



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

GABRIEL MONTEIRO DA SILVA

**FILMES A BASE DE GELATINA INTEGRADO COM ANTOCIANINAS DAS
FLORES DA *Clitoria Ternatea***

**CAMPINA GRANDE
2024**

GABRIEL MONTEIRO DA SILVA

**FILMES A BASE DE GELATINA INTEGRADO COM ANTOCIANINAS DAS
FLORES DA *Clitoria Ternatea***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento do Curso
de Química da Universidade Estadual da
Paraíba como requisito parcial à obtenção
do título de Licenciado em Química

Área de concentração: Química inorgânica

Orientadora: Prof. Dra. Vandeci Dias dos Santos.

**CAMPINA GRANDE
2024**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S586f Silva, Gabriel Monteiro da.

Filmes a base de gelatina integrado com antocianinas das flores da *Clitoria ternatea*
[manuscrito] / Gabriel Monteiro da Silva. - 2024.
42 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2024.

"Orientação : Profa. Dra. Vandeci Dias dos Santos, Departamento de Química - CCT. "

1. Antocianinas. 2. Polímeros. 3. Embalagens inteligentes.

I. Título

21. ed. CDD 540

GABRIEL MONTEIRO DA SILVA

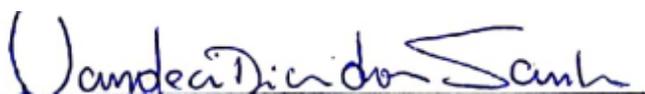
FILMES A BASE DE GELATINA INTEGRADO ANTOCIANINAS DAS FLORES DA
Clitoria Ternatea

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento do Curso
de Química da Universidade Estadual da
Paraíba como requisito parcial à obtenção
do título de Licenciado em Química.

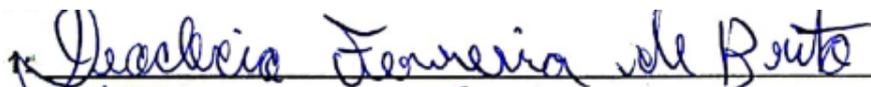
Área de concentração: Química inorgânica

Aprovado em: 29/02/2024.

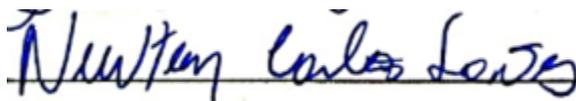
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Vandeci Dias dos Santos (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Deoclécio Ferreira de Brito
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Newton Carlos Santos
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

A minha querida avó Nautilia Lopes Monteiro (*in memoriam*) que foi minha primeira aluna, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder o dom da vida.

À Virgem Maria, pela intercessão em toda a jornada de minha vida.

Ao meu pai Marcos Rodrigues da Silva, a minha mãe Josefa Monteiro, por terem me criado com tanto amor e zelo, devo minha vida a vocês.

Aos meus amigos que estiveram comigo em toda esta caminhada, intercedendo e sempre presentes ao meu lado, dando-me força.

Aos professores do Curso do departamento de Química da UEPB, em especial, minha orientadora, Prof. Dra. Vandeci Dias dos Santos pela orientação e amizade que contribuíram ao longo de todos esses anos, por meio das disciplinas e debates, para o desenvolvimento desta pesquisa e me ensinando a ser um grande profissional.

Aos queridos professores e amigos da banca, Prof Dr. Deoclécio Ferreira de Brito, e ao Prof. Dr. Newton Carlos Santos.

A Prof Dra. Rossana Maria Feitosa de Figueiredo pela contribuição nos experimentos realizados no LAPPA (Laboratório de Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas) da UFCG (Universidade Federal de Campina Grande).

Ao Laboratório de Eletroquímica e Corrosão (LEC) da UFCG pelo suporte na realização de algumas atividades experimentais na pessoa do Prof. Dr. Renato, Prof. Dra. Ana Regina e a Técnica Dra. Daniela.

Aos meus amigos, ao qual sempre me apoiaram ao longo da minha carreira.

À Universidade Estadual da Paraíba, por ter me acolhido como aluno na graduação pelo suporte na realização das atividades experimentais, onde é minha segunda casa.

RESUMO

Filmes colorimétricos biodegradáveis, enriquecidos com antocianinas como aquelas encontradas nas pétalas azuis da flor *clitoria ternatea*, que possuem notável capacidade antioxidante, podem ser utilizados no desenvolvimento de novas embalagens para prolongar a vida útil dos alimentos, retardando seu processo de deterioração. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um filme inteligente à base de gelatina e glicerol incorporando o extrato da flor da *clitoria ternatea* com potencial para monitorar o frescor de camarão. O filme foi preparado pela técnica de casting de solução e caracterizado como um novo filme indicador de pH altamente sensível, onde foram realizadas as análises de cor, pH, CDV, imagens digitais, capacidade antioxidante, antocianinas e compostos fenólicos totais. O filme apresentou excelentes propriedades de mudança de cor em resposta ao pH, bem como boa estabilidade além disso, apresentou fortes propriedades antioxidantes, sendo a função antioxidante atribuída principalmente a adição do extrato da flor e boas propriedades térmicas. O filme indicador funcional e colorido foi testado para monitorar o frescor de camarão. Apresentou mudanças de cor distintas durante o armazenamento, indicando a degradação da qualidade do camarão. Assim, este estudo mostra que as flores de *clitoria ternatea* podem ser usadas para preparar filmes inteligentes ativos que, por sua vez, podem ser usados para monitorar o frescor de produtos alimentícios.

Palavras-Chave: antocianinas; embalagens inteligentes; polímeros

ABSTRACT

Biodegradable colorimetric films, enriched with anthocyanins such as those found in the blue petals of the clitoria ternatea flower, which have notable antioxidant capacity, can be used in the development of new packaging to extend the shelf life of foods, slowing down their deterioration process. In this sense, the objective of this work was to develop a smart film based on gelatin and glycerol incorporating the extract of the clitoria ternatea flower with the potential to monitor the freshness of shrimp. The film was prepared using the solution casting technique and characterized as a new, highly sensitive pH indicator film, where analyzes of color, pH, DSC, digital images, antioxidant capacity, anthocyanins and total phenolic compounds were carried out. The film showed excellent color change properties in response to pH, as well as good stability, in addition, it showed strong antioxidant properties, with the antioxidant function mainly attributed to the addition of the flower extract and good thermal properties. The functional and colorful indicator film was tested to monitor the freshness of shrimp. It showed distinct color changes during storage, indicating degradation of shrimp quality. Thus, this study shows that clitoria ternatea flowers can be used to prepare active smart films, which in turn can be used to monitor the freshness of food products.

Keywords: anthocyanins; smart packaging; polymers

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estruturas químicas da antocianina em diferentes valores de pH.....	17
Figura 2 – Representação esquemática do método de fundição (casting)	18
Figura 3 – A interação molecular em filmes à base de corantes naturais.....	19
Figura 4 – Flor da <i>Clitoria ternatea</i>	20
Figura 5 – Resumo gráfico do trabalho.....	23
Figura 6 – Fotografias do filme Gel/Ext para monitoramento de frescor de camarão.....	30
Figura 7 – Mecanismo de monitoramento do frescor de camarão.....	32
Figura 8 – CDV dos filmes.....	33
Figura 9 – Imagens digitais dos filmes.....	34
Figura 10 – (A) Compostos bioativos e (B) Capacidade antioxidante dos filmes..	35
Figura 11 – Estrutura da delfidina.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Aplicação de filmes com flor da CT em embalagens de alimentos.....	21
Tabela 2 – Formulação dos filmes.....	22
Tabela 3 – Mudança de cor dos filmes em diferentes faixas de pH.....	28
Tabela 4 – Parâmetros de cor dos filmes no monitoramento do frescor de camarão.....	31
Tabela 5 – Parâmetros do CDV para os filmes.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANT	Antocianinas
h*	Ângulo de tonalidade
ATT	Atividade total antioxidante
CDV	Calorimetria diferencial de varredura
CT	<i>Clitoria ternatea</i>
CFT	Compostos fenólicos totais
C*	Croma
ΔH	Entalpia de gelatinização
Gel	Gelatina
Gel/Ext	Gelatina+Ext
L*	Luminosidade
b*	intensidade de azul (-) a amarelo (+)
a*	intensidade de verde (-) a vermelho (+)
PET	Polietileno tereftalato
Tf	Temperatura de fusão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos	13
3	REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	14
3.1	Embalagens inteligentes	14
3.2	Antocianinas.....	14
3.3	Gelatina.....	15
3.4	Métodos para a formulação de filmes.....	16
3.5	Sensor colorimétrico	16
3.6	<i>Clitoria Ternatea</i>	18
4	METODOLOGIA	20
4.1	Materiais e métodos.....	20
4.2	Preparo do extrato das flores de <i>Clitoria Ternatea</i>	20
4.3	Obtenção dos filmes	20
4.4	Caracterização dos filmes	22
4.4.1	<i>Análise de cor</i>	22
4.4.2	<i>Compostos fenólicos totais</i>	22
4.4.3	<i>Antocianinas</i>	23
4.4.4	<i>Atividade antioxidante</i>	23
4.4.5	<i>Imagens digitais</i>	23
4.4.6	<i>Calorimetria diferencial de varredura (CDV)</i>	24
4.4.7	<i>Avaliação do impacto dos filmes na qualidade de camarões durante o armazenamento refrigerado</i>	24
4.5	Análise estatística	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
5.1	Análise colorimétrica dos filmes em diferentes pH	25
5.2	Estudo de correlação entre a mudança de pH do camarão e a mudança de cor do filme indicador de pH.....	26
5.3	Propriedades térmicas dos filmes	30
5.4	Compostos bioativos e antioxidante dos filmes.....	33
6	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

1 INTRODUÇÃO

As embalagens ativas e inteligentes estão se tornando a cada dia uma tecnologia promissora na área de embalagem, pois o seu mecanismo se dá pelo efeito sinérgico da parte ativa (antimicrobiana e antioxidante) e da parte inteligente indicando sobre o frescor de um produto (Ahmad et al., 2019). Os polímeros biodegradáveis são uma escolha promissora para fabricar esses tipos de materiais, pois reduzirão a quantidade de plásticos derivados de petróleo e diminuindo assim a poluição ambiental. Biopolímeros renováveis e prontamente utilizáveis, como proteínas, polissacarídeos, enzimas, lipídios e suas misturas são os substitutos mais viáveis para a fabricação de materiais renováveis.

Dentre esses biopolímeros, a gelatina é uma boa alternativa aos derivados de petróleo ela é um tipo de material derivado de proteína. O filme de gelatina preparado a partir de solução de gelatina pura tem várias vantagens (incluindo alta transparência, alta rigidez, biocompatibilidade favorável e nenhum cheiro característico), enquanto tem as desvantagens de baixa resistência à água, baixa ductilidade e facilidade de dissolução em água (Li et al. 2023).

A antocianina é um dos compostos fenólicos responsáveis pelas cores vibrantes em frutas, vegetais e flores. Ela possui a interessante capacidade de variar sua estrutura química em diferentes faixas de pH (Yun et al., 2019). Além de contribuir para a coloração, as antocianinas também são reconhecidas por suas propriedades antioxidantes e antibacterianas. Quando adicionadas a filmes de embalagem, essas substâncias podem não só prolongar a vida útil dos alimentos embalados, mas também aumentar seu valor nutricional.

Na literatura, a antocianina é frequentemente citada como um indicador de frescor para alimentos. Isso ocorre porque a deterioração dos alimentos resulta na liberação de substâncias que afetam o pH. Estudos mostram que as antocianinas presentes em alimentos como arroz preto (Yong et al. 2019), batata roxa (Fitriana et al. 2017) e hibisco (Peralta et al. 2019) desempenham um papel crucial nesse monitoramento.

Clitoria ternatea (CT) também conhecida como “Ervilha Borboleta”, “Bunga Telang” ou “Ervilha Azul” pertence à família Leguminosae, essa flor exibe uma cor azul brilhante atribuída à antocianina, especificamente ao glicosídeo delphinidina (Ahmad et al., 2019). As antocianinas encontradas nas pétalas desta flor podem ser utilizadas

para detectar mudanças de pH durante o processo de deterioração dos alimentos embalados. Isso ocorre porque, à medida que ácidos, bases e outros componentes voláteis são liberados, o pH se altera e a cor da antocianina se modifica em resposta a essas variações (Choi et al. 2017).

Neste trabalho, foi realizado a preparação de um novo filme indicador de pH elaborado com gelatina e glicerol incorporado com extrato da flor da CF com potencial de monitorar o frescor de camarão.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver um filme inteligente de biopolímero à base de gelatina e glicerol incorporando o extrato da flor da *clitoria ternatea* com potencial para monitorar o frescor de camarão.

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver e otimizar a produção de filmes biodegradáveis de gelatina e glicerol incorporado com o extrato da flor de CT;
- Estudar as propriedades antioxidantes, térmicas e químicas do filme elaborado;
- Avaliar a viabilidade de monitorar o frescor de camarão com o filme elaborado.

3 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

3.1 Embalagens inteligentes

A produção constante, o problema de descarte e deposição de plásticos à base de petróleo são problemas conhecidos há muito tempo, portanto, alternativas aos materiais plásticos estão sendo buscadas atualmente (ARIF et al., 2022). Filmes à base de polissacarídeos levantam grande interesse devido ao fato de que não só funcionam como materiais de embalagem, mas às vezes também imitam os plásticos com propriedades ativas ou inteligentes (GRZEBIENIARZ et al. 2020).

A embalagem desempenha um papel crucial no controle de qualidade e segurança de um produto, os consumidores se preocupam com o frescor dos alimentos, que é o principal indicador que garante tanto a qualidade quanto a segurança dos alimentos (SHAO et al.2021). Uma alternativa pesquisada atualmente são filmes de embalagens inteligentes fabricados com indicadores sensíveis ao pH capazes de monitorar o frescor dos alimentos em tempo hábil, o que tem sido amplamente desenvolvido (CHOI et al. 2017).

Durante a contaminação microbiana ou alterações químicas em alimentos embalados, os consumidores podem perceber o status de frescor dos alimentos por meio do rastreamento da alteração cromática (ZHAO et al. 2022).

Esses polímeros são materiais renováveis que sofrem rápida degradação por meio de microrganismos naturais sem liberar nenhum resíduo tóxico ou distinguível sob condições apropriadas, incluindo umidade, oxigênio e temperatura (ARIF et al., 2022).

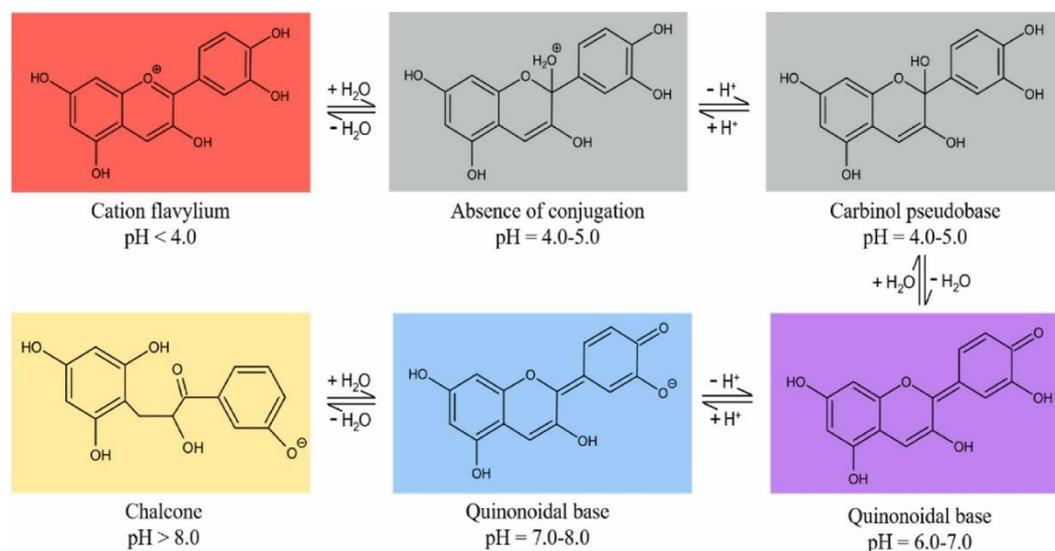
3.2 Antocianinas

As antocianinas são os pigmentos responsáveis pelas cores vermelha, laranja, rosa e azul, podendo ser extraídas de recursos naturais de vegetais como: repolho roxo, cenoura roxa, uva, romã, flor ervilha borboleta, rosa vermelha. Quimicamente, as antocianinas são metabólitos secundários pertencentes a um grande subgrupo de polifenóis, que são baseados em uma estrutura de cátion flavilium. Mais de 600 tipos diferentes de antocianinas foram identificados na natureza (LI et al. 2017).

As seis antocianidinas mais comuns (forma aglicona) são cianidina, pelargonidina, delphinidina, petunidina, peonidina e malvidina. Especificamente, a cianidina-3-glicosídeo é uma das antocianinas mais comuns no arroz preto, feijão preto e muitas frutas vermelhas (CLIFFORD, 2000).

As antocianinas exibem a cor vermelha em condições ácidas, rosa em condições neutras e azul em condições básicas (CAVALCANTI et al. 2011). Na Figura 1 abaixo temos as cores das antocianinas em diferentes condições de pH.

Figura 1 – Estruturas químicas da antocianina em diferentes valores de pH



Fonte: RAKIF et al., (2019).

3.3 Gelatina

A gelatina também é um composto valioso para a produção do filme de embalagem biodegradável. É produzido por hidrólise parcial e degradação física, química ou bioquímica do colágeno obtido de ossos e tecidos conjuntivos de mamíferos. Possui características únicas, incluindo não toxicidade, abundância, biocompatibilidade, complexação de metais, biodegradabilidade, excelente capacidade de formação de filme, estabilidade e flexibilidade (KAKAEI e SHAHBAZI, 2016).

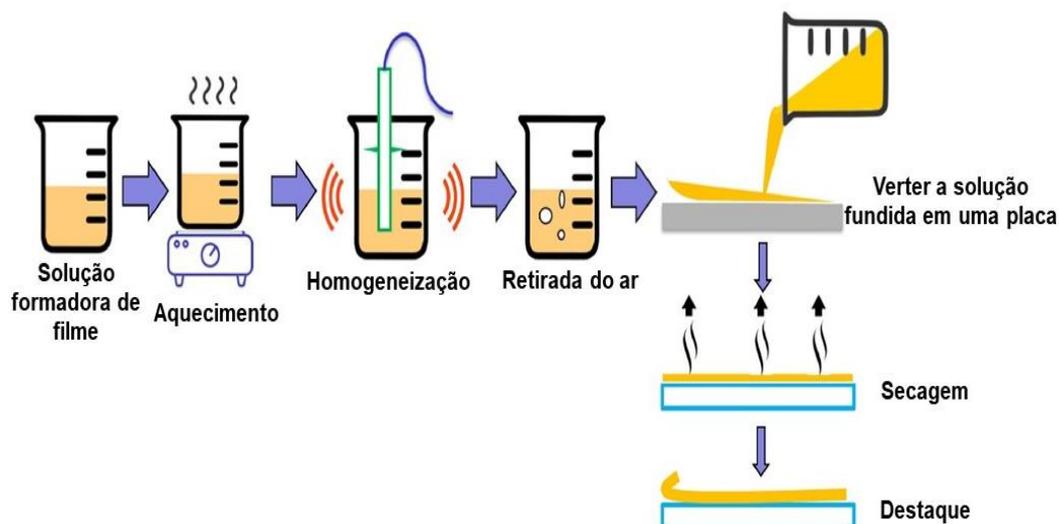
Ge et al. (2017) destacam que as principais vantagens do uso da gelatina é que boa capacidade de formação de filme, boa resistência a gases e óleos, não toxicidade, baixo preço e propriedades biodegradáveis. E ao mesmo tempo, sua baixa

propriedade mecânica, baixa estabilidade térmica, fraca resistência à água e rápida propriedade de biodegradação precisam ser melhoradas.

3.4 Métodos para a formulação de filmes

Uma das técnicas mais utilizadas na produção de filmes é conhecida como fundição com solvente, descrito por (RODRÍGUEZ et al. 2020), constituída pelas etapas de: 1) solubilizar o biopolímero base em um solvente adequado, como água ou etanol, para formar uma solução filmogênica, 2) moldar a solução filmogênica em moldes adequados ou placas revestidas com Teflon, 3) secar a solução de formulação de filme fundido, 4) descascar/retirar o filme e armazenar em umidade e temperatura adequadas. A sequência é apresentada na Figura 2 abaixo.

Figura 2 – Representação esquemática do método de fundição (casting).



Fonte: RODRÍGUEZ et al., (2020).

3.5 Sensor colorimétrico

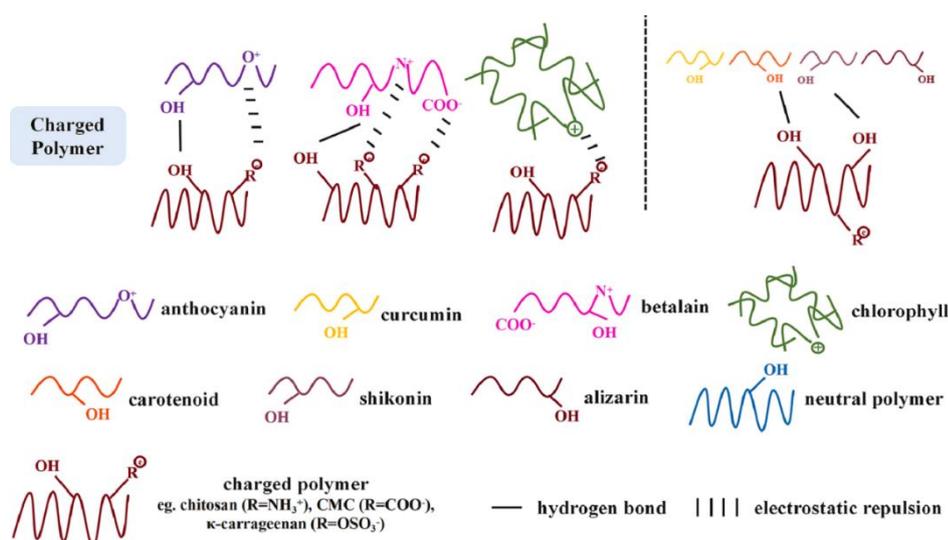
Uma embalagem de alimento com um sensor colorimétrico atua como um sinal em tempo real para que os consumidores possam identificar quaisquer alterações no ambiente da embalagem, bem como na qualidade dos produtos.

Balbinot-Alfaro et al. (2019) afirmam que uma embalagem com sensor de pH é composta por duas partes: uma base sólida e um corante sensível à variação do pH,

e os corantes são geralmente extraídos de várias fontes de plantas. Esses corantes naturais embutidos na matriz do filme de biopolímero mudam de cor dependendo das variações nas condições fisiológicas do alimento após a degradação deste (Alizadeh-Sani et al., 2020).

Na Figura 3 há uma descrição das interações moleculares entre corantes naturais e matriz polimérica. Os corantes carregados de (antocianina, betalaína e clorofila) interagem com o polímero (HUANG et al. 2022).

Figura 3 – A interação molecular em filmes à base de corantes naturais.



Fonte: HUANG et al., (2022).

Huang et al. (2022) explicam que a resposta que o filme terá ao pH são funções fundamentais das embalagens à base de corantes naturais para monitorar o frescor dos alimentos em tempo real, pois durante o processo de deterioração, os alimentos liberam certos gases, como H_2S , CO_2 , etileno ou os compostos de nitrogênio. Estes gases que aumentam com a extensão do tempo de armazenamento, irão alterar o pH do ambiente. Assim, as embalagens com as características de resposta ao pH têm a capacidade de transmitir informações de frescor aos consumidores de forma direta e eficiente.

Askin et al. (2013) afirmam que para escolher um corante natural sensível é necessário levar em consideração esses fatores: (1) A forte reação do corante com o analito desejado; (2) a diferença de cor após a reação, a interação de cor muito forte para um cromóforo intenso; (3) há principalmente um grupo de vários corantes

responsivos ao pH que são responsivos de forma cruzada em uma matriz de indicador/sensor; e (4) a detecção de achados seria reprodutível e confiável.

Os corantes quimioresponsivos (indicadores) são baseados em mudanças de pH, gases, tempo-temperatura, contaminantes químicos e compostos orgânicos voláteis (BALBINOT-ALFARO et al., 2019). Eles são as principais unidades de detecção de um sistema inteligente como os sensores colorimétricos. Esses compostos podem mudar de cor dependendo das condições ambientais. Atualmente, os indicadores de pH têm recebido atenção dos pesquisadores na forma de sensores colorimétricos baseados em corantes naturais devido ao seu baixo custo, abundância, fácil preparo, disponibilidade e capacidade halocrômica confiável (MARTINS et al., 2016).

3.6 *Clitoria Ternatea*

A *Clitoria ternatea* é uma planta herbácea perene da família Fabaceae. É nativa do sul e sudeste da Ásia, tem uma cor azul vívida e profunda de suas flores são ricas em antocianinas e flavonoides como rutina, kaempferol, delphinidinas, quercetina e ternatinas (RAMLI et al., 2021).

Figura 4 – Flor da *Clitoria ternatea*.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

A flor apresenta propriedades antimicrobianas, antivirais, anti-inflamatórias, utilizada no tratamento de diabetes, distúrbios neurológicos, protege o sistema cardiovascular (Kumar e Anju, 2017). As aplicações dos filmes utilizando a flor da CT como embalagens inteligentes estão listadas na Tabela 1

Tabela 1- Aplicação de filmes com flor da CT em embalagens de alimentos.

Matriz do filme	Alimentos testados	Armazenamento (°C)	Mudança visual de Cor	Tempo de reação (dias)	Referências
Isolado de proteína de soja e goma de gelana	Camarão	25	Azul a verde-azulado	1	Hashim et al. (2022)
Biocompósito de hidroxipropilmetilcelulose (HMB)	Cavalinha	4	Roxo profundo a violeta	6	Hidayati et al. (2021)
Nanopartículas de TiO ₂	Camarão	4	Rosa para verde	6	Koshy et al. (2022)
Quitosana	Tilápia	4	Azul-púrpura a verde escuro	6	Maria et al. (2020)
Quitosana e álcool polivinílico (PVA)	Carne bovina	25	Azul a verde-azulado	1	Roi et al. (2021)

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais e métodos

A Gelatina em pó sem sabor foi adquirida da (Royal, Brasil), etanol PA, glicerol e vaselina, foram adquiridos na (NEON, Suzano, São Paulo, Brasil). Os reagentes 2, 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), ácido clorídrico (HCl), Folin-Ciocalteu, foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Os camarões frescos foram obtidos no mercado local (Rede compras, Campina Grande Paraíba, Brasil), com especificações técnicas de gênero e qualidade.

4.2 Preparo do extrato das flores de *Clitoria Ternatea*

Foram pesadas 10 g de flores da CT e misturadas com 100 ml de H₂O e levada à aquecimento de à 95°C durante 5 minutos. Após esse período, a solução resultante foi filtrada uma vez em papel de filtro faixa azul para obtenção de uma solução límpida, e armazenada em freezer à 4°C até o momento do uso, sendo o resíduo retido no papel de filtro descartado.

4.3 Obtenção dos filmes

Para elaboração dos filmes foi utilizado o método de *casting* descrito por Roy e Kim (2021). A proporção de cada matéria-prima está descrita na Tabela 2.

Tabela 2- Formulação dos filmes.

Matéria-prima	Formulação	
	Gel	Gel/Ext
Gelatina (g)	3	3
Água (mL)	40	-
Extrato de <i>Clitoria</i> (mL)	-	40
Glicerol (mL)	10	10

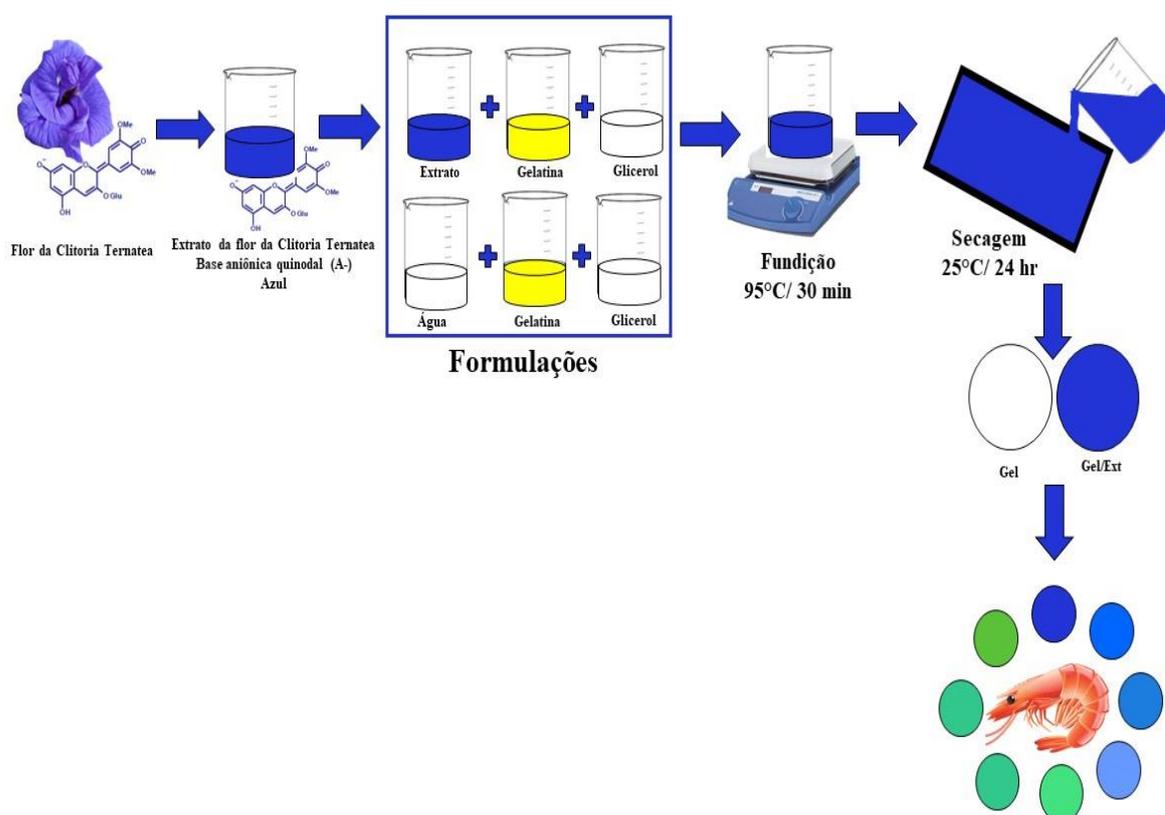
Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Para a formulação (Gel) foram utilizados 3 g de gelatina dissolvidos em 40 mL de água destilada, aquecidos por 95 °C 30 min, em seguida foi adicionado 10 mL de glicerol continuando a fervura, até redução da metade do volume.

Na formulação (Gel/Ext) 3 g de gelatina dissolvidos em 40 mL de extrato de clitória, aquecidos por 95 °C 30 min, em seguida foi adicionado 10 mL de glicerol continuando o aquecimento, até redução da metade do volume.

As soluções preparadas foram vertidas em moldes de placas de petri untadas com vaselina, e secas à temperatura ambiente (25 - 26 °C). Quando os filmes estavam completamente secos, eles foram removidos dos moldes e testados. Os filmes fabricados foram designados como Gel, Gel/Ext, e acondicionados por mais 24 horas a 25 °C e antes de iniciar os testes. O procedimento de preparação dos filmes é mostrado na Figura 1.

Figura 5- Esquema metodológico para elaboração dos filmes.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.4 Caracterização dos filmes

4.4.1 Análise de cor

As determinações de cor nos filmes foram realizadas, em quadruplicata, para identificar as devidas alterações. Para tal, utilizou-se um colorímetro portátil (FRU®, WR10QC, Hangzhou, China) com precisão de 0,01 unidade e precisão de repetibilidade de 0,08. Os valores de cor foram expressos na escala CIELAB, em que L* indica o nível de luminosidade, a* indica a intensidade de verde (-) a vermelho (+), e b* indica intensidade de azul (-) a amarelo (+) (Huang et al., 2021). E o atributo quantitativo de cor Cromo (C*) e o ângulo hue ou ângulo de tonalidade (h*) foram calculados através das Equações 1 e 2, respectivamente conforme proposto por An et al. (2022).

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

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

4.4.2 Compostos fenólicos totais

Os teores de compostos fenólicos totais dos filmes elaborados foram quantificados pelo método de Folin-Ciocalteu conforme descrito por Waterhouse (2006). Os extratos foram preparados pesando 1 g dos filmes misturados com 50 mL de solução de etanol-água (80:20 (v/v)), e sonicadas em cuba ultrassônica (Cleaner, Cristofoli®, Campos Mourão, Paraná, Brasil) com frequência de 42 kHz por 30 min sob abrigo da luz, em seguida, foram filtrados em papel de filtro. Os cálculos para a determinação dos compostos fenólicos totais foram baseados em uma curva padrão com ácido gálico variando a concentração de 0 a 225 µg/mL, e as leituras realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 765 nm, com os resultados expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por quilograma da amostra em base seca (bs) (mg EAG/kg bs).

4.4.3 Antocianinas

Para determinar as antocianinas totais dos filmes elaborados foi utilizado o método descrito por Francis (1982). Um extrato foi elaborado pesando-se 1g de cada formulação dos filmes foi macerada com solução Etanol-HCl a 1,5 mol/L na proporção (85:15); em seguida, as amostras foram refrigeradas (frost free, Consul®, São Paulo, Brasil) a -10 °C/24 h, o extrato foi filtrado e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de 535 nm para antocianinas. Os resultados foram expressos em mg de antocianinas totais por quilograma de amostra em base seca (bs) (mg/kg bs)

4.4.4 Atividade antioxidante

As propriedades antioxidantes dos filmes foram avaliadas usando o método de eliminação de radicais DPPH segundo Alizadeh-Sani et al. (2020) com modificações. 0,25 mg do filme foi adicionado em 1 mL de DPPH (0,1 mM). A mistura foi incubada por 30 minutos no escuro a 25 °C. A absorvância do sobrenadante foi medida a 517 nm. A atividade sequestradora de radicais livres do DPPH foi avaliada de acordo com a Equação (3).

$$DPPH(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

Onde: A_0 e A_1 são a absorvância de DPPH do filme de controle e teste, respectivamente.

4.4.5 Imagens digitais

As imagens digitais dos filmes elaborados foram observadas em um microscópio Microscópio Digital Usb Zoom 1600x Hd Câmera 2.0mp MP (Jiaxi Ltd., Tóquio, Japão).

4.4.6 Calorimetria diferencial de varredura (CDV)

As propriedades de gelatinização dos filmes foram medidas por DSC Q20 (TA Instruments- Waters LLC, New Castle, EUA). Uma amostra de (5 mg) foram seladas em um cadinho de alumina (TA Instruments- Waters LLC, New Castle, EUA). A panela hermeticamente fechada foi equilibrada em refrigeração por 12 h a 4°C e, em seguida, aquecida de -60 a 350°C a uma taxa de 10°C/min. Os Parâmetros de gelatinização, incluindo temperatura de pico (T_p) e entalpia de gelatinização (ΔH) foram registrados.

4.4.7 Avaliação do impacto dos filmes na qualidade de camarões durante o armazenamento refrigerado

Para o preparo da amostra, 3 unidades de camarão foram colocadas em embalagem plástica PET (Polietileno tereftalato) e o filme elaborado foi utilizado como indicador de qualidade e armazenadas sob refrigeração (4°C) por um período de 12 dias, analisando quanto aos parâmetros de cor nos dias 0, 3, 6, 9 e 12 de armazenamento dos camarões conforme QI et al. (2022).

4.5 Análise estatística

Os ensaios foram realizados em triplicata, e para a análise estatística foi empregado o delineamento inteiramente casualizado, com comparação entre médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, usando o software Assistat, versão 7.7 beta (SILVA e AZEVEDO, 2016).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Análise colorimétrica dos filmes em diferentes pH

As imagens e os parâmetros de cor correspondentes (L^* , a^* , b^* , C e h^*) dos filmes em várias soluções de pH (1-14) foram resumidos na Tabela 3.

Conforme apresentado na Tabela 3, foram observadas alterações perceptíveis de cor à medida que o pH aumentava. Os filmes que tiveram contato com a solução de pH 1-12 apresentaram cor azul, em pH 13-14 mudaram de azul para verde.

Além disso, o filme exibiu uma cor mais intensa devido ao seu abundante conteúdo de antocianina de 580 mg/Kg apresentado no (tópico 4.2). Os L , a^* , b^* , C^* e h^* foram usados para distinguir as diferenças de cor. O valor a^* elevado e positivo indicam a vermelhidão da amostra, enquanto o a^* negativo indicou o verde da amostra.

Essa mudança de cor foi consistente com as observadas em um estudo anterior realizado por Boonsiriwit, et al. (2021) ao elaborarem filme biocomposto de hidroxipropilmetilcelulose/ celulose microcristalina incorporado com antocianina de CT. Zhang et al. (2020) ao elaborarem filmes sensíveis ao pH baseados em amido/álcool polivinílico e antocianinas alimentares como um indicador visual da deterioração do camarão também encontraram cor similar.

As variações de cor dos filmes foram associadas à transição de suas estruturas químicas (Choi et al., 2017). Conforme mostrado na Figura 5, a cor rosa em um ambiente ácido foi atribuída ao cátion flavilium. Em pH 3-12, uma base quinodal aniônica foi formada em solução e a cor tornou-se azul devido à desprotonação dos grupos hidroxila (SHAHID et al. 2013).

Por fim, em ambientes fortemente alcalinos, os filmes foram prontamente degradados para formar chalcona, o que fez com que a solução aparecesse verde (GRAJEDA-IGLESIAS et al. 2017). As observações acima demonstram a sensibilidade de pH superior, que é adequado para a preparação de filmes de pH inteligente.

Tabela 3- Mudança de cor dos filmes em diferentes faixas de pH

pH	L*	a*	b*	C	h*
1	27,30 ± 0,14 ^e	46,00 ± 0,17 ^a	-46,66 ± 0,57 ^c	51,01 ± 0,18 ^a	298,25 ± 0,21 ^a
2	28,00 ± 0,30 ^d	22,55 ± 0,17 ^b	-46,33 ± 0,21 ^c	51,09 ± 0,12 ^a	298,88 ± 0,11 ^a
3	27,17 ± 0,12 ^e	21,30 ± 0,55 ^b	-46,23 ± 0,26 ^c	50,91 ± 0,18 ^a	294,74 ± 0,15 ^b
4	32,93 ± 0,15 ^b	5,17 ± 0,81 ^g	-37,60 ± 0,26 ^g	37,95 ± 0,18 ^e	277,82 ± 0,15 ^f
5	32,03 ± 0,7 ^b	5,90 ± 0,79 ^g	-39,07 ± 0,5 ^f	39,53 ± 0,6 ^d	278,59 ± 0,41 ^f
6	31,67 ± 0,45 ^b	8,67 ± 0,21 ^e	-41,53 ± 0,18 ^d	42,97 ± 0,55 ^b	281,79 ± 0,44 ^e
7	30,30 ± 0,18 ^c	9,33 ± 0,65 ^e	-42,03 ± 0,21 ^d	43,06 ± 0,21 ^b	282,52 ± 0,32 ^e
8	28,63 ± 0,21 ^d	10,33 ± 0,35 ^d	-40,83 ± 0,81 ^e	41,90 ± 0,87 ^c	284,20 ± 0,25 ^d
9	23,37 ± 0,47 ^f	8,03 ± 0,78 ^e	-33,27 ± 0,11 ⁱ	33,23 ± 0,83 ^f	283,58 ± 0,12 ^d
10	27,03 ± 0,59 ^e	7,67 ± 0,15 ^f	-37,50 ± 0,50 ^h	38,44 ± 0,30 ^e	281,55 ± 0,43 ^e
11	27,00 ± 0,53 ^e	7,63 ± 0,12 ^f	-37,50 ± 0,50 ^h	38,34 ± 0,40 ^e	281,51 ± 0,52 ^e
12	18,10 ± 0,66 ^g	-0,57 ± 0,01 ⁱ	-17,77 ± 0,70 ^j	17,86 ± 0,40 ^h	288,17 ± 0,12 ^c
13	13,47 ± 0,15 ^h	-7,07 ± 0,11 ^h	8,01 ± 0,25 ^b	10,09 ± 0,26 ⁱ	190,17 ± 0,14 ^h
14	37,30 ± 0,17 ^a	15,47 ± 0,45 ^c	15,67 ± 0,15 ^a	22,26 ± 0,14 ^g	197,55 ± 0,12 ^g

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Nota: Os dados são apresentados como média ± DP (n=3). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna sugerem diferenças significativas (P <0,05).

5.2. Estudo de correlação entre a mudança de pH do camarão e a mudança de cor do filme indicador de pH

O camarão foi o pescado escolhido como modelo para avaliar a eficiência dos filmes (Gel/Ext) no monitoramento do frescor e retenção no armazenamento a 4 °C.

Como indicador de detecção de pH (sem contato físico com o camarão), ocorreu uma mudança consecutiva de cor no filme (Gel/Ext) durante o armazenamento, enquanto o controle não apresentou alterações de cor Figura 6. Além disso, todas as alterações de cor são distinguíveis partindo da coloração azul para verde ao longo dos dias de armazenamento em freezer e acelerado.

Figura 6– Fotografias do filme Gel/Ext para monitoramento de frescor de camarão.

Formulação do filme	Dias de armazenamento				
	0	3	6	9	12
Gel/Ext					

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Tabela 4- Parâmetros de cor dos filmes no monitoramento do frescor de camarão

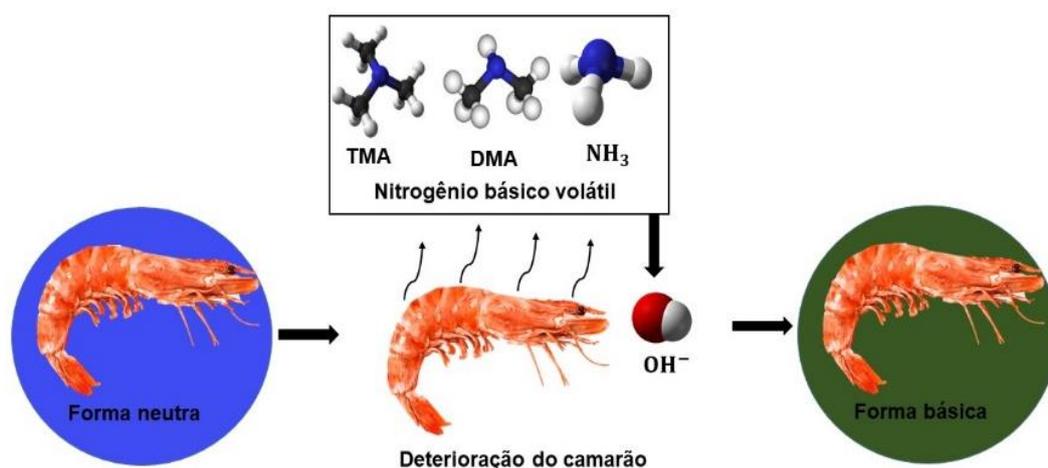
Parâmetros de cor	Filme Gel	Dias de armazenamento				
	-	0	3	6	9	12
L*	95,6	21,10	17,20	19,88	21,20	41,4
	± 0,11 ^a	± 0,12 ^c	± 0,12 ^e	± 0,12 ^d	± 0,12 ^c	± 0,12 ^b
a*	2,4	1,80	2,10	1,20	0,40	-11,90
	± 0,17 ^a	± 0,12 ^c	± 0,12 ^b	± 0,12 ^d	± 0,12 ^e	± 0,12 ^f
b*	9,5	-15,20	-11,10	-10,30	-21,1	11,4
	± 0,14 ^b	± 0,12 ^c	± 0,12 ^d	± 0,12 ^e	± 0,12 ^f	± 0,12 ^a
C*	9,84	15,30	11,29	10,32	21,06	16,4
	± 0,22 ^f	± 0,12 ^c	± 0,12 ^d	± 0,12 ^e	± 0,12 ^a	± 0,12 ^b
h*	31,0	218,8	223,6	221,7	215,8	105,0
	± 0,14 ^f	± 0,12 ^c	± 0,12 ^a	± 0,12 ^b	± 0,12 ^d	± 0,12 ^e

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Nota: Os dados são apresentados como média ± DP (n=3). Letras minúsculas diferentes na mesma linha sugerem diferenças significativas (P <0,05).

Como indicado na Figura 6 e Tabela 4 por volta do 12º dia o camarão estragou, enquanto isso, a cor do filme mudou do azul para verde marinho que é facilmente distinguido e uma fragrância desagradável e intensa, característica de peixe deteriorado se espalhada pelo ambiente. Assim, o filme Gel/Ext possui a eficácia de retenção de frescor e monitoramento. A Figura 7 ilustra o breve mecanismo de monitoramento do frescor do camarão.

Figura 7– Mecanismo de monitoramento do frescor de camarão



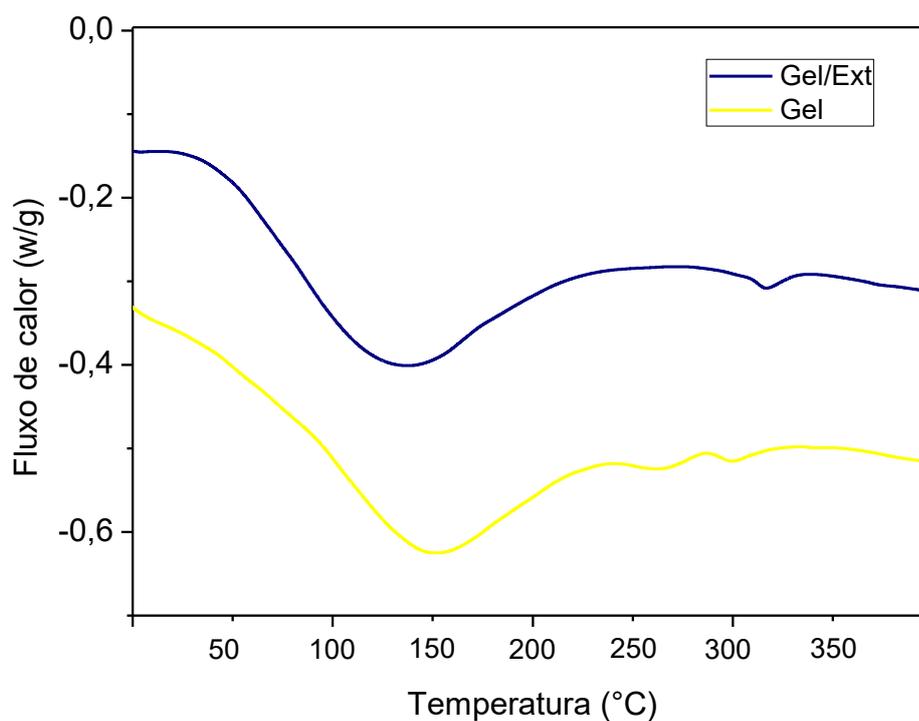
Fonte: Adaptado de Zhang et al. (2020).

Durante a sua deterioração, o nitrogênio básico volátil total consistindo principalmente de trimetilamina (TMA), dimetilamina (DMA) e amônia (NH₃) foram liberados no espaço livre do recipiente (ZHANG et al. 2020). À medida que o período de armazenamento aumentou, esses compostos básicos liberados tornaram-se mais densos no espaço e foram posteriormente absorvidos pelo filme fixado na superfície interna da embalagem.

Logo esses compostos resultaram em um aumento de íons hidroxila no filme. Consequentemente, a desprotonação de grupos hidroxila alterou a estrutura da antocianina para base quinoidal aniônica, mudando a cor inicial de azul para verde. Esses resultados sugerem que esse filme sensível ao pH pode ser usado como um indicador para monitorar o frescor do camarão.

5.3. Propriedades térmicas dos filmes

Os indicadores fabricados foram submetidos a CDV, e os resultados são apresentados na Figura. 8 e Tabela 5.

Figura 8– CDV dos filmes

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Alguns materiais biodegradáveis podem começar a se decompor ou degradar-se em temperaturas mais elevadas. Isso pode levar à absorção de calor e à formação de picos endotérmicos no gráfico DSC. Ambas as curvas apresentam picos endotérmicos. Miao et al. (2023), também encontraram picos endotérmicos ao analisar as propriedades térmicas de filmes a base de à base de riclina e antocianina para monitorar o frescor de alimentos. A introdução do extrato na matriz do filme diminuiu a temperatura de fusão (T_f) consequência da adição do extrato. Mary et al. (2020) relatam essa diminuição da (T_f) é devida as antocianinas não estarem puras, pois contém vários outros elementos que afetam a estabilidade térmica dos filmes.

Os valores de entalpia de fusão (ΔH) encontrados nos filmes foram de 1,88 J/g para a formulação Gel e 2,50 J/g para a formulação Gel/Ext. Boonsiriwit et al. (2021) em seus estudos encontraram valores de (ΔH) na faixa de 1,58 - 2,51 J/g, para filmes a base de celulose incorporados com antocianinas de CT que estão dentro da faixa encontrados neste estudo.

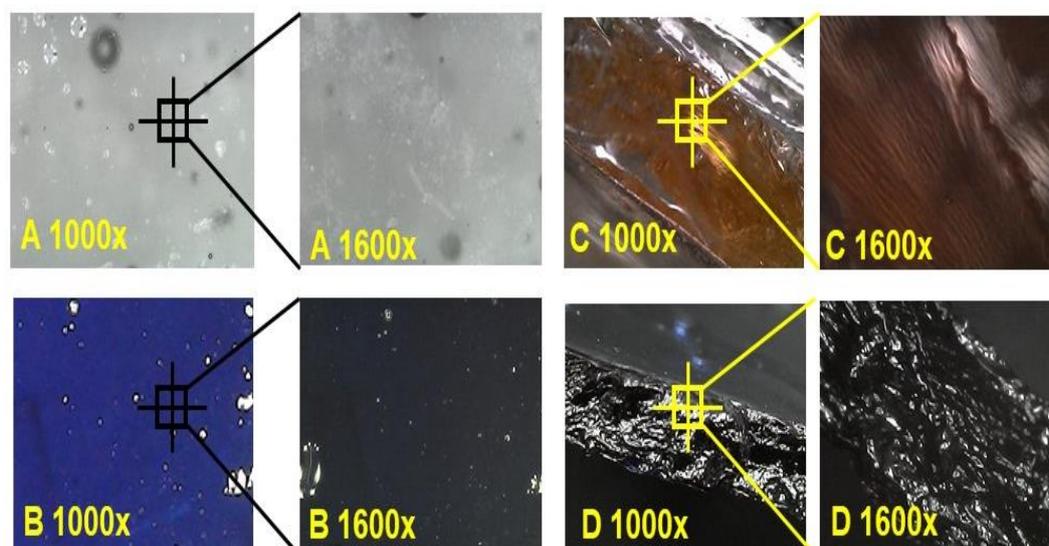
Tabela 5- Parâmetros do CDV para os filmes

Formulação do filme	Parâmetros do CDV	
	T_f (°C)	ΔH (J/g)
Gel	150,78	1,88
Gel/ext	130,26	2,50

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

5.4. Análise das imagens digitais dos filmes

As análises das imagens digitais dos filmes foram examinadas via microscópio eletrônico com aumento de 1000 a 1600X conforme apresentada na Figura 9.

Figura 9– Imagens digitais dos filmes

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

A imagem de superfície dos filmes Gel Fig 9A e Gel/Ext 9B, mostra uma estrutura de camada lisa, homogênea. Nas seções transversais Gel Fig 9C e Gel/Ext 9D as imagens dos filmes demonstraram áreas compactadas. Mostrando que as formulações apresentaram compatibilidade adequada e foram incorporadas com sucesso durante o processo de elaboração dos filmes

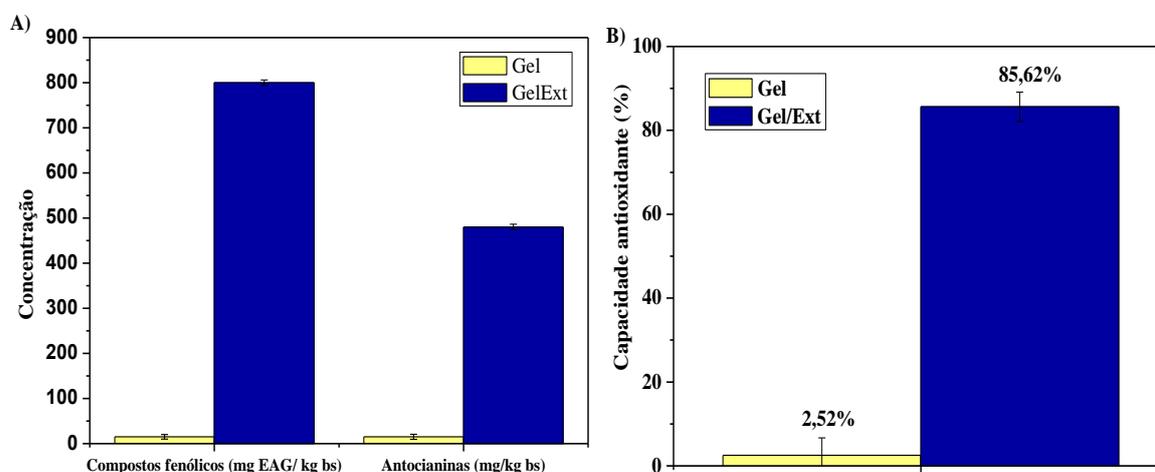
Outros estudos relatam que a microestrutura de um biopolímero pode ser melhorada pela introdução de uma quantidade ideal de antocianinas no biopolímero (Yong e Liu, 2020).

Jiang et al. (2020) afirmam que devido à presença de grupos –OH nas estruturas das antocianinas, elas podem interagir favoravelmente com as ligações H do biopolímero, resultando em sua distribuição e dispersão adequadas na matriz do biopolímero, além da adição de glicerol as formulações que auxilia na melhor compatibilidade entre as matérias primas dos filmes.

5.5. Compostos bioativos e antioxidante dos filmes

O teor de compostos fenólicos totais (CFT), antocianinas (ANT) e atividade antioxidante (ATT) testada pelo método do sequestro de radicais livres (DPPH) são apresentados na Figura 10.

Figura 10– (A) Compostos bioativos e (B) Capacidade antioxidante dos filmes



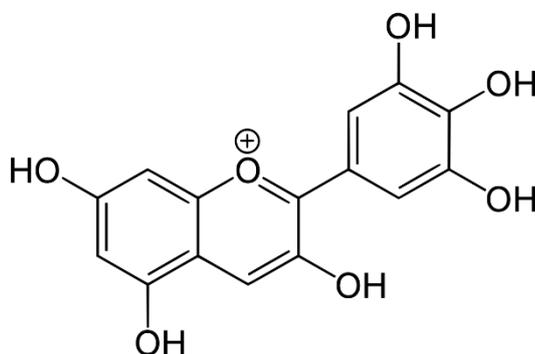
Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Em geral, o teor de CFT e ANT refletem sobre a atividade antioxidante. O CFT do filme Gel/Ext é de $812,69 \pm 1,2$ mg/Kg, Qi et al. (2022) encontraram valores superiores de $2980 \pm 0,6$ mg/Kg ao elaborarem filmes de extrato de romã e CT, possivelmente devido o acréscimo do extrato de romã.

A maior capacidade de eliminação de radicais livres foi encontrada no filme elaborado com extrato de CT com ($85,26 \pm 3,43$ %). Fogarasi et el. (2015) e Liu et al. (2019) afirmam que o efeito de eliminação dos radicais livres é atribuído às antocianinas, no caso do extrato de CT, às delphinidinas Figura 11, que possuem em

sua composição grande número de grupos hidroxila fenólicos que, ao criarem grupos fenoxi, são capazes de eliminar radicais livres.

Figura 11– Estrutura da delfidina



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Como esperado, o filme elaborado com o extrato de CT apresentou elevada ATT. Santos et al. (2022) ao produzirem filmes de alginato de sódio carregados com extrato de CT obtiveram valores de ATT de aproximadamente 24%. Kim et al. (2022) encontraram valores de 55% em filmes de gelatina com extrato de CT.

6 CONCLUSÃO

Filmes indicadores de cor sensíveis a mudanças de pH foram preparados com base em uma matriz polimérica de gelatina/glicerol integrada ao extrato das flores de CT a fim de para um indicador de frescor de camarão. A formulação Gel/Ext apresentou excelentes propriedades de mudança de coloração dependentes do pH e apresentou boa estabilidade na cor e propriedades térmicas. Foi possível observar uma única mudança de coloração durante o armazenamento do camarão de acordo com as mudanças nos valores de pH. Além disso, pelo fato de estarem carregados com o extrato apresentaram maior teor de compostos fenólicos e antocianinas, conferindo maior atividade antioxidante. Por meio dos resultados, verificou-se que o uso de filmes incorporados com o extrato da flor de CT é um potencial alternativo como embalagem ativa para o controle do crescimento de micro-organismos deterioradores e patogênicos em produtos alimentícios, especificamente poderão ser usados como indicadores de frescor para frutos do mar para garantir a segurança alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, N. A.; YOOK HENG, L.; SALAM, F.; MAT ZAID, M. H.; ABU HANIFAH, S. A. colorimetric pH sensor based on *Clitoria sp* and *Brassica sp* for monitoring of food spoilage using chromametry. **Sensors**, v. 19, n. 21, p. 4813, 2019.
- ALIZADEH-SANI, M.; MOHAMMADIAN, E.; RHIM, J. W, JAFARI, S. M AN, N. N.; SUN, W. H.; LI, B. Z.; WANG, Y.; SHANG, N.; LV, W. Q.; WANG, L. J. Effect of different drying techniques on drying kinetics, nutritional components, antioxidant capacity, physical properties and microstructure of *edamame*. **Food Chemistry**, v. 373, p. 131412, 2022.
- ARIF, Z. U.; KHALID, M. Y.; SHEIKH, M. F.; ZOLFAGHARIAN, A.; BODAGHI, M. Biopolymeric sustainable materials and their emerging applications. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 4, p.108159. 2022.
- BALBINOT-ALFARO, E.; CRAVEIRO, D. V.; LIMA, K. O.; COSTA, H. L. G.; LOPES, D. R.; PRENTICE, C. Intelligent Packaging with pH Indicator Potential. **Food Engineering Reviews**, v. 11, p. 235–244, 2019.
- BOONSIRIWIT, A.; LEE, M.; KIM, M.; INTHAMAT, P.; SIRIPATRAWAN, U.; LEE, Y. S. Hydroxypropyl methylcellulose/microcrystalline cellulose biocomposite film incorporated with butterfly pea anthocyanin as a sustainable pH-responsive indicator for intelligent food-packaging applications. **Food Bioscience**, v. 44, p. 101392. 2021.
- CAVALCANTI, R. N.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems - An overview. **Food research international**, v. 44, n. 2, p. 499-509, 2011.
- CHOI, I.; LEE, J. Y.; LACROIX, M.; HAN, J. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. **Food chemistry**, v. 218, p.122-128. 2017.
- CLIFFORD, M. N. Anthocyanins–nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, 1063-1072, 2000.
- FITRIANA, R.; IMAWAN, C.; LISTYARINI, A.; SHOLIHAN, W. A green label for acetic acid detection based on chitosan and purple sweet potatoes extract. In *2017 International Seminar on Sensors, Instrumentation, Measurement and Metrology* v.8, p. 129-132, 2017.
- FOGARASI, A. L.; KUN, S.; TANKÓ, G.; STEFANOVITS-BÁNYAI, É.; HEGYESNÉ-VECSERI, B. A comparative assessment of antioxidant properties, total phenolic content of einkorn, wheat, barley and their malts. **Food Chemistry**, v. 167, p. 1-6. 2015.
- FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic, 1982. p. 181-207.

GE, L.; ZHU, M.; XU, Y.; LI, X.; LI, D.; MU, C. Development of Antimicrobial and Controlled Biodegradable Gelatin-Based Edible Films Containing Nisin and Amino-Functionalized Montmorillonite. **Food Bioprocess Technology**, v. 10, p. 1727–1736, 2017.

GRAJEDA-IGLESIAS, C.; SALAS, E.; BAROUH, N.; BARÉA, B.; FIGUEROA-ESPINOZA, M. C. Lipophilization and MS characterization of the main anthocyanins purified from hibiscus flowers. **Food Chemistry**, v. 230, p. 189-194. 2017.

GRZEBIENIARZ, W.; TKACZEWSKA, J.; JUSZCZAK, L.; KAWECKA, A.; KRZYŚCIAK, P.; NOWAK, N.; JAMRÓZ, E. The influence of aqueous butterfly pea *Clitoria ternatea* flower extract on active and intelligent properties of furcellaran Double-Layered films-in vitro and in vivo research. **Food Chemistry**, v. 413, p. 135612, 2023.

HASHIM, S. B.; TAHIR, H. E.; LIU, L.; ZHANG, J.; ZHAI, X.; MAHDI, A. A.; AWAD, F.N.; HAASSAN, M. M.; XIAOBO, Z.; JIYONG, S. Packaging films with smart colorimetric pH sensor based on sugarcane wax/agar integrated with butterfly pea flower extract for optical tracking of shrimp freshness. **Food Chemistry**, v. 373, p.131514. 2023

HIDAYATI, N. A.; WIJAYA, M. W.; BINTORO, V. P.; MULYANI, S.; PRATAMA, Y. Development of biodegradable smart packaging from chitosan, polyvinyl alcohol (PVA) and anthocyanin extract from butterfly pea flower *Clitoria ternatea L.* **Research Foods**. v. 5, p. 307–314, 2021.

HUANG, J.; HU, Z.; LI, G.; HU, L.; CHEN, J.; HU, Y. Make your packaging colorful and multifunctional: The molecular interaction and properties characterization of natural colorant-based films and their applications in food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 124, p. 259-277, 2022.

JIANG, G.; HOU, X.; ZENG, X.; ZHANG, C.; WU, H.; SHEN, G.; ZHANG, Z. Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas (L.) lam*) anthocyanins for monitoring fish freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 143, p. 359-372. 2020.

KAKAEI, S.; SHAHBAZI, Y. Effect of chitosan-gelatin film incorporated with ethanolic red grape seed extract and Ziziphora clinopodioides essential oil on survival of *Listeria monocytogenes* and chemical, microbial and sensory properties of minced trout fillet. **LWT-Food Science and Technology**, v. 72, p. 432-438, 2016.

KIM, H. J.; ROY, S.; RHIM, J. W. Gelatin/agar-based color-indicator film integrated with *Clitoria ternatea* flower anthocyanin and zinc oxide nanoparticles for monitoring freshness of shrimp. **Food Hydrocolloids**, v. 124, p. 107294. 2022.

KOSHY, R. R.; REGHUNADHAN, A.; MARIA, S. K.; PILLAI, P. S.; JOSÉ, S.; POTHEN, L. A.; pH indicator films manufactured from soy protein isolate modified with nanowhisker chitin and *Clitoria ternatea* flower extract. **Current Food Science Research**. v. 5, p. 743–751, 2022.

- KUMAR, R.; ANJU, V. S. Phytochemical and antibacterial activities of crude leaf and root extracts of *Clitoria ternatea* varieties (*Fabaceae*). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6. p. 1104-1108, 2017.
- LI, X.; SHA, X. M.; YANG, H. S.; REN, Z. Y.; TU, Z. C. Ultrasonic treatment regulates the properties of gelatin emulsion to obtain high-quality gelatin film. **Food Chemistry**: v. 18, p. 100673. 2023.
- LI, D.; WANG, P., LUO, Y.; ZHAO, M.; CHEN, F. Health benefits of anthocyanins and molecular mechanisms: Update from recent decade. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 8, p.1729-1741, 2017.
- LIU, Y.; QIN, Y.; BAI, R.; ZHANG, X.; YUAN, L.; LIU, J. Preparation of pH-sensitive and antioxidant packaging films based on κ -carrageenan and mulberry polyphenolic extract. **International journal of biological macromolecules**, v. 134, p. 993-1001.2019.
- MARIA, S. K; KOSHY, R. R; DANIEL, J.; KOSHY, J. T.; POTHEN, L.A.; THOMAS, S. Development of smart starch-based films incorporating butterfly pea flower anthocyanins and TiO₂ and their applicability as freshness sensors for shrimp during storage. **RSC Advances**. v. 10, p. 39822–39830. 2020.
- MARTINS, N.; RORIZ, L.; MORALES, P.; BARROS, L.; FERREIRA, I.C. Dyes provide: challenges, opportunities and current desires of agribusinesses to meet consumer expectations and regulatory practice. **Trends in Food Science & Technology**, v. 52, p.1-15. 2016.
- MARY, S. K.; KOSHY, R. R.; DANIEL, J.; KOSHY, J. T.; POTHEN, L. A.; THOMAS, S. Development of starch based intelligent films by incorporating anthocyanins of butterfly pea flower and TiO₂ and their applicability as freshness sensors for prawns during storage. **RSC advances**, v. 10, p. 39822-39830. 2020.
- MIAO, Y.; CHEN, Z.; ZHANG, J., LI, N.; WEI, Z.; ZHANG, Y.; ZHANG, J. Exopolysaccharide riclin and anthocyanin-based composite colorimetric indicator film for food freshness monitoring. **Carbohydrate Polymers**, p. 314, p. 120882. 2023.
- PERALTA, J.; BITENCOURT-CERVI, C. M.; MACIEL, V. B.; YOSHIDA, C. M.; CARVALHO, R. A. Aqueous *hibiscus* extract as a potential natural pH indicator incorporated in natural polymeric films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 47-55, 2019.
- QI, D.; XIAO, Y.; XIA, L.; LI, L.; JIANG, S.; JIANG, S.; WANG, H. Colorimetric films incorporated with nisin and anthocyanins of pomegranate/*Clitoria ternatea* for shrimp freshness monitoring and retaining. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 33, p. 100898. 2022.
- RAMLI, M. E.; SALLEH, R. M.; TAJARUDIN, H. A.; ZULKURNAIN, M. Influence of amylose content on phenolics fortification of different rice varieties with butterfly pea *Clitoria ternatea* flower extract through parboiling. **LWT- Food Science and Technology**, v. 147, p. 111493, 2021.

RODRÍGUEZ, G. M.; SIBAJA, J. C.; ESPITIA, P. J. P.; OTONI, C. G. Antioxidant active packaging based on papaya edible films incorporated with *Moringa oleifera* and ascorbic acid for food preservation. **Food Hydrocolloids**, v. 12, p. 105630, 2019.

ROY, S.; KIM, HJ; RHIM, J.W. Effect of mixed anthocyanin and shikonin dyes on carboxymethyl cellulose/agar based smart packaging film. **International Journal of Biological Macromolecules**.v. 183, p. 305–315, 2021.

SANTOS, L. G.; ALVES-SILVA, G. F.; MARTINS, V. G. Active-intelligent and biodegradable sodium alginate films loaded with *Clitoria ternatea* anthocyanin-rich extract to preserve and monitor food freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 220, p. 866-877. 2022.

SHAHID, M.; MOHAMMAD, F. Recent advancements in natural dye applications: a review. **Journal of cleaner production**, v. 53, p. 310-331. 2013.

SHAO, P.; LIU, L.; YU, J.; LIN, Y.; GAO, H.; CHEN, H.; SUN, P. An overview of intelligent freshness indicator packaging for food quality and safety monitoring. **Trends in Food Science & Technology**, v. 118, p. 285-296, 2021.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal Agricultural Research**, v. 11, p. 3733-3740I, 2016.

Smart pH-sensitive (halochromic) packaging films based on natural food colors for monitoring food quality and safety. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 93 - 144, 2020.

WATERHOUSE, A. Folin-ciocalteau micro method for total phenol in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, p. 3-5, 2006.

YONG, H.; LIU, J. Recent advances in the preparation, physical and functional properties, and applications of anthocyanins-based active and intelligent packaging films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 26, p.100550. 2020.

YONG, H.; LIU, J.; QIN, Y.; BAI, R.; ZHANG, X.; LIU, J. Antioxidant and pH-sensitive films developed by incorporating purple and black rice extracts into chitosan matrix. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 137, p. 307-316, 2019.

YUN, D.; CAI, H.; LIU, Y.; XIAO, L.; SONG, J.; LIU, J. Development of active and intelligent films based on cassava starch and Chinese bayberry *Myrica rubra Sieb. et Zucc* anthocyanins. **RSC Royal Society of Chemistry advances**, v. 9, n. 53, p. 30905-30916, 2019.

ZHANG, K.; HUANG, T. S.; YAN, H.; HU, X.; REN, T. Novel pH-sensitive films based on starch/polyvinyl alcohol and food anthocyanins as a visual indicator of shrimp

deterioration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 145, p. 768-776. 2020.

ZHAO, L.; LIU, Y.; ZHAO, L.; WANG, Y. Anthocyanin-based pH-sensitive smart packaging films for monitoring food freshness. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 9, p. 100340, 2022.

