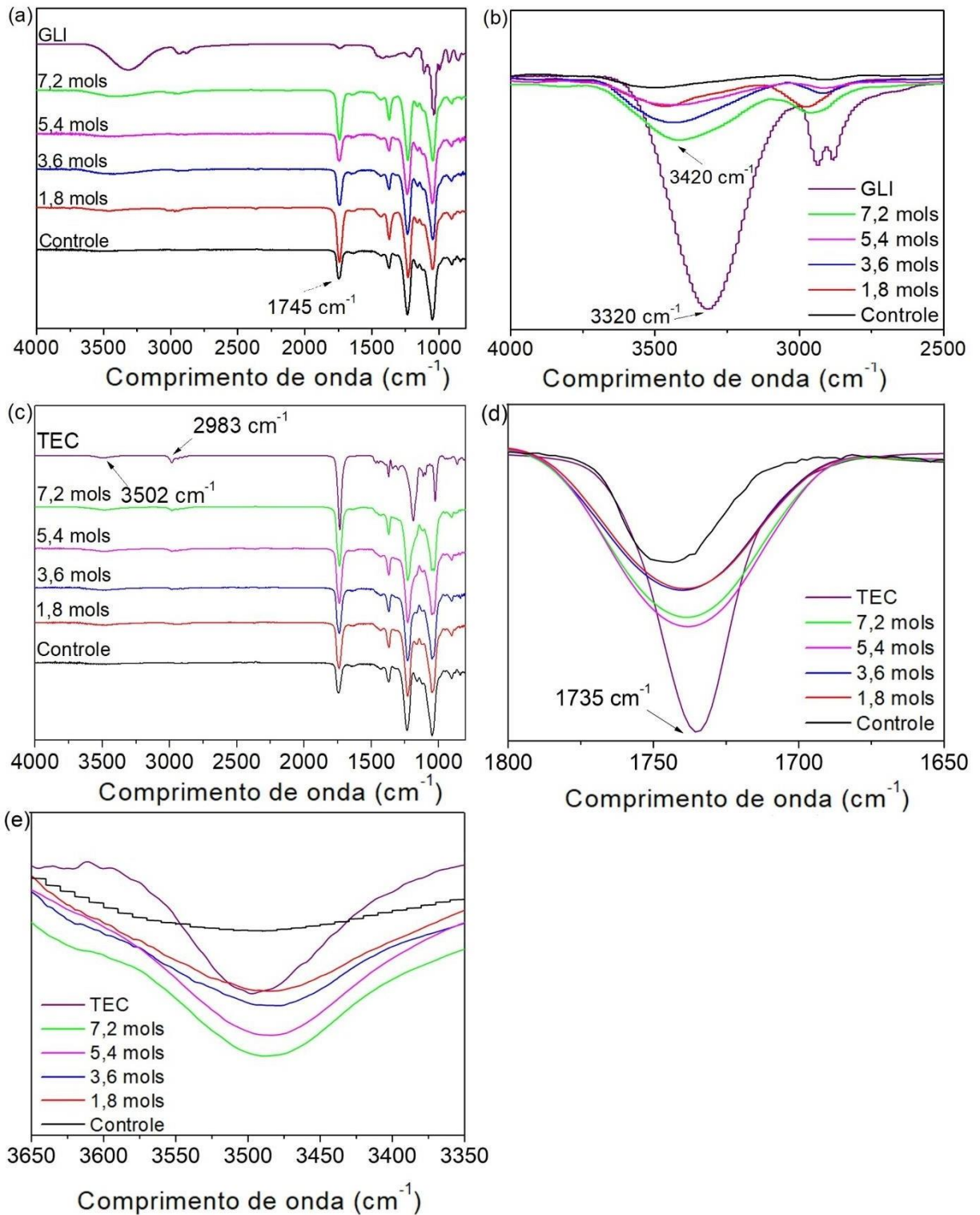
GLI é um álcool composto de dois álcoois primários e um secundário, como demonstrado pela presença dos picos de 1040 cm^{-1} e 1110 cm^{-1} relacionados ao estiramento C-O do álcool. No espectro do plastificante GLI foi observado uma banda larga em forma sino a 3320 cm^{-1} , referindo-se ao estiramento de OH. Também foram observados picos a 2940 cm^{-1} e 2880 cm^{-1} , que correspondem ao estiramento C-H dos aldeídos. Em 1740 cm^{-1} , foi observado a presença de um pico de baixa intensidade, atribuído ao que grupo carbonila (C=O), presente em cetonas e aldeídos, no qual pode ser proveniente da oxidação de GLI (BARBOSA, 2007).

Conforme mencionado por Haq, Hasnain e Azam, (2014), três diferentes tipos de ligação de hidrogênio podem ocorrer em matrizes poliméricas e em plastificantes: entre os grupos hidroxilas e carbonilas dos polímeros; entre os grupos hidroxilas e carbonilas dos polímeros e os grupos hidroxilas e carbonilas do GLI; e entre os grupos hidroxilas contidos em GLI. Em baixas concentrações de GLI, os grupos hidroxilas e carbonilas dos polímeros interagiram com a molécula de GLI, reduzindo a interação polímero-polímero, sendo, esse fato

conhecido como efeito de solvatação do plastificante. A banda a 3420 cm^{-1} correspondente as moléculas de OH de água e GLI, o qual aumentou com o incremento de GLI, possivelmente, devido ao intumescimento causado pelo composto. Nos estudos de Liang e Wang (2018) e Haq, Hasnain e Azam (2014), os autores também observaram que o incremento de GLI nos filmes desenvolvidos, resultou no aumento dos grupos de hidroxilas livres de GLI, favorecendo as forças intermoleculares entre as cadeias de polímeros. Este comportamento foi apontado pela intensificação da faixa hidroxila ($3300\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$), como exposto na Figura 5(b).

Os espectros de TEC puro e filmes contendo TEC são mostrados na Figura 5 (c), (d) e (e). Para o espectro de TEC puro, foram observadas bandas em 3502 cm^{-1} e 2983 cm^{-1} , correspondem a vibração de alongamento de OH e estiramento de C-H. Também foram observados dois pequenos picos característicos de alongamento C-O em 1114 cm^{-1} e 1097 cm^{-1} . Em relação ao filme plastificado com TEC, os espectros exibiram uma faixa a 1735 cm^{-1} devido ao alongamento da ligação éster C=O, que aumentou com o incremento da concentração molar de TEC, confirmando a incorporação da TEC nas matrizes poliméricas (Figura 5(d)). A presença de bandas a 1373 cm^{-1} e $1300\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$ relacionadas ao alongamento de CH_3 e C-O, respectivamente, foram detectadas (BARBOSA, 2007). O deslocamento da faixa de 3530 cm^{-1} para comprimentos de onda mais longos ocorreu devido às ligações de hidrogênio entre TEC e AC e reforça o fato de que TEC foi incorporado nas matrizes poliméricas (Figura 5 (e)) (BARBOSA, 2007).

Figura 5 – Espectros FT-IR de filmes de acetato de celulose plastificados com GLI (a) e TEC (c) e espectros específicos de comprimento de onda de GLI (b), TEC (d) e TEC (e).



3.4 Análise termogravimétrica (TGA)

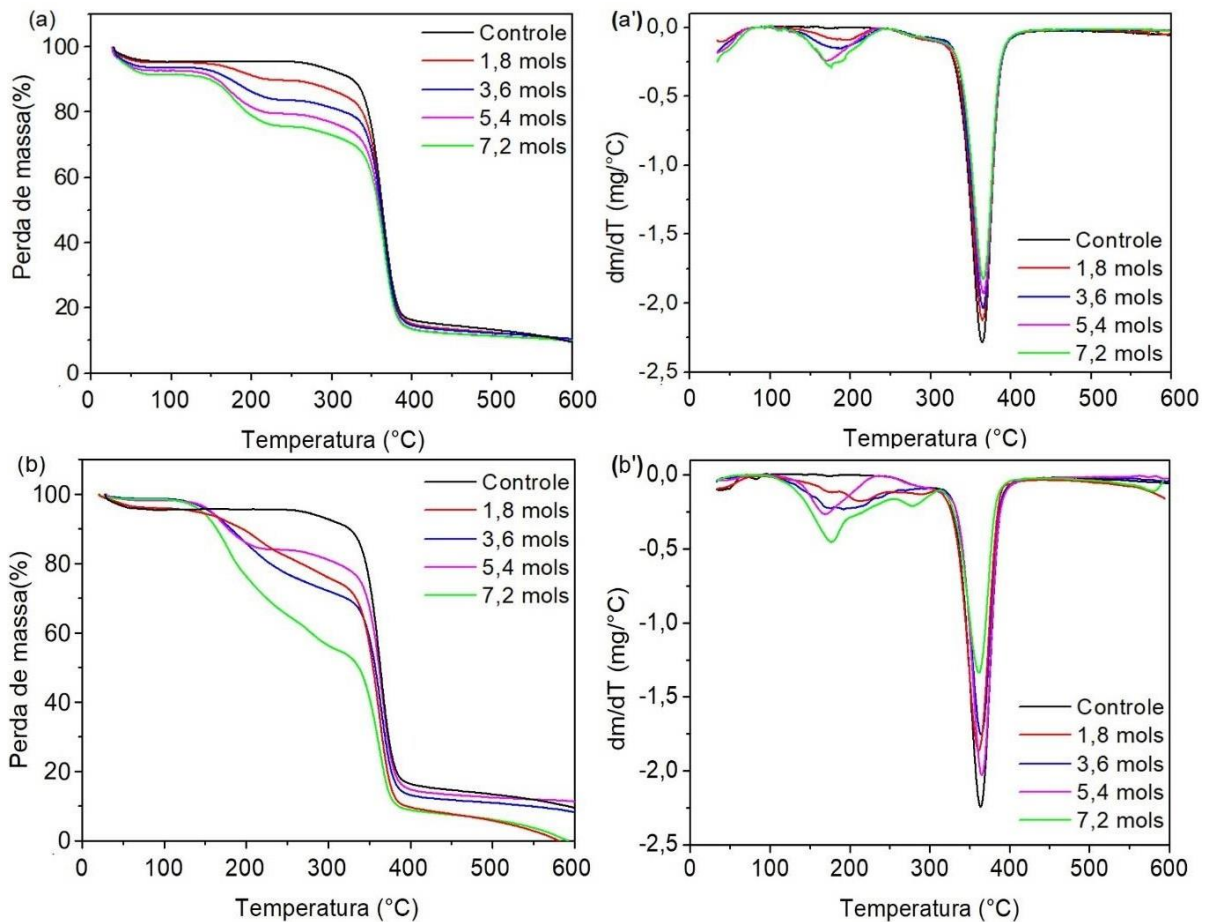
As curvas termogravimétricas (TGA) e as respectivas derivadas (DTG) dos filmes plastificados estão representadas na Figura 6, na qual as perdas de massa (%) das amostras foram plotadas em função da temperatura (°C), variando de 25 °C a 600 °C. Por meio da técnica de TGA, foi possível observar que a decomposição térmica do filme controle se deu em dois eventos principais, nos quais a fase inicial ocorreu entre as temperaturas de 25 °C a 120 °C, cuja perda de massa está relacionada à evaporação da água livre. O segundo evento ocorreu entre as temperaturas de 312,8 °C e 394,1 °C, com perda de 74% (m/m) de massa proveniente da decomposição do polímero AC (BASHA; MORSI, 2017; POLA *et al.*, 2016).

As curvas TG e DTG para filmes plastificados com GLI estão representadas nas Figuras 6 (a) e (a'). Três eventos foram observados para este tratamento, o primeiro evento ocorreu na faixa de temperatura de 33,1 °C e 100,9 °C, relacionados às perdas de água livres. O segundo evento iniciou a 145,7 °C, correspondente a evaporação da água e a volatilização do plastificante. As perdas de massa nessa faixa de temperatura aumentaram com o aumento da concentração de GLI, reforçando que a volatilização e degradação GLI ocorreu nessas condições. O terceiro evento ocorreu na faixa de temperatura de 335 °C a 409,6 °C, na qual foi observada uma variação de massa de 55,2% a 61,5% (m/m), e este comportamento pode ser atribuído à decomposição da cadeia de polímeros AC. A degradação térmica dos filmes plastificados com GLI ocorreu a temperaturas mais baixas do que os filmes não plastificados e este efeito se deve ao distanciamento das cadeias de AC causado pela inserção do GLI nas cadeias poliméricas (DÍAZ-GALINDO *et al.*, 2020; LIANG; WANG, 2018).

Eventos similares foram observados nas curvas termogravimétricas (TG) e suas derivadas (DTG) de acordo com as Figuras 6 (b) e (b'), para filmes contendo o plastificante TEC. O primeiro evento ocorreu na faixa de temperatura de 30,5 °C a 116,3 °C, e foram observadas perdas de massa de 0,2% a 2,7% (peso), correspondendo à perda de água livre. Este comportamento ocorreu devido ao aumento da distância entre as cadeias poliméricas causando, conseqüentemente, uma maior mobilidade da água. Conforme as concentrações de TEC aumentavam na matriz de AC, a temperatura deste evento diminuía. O segundo evento ocorreu a temperaturas de 138,8 °C a 328,6 °C, atribuído à volatilização da TEC e à evaporação da água ligada. Similarmente ao comportamento do GLI, as perdas de massa nesta faixa de temperatura aumentaram com o aumento da concentração de TEC, reforçando que a volatilização e a degradação da TEC ocorreram nestas condições. O terceiro evento ocorreu nas faixas de temperatura de 217,5 °C a 407 °C, correspondendo à degradação da CA. Efeitos similares da

degradação térmica foram observados em filmes à base de poli (ácido láctico) (PLA) desenvolvidos por Maiza *et al.*, 2015.

Figura 6 – Curvas termogravimétricas (TGA) (a) e (b) e suas derivadas (DTG) (a') e (b') para os filmes incorporados com diferentes concentrações de GLI e TEC respectivamente.



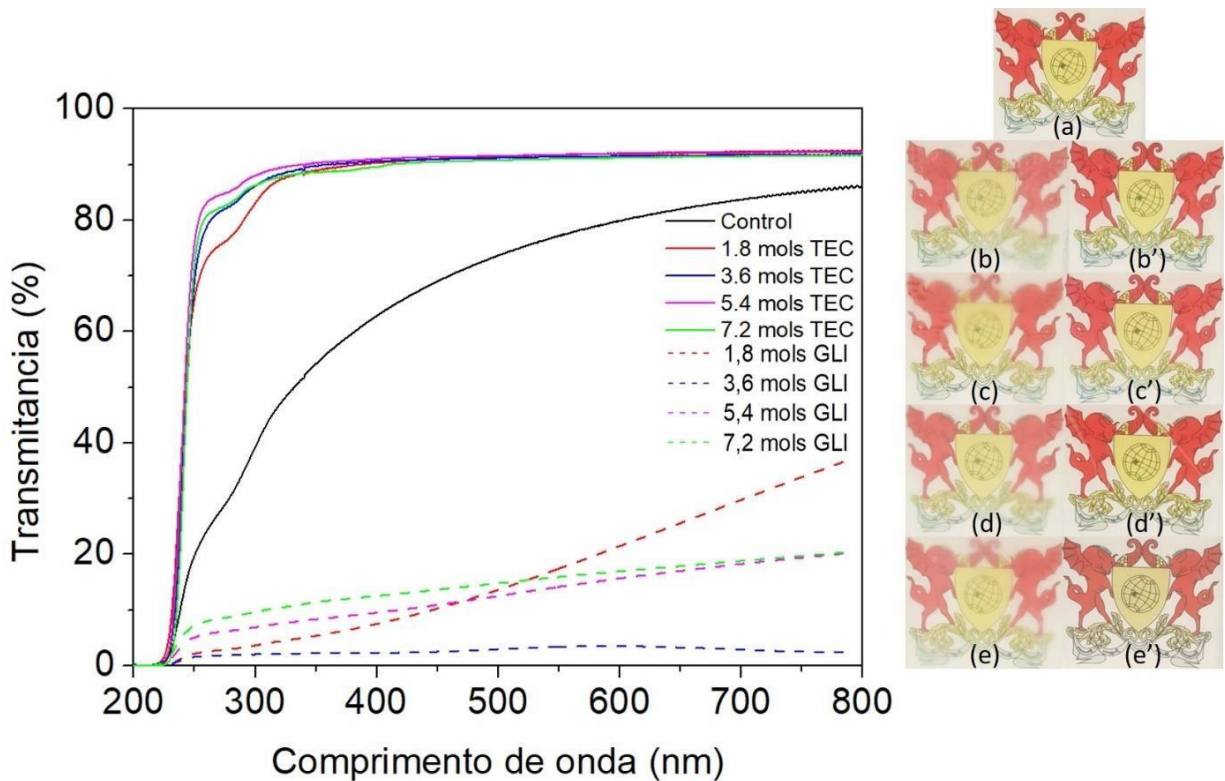
3.5 Análise de transmitância e opacidade

As propriedades ópticas, que incluem a taxa de transmissão de luz e o índice de opacidade, são consideradas análises importantes para verificar a aplicabilidade de materiais de embalagem na superfície dos alimentos, além de constatarem seus efeitos na proteção de alimentos contra a transmissão da luz UV (GUIDARA *et al.*, 2020).

A Figura 7 apresenta os valores da taxa de transmissão de luz do filme controle e dos filmes plastificados com TEC ou GLI, ademais, expõe fotografias dos filmes desenvolvidos em contraste com uma imagem, com intuito de verificar a opacidade dos mesmo. Os valores de transmissão de luz a 600 nm dos filmes aumentaram de 79,1 (%) (0 mols) para 92,1 (%) (7,2 mols) com adição de TEC. Para os filmes plastificados com GLI, à medida em que o conteúdo molar aumentou, a taxa de transmissão a 600 nm caiu de 79,6 (%) (0 mols) para 16,8 (%) (7,2 mols). Este comportamento, presumivelmente, está relacionado ao grande número de poros das

superfícies dos filmes plastificados com GLI, evidenciado nas imagens de MEV. Também é possível que a presença de água nos filmes tenha causado aumento da absorção dos raios de luz, o que possivelmente reduziu a transparência dos filmes.

Figura 7 – Taxa de transmissão de luz e fotografias dos filmes de AC controle (a); 1,8 (b); 3,6 (c); 5,4 (d); 7,2 (e) mols de GLI e 1,8 (b’); 3,6 (c’); 5,4 (d’) e 7,2 (e’) mols de TEC.



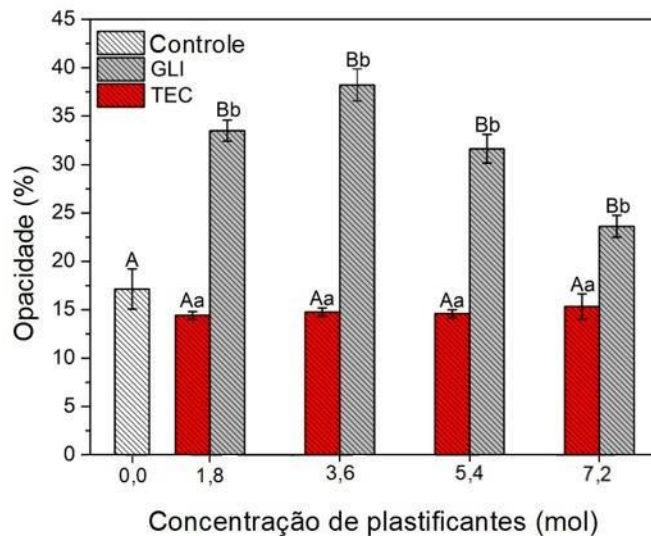
O grau de transparências dos filmes utilizado para a fabricação de embalagens dependem das exigências dos consumidores e dos requisistos estabelecidos pela indústria de alimentos. Os filmes de TEC são mais transparentes que os filmes GLI, porém os filmes de TEC oferecem menos proteção contra a transmissão de luz UV que os filmes GLI, que impedem o efeito de fotooxidação devido à característica de alta opacidade (DICK *et al.*, 2015).

A Figura 8, exibe o índice de opacidade em função das concentrações dos plastificante GLI e TEC adicionadas aos filmes de AC. Os valores do índice de opacidade para filmes não plastificados foram de 19,51%. O índice de opacidade diminuiu conforme aumentou a concentração molar do TEC na matriz polimérica, em outras palavras, mais quantidade de luz foi capaz de atravessar os filmes. Resultados similares foram observados por El-Rehim *et al.*, (2018) em filmes de AC plastificados com polietilenoglicol. Toda via, os filmes plastificados com GLI, resultaram em índices de opacidade mais altos, causados pela dificuldade do plastificante em se dispersar na matriz polimérica, corroborando com as micrografias de MEV.

Os resultados sugerem que os filmes plastificados com TEC podem potencialmente ser usados como embalagens de alimentos quando a transparência é desejável, porém, para evitar deterioração oxidativa, descoloração, perda de compostos e não-desenvolvimento do sabores e odores desagradáveis, os filmes plastificados com GLI foram indicados por apresentarem alta opacidade.

Figura 8 – Opacidade dos filmes de AC plastificados com GLI ou TEC.

As médias seguidas pela mesma letra não diferem de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$).



3.6 Permeabilidade ao vapor d'água (PVA)

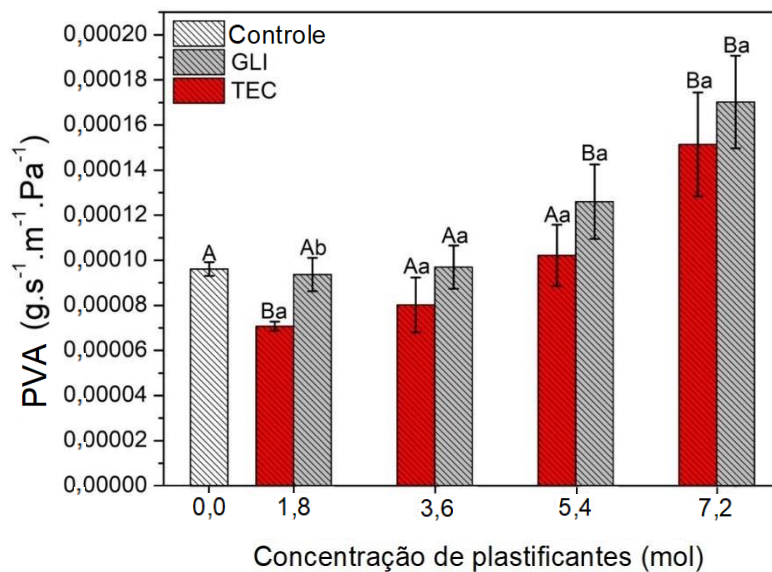
A determinação da PVA é uma das mais importantes propriedades para polímeros, especialmente para biopolímeros. É crucial para correlacionar exigências específicas, de acordo com o uso final pretendido, com intuito de prever a vida útil dos alimentos (KANATT *et al.*, 2012). Materiais de embalagem, devem, possuir valores de PVA baixos, para evitar a troca de umidade entre o ambiente e o alimento (PARK *et al.*, 2003).

Os resultados da análise de PVA são exibidos na Figura 9. A PVA dos filmes aumentou à medida que as concentrações molares de plastificante foram incrementadas. Os filmes plastificados com TEC exibiram valores de PVA inferiores aos plastificados com GLI, e este efeito pode ser associado à heterogeneidade dos filmes de GLI, devido à maior distância entre suas cadeias poliméricas, além da formação de poros, facilitando o caminho do vapor de água (RHIM, 2011). Resultados similares foram relatados para filmes produzidos com goma *Artemisia sphaerocephala* Krasch por Liang e Wang, (2018). Corroborando com os resultados, Sothornvit e Krochta (2001) observaram o aumento de PVA dos filmes com o incremento de plastificantes causado pela redução das forças intermoleculares entre as cadeias de polímeros.

Eles também apontam que o GLI é um plastificante hidrofílico capaz de absorver quantidades significativas de água para a estrutura do biopolímero, devido a sua notável propriedade higroscópica, aumentando os valores de PVA (SOTHORNVIT; KROCHTA, 2001). O filme controle, apresentou valores de PVA, superiores aos tratamentos, de 1,8 mols de TEC e GLI, e 3,6 de TEC, o que confirma que, os plastificantes, nessas concentrações contribuíram com a compactação das cadeias poliméricas dos filmes de AC.

Figura 9 – PVA dos filmes de AC plastificados com GLI ou TEC.

As médias seguidas pela mesma letra não diferem de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$).



3.7 Exsudação de plastificantes

A importância do teste de exsudação de plastificantes em solvente de n-heptano foi descrito pela portaria nº105 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de maio de 1999, no qual foi recomendado o teste de migração total em embalagens. O solvente n-heptano simula quatro classes de alimentos, tais como: alimentos aquosos não ácidos contendo óleo ou gordura; alimentos aquosos ácidos contendo óleo ou gordura; alimentos oleosos ou gordurosos; e alimentos sólidos secos (ANVISA, 1999).

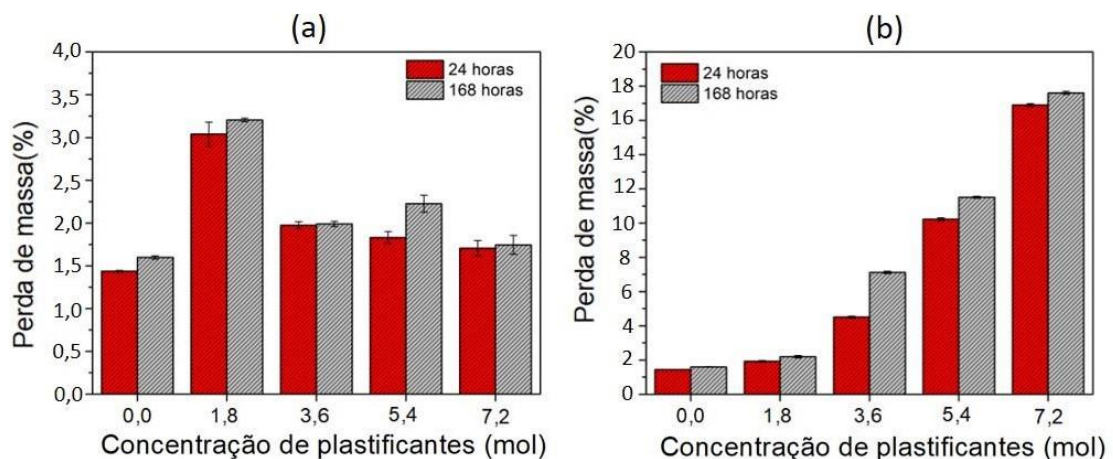
As porcentagens da exsudação de GLI e TEC são representadas na Figura 10. Os filmes plastificados com GLI (Figura 10 (a)) nas concentrações de 1,8, 3,6, 5,4 e 7,2 mols, exibiram perdas de massa, variando entre 1,7% e 2,3% em 168 h de testes. Por outro lado, o filme controle perdeu cerca de 1,6% da massa em 168 h, indicando que ocorreram perdas devido à exsudação do plastificante e também de partículas não dispersas de AC. Essa diferença de perda de massa entre o filme não plastificado e os filmes plastificados indica que ocorreram perdas de massa

de partículas de AC.

As perdas de massa dos filmes plastificados com TEC aumentaram com o aumento da concentração molar do plastificante (2,1 a 17,6 %) (Figura 10 (b)). Estes resultados não corroboram com o estudo de Stark, Choi e Diebel (2005), em que os autores observaram que a exsudação de plastificantes variou, em geral, em função do peso molecular. Dessa forma, esperava-se quanto menor fosse a molécula do plastificante, mais volátil e de fácil difusão o composto seria. Como discutido anteriormente, TEC tem um peso molecular maior que GLI, de modo que se esperava que TEC tivesse uma porcentagem menor de perdas de massa da matriz polimérica. Além do mais, não foram avaliados o efeito da hidrofobicidade dos plastificantes e da matriz polimérica no estudo de Stark, Choi e Diebel (2005) sendo este fator também importante para avaliar a exsudação do plastificante da matriz polimérica, como mencionado por Puls, Wilson e Hölder (2011).

O composto n-heptano utilizado para a análise da exsudação do plastificante, é um composto de baixa polaridade (HONSE *et al.*, 2012). Ao analisar a estrutura química das moléculas TEC e GLI (Figura 4), GLI é um composto com características mais polares do que o TEC (PULLA-HUILLCA *et al.*, 2021). Assim, a interação entre GLI e n-heptano será energeticamente desfavorável, dificultando sua difusão para o solvente simulador.

Figura 10. Exsudação de GLI (a) e TEC (b) nos filmes plastificados com diferentes concentrações molares.



4. CONCLUSÕES

Neste estudo, foram utilizados diferentes concentrações de plastificantes GLI e TEC, e as propriedades físico-químicas dos filmes de AC foram analisadas para o desenvolvimento de embalagens para alimentos. Embora já amplamente utilizados, faltam estudos para entender a influência destes plastificantes nesta matriz, que por ser biodegradável, tem despertado interesse da ciência dos materiais para substituir vários polímeros poluentes de origem petroquímica. Neste estudo, a adição de diferentes concentrações molares de GLI e TEC proporcionaram características interessantes e muito diferentes a matriz de AC. Os filmes com adição de GLI reduziram a transmissão da luz de 79,6% para 16,8% quando maiores concentrações molares do plastificante foram adicionadas, enquanto a ϵ opacidade foi de 38,22% quando 3,6 mols de GLI foram adicionados. Além do mais, foi observado uma exsudação de 2,3% de GLI da matriz de AC quando 7,2 mols de GLI foram adicionadas. Por outro lado, os filmes plastificados com TEC exibiram boas propriedades mecânicas, no qual foi observado a redução dos valores de RMT de 35 para 8 MPa e o aumento dos valores de AR de 12 mm para 30 mm com o aumento da concentração do plastificante, além de ϵ uma baixa barreira de vapor de água ($19,23 \text{ g.s}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$) em comparação com o filme GLI. Ambos os filmes plastificados com GLI ou TEC foram estáveis a altas temperaturas. Portanto, ambos os plastificantes podem ser adicionados a matrizes de AC para produzir embalagens para alimentos, sendo que o plastificante ideal dependerá das propriedades e do uso pretendido pela indústria de alimentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

AHMADI, R.; KALBASI-ASHTARI, A.; OROMIEHIE, A.; YARMAND, M.-S.; JAHANDIDEH, F. Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata* Forsk). **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 745–751, 2012.

ARHAM, R.; MULYATI, M. T.; METUSALACH, M.; SALENGKE, S. Physical and mechanical properties of agar based edible film with glycerol plasticizer. **International Food Research Journal**, v. 23, p. 1669–1675, 2016.

BAHARIFAR, H.; HONARVARFARD, E.; MALEK-KHEILI, M. H.; MALEKI, H.; BARKHI, M.; GHASEMZADEH, A.; KHOSHNEVISAN, K. The Potentials and Applications of Cellulose Acetate in biosensor technology. **Nanomedicine Research Journal**, v. 2, p. 216–223, 2017.

BAO, C. Y.; LONG, D. R.; VERGELATI, C. Miscibility and dynamical properties of cellulose acetate/plasticizer systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 95–102, 2015.

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

BASHA, M. A.; MORSI, R. M. M. Spectroscopic, electrical, and relaxor-like properties of cellulose acetate – erbium (III) chloride composite films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 45220, p. 1–10, 2017.

BENAZZOUZ, A.; DUDOGNON, E.; CORREIA, N. T.; MOLINIER, V.; AUBRY, J.-M.; DESCAMPS, M. Interactions underpinning the plasticization of a polymer matrix: a dynamic and structural analysis of DMP-plasticized cellulose acetate. **Cellulose**, v. 24, p. 487–503, 2017.

BRAUN, Y. A.; TRAORE, A. S. Plastic Bags, Pollution, and Identity. **Gender & Society**, v. 29, p. 863–887, 2015.

BRAZILIAN HEALTH REGULATORY AGENCY (ANVISA). **Ordinance nº105 of May 1999**. São Paulo, 1999.

CANEVAROLO JR, S, V. **Ciência dos Polímeros**. São Paulo: Artliber, 2006.

CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films – A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 175–184, 2012.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.-L.; GUILBERT, S. Selected Functional Properties of Fish Myofibrillar Protein-Based Films As Affected by Hydrophilic Plasticizers. **Journal of**

Agricultural and Food Chemistry, v. 45, p. 622–626, 1997.

DECROIX, C.; CHALAMET, Y.; SUDRE, G.; CAROLL, V. Thermo-mechanical properties and blend behaviour of cellulose acetate/lactates and acid systems: Natural-based plasticizers. **Carbohydrate Polymers**, v. 237, p. 116072, 2020.

DÍAZ-GALINDO, E. P.; NESIC, A.; CABRERA-BARJAS, G.; MARDONES, C.; BAER, D. VON; BAUTISTA-BAÑOS, S.; GARCIA, O. D. Physical-Chemical Evaluation of Active Food Packaging Material Based on Thermoplastic Starch Loaded with Grape cane Extract. **Molecules**, v. 25, p. 3–15, 2020.

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

EL-REHIM, H. A.; KAMAL, H.; HEGAZY, E.-S. A.; SOLIMAN, E.-S.; SAYED, A. Use of gamma rays to improve the mechanical and barrier properties of biodegradable cellulose acetate nanocomposite films. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 153, p. 180–187, 2018.

GALIANO, F.; BRICEÑO, K.; MARINO, T.; MOLINO, A.; CHRISTENSEN, K. V.; FIGOLI, A. Advances in biopolymer-based membrane preparation and applications. **Journal of Membrane Science**, v. 564, p. 562–586, 2018.

GONÇALVES, S. M.; DOS SANTOS, D. C.; MOTTA, J. F. G.; SANTOS, R. R. DOS; CHÁVEZ, D. W. H.; MELO, N. R. DE. Structure and functional properties of cellulose acetate films incorporated with glycerol. **Carbohydrate Polymers**, v. 209, p. 190–197, 2019.

GONTIJO DE MELO, P.; FORNAZIER BORGES, M.; AFONSO FERREIRA, J.; VICENTE BARBOSA SILVA, M.; RUGGIERO, R. Bio-Based Cellulose Acetate Films Reinforced with Lignin and Glycerol. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 1143, 2018.

GUIDARA, M.; YAICH, H.; BENELHADJ, S.; ADJOUMAN, Y. D.; RICHEL, A.; BLECKER, C.; SINDIC, M.; BOUFI, S.; ATTIA, H.; GARNA, H. Smart ulvan films responsive to stimuli of plasticizer and extraction condition in physico-chemical, optical, barrier and mechanical properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 714–726, 2020.

HAQ, M. A.; HASNAIN, A.; AZAM, M. Characterization of edible gum cordia film: Effects of plasticizers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 163–169, 2014.

JHA, P. Effect of plasticizer and antimicrobial agents on functional properties of bionanocomposite films based on corn starch-chitosan for food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 571–582, 2020.

KANATT, S. R.; RAO, M. S.; CHAWLA, S. P.; SHARMA, A. Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 290–297, 2012.

LIANG, T.; WANG, L. Preparation and characterization of a novel edible film based on Artemisia phaeocephala Krasch. gum: Effects of type and concentration of plasticizers. **Food**

Hydrocolloids, v. 77, p. 502–508, 2018.

LIU, H.; ADHIKARI, R.; GUO, Q.; ADHIKARI, B. Preparation and characterization of glycerol plasticized (high-amylose) starch–chitosan films. **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 588–597, 2013.

MAIZA, M.; BENANIBA, M. T.; QUINTARD, G.; MASSARDIER-NAGEOTTE, V. Biobased additive plasticizing Polylactic acid (PLA). **Polímeros**, v. 25, p. 581–590, 2015.

MARK, J. **Polymer Data Handbook**. 2 ed. Oxford, New York: Oxford University Press, 1999.

OLIVATO, J. B.; NOBREGA, M. M.; MÜLLER, 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.

PAK, E. S.; GHAGHELESTANI, S. N.; NAJAFI, M. A. Preparation and characterization of a new edible film based on Persian gum with glycerol plasticizer. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, p. 3284–3294, 2020.

PARK, H. M.; LEE, W. K.; PARK, C. Y.; CHO, W. J.; HA, C. S. Environmentally friendly polymer hybrids Part I mechanical, thermal, and barrier properties of thermoplastic starch/clay nanocomposites. **Journal of Materials Science**, v. 38, p. 909–915, 2003.

PHUONG, V. T.; VERSTICHE, S.; CINELLI, P.; ANGUILLES, I.; COLTELLI, M.-B.; LAZZERI, A. Cellulose Acetate Blends - Effect of Plasticizers on Properties and Biodegradability. **Journal of Renewable Materials**, v. 22, p. 35–41, 2014.

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.

PULS, J.; WILSON, S. A.; HÖLTER, D. Degradation of Cellulose Acetate-Based Materials: A Review. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 19, p. 152–165, 2011.

QUINTANA, R.; PERSENAIRE, O.; LEMMOUCHI, Y.; BONNAUD, L.; DUBOIS, P. Compatibilization of co-plasticized cellulose acetate/water soluble polymers blends by reactive extrusion. **Polymer Degradation and Stability**, v. 126, p. 31–38, 2016.

QUINTANA, R.; PERSENAIRE, O.; LEMMOUCHI, Y.; SAMPSON, J.; MARTIN, S.; BONNAUD, L.; DUBOIS, P. Enhancement of cellulose acetate degradation under accelerated weathering by plasticization with eco-friendly plasticizers. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, p. 1556–1562, 2013.

RAICOPOL, M. D.; ANDRONESCU, C.; VOICU, S. I.; VASILE, E.; PANDELE, A. M. Cellulose acetate/layered double hydroxide adsorptive membranes for efficient removal of pharmaceutical environmental contaminants. **Carbohydrate Polymers**, v. 214, p. 204–212, 2019.

RHIM, J.-W. Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-

based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 691–699, 2011.

SANYANG, M. L.; SAPUAN, S. M.; JAWAID, M.; ISHAK, M. R.; SAHARI, J. Effect of plasticizer type and concentration on physical properties of biodegradable films based on sugar palm (arenga pinnata) starch for food packaging. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 323-336, 2015.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizer effect on mechanical properties of β -lactoglobulin films. **Journal of Food Engineering**, v. 50, p. 149–155, 2001.

STARK, T. D.; CHOI, H.; DIEBEL, P. W. Influence of plasticizer molecular weight on plasticizer retention in PVC geomembranes. **Geosynthetics International**, v. 12, p. 99–110, 2005.

WEN, D.; JIANHUI, W.; BING, P.; XIAOBIN, Z.; FUWEI, X.; HUIMIN, L.; KEJUN, Z. An Improved Theoretical Model of Cigarette Smoke Filtration across Mono-Segment Cellulose Acetate Filters. **Beiträge zur Tabakforschung / Contributions to Tobacco Research**, v. 26, p. 232,240, 2015.

ZHOU, X.; LIN, X.; WHITE, K. L.; LIN, S.; WU, H.; CAO, S.; HUANG, L.; CHEN, L. Effect of the degree of substitution on the hydrophobicity of acetylated cellulose for production of liquid marbles. **Cellulose**, v. 23, p. 811–821, 2016.

ZIZOVIC, I.; SENEROVIC, L.; MORIC, I.; ADAMOVIC, T.; JOVANOVIC, M.; KRUSIC, M. K.; MISIC, D.; STOJANOVIC, D.; MILOVANOVIC, S. Utilization of supercritical carbon dioxide in fabrication of cellulose acetate films with anti-biofilm effects against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 140, p. 11–20, 2018.

**PRODUÇÃO DE INDICADORES COLORIMÉTRICOS A BASE DE
ACETATO DE CELULOSE INCORPORADOS COM EXTRATO DE AÇAÍ E
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES MOLARES DE PLASTIFICANTES,
PARA MONITORAR O FRESCOR DE CAMARÃO CINZA**

RESUMO

Os indicadores colorimétricos possuem a capacidade de indicar, em tempo real, o estado de conservação dos produtos alimentícios e, por isso, apresentam grande potencial para uso como ferramenta para reduzir o desperdício dos alimentos. Sabendo que os plastificantes podem influenciar na capacidade crômica de substâncias indicadoras adicionadas em bases poliméricas, foram produzidos indicadores colorimétricos pela incorporação de extrato de antocianinas de açaí (EA) em acetato de celulose (AC), adicionado de diferentes concentrações (1,8; 3,6; 5,4; 7,2 mols) dos plastificantes: glicerol (GLI) e trietil citrato (TEC). O EA, ajustado em diferentes valores de pH (2-12), foi caracterizado por espectrometria de ultravioleta visível. Os indicadores colorimétricos plastificados foram produzidos pelo método de evaporação de solvente, em dispersão polimérica de AC em acetona na proporção de 1:10 (m/v). As amostras foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por meio de análise colorimétrica e visual, sob exposição aos vapores de amônia, e a soluções em diferentes pH's. A imobilização dos plastificantes na matriz polimérica de AC foi confirmada por meio dos espectros FT-IR e pelas micrografias oriundas do MEV. O estudo do comportamento cromático dos indicadores colorimétricos, produzidos com 7,2 mols de GLI e 1,8, 3,6 e 7,2 mols de TEC, em condição simulada, pela exposição aos vapores de amônia, exibiram mudanças de cor mais visualmente perceptíveis. Enquanto a avaliação do comportamento cromático em exposição a solução básica de NaOH, demonstrou que os indicadores plastificados com GLI, exibiram melhores respostas. Com os resultados da análise de aplicação em camarão, verificou-se que os indicadores colorimétricos incorporados com plastificantes, podem ser usados como ferramenta para monitorar, efetivamente, em tempo real, o frescor do camarão. Além do mais, as mudanças de cor observadas no estudo foram facilmente distinguidas a olho nu, sugerindo seu potencial para uso como embalagens inteligentes.

1. INTRODUÇÃO

A distribuição de alimentos faz parte de uma cadeia complexa que enfrenta desafios consideráveis para se adequar as variabilidades no processamento do alimento, no comportamento dos consumidores, no atendimento às novas leis, e nos assuntos relacionados à segurança dos alimentos. Como consequência dessas adversidades, o Índice de Desperdício de Alimentos de 2021, sistematizado pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (UNEP), determinou que em 2019 foram desperdiçados 931 milhões de toneladas de alimentos, o que equivale a 17 % da produção global. Nesse sentido, as embalagens alimentícias, devido ao papel fundamental que desempenham para redução do desperdício de alimentos, têm sido desenvolvidas a partir de materiais inovadores e com novas funções, produzindo as embalagens conhecidas por inteligentes.

As embalagens inteligentes são definidas como um sistema que identifica, detecta, comunica e monitora as condições dos alimentos embalados, em tempo real, com vista a fornecer informações sobre a qualidade dos alimentos, segurança e histórico de um produto durante toda a cadeia de produção e comercialização (JANG; WON, 2014).

A produção desses sistemas inteligentes pode ser feita por meio da inserção de dispositivos, como os portadores de dados, indicadores e substâncias sensoras no interior da embalagem, incorporados ou não em matrizes poliméricas. Dentre os sistemas inteligentes, os indicadores colorimétricos são destinados a coletar informações qualitativas, fundamentadas em mudanças de temperatura, pH e na liberação de gases provenientes do metabolismo microbológico na atmosfera da embalagem, por meio de alterações cromáticas visuais (KALPANA *et al.*, 2019).

Indicadores colorimétricos podem ser produzidos pela incorporação de corantes naturais, como as antocianinas, em matrizes poliméricas. As antocianinas são pigmentos naturais, não tóxicos, solúveis em água e bastantes sensíveis às mudanças de pH, encontradas abundantemente em frutas e flores. Entre as fontes de antocianinas, podemos destacar o fruto do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), de origem nativa da América Central e do Sul, considerado a palmeira mais produtiva da região amazônica. Indicadores produzidos com adição de antocianinas, como as de fonte do açaí, em matriz polimérica, podem fornecer informações qualitativas imediatas, por meio de mudanças colorimétricas visuais, provocadas pela alteração estrutural do pigmento. Dessa forma, esses sistemas serão capazes de indicar o frescor ou o estágio de deterioração do alimento, apresentando-se como um método eficaz e rápido, além de ser um potencial substituto dos indicadores desenvolvidos com componentes químicos, ao

qual podem contaminar os alimentos (LE, *et al.*, 2019; ZHANG; LU; CHEN,2014).

Alimentos com elevados teores de proteínas são altamente suscetíveis à deterioração microbiana, às condições de processamento, de transporte e de armazenamento e por esses motivos devem ser constantemente monitorados. Há uma série de produtos alimentares que contêm quantidades expressivas de proteínas, dentre eles podemos indicar o camarão de água doce. A produção de crustáceos continua sendo uma das indústrias mais importantes da aquicultura global (FAO, 2020). O crescimento contínuo do consumo global de camarões e da sua elevada perecibilidade, justificam a necessidade de desenvolver ferramentas inteligentes, como os indicadores colorimétricos, para controlar o nível de degradação desses alimentos.

Os microrganismos que deterioram alimentos ricos em proteínas liberam compostos como a amônia e aminas biogênicas, substâncias capazes de alterar as propriedades físico-químicas do sistema, como o aumento de pH (LEE; LEE; SHIN, 2016). A alteração estrutural das antocianinas na presença dessas substâncias permite a indicação do estado de conservação dos alimentos ricos em proteínas.

Em estudo anterior do nosso grupo, descobrimos que uso de acetato de celulose (AC) com diferentes concentrações molares dos plastificantes glicerol (GLI) ou trietil citrato (TEC) proporciona mudanças nas propriedades dos filmes de AC desenvolvidos. Assim, seria estratégico a adição de antocianinas para o desenvolvimento de indicadores colorimétricos, que devido às possíveis diferentes interações químicas e físicas entre a matriz polimérica de AC, o plastificante e o extrato de antocianina. As propriedades desses sistemas inteligentes podem ser manipuladas em prol de uma detecção simples, rápida e eficiente do estado de conservação do alimento (TEIXEIRA *et al.*, 2021).

Portanto, nesse estudo, foram utilizados para a elaboração do indicador colorimétrico bases poliméricas biodegradável de AC, plastificada com concentrações molares de 1,8; 3,6; 5,4 e 7,2, individualmente, de TEC e GLI, e incorporada com extrato de açaí (EA) para a identificação colorimétrica da degradação de camarões devido à variação de pH ou à liberação de compostos voláteis (aminas biogênicas). A pesquisa, consistiu, principalmente, em avaliar a influência da variação da concentração dos plastificantes TEC e GLI na resposta colorimétrica e na sensibilidade dos indicadores colorimétricos de EA em base AC, uma vez que são compostos usualmente adicionados nesses polímeros durante à fabricação. Dessa forma, ressalta-se que o uso de indicadores biodegradáveis e plastificados, contendo extrato de açaí, podem ser utilizados para produção de embalagens inteligente capazes de detectar, de forma simples e prática, por meio da visualização da mudança de cor da antocianina, o estado de conservação do alimento. Esse indicador é passível de ser aplicável na indústria de alimentos

com o propósito de garantir a qualidade nos processos alimentícios, promovendo integridade para o consumidor, e evitando prejuízos inerentes a problemas de contaminação dos alimentos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Acetato de celulose (GS = 2,5; MM = 2.024.000 g.mol⁻¹) foi disponibilizado pela Rhodia Solvay Group (Santo André, SP, Brasil). Acetona, Glicerol e Trietil Citrato foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich (San Luis, Missouri, Estados Unidos).

2.2 Obtenção dos frutos de açáí (*Euterpe oleraceae* Mart.)

Foram utilizados frutos de açáí (*Euterpe oleraceae* Mart.) colhidos em três localidades do Estado do Pará, Brasil, sendo elas Abaetetuba (Latitude: 1° 43 '42,1" S e Longitude: 48° 52 ' 11,5" O), Ilha das Onças (Latitude: 1° 26 '34,4" S e Longitude: 48° 33 '10,5" O) e Cameté (Latitude: 2° 14 '21,8" S e Longitude: 49° 29 '54,3" O). Os frutos foram colhidos, selecionados, lavados e tiveram suas sementes retiradas. As partes restantes (casca e mesocarpo) foram trituradas em *mixer* com adição de água destilada durante 3 minutos, na proporção de 3:1 de fruto/água. A polpa homogênea resultante foi congelada em ultrafreezer à temperatura de -60 °C ± 5°C até o momento das análises e utilizada como matéria-prima para a realização de todo o experimento.

2.3 Obtenção do extrato fenólico bruto

A obtenção do extrato fenólico bruto foi realizada segundo Rocha *et al.* (2018). Aproximadamente em 50 g de açáí adicionou-se uma solução contendo etanol/água (75/25%), depois acidificou essa solução (pH 2,0 ± 0,1) com ácido clorídrico. A extração assistida por ultrassom foi realizada em um banho ultrassônico (Ultracleaner 1400A, Unique, Brasil) operando a 40 kHz e temperatura de 40 °C ± 2 °C por 50 minutos. Os extratos resultantes foram filtrados a vácuo usando filtro Whatman n° .1 e transferido quantitativamente para um frasco volumoso. Posteriormente, os extratos foram concentrados a vácuo utilizando evaporador rotativo (IKA RV 10 digital), à temperatura máxima de 50 °C, para eliminação do álcool até obterem teor de sólidos solúveis totais (SST) de aproximadamente 7 °Brix. O teor de sólidos solúveis (° Brix) foi determinado por leitura direta em refratômetro marca Leica, modelo AR 200 (New York, USA). Esse extrato fenólico bruto foi armazenado em frasco âmbar sob

congelamento no ultrafreezer (aproximadamente $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$) até momento do uso.

2.4 Caracterização dos extratos obtidos

2.4.1 Determinação de Antocianinas Totais

A determinação de antocianinas totais, pelo método pH único, foi realizada segundo o método descrito por Fuleki e Francis (1968a). Realizou-se a leitura em espectrofotômetro UV-VIS (1601Pc marca Shimadzu), em comprimento de onda a 535 nm. Os resultados foram expressos em mg de antocianinas por 100 g de polpa de açaí.

2.5 Preparo dos indicadores colorimétricos

Concentrações molares iguais a 1,8; 3,6; 5,4; e 7,2 mols de plastificantes GLI e TEC foram adicionados, individualmente, em dispersões poliméricas de AC em acetona, na proporção de 1:10 (m/v), acondicionadas em recipientes, vedados e tampados, e mantidos em repouso por 24h. Transcorrido o tempo, foi adicionada, em cada frasco, 2 mL de EA, contendo uma concentração de antocianinas de $204,5 \pm 0,05\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (previamente determinada em espectrofotômetro). Após a homogeneização manual por 2 min e repouso de 30 min, a dispersão polimérica foi vertida em placas de vidro (25×10) cm^2 , onde permaneceram para a evaporação do solvente, em temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). Os indicadores colorimétricos foram armazenados sob vácuo em embalagens de polietileno/nylon até o momento da sua utilização.

2.6 Caracterização dos indicadores colorimétricos

2.6.1 Propriedades mecânicas

A resistência máxima à tração (MPa) e o alongamento na ruptura (mm) foram determinados utilizando-se a Máquina Universal de Testes Mecânicos (Instron Corporation, Norwood, MA, USA) de acordo com a norma ASTM D882 (ASTM, 2012). As amostras ($17,5 \times 2,0$) cm^2 foram fixadas com o auxílio de duas garras, separadas por uma distância inicial de 125 mm, tracionadas, em direção opostas, na velocidade de $12,5\text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$. A análise foi realizada em três repetições e em quatro réplicas por tratamento.

2.6.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias dos indicadores colorimétricos foram obtidas por meio do Microscópio Eletrônico de Varredura (Modelo TM3000, Hitachi Hi-Tech). Amostras de cada filme, com

dimensões de (0,2 x 0,5) cm², foram fixadas em *stubs*, com auxílio de uma pinça, em uma fita condutora dupla face de carbono (CAMILLOTO *et al.*, 2009). A tensão de aceleração de elétrons foi usada no modo automático. A magnificação das imagens obtidas foi de 500x.

2.6.3 Espectro UV-vis de EA e de indicadores colorimétricos submetidos a diferentes valores de pH

Os espectros UV-vis de EA e de indicadores colorimétricos incorporados com EA, expostos em meios aquosos, sob diferentes valores de pH (2-12), foram obtidos em espectrofotômetro UV- vis (Shimadzu, Japão, modelo UV 1800) nos comprimentos de onda de 400 a 800 nm. A diluição do extrato utilizada foi de 1% (v/v).

2.6.4 Análise termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica e o perfil de decomposição dos indicadores colorimétricos inteligentes foram determinadas em analisador térmico DTG (SHIMADZU, modelo 60H, Japão). Aproximadamente 4 mg de cada filme, acondicionadas em cadinhos de alumina, foram aquecidas em uma faixa de temperatura de 30 °C a 600 °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 (TGA) e pela derivada da TGA (DTG).

2.6.5 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)

Os espectros na região do infravermelho dos indicadores colorimétricos foram obtidos com auxílio do equipamento FT-IR NICOLET 6700 (Thermo Sicientific), com acessório de reflectância total atenuada, utilizando 32 varreduras e resolução de 4 cm⁻¹, operando em amplitude de 4000- 700 cm⁻¹.

2.6.6 Índice de intumescimento e Índice de solubilidade

Para determinação do índices de intumescimento (II) e do índice de solubilidade (IS) , os indicadores colorimétricos foram cortados em pedaços de (20 x 4) cm², secos em estufas a 70°C ± 5 °C, por 24 h, até atingir o peso constante. Após secagem, os indicadores colorimétricos foram resfriados em dessecadores e pesados para determinação do peso seco inicial (W₁). Então, os indicadores colorimétricos secos foram inseridos e mantidos em água, sob agitação lenta (100 rpm) e constante, à 30 °C ± 5 °C, por 24h, até atingir o peso constante. Posteriormente, foi

removido, com um papel filtro, o excesso de água dos indicadores colorimétricos, e foram pesados para se determinar o peso dos indicadores colorimétricos molhados (W_2). As amostras foram aquecidas novamente ($70^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$, por 24h), até peso constante, resfriados em dessecadores, e pesadas para determinação do peso seco final (W_3) (precisão de 0,0001g). A análise foi realizada em três repetições. O II e IS foram calculados de acordo com a Equação 1 e 2 (AL-NAAMANI; DOBRETSOV e DUTTA, 2016).

$$\text{II}(\%) = \left[\frac{(W_2 - W_1)}{W_1} \right] \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

$$\text{IS}(\%) = \left[\left(\frac{(W_1 - W_3)}{W_1} \right) \right] \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

2.6.7 Avaliação colorimétrica do indicador colorimétrico em condição simulada em vapores de amônia e reversibilidade

A variação de cor dos indicadores colorimétricos em condição simulada foi realizada de acordo com SHUKLA *et al.* (2016) com modificações. Os indicadores colorimétricos, incorporados com EA, plastificados com diferentes concentrações molares de TEC e GLI, e o filme controle (sem adição de plastificantes), foram condicionados em câmaras climáticas, por 12 h, a $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, e 53% de UR. Cinco microlitros (5 μl , 91 %) de amônia foram adicionadas em béqueres, que posteriormente foram colocados dentro de recipientes de vidro (100 mL), onde os indicadores colorimétricos foram fixados no fundo. Esse sistema foi isolado, criando uma atmosfera de amônia, simulando, assim, a condição para nitrogênio básico volátil produzido durante o armazenamento e deterioração de alimentos proteicos embalados.

Nos tempos de 0, 3, 6, 12, 20, e 30 min foram determinadas as coordenadas de cor L^* , a^* e b^* em colorímetro Colorquest® XE (HunterLab, USA). Ademais, as coordenadas colorimétricas $L0^*$, $a0^*$ e $b0^*$ dos indicadores colorimétricos foram medidas antes da exposição em meio simulante e (tempo inicial), usadas para determinar a Diferença Total de Cor (ΔE^*), que indica a diferença de cores entre amostras e a de um padrão; o índice de saturação (C^*), que determina o grau de uma tonalidade e quanto maiores os valores, maior a intensidade da cor percebida, e o ângulo de tonalidade (h^*) que conceitua qualitativamente a cor, e é usada para definir a diferença de determinada cor com r à cor de referência cinza, de acordo com as Equações 3, 4, e 5, respectivamente (PATHARE; OPARA e AL-SAID, 2013). Para se determinar a capacidade de reversão da cor do indicador colorimétrico exposto aos vapores de

amônia por 30 min, seguiu-se com a exposição dessas amostras em ácido acético, em sistema semelhante ao supracitado, onde permaneceu por mais 30 min. Para essa condição de reversibilidade, também foram determinados as coordenadas de cor, a diferença total de cor, o índice de saturação e o ângulo de tonalidade.

$$\Delta E^* = \sqrt{[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]} \quad \text{Equação 3}$$

Em que:

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

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Equação 4}$$

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad \text{Equação 5}$$

2.6.8 Estabilidade de cor dos indicadores colorimétricos inteligentes após detecção de NH₃

A estabilidade de cor dos indicadores colorimétricos inteligentes foi determinada em sistemas na ausência e presença de oxigênio, em função do tempo de armazenamento. Os indicadores colorimétricos inteligentes (4 x 4) cm² foram fixados em duas placas de plásticos. Uma placa foi armazenada à vácuo e a outra em ambiente com presença de oxigênio, ambas na temperatura de 25 ± 5 °C e na presença de luz. As propriedades cromáticas dos indicadores colorimétricos foram avaliadas todo o dia, por 7 dias, pela mensuração das coordenadas 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).

2.6.9 Capacidade de alteração de cor após armazenamento

Os indicadores colorimétricos foram armazenados por 40 dias (25 ± 5 °C e 55 ± 5% UR), na ausência de luz, e posteriormente, foram expostos aos vapores de amônia para verificar a capacidade de alteração colorimétrica dos indicadores inteligentes mesmo após esse período, e portanto, as coordenadas colorimétricas foram novamente avaliadas.

2.6.10 Aplicação dos indicadores colorimétricos na deterioração do camarão cinza

Para avaliar a viabilidade dos indicadores colorimétricos na detecção do frescor do camarão cinza, 30 g do crustáceo com casca foi colocado em bandejas de polipropileno,

envoltas por filme de polietileno/nylon e foram devidamente seladas. As amostras dos indicadores colorimétricos (4 x 4) cm² foram coladas na superfície interna da embalagem. Em seguida, as embalagens com os camarões foram acondicionadas a 6 ± 2 °C e 60 ± 5 % UR. As cores dos indicadores colorimétricos, o TVB-N e o pH do camarão foram medidas a cada 12 horas de armazenamento. Cada experimento foi repetido por três vezes.

2.7 Determinação de nitrogênio básico total volátil (TVB-N) e pH

Os valores de nitrogênio básico volátil total (TVB-N) liberados pelos camarões foram determinados de acordo com a AOC (Official Methods of Analysis) com modificações. Basicamente, 10 g da amostra de camarão, 2 g de óxido de magnésio, 300 mL de água, e alguns pedaços de cerâmica, usados como agente antiespumante, foram adicionados ao balão de destilação, e o nitrogênio básico volátil foi obtido em um destilador Quimis modelo M25008. O destilado foi coletado em 15 mL de solução aquosa de ácido sulfúrico 0,05 M, e 0,04 mL de indicador Vermelho de metila 0,02 %. Em seguida, a solução obtida foi titulada com hidróxido de sódio 0,1 M, até visualização da mudança de cor vermelha para amarela. A quantidade de TVB-N em mg/100 g de amostra de camarão foi calculada utilizando-se o volume (V) de ácido sulfúrico adicionado e sua concentração (C) de acordo com a equação 6:

$$TVB - N(mg. 100g^{-1}) = \frac{(V_1 - V_2) \times f_1 \times 0,0014}{p \times f_2} \times 100 \quad \text{Equação 6}$$

Em que, V_1 é o volume de ácido sulfúrico (mL), V_2 é o volume gasto de NaOH na titulação da amostra (mL), n é a normalidade do HCl (0,1 N), f_1 e f_2 são os fatores de correção da solução de ácido sulfúrico e do hidróxido de sódio, respectivamente, p é o peso da amostra de camarão (g) e 0,0014 é o equivalente de nitrogênio multiplicado para 100 g de camarão.

As determinações do pH nas amostras de camarão foram realizadas após a homogeneização de 10 g do crustáceo triturado com 100 mL de água destilada. As análises de TVB-N e pH foram analisadas em 3 repetições a cada 12 horas de armazenamento.

2.8 Análise colorimétrica dos indicadores em tempo real

Imagens dos indicadores colorimétricos foram capturadas, usando um smartphone (Apple iPhone), da amostra de camarão, durante o armazenamento, sob refrigeração (6 ± 2 °C e 60 ± 5 %UR). As imagens foram capturadas a uma distância de 30 cm sob iluminação vertical com um plano de fundo branco, a cada 12 horas de armazenamento, em 3 repetições. Essas

imagens foram usadas para extrair dados colorimétricos, de 10 diferentes pontos, usando o software Digital Colorimeter ©Microsoft, para isolar as coordenadas do CIELab ou valores L*, a*, b* para descrever a cor dos indicadores colorimétricos.

2.9 Análise estatística

Os dados das propriedades mecânicas dos indicadores colorimétricos e o teste de aplicação, foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), e para cada variável resposta foi ajustada uma curva de regressão (com significância de 5% de probabilidade) e obtidos os parâmetros estatísticos de coeficiente de determinação (R^2) e falta de ajuste (Faj) (com significância de 5% de probabilidade) quando possível, levando em consideração os fatores avaliados. Os dados da alteração colorimétrica em exposição à amônia e teste de estabilidade colorimétrica após detecção de NH_3 , foram submetidos à ANOVA e teste de Tukey (com nível de significância de 5% de probabilidade). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico Minitab, versão 17 e OriginPro 8.5.

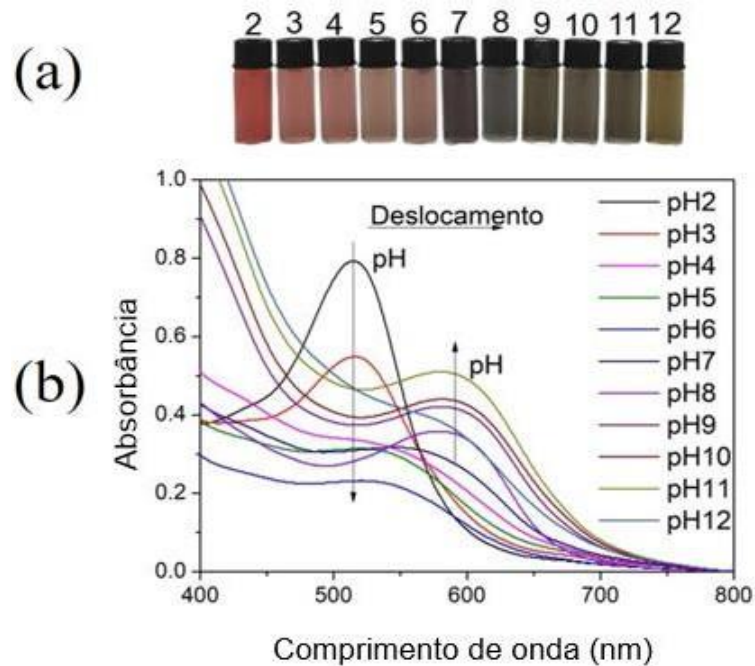
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do extrato etanólico de EA

A partir dos frutos do açaizeiro, coletados em três diferentes municípios do estado do Pará - Brasil (Abaetetuba, Ilha das Onças e Cametá), foram obtidos os extratos fenólicos brutos e o teor de antocianinas totais foram determinados sendo eles, $76,13 \pm 14,77$; $46,88 \pm 25,98$ e $204,3 \pm 6,70 \text{ mg/mL}^{-1}$, respectivamente. O extrato oriundo da cidade de Cametá foi escolhido para elaboração dos indicadores colorimétricos devido ao seu maior teor de antocianinas totais em comparação com os extratos fenólicos dos municípios de Abaetetuba e Ilha das Onças, e também aos relatados na literatura, como $0,182 \pm 0,0005 \text{ mg/mL}^{-1}$ em pétalas de rosa (ZHOU *et al.*, 2020), $105,4 \text{ mg}$ em repolho vermelho (CHEN *et al.*, 2021) e $0,04876 \pm 0,047 \text{ mg}$ em jamelão (MERZ *et al.*, 2020).

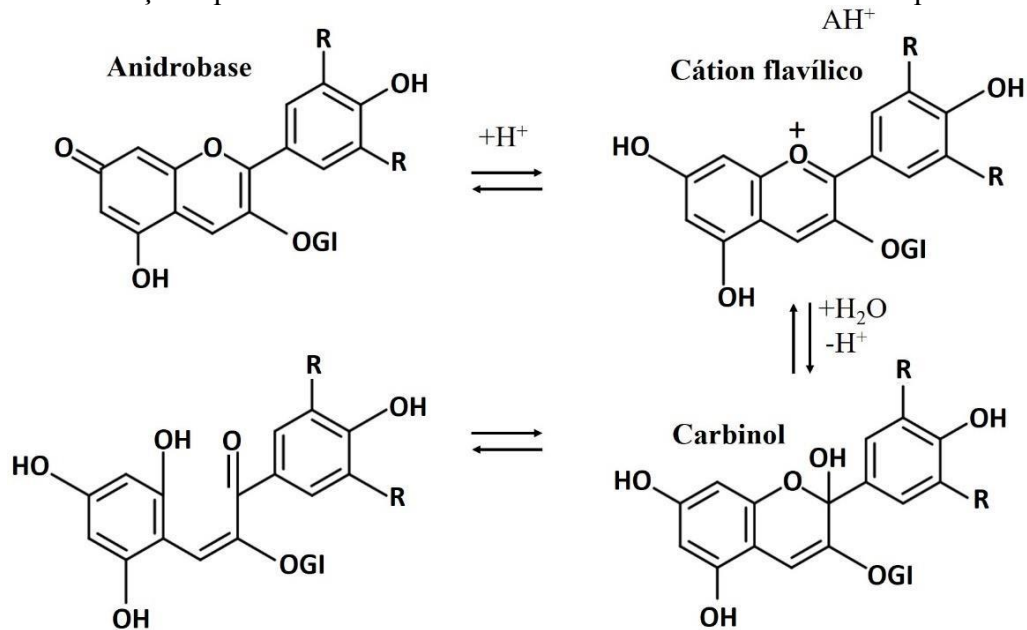
As variações de cores das soluções diluídas do EA foram analisadas por espectroscopia ultravioleta e foi confirmado seu potencial uso como corante para a produção de indicadores colorimétricos. O EA exibiu uma coloração inicial vermelha em pH 2,0, que alterou para rosa/violeta em pH 2,0-5,0, para violeta em pH 6,0-7,0 e para verde/amarelado em pH 8,0-12,0, conforme pode ser observado na Figura 1.

Figura 1 – Mudanças de cor do extrato de antocianinas em função do pH (a) e espectro de UV-vis (b).



Ao se observar os espectros de UV-Vis das soluções de EA (Figura 1(b)), verificou-se um pico máximo de absorção em 515 nm (pH 2.0), que exibiu a cor vermelha, o qual foi atribuído à presença do cátion flavílico (MA *et al.*, 2018). O pico máximo de absorção foi deslocado para ~600 nm quando o pH da solução EA aumentou de 2,0 para 10,0. De acordo com ANDRÉS-BELLO *et al.* (2013) à medida que aumenta o pH da solução contendo as antocianinas, maior é a competição cinética e termodinâmica entre a reação de hidratação na posição 2 do cátion flavílico e as reações de transferência de prótons e grupos hidroxilas (Figura 2). Por conseguinte, compostos incolores ou de coloração violeta e amarelados proveniente dos compostos carbinol pseudobase, base quinoidal e chalcona podem ser formados.

Figura 2 – Alterações que ocorrem na estrutura do cátion flavílico em meio aquoso.



*GI: glicose. Fonte: BROUILLARD (1982).

Em pH 6.0 foi observado a menor intensidade de absorção do espectro de onda UV-vis, cuja coloração exibida foi violeta. A partir desse ponto, a intensidade do pico de absorção em ~ 600 nm aumentou, juntamente com os valores de pH, e mudanças colorimétricas de violeta para verde/amarelo foram observadas, sendo esse efeito atribuído às alterações estruturais das antocianinas. Esse efeito de deslocamento do pico de absorção para comprimentos de onda maiores com o aumento do pH é conhecido como efeito batocrômico e é comumente encontrado em antocianinas (ZHANG *et al.*, 2016). As mudanças das cores podem ser atribuídas às antocianinas presentes no açaí, cianidina-3-O-glucosídeo e cianidina 3-O- rutinosídeo, que exibem bandas de absorção em ~ 520 nm conforme observado por este estudo e também relatado por Favaro *et al.* (2018) e Han e Xu (2015). Essas estruturas se alteraram devido ao aumento do pH causando diferentes interações químicas. Resultados semelhantes de alterações de cor em diversos valores de pH, foram amplamente relatados pelos autores Liang *et al.* (2019); Liang; Wang, (2018) e Zhang; Lu; Chen, (2014). Devido às características cromáticas exibidas pelo EA em diferentes valores de pH, o mesmo pode ser aplicado em sistemas inteligentes para o monitoramento simples e eficiente da deterioração de alimentos.

3.2 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos indicadores colorimétricos de AC/EA plastificados com

GLI e TEC foram avaliadas para verificar em quais condições e processos os indicadores colorimétricos produzidos a partir desse material podem ser submetidos, os resultados são apresentados nas Figuras 3 e 4. Com o aumento nas concentrações molares dos plastificantes, para ambos tratamentos, observou-se a redução da resistência máxima à tração (RMT) e o aumento do alongamento até a ruptura (AR). Esses resultados corroboram com os relatados por Liang *et al.* (2019), no desenvolvimento de indicadores colorimétricos inteligentes com adição de antocianinas de repolho vermelho na matriz polimérica de carboximetilcelulose.

Para o filme controle (0% de plastificante) foram observados maior valor de RMT e menor de AR, comparados com os indicadores colorimétricos plastificados. Esse comportamento é típico de indicadores colorimétricos de acetato de celulose não plastificados que tendem a ser mais rígidos e menos flexíveis (CERQUEIRA *et al.*, 2012). Indicadores colorimétricos de AC/EA plastificados com GLI exibiram menores valores de RMT e AR comparados com os indicadores colorimétricos plastificados com TEC. Tal fato decorre do maior distanciamento causado pelo TEC entre as moléculas de AC, e em consequência ocorre menor interação intramolecular e intermolecular entre as cadeias poliméricas, já que a massa molar do TEC é três vezes maior que de GLI. Por outro lado, resultados distintos foram obtidos por Cuq *et al.*, (1997) ao desenvolver indicadores colorimétricos à base de proteína miofibrilar plastificados com compostos com distintas massas molares. Os autores notaram que indicadores colorimétricos plastificados com compostos de baixa massa molar proporcionaram maiores valores de AR e menores de RMT.

Figura 3 – Curvas e modelos estatísticos ajustados para as propriedades mecânicas RM e AR dos indicadores colorimétricos de AC/ES plastificados com GLI, F_{aj} = Falta de ajuste ($p > 0,05$), R^2 = coeficiente de determinação, x = concentração do plastificante GLI ($p < 0,05$).

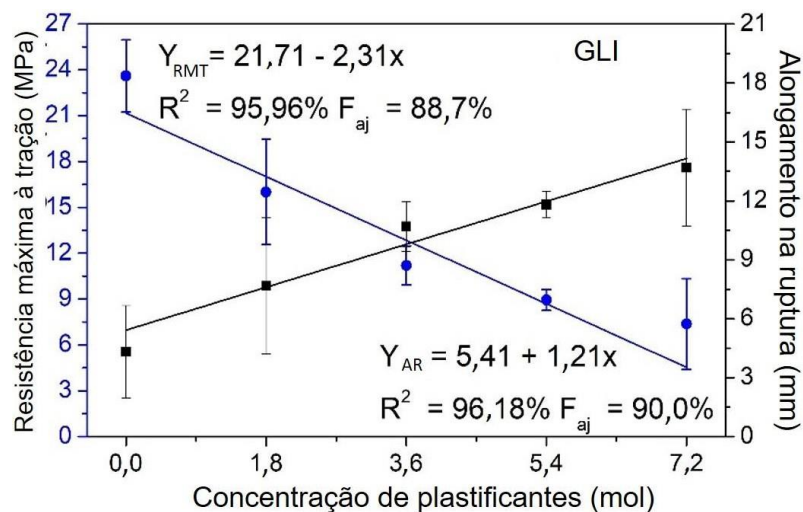
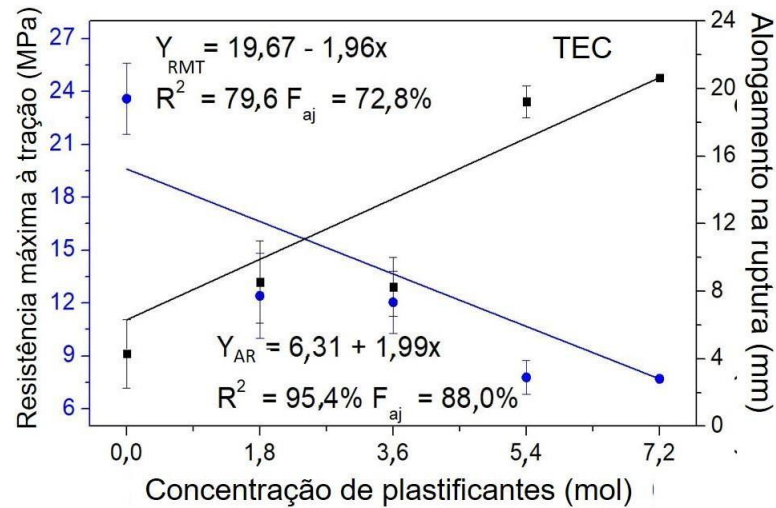


Figura 4 – Curvas RMT e AR dos indicadores colorimétricos de AC/EA plastificados com TEC, acompanhada de seu modelo estatístico ($p < 0,05$), F_{aj} = Falta de ajuste ($p > 0,05$), R^2 = coeficiente de determinação, x = concentração do plastificante TEC ($p < 0,05$).



3.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

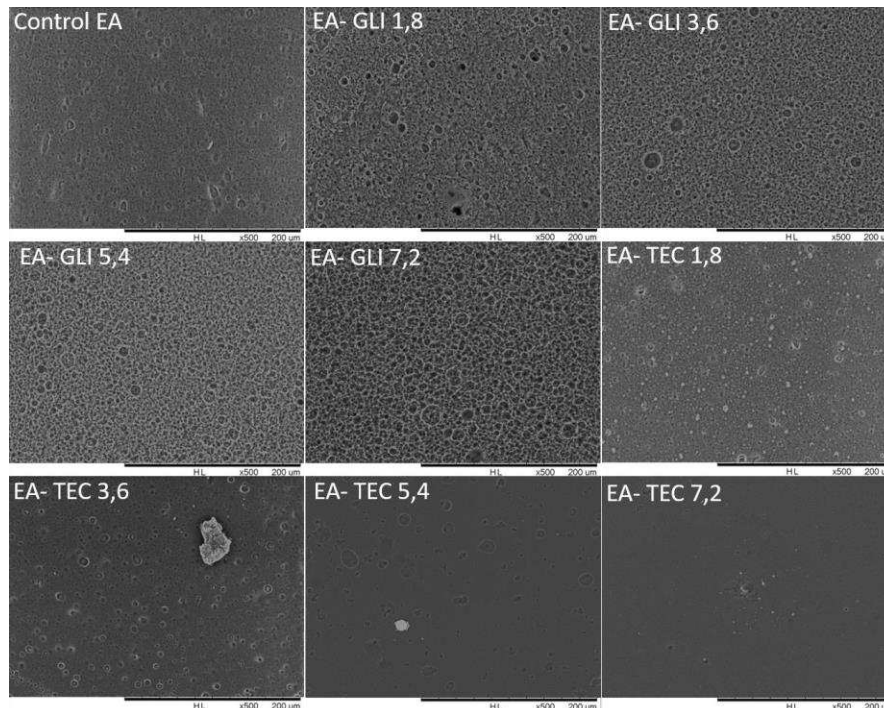
As características de superfícies dos indicadores colorimétricos de AC/EA plastificados foram determinadas por análise das micrografias obtidas em Microscópio Eletrônico de Varredura (Figura 5). Os indicadores colorimétricos plastificados com GLI exibiram uma superfície heterogênea, independente da concentração molar aplicada, indicando baixa interação entre os constituintes. Liang; Wang, (2018) e Ma *et al.* (2018) desenvolveram indicadores colorimétricos à base de polissacarídeos plastificados com glicerol e incorporados com extrato de antocianinas, e relataram separação de fase devido às menores interações intermoleculares.

Da mesma forma, pequenos aglomerados de AC e alta heterogeneidade de superfície foram observados nos indicadores colorimétricos de EA plastificados com baixas concentrações de TEC. Os resultados corroboram com o trabalho de Lozano-Navarro *et al.* (2018) no qual ressaltaram que as presenças de antioxidantes naturais não influenciaram na morfologia dos indicadores colorimétricos, e que os pontos brancos observados estão relacionados à presença do polímero não dispersos.

Esferas com diferentes tamanhos foram observadas em todas as micrografias analisadas dos indicadores colorimétricos e são atribuídas à presença das antocianinas, já que, devido ao caráter hidrofílico preeminente dessas partículas e a natureza hidrofóbica da matriz polimérica,

a formação de micelas dentro da fase contínua ocorreu para minimizar a energia livre do sistema. Para maiores concentrações molares de TEC, os indicadores colorimétricos exibiram uma superfície homogênea, com o desaparecimento da estrutura micelar do extrato de antocianina e melhoramento da dispersão do AC, indicando que o plastificante melhorou a interação entre os compostos.

Figura 5 – Micrografias dos indicadores colorimétricos de EA em acetato de celulose plastificados com diferentes concentrações molares de GLI e TEC. Todas as micrografias foram amplificadas em 500x.



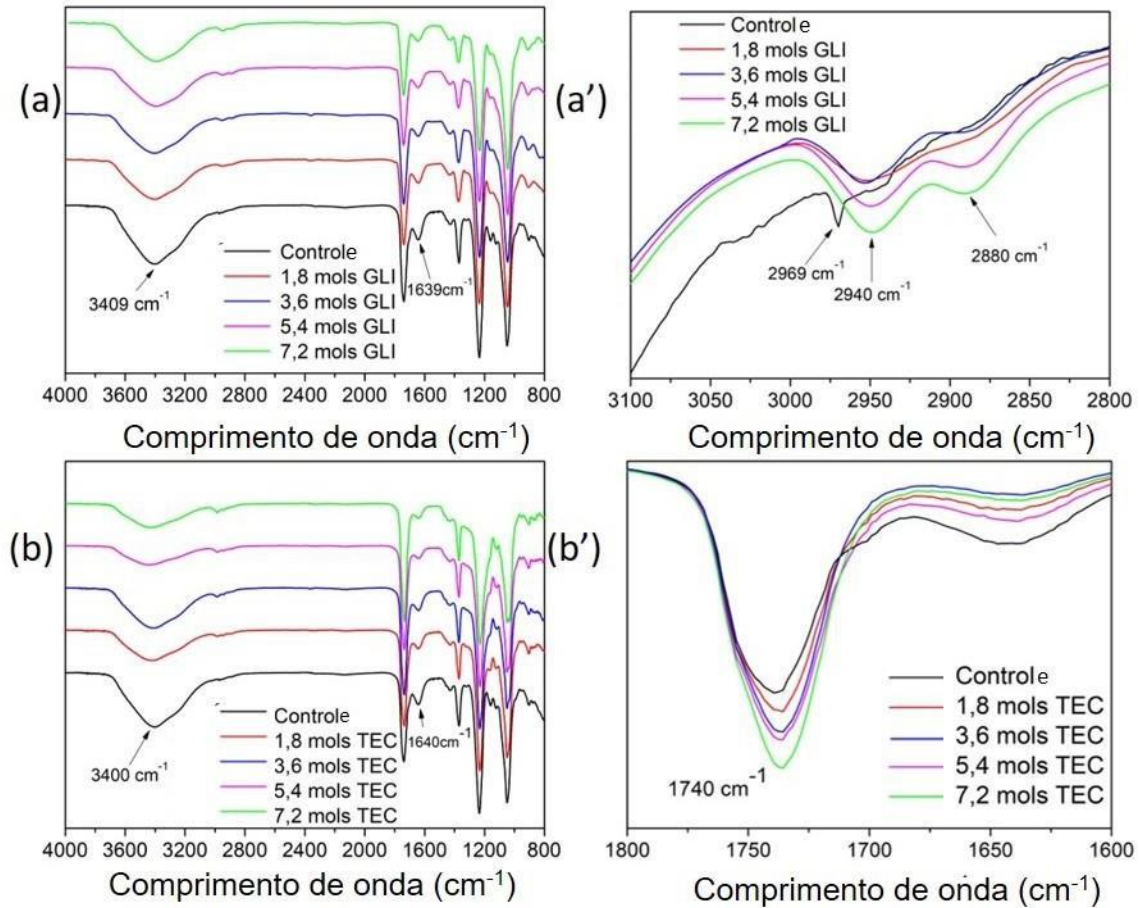
3.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)

Os espectros na região do infravermelho dos indicadores colorimétricos de EA em base de AC, plastificados com GLI e TEC, podem ser observados na Figura 6. Foi observado no espectro de FT-IR do indicador não plastificado (controle) bandas em 3409 cm^{-1} e 1639 cm^{-1} , que são atribuídas à vibração de alongamento do grupo hidroxila de álcoois e fenóis e vibrações de alongamento de $\text{C}=\text{C}$ de anéis aromáticos, características do EA (SILVA-PEREIRA *et al.*, 2015). Em 2969 cm^{-1} pode-se observar uma banda estreita que, segundo Barbosa (2007), corresponde ao estiramento da ligação de $\text{C}-\text{H}$, ao qual estão presentes na cadeia do acetato de celulose, em anéis aromáticos da cianidina-3-O-glucosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo, componentes das antocianinas de açaí (Figura 6 (a)). Foi observada a presença

de bandas em 1739 cm^{-1} correspondente ao estiramento carbonílico de éster, em 1429 cm^{-1} e 1371 cm^{-1} correspondente à deformação angular assimétrica de CH_2 e simétrica de CH_3 , e em 1234 cm^{-1} e 1049 cm^{-1} que indicam estiramento assimétrico e simétrico de ligações C-O-C da molécula de celulose e de acetato de celulose (BARBOSA, 2007; MARK, 1999).

Bandas características do plastificante GLI em 2940 cm^{-1} e 2880 cm^{-1} correspondente ao alongamento simétrico e assimétrico de C-H foram observadas, confirmando a inserção de GLI na matriz polimérica de AC (Figura 6(a')). Esses resultados corroboram com o trabalho de Liang e Wang (2018) que notaram bandas semelhantes em indicadores colorimétricos de pH plastificados com glicerol e adicionados com sementes de tamarindo e extrato de Litmus Lichen. Os espectros de FT-IR dos indicadores colorimétricos de EA em base de AC, plastificados com TEC podem ser observados na Figura 6 (b) e (b)'. O aumento do conteúdo molar de TEC nos indicadores colorimétricos acarretou no aumento da intensidade do pico em 1740 cm^{-1} , que correspondem aos grupos C=O. É possível notar que o filme de EA sem adição de plastificantes também possui um pico em 1740 cm^{-1} característico de AC. Ademais, observa-se que houve tendência de diminuição da intensidade da banda em 3400 cm^{-1} , atribuídas à vibração de alongamento O-H, sugerindo alterações nas ligações de hidrogênio entre as cadeias de polímeros, devido a incorporação do plastificante. Em 1640 cm^{-1} , observa-se também vibrações de alongamento de C=C de anéis aromáticos, correspondente ao extrato adicionado (HOU *et al.*, 2014; SILVA-PEREIRA *et al.*, 2015).

Figura 6 – Espectros de FTIR dos indicadores colorimétricos de acetato de celulose plastificados com GLI (a) e TEC (b) e espectros de comprimento de onda específicos de GLI (a') e de TEC (b').



3.5 Propriedades termogravimétricas (TGA)

As curvas termogravimétricas (TGA) e as derivadas termogravimétricas (DTG) dos indicadores colorimétricos de AC/EA controle (0% de plastificante) e indicadores colorimétricos de AC/EA plastificados estão representadas na Figura 7. Observa-se três estágios de perda de peso para o filme AC/EA controle (0% de plastificante). A primeira etapa de perda de peso ocorreu entre 21,93 °C a 78,70 °C, com aproximadamente 25% (m/m) de variação de massa, e foi atribuída à perda de água fracamente adsorvida na superfície dos filmes, etanol e acetona livre. Entre as temperaturas de 78,70 °C e 280,14 °C, observa-se uma pequena variação da massa, equivalente a ~1,5% (m/m), e corresponde provavelmente a volatilização e/ou degradação da acetona residual presente na formulação do filme e etanol residual presente no extrato, e também devido a desidratação dos indicadores colorimétricos proveniente da liberação de moléculas de água ligadas as cadeias de AC. A segunda etapa ocorreu entre as

temperaturas de 280,14 °C a 380,20 °C, com 57% (m/m) de variação da massa total, e foi atribuída à decomposição de polímero e decomposição de moléculas presentes no extrato de antocianinas (BENAZZOUZ *et al.*, 2017; FREITAS *et al.*, 2020). A terceira etapa ocorreu entre 380,20 °C a 534,29°C e foram atribuídas a reações de degradação de materiais orgânicos (PRIETTO *et al.*, 2017; SILVA-PEREIRA *et al.*, 2015).

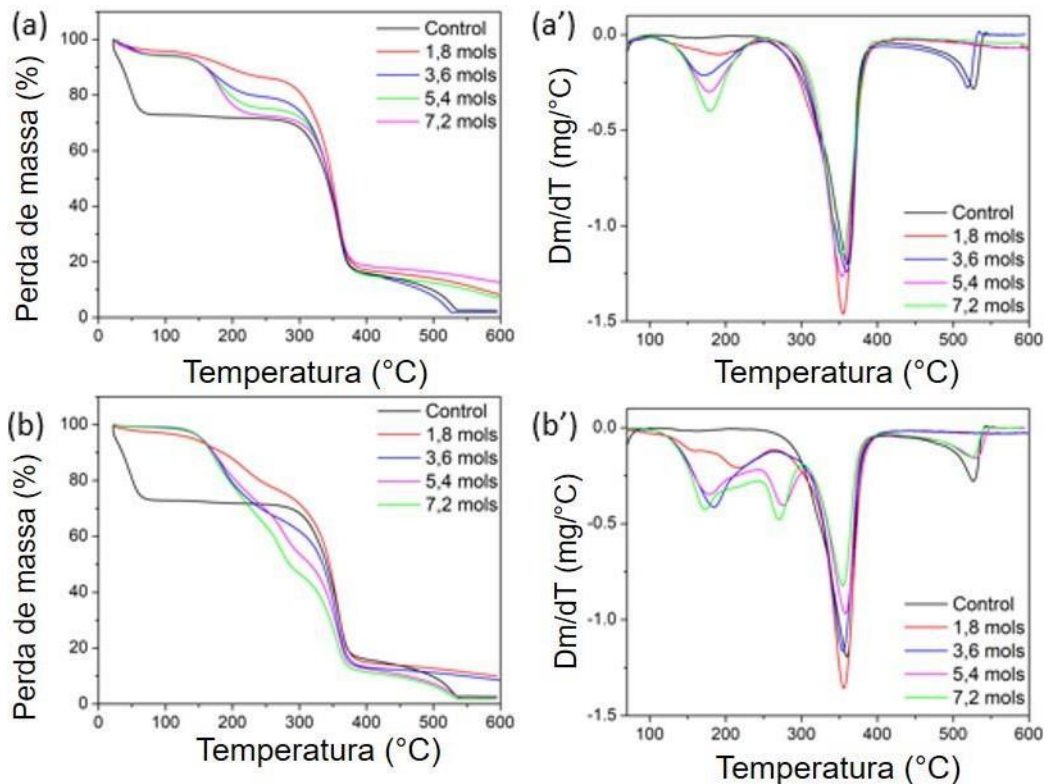
Os indicadores colorimétricos de AC/EA, plastificados com GLI, exibiram quatro etapas de perda de massa. A primeira etapa foi correspondente a perda de água, acetona e etanol e ocorreu entre 95,47 °C e 145,03°C, com 5% (m/m) de variação de massa. A segunda etapa ocorreu na faixa de temperatura de 145,03 °C a 272,24 °C e corresponde a evaporação e, ou degradação de GLI, e também à desidratação dos indicadores colorimétricos devido à liberação de moléculas de água ligadas as cadeias de AC. Pode-se notar aumento da perda de massa quando maiores concentrações molares do plastificante GLI foram adicionadas (Fig. 7a'). A terceira etapa ocorreu entre 272,24 °C a 378,38 °C, e corresponde a decomposição do material polimérico de AC e das moléculas presentes no extrato das antocianinas, com variação de massa 67, 59, 56 e 50% (m/m), com o aumento do conteúdo molar do plastificante (BENAZZOUZ *et al.*, 2017). Tal fato ocorreu possivelmente devido ao aumento da mobilidade das cadeias poliméricas proporcionados por maior concentração de plastificante incorporados na matriz polimérica que pode ter facilitado a volatilização e decomposição das antocianinas, aumentando a quantidade de perda de massa na segunda etapa. A última etapa ocorreu em temperaturas superiores a 378,38 °C, atribuídas a carbonização de materiais orgânicos (JIANG; QIAO; SUN, 2006; PEREIRA; DE ARRUDA; STEFANI, 2015).

As curvas de TGA e DTG dos indicadores colorimétricos de AC/EA plastificados com TEC exibiram comportamentos semelhantes (Figura 7 (b) e (b')). Uma perda de peso (7% m/m) foi observada nas temperaturas abaixo de 97,71 °C, e foram atribuídas à evaporação de água fisicamente adsorvida nos indicadores colorimétricos, e acetona residual e etanol livres, ou seja, não envolvidos em interações inter e intramoleculares. As próximas perdas de massa ocorreram nas temperaturas de 97,71 °C a 305,71 °C aproximadamente, e foram atribuídas a volatilização de etanol contido no extrato, volatilização e degradação de TEC, e desidratação do indicadores colorimétricos devido à liberação de moléculas de água ligadas as cadeias de AC (LIANG; WANG, 2018; POLA *et al.*, 2016). A principal perda de massa, ocorreu de 305,71 °C a 371,24 °C, com uma variação de massa total igual a 50, 44, 37 e 32% (m/m), para maiores concentrações molares de TEC respectivamente, e foi atribuída à decomposição das cadeias poliméricas de AC e moléculas voláteis presentes no extrato de antocianinas de açaí (FREITAS *et al.*, 2020). Evento semelhante foi observado nos estudos de Zhang *et al.* (2020), em que

tribuiu essa perda de massa à decomposição das cadeias de amido, liberando compostos voláteis, como dióxido de carbono, aldeídos e cetonas. Assim como para os indicadores colorimétricos plastificados com GLI, as perdas de massa observadas acima de 371,24 °C, foram atribuídas a carbonização de materiais oriundos de estruturas orgânicas (PEREIRA; DE ARRUDA; STEFANI, 2015).

Notavelmente, as perdas de massas dos indicadores colorimétricos desenvolvidos com TEC foram inferiores as de GLI, além de terem acontecido em temperaturas superiores, fato que pode ser observado no principal evento ocorrido, nas faixas de temperatura aproximadamente entre ~272°C a 371 °C, indicando que TEC aumenta a estabilidade térmica dos indicadores colorimétricos, fazendo interações de hidrogênio com as moléculas AC, como discutido anteriormente. Entretanto, os resultados indicam que os indicadores colorimétricos plastificados com GLI são estáveis em temperaturas abaixo de ~95°C, possibilitando seu uso em muitas aplicações em embalagens para alimentos.

Figura 7 – Curvas termogravimétricas (TGA) (a) e (b) e suas derivadas (DTG) (a') e (b') para os indicadores colorimétricos incorporados com diferentes concentrações de GLI e TEC respectivamente.

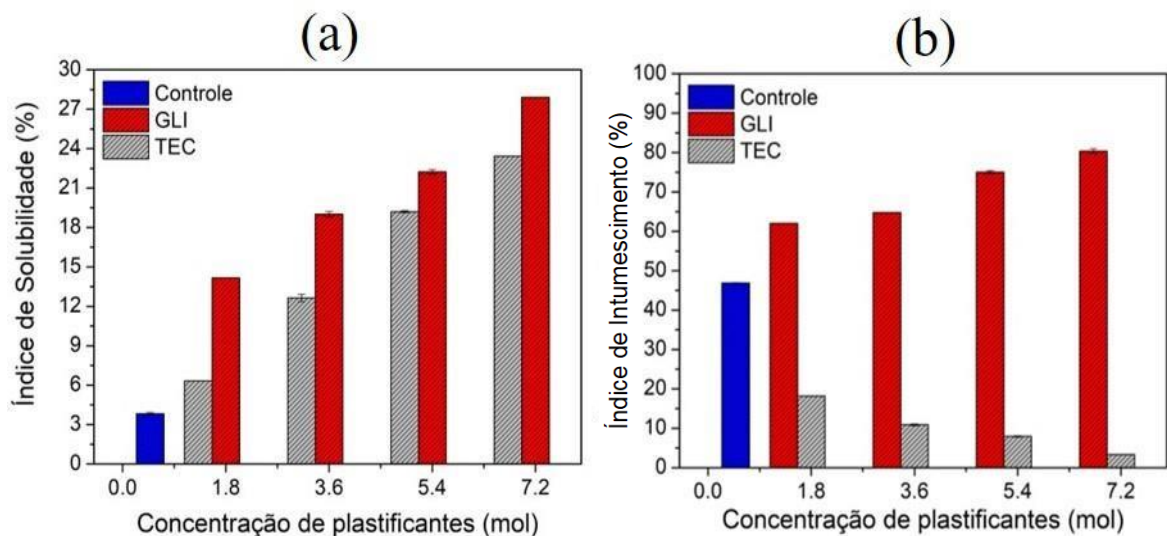


3.6 Índice de solubilidade e Índice de intumescimento

O índice de solubilidade (IS) foi determinado com objetivo de medir a resistência aquosa dos filmes indicadores, e também para determinar a quantidade do filme que é dissolvido em água, enquanto o índice de intumescimento foi determinado com o intuito de estimar a capacidade de retenção de água na matriz polimérica (RHIM, 2011).

Os resultados exibidos na Figura 8 (a) revelam que os índices de solubilidade dos indicadores colorimétricos adicionados com extrato de EA e plastificados aumentaram com a incorporação de maiores concentrações molares de TEC e GLI, ao qual variou de 3,82% (filme controle) até 27,09% de perda de massa em meio aquoso. A solubilidade é ordenada pela interação entre a matriz polimérica com a água, logo, o aumento do IS dos indicadores colorimétricos pode ser atribuído as propriedades químicas das moléculas dos plastificantes.

Figura 8 – Índice de solubilidade (a) e índice de intumescimento (b) dos indicadores colorimétricos EA/AC plastificados com GLI e TEC.



Ainda que seja alto o IS dos indicadores colorimétricos plastificados com GLI, os valores encontrados de perda de massa em meio aquoso são relativamente mais baixos do que os indicadores colorimétricos desenvolvidos em outros trabalhos, já que os filmes de AC possui um caráter mais apolar que a maioria dos polímeros biodegradáveis. Em indicadores colorimétricos de amido e quitosana, desenvolvidos por Zhong; Song; Li, (2011), foram observados valores de perda de massa de até 47,93% em meio aquoso e esse efeito foi atribuído a presença de grupos hidroxilas nesses compostos que são capazes de fazer pontes de hidrogênio com a água, e conseqüentemente facilitar a perda de massa.

Em relação ao índice de intumescimento (II) (Figura 8 (b)), os indicadores colorimétricos incorporados com maiores concentrações molares de GLI absorveram mais moléculas de água(80%), devido à hidratação intrínseca da molécula. Esse resultado corrobora com Ferreira *et al.*(2016) que também observaram que o grau de intumescimento de indicadores colorimétricos produzidos com bicamadas de FucoPol e quitosana foram influenciados pela quantidade de plastificante adicionado. Além do mais, Pourjavaher et al. (2017) observaram que a incorporação de antocianinas de repolho roxo em nanofibras de celulose ocasionou o incremento nos valores de II. Altos valores de II podem ser benéficos para diversas aplicações na indústria, como um filme adsorvente de umidade, para limitar a migração de água em alimentos ou propiciar a retenção de umidade, como relatado por Wang *et al.*, (2012).

Os valores de IS e II (Figura 8 (a) e (b)) dos indicadores colorimétricos plastificados com TEC foram menores dos que os plastificados com GLI. Esse efeito pode ser explicado pela maior formação de ligações de hidrogênio entre as moléculas de TEC e AC, uma vez que esse plastificante possui em sua estrutura molecular grupos carbonilas e hidroxilas que aumentam das forças intermoleculares e a continuidade do sistema, e conseqüentemente melhora a resistência dos indicadores colorimétricos à água. Os valores encontrados indicam que, há uma estrutura mais densa e compacta da matriz polimérica, ocasionando menor absorção de água nos indicadores colorimétricos. Esse fato corrobora com as micrografias observadas pelo MEV, no qual foi observado superfícies homogêneas e melhor dispersão da matriz polimérica com a adição de TEC. Em contrapartida, GLI possui três hidroxilas em sua estrutura molecular, e as ligações de hidrogênio aqui formadas não foram suficientes para promover uma rede polimérica tão estruturada quanto a formada pelo TEC e AC. Contudo, o filme plastificado com 7,2 mols de TEC, exibiu alto valor de IS, indicando que nessa concentração o plastificante aumentou o distanciamento e a mobilidade das cadeias de AC, e, portanto, facilitou a perda de massa dos indicadores colorimétricos em meio aquoso quando comparado com filmes plastificados com menores concentrações de TEC.

Ainda assim, a partir dos resultados apresentados para todos os indicadores colorimétricos testados incorporados com GLI, está prevista sua aplicação em ambientes com baixo teor de água, devido à sua alta afinidade com a água que pode comprometer sua integridade física. Os indicadores colorimétricos de AC/EA plastificados com TEC, exibiram excelentes resultados de IS e II, e poderiam ser utilizados em diversas matrizes alimentares.

3.7 Comportamento cromático dos indicadores colorimétricos em condição simulada pela exposição a vapores de amônia e da capacidade de reversibilidade em vapores ácidos

As coordenadas colorimétricas L^* (luminosidade), a^* (verde-vermelho) e b^* (azul-amarelo) foram medidas e a Diferença Total de Cor (ΔE) foi determinada para avaliar o comportamento cromático dos indicadores de EA/AC, plastificados com GLI e TEC, expostos a vapores de amônia por 10 min (600 s). A coordenada a^* variou mais do que as coordenadas L^* e b^* , e esse comportamento pode ser visualizado na Figura 9. No tempo zero, a coordenada a^* exibiu valor máximo, com coloração tendendo ao vermelho, o qual decresceu com o tempo de exposição a amônia. Os indicadores colorimétricos desenvolvidos nesse estudo apresentaram alterações de cor em tempo de resposta inferior aos já desenvolvidos por Ezati *et al.* (2019) e Ezati e Rhim (2020) que precisaram de 12 min e 24 min, respectivamente, para mudar de cor.

Figura 9 – Resposta cromática (a^*) dos indicadores colorimétricos de EA/AC, plastificados com diferentes concentrações de TEC e GLI, em condição simulada a vapores de amônia por 0, 3, 6, 12, 20 e 30 min, e na exposição aos vapores ácidos “R” (condição de reversibilidade). Médias \pm desvio padrão (n = 3), valores com letras diferentes na mesma coluna (a-f) são significativamente diferentes (p < 0,05).

Amostra	Resposta do indicador colorimétrico (a^*)						
	Tempo						
	0	3	6	12	20	30	R
Controle	21,897 \pm 2,711 ^d	21,510 \pm 0,736 ^a	7,845 \pm 4,1797 ^c	3,453 \pm 5,054 ^{ab}	4,563 \pm 1,802 ^{cd}	7,2903 \pm 3,244 ^{abc}	8,280 \pm 0,790 ^{cde}
1,8 mols GLI	30,607 \pm 2,829 ^{abc}	19,363 \pm 2,467 ^a	7,533 \pm 3,441 ^c	1,916 \pm 0,325 ^{ab}	2,555 \pm 1,360 ^{de}	2,140 \pm 0,882 ^{de}	7,565 \pm 0,09 ^{de}
3,6 mols GLI	29,953 \pm 5,345 ^{abc}	22,113 \pm 0,541 ^a	0,743 \pm 1,285 ^d	1,116 \pm 0,759 ^{ab}	1,730 \pm 0,147 ^c	1,783 \pm 0,110 ^{dc}	4,785 \pm 0,728 ^f
5,4 mols GLI	34,233 \pm 2,829 ^{ab}	21,173 \pm 4,389 ^{ab}	-1,560 \pm 0,276 ^d	-1,350 \pm 0,101 ^b	-0,920 \pm 0,416 ^f	-1,170 \pm 0,411 ^e	8,670 \pm 0,311 ^{bc}
7,2 mols GLI	36,917 \pm 1,519 ^a	7,636 \pm 4,641 ^{cd}	0,663 \pm 1,103 ^d	1,030 \pm 0,070 ^{ab}	0,396 \pm 1,445 ^{ef}	3,490 \pm 0,015 ^{cd}	16,195 \pm 0,729 ^a
1,8 mols TEC	30,653 \pm 2,138 ^{abc}	7,530 \pm 1,103 ^d	12,437 \pm 0,509 ^{ab}	5,465 \pm 6,102 ^{ab}	5,430 \pm 0,254 ^c	5,445 \pm 0,615 ^{bcd}	9,340 \pm 0,070 ^b
3,6 mols TEC	32,480 \pm 1,425 ^{ab}	12,435 \pm 1,378 ^c	2,373 \pm 1,117 ^d	6,933 \pm 10,111 ^{ab}	2,275 \pm 0,827 ^e	4,213 \pm 1,806 ^{bcd}	7,845 \pm 0,035 ^{cde}
5,4 mols TEC	27,803 \pm 0,966 ^{dbc}	16,060 \pm 3,324 ^b	14,827 \pm 4,261 ^a	11,250 \pm 1,067 ^a	10,950 \pm 0,579 ^a	10,450 \pm 4,921 ^a	8,625 \pm 0,007 ^{bcd}
7,2 mols TEC	23,773 \pm 1,039 ^{dc}	9,020 \pm 2,358 ^d	9,105 \pm 0,035 ^d	8,615 \pm 0,756 ^{ab}	7,545 \pm 0,063 ^b	8,205 \pm 0,120 ^{ab}	7,255 \pm 0,020 ^c

A mudança visual de cor do vermelho para tons de roxo e marrom ocorreu de forma mais rápida para os indicadores de EA/AC plastificados com 7,2 mols de GLI, e com 1,8, 3,6 e

7,2 mols de TEC, no qual foram observadas as maiores diferenças numéricas da coordenada a^* antes e após exposição a NH_3 por 3 min, sendo estatisticamente iguais ($P < 0,05$) (Figura 9). A alta sensibilidade cromática desses indicadores, pode ser explicada pela maior mobilidade das cadeias poliméricas ocasionadas pelos plastificantes, ao qual, aumentam a tendência de preservar as espécies reativas das antocianinas. Além disso, a presença dos compostos NH_3 e H_2O (presente no extrato) formam um ambiente de base fraca por meio de reações de hidrólise, produzindo NH_4^+ e OH^- . Portanto, a formação de íons OH^- , que são capazes de reagir com EA, acionam o comportamento ácido-base das antocianinas, resultando na mudança cromática do sistema. Quanto mais OH^- for formado, mais rápida e sensível será a mudança de cor dos indicadores (CAO *et al.*, 2019).

Os indicadores colorimétricos de EA/AC, plastificados com TEC e GLI, foram expostos à amônia por 30 min, e posteriormente aos vapores de ácido acético por mais 30 min, para verificar a reversibilidade da mudança de cor dos mesmos. Foi observado que os indicadores de EA/AC, independente do tipo e concentração de plastificante, não foram capazes de retornar a sua cor original vermelha, conforme demonstrado na Figura 9. Antocianinas em contato com ácido ou base fortes deixam de ser estáveis e perdem sua estrutura, não podendo voltar a sua estrutura química estável original (KUSWANDI *et al.*, 2020). Para a aplicação do indicador colorimétrico desenvolvido nesse trabalho em embalagens inteligentes, tal fato apresenta-se como um fator crucial, impedindo que o indicador colorimétrico possa ser utilizado em possíveis fraudes alimentícias. Freitas *et al.* (2020), reportaram resultados diferentes dos achados nesse estudo, no qual desenvolveu indicadores de AC incorporados com extrato de antocianinas de repolho roxo, exibindo reversibilidade de cores quando os indicadores colorimétricos foram colocados em ambiente de ácido acético volátil por 25 min.

O estudo do comportamento cromático dos indicadores de EA/AC, plastificados com GLI e TEC, prosseguiu com o ajuste de modelos matemáticos que explicassem a diferença de cor (ΔE^*) antes e após exposição dos indicadores ao vapor de amônia. Um modelo matemático foi ajustado para a variável resposta ΔE^*_{GLI} em função do tempo (t) e da concentração do plastificante GLI (c) cujo efeito verificado foi quadrático negativo para ambos os fatores, exibindo comportamento de parábola, com ponto de máximo na concentração de 7,2 mols após 3 min de exposição a vapores de amônia, conforme pode ser observado no perfil de superfície de resposta da Figura 10 (a). Mesmo com falta de ajuste significativa, o modelo pode ser utilizado para fazer uma análise descritiva da influência desses fatores na resposta cromática dos indicadores colorimétricos plastificado com GLI.

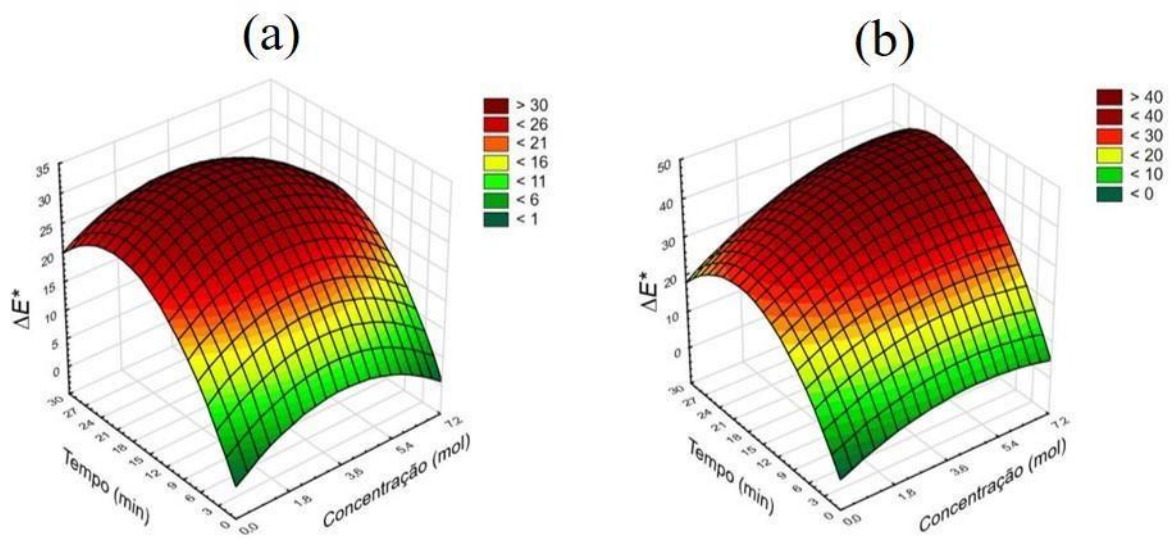
$$Y = -4,02 + 4,58 c + 3,379 t - 0,423 c^2 - 0,08379 t^2$$

Em que:

$$Y = \Delta E^*_{GLI};$$

c= concentração molar de GLI adicionado nos indicadores colorimétricos de AC; t = tempo (min).

Figura 10 – Perfis de superfície de resposta de ΔE^* em função do tempo e concentração para indicadores plastificados com (a) GLI ($R^2= 0,81$ Faj < 0,05) e (b) TEC. ($R^2= 0,71$ Faj < 0,05).



O modelo ajustado que explica o comportamento ΔE^*_{TEC} para os indicadores colorimétricos de EA/AC plastificados com TEC exibiu comportamento similar ao dos plastificados com GLI, também foi observado um comportamento de parábola, com ponto de máximo (Figura 10 (b)).

$$Y = 1,29 + 4,05 c + 2,447 t - 0,588 c^2 - 0,06236 t^2$$

Em que:

$$Y = \Delta E^*_{TEC};$$

c= concentração molar de TEC adicionado nos indicadores colorimétricos de AC;

t = tempo (min).

Nesse contexto, os indicadores colorimétricos de EA/AC, plastificados com GLI e TEC, tem potencial para serem usados na detecção de vapores de amônia, sendo capazes de detectar e informar ao consumidor sobre as condições químicas e físicas de alimentos, de forma simples, eficaz e em tempo real. Esses indicadores colorimétricos têm o funcionamento baseados em

alterações químicas das antocianinas, que podem ser utilizadas para aplicação em alimentos ricos em proteínas, uma vez que podem liberar compostos voláteis de natureza básica (trimetilamina, dimetilamina e amônia voláteis) no estágio de deterioração.

Dentre os alimentos, o camarão, por ser um alimento proteico de alto valor agregado e por produzir compostos voláteis de natureza básica durante a sua degradação, ao ser comercializado em embalagens inteligentes contendo indicadores colorimétricos de antocianinas, terão seu estado de conservação informado por esse sistema, facilitando a tomada de decisão dos consumidores em adquirir esse alimento de forma segura e confiável (ZHANG; LU; CHEN, 2014).

3.8 Alteração de cor dos indicadores colorimétricos em de pH básico

A mudança de cor dos indicadores colorimétricos EA/AC, plastificados (GLI e TEC) e não plastificados (controle), foi avaliada por espectroscopia UV e por análise visual por meio de fotografias tiradas desses indicadores expostos em meio aquoso básico (pH 13,0) por 0,20,40,60,80 e 600 segundos (Figura 11 (a) e (b)). Os indicadores colorimétricos de EA/AC plastificados exibiram um comportamento diferente de quando exposto aos vapores de amônia, no qual, para os indicadores plastificados com GLI, foi observada uma mudança notável de cor rosa para amarelo esverdeado com o aumento do tempo de exposição ao meio aquoso em pH básico e para marrom-acinzentado com maior grau de alcalinidade (MA e WANG, 2016).

Os espectros UV-vis dos indicadores colorimétricos EA/AC plastificados e não plastificados (Figura 11(b)) exibiram um pico máximo de absorção em 528 cm^{-1} no tempo 0, cuja intensidade diminuiu com o aumento da concentração molar do plastificante GLI. Este efeito pode estar associado com o aumento do pH do sistema, como mencionado por Ma e Wang (2016), que leva à diminuição da absorção nesse comprimento de onda (LUCHESE *et al.*, 2017).

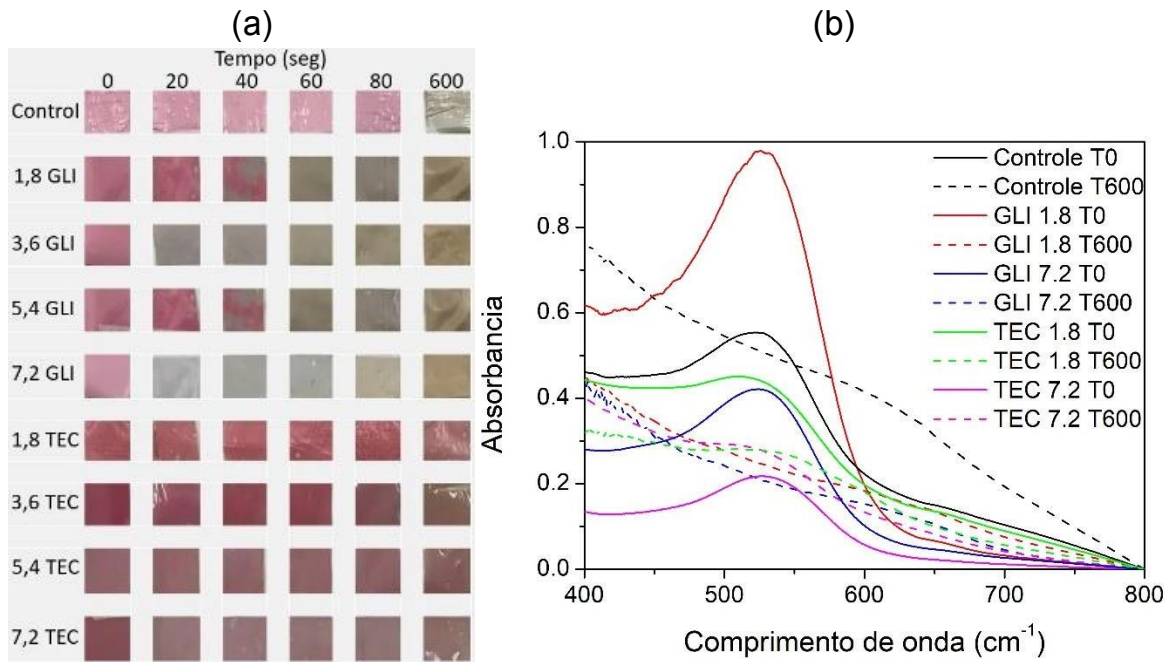
O pico de absorção a 528 cm^{-1} , característico da cor vermelha, desapareceu dos espectros UV dos indicadores colorimétricos EA/AC não plastificados e plastificados com 1,8 e 7,2 mols de GLI após 600 s de exposição ao meio aquoso básico, exibindo cor cinza-castanho, conforme observado na Figura 11. Entretanto, este pico de absorção permaneceu nos espectros dos indicadores colorimétricos EA/AC plastificados com TEC após exposição por 600 s em meio aquoso básico, mantendo a cor rosa claro do sistema.

A ausência de mudança de cor dos indicadores colorimétricos plastificados com TEC pode estar relacionada com a não permeação de água, que não promoveu a reação de hidratação

na posição 2 do cátion flavílico, como consequência não ocorreram as reações de transferência de prótons e hidroxilas, como mencionado na seção 3.1. Os baixos resultados encontrados na análise do índice de intumescimento para os indicadores de TEC, comprovam que menos água permeará as cadeias de polímeros plastificados por este composto, não sendo capaz de interagir suficientemente com as antocianinas para promover mudança de cor.

Por outro lado, os indicadores plastificados com GLI absorveram água na matriz de AC, o que facilitou à transição de cor desse sistema. Se houver hidratação haverá pouco impedimento para as reações de transferência de prótons, assim a estabilidade dos cromóforos diminui, induzindo a ionização do hemicetal, formando chalconas e as bases quinoidais.

Figura 11 – Alteração colorimétrica em pH básico (a) e espectro de UV-vis dos indicadores colorimétricos.



Até agora, vários estudos confirmaram que indicadores colorimétricos contendo extratos de plantas ricos em antocianinas poderiam responder às mudanças de pH (EBRAHIMI TIRTASHI *et al.*, 2019; KUSWANDI *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2018, 2019; MA; WANG, 2016; YOSHIDA *et al.*, 2014; ZHAI *et al.*, 2018). Neste estudo, os indicadores colorimétricos plastificados com diferentes concentrações molares de glicerol exibiram alta sensibilidade quando expostos a um meio com valores básicos de pH, ao qual, também podem ser usados como indicador de mudanças de pH causadas pela degradação de microorganismos, além de ser usado como um detector para a liberação de compostos voláteis como as aminas biogênicas.

3.9 Estabilidade de cor após exposição a NH_3

Foram determinados os atributos colorimétricos L^* , a^* , b^* e de cromaticidade ou saturação (C^*), para explicar o comportamento cromático dos indicadores colorimétricos submetidos a diferentes condições de armazenamento, e pode ser observado na Figura 12.

Figura 12 – Alteração na cor dos indicadores colorimétricos submetidos ao teste de estabilidade no tempo 0 e após 6 dias de armazenamento na presença de oxigênio (atmosfera) e em vácuo.

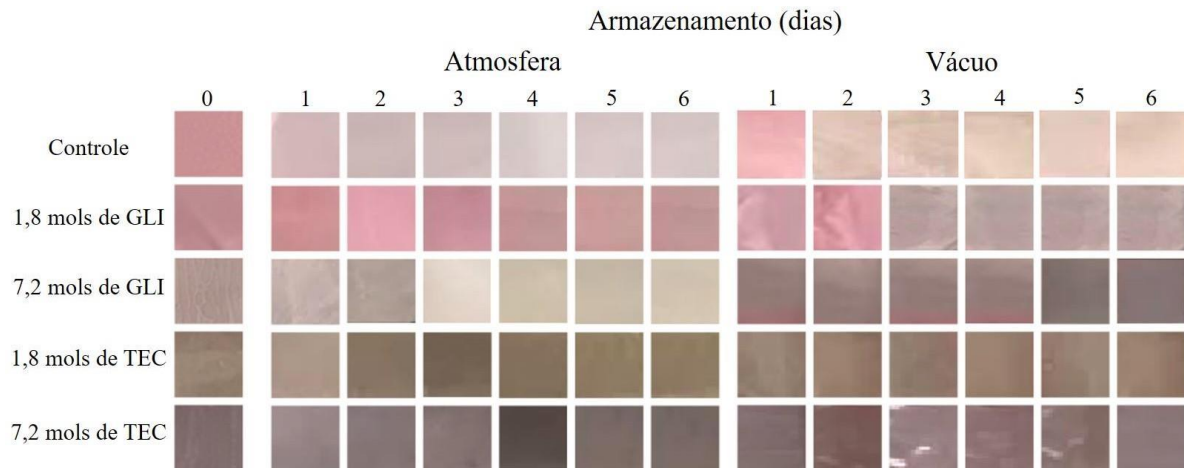


Tabela 1. Valores médios \pm desvio padrão para as coordenadas de cor L^* , a^* , b^* e o parâmetro colorimétrico c^* dos indicadores colorimétricos em contato com amônia por 3 min após diferentes condições de armazenamento.

Amostras	Armazenamento	L^*	a^*	b^*	c^*
Controle	Tempo 0	65,118 \pm 0,229 ^b	21,624 \pm 0,003 ^a	6,834 \pm 0,002 ^a	22,678 \pm 0,003 ^a
	Dia 6 atmosfera	78,898 \pm 1,119 ^a	6,877 \pm 0,430 ^c	3,891 \pm 0,556 ^b	7,921 \pm 0,0117 ^b
	Dia 6 Vácuo	61,04 \pm 0,889 ^c	7,545 \pm 0,151 ^b	3,733 \pm 1,323 ^b	8,404 \pm 0,398 ^b
1,8 mols de GLI	Tempo 0	62,544 \pm 0,14 ^b	19,609 \pm 0,321 ^a	4,960 \pm 0,202 ^a	20,227 \pm 0,261 ^a
	Dia 6 atmosfera	66,620 \pm 0,031 ^a	18,270 \pm 0,848 ^b	4,415 \pm 0,353 ^b	18,850 \pm 0,535 ^b
	Dia 6 Vácuo	60,527 \pm 0,089 ^c	7,545 \pm 0,158 ^c	3,733 \pm 1,323 ^a	8,404 \pm 0,398 ^c
7,2 mols de GLI	Tempo 0	62,394 \pm 0,628 ^b	7,585 \pm 0,206 ^a	6,346 \pm 0,595 ^b	9,270 \pm 0,530 ^c
	Dia 6 atmosfera	79,886 \pm 0,022 ^a	1,672 \pm 0,089 ^c	11,91 \pm 1,500 ^a	12,020 \pm 1,242 ^a
	Dia 6 Vácuo	48,928 \pm 1,127 ^c	7,565 \pm 0,322 ^b	2,697 \pm 0,409 ^b	8,69 \pm 0,456 ^c
1,8 mols de TEC	Tempo 0	57,014 \pm 1,225 ^a	5,339 \pm 0,505 ^{ab}	12,024 \pm 0,232 ^b	13,282 \pm 0,412 ^a
	Dia 6 atmosfera	57,122 \pm 0,262 ^a	6,881 \pm 0,813 ^a	12,540 \pm 0,027 ^b	13,790 \pm 0,412 ^a
	Dia 6 Vácuo	52,874 \pm 1,113 ^b	3,169 \pm 1,256 ^b	15,980 \pm 1,552 ^a	14,640 \pm 1,960 ^a
7,2 mols de TEC	Tempo 0	47,233 \pm 0,0247 ^b	7,954 \pm 0,045 ^a	2,749 \pm 0,326 ^b	8,420 \pm 0,0134 ^a
	Dia 6 atmosfera	51,310 \pm 0,966 ^a	8,304 \pm 0,298 ^a	1,506 \pm 0,236 ^c	8,468 \pm 0,249 ^a
	Dia 6 Vácuo	45,07 \pm 0,055 ^c	6,037 \pm 0,001 ^b	4,472 \pm 0,003 ^a	8,010 \pm 0,002 ^a

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

Até a data, o estudo da influência do oxigênio em indicadores colorimétricos contendo antocianinas de açaí e diferentes concentrações molares de plastificante é novo. Alguns estudos descreveram a interação entre antocianinas e oxigênio (SINELA *et al.*, 2017; ZHENG *et al.*, 2003). No entanto, a maioria dos estudos trata apenas de análises diretamente em antocianinas e não em indicadores plastificados, o que é importante, uma vez que a incorporação destes compostos em base sólida pode alterar as propriedades do composto quando em solução.

Foram observadas alterações colorimétricas dos indicadores plastificados com 1,8 e 7,2 mols de GLI e TEC armazenados por 6 dias na presença de oxigênio e em condições de vácuo (Tabela 1). O atributo c^* determinado para o indicador colorimétrico não plastificado e plastificado com 1,8 mols de GLI diminuiu ($p < 0,05$) com o tempo de armazenamento,

independente da condição de vácuo. Por outro lado, para o indicador colorimétrico plastificado com TEC, o atributo c^* manteve constante quando esse sistemas foi armazenado por 6 dias, independente da condição atmosférica, enquanto o indicador colorimétrico plastificado com 7,2 mols de GLI manteve esse atributo colorimétrico constante somente em condição de vácuo (Tabela 1).

A degradação das antocianinas causada por mecanismos de oxidação, pode ocorrer de forma direta ou indireta, quando constituintes oxidados do meio reagem com esse composto (JACKMAN; SMITH, 1996). Para que ocorra a degradação das antocianinas pelo oxigênio é necessário que haja a reatividade do oxigênio com a biomolécula, e ocorrerá quando o oxigênio apresentar a forma reativa. Sinela et al. (2017), apontam que a reatividade ocorre quando o oxigênio tripleto (O_2) é convertido em formas reativas como superóxidos (O_2^-), conjugado de ácido hidroperóxil ($HOO\cdot$), hidroxil ($HO\cdot$), peróxil ($ROO\cdot$) e alcóxi ($RO\cdot$). Deve-se enfatizar, no entanto, que além do oxigênio, existem outros fatores que influenciam na degradação das antocianinas, como pH e a taxa de incidência de luz. Portanto, há necessidade de avaliar a estabilidade dos indicadores colorimétricos em vários ambientes de armazenamento, pois são estruturas complexas com numerosos elementos químicos que podem ou não afetar a estabilidade das antocianinas, para que possam ser efetivamente utilizadas no desenvolvimento de dispositivos inteligentes.

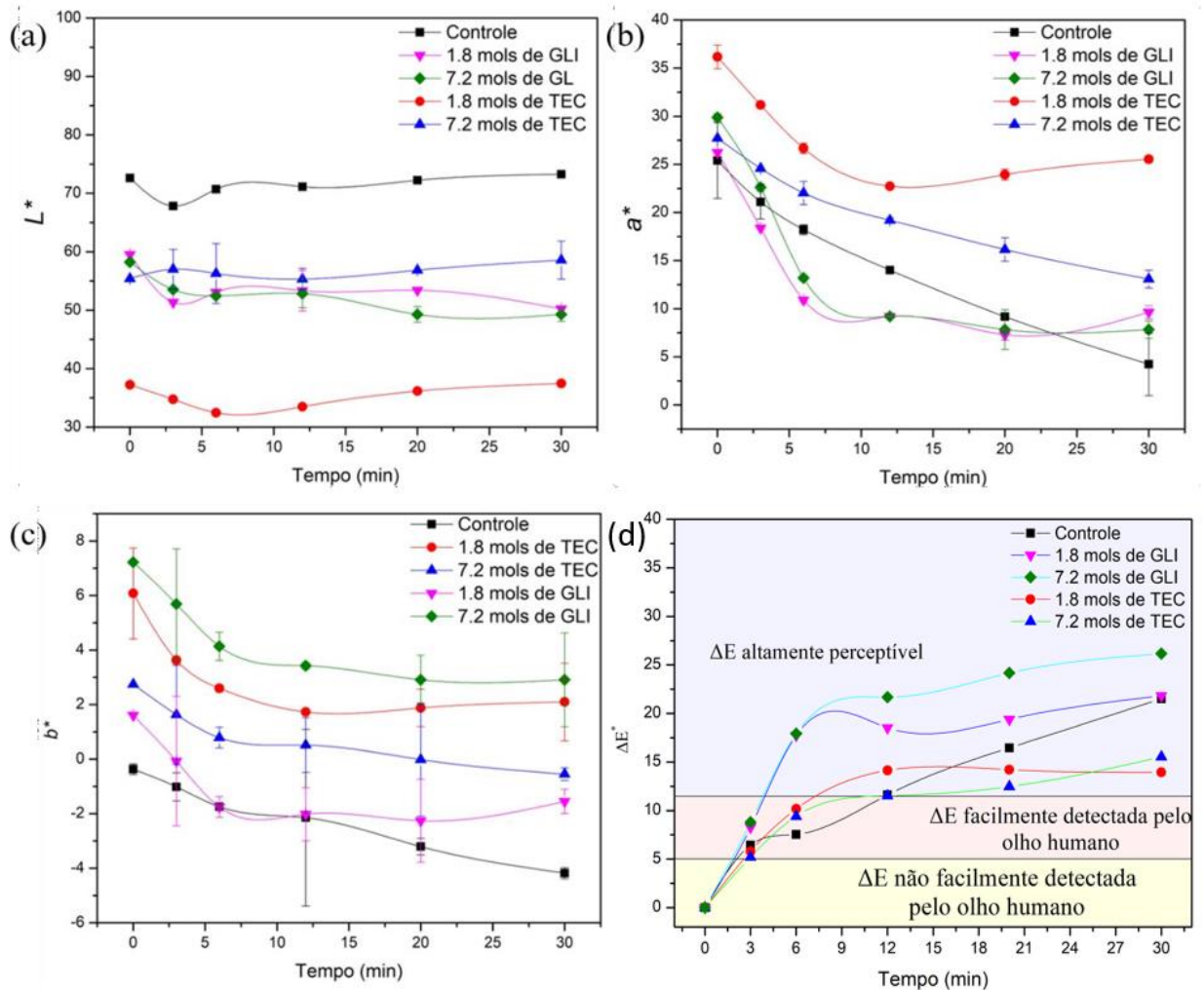
3.10 Capacidade de alteração de cor após armazenamento

Os indicadores colorimétricos, plastificados ou não, foram guardados por 40 dias, a $(25 \pm 5) ^\circ C$ e $(55 \pm 5\%)$ UR, sob o abrigo de luz, e posteriormente expostos a vapores de amônia por 30 minutos para avaliar a capacidade de mudança de cor após o período de armazenamento. Os indicadores EA/AC não plastificados e plastificados com TEC e GLI exibiram comportamento cromático diferentes após armazenamento (Figura 13). O valor da coordenada L^* foi maior para o indicador colorimétrico EA/AC sem plastificante (controle), seguido dos indicadores colorimétricos plastificados com maior concentração de plastificantes para as menores concentrações (Figura 13 (a)). Este efeito indica que a adição de maiores concentrações molares do plastificante faz com que a cor seja exibida ainda com maior luminosidade. Além disso, houve pouca variação nas coordenadas de cor L^* e b^* com o aumento do tempo de exposição dos indicadores colorimétricos EA/AC aos vapores de amônia, indicando brilho aparente e cor amarelada constante.

Os valores da coordenada colorimétrica a^* diminuíram com o aumento do tempo de

exposição dos tratamentos à presença dos vapores de amônia, indicados pela redução na intensidade da cor vermelha (Figura 13 (b)). A diferença de cor total (ΔE^*) após 3 minutos de exposição aos vapores de amônia atingiu valores considerados como visualmente perceptíveis (PELEG, M., BAGLEY, 1984). A sensibilidade dos indicadores colorimétricos de EA/AC plastificados com GLI e TEC, mesmo após armazenamento por 40 dias ($25 \pm 5^\circ\text{C}$ e $55 \pm 5\%$ UR), na ausência de luz, foi estável e manteve uma mudança cromática rápida (3 min) quando expostos aos vapores de amônia. Dessa forma, esse sistema demonstrou ser estável nas condições de armazenamento e pode ser utilizado com eficiência na indústria de alimentos.

Figura 13 –Variação das coordenadas de cor L^* (a) a^* (b) e b^* (c) e ΔE^* dos indicadores de EA/AC, não plastificados (controle) e plastificados com GLI e TEC (1,8 mols e 7,2 mols) armazenados por 40 dias, na ausência de luz, e posteriormente expostos, por 30 min, aos vapores de amônia.



3.11 Aplicação dos indicadores de EA/AC para o monitoramento da deterioração de camarão

Até o momento, foi verificado que a incorporação de diferentes concentrações molares de plastificantes na matriz polimérica de AC, contendo EA, acentuou a mudança de cor desse sistema quando exposto aos vapores de amônia e em meios básicos. Constatou-se que, dado teste *in vitro*, os indicadores colorimétricos exibiram diferentes alterações de cor, para tanto os indicadores não plastificados e plastificados com GLI e TEC (1,8 mols e 7,2 mols) foram escolhidos e empregados para monitorar o frescor de camarão cinza, em tempo real, durante o armazenamento a $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$ e $(60 \pm 5)\% \text{UR}$.

Na Figura 14 (1) e (2) pode-se observar que os indicadores colorimétricos de EA/AC aderidos às embalagens não alteraram a cor quando esses sistema não continha camarão em seu interior, garantindo que as condições de armazenamento não induziriam uma resposta colorimétrica no sistema. Conforme pode ser observado na Figura 14 (3), a cor do camarão cinza mudou após 60 horas de armazenamento $(6 \pm 2^\circ\text{C}$ e $60 \pm 5\% \text{UR}$).

Similarmente, os indicadores colorimétricos de EA/AC controle, plastificados com 1,8 mols de GLI, e com 7,2 mols de TEC, mudaram gradualmente de cor, do rosa para cinza, no qual foram observados uma diminuição nos valores de a^* e C^* , enquanto houve pouca variação nos valores de b^* . A perda de frescor do camarão ocorreu concomitantemente com o aumento dos valores de ΔE (Figura 15), indicando mudanças de cores dos indicadores colorimétricos de EA/AC devido a detecção de compostos voláteis à base de nitrogênio e do aumento de pH do sistema provenientes da decomposição proteica do camarão por enzimas e microrganismos (SALARBASHI *et al.*, 2021).

Após 36 h de armazenamento, sob refrigeração, o indicador colorimétrico não plastificado (A) alterou visualmente a cor, indicando provavelmente que os camarões não estavam aptos para consumo. Porém, nesse tempo, foram determinados os níveis de bases voláteis totais (TVB-N) e o valor do pH do alimento que foram de 27,058 mg/100 g e 7,77 (Figura 16), respectivamente,refutando a ideia de degradação, apontando que esse indicador não detectou corretamente a liberação de compostos. Por outro lado, os indicadores colorimétricos plastificados com GLI e TEC exibiram mudanças colorimétricas perceptíveis após 60 h de armazenamento, com resultados de TVB-N e pH superiores ao indicado na legislação. Segundo a Instrução normativa nº 23, de 20 de agosto de 2019, exige-se que o pH do camarão resfriado deve ser inferior a 7,85, enquanto as bases voláteis totais devem ser inferior a 30 mg de nitrogênio em 100 g de tecido muscular para ser considerado de qualidade.

Esses resultados mostram que os indicadores colorimétricos incorporados com extrato de antocianina em base de acetato de celulose, plastificados com GLI ou TEC, foram capazes de monitorar efetivamente o frescor do camarão, de forma simples e prática, em tempo real.

Figura 14. Aplicação dos indicadores colorimétricos de EA/AC em um sistema de embalagem para monitoramento do frescor do camarão cinza. Sistema controle - sem camarão (1) 0 hora, Sistema controle - sem camarão (2) 60 horas, sistema incorporados com indicadores colorimétricos EA/AC nãoplastificado (3) (A), incorporados com 1,8 mols de GLI (B), com 7,2 mols de GLI (C), com 1,8 mols de TEC (D), com 7,2 mols (E).



Figura 15 – Variação das coordenadas de cor e ΔE^* dos indicadores de EA/AC, plastificados e não plastificados (controle), aplicados em sistemas inteligentes para monitorar a qualidade do camarão cinza, durante o armazenamento a 6 °C, por 60 dias.

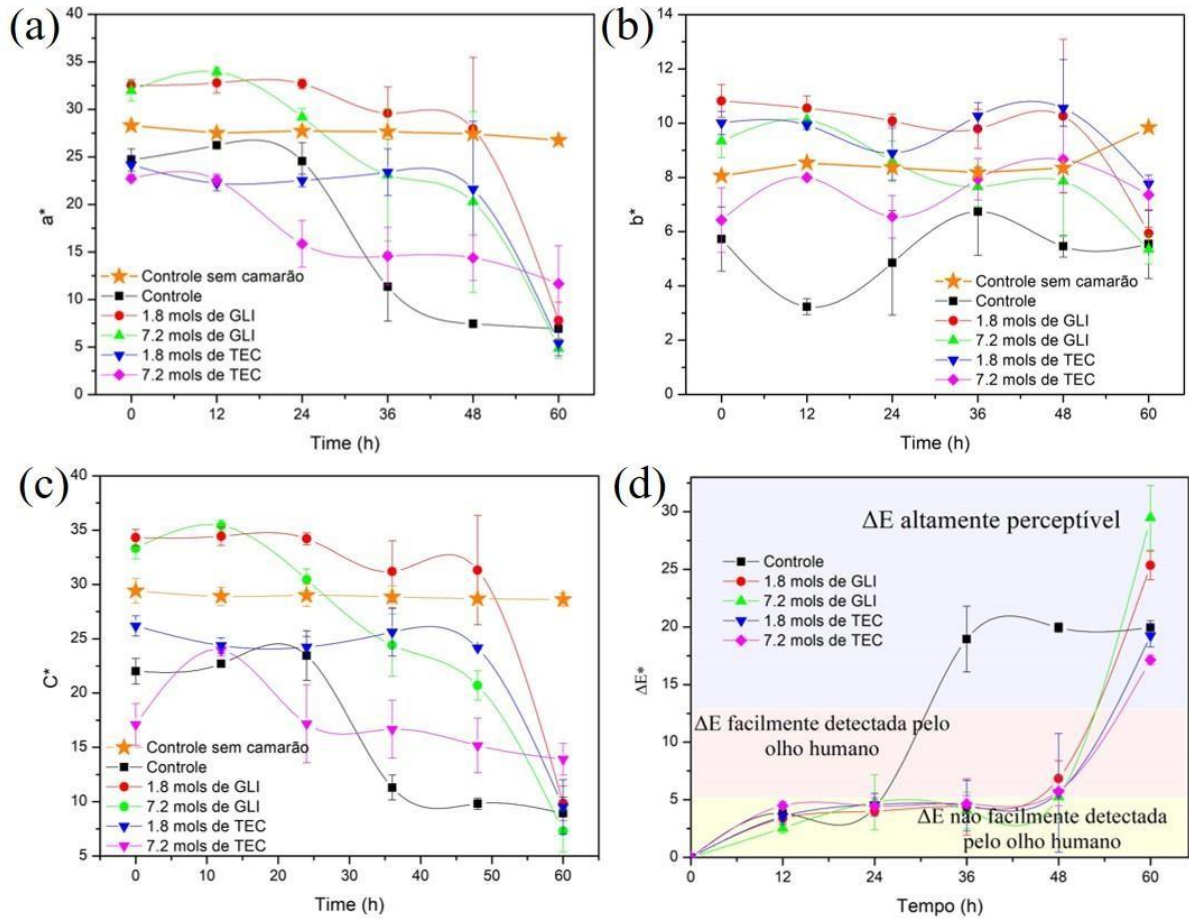
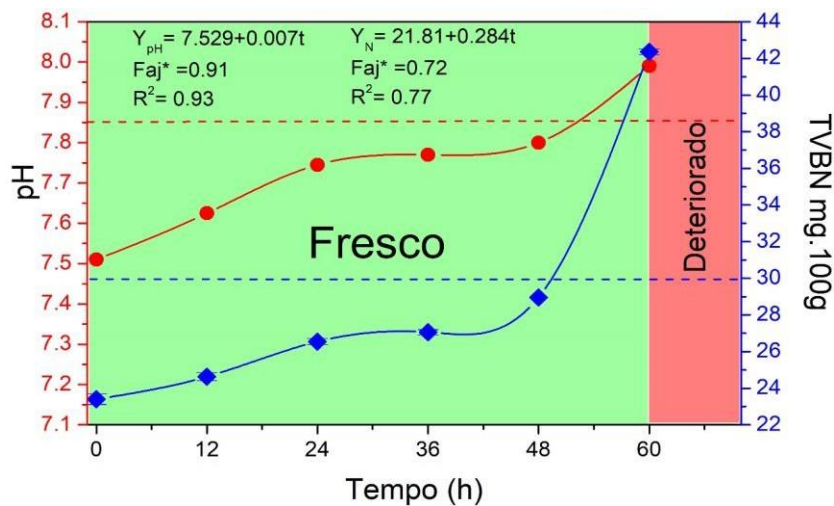


Figura 16 – Curvas de pH e TVB-N das amostras de camarão, acompanhada de seu modelo estatístico ($p < 0,05$), Faj = Falta de ajuste ($p > 0,05$), R^2 = coeficiente de determinação (R^2), t = tempo de armazenamento ($p < 0,05$).



4. CONCLUSÃO

Indicadores colorimétricos desenvolvidos com a incorporação de EA na matriz polimérica de AC são excelente alternativa aos sensores químicos, por serem mais simples, baratos e biodegradáveis para se empregar como sistemas de monitoramento da qualidade dos alimentos ao longo da cadeia. As diferentes concentrações molares de plastificantes utilizadas de GLI ou TEC modificaram a resposta colorimétrica dos indicadores colorimétricos quando expostos ao meio de pH básico e aos vapores de amônia. Essas modificações ocorreram devido à ocorrência de diferentes ligações químicas entre as antocianinas, plastificantes e a matriz polimérica. Os indicadores colorimétricos EA/AC incorporados com 1,8 e 7,2 mols de GLI e TEC exibiram cor rosa, que mudaram para cinza juntamente com a transição do camarão cinza em estado fresco para o deteriorado, demonstrando assim que os indicadores colorimétricos podem indicar com precisão o frescor de alimentos. Portanto, este estudo apresentou promissores indicadores colorimétricos inteligentes, que são sensíveis ao pH e a liberação de compostos básicos voláteis, capazes de detectar o frescor com intuito de prevenir o consumo de alimentos deteriorados e diminuir o desperdício de alimentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTM - American Society Standard Testing and Materials. **Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting**. D882-12, p. 12, 2012.
- AL-NAAMANI, L.; DOBRETISOV, S.; DUTTA, J. Chitosan-zinc oxide nanoparticle composite coating for active food packaging applications. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 38, p. 231–237, 2016.
- ANDRÉS-BELLO, A.; BARRETO-PALACIOS, V.; GARCÍA-SEGOVIA, P.; MIR-BEL, J.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J. Effect of pH on Color and Texture of Food Products. **Food Engineering Reviews**, v. 5, p. 158–170, 2013.
- BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no Infravermelho**. Viçosa: Editora UFV, 2008.
- BENAZZOZ, A.; DUDOGNON, E.; CORREIA, N. T.; MOLINIER, V.; AUBRY, J.-M.; DESCAMPS, M. Interactions underpinning the plasticization of a polymer matrix: a dynamic and structural analysis of DMP-plasticized cellulose acetate. **Cellulose**, v. 24, p. 487–503, 2017.
- BROUILLARD, R. **Chemical structure of anthocyanins**. New York, Academic Press, 1982.
- CAO, L.; MA, Q.; LIANG, T.; SUN, G.; CHI, W.; ZHANG, C.; LI, J.; WANG, L. A semen cassia gum-based film with visual–olfactory function for indicating the freshness change of animal protein-rich food. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 243–252, 2019.
- CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Effect of glycerol

and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films – A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 175–184, 2012.

CHEN, M.; YAN, T.; HUANG, J.; ZHOU, Y.; HU, Y. Fabrication of halochromic smart films by immobilizing red cabbage anthocyanins into chitosan/oxidized-chitin nanocrystals composites for real-time hairtail and shrimp freshness monitoring. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 179, p. 90–100, 2021.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.-L.; GUILBERT, S. Selected Functional Properties of Fish Myofibrillar Protein-Based Films As Affected by Hydrophilic Plasticizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 622–626, 1997.

EBRAHIMI TIRTASHI, F.; MORADI, M.; TAJIK, H.; FOROUGH, M.; EZATI, P.; KUSWANDI, B. Cellulose/chitosan pH-responsive indicator incorporated with carrot anthocyanins for intelligent food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 920–926, 2019.

EZATI, P.; RHIM, J.-W. pH-responsive pectin-based multifunctional films incorporated with curcumin and sulfur nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, p. 115638, 2020.

EZATI, P.; TAJIK, H.; MORADI, M.; MOLAEI, R. Intelligent pH-sensitive indicator based on starch- cellulose and alizarin dye to track freshness of rainbow trout fillet. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 157–165, 2019.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action**. Roma: Sustainability in action, 2020.

FAVARO, L.; BALCÃO, V.; ROCHA, L.; SILVA, E.; OLIVEIRA JR., J.; VILA, M.; TUBINO, M. Physicochemical Characterization of a Crude Anthocyanin Extract from the Fruits of Jussara (*Euterpe edulis* Martius): Potential for Food and Pharmaceutical Applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.29, p. 2072–2088, 2018.

FERREIRA, A. R. V.; TORRES, C. A. V.; FREITAS, F.; SEVRIN, C.; GRANDFILS, C.; REIS, M. A. M.; ALVES, V. D.; COELHO, I. M. Development and characterization of bilayer films of FucoPol and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 8–15, 2016.

FREITAS, P. A. V.; SILVA, R. R. A.; DE OLIVEIRA, T. V.; SOARES, R. R. A.; JUNIOR, N. S.; MORAES, A.

R. F.; PIRES, A. C. DOS S.; SOARES, N. F. F. Development and characterization of intelligent cellulose acetate-based films using red cabbage extract for visual detection of volatile bases. **LWT**, v. 132, p. 109780, 2020.

HAN, F. L.; XU, Y. Effect of the Structure of Seven Anthocyanins on Self-association and Colour in an Aqueous Alcohol Solution. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 36, p. 105–116, 2015.

HOU, L.; FENG, K.; WU, P.; GAO, H. Investigation of water diffusion process in ethyl cellulose- based films by attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy and two- dimensional correlation analysis. **Cellulose**, v. 21, p. 4009–4017, 2014.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. **Natural Food Colorants**. Boston, MA: Springer US, 1996.

JANG, N. Y.; WON, K. Short communication New pressure-activated compartmented oxygen indicator for intelligent food packaging. v. 49, p. 650–654, 2014.

JIANG, W.; QIAO, X.; SUN, K. Mechanical and thermal properties of thermoplastic acetylated starch/poly(ethylene-co-vinyl alcohol) blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 65, p. 139–143, 2006.

KALPANA, S.; PRIYADARSHINI, S. R.; MARIA LEENA, M.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Intelligent packaging: Trends and applications in food systems. **Trends in Food Science & Technology**, v. 93, p. 145–157, 2019.

KUSWANDI, B.; ASIH, N. P. N.; PRATOKO, D. K.; KRISTININGRUM, N.; MORADI, M. Edible pH sensor based on immobilized red cabbage anthocyanins into bacterial cellulose membrane for intelligent food packaging. **Packaging Technology and Science**, v. 33, p. 321–332, 2020.

LE, X.T; HUYNH, M.T; PHAM, T.N; THAN, V.T; TOAN, T.Q; BACH, L.G; TRUNG, N. Optimization of Total Anthocyanin Content, Stability and Antioxidant Evaluation of the Anthocyanin. **mdpi**, v. 7, p. 1–15, 2019.

LEE, G.-Y.; LEE, S.; SHIN, H.-S. Evaluation of gas freshness indicator for determination of skate (*Raja kenoi*) quality during storage. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, p. 1497–1500, 2016.

LIANG, T.; SUN, G.; CAO, L.; LI, J.; WANG, L. A pH and NH₃ sensing intelligent film based on *Artemisia sphaerocephala* Krasch. gum and red cabbage anthocyanins anchored by carboxymethyl cellulose sodium added as a host complex. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 858–868, 2019.

LIANG, T.; WANG, L. A pH-Sensing Film from Tamarind Seed Polysaccharide with Litmus Lichen Extract as an Indicator. **mdpi**, v. 10, p. 1–13, 2018.

LIU, H.; LIU, C.; PENG, S.; PAN, B.; LU, C. Effect of polyethyleneimine modified graphene on the mechanical and water vapor barrier properties of methyl cellulose composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 182, p. 52–60, 2018.

LIU, J.; TAN, Y.; ZHOU, H.; MURIEL MUNDO, J. L.; MCCLEMENTS, D. J. Protection of anthocyanin-rich extract from pH-induced color changes using water-in-oil-in-water emulsions. **Journal of Food Engineering**, v. 254, p. 1–9, 2019.

LOZANO-NAVARRO, J.; DÍAZ-ZAVALA, N.; VELASCO-SANTOS, C.; MELO-BANDA, J.; PÁRAMO-GARCÍA, U.; PARAGUAY-DELGADO, F.; GARCÍA-ALAMILLA, R.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, A.; ZAPIÉN-CASTILLO, S. Chitosan-Starch Films with Natural Extracts: Physical, Chemical, Morphological and Thermal Properties. **Materials**, v. 11, p. 120, 2018.

LUCHESE, C. L.; SPEROTTO, N.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. Effect of blueberry agro-industrial waste addition to corn starch-based films for the production of a pH-indicator film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 11–18, 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.

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.

MARK, J. **Polymer Data Handbook**. Oxford, New York: Oxford University Press, 1999.

- MERZ, B.; CAPELLO, C.; LEANDRO, G. C.; MORITZ, D. E.; MONTEIRO, A. R.; VALENCIA, G. A. International Journal of Biological Macromolecules A novel colorimetric indicator film based on chitosan, polyvinyl alcohol and anthocyanins from jambolan (*Syzygium cumini*) fruit for monitoring shrimp freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 153, p. 625–632, 2020.
- PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A.-J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 36–60, 2013.
- PELEG, M.; BAGLEY, E. B. Physical Properties of Foods. **Food/Nahrung**, v. 28, p. 24–24, 1984.
- PEREIRA, V. A.; DE ARRUDA, I. N. Q.; STEFANI, R. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as Time–Temperature 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.; PIRSA, 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.-T.; GuerraDIAS, A. R.; DA ROSA ZAVAREZE, E. pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. **LWT**, v. 80, p. 492–500, 2017.
- RHIM, J.-W. Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 691–699, 2011.
- SALARBASHI, D.; TAFAGHODI, M.; BAZZAZ, B. S. F.; MOHAMMAD ABOUTORABZADE, S.; FATHI, M. pH-sensitive soluble soybean polysaccharide/SiO₂ incorporated with curcumin for intelligent packaging applications. **Food Science & Nutrition**, v. 9, p. 2169–2179, 2021.
- SHUKLA, V.; KANDEEPAN, G.; VISHNURAJ, M. R.; SONI, A. Anthocyanins Based Indicator Sensor for Intelligent Packaging Application. **Agricultural Research**, v. 5, p. 205–209, 2016.
- SILVA-PEREIRA, M. C.; TEIXEIRA, J. A.; PEREIRA-JÚNIOR, 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.
- SINELA, A. M.; MERTZ, C.; ACHIR, N.; RAWAT, N.; VIDOT, K.; FULCRAND, H.; DORNIER, M. Exploration of reaction mechanisms of anthocyanin degradation in a roselle extract through kinetic studies on formulated model media. **Food Chemistry**, v. 235, p. 67–75, 2017.
- TEIXEIRA, S. C.; SILVA, R. R. A.; DE OLIVEIRA, T. V.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, M.

- R. M. R.; SOARES, N. DE F. F. Glycerol and triethyl citrate plasticizer effects on molecular, thermal, mechanical, and barrier properties of cellulose acetate films. **Food Bioscience**, p. 101202, 2021.
- WANG, S.; MARCONE, M.; BARBUT, S.; LIM, L.-T. The Impact of Anthocyanin-Rich Red Raspberry Extract (ARRE) on the Properties of Edible Soy Protein Isolate (SPI) Films. **Journal of Food Science**, v. 77, p. C497–C505, 2012.
- YOSHIDA, C. M. P.; MACIEL, V. B. V.; MENDONÇA, M. E. D.; FRANCO, T. T. Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 83–89, 2014.
- Zhai, X.; Li, Z.; Zhang, J.; Shi, J.; Zou, X.; Huang, X.; Zhang, D.; Sun, Y.; Yang, Z.; Holmes, M.; Gong, Y.; Povey, M. Natural Biomaterial-Based Edible and pH-Sensitive Films Combined with Electrochemical Writing for Intelligent Food Packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 12836–12846, 2018.
- Zhang, B.; He, F.; Zhou, P.-P.; Liu, Y.; Duan, C.-Q. The color expression of copigmentation between malvidin-3-O-glucoside and three phenolic aldehydes in model solutions: The effects of pH and molar ratio. **Food Chemistry**, v. 199, p. 220–228, 2016.
- Zhang, R.; Zhou, L.; Li, J.; Oliveira, H.; Yang, N.; Jin, W.; Zhu, Z.; Li, S.; He, J. Microencapsulation of anthocyanins extracted from grape skin by emulsification/internal gelation followed by spray/freeze-drying techniques: Characterization, stability and bioaccessibility. **LWT**, v. 123, p. 109097, 2020.
- Zhang, X.; Lu, 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.
- Zheng, Y.; Wang, C. Y.; Wang, S. Y.; Zheng, W. Effect of High-Oxygen Atmospheres on Blueberry Phenolics, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7162–7169, 2003.
- Zhong, Y.; Song, X.; Li, Y. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch–chitosan composite films as a function of acid solvent types. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 335–342, 2011.
- Zhou, D.; Li, R.; Zhang, H.; Chen, S.; Tu, K. Hot air and UV-C treatments promote anthocyanin accumulation in peach fruit through their regulations of sugars and organic acids. **Food Chemistry**, v. 309, p. 125726, 2020.

CONCLUSÃO GERAL

A interação entre os filmes biodegradáveis de acetato de celulose e os plastificantes glicerol e trietil citrato em diferentes concentrações molares foi demonstrada utilizando várias técnicas de caracterização. O estudo desenvolvido utilizando concentrações de plastificantes a nível molecular, foi considerado inovador, uma vez que os trabalhos apresentados na literatura mostram estudos comparativos a nível de concentração (m/m). As várias técnicas aplicadas mostraram que ambos os plastificantes podem ser adicionados a matrizes de acetato de celulose para a produção de embalagens alimentares e que o plastificante e concentração molar ideal dependerá das propriedades e da utilização pretendida pela indústria de alimentos.

Ademais, este trabalho mostrou que os filmes biodegradáveis produzidos poderiam ser utilizados para o desenvolvimento de dispositivos inteligentes com a adição de extratos vegetais contendo antocianinas.

Os indicadores colorimétricos produzidos com diferentes concentrações molares dos plastificantes glicerol e trietil citrato, mostraram propriedades interessantes no que diz respeito da alterações de cor após exposição a compostos voláteis e valores básicos de pH. Tendo em conta os resultados *in vitro*, procedeu-se portanto, nesse contexto, à aplicação em tempo real da deterioração do camarão, o que forneceu informações importantes para a aplicação tecnológica bem sucedida da embalagem inteligente com elevada simplicidade, sensibilidade e baixo custo, independentemente do plastificante e da concentração molar utilizada.