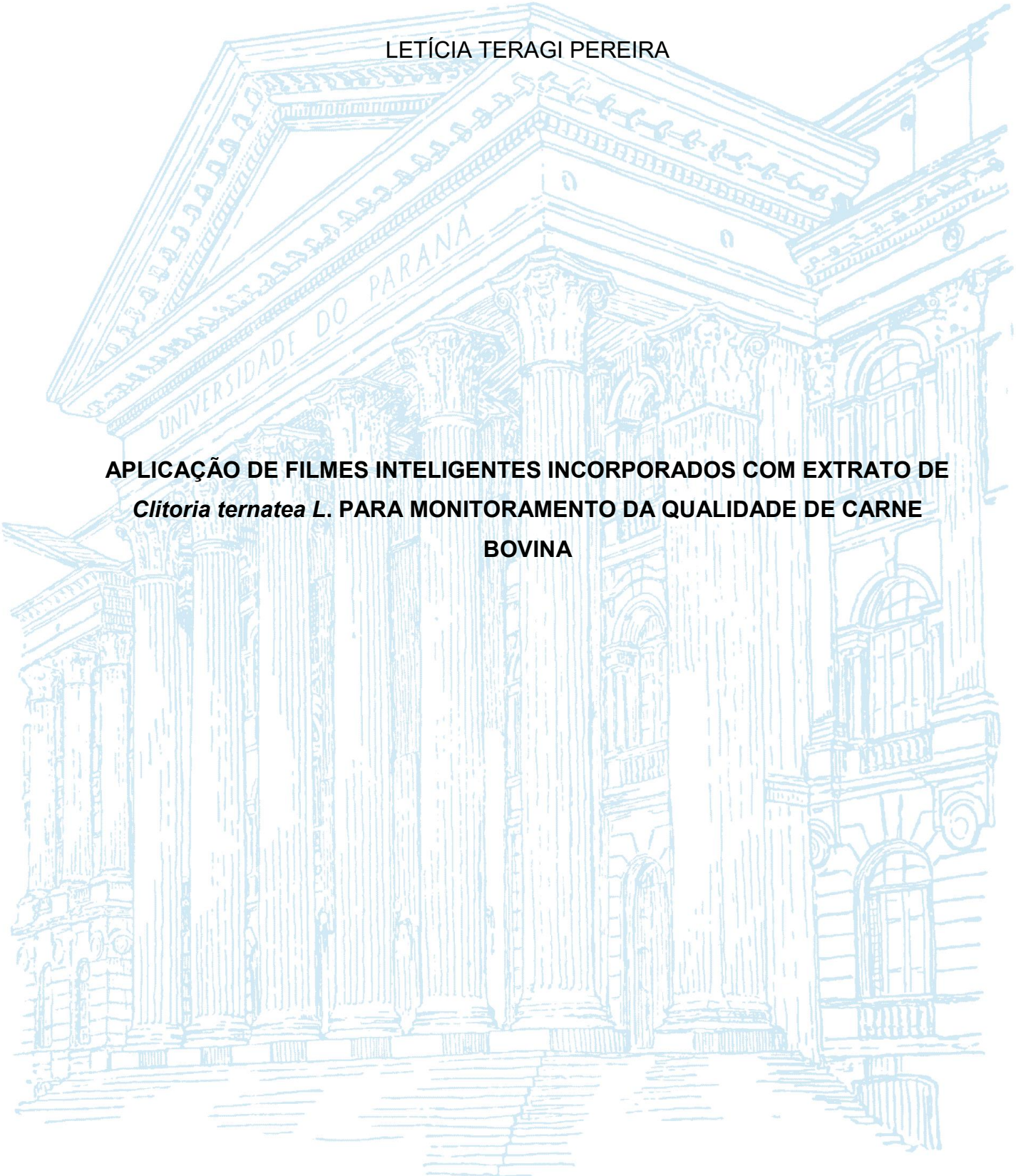
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LETÍCIA TERAGI PEREIRA



APLICAÇÃO DE FILMES INTELIGENTES INCORPORADOS COM EXTRATO DE *Clitoria ternatea L.* PARA MONITORAMENTO DA QUALIDADE DE CARNE BOVINA

JANDAIA DO SUL
2024

LETÍCIA TERAGI PEREIRA

APLICAÇÃO DE FILMES INTELIGENTES INCORPORADOS COM EXTRATO DE *Clitoria ternatea L*. PARA MONITORAMENTO DA QUALIDADE DE CARNE BOVINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Engenharia de Alimentos, Campus Avançado Jandaia do Sul, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenheira de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Leomara Floriano Ribeiro

JANDAIA DO SUL

2024

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA JANDAIA DO SUL

Pereira, Letícia Teragi
Aplicação de filmes inteligentes incorporados com extrato de *Clitoria ternatea L.* para monitoramento da qualidade de carne bovina. / Letícia Teragi Pereira. – Jandaia do Sul, 2024.
1 recurso on-line : PDF.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Paraná, Campus Jandaia do Sul, Graduação em Engenharia de Alimentos.
Orientadora: Profa. Dra. Leomara Floriano Ribeiro.

1. Embalagem. 2. Compostos bioativos. 3. pH. 4. Coloração. I. Ribeiro, Leomara Floriano. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD: 664

Bibliotecário: César A. Galvão F. Conde - CRB-9/1747

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PARECER Nº **348/2024/UFPR/R/JA**
PROCESSO Nº 23075.071163/2021-31
INTERESSADO: COORDENAÇÃO DO CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

LETÍCIA TERAGI PEREIRA

"APLICAÇÃO DE FILMES INTELIGENTES INCORPORADOS COM EXTRATO DE *Clitoria ternatea* L. PARA MONITORAMENTO DA QUALIDADE DE CARNE BOVINA "

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos no curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, Aprovado pela seguinte banca examinadora:

Orientadora: Dra. Leomara Floriano Ribeiro

Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Dr. Daniel Angelo Longhi

Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Dr. Raimundo Alberto Tostes

Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Jandaia do Sul, 13 de junho de 2024.

Documento assinado eletronicamente por **LEOMARA FLORIANO RIBEIRO**, **PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 13/06/2024, às 11:20, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.

Documento assinado eletronicamente por **DANIEL ANGELO LONGHI**, **PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 13/06/2024, às 11:23, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.

Documento assinado eletronicamente por **RAIMUNDO ALBERTO TOSTES**, **PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 13/06/2024, às 11:24, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.

A autenticidade do documento pode ser conferida aqui informando o código verificador **6724686** e o código CRC **29269809**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças, coragem, sabedoria, saúde, proteção e bênçãos todos os dias durante essa trajetória.

Aos meus pais, Edgard e Rose, e meu irmão, Willian, que nunca mediram esforços para que eu pudesse alcançar todos os meus sonhos, por sempre me apoiarem e estarem presentes, pelo carinho constante, pelo incentivo e pela força nos momentos difíceis.

A todos os meus familiares que direta ou indiretamente me auxiliaram e apoiaram ao longo deste período.

Ao meu namorado, Rafael, pelo seu amor, cumplicidade, amparo e incentivo. Sua presença tornou esta caminhada mais leve, sendo meu porto seguro nos momentos desafiadores.

Aos amigos da faculdade, em especial a Giovanna, pela amizade, auxílio, companheirismo, momentos de alegria e descontração que foram fundamentais nessa trajetória.

À Profa. Dra. Leomara Floriano Ribeiro pelo apoio, paciência, compreensão e carinho ao longo desta jornada, pela confiança depositada em mim e pela oportunidade de realizar esse trabalho. Muito obrigada por sua orientação e pelos ensinamentos!

Ao Luiz Eduardo Nochi de Castro por realizar a análise colorimétrica, espectroscopia infravermelho (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Ao Prof. Dr. Daniel Angelo Longhi e ao Prof. Dr. Raimundo Alberto Tostes por terem aceito o convite para serem membros na banca de defesa.

A técnica de laboratório Cássia Reika Takabayashi Yamashita pela disponibilidade e auxílio nas análises durante a realização deste trabalho.

A Universidade Federal do Paraná (UFPR) pelas oportunidades de aprendizados e pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho. A todos os professores de graduação pelos ensinamentos compartilhados.

A todas as pessoas cujos nomes não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

Aplicação de filmes inteligentes incorporados com extrato de *Clitoria ternatea L*. para monitoramento da qualidade de carne bovina

Letícia Teragi Pereira

Leomara Floriano Ribeiro

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a aplicação do filme inteligente de *Clitoria ternatea L.* como indicador colorimétrico na qualidade de carne bovina. Após extração a 80 °C por 5 minutos, o extrato de *Clitoria ternatea L*. foi caracterizado fisicamente e quimicamente por meio de análises de sólidos solúveis por refratometria, pH por potenciometria, compostos fenólicos totais (CFT) e antocianinas monoméricas totais (AMT) por espectrofotometria UV-Vis. Para elaboração dos filmes utilizou-se a técnica de *casting* em que se misturou 2 g de glicerol, 5 g de amido e 93 g de extrato de *Clitoria ternatea L*. ou água destilada para o filme controle. Os filmes foram caracterizados em relação aos aspectos visuais (continuidade, homogeneidade, manuseabilidade), propriedades físicas (densidade e gramatura), propriedade óptica (opacidade), propriedade de barreira (permeabilidade ao vapor d' água), solubilidade, análise colorimétrica (L, a, b e ΔE), espectroscopia infravermelho médio (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) com resolução de 100 µm, análise espectrofotométrica de varredura para avaliação da fotodegradação dos compostos do filme sob diferentes condições de armazenamento (sem e com exposição à luz a 10 °C e 25 °C) no tempo inicial (0) e após 50 dias e monitoramento do frescor de carne bovina por alteração da coloração do filme e do pH. Os resultados indicaram que o extrato de *Clitoria ternatea L*. apresenta baixo teor de sólidos solúveis (0,50 °Brix) e de pH (4,92). Além disso, o extrato contém cerca de 24,18 ± 0,46 mg EAG g^{-1} de CFT e de antocianinas monoméricas totais, 91,43 ± 9,87 mg EC-3-G 100 g^{-1}. Desta forma, é possível indicar a presença de compostos bioativos nos filmes. Nos aspectos visuais, todos os filmes apresentaram continuidade e manuseabilidade. As gramaturas de todos os filmes exibiram resultados semelhantes (0,028 g/cm^2 para os filmes com extrato e 0,022 g/cm^2 para o filme controle). Os filmes com extrato apresentaram menor opacidade, 6,306 mm^{-1}, quando comparado ao filme controle com 15,263 mm^{-1}. Os filmes apresentaram 34,10% de solubilidade e permeabilidade ao vapor de água entre 0,053 e 0,076 g mm/m^2 dia kPa. O padrão de espectro FTIR era característico de amido com alguns picos associados a antocianinas (1650 cm^{-1} e 1100 a 1000 cm^{-1}). Os compostos dos filmes não demostraram degradação durante o armazenamento sem exposição a luz a 10 °C, apresentando resultados da absorvância similar no tempo inicial e após 50 dias. Por fim, os filmes com *Clitoria ternatea L.* sofreram alteração de coloração de azul para verde, e houve aumento no valor do pH de 5,80 para 7,86 após 12 dias de sua aplicação no monitoramento da carne bovina, assim indicando degradação do alimento. Portanto, conclui-se que os filmes inteligentes com extrato de *Clitoria ternatea L*. podem ser utilizados como indicador colorimétricos em embalagens de alimentos.

Palavras-chave: embalagem; compostos bioativos; pH; coloração.

Application of smart films incorporated with extract of *Clitoria ternatea L*. for monitoring the quality of beef

Letícia Teragi Pereira

Leomara Floriano Ribeiro

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the application of *Clitoria ternatea L*. smart film as a colorimetric indicator on beef quality. After extraction at 80°C for 5 minutes, the extract of *Clitoria ternatea L*. was characterized physically and chemically by analysis of soluble solids by refractometry, pH by potentiometry, total phenolic compounds (TPC) and total monomeric anthocyanins (TMA) by UV-Vis spectrophotometry. For the elaboration of the films, the casting technique was used, in which 2 g of glycerol, 5 g of starch and 93 g of *Clitoria ternatea L*. extract or distilled water were mixed for the control film. The films were characterized in relation to visual aspects (continuity, homogeneity, handling), physical properties (density and grammage), optical property (opacity), barrier property (water vapor permeability), solubility, colorimetric analysis (L, a, b and ΔE), mid-infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM) with a resolution of 100 µm, scanning spectrophotometric analysis to evaluate the photodegradation of film compounds under different storage conditions (without and with exposure to light at 10°C and 25°C) at baseline (0) and after 50 days and monitoring of beef freshness by changing film color and pH). The results indicated that the extract of *Clitoria ternatea L*. has a low content of soluble solids (0.50 °Brix) and pH (4.92). In addition, the extract contains about 24.18 ± 0.46 mg EAG g^{-1} CFT and total monomeric anthocyanins, 91.43 ± 9.87 mg EC-3-G 100 g^{-1}. In this way, it is possible to indicate the presence of bioactive compounds in the films. In the visual aspects, all films presented continuity and maneuverability. The weights of all films showed similar results (0.028 g/cm^2 for the extract films and 0.022 g/cm^2 for the control film). The films with extract showed lower opacity, 6.306 mm^{-1}, when compared to the control film with 15.263 mm^{-1}. The films showed 34.10% solubility and water vapor permeability between 0.053 and 0.076 g mm/m^2 day kPa. The FTIR spectrum pattern was characteristic of starch with some peaks associated with anthocyanins (1650 cm^{-1} e 1100 a 1000 cm^{-1}). The film compounds did not show degradation during storage without exposure to light at 10 °C, showing similar absorbance results at the initial time and after 50 days. Finally, the films with *Clitoria ternatea L*. underwent color change (blue to green) and there was an increase in the pH value from 5.80 to 7.86 after 12 days of its application for monitoring beef, thus indicating degradation of the feed. Therefore, it is concluded that smart films with *Clitoria ternatea L*. extract can be used as colorimetric indicators in food packaging.

Keywords: packaging; bioactive compounds; pH; coloring.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FLORES DE *CLITORIA TERNATEA L.* DESIDRATADAS (A) E EM PÓ (B) .15
FIGURA 2 - APLICAÇÃO DOS FILMES (C, E1, E2 E E3) EM RECIPIENTES CONTENDO CARNE BOVINA 21
FIGURA 3 - COLORAÇÃO DO EXTRATO DE *CLITORIA TERNATEA L*. COM VARIAÇÃO DE PH DE 1 A 12.....22
FIGURA 4 - AS PRINCIPAIS FORMAS E COLORAÇÃO DE ANTOCIANINAS NOS PH VARIÁVEIS. 23
FIGURA 5 - FILME CONTROLE (C) E FILMES COM EXTRATO DE *CLITORIA TERNATEA L*. (E1, E2 E E3) 26
FIGURA 6 - COLORAÇÃO DOS FILMES COM EXTRATO DE *CLITORIA TERNATEA L*. COM PH VARIANDO DE 1 A 12.....30
FIGURA 7 - ESPECTROS NO INFRAVERMELHO MÉDIO DOS FILMES.....32
FIGURA 8 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DOS FILMES COM RESOLUÇÃO DE 500X E 1000X 34
FIGURA 9 - ESPECTROS DE VARREDURA DOS FILMES SOB DIFERENTES CONDIÇÕES.....36
FIGURA 10 - MUDANÇA DE COLORAÇÃO DOS FILMES COM EXTRATO DE *CLITORIA TERNATEA L*. NA APLICAÇÃO DE RECIPIENTES COM CARNE 37
FIGURA 11 - DIFERENÇA DA COLORAÇÃO INICIAL E FINAL DOS FILMES COM EXTRATO DE *CLITORIA TERNATEA L*.....38

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS DO EXTRATO DE *CLITORIA TERNATEA L*. 22
TABELA 2 – ASPECTOS VISUAIS DOS FILMES INTELIGENTES DE *CLITORIA TERNATEA L*. 25
TABELA 3 – PROPRIEDADES DOS FILMES INTELIGENTES 27
TABELA 4 - PARÂMETROS DE COR DOS FILMES 29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 MATERIAIS E MÉTODOS 15
2.1 AMOSTRAS 15
2.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO 15
2.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DO EXTRATO 16
2.3.1 Sólidos solúveis e pH 16
2.3.2 Compostos fenólicos totais 16
2.3.3 Antocianinas monométricas totais 16
2.3.4 Análise colorimétrica do extrato 17
2.4 DESENVOLVIMENTO DO FILME 17
2.5 CARACTERIZAÇÃO DO FILME 18
2.5.1 Aspectos visuais 18
2.5.2 Propriedades físicas 18
2.5.3 Propriedades ópticas 18
2.5.4 Propriedades de barreira 18
2.5.5 Solubilidade 19
2.5.6 Análise colorimétrica do filme 19
2.5.7 Espectroscopia infravermelho (FTIR) 20
2.5.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 20
2.5.9 Fotodegradação do filme sob diferentes condições 20
2.5.10 Aplicação do filme inteligente para indicar frescor de carne bovina 20
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 21
3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DO EXTRATO 21
3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E COLORIMÉTRICA DO FILME 25
3.3 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA E ESTRUTURAL DO FILME 31

3.4 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DAS ANTOCIANINAS.....35
4 CONCLUSÃO 40
REFERÊNCIAS 41

1 INTRODUÇÃO

As embalagens tradicionais têm a finalidade de auxiliar na distribuição, manutenção e preservação de alimentos, porém não são suficientes para atender as demandas atuais dos consumidores, uma vez que não conseguem certificar a inocuidade alimentar (TEIXEIRA; SOARES; STRINGHETA, 2021). Portanto, há uma necessidade de aumentar a vida de prateleira, manter a qualidade do produto, reduzir o desperdício de alimentos e substituir os plásticos sintéticos (PEREIRA, 2017).

Assim, desenvolveram-se uma nova categoria de embalagens designada de embalagens inteligentes. Essa classe de embalagem contém tecnologia que permite detectar mudanças no ambiente interno ou externo da embalagem por meio de alterações bioquímicas associadas à temperatura de armazenamento, ao pH e à detecção de compostos voláteis. Ou seja, permite identificar alterações na qualidade do alimento e converter essa informação em dados visuais, prevenindo possíveis riscos à saúde e garantindo a segurança de alimentos (ZENIN, 2022; TEIXEIRA, 2021).

Os filmes inteligentes podem atuar como indicadores colorimétricos, especialmente quando utilizam pigmentos sintéticos, devido à sua maior estabilidade e custo mais baixo em comparação aos pigmentos naturais. No entanto, devido à crescente demanda dos consumidores por produtos naturais e ecologicamente corretos, ocorreu a substituição dos pigmentos sintéticos pelos naturais (LEANDRO *et al*., 2021).

Dessa forma, as antocianinas podem ser utilizadas como indicadores colorimétricos já que são pigmentos naturais, não tóxicos, solúveis em água e sensíveis a mudanças de pH. Assim, os filmes desenvolvidos a partir das antocianinas são capazes de fornecer informações qualitativas imediatas do frescor ou do estágio de deterioração dos alimentos decorrente das mudanças colorimétricas visuais provocadas pelas alterações do pH (TEIXEIRA; SOARES; STRINGHETA, 2021).

Estudos sobre o emprego da *Clitoria ternatea L*. em filmes inteligentes têm sido publicados nos últimos anos, visto que apresentam quantidades significativas de antocianinas em suas flores (NASCIMENTO *et al*., 2021), com adição de alguns compostos, como furcellaran (GRZEBIENIARZ *et al*., 2023), gelatina e pectina (NARAYANAN *et al*., 2023), amido (WANG *et al*., 2023), proteína isolada de soja modificada com quitina (KOSHY *et al*., 2022), nisina (QI *et al*., 2022), alginato de sódio

(SANTOS; ALVES-SILVA; MARTINS, 2022), quitosana-poli (álccol vinilico) (SINGH *et al*., 2021) e goma gelana (WU *et al*., 2021). Ademais, essas antocianinas podem apresentar uma variação de coloração exclusiva, que vai desde vermelho brilhante até verde, quando o pH varia entre 0 e 12 (NASCIMENTO *et al*., 2022). Deste modo, o extrato dessa flor, rico em antocianinas, pode ser utilizado como um indicador colorimétrico referente as condições dos alimentos dentro das embalagens.

Outra preocupação dos consumidores é em relação ao material polimérico utilizado nas embalagens, pois a vida contemporânea, em conjunto com os avanços tecnológicos, trouxe consigo repercussões significativas devido as extensas produções e acúmulo de lixo e resíduos não biodegradáveis (KOESTER *et al*., 2023). Dessa forma, com intuito de diminuir o acúmulo de resíduos sólidos no meio ambiente, especialmente oriundos de filmes plásticos sintéticos e de fontes não renováveis, cuja decomposição leva mais de 100 anos, houve a necessidade de desenvolver polímeros biodegradáveis para compor essas embalagens (SOARES *et al*., 2014; TEIXEIRA; PERON, 2013).

Nesta busca, os produtos provenientes da agricultura, como os polissacarídeos e as proteínas, são as macromoléculas mais promissoras para a substituição dos polímeros plásticos convencionais, uma vez que têm a capacidade de formar matrizes contínuas. Dentre os polissacarídeos, destaca-se o amido, visto que se trata de uma matéria-prima de ampla disponibilidade, derivado de fontes renováveis e com baixo custo, assim sendo amplamente estudado para elaboração dos filmes biodegradáveis (KOESTER *et al*., 2023; OLIVATO *et al*., 2006).

Segundo Shimazu *et al*. (2007), os filmes produzidos apenas com amido são quebradiços, pouco flexíveis e possuem baixa manuseabilidade, ou seja, apresentam dificuldade na produção dessas embalagens. Essas características são decorrentes da cristalização parcial das moléculas de amilose e amilopectina que podem ocorrer durante o processo de secagem (HORN, 2012). Desse modo, a incorporação de plastificantes, como glicerol, torna-se necessário para aprimorar as propriedades físicas, químicas e mecânicas dos filmes a fim de proporcionar maior flexibilidade e manuseabilidade (CONSTANTINO *et al*., 2023; MATTA JUNIOR, 2009).

A técnica mais utilizada para produzir os filmes biodegradáveis contendo amido e glicerol é a técnica de “*casting*”, onde os grânulos de amido são gelatinizados e a amilose e a amilopectina se reorganizam durante a secagem para formar a matriz contínua do filme. Este processo consiste na desidratação lenta a baixa temperatura

de uma solução contendo macromoléculas, solvente e plastificante (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010; BOMFIM, 2019).

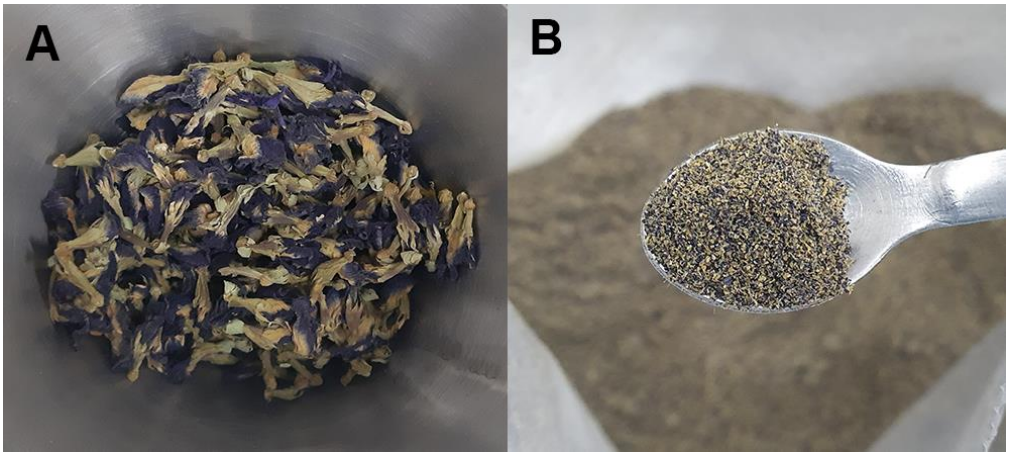
Diante do exposto, o presente trabalho visa avaliar a aplicação do filme inteligente de amido e glicerol incorporado com extrato de *Clitoria ternatea L*. como indicador colorimétrico na qualidade de carne bovina.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

As amostras das *Clitoria ternatea L*. desidratadas foram obtidas do produtor Flor Fada Azul da cidade de Corguinho, Mato Grosso do Sul. As flores foram desidratadas em processo combinado de secagem natural a sombra e em estufa a 45 °C (FIGURA 1A). Posteriormente, moeu-se as flores até obter um pó fino (FIGURA 1B) e, em seguida, foram acondicionadas em uma embalagem de plástico de polietileno de baixa densidade (PEBD) selada a vácuo, ao abrigo da luz e armazenadas no freezer.

FIGURA 1 – FLORES DE *Clitoria Ternatea L.* DESIDRATADAS (A) e EM PÓ (B)



FONTE: A autora (2024).

2.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO

Para extração dos compostos da *Clitoria ternatea L*., foram pesados 0,8 g do pó e colocados em erlenmeyers de 250 mL com 100 mL de água destilada (SANTANA, 2022). Depois os erlenmeyers foram colocados em banho dubbnoff (MATOLI) para

extração a 80 °C por 5 minutos. Após a extração, os extratos foram filtrados sob vácuo e armazenado em frasco âmbar no freezer. O processo de extração foi realizado em triplicata para obter os extratos E1, E2 e E3, todos com a mesma formulação.

2.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DO EXTRATO

2.3.1 Sólidos solúveis e pH

Os sólidos solúveis (°Brix) foram determinados em refratômetro ABBE (Instrutherm) e o pH foi determinado por meio da utilização do pHmetro digital (Lucadema), ambos em duplicata (AOAC, 2005).

2.3.2 Compostos fenólicos totais

Para determinação dos compostos fenólicos totais foi utilizado o ácido gálico como padrão e suas concentrações variaram de 25 a 800 mg/L. No preparo das soluções em tubo de ensaio para determinação dos compostos fenólicos totais, foi adicionado 60 µL de amostra, 3000 µL de água destilada e 300 µL de reagente Folin-Ciocalteau. Após 3 minutos, adicionou-se 900 µL de carbonato de sódio e 1740 µL de água destilada. Por fim, os tubos de ensaio foram agitados em vortex. Após as soluções permanecerem por 2 horas em local com ausência de luz, as análises dos fenólicos totais foram realizadas no espectrofotômetro de varredura UV-Visível (Drawell, EEQ9011l.UV-B) a 765 nm, segundo a metodologia de Singleton e Rossi (1965).

2.3.3 Antocianinas monométricas totais

A determinação das antocianinas foi realizada através do método pH diferencial, segundo a metodologia de Giusti e Wrolstad (2001), utilizando o pH 1,0 e 4,5. As amostras foram diluídas na proporção 1:20. No preparo da solução, foi misturado 200 µL de amostra com 3800 µL de cada solução tampão. As antocianinas foram determinadas a partir da absorvância em 510 nm e 700 nm utilizando as equações (1) e (2).

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH=1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH=4,5} \quad (1)$$

Onde: A é absorvância diferencial, A_{510} é a absorvância em 510 nm e A_{700} em 700 nm.

$$AMT = \frac{A\ M\ FD\ 1000}{\varepsilon\ L} \quad (2)$$

Onde: AMT é antocianinas monoméricas totais (mg/L), A é absorvância geral (nm), M é a massa molar da cianidina-3-glucosideo (449,20 g/mol), FD é o fator de diluição, ε é o coeficiente de extinção molar (26900,00 L/mol cm) e L é o comprimento do caminho óptico (1,00 cm).

2.3.4 Análise colorimétrica do extrato

A sensibilidade do extrato foi determinada misturando o extrato com tampão HCl ou NaOH com pH variando de 1 a 12 (NARAYANAN *et al*., 2023). As alterações de cor foram registradas por câmera fotográfica (Samsung S23) e os valores de pH foram determinados por meio de um pHmetro digital (Lucadema).

2.4 DESENVOLVIMENTO DO FILME

Os filmes foram elaborados utilizando a técnica de *Casting*. Com base em estudos anteriores (PEREIRA; RIBEIRO, 2023), a formulação ótima estabelecida foi obtida misturando 93 g do extrato de *Clitoria ternatea L*., 5 g do amido e 2 g do glicerol em um béquer, para obter os filmes E1, E2 e E3, ou seja, os filmes com extrato foram realizados em triplicata. Para obter o filme controle (C), substitui o extrato de *Clitoria ternatea L*. por água destilada. Essas misturas foram solubilizadas em um agitador com aquecimento (SOLAB) até atingir 60 °C por aproximadamente 30 a 40 min. Após ser observado a completa dissolução dos componentes e a ausência de bolhas de ar incorporadas na solução filmogênica, foram pesados 18 g da solução em placas de Petri e espalhadas para obter um filme com espessura homogênea. Em seguida, os filmes permaneceram em estufa BOD (Caltech) a 25 °C por aproximadamente 17h para secagem.

2.5 CARACTERIZAÇÃO DO FILME

2.5.1 Aspectos visuais

Os filmes foram avaliados qualitativamente sobre os aspectos ligados a continuidade (ausência de rupturas e fraturas após a secagem), homogeneidade (ausência de partículas insolúveis visíveis, zonas de opacidade ou de cores diferenciadas) e manuseabilidade (possibilidade de manusear o filme sem risco de ruptura) (SANTOS *et al*., 2019).

2.5.2 Propriedades físicas

As propriedades físicas foram determinadas com base na espessura (ε) dos filmes, através da média das amostras com cinco medidas em posições aleatórias usando paquímetro digital (MTX), para a gramatura (G) utilizou-se a razão entre a massa do filme dividida pela respectiva área e para densidade (ρ), as amostras foram cortadas em 2 cm x 2 cm, pesadas em balança analítica (BIOPRECISA, FA2104N) e medidas a espessura. Na sequência, as amostras foram mantidas em dessecadores por três semanas e depois avaliados novamente (MULLER *et al*., 2008).

2.5.3 Propriedades ópticas

As propriedades ópticas foram determinadas por meio da opacidade (OP). De acordo com Santos *et al*. (2016), utilizou-se o espectrofotômetro de varredura UV-Visível (Drawell, EEQ9011I.UV-B) em transmitância a 600 nm.

2.5.4 Propriedades de barreira

A determinação da permeabilidade dos filmes foi realizada segundo o método gravimétrico adaptado da normativa E 96-95 da ASTM (1995). Os filmes foram mantidos em ambiente controlado até atingir o equilíbrio em BOD a 25 °C, com soluções saturadas de NaCl (75%) e KCl (85%), separadamente. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculada em g m^{-1} dia^{-1} Pa^{-1} por meio da equação (3).

$$PVA = \frac{TPVA\ \varepsilon}{A\ P\ \left(\frac{UR_1 - UR_2}{100}\right)} \quad (3)$$

Onde: $TPVA$ (g) é a massa absorvida por 8 dias de incubação para KCl e 10 dias de incubação para NaCl, ε (mm) é a espessura do filme, A (m²) é a área de permeabilidade, P é a pressão de saturação do vapor de água a 25 °C (163.678,8 Pa), UR é a umidade relativa no interior do dessecador (1 – UR do sal) e no interior da cápsula (2 – UR do $CaCl_2$).

2.5.5 Solubilidade

A solubilidade (SA) em água foi determinada por meio da gravimetria após os filmes serem cortados em quadrados (2 cm x 2 cm), secos em estufa a 60 °C por 2h e, na sequência foram imersos em 50 mL de água destilada, submetidos a agitação controlada em incubadora shaker (Tecnal/TE-4200) a 150 rpm em 25 °C por 24 h. Em seguida, os filmes foram novamente secos em estufa a 60 °C por 24 h, e o resultado foi obtido por meio da diferença entre a massa inicial e final.

2.5.6 Análise colorimétrica do filme

Os filmes indicadores foram cortados em quadrados de 2 cm x 2 cm e colocados dentro de placas de Petri contendo 2 mL de cada solução tampão com diferentes valores de pH (NARAYANAN *et al.*, 2023). As alterações de cor foram registradas por câmera fotográfica (Samsung S23) e os valores de pH foram medidos por meio de um pHmetro digital (Lucadema).

Além disso, os parâmetros de cor dos filmes (L, a e b) foram determinados por um colorímetro portátil (Konica Minolta CR-400), onde a amostra do filme foi fixada em uma placa de cor branca padrão (L* = 91,85, a* = 2,11, b* = -4,10). A análise colorimétrica foi realizada por refletância, espaços de cor CIE1994, área de medição/iluminação de Ø8 mm/Ø11 mm, ângulo de observação de 2° e com 3 flashes. A diferença total de cor (∆E) foi calculado pela equação (4)

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

Onde: ΔL variação de luminosidade, ∆a variação da posição no eixo verde/vermelho e ∆b variação da posição no eixo amarelo/azul.

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão. A análise estatística foi realizada através do software Statistica 7, onde as médias foram comparadas pelo teste de *Tukey* ao nível de significância de 5%.

2.5.7 Espectroscopia infravermelho (FTIR)

A análise de espectroscopia foi realizada em espectrofotômetro (Perkin Elmer, Frontier) para análise de transmitância difusa na faixa do infravermelho médio (MIR) de 4000 a 400 cm^{-1}, com a resolução de 4 cm^{-1} e acumulando-se 40 varreduras, em conjunto com o programa de aquisição espectral.

2.5.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise estrutural foi realizada em microscópio eletrônico (Hitachi, TM4000Plus), no qual a amostra foi espalhada sobre uma fita de carbono, posteriormente seca, com tensão de aceleração de 5 kV. Os filmes foram analisados na resolução 500x e 1000x.

2.5.9 Fotodegradação do filme sob diferentes condições

Para analisar o processo de fotodegradação os filmes foram cortados em quadrado 4 cm x 1 cm e armazenados por 50 dias em quatro condições distintas: sem exposição à luz a 10 °C, na presença de luz a 10 °C, sem exposição à luz em temperatura ambiente (25 °C) e na presença de luz em temperatura ambiente (25 °C). A transmitância percentual foi analisada utilizando o espectrofotômetro de varredura UV-Visível (Drawell, EEQ9011I.UV-B) (SINGH *et al*., 2021).

2.5.10 Aplicação do filme inteligente para indicar frescor de carne bovina

O filme com extrato de *Clitoria ternatea L.* foi testado para verificação do frescor de carne bovina. A carne (posta vermelha bovina) resfriada foi cortada e 25 g foram adicionados em caixa retangulares de polipropileno estéril. Os filmes indicadores foram cortados em quadrados (2,3 x 2,3 cm) e colados com fita crepe na superfície interna da tampa da caixa, apresentando um quadrado final de aproximadamente 2 x 2 cm. Em seguida, as amostras embaladas foram armazenadas por 15 dias em geladeira a 4 °C (CAO *et al*., 2024) (FIGURA 2).

FIGURA 2 - APLICAÇÃO DOS FILMES (C, E1, E2 E E3) EM RECIPIENTES CONTENDO CARNE BOVINA

FONTE: A autora (2024).

Para analisar o frescor da carne foram acompanhadas as alterações de cor por registro fotográfico (Samsung S23). Além disso, avaliou-se o pH das amostras de carne bovina, por meio de um pHmetro digital (Lucadema) (WANG *et al*., 2023).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DO EXTRATO

Os extratos de *Clitoria ternatea L*. foram avaliados inicialmente em relação ao teor de sólidos solúveis, pH, compostos fenólicos totais e antocianinas monoméricas totais (TABELA 1).

TABELA 1 - ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS DO EXTRATO DE *Clitoria ternatea L*.

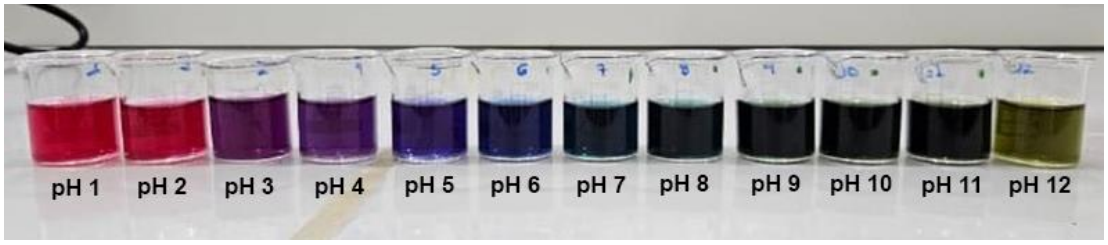
Análises	**Média ± desvio padrão**
Sólidos solúveis (°Brix)	0,50 ± 0,00
pH	4,92 ± 0,05
Compostos fenólicos totais (mg EAG g^{-1})	24,18 ± 0,46
Antocianinas monoméricas totais (mg EC-3-G $100g^{-1}$)	91,43 ± 9,87

FONTE: A autora (2024).

Os valores de pH e sólidos solúveis foram baixos, indicando que o extrato de *Clitoria ternatea L*. pode ser ácido e com baixo teor de açúcares. No entanto, valor de pH e sólidos solúveis encontrado por Fuzetti (2020) foi de 4,75 e 2,1 °Brix, respectivamente. Já no estudo de Escher (2019) encontrou o valor de pH dos seus ensaios dos extratos de *Clitoria ternatea L*. variando de 4,70 a 5,30. Enquanto, no presente estudo, o valor de pH obtido foi de 4,92, o qual condiz com a literatura, pois está entre os valores expressados. Assim, indicando que o pH não está relacionado com as condições de extração, uma vez que Fuzetti (2020) triturou as flores após serem hidratadas em água destilada a 45°C durante 30 min, e Escher (2019) realizou a extração variando a temperatura entre 11,7 a 68,3 °C e o tempo entre 8,78 a 51,21 min. Por outro lado, os valores de sólidos solúveis variam entre si devido as diferentes maneiras como os extratos foram preparados

O extrato de *Clitoria ternatea L*. apresenta sensibilidade em função da variação do pH de 1 a 12, como observado na FIGURA 3.

FIGURA 3 - COLORAÇÃO DO EXTRATO DE *Clitoria Ternatea L*. COM VARIAÇÃO DE pH DE 1 A 12.

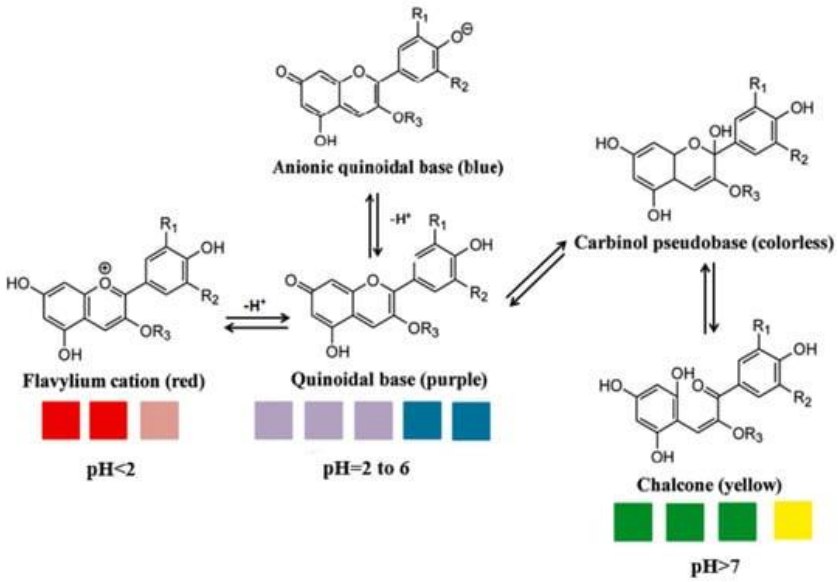


FONTE: A autora (2024).

Alguns estudos apresentaram a coloração do extrato de *Clitoria ternatea L*. com o pH variando de 1 a 12 bastante similar, porém exibindo a coloração rosa para pH 2 (NARAYANAN, 2023; SINGH *et al*., 2021; ESCHER, 2019) e cor amarela para pH 12 (WU *et al*., 2021), e coloração menos intensa (SANTOS; ALVES-SILVA; MARTINS, 2022). Assim, pode-se concluir que a coloração do extrato de *Clitoria ternatea L*. varia entre vermelho, azul e verde.

Essa alteração de cor no extrato de *Clitoria ternatea L*. quando o pH variou do 1 ao 12 pode ser explicada pelas estruturas química das antocianinas, como observado na FIGURA 4.

FIGURA 4 - AS PRINCIPAIS FORMAS E COLORAÇÃO DE ANTOCIANINAS NOS pH VARIÁVEIS.



FONTE: Abedi-Firoozjah *et al*. (2022).

A solução adquiriu coloração vermelha em pH ≤ 2 em razão da formação de cátion flavilium, sendo que essa molécula está completamente protonada e apresenta uma carga positiva distribuída pelo cromóforo. Com aumento do pH (3 ≤ pH ≤ 5), ocorre a primeira desprotonação (remoção de um próton), que resulta em uma competição cinética e termodinâmica entre a reação de hidratação do cátion flavilium e as reações de transferência de prótons relacionadas aos seus grupos hidroxila ácidos. Assim, provocando a formação da base quinoide neutra (cor roxa) e, portanto, ocorre uma mudança na coloração da solução de vermelha para roxo (HASANAH *et al*., 2023).

Para valores de pH variando entre 6 e 7, a cor transita do roxo para azul, pois a base quinoide neutra sofre uma desprotonação adicional ficando com uma carga negativa deslocalizada, assim transformando-se na base quinonóide aniônica (cor azul) (HASANAH *et al*., 2023). O aumento adicional, transformando-se a solução em meio básico (pH > 7), causa uma diminuição gradual na estabilidade das antocianinas e forma compostos chalcona, através dos grupos hidroxila presentes que favorecem o processo de clivagem do anel pirrol central das antocianinas, transformando a cor azul em verde/amarelo (SANTOS; ALVEZ-SILVA; MARTINS, 2022).

Dessa forma, como observado na FIGURA 3, as cores encontradas no extrato estão de acordo com as variações de coloração presente nas três formas químicas das antocianinas (FIGURA 4). Esse fenômeno permite que o extrato da *Clitoria ternatea L*. atue como um indicador colorimétrico no monitoramento do frescor de alimentos perecíveis, por causa dessa capacidade de alterar significativamente a cor em resposta às variações de pH.

A concentração de antocianinas monoméricas totais presente no extrato da *Clitoria ternatea L.* foi de 91,43 mg/100 g de amostra seca expressos em cianidina-3-glicosídeo. Similarmente, Wang *et al*. (2023) obtiveram valor de 93,90 mg/100 g de antocianinas (cianidina-3-glicosídeo) quando realizaram análise do extrato bruto da *Clitoria ternatea L*. No estudo de Nascimento *et al*. (2022), a concentração de antocianinas totais a 80 °C por 30 min foi menor (28 mg/100 g) quando executada a extração convencional, pois a quantidade de sólidos utilizados no extrato foi menor. No entanto, Mota *et al*. (2022) e Matos *et al*. (2024) realizaram a extração dos pigmentos antociânicos contidos nas flores desidratadas comercialmente por meio da utilização do etanol 70% acidificado, assim obtiveram valores superiores 143,6 mg/100 g e 392,85 mg de cianidina-3-glicosídeo /100 g, respectivamente.

Na condição de extração convencional estabelecida de 80 °C por 5 minutos e utilizando água como solvente, o resultado encontrado para concentração de compostos fenólicos totais (CFT) do extrato de *Clitoria ternatea L.* foi de 24,18 mg EAG/ g (TABELA 1). Nascimento *et al*. (2022) obtiveram valores próximos de CFT de 23,2 mg EAG/g de flor sob as mesmas condições de extração e temperatura (80 °C), porém, com tempo de extração superior de 30 minutos. Similarmente, Nascimento *et al*. (2021) quantificaram 26,4 mg EAG/g amostra de CFT em temperatura ambiente por 1h. Por outro lado, Mehmood *et al*. (2019) e Azima, Noriham e Manshoor (2017) obtiveram concentrações maiores de CFT na extração convencional de 72 mg EAG/g

amostra a 50 °C por 150 minutos e 76,9 mg EAG/g a 100 °C por 10 minutos, respectivamente. Já no estudo de Escher *et al*. (2020) encontraram valores menores de 5,94 a 6,92 mg EAG/g com extrações realizadas em diferentes temperaturas e concentrações, sendo que a máxima eficiência foi alcançada a 40 °C por 30 minutos.

Mehmood *et al*. (2019) e Azima, Noriham e Manshoor (2017) apresentaram as maiores concentrações de CFT no extrato, pois o tempo e a temperatura são inversamente proporcionais, uma vez que caso a amostra seja exposta a elevadas temperaturas de extração por longos períodos, ocorrerá o processo de degradação térmica dos compostos bioativos e, consequentemente, haverá uma diminuição na quantidade de CFT. Além disso, nesses estudos foram realizados outros processos após a extração convencional, como a centrifugação, liofilização e evaporação, assim havendo a concentração dos compostos bioativos.

Portanto, as divergências entre os valores encontrados de compostos fenólicos totais e antocianinas monoméricas totais em relação aos estudos citados anteriormente estão ligados a forma de preparo, às condições de extração empregadas, como o tempo, a temperatura e a concentração (NASCIMENTO *et al*., 2022).

3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E COLORIMÉTRICA DO FILME

Os principais aspectos visuais utilizados para caracterizar o filme controle (C), e os filmes com extrato (E) foram a continuidade, homogeneidade e manuseabilidade, como mostrado na TABELA 2.

TABELA 2 – ASPECTOS VISUAIS DOS FILMES INTELIGENTES DE *Clitoria ternatea L*.

Filmes	Continuidade	Homogeneidade	Manuseabilidade
C	Sim	Não	Sim
E1	Sim	Não	Sim
E2	Sim	Não	Sim
E3	Sim	Não	Sim

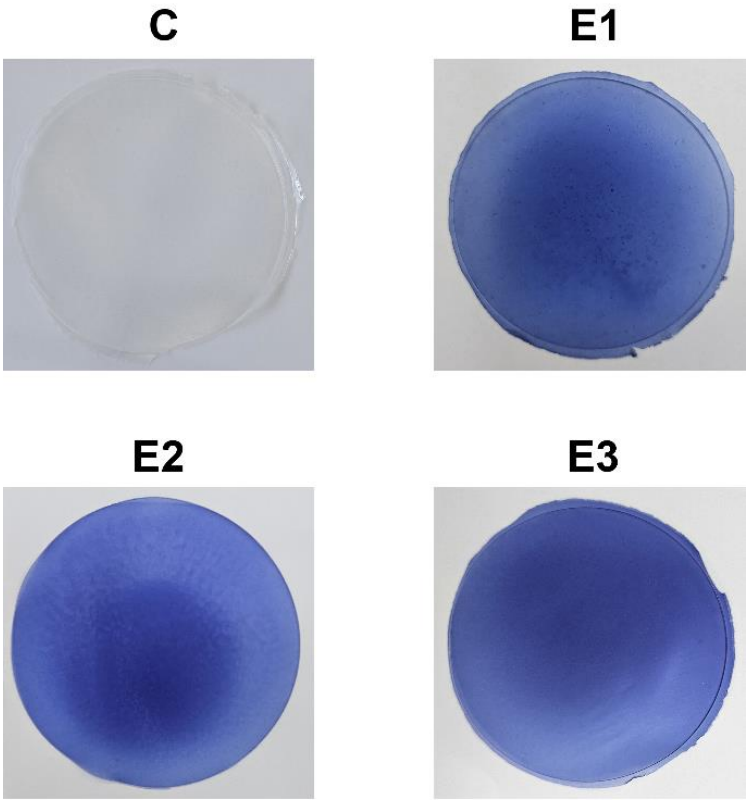
FONTE: A autora (2024)

A falta de homogeneidade dos filmes E1, E2 e E3 estão relacionados com a não uniformidade da cor desses filmes, onde algumas regiões apresentavam uma coloração mais escura que outras devido a distribuição heterogênea da solução filmogênica na placa de Petri, provocando variabilidade da medida com o paquímetro ao longo dos filmes. Além disso, em todos os filmes, de um lado o filme apresentava

maior opacidade e rugosidade, enquanto do outro era mais liso e brilhante. Esse fenômeno provavelmente está relacionado com a obtenção de uma solução heterogênea na preparação dos filmes e, consequentemente, o glicerol deposita-se no fundo da placa de Petri trazendo esse aspecto brilhoso. Ademais, esse acontecimento pode estar ligado ao fato de que o glicerol é mais denso que a água.

Entretanto, de modo geral, todos os ensaios exibiram características visuais similares, sendo que essa análise foi realizada de modo subjetivo, conforme a FIGURA 5.

FIGURA 5 - FILME CONTROLE (C) E FILMES COM EXTRATO DE *Clitoria ternatea L.* (E1, E2 E E3)



FONTE: A autora (2024).

Em relação as propriedades físicas dos filmes, pode-se observar na TABELA 3 os valores da gramatura inicial ($G_{inicial}$), gramatura final (G_{final}), densidade inicial (ρ_{inical}), densidade final (ρ_{final}), propriedade de barreira – KCl (PVA_{KCl}), propriedade de barreira – NaCl (PVA_{NaCl}), opacidade e solubilidade.

TABELA 3 – PROPRIEDADES DOS FILMES INTELIGENTES

Filme	Extrato (*Clitoria ternatea* L.)	Controle
$G_{inicial}$ (g/cm^2)	0,028 ± 0,004	0,022
G_{final} (g/cm^2)	0,026 ± 0,003	0,021
$\rho_{inicial}$ (g/cm^3)	2,949 ± 0,108	2,784
ρ_{final} (g/cm^3)	1,405 ± 0,169	1,232
PVA_{KCl} (g mm/m^2 dia kPa)	0,074 ± 0,004	0,076
PVA_{NaCl} (g mm/m^2 dia kPa)	0,061 ± 0,007	0,053
Opacidade (mm^{-1})	6,306 ± 0,492	15,263
Solubilidade (%)	34,100 ± 3,037	32,530

FONTE: A autora (2024).

Analisando os resultados, percebe-se que a gramatura inicial e final dos filmes apresentaram valores bem próximos, ou seja, não houve uma variação significativa da gramatura quando foram submetidos em um ambiente com uma menor umidade. Porém, nota-se que o filme controle apresentou uma menor gramatura tanto inicial como final ao comparar com os filmes com extratos, pois como esse filme é composto majoritariamente por água destilada, no processo de secagem ocorre uma maior evaporação da água e, consequentemente, o filme seco possui uma menor massa que os filmes com extratos.

Com relação a densidade, após os filmes permanecerem por três semanas no dessecador, foi possível observar uma diminuição no valor da densidade devido ao processo de hidratação que pode ter ocorrido dentro do dessecador devido a umidade relativa (UR), uma vez que não foi colocado a sílica gel que apresenta a função de absorver a umidade. A densidade final dos filmes contendo extrato de *Clitoria ternatea L*. e do filme controle diminui aproximadamente 52,5% e 55,8%, respectivamente, em comparação com os valores iniciais.

O filme controle apresentou o maior valor de opacidade, correspondente a 15,26 mm^{-1}, resultando em uma menor transmissão de luz pelo filme. Essa opacidade do filme está relacionada principalmente com as moléculas de amido, pois durante o processo de gelatinização do amido ocorre uma mudança na coloração do filme devido ao rompimento das ligações de pontes de hidrogênio e da cristalinidade dos grânulos de amido, formando-se um gel com certa opacidade (ALMEIDA *et al*., 2013). Já os filmes contendo extrato em sua composição possuem um menor valor de opacidade, correspondente a 6,306 mm^{-1}, devido ao efeito do extrato de *Clitoria ternatea L*. sobre as forças de coesão das moléculas de amido que pode interferir na quebra das pontes de hidrogênio, observando-se filmes mais transparentes devido a maior transmissão de luz pelo filme. Portanto, pode-se concluir que valores baixos de

opacidade indicam filmes transparentes, enquanto valores altos indicam filmes opacos.

Porém, de acordo com a análise de opacidade realizada por Narayanan *et al*. (2023), pode-se observar que a adição do extrato de *Clitoria ternatea L*. resultou no aumento do valor da opacidade, assim o filme controle apresenta um menor valor de opacidade de 0,533 mm^{-1}, já o valor da opacidade do filme com extrato é maior, sendo correspondente a 2,784 mm^{-1}. Assim, o comportamento dos valores de opacidade encontrado neste estudo diverge dos valores observados por Narayanan *et al*. (2023). Essa diferença pode estar relacionada com a composição dos filmes, já que eles utilizaram gelatina e pectina, enquanto neste estudo foram utilizados amido e glicerol.

Porém, Rosas *et al*. (2023) obteve 1,666 mm^{-1} de opacidade para filme composto de amido e glicerol. Enquanto, Engel (2019) observou 0,4 mm^{-1} de opacidade para filmes com amido de mandioca e glicerol. Dessa forma, estes estudos também apresentaram baixos valores de opacidade para os filmes controle, diferente do resultado obtido neste estudo.

De modo geral, as embalagens de alimentos atuam como uma barreira ao vapor de água, tornando importante a avaliação do comportamento do filme inteligente. Segundo Cruz (2014), os filmes podem ser classificados em barreira fraca para permeabilidade de vapor de água quando os valores de propriedade de barreira (PVA) estão entre 9,6 e 100,8 g mm/m^2 dia kPa, barreira moderada para valores de PVA entre 0,096 e 9,6 g mm/m^2 dia kPa e boa barreira quando os valores de PVA estão entre 0,0096 e 0,096 g mm/m^2 dia kPa. Analisando os resultados, percebe-se que os valores de PVA estão entre 0,05 e 0,08 mm/m^2 dia kPa, assim caracterizaram os filmes como boa barreira. Resultado bastante satisfatório, visto que a transferência de vapor de água através do filme pode impactar diretamente na qualidade do alimento (PEREIRA, 2017).

A permeabilidade ao vapor de água e solubilidade estão relacionados com a presença do glicerol na composição do filme, visto que o glicerol possui caráter hidrofílico favorecendo a permeação da água no filme (MATTA JUNIOR *et al*., 2011). Dessa forma, como o filme controle e filme com extrato apresentam a mesma quantidade de glicerol nas suas composições, era esperado que os valores encontrados para PVA_{KCl} (0,074 e 0,076 g mm/m^2 dia kPa) e PVA_{NaCl} (0,061 e 0,053 g mm/m^2 dia kPa), e solubilidade (34,100% e 32,530%) fossem semelhantes (TABELA 3).

Esse pequeno aumento no valor da solubilidade dos filmes com extrato (34,100 %) pode estar relacionado com a interação entre o amido e as antocianinas presentes no extrato de *Clitoria ternatea L*. que causam um aumento nas zonas hidrofílicas disponíveis para absorção de água (GOMES, 2023). Narayanan *et al*. (2023) encontraram valores próximos para o filme contendo extrato de *Clitoria ternatea L.* (37,583%), porém, obtiveram valores menores para o filme sem extrato (21,376%). Esses resultados podem indicar que a adição do extrato proporciona o aumento da solubilidade devido a presença das antocianinas.

Pensando na aplicação do filme inteligente como indicador colorimétrico que não está em contato direto com a carne bovina, como um filme plástico, o alimento não é liquido e/ou não apresenta condensação da água, o valor obtido de 34,10% é satisfatório. Porém, caso estivesse em contato com o alimento e/ou apresenta-se condensação da água, a alta solubilidade do filme não exibiria bons resultados, devido a dissolução do filme em contato com a água e, consequentemente, afetaria sua propriedade de barreira, mecânica e coloração (COSTA, 2017).

Os parâmetros de cor (L, a, b e ∆E) do filme controle (C) e os filmes com extrato de *Clitoria ternatea L*. (E1, E2 e E3) são apresentados na Tabela 4.

TABELA 4 - PARÂMETROS DE COR DOS FILMES

Filme	L	A	b	∆E
C	90,7 ± 2,02^{a}	2,09 ± 0,03^{c}	-3,56 ± 0,04^{b}	1,96 ± 1,96^{c}
E1	50,68 ± 3,07^{b}	15,52 ± 0,57^{b}	-33,14 ± 2,08^{a}	52,15 ± 4,07^{b}
E2	43,06 ± 2,02^{c}	20,65 ± 2,11^{a}	-33,69 ± 1,11^{a}	60,03 ± 1,84^{a}
E3	45,73 ± 1,55^{bc}	19,34 ± 2,78^{a}	-35,66 ± 0,97^{a}	58,51 ± 0,34^{ab}

FONTE: A autora (2024).

Após a secagem, o filme controle (C) tornou-se fino, brilhoso e opaco. Dessa forma, era esperado que o valor de L fosse elevado, uma vez que esse parâmetro mede a quantidade de luz refletida, ou seja, está diretamente ligado ao brilho do filme. Entretanto, o filme era bastante opaco, conforme já apresentado, e, consequentemente, obteve valores significativamente baixos para os parâmetros a, b e ∆E, os quais estão relacionados a cor.

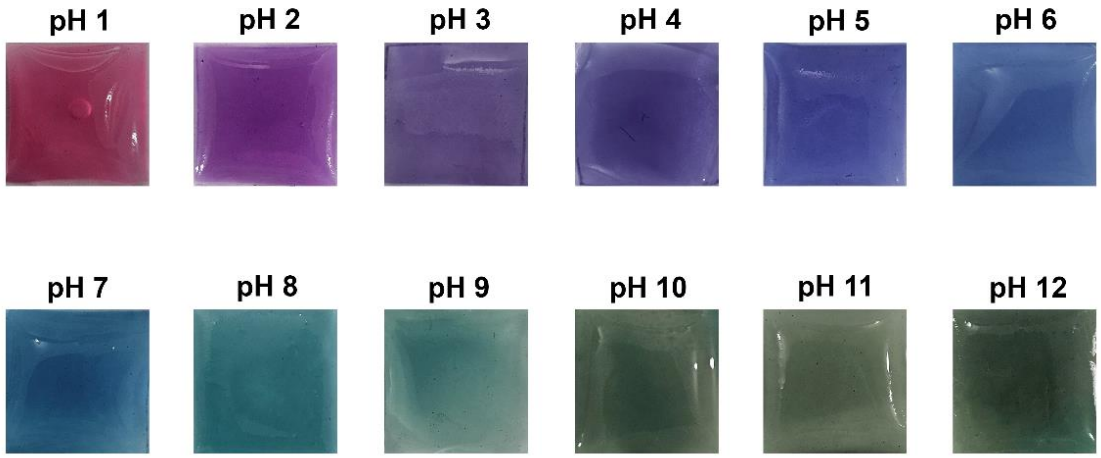
A incorporação do extrato de *Clitoria ternatea L.* nos filmes E1, E2 e E3 provocou uma alteração na coloração, tornando-se azul escuro. Essa mudança resultou na diminuição significativa dos valores de L e b, como observado na Tabela 4, visto que cores escuras refletem uma menor quantidade de luz e o parâmetro b negativo indica a tonalidade azul. Por outro lado, os valores de a e ∆E aumentaram

significativamente, indicando a presença de tonalidade avermelhadas e grandes alterações cromáticas nos parâmetros a e b, devido a coloração escura do filme. Comportamentos similares dos parâmetros de cor (L, a, b e ΔE) dos filmes foram observados em alguns estudos (WANG *et al*., 2023; Narayanan *et al*., 2023; SANTOS; ALVES-SILVA; MARTINS, 2022; YAN *et al*., 2021).

De acordo com Moragi *et al*. (2019), as alterações de cor na amostra podem ser visualmente perceptíveis quando ΔE é maior que 5. Esse parâmetro foi identificado na Tabela 4, onde a diferença total de cor (ΔE) para o filme C, caracterizado pela ausência de cor, foi de 1,27, sendo inferior a 5. Já para os filmes E1, E2 e E3, contendo extrato de *Clitoria ternatea L*. em sua composição e, consequentemente, apresentando a coloração azul, os valores obtidos para ΔE foram maiores que 5, ou seja, a mudança de cor desses filmes é visível a olho nu. Isto confirmou que os filmes E1, E2 e E3 poderiam ser usados como indicadores colorimétricos para identificar o frescor dos alimentos.

Os filmes contendo extrato de *Clitoria ternatea L*. foram submetidos a diferentes tampões com pH variando de 1 a 12 e as alterações de cor são observadas na FIGURA 6.

FIGURA 6 - COLORAÇÃO DOS FILMES COM EXTRATO DE *Clitoria ternatea L*. COM pH VARIANDO DE 1 A 12.



FONTE: A autora (2024).

As mudanças de cor dos filmes, variando de rosa para pH ácido ao verde em pH básico, seguem os mesmos padrões de cores obtidos do extrato de *Clitoria ternatea L*. (FIGURA 3). Narayanan *et al*. (2023), Santos, Alvez-Silva e Martins (2022),

Qi *et al*. (2022) e Wu *et al*. (2021) evidenciaram as mesmas alterações de cor nos filmes com extrato de *Clitoria ternatea L*.

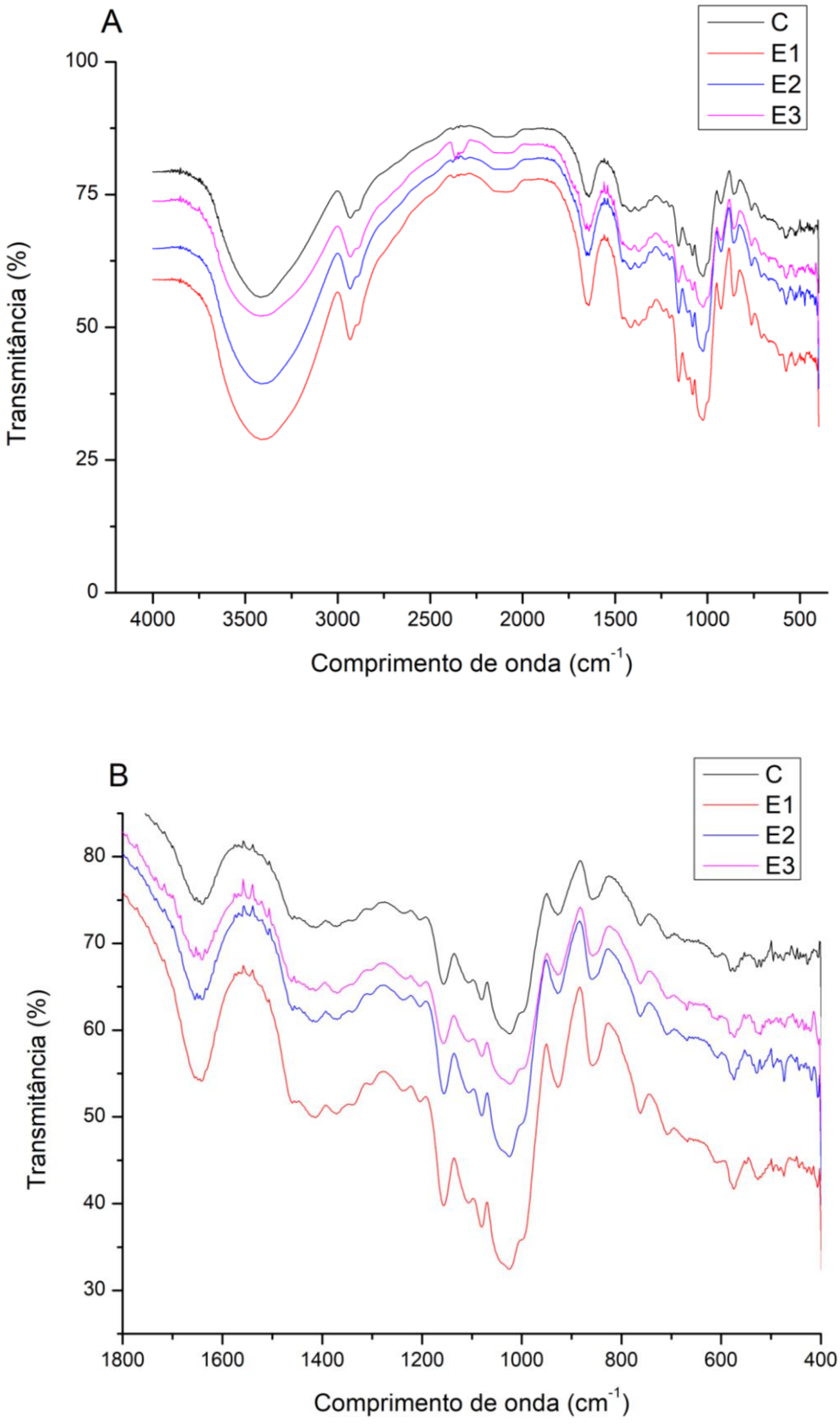
Essas alterações de cores nos filmes podem ser explicadas novamente pelas estruturas químicas das antocianinas. A cor púrpura presente nos filmes em soluções ácidas (pH < 3) é causado pela mistura de pigmentos azuis e vermelhos gerados pelo cátion flavilium. Com o pH variando de 3 a 7, os filmes apresentaram coloração roxa/azul devido a formação da forma hemicetal (base quinoidal anidra), e, quando os filmes estão em meio básicos (pH > 7) ocorre a formação de compostos chalcona verde-amarelados (SANTOS; ALVEZ-SILVA; MARTINS, 2022)

A sensibilidade desse filme às alterações de pH e abrangência de cor indica que é um bom indicador colorimétrico e pode ser usado para detectar a deterioração de alimentos embalados, uma vez que ocorre a mudança no pH do alimento devido a atividade microbiana.

3.3 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA E ESTRUTURAL DO FILME

A análise de infravermelho médio foi realizada para analisar as interações moleculares e os grupos funcionais presente nos filmes (C, E1, E2 e E3), como pode ser observado na FIGURA 7.

FIGURA 7 - ESPECTROS NO INFRAVERMELHO MÉDIO DOS FILMES



Nota: (A) Comprimento de onda entre 4000 a 400 cm^{-1} e (B) Comprimento de onda entre 1800 a 400 cm^{-1}

FONTE: A autora (2024).

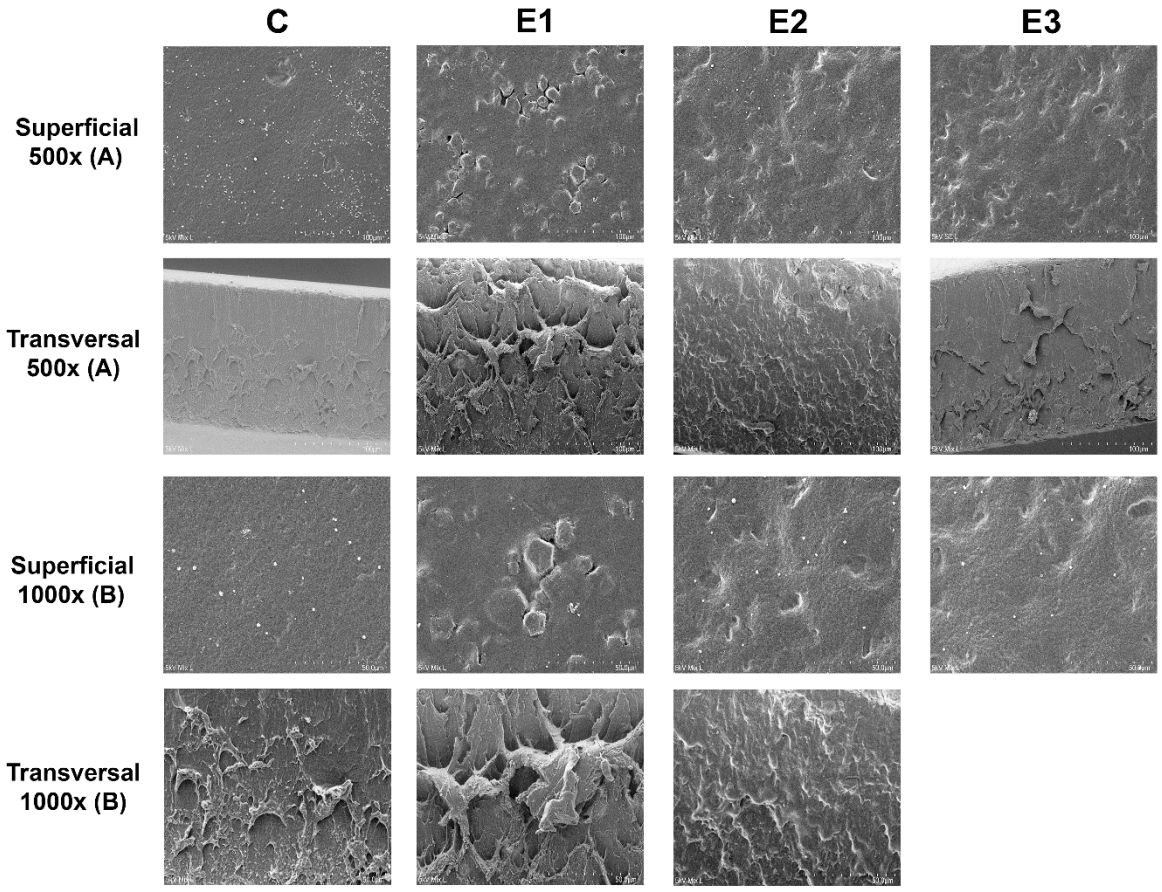
Segundo a literatura a ocorrência de vibrações na faixa de comprimento de onda de 3750 a 3000 cm^{-1} são atribuídas a grupos funcionais O-H, os quais podem estar relacionados ou a presença de água ou de amido (SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2005; WU *et al*., 2021; SINGH *et al*., 2021; AZAHAR *et al*., 2024). Ao observar a FIGURA 7(A) nota-se a presença do pico entre 3600 e 3250 cm^{-1}, referente ao grupamento O-H proveniente do amido presente nas formulações dos filmes, assim como Singh et al. (2021), que obtiveram na mesma faixa de comprimento de onda a presença de amido em filmes com *Clitoria ternatea L*.

Já os picos entre 1750 e 1600 cm^{-1} e 1200 a 1000 cm^{-1} podem estar associados as vibrações de estiramento das ligações C=O, C=C e C-H, relacionadas a presença de grupamentos com aneis aromáticos e ligações glicosídicas de amido (WU *et al*., 2021; JIANG *et al*., 2023; AZAHAR *et al*., 2024). Além disso, de acordo com Singh *et al*. (2021), a presença de picos nas bandas de 1100 a 1000 cm^{-1} correspondem a cianidina e que o pico em 1650 cm^{-1} é oriundo de anel aromático característico de antocianinas e/ou grupamento fenol em extrato de *Clitoria ternatea L*. Desta forma, sugere-se que os picos contidos no espectro da FIGURA 7(A) nas faixas espectrais citadas podem estar associados a presença das antocianinas nos filmes.

Os espectros da espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) podem apresentar uma região de impressão digital conhecida como "*fingerprint region*" que geralmente se encontra entre 900 e 1300 cm^{-1} e onde há uma parte crucial do espectro para a identificação de substâncias químicas. Desta forma, pode-se observar na FIGURA 7(B) que alguns picos entre 1000 e 900 cm^{-1} se destacaram e são característicos de ligações de ácidos carboxílicos e aminas primárias e secundárias conforme Lakshmia *et al*. (2015).

As imagens superficiais (S) e transversais (T) dos filmes (C, E1, E2 e E3) obtidas por microscopia eletrônica de varredura são apresentadas na FIGURA 8.

FIGURA 8 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DOS FILMES COM RESOLUÇÃO DE 500X E 1000X



Nota: (A) Superficial e Transversal com resolução de 500x e (B) Superficial e Transversal com resolução de 1000x.

FONTE: A autora (2024).

As imagens evidenciaram que o filme controle (C) apresentou uma superfície lisa, densa e contínua, porém com algumas partículas provavelmente do amido que não foi completamente solubilizado. No entanto, a presença do extrato de *Clitoria ternatea L*. resultou na formação de algumas cavidades na superfície dos filmes (E1, E2 e E3). Diversos fatores podem ter interferido para obter esse resultado, como o polímero (amido) e o plastificante (glicerol) utilizado para produzir os filmes, a fonte e a quantidade de extrato e os métodos utilizados para desenvolver os filmes (NARAYANAN *et al*., 2023). Contudo, de modo geral, o principal fator relacionado com a alteração da rugosidade do filme é a ação das antocianinas presentes na *Clitoria ternatea L*. que pode quebrar as ligações entre as moléculas de amido e aumentar a sua fragilidade (KOSHY *et al*., 2021).

O corte transversal (T) mostrou que os filmes possuem uma estrutura com diversas fissuras ao longo do material. Contudo, pode-se observar que em um

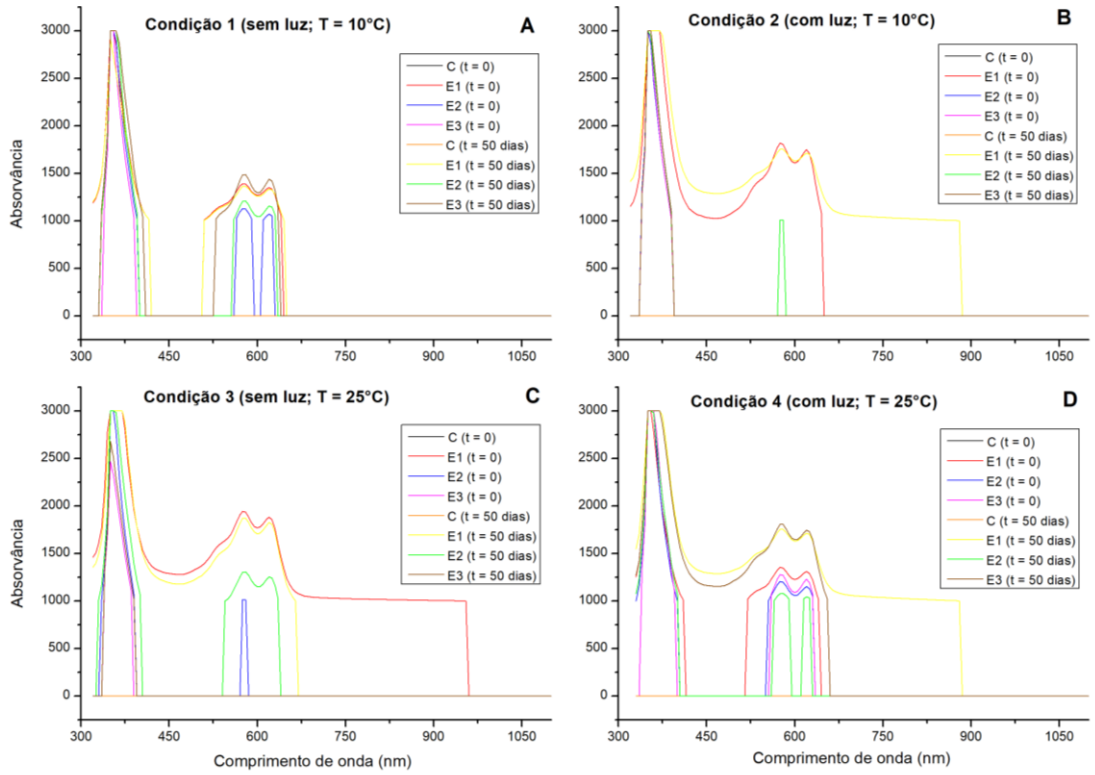
hemisfério há mais fissura do que no outro, assim estando de acordo com o que já foi mencionado anteriormente, onde de um lado o filme é mais liso e brilhante, enquanto no outro é mais opaco e rugoso, indicando má dispersão e homogeneização do glicerol. A imagem transversal ausente do filme E3 na resolução de 1000x é devido à não realização dessa análise para essa condição.

Alguns estudos observaram comportamentos semelhantes nos filmes tanto na superfície quanto no corte transversal, em relação a superfície irregular com múltiplas flutuações presentes nos filmes com *Clitoria ternatea L*. (NARAYANAN *et al*., 2023; KOSHY *et al*., 2021). Além disso, nos estudos de Wang *et al*. (2023) e Santos, Alves-Silva e Martins (2022), pode-se observar que conforme houve o aumento da porcentagem de extrato de *Clitoria ternatea L*., a homogeneidade da superfície foi interrompida e ocorreu o aumento de fissuras, respectivamente. Assim, os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com a literatura.

3.4 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DAS ANTOCIANINAS

A estabilidade dos filmes (C, E1, E2 e E3) em função da presença das antocianinas totais foi avaliada em diferentes condições, sem e com exposição à luz, temperatura (10 °C e 25 ºC) e no tempo zero e após 50 dias, conforme FIGURA 9.

FIGURA 9 - ESPECTROS DE VARREDURA DOS FILMES SOB DIFERENTES CONDIÇÕES



Nota: (A) Condição 1: sem luz e T = 10°C; (B) Condição 2: com luz e T = 10°C; (C) Condição 3: sem luz e T = 25°C; (D) Condição 4: com luz e T = 25°C.
FONTE: A autora (2024).

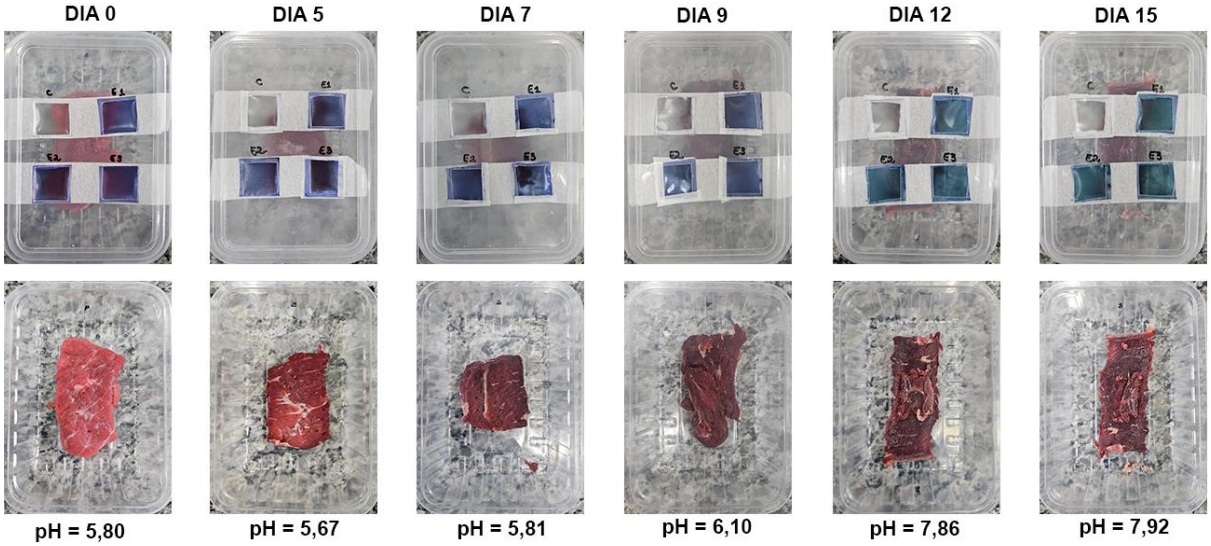
Na FIGURA 9A, os resultados da absorvância não indicaram mudanças significativas e todos os filmes (C, E1, E2 e E3) apresentam o mesmo perfil. Entretanto, a FIGURA 9B, a FIGURA 9C e a FIGURA 9D apresentaram algumas alterações após 50 dias, nas quais, de modo geral, os filmes demonstraram maiores valores de absorvância, sugerindo, de acordo com Constant (2003), uma redução nos teores de antocianinas. Na FIGURA 9B, houve um aumento na absorvância dos filmes E1 e E2 após 50 dias, indicando uma diminuição das antocianinas, com comprimento de onda entre 525 e 900 nm. Por outro lado, na FIGURA 9C entre 525 e 900 nm, a absorvância do filme E1 após 50 dias diminui, maior quantidade de antocianinas, e do filme E2 após 50 dias aumentou, menor teor de antocianinas. Por fim, na FIGURA 9D, observou-se um aumento da absorvância dos filmes E1 e E3 após 50 dias, indicando uma redução nos níveis de antocianinas.

Portanto, conclui-se que a melhor condição para o armazenamento dos filmes é a condição 1 (sem exposição à luz a 10 °C), visto que as outras condições mostraram sofrer algumas alterações nos teores de antocianinas, podendo prejudicar a alteração de cor dos filmes. Obteve-se esse resultado devido a fotodegradação das antocianinas, uma vez que esse composto é formado por flavilium ligado a açúcar, ácidos orgânicos e grupos hidroxilas e, portanto, podem ser facilmente degradados pela temperatura, pH, solventes, exposições a radiações UV e estrutura da pigmentação (SINGH *et al*., 2021). Assim, foi com base na condição 1 que foram estipulados os parâmetros para a aplicação dos filmes em carne bovina.

No entanto, a coloração azulada dos filmes permaneceu inalterada após 50 dias, indicando que a fotodegradação das antocianinas está relacionada com sua aplicação como indicador colorimétrico. Durante esse período, apenas houve modificação na manuseabilidade dos filmes, tornando-se mais secos e quebradiços, principalmente aqueles armazenados à temperatura ambiente (25 °C).

Para avaliar a aplicação do filme inteligente para indicar o frescor de carne bovina, este estudo adotou pH para analisar as mudanças de cor do filme. Na FIGURA 10, pode-se observar as alterações de cor visíveis dos filmes E1, E2 e E3, variando de azul para azul esverdeado.

FIGURA 10 - MUDANÇA DE COLORAÇÃO DOS FILMES COM EXTRATO DE *Clitoria ternatea L*. NA APLICAÇÃO DE RECIPIENTES COM CARNE



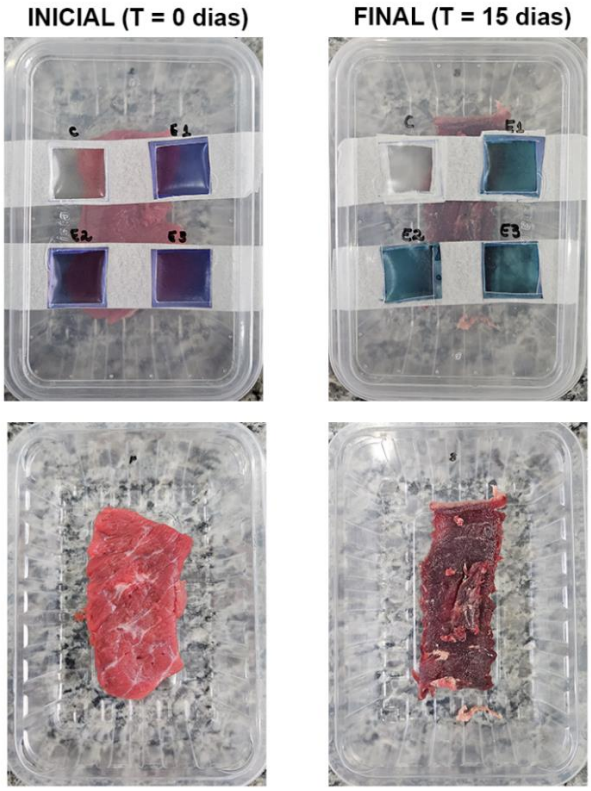
FONTE: A autora (2024).

Durante o armazenamento, os alimentos ricos em proteínas podem sofrer ações microbianas que causam a deterioração do produto e promove a formação de

compostos aminas orgânicas voláteis (-NH3) que alteram o valor de pH para alcalino (>7). A presença de gases voláteis contendo nitrogênio provoca a mudança de pH no ambiente circundante, podendo ser absorvidas pelo filme e, consequentemente, ocorre a alteração na estrutura das antocianinas e na cor do filme (WANG *et al*., 2023; SANTOS; ALVES-SILVA; MARTINS, 2022; YAN *et al*., 2021).

Nos primeiros 7 dias, o valor de pH da carne bovina manteve-se em aproximadamente 5,81, porém iniciou o processo de escurecimento e perda da suculência do alimento. Apenas após 9 dias, houve alterações nos valores de pH (6,10) mas sem mudança de coloração dos filmes. No 12° dia foi quando os filmes com extrato de *Clitoria ternatea L*. (E1, E2 e E3) apresentaram alteração de cor do azul (inicial) para azul esverdeado, cheiro e aparência característica de carne estragada e houve um aumento no valor do pH (7,86), assim indicando que a carne estava imprópria para consumo. O valor de pH foi basicamente mantido após 15 dias, 7,92. Porém, após 15 dias, a coloração azul esverdeada dos filmes (E1, E2 e E3) ficou mais intensa, obtendo uma diferença significativa da coloração inicial dos filmes (FIGURA 11).

FIGURA 11 - DIFERENÇA DA COLORAÇÃO INICIAL E FINAL DOS FILMES COM EXTRATO DE *Clitoria ternatea L*.



FONTE: A autora (2024).

Segundo a literatura, a carne é considerada boa para consumo quando o pH varia entre 5,8 a 6,2 e a deterioração desse produto ocorre quando aumenta o valor de pH de 5,8 para 7,8 (WU *et al*., 2021; BONACINA; BIANCINI; ROSA, 2019; LUPKI, 2018). Assim, os valores de pH obtidos nesse estudo estão de acordo com a literatura.

Com relação aos filmes, a alteração de cor durante o armazenamento não ocorreu no filme controle (C), mantendo-se transparente. Assim, os filmes incorporados com o extrato de *Clitoria ternatea L*. apresentam potencial para serem utilizados como indicadores colorimétricos nas embalagens de alimentos com objetivo de monitorar o frescor dos produtos cárneos como carne bovina.

4 CONCLUSÃO

Os componentes básicos do filme, amido e glicerol, proporcionaram uma boa propriedade de barreira. A incorporação da *Clitoria ternatea L.* contribuiu para aumentar solubilidade e reduzir a opacidade. Além disso, os filmes secos com extrato exibiram baixa degradação a 10 °C sem exposição a luz, bons resultados para análise colorimétrica e indicaram compostos fenólicos em sua composição. Dessa forma, era esperado que os filmes ricos em antocianinas apresentassem excelentes respostas a vários tampões de pH com pH variando de 1 a 12, exibindo a coloração rosa para pH 1 e verde para pH 12. Portanto, as aplicações bem-sucedidas dos filmes como indicador colorimétrico para monitorar o frescor de carne bovina sugerem que os filmes têm potencial para serem utilizados nas embalagens inteligentes. Diante dos resultados, pode-se concluir que foi possível desenvolver um filme inteligente com extrato de *Clitoria ternatea L*. que pode ser empregado como indicador colorimétrico.

REFERÊNCIAS

ABEDI-FIROOZJAH, R. *et al*. Application of Red Cabbage Anthocyanins as pH-Sensitive Pigments in Smart Food Packaging and Sensors. **Polymers**, v. 14, n. 1629, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/polym14081629. Acesso em: 07 abr. 2024.

ALMEIDA, D. M. *et al*. Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polímeros**, v. 23, n. 4, p. 538-546, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.4322/polimeros.2013.038. Acesso em: 08 mai. 2023.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official method of analysis**. 18 ed. Washington, DC, USA, 2005.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. - “E 96-95: Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Material”, in: Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, ASTM (1995).

AZAHAR, S. S. *et al*. Extraction of flavonoids from Butterfly blue pea (*Clitoria ternatea*) flower as carbon steel corrosion inhibitor in CO_2 environment: Experimental and theoretical approaches. **Journal of Molecular Liquids**, v. 396, ISSN 124056, fev. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.124056. Acesso em: 16 mai. 2024.

AZIMA, A. M. S.; NORIHAM A.; MANSHOOR N. Phenolics, antioxidants and color properties of aqueous pigmented plant extracts: *Ardisia colorata var*. elliptica, *Clitoria ternatea*, *Garcinia mangostana* and *Syzygium cumini*. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 232-241, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.018. Acesso em: 02 abr. 2024.

BOMFIM, K. A. do. **Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis a partir do amido do arroz vermelho.** Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2019. Disponível em: *KATIANE ARAÚJO DO BOMFIM - TCC - ENGENHARIA DE ALIMENTOS 2019.pdf (ufcg.edu.br). Acesso em: 01 mar. 2024.

BONACINA, M. S.; BIANCINI, M. B.; ROSA, L. S. da. Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos da carne moída de frango comercializada no município de Erechim, Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 10, n. 2, p. 50-65, abr./jun. 2019. Disponível em: https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa/article/download/9084/pdf. Acesso em: 12 mai. 2024.

CAO, Y. *et al*. Effects of chitosan, aqueous extract of ginger, onion and garlic on quality and shelf life of stewed-pork during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 1655-1660, dez. 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.084. Acesso em: 22 abr. 2024.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleraea*, M.)**. Tese (Doctor Scientiae) – Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Viçosa, 2003. Disponível em: Capa.PDF (ufv.br). Acesso 14 mai. 2024.

CONSTANTINO, P. dos S. *et al*. Avaliação da biodegradabilidade de filmes à base de amidos de fontes de matérias-primas não tradicionais. **Meio Ambiente (Brasil)**, v. 5, n. 4, 2023. Disponível em: AVALIAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE FILMES À BASE DE AMIDOS DE FONTES DE MATÉRIAS-PRIMAS NÃO TRADICIONAIS | Constantino | Meio Ambiente (Brasil) (meioambientebrasil.com.br). Acesso em: 16 jan. 2024.

COSTA, L. A. da. **Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis à base de amido de semente de jaca incorporados com antocianinas**. Monografia (Bacharelado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017. Disponível em: http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/29767. Acesso em: 08 mai. 2024.

CRUZ, M. R. **Filmes de gelatina e galactomanana incorporados com nanocelulose de fibra de algaroba (prosopis juliflora)**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Fortaleza, 2014. Disponível em: DissertacaoMabel (ufc.br). Acesso em: 20 abr. 2024.

ENGEL, K. M. **Desenvolvimento de filmes de amido incorporados com película de amendoim preparados por casting e termocompressão**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019. Disponível em: http://hdl.handle.net/10183/234060. Acesso em: 24 mai. 2024.

ESCHER, G. B. **Flores de *Centaurea cyanus L.* e *Clitoria ternatea L.*: Caracterização química, estabilidade das antocianinas e propriedades funcionais in vitro**. 2019. 216 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ponto Grossa, 2019. Disponível em: https://tede2.uepg.br/jspui/bitstream/prefix/3575/1/Graziela%20Bragueto%20Escher.pdf. Acesso em: 01 abr. 2023.

ESCHER, G. B. *et al*. *Clitoria ternatea L*. petal bioactive compounds display antioxidant, antihemolytic and antihypertensive effects, inhibit α-amylase and α-glucosidase activities and reduce human LDL cholesterol and DNA induced oxidation. **Food Research International**, v. 128, n. 108763, fev. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108763. Acesso em: 03 abr. 2024.

FUZETTI, C. G. **Secagem por spray drying do corante natural azul de flores comestíveis da ervilha borboleta (*Clitoria ternatea L.*) com diferentes agentes carreadores.** 2020. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências

Exatas, São José do Rio Preto, 2020. Disponível em: content (unesp.br). Acesso em: 01 abr. 2024.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current Protocols in Food Analyical Chemistry**, n. 1, p. F1.2.1-F1. 2.13, ago. 2001. Disponível em: https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00. Acesso em: 13 jan. 2024.

GOMES, C. P. **Aplicação de extratos vegetais em filmes poliméricos para sistema de empacotamento inteligente.** Dissertação (Mestrado em Processos Químicos e Biotecnológicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos, Toledo, 2023. Disponível em: http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/31182. Acesso em: 08 mai. 2024.

GRZEBIENIARZ, W. *et al*. 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, n. 135612, jul. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135612. Acesso em: 17 jan. 2024.

HASANAH, N. N. *et al*. A Systematic Review of Butterfly Pea Flower (*Clitoria ternatea L*.): Extraction and Application as a Food Freshness pH-Indicator for Polymer-Based Intelligent Packaging. **Polymers**, v. 15, e. 11, maio 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/polym15112541. Acesso em: 07 abr. 2024.

HORN, M. M. **Blendas e filmes de quitosana/amido de milho: estudo da influência da adição de polióis, oxidação do amido e razão amilose/amilopectina nas suas propriedades**. 2012. 147 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012. Disponível em: Microsoft Word - Marilia Marta Horn - Revisada (usp.br). Acesso em: 16 jan. 2024.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. IV edição, 2008. Disponível em: analisedealimentosial_2008.pdf. Acesso em: 10 mai. 2024.

JIANG, H. *et al*. Development of biodegradable active films based on longan seed starch incorporated with banana flower bract anthocyanin extracts and applications in food freshness indication. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 251, ISSN 126372, nov. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126372. Acesso em: 29 mai. 2024.

KOESTER, D. L. *et al*. Materiais biodegradáveis para embalagens de alimentos. **REGIONEM**, v. 1, n. 1, jan./jun. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.36661/2965-3320.2023v1n1.13103. Acesso em: 15 jan. 2024.

KOSHY, R. R. *et al*. pH indicator films fabricated from soy protein isolate modified with chitin nanowhisker and *Clitoria ternatea* flower extract. **Current Research in Food Science**, v. 5, p. 743-751, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.03.015. Acesso em: 17 jan. 2024.

KOSHY, R. R. *et al*. Preparation of pH sensitive film based on starch/carbon nano dots incorporating anthocyanin for monitoring spoilage of pork. **Food Control**, v. 126, ago. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108039. Acesso em: 11 mai. 2024.

LAKSHMIA, C. N. D. M. *et al.* Phytochemical Screening And Ftir Analysis Of Clitoria Ternatea Leaves. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, v. 6, n. 2, ISSN 2229-5518, fev. 2015. Disponível em: Phytochemical Screening And Ftir Analysis Of Clitoria Ternatea Leaves (ijser.org). Acesso em: 29 mai. 2024.

LEANDRO, G. C. *et al*. Absorption-desorption of anthocyanins from jambolan (Syzygium cumini) fruit in laponite platelets: kinetic models, physicochemical characterization, and functional properties of biohybrids. **Food Research International**, v. 140, fev. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109903. Acesso em: 01 mar. 2024.

LUCHESI, B. R. **Desenvolvimento de sensores colorimétricos baseados em compostos amido/cera de abelha e antocianinas por casting contínuo para embalagens inteligentes**. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, São Carlos, 2023. Disponível em: https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/19411. Acesso em: 01 mar. 2024.

LUPKI, F. B. **Reestruturado cárneo bovino elaborado com farinha de banana verde.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018. Disponível em: http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/handle/1/2207. Acesso em: 14 mai. 2024.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, jan./mar. 2010. Disponível em: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744095013. Acesso em: 01 mar. 2024.

MATOS, G. B. *et al*. Corante natural azul da flor comestível clitoria (*Clitoria ternatea*): extração, caracterização e estabilidade. **Revista Observatorio de La Economia Latinoamericana**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 01-20, 2024. Disponível em: 10.55905/oelv22n2-202. Acesso em: 03 abr. 2024.

MATTA JUNIOR, M. D. da. **Caracterização de biofilmes obtidos a partir de amido de ervilha (*Pisum sativum*) associado à goma xantana e glicerol**. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009. Disponível em: Dissertação Manoel (usp.br). Acesso em: 16 jan. 2024.

MATTA JUNIOR, M. D. da *et al*. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicero. **Polímeros**, v. 21, n. 1, p. 67-72, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0104-14282011005000011. Acesso em: 20 abr. 2024.

MEHMOOD, A. *et al*. Impact of ultrasound and conventional extraction techniques on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria*

ternatea L.). **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 51, p. 12-19, mar. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.10.013. Acesso em: 02 abr. 2024.

MORAGI, M. et al. A novel pH-sensing indicator based on bacterial cellulose nanofibers and black carrot anthocyanins for monitoring fish freshness. **Carbohydrate Polymers**, v. 222, out. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115030. Acesso em: 08 mai. 2024.

MOTA, F. G. *et al*. Extração e quantificação de antocianinas de flores *Clitoria ternatea* desidratadas. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, 2022. Disponível em: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i9.32293. Acesso em: 03 abr. 2024.

MULLER, C. M. O. *et al*. Evolution of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier proprieties of cassava starch films thought a solubility approach. ***Carbohydrate Polymers***, v. 72, n. 1, p. 82-87, abr. 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.07.026. Acesso em: 13 jan. 2024.

NARAYANAN, G. P. *et al*. Fabrication of butterfly pea flower anthocyanin-incorporated colorimetric indicator film based on gelatin/pectin for monitoring fish freshness. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 4, n. 100159, dez. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2023.100159. Acesso em: 17 jan. 2024.

NASCIMENTO, J. V. *et al*. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de extratos de flor de Clitoria ternatea L. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. 1-7, 2021. Disponível em: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19450. Acesso em: 10 mar. 2023.

NASCIMENTO, J. V. *et al*. Extração de compostos bioativos de flor de Clitoria ternatea L. por tratamento ôhmico e convencional. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 6, cap. 12, p. 177-188, abr. 2022. Disponível em: https://downloads.editoracientifica.com.br/articles/220207752.pdf. Acesso em: 10 mar. 2023.

OLIVATO, J. B.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeito de embalagem biodegradável de amido no armazenamento de queijo processado. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 81-88, 2006. Disponível em: Vista do Efeito de embalagem biodegradável de amido no armazenamento de queijo processado (uel.br). Acesso em: 15 jan. 2024.

PEREIRA, L. T.; RIBEIRO, L. F. Desenvolvimento de filmes bioativos de *Clitoria ternatea L*. *In*: Semana Integrada de Ensino, Pesquisa e Extensão – 14ª SIEPE, 2023, Curitiba. **ANAIS 14ª SIEPE**. Curitiba: UFPR, 2023. p. 1540. Disponível em: anais-siepe-2023-volume-1.pdf (ufpr.br). Acesso em: 24 mai. 2024.

PEREIRA, P. F. de M. **Desenvolvimento de filmes à base de biopolímeros para aplicação como embalagens inteligentes**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: 4Dissertação_Pamela-F.-M.-Pereira.pdf (ufrj.br). Acesso em: 16 jan. 2024.

QI, D. *et al*. Colorimetric films incorporated with nisin and anthocyanins of pomegranate/*Clitoria ternatea* for shrimp freshness monitoring and retaining. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 33, n. 100898, set. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100898. Acesso em: 17 jan. 2024.

ROCHA, M. da *et al*. Avaliação de filmes biodegradáveis elaborados à base de isolado proteico do músculo de castanha (*Umbrina canosai*). **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, Florianópolis, 2014. Disponível em: *0083-27137-178040.pdf (blucher.com.br). Acesso em: 09 mai. 2024.

ROSAS, L. S. *et al*. Filmes de amido de mandioca reforçados com nanocelulose e adição de óleo de buriti (Mauritia Flexuosa L.). **Revista ION**, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.18273/revion.v36n3-2023005. Acesso em: 24 mai. 2024.

SANTANA, B. R. Extração e encapsulação de compostos bioativos de *Clitoria ternatea L*. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Jandaia do Sul, 2022.

SANTOS, C. D. M. et al. Biobased polymer films from avocado oil extraction residue: Production and characterization. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 37, p. 43957 (1-9), 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1002/app.43957. Acesso em: 13 jan. 2024.

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. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.120. Acesso em: 17 jan. 2024.

SANTOS, V. S. *et al*. Preparação e caracterização de biofilmes comestíveis a base de nanoestruturas poliméricas em matriz de pectina. **Journal Of Experimental Techniques And Instrumentation**, v. 2, n. 1, p. 19-25, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.30609/jeti.v2i1.7766. Acesso em: 13 jan. 2024.

SHIMAZU, A. A; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 79-88, jan./mar. 2007. Disponível em: Redalyc.Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. Acesso em: 16 jan. 2024.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X., KIEMLE, D. J. Spectrometric Identification of Organic Compounds. **John Wiley & Sons**, 2005.

SINGH, S. *et al*. Chitosan-poly (vinyl alcohol) intelligent films fortified with anthocyanins isolated from *Clitoria ternatea* and *Carissa carandas* for monitoring beverage freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 182, p. 1015-1025, jul. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.027. Acesso em: 17 jan. 2024.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965. Disponível em: https://www.ajevonline.org/content/16/3/144. Acesso em: 13 jan. 2024.

SOARES, I. F. de O. *et al*. Síntese e caracterização de biofilme de amido plastificado com glicerol ou triacetina. **FOCO**, n. 7, jul./dez. 2014. Disponível em: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES DE AMIDO PLASTIFICADOS COM GLICEROL OU TRIACETINA | de Oliveira Soares | FOCO: caderno de estudos e pesquisas (revistafoco.inf.br). Acesso em: 15 jan. 2024.

TEIXEIRA, B. A.; PERON, C. L. **Produção e caracterização de biofilme a base de amido, biossurfactante e celulose bacteriana**. 2013. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2013. Disponível em: http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/16745. Acesso em: 15 jan. 2024.

TEIXEIRA, S. C. **Desenvolvimento de filme inteligente incorporado de antocianinas de açaí como indicador de qualidade de alimentos**. Dissertação (Magister Scientiae) – Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Viçosa, 2021. Disponível em: https://locus.ufv.br//handle/123456789/29980. Acesso em: 01 mar. 2024

TEIXEIRA, S. C.; SOARES, N. de F. F.; STRINGHETA, P. C. Desenvolvimento de embalagens inteligentes com alteração colorimétrica incorporadas com antocianinas: uma revisão crítica. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 24, e2021033, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1981-6723.03321. Acesso em: 16 jan. 2024.

TRAN, M. P. *et al*. Camellia sinensis extract delays microbiological and oxidative changes in striped catfish fillets during frozen storage. **Ciência Rural**, v. 53, n. 4, 2023. Disponível em: http://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210755. Acesso em: 23 fev. 2024.

WANG, L. *et al*. A pH-sensitive intelligent packaging film harnessing *Dioscorea zingiberensis* starch and anthocyanin for meat freshness monitoring. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 245, n. 125485, ago. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125485. Acesso em: 17 jan. 2024.

WU, L-T. *et al*. Active and intelligent gellan gum-based packaging films for controlling anthocyanins release and monitoring food freshness. **Carbohydrate Polymers**, v. 254, n. 117410, fev. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117410. Acesso em: 17 jan. 2024.

YAN, J. *et al*. A pH indicator film based on chitosan and butterfly pudding extract for monitoring fish freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 177, p. 328-336, abr. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.137. Acesso em: 06 mai. 2024

ZENIN, E. E. **Produção e caracterização de filmes inteligentes por termocompressão**. Trabalho Conclusão do Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/234043. Acesso em: 01 mar. 2024.