

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

DESENVOLVIMENTO DE SENSORES COLORIMÉTRICOS BASEADOS EM
COMPOSTOS AMIDO/CERA DE ABELHA E ANTOCIANINAS POR CASTING
CONTÍNUO PARA EMBALAGENS INTELIGENTES

Bruno Ribeiro Luchesi

São Carlos – SP
2023

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES COLORIMÉTRICOS BASEADOS EM
COMPOSTOS AMIDO/CERA DE ABELHA E ANTOCIANINAS POR CASTING
CONTÍNUO PARA EMBALAGENS INTELIGENTES**

Bruno Ribeiro Luchesi

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Ciência e Engenharia de
Materiais como requisito parcial à obtenção
do título de DOUTOR EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS

Orientador: Prof. Dr. José Manoel Marconcini

Co-orientador: Prof. Dr. Francys Kley Vieira Moreira

Agência Financiadora: CAPES – processo nº 88887.388245/2019-00

São Carlos – SP

2023

DEDICATÓRIA

A Deus, engenheiro-maior que a tudo e todos criou em sua infinita sabedoria e que nos deu entendimento para decifrar alguns de seus cálculos. A Ele, também, por me guiar através das dificuldades ao longo do caminho.

Aos meus pais, Conceição e Jaime, incansáveis em me dar as melhores condições para ser o homem que sou hoje, pela educação, amor, virtude, caráter e disponibilidade para mim.

À minha vó materna e segunda mãe, Maria Aparecida, que cumpriu sua jornada na Terra e deixou um vazio que nunca será preenchido, pelo amor e pelo carinho a mim dedicados. Se hoje sou o que sou, uma grande parte é devida a ela.

VITAE

Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais pelo Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos (2019)

Bacharel em Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de São Carlos (2017)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado do candidato Bruno Ribeiro Luchesi, realizada em 19/12/2023.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. José Manoel Marconcini (EMBRAPA)

Prof. Dr. Juliano Marini (UFSCar)

Prof. Dr. Luiz Antonio Pessan (UFSCar)

Profa. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo (EMBRAPA)

Prof. Dr. Marcos David Ferreira (EMBRAPA)

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores José Manoel Marconcini e Francys Kley Vieira Moreira pela paciência em ensinar, pela boa-vontade em ajudar e pelo apoio em momentos desafiadores.

Aos amigos, de dentro e de fora do laboratório, pelos momentos de companheirismo nos desafios do trabalho e pelos momentos de lazer, tornando os desafios pequenos e superáveis.

À Embrapa Instrumentação por disponibilizar sua estrutura de laboratórios para realização deste e de tantos outros trabalhos.

Aos técnicos da Embrapa Instrumentação, sempre solícitos em ajudar.

Aos funcionários diretos e terceirizados da Embrapa Instrumentação por garantir o perfeito funcionamento da unidade e de seus laboratórios.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM) e à Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) pela estrutura de ensino disponibilizada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pelo apoio financeiro ao longo dos anos de doutorado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Para uma embalagem ser considerada inteligente, isto é, ser capaz de comunicar as condições do alimento que protege, diferentes abordagens são possíveis, entre as quais a produção de indicadores de qualidade baseados em componentes que alteram sua coloração quando estimulados pelo meio. Antocianinas, compostos naturais atóxicos, quando incorporadas a filmes poliméricos de amido, polímero natural, abundante e de baixo custo, produzem sensores colorimétricos cuja cor é dependente do pH. Estes sensores possuem baixa resistência à umidade, fato agravado pela incorporação de antocianinas, razão pela qual modificadores desta propriedade são necessários. Assim, nesta tese, foi proposta a obtenção de filmes sensoriais colorimétricos a base de amido e extratos de antocianinas incorporados com cera de abelha (30%, m/m) como agente de hidrofobização. Os filmes foram obtidos por casting contínuo de solução visando escalar sua produção, preenchendo, assim, a lacuna científica de técnicas de processamento adequadas para sensores colorimétricos baseados em antocianinas. A perspectiva científica desta tese foi expandida ao explorar hibisco, brácteas de banana e cascas de jabuticaba como fontes de antocianinas e suas influências sobre as propriedades físicas e desempenho dos sensores obtidos. A incorporação dos extratos e da cera modificou as propriedades mecânicas dos filmes, sendo a resistência à tração e o módulo elástico 60% e 70% menores, respectivamente, e os alongamentos na ruptura 400% maiores que aquelas dos filmes contendo apenas os extratos. Além disso, a presença de cera de abelha reduziu a permeabilidade a vapor d'água em 40% e aumentou a hidrofobicidade superficial em 70% dos filmes sensoriais, porém sem influenciar significativamente suas características ópticas. Quanto à capacidade sensorial dos filmes amido/cera de abelha/antocianinas, todas as formulações testadas mostraram-se sensíveis a concentrações de NH_3 próximas a $100 \mu\text{g m}^{-2}$, volátil liberado durante o apodrecimento de alguns alimentos, garantindo a potencial aplicação destes filmes em embalagens inteligentes.

Palavras-chave: embalagens biodegradáveis; indicadores de qualidade; hidrofobização; compostos poliméricos.

ABSTRACT

Development of colorimetric sensors based on starch/beeswax compounds and anthocyanins by continuous casting for intelligent packaging

Intelligent packaging are systems capable of communicating the conditions of the packed food and different approaches can be used to produce such packaging, for instance, the production of quality indicators based on components that change their color when stimulated by the environment. Among these, anthocyanins stand out as non-toxic natural compounds whose color is pH dependent. Colorimetric films containing anthocyanins can be obtained using starch as a polymeric matrix, an abundant, eco-friendly, and low-cost natural polymer. However, starch films have low resistance to moisture, which is worsened upon anthocyanins incorporation. In this thesis, it was proposed the obtaining of colorimetric sensory films based on starch and anthocyanin extracts incorporated with beeswax (30%, m/m) as a hydrophobizing agent. The films were obtained by continuous solution casting to scale up their production, thus filling the scientific gap in suitable processing techniques for colorimetric sensors based on anthocyanins. The scientific perspective of this thesis was expanded by exploring hibiscus, banana bracts, and jaboticaba peels as sources of anthocyanins and their influence on the physical properties and performance of the starch sensors. The incorporation of extracts and beeswax modified the mechanical properties of the films, whose tensile strength and elastic modulus being 60% and 70% lower, respectively, and elongation at break 400% greater than those of films containing only the extracts. Furthermore, the presence of beeswax reduced the water vapor permeability by 40% and increased surface hydrophobicity in 70% of the sensory films, but without significantly influencing their optical properties. All starch/beeswax/anthocyanin films were sensitive to NH_3 , a volatile compound released during the rotting of some foods, at a concentration equal to $100 \mu\text{g m}^{-2}$, guaranteeing their potential application in intelligent packaging.

Keywords: biodegradable packaging; quality indicators; hydrophilization; polymeric compounds.

PUBLICAÇÕES

LUCHESI, Bruno Ribeiro; MOREIRA, Francys Kley Vieira; MARCONCINI, José Manoel. Scalable production of hydrophobic starch/beeswax films by continuous solution casting. **Journal of Applied Polymer Science**, p. e54730.

ÍNDICE DE ASSUNTOS

FOLHA DE APROVAÇÃO	i
AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO	v
ABSTRACT	vii
PUBLICAÇÕES	ix
ÍNDICE DE ASSUNTOS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE TABELAS	xix
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	xxi
1 INTRODUÇÃO	1
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	3
2.1 Embalagens ativas e inteligentes para alimentos	3
2.2 Antocianinas	5
2.3 Amidos	7
2.4 Cera de abelha	9
2.5 Propriedades de barreira à água em filmes poliméricos	11
2.6 Casting contínuo de solução (CCS)	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1 Desenvolvimento de filmes biodegradáveis de amido incorporados com ceras naturais	19
3.2 Desenvolvimento de sensores colorimétricos amido/antocianinas	22
4 OBJETIVOS	29
5 MATERIAIS E MÉTODOS	31
5.1 Materiais	31
5.2 Métodos	32
5.2.1 Pré-tratamentos das fontes de antocianinas	32
5.2.2 Extração das antocianinas	33
5.2.3 Caracterização dos extratos de antocianinas	34
5.2.4 Obtenção das soluções filmogênicas	35
5.2.5 Caracterização reológica das soluções filmogênicas	36
5.2.6 Obtenção dos filmes colorimétricos por casting contínuo	37

5.2.7	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	38
5.2.8	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	38
5.2.9	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	39
5.2.10	Difração de raios-X (DRX)	39
5.2.11	Ensaio mecânicos de tração	39
5.2.12	Determinação da umidade dos filmes sensoriais	40
5.2.13	Determinação da densidade dos filmes sensoriais	40
5.2.14	Determinação do ângulo de contato estático e energia superficial	40
5.2.15	Determinação da permeabilidade a vapor d'água	41
5.2.16	Determinação das cores dos filmes sensoriais	41
5.2.17	Determinação da eficiência sensorial dos filmes colorimétricos	42
5.2.18	Análise estatística	43
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES	45
6.1	Extração assistida por ultrassom	45
6.2	Caracterização dos extratos	49
6.3	Reologia dos géis de amido contendo antocianinas	57
6.4	Caracterização dos filmes sensoriais colorimétricos	61
6.4.1	Caracterizações estruturais dos filmes	63
6.4.2	Propriedades mecânicas dos filmes amido/antocianinas/cera de abelha	70
6.4.3	Propriedades de barreira dos filmes amido/antocianinas/cera de abelha	74
6.4.4	Propriedades ópticas dos filmes amido/antocianinas/cera de abelha ..	80
6.5	Capacidade sensorial dos filmes colorimétricos	83
7	CONCLUSÕES	93
8	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	95
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
	APÊNDICES	111

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 2.1 – Funções das embalagens, com destaque ao aprofundamento das funções de proteção e de comunicação. Fonte: próprio autor 3
- Figura 2.2 – Estrutura básica do flavílio (esquerda) e antocianidinas mais comuns (direita): R1, R2 e R3 = grupos H, OH e/ou OCH₃ e S = açúcar. Fonte: próprio autor 6
- Figura 2.3 – Representação básica das cores das antocianinas em suas estruturas mais estáveis em diferentes valores de pH, sendo (a) íon flavílio – vermelho, (b) base quinoidal – lilás, (c) base quinoidal aniônica – azul, (d) hemiacetal – incolor e (e) chalcona – verde-amarelada. Fonte: próprio autor 6
- Figura 2.4 – Representação das cadeias de amilose, à esquerda, e amilopectina, à direita. Fonte: próprio autor 7
- Figura 2.5 – Representação de (a) um grânulo de amido, formado por (b) regiões amorfas e semicristalinas intercaladas, formadas respectivamente por (c) ramificações das moléculas de amilopectina e por regiões lineares das cadeias de amilose e de amilopectina. Fonte: próprio autor 8
- Figura 2.6 – Principais componentes da cera de abelha: (a) monoésteres saturados e (b) ácido graxo. Fonte: próprio autor 10
- Figura 2.7 – Esboço do modelo de difusão configuracional: (a) adsorção da molécula na superfície de um sólido; (b) solubilização por volume livre criado; (c) difusão por pulos entre volumes livres; (d) dissolução da molécula; e (e) dessorção na superfície oposta. Fonte: próprio autor 13

- Figura 2.8 – Líquido sobre a superfície ideal de um sólido indicando o balanço entre diferentes tensões superficiais que resulta no ângulo de contato estático (AC_e). Fonte: próprio autor 14
- Figura 2.9 – Esquema representativo do casting contínuo de solução: versão da solução polimérica filmogênica sobre um substrato móvel, laminação desta solução, evaporação do solvente e obtenção do filme seco. Fonte: próprio autor 16
- Figura 2.10 – (a) detalhe da passagem da solução sob a faca laminadora; h = altura da faca em relação ao substrato e (b) detalhe da secagem da lâmina úmida, com a difusão das moléculas de solvente para a superfície e a evaporação para a câmara. Fonte: próprio autor 17
- Figura 3.1 – Fontes de antocianinas: (a) pétalas de hibisco; (b) brácteas de banana; e (c) cascas de jabuticaba. Imagens sem direitos autorais encontradas em bancos de dados gratuitos 26
- Figura 5.1 – Estruturas das antocianinas presentes nas fontes utilizadas no projeto: (a) delphinidina-3-sambubiose, (b) cianidina-3-glicose, (c) delphinidina-3-glicose, (d) cianidina-3-glicose, (e) cianidina-3-rutinose e (f) peonidina-3-glicose. Fonte: próprio autor 32
- Figura 5.2 – Fluxograma de obtenção das soluções filmogênicas, em que PHD = pétalas de hibisco desidratadas, BBL = brácteas de banana liofilizadas e CJL = cascas de jabuticaba liofilizadas 35
- Figura 5.3 – Obtenção dos filmes sensoriais por CCS: (a) visão geral do equipamento; (b) versão e laminação da solução filmogênica; (c) lâmina após E1; e (d) filme seco após E2 e embobinamento 37
- Figura 5.4 – Esquema representativo para avaliação da eficiência dos filmes sensoriais colorimétricos, sendo ΔE_t = variação de cor no instante t . Fonte: próprio autor 42

- Figura 6.1 – Valores de CTA para os extratos PHD em função do tempo de extração. Após 5 minutos, a concentração tornou-se independente do tempo 45
- Figura 6.2 – Espectros de infravermelho dos extratos (a) PHD, (b) BBL e (c) CJL, indicando similaridades na composição de cada um (polissacarídeos, proteínas e lipídeos) 51
- Figura 6.3 – Cores dos extratos de acordo com o pH, crescente da esquerda para a direita, sendo (a) PHD, (b) BBL e (c) CJL 52
- Figura 6.4 – Curvas de absorvância em função do comprimento de onda para os extratos de (a) PHD, (b) BBL e (c) CJL, corroborando as alterações de cor vistas na Figura 6.3 54
- Figura 6.5 – Estruturas das antocianinas em diferentes valores de pH: (a) íon flavílio, em pH fortemente ácido; (b) base quinoidal em pH neutro; (c) base quinoidal aniônica em pH levemente básico; (d) hemicetal em pH básico; e (e) chalcona em pH fortemente básico. Fonte: próprio autor 55
- Figura 6.6 – Fluxogramas de degradação dos extratos PHD, BBL e CJL em DSC em função do tempo e rampa de aquecimento até se atingir a temperatura da isoterma (120°C) 56
- Figura 6.7 – Valores de índice de pseudoplasticidade (n) a 80°C para as soluções filmogênicas sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função de TSS. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 59
- Figura 6.8 – Viscosidade das soluções filmogênicas a 80 °C sob taxa de cisalhamento de 0,93 s⁻¹. sem e com cera de abelha (AM e BW,

- respectivamente). Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 60
- Figura 6.9 – Imagens dos filmes (a) am-puro, (b) am-PHD, (c) am-BBL, (d) am-CJL, (e) bw-puro, (f) bw-PHD, (g) bw-BBL e (h) bw-CJL 62
- Figura 6.10 – Difractogramas dos filmes sensoriais e da cera de abelha pura (destaque). Filmes sem cera mostraram-se amorfos. A presença de cera de abelha fez surgirem regiões cristalinas do tipo V_H na matriz de amido, indicando a formação de complexos amilose-lipídeos .. 64
- Figura 6.11 – Micrografias dos filmes sensoriais (a) sem e (b) com cera de abelha em aumento de 500x, destacando as fases amido (setas verdes), cera de abelha (amarelas) e vazios deixados pelo arrancamento da cera (pretas) 66
- Figura 6.12 – Espectros de infravermelho dos filmes sensoriais (a) sem e (b) com cera de abelha (na mesma escala de intensidade) 69
- Figura 6.13 – Detalhe dos espectros de FTIR-ATR mostrando os deslocamentos de bandas em (a) 3300 cm^{-1} e (b) 1735 cm^{-1} e a variação de intensidade com a formulação. Traços pretos indicam o ponto de maior intensidade de cada banda 70
- Figura 6.14 – Curvas tensão-deformação a $25\text{ }^\circ\text{C}$ representativas dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha 71
- Figura 6.15 – Micrografias dos filmes sensoriais (a) sem e (b) com cera de abelha fraturados mecanicamente em aumento de 500x, destacando as fases amido (setas verdes), cera de abelha (amarelas) e vazios deixados pelo arrancamento da cera (pretas) 73

- Figura 6.16 – Valor de umidade dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função de TSS. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 75
- Figura 6.17 – Densidade dos filmes sensoriais em função de sua respectiva umidade. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 76
- Figura 6.18 – Valores de ângulo de contato dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função de TSS, determinados em $t = 180s$. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 77
- Figura 6.19 – Valores de ângulo de contato dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função da energia superficial, determinados em $t = 180s$. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 78
- Figura 6.20 – Valores de permeabilidade a vapor d'água dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função de TSS, determinados em $t = 180s$. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) .. 79
- Figura 6.21 – Representação dos filmes sensoriais (a) sem e (b) com cera de abelha feita a partir dos valores dos parâmetros L, a e b de cada um, convertidos para a escala RGB 80

- Figura 6.22 – Valores de intensidade de cor dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função de TSS. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 82
- Figura 6.23 – Variação de cor (ΔE) dos filmes sensoriais em função do tempo 84
- Figura 6.24 – Cores dos filmes (a) antes e (b) depois da estabilização 86
- Figura 6.25 – Variação de cor ΔE com a concentração de NH_3 em água para os filmes (a) am-PHD, (b) bw-PHD, (c) am-BBL, (d) bw-BBL, (e) am-CJL e (f) bw-CJL 88

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 6.1 – CTA e técnicas de extração encontrados na literatura para cada fonte de antocianina utilizada neste trabalho 48
- Tabela 6.2 – Teor de sólidos e densidade dos extratos, massa de sólidos e de antocianinas presentes em 50mL de extratos 50
- Tabela 6.3 – Temperaturas de gelatinização (T_{gel}) para as formulações filmogênicas utilizadas na produção dos filmes sensoriais amido/antocianinas. Valores médios acompanhados pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) .. 57
- Tabela 6.4 – Massas de sólidos nos extratos e frações mássicas[†] dos sólidos dos extratos e da cera de abelha. Valores médios acompanhados pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 58
- Tabela 6.5 – Custos por metro quadrado para produção dos filmes por CCS .. 63
- Tabela 6.6 – Valores de cristalinidade observados e esperados para os filmes sensoriais com cera de abelha. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 64
- Tabela 6.7 – Propriedades mecânicas e espessura para os filmes sensoriais amido/antocianinas e respectivos filmes com cera de abelha. Valores médios acompanhados pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 72

- Tabela 6.8 – Valores de opacidade, luminosidade, intensidade de cor e tonalidade dos filmes sensoriais. Valores médios acompanhados pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 81
- Tabela 6.9 – Tempos para estabilização de cor dos filmes sensoriais submetidos a voláteis de amônia. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 85
- Tabela 6.10 – Valores de pH antes e depois da exposição a voláteis de NH_3 .. 87
- Tabela 6.11 – Valores de concentração mínima detectável (CMD) de NH_3 em água e nos filmes sensoriais. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$) 89
- Tabela 6.12 – Valores de pH iniciais e em CMD dos filmes sensoriais 90

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ACe	ângulo de contato estático
am-BBL	filmes de amido de milho, glicerol e extrato de brácteas de banana liofilizadas
am-CJL	filmes de amido de milho, glicerol e extrato de cascas de jabuticaba liofilizadas
am-PHD	filmes de amido de milho, glicerol e extrato de pétalas de hibisco desidratadas
am-puro	filmes de amido de milho e glicerol
BBL	brácteas de banana liofilizadas
bw-BBL	filmes de amido de milho, glicerol, cera de abelha e extrato de brácteas de banana liofilizadas
bw-CJL	filmes de amido de milho, glicerol, cera de abelha e extrato de cascas de jabuticaba liofilizadas
bw-PHD	filmes de amido de milho, glicerol, cera de abelha e extrato de pétalas de hibisco desidratadas
bw-puro	filmes de amido de milho, glicerol e cera de abelha
c3g, eq.	concentração de antocianinas presentes nos extratos considerando que há somente cianidina-3-glicosídeo presente
CCol	compostos colaterais presentes nos extratos além de antocianinas
CJL	cascas de jabuticaba liofilizadas
CMD	concentração mínima detectável de voláteis nitrogenados
CTA	concentração total de antocianinas
h_{faca}	altura da faca laminadora do casting contínuo de soluções
n	índice da lei das potências
PHD	pétalas de hibisco desidratadas
T_{gel}	temperatura de gelatinização do amido
TSS	teor de sólidos solúveis
γ_{LG}	energia interfacial líquido-gás
γ_{LS}	energia interfacial líquido-sólido
γ_{SG}	energia interfacial sólido-gás
ΔE	variação de cor
λ	comprimento de onda

1 INTRODUÇÃO

Embalagens são uma parte constante da sociedade e representam um avanço na produção, distribuição e conservação de alimentos. No período entreguerras (1918 – 1939), a industrialização alimentícia se tornou realidade em diversos países, fenômeno que se intensificou após a Segunda Guerra Mundial. Como muitas outras tecnologias, as embalagens foram introduzidas na vida cotidiana, evoluindo e adaptando-se às exigências da sociedade civil [1,2].

As atuais embalagens poliméricas estão cada vez menos limitadas ao seu caráter meramente protetivo, abarcando novas funcionalidades. Nesse contexto, se inserem as embalagens inteligentes, isto é, aquelas que monitoram e transmitem informações sobre o ambiente e/ou qualidade dos alimentos [3,4]. Diversas funcionalidades vêm sendo desenvolvidas para embalagens nos últimos anos, a exemplo de indicadores baseados em compostos cromóforos capazes de detectar voláteis do amadurecimento e degradação de alimentos [5,6]. No entanto, muitos destes compostos são potencialmente nocivos à saúde humana e ao meio-ambiente [7]. Logo, cromóforos naturais atóxicos têm sido empregados, tais como as antocianinas, substâncias extraídas de abundantes fontes vegetais, cuja coloração varia com mudanças no pH do ambiente [8].

No amplo escopo de matrizes poliméricas para embalagens inteligentes, é crescente a utilização de polímeros biodegradáveis tais como o amido [8–10]. A literatura traz diversos trabalhos em que antocianinas são incorporadas em filmes de amido utilizando majoritariamente a técnica de casting de solução, muito deles visando aplicação como embalagens inteligentes para alimentos. Porém, a baixa escala de produção de filmes por esta técnica constitui-se uma desvantagem uma vez que restringe sua aplicação a um baixo número de embalagens. Além disso, a incorporação de antocianinas aumenta a hidrofiliabilidade de filmes de amido, outra desvantagem uma vez que embalagens necessitam se manter íntegras em ambientes com diferentes umidades relativas ou em contato com alimentos com elevada atividade de água. Dentre as mais diversas técnicas de hidrofobização de filmes de amidos, a incorporação de ceras naturais se destaca por alterar significativamente a interação destes filmes com a água ao mesmo tempo em que conserva o caráter biodegradável desses

materiais. Contudo, pouco estudos foram conduzidos no sentido de avaliar o potencial de ceras naturais na redução da hidrofobicidade de filmes amido produzidos por técnicas altamente produtivas, quanto mais ao se considerar a incorporação de antocianinas a estes filmes amido/cera de abelha [10,11]. Observa-se, então, um problema científico a ser explorado: aplicar ceras naturais como aditivos de hidrofobização em filmes colorimétricos amido/antocianinas, bem como o estudo de rotas de processamento que viabilizem a produção em maior escala de embalagens inteligentes a partir de tais materiais.

Na presente tese de doutorado, sensores colorimétricos para embalagens inteligentes são propostos mediante a incorporação de antocianinas em filmes de amido de milho e cera de abelha por casting contínuo de solução (CCS). A originalidade desta tese reside no estudo do efeito da cera de abelha sobre a barreira à umidade e outras propriedades físicas dos sensores colorimétricos amido/antocianinas. A discussão dos resultados é especialmente centrada no CCS como técnica de processamento. Estudos do grupo de pesquisa já demonstraram que o CCS é adequado para a produção de filmes incorporados com compostos naturais de fácil oxidação [12], como é o caso das antocianinas, além de ser 50 vezes mais produtivo que o casting de bancada amplamente empregado em pesquisas com filmes de amido [13]. O potencial da cera de abelha como componente hidrofóbico de sensores amido/antocianinas foi explorado juntamente ao uso de extratos de hibisco, jabuticaba e bráctea de banana, estas fontes de antocianinas.

O conteúdo apresentado a seguir compreende: (i) a fundamentação teórica e a revisão da literatura pertinentes aos sistemas estudados, o que permitiu estabelecer os objetivos científicos da tese; (ii) os materiais e métodos adotados para produção e caracterização dos filmes sensoriais amido/antocianinas/cera de abelha por CCS; (iii) a análise dos resultados obtidos com foco nas propriedades físicas e eficiência de sensoriamento dos filmes amido/antocianinas/cera de abelha; e (iv) as conclusões e sugestões para trabalhos futuros. A expectativa geral é que os resultados deste projeto sirvam como base para o futuro desenvolvimento de novos sensores baseados em moléculas termicamente lábeis para embalagens multifuncionais e outras aplicações.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Embalagens ativas e inteligentes para alimentos

As embalagens possuem quatro funções primárias: (i) proteger o alimento de fatores externos, tais como micro-organismos, sujidades, umidade e temperatura; (ii) comunicar ao consumidor informações relevantes do produto, como datas de fabricação e vencimento, informação nutricional e composição; (iii) conter variados tipos de alimentos; e (iv) ser conveniente ao consumidor, facilitando o consumo do produto e o posterior descarte da embalagem [2,4,6].

A modernização da sociedade nas últimas décadas tem demandado novas funções às embalagens. Surgiram, assim, as embalagens ativas e inteligentes. As primeiras podem ser definidas como sistemas que interagem com o alimento e/ou com o ambiente para aumentar o tempo de prateleira e/ou a qualidade do produto até o consumo [3,14]. As embalagens ativas intensificam a função de proteção das embalagens (Figura 2.1), através de mecanismos variados, por exemplo a liberação de agentes antimicrobianos ou sequestro de O₂ [2]. Embalagens inteligentes são aquelas que detectam, gravam, localizam e comunicam informações do alimento e/ou do ambiente [3,4]. As embalagens inteligentes intensificam a função de comunicação da embalagem, expandindo as informações para além das básicas já citadas anteriormente (Figura 2.1).

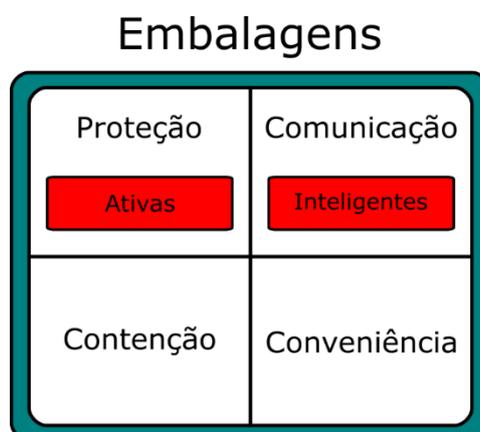


Figura 2.1 – Funções das embalagens, com destaque ao aprofundamento das funções de proteção e de comunicação. Fonte: próprio autor.

Entre os diversos tipos de embalagens inteligentes, destacam-se aquelas com funções sensoriais, isto é, capazes de detectar e/ou quantificar informações a partir de propriedades físico-químicas do meio e/ou dos alimentos [3]. A forma mais comum de comunicação é através da variação de cor da embalagem, que pode ocorrer a partir de vários mecanismos. Um deles usa a temperatura como força motriz para a mudança. Nesse tipo de sensor, compostos termocrômicos são incorporados à matriz polimérica e, quando excitados pelo aumento da energia térmica liberam energia luminosa via transição eletrônica, alterando a cor da embalagem [15].

Alguns sensores alteram sua cor ao serem solicitados mecanicamente. Nestes, compostos cromóforos são adicionados à matriz, formando agregados, ou são enxertados diretamente nas cadeias poliméricas. Quando o polímero é solicitado mecanicamente, dois fenômenos ocorrem: há a separação dos agregados, levando à ionização dos cromóforos e à mudança de cor ou há o rompimento dos anéis aromáticos dos cromóforos enxertados à cadeia, o que altera a cor do polímero [15].

Os sensores colorimétricos mais comuns são aqueles que acusam mudanças na qualidade dos alimentos induzidas por variação do pH, pela liberação de gases devido a transformações internas (como a senescência de frutos) ou à ação de micro-organismos (como no apodrecimento de carnes) [16,17]. A detecção destes gases pode ser feita através da ação de compostos cromóforos que mudam de cor ao interagir com produtos de degradação por ligações fracas de van der Waals, ligações de hidrogênio, dipolo induzido ou ácidos/bases de Lewis. Estes compostos, também chamados de tinturas quimio-responsivas, compõem os chamados sensores colorimétricos [5,18]. Piriya e autores (2017) [19] destacam características importantes para estes sensores, tais como seletividade (capacidade de detectar compostos específicos dentre muitas outras substâncias), sensibilidade (capacidade de detectar um composto mesmo em baixíssima concentração), acurácia, reprodutibilidade e erros mínimos. Destaca-se o uso de porfirinas e metaloporfirinas [20–22], compostos solvatocrômicos como pigmentos fluorescentes, líquidos iônicos e materiais híbridos, para esta aplicação [23,24]. No entanto, muitos desses compostos possuem certo grau de toxicidade [7], não sendo recomendados como componentes de embalagens para alimentos, uma vez que podem migrar para

o produto e contaminá-lo. Buscando alternativas a estes pigmentos, fontes naturais atóxicas de compostos cromóforos têm sido exploradas nos últimos anos, com destaque àquelas ricas em carotenoides, clorofilas e, principalmente, antocianinas [25].

2.2 Antocianinas

As antocianinas são polifenóis hidrossolúveis encontrados em frutas, folhas e flores. São antioxidantes potencialmente eficazes no combate de doenças cardiovasculares e oculares, de diabetes e de alguns tipos de câncer [26]. Sua estrutura básica, chamada 2-fenilbenzopirílio ou simplesmente íon flavílio, é mostrada na Figura 2.2 ao lado da tabela com as seis antocianidinas mais comuns. Estima-se que existam mais de 600 antocianinas, diferindo entre si pelos substituintes R1, R2 e R3, pela presença ou ausência de açúcares substituídos em S e pela presença ou ausência de ácidos aromáticos ligados aos açúcares, em um processo denominado acilação. O pirílio, heterociclo central da estrutura, é carregado positivamente, fato que confere às antocianinas a capacidade de mudar de cor ao se variar o pH [27,28]. Em meios ácidos, adquirem uma cor avermelhada, passando para lilás, azul e verde-amarelado conforme se aumenta o pH. Isso ocorre devido à estabilidade da antocianina em diferentes concentrações de H_3O^+ : em altas concentrações, o íon flavílio é a estrutura mais estável, concedendo à solução de antocianina a característica cor avermelhada. Com a redução da concentração de H_3O^+ , o pirílio é desprotonado, fazendo surgir estruturas estáveis em diferentes valores de pH, tais como hemicetais e bases quinoidais (incolores e azuis, respectivamente), até a abertura irreversível do anel, levando à formação de chalconas verde-amareladas características da degradação e perda de função das antocianinas [26,29]. A Figura 2.3 ilustra as estruturas citadas e suas respectivas cores.

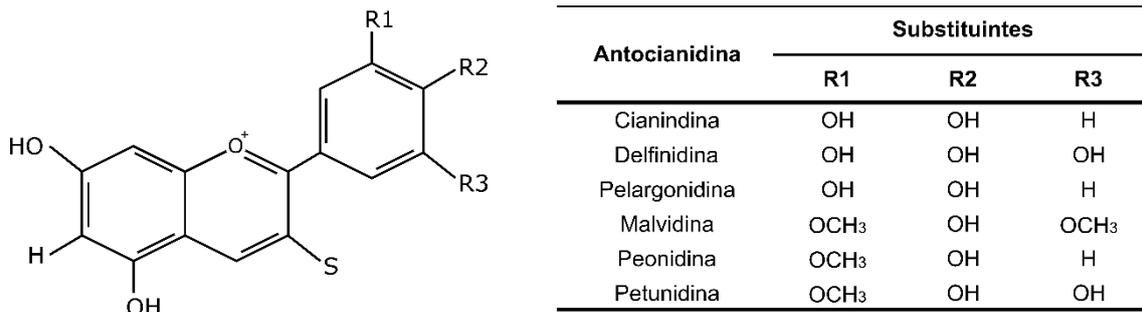


Figura 2.2 – Estrutura básica do flavílio (esquerda) e antocianidinas mais comuns (direita): R1, R2 e R3 = grupos H, OH e/ou OCH₃ e S = açúcar. Fonte: próprio autor.

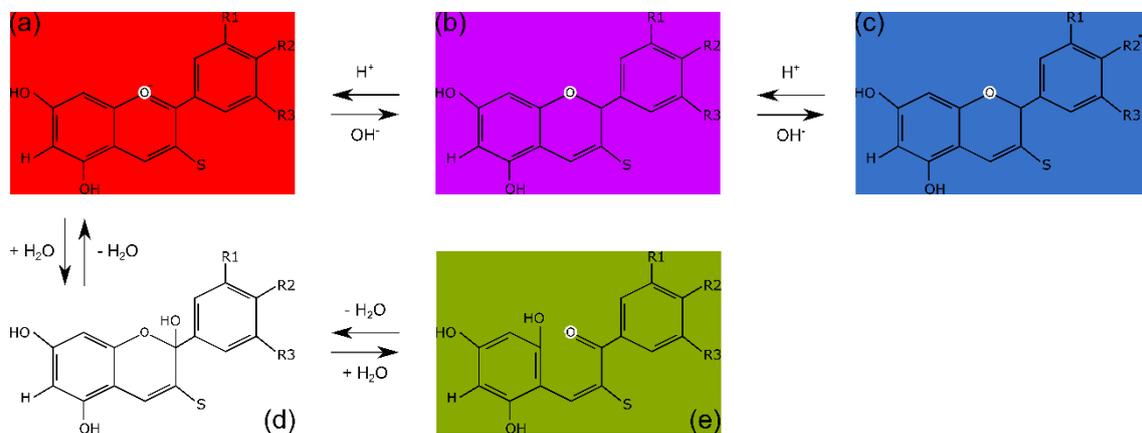


Figura 2.3 – Representação básica das cores das antocianinas em suas estruturas mais estáveis em diferentes valores de pH, sendo (a) íon flavílio – vermelho, (b) base quinoidal – lilás, (c) base quinoidal aniônica – azul, (d) hemiacetal – incolor e (e) chalcona – verde-amarelada. Fonte: próprio autor.

Antocianinas necessitam de um meio para as conter e permitir que alterem de cor quando estimuladas por variações de pH do meio, sem que este meio interfira nesta alteração de cor. Sendo assim, matrizes de amido podem ser utilizadas como meio de contenção das antocianinas [8,9,30–33].

2.3 Amidos

O amido é a principal forma de armazenamento de energia em plantas [34,35], sendo constituído por duas macromoléculas: amilose e amilopectina (Figura 2.4). A amilose, componente geralmente em menor quantidade, é construída quase linearmente por unidades de glucose conectadas por ligações α -(1 \rightarrow 4), com massa molar de 10^5 - 10^6 g mol⁻¹. Apresenta conformação helicoidal, com seis unidades glicosídicas a cada rotação. A amilopectina é o componente macromolecular ramificado do amido, apresentando, além das ligações α -(1 \rightarrow 4) na cadeia principal, ligações α -(1 \rightarrow 6) como ponto de ramificação a cada 22-70 unidades glicosídicas. É um dos maiores polímeros naturais existentes, com uma massa molar entre 10^7 e 10^9 g mol⁻¹. O amido é encontrado na forma de grânulos semicristalinos em sementes e raízes, sendo as principais fontes o milho, batata, mandioca e trigo [36].

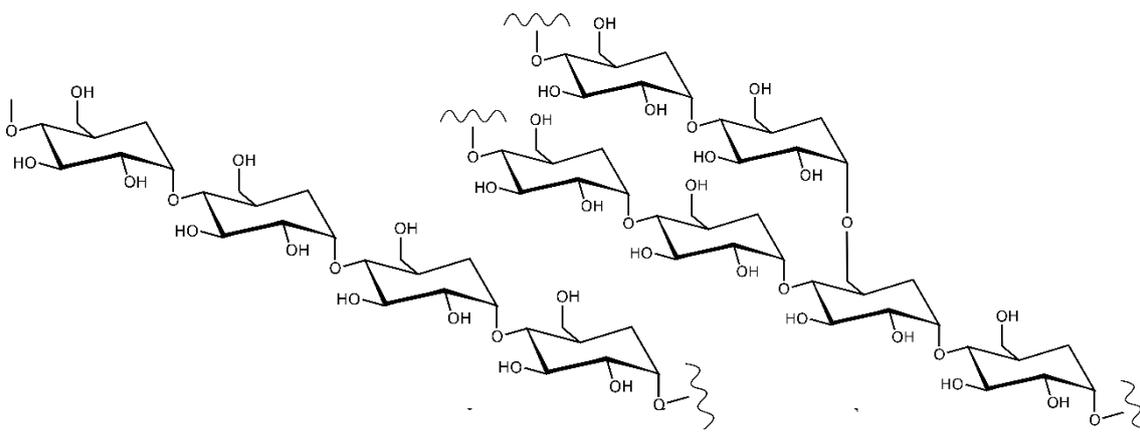


Figura 2.4 – Representação das cadeias de amilose, à esquerda, e amilopectina, à direita. Fonte: próprio autor.

O amido nativo apresenta morfologia de grânulos semicristalinos de tamanhos variados (Figura 2.5), sendo que a amilose e a região de ramificação das amilopectinas formam, geralmente, a porção amorfa do amido. Já as cadeias adjacentes de amilopectina formam a porção cristalina do amido e entre estas cadeias pode haver algumas cadeias de amilose, tornando-a também parte integrante da região cristalina. Dessa forma, o grânulo de amido, que cresce radialmente a partir de seu centro (Figura 2.5), quando visto sob luz polarizada,

apresenta círculos concêntricos, conhecidos como anéis de crescimento. Estes anéis resultam da alternância de regiões amorfas e cristalinas e possuem entre 100 nm e 400 nm de espessura [37].

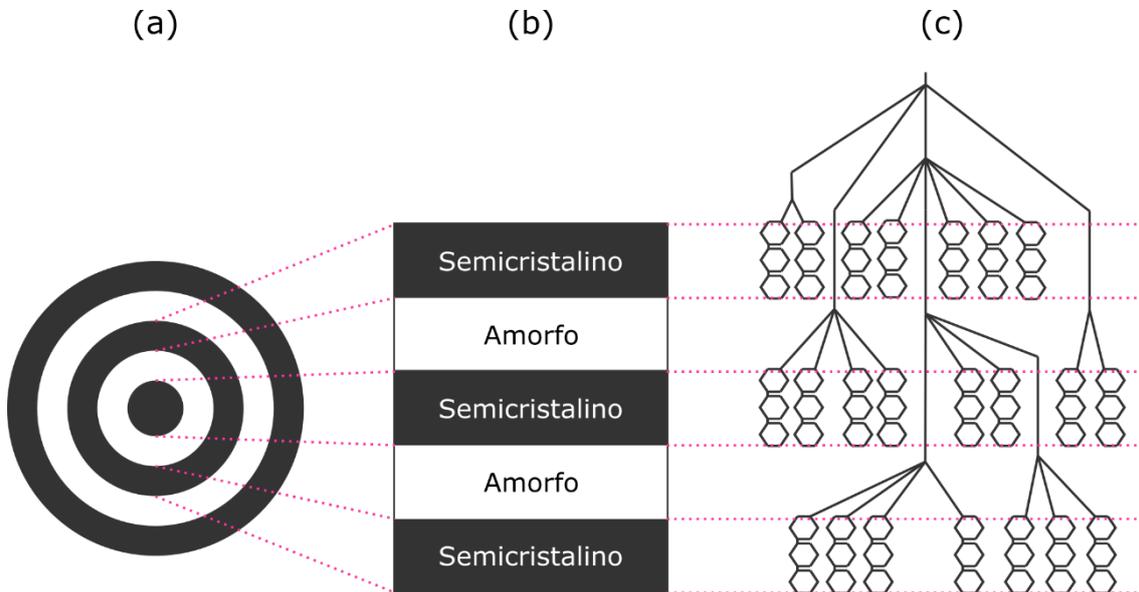


Figura 2.5 – Representação de (a) um grânulo de amido, formado por (b) regiões amorfas e semicristalinas intercaladas, formadas respectivamente por (c) ramificações das moléculas de amilopectina e por regiões lineares das cadeias de amilose e de amilopectina. Fonte: próprio autor.

Devido a sua morfologia granular e semicristalina, o amido requer modificações físico-químicas para produção de materiais poliméricos conformados. A principal é a gelatinização, processo de desestruturação dos arranjos semicristalinos formados pela amilose e amilopectina pela ação de solventes polares (por exemplo, a água), temperatura e cisalhamento. Este processo desfaz a morfologia granular do amido e expõe as cadeias de amilose e amilopectina, transformando-as em uma matriz contínua que é subsequentemente conformada em filmes e revestimentos [36,38,39].

No entanto, filmes de amido são mecanicamente frágeis, características pouco adequadas para embalagens plásticas [40,41]. A adição de plasticizantes (polióis, ureia etc.) confere um melhor balanço de propriedades mecânicas a estes filmes ao reduzirem a interação entre as cadeias de amilose e amilopectina [42–44]. Porém, aumentam o caráter hidrofílico dos filmes de amido, tornando

as propriedades físicas altamente dependentes da umidade relativa. Favorecem também o processo de envelhecimento dos filmes conhecido como retrogradação, caracterizado pela densificação do material com o tempo devido à recristalização da amilose e amilopectina, o que leva ao aumento da fragilidade mecânica dos filmes com o tempo [36].

Portanto, é prática introduzir componentes nos filmes de amido para reverter a hidrofilição resultante da gelatinização e plasticização. Há diversas abordagens para tal, tais como incorporar estruturas celulósicas [45] ou incorporar lipídeos [11,46], tais como a cera de abelha [10,13,47].

2.4 Cera de abelha

Algumas espécies de insetos produzem determinadas quantidades de cera para as mais diversas finalidades. As abelhas da espécie *Apis mellifera* e *Apis cerana*, em especial, produzem cera para, junto ao pólen e à própolis, construir os favos onde produzem e armazenam seu mel. Originalmente, a cera é líquida e branca, solidificando em camadas e alterando sua cor de branco para amarelo e, finalmente, marrom, conforme mistura-se com o mel e a própolis [48].

Do ponto de vista químico, a cera de abelha é uma complexa mistura de cerca de 300 componentes, divididos entre ésteres (67%, m/m), hidrocarbonetos (14%, m/m), ácidos graxos (12%, m/m), álcoois (1%, m/m) e impurezas (6%, m/m). No entanto, somente 21 estão presentes em frações maiores que 1% (m/m), perfazendo 56% (m/m) do total: sete monoésteres, cinco diésteres, um hidroxi-éster, cinco hidrocarbonetos e três ácidos graxos [49]. Destacam-se quatro monoésteres saturados (C_{40} , C_{44} , C_{46} e C_{48}) e um ácido graxo (C_{24}) com frações acima de 5% (m/m) que, por essa razão, se tornam os principais componentes da cera de abelha [50]. A Figura 2.6 ilustra estes componentes.

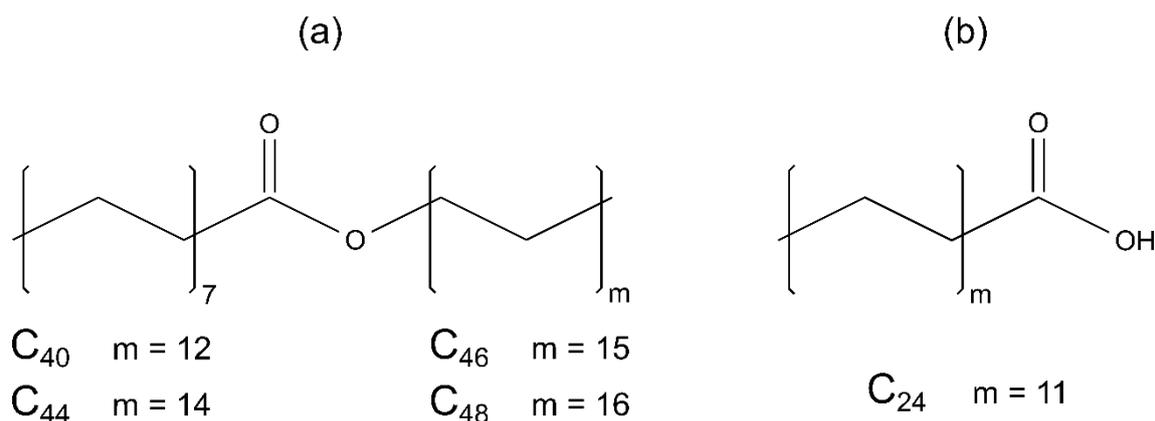


Figura 2.6 – Principais componentes da cera de abelha: (a) monoésteres saturados e (b) ácido graxo. Fonte: próprio autor.

De forma geral, as ceras de abelha fundem a temperaturas pouco acima de 40°C, completando o processo entre 61 e 65°C [47]. Além disso, apresentam densidade teórica entre 0,950 e 0,965 g cm⁻³ [51,52] e prática de cerca de 0,826 g cm⁻³, bem como semicristalinidade de 65% [47].

A produção da cera de abelha está diretamente ligada à produção de mel. A Associação Brasileira de Estudos de Abelha (A.B.E.L.H.A.) estima que são necessárias 6 partes de mel para produzir uma de cera (disponível em: <https://abelha.org.br/cera-de-abelha-e-oportunidade-de-novos-negocios-para-o-apicultor/>). Segundo dados levantados pela Associação Brasileira de Exportadores de Mel (Abemel) (2017-2021), o Brasil é um dos dez maiores produtores de mel, com cerca de 56 mil toneladas em 2021, das quais 8,6 mil toneladas foram destinadas ao mercado nacional. Logo, é possível considerar que a produção de cera de abelha voltada ao mercado interno foi de 1,44 mil toneladas, configurando-se como uma matéria-prima abundante para o desenvolvimento de novos materiais. Nesse contexto, a adição de cera de abelha a filmes de amido leva à formação de um composto, uma vez que as duas fases possuem propriedades físico-químicas distintas e interface bem definida entre si, além de a cera modificar as propriedades mecânicas e de barreira à água de matrizes de amido [13].

A incorporação de cera de abelha em filmes de amido forma compostos poliméricos, já que estes são resultado da combinação de duas fases distintas entre si e separadas por uma região de transição perceptível denominada

interface [53]. Nos compostos, uma fase descontínua é adicionada a uma matriz polimérica contínua a fim de modificar as propriedades desta matriz e obter um material com características distintas daquelas vistas nos constituintes isoladamente [54]. Apesar da simples definição, a formação de compostos poliméricos depende diretamente dos constituintes e de suas propriedades físico-químicas, da geometria da fase descontínua e de sua distribuição na matriz e da interface entre as fases constituintes [55,56].

Em se tratando das matrizes, pode-se utilizar diversos polímeros, entre os quais os naturais e biodegradáveis como o amido, por exemplo. A matriz é responsável por proteger a fase descontínua de efeitos externos e manter a distribuição e dispersão desta fase [55]. Quanto à fase descontínua, divide-se em materiais fibrosos e particulados, diferenciados pela razão de aspecto: quanto mais distante do valor unitário, classifica-se a fase como fibrosa; quanto mais próxima da unidade, classifica-se como particulada [57]. Dentre as particuladas, diversos materiais podem ser usados como fase descontínua, a depender do objetivo que se pretende atingir ao incorporar tal fase à matriz polimérica: estruturas de carbono para reforço mecânico ou para aumento de condutividade elétrica [58], sais para efeito antibiótico [59] e lipídeos para aumento das propriedades de barreira [60], esta última englobando a cera de abelha [61].

A formação de compostos de amido/cera de abelha pode modificar as propriedades de barreira dos sensores colorimétricos amido/antocianinas e, assim, ampliar o leque de aplicações destes filmes como embalagens inteligentes.

2.5 Propriedades de barreira à água de filmes poliméricos

As propriedades de barreira à água de filmes poliméricos consistem na redução da interação destes com a água, processo que ocorre principalmente devido à permeação de vapor d'água através do volume dos filmes, absorção de umidade e do próprio processo de solubilização em meio aquoso. O fenômeno de permeação, em específico, pode ser dividido em duas etapas. A primeira, chamada de adsorção, consiste na deposição das moléculas de vapor sobre a

superfície do filme. Já a segunda, chamada de difusão, consiste na transferência de massa das moléculas de vapor através do *bulk* do material [62].

Os átomos da superfície de um sólido se encontram em maior estado energético que aqueles localizados no seu *bulk*. Isto porque os átomos da superfície não estão ligados a todos os átomos vizinhos possíveis e necessários para completar as camadas de valência. Assim, aqueles possuem um superávit energético conhecido como energia superficial, que possui, ainda, outras duas definições: (i) termodinamicamente, é o trabalho necessário para minimizar a área de contato sólido-meio externo; e (ii) fisicamente, é a força normal à superfície do sólido, direcionada para o seu interior, que surge da tendência em reduzir a área de contato sólido-meio externo.

As moléculas de vapor de água estão em constante movimento e, por conta disso, chocam-se inúmeras vezes com a superfície do sólido. Quando isso ocorre, a energia superficial provoca flutuações de carga nas moléculas de vapor, induzindo um dipolo e atraindo-as. Esse fenômeno é conhecido como adsorção física ou fisissorção e é o principal mecanismo de adsorção, baseando-se em interações de van der Waals. Se a energia desse dipolo é maior do que a energia cinética das moléculas de vapor, então a adsorção é favorecida e o equilíbrio é prontamente atingido. Entende-se por equilíbrio a condição na qual o número de moléculas de vapor adsorvendo-se é igual àquele se dessorvendo. De forma geral, sempre haverá a adsorção de pelo menos uma camada de moléculas, já que isto reduz a energia superficial ao aproximar um ligante dos átomos externos do sólido [63–65].

Antes de ocorrer a difusão propriamente dita, as moléculas do vapor d'água adsorvidas na superfície devem penetrar na estrutura do filme polimérico, isto é, solubilizarem-se. Para isso, é necessário que um volume livre de tamanho suficiente surja na superfície, o que ocorre com o movimento de reptação das cadeias poliméricas. Ao se rearranjarem, as cadeias se afastam e criam entre si um volume livre que é rapidamente ocupado pela molécula de vapor. O movimento de reptação não cessa e logo outro volume livre surge, permitindo o avanço da molécula. Este processo de avanço e parada repete-se inúmeras vezes através da espessura do sólido e recebe o nome de difusão configuracional. O avanço leva a molécula até a superfície oposta, onde haverá dessorção segundo os mesmos princípios que regem a adsorção, isto é, a

molécula de vapor d'água voltará ao meio quando tiver energia cinética suficiente para se desligar da superfície [62,66–68]. A Figura 2.7 mostra um esquema deste mecanismo.

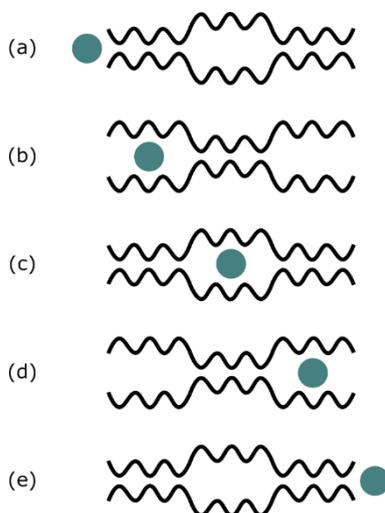


Figura 2.7 – Esboço do modelo de difusão configuracional: (a) adsorção da molécula na superfície de um sólido; (b) solubilização por volume livre criado; (c) difusão por pulso entre volumes livres; (d) dissolução da molécula; e (e) dessorção na superfície oposta. Fonte: próprio autor.

A formação de compostos poliméricos altera a permeabilidade dos filmes principalmente por aumentar a tortuosidade do caminho percorrido pelas moléculas de vapor durante a difusão [69]. Além disso, a incorporação de uma fase descontínua reduz a mobilidade das cadeias poliméricas da matriz, o que, por sua vez, dificulta a criação de novos volumes livres e reduz o avanço das moléculas através dos filmes [13,70].

Outra forma de se avaliar a interação de filmes poliméricos com a água ocorre pela avaliação da energia ou tensão superficial, fator diretamente ligado à capacidade de repelência de líquidos e adsorção do vapor. Young e Dupré [71,72] determinaram empiricamente uma equação para o cálculo da tensão superficial de um sólido ideal, isto é, aquele com superfície perfeitamente lisa, rígida, não reativa, homogênea e impenetrável [73]. Foi determinado que o balanço das tensões interfaciais líquido-gás (LG), líquido-sólido (LS) e sólido-gás

(SG) relaciona-se com o ângulo de contato estático (ACe) que a gota faz com a superfície (Figura 2.8) segundo a equação 2.1.

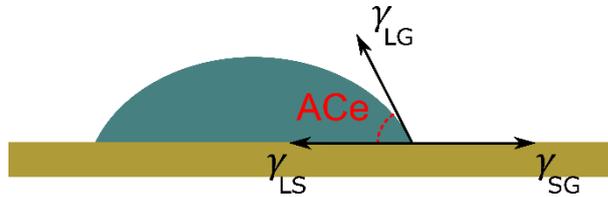


Figura 2.8 – Líquido sobre a superfície ideal de um sólido indicando o balanço entre diferentes tensões superficiais que resulta no ângulo de contato estático (ACe). Fonte: próprio autor.

$$\cos ACe = \frac{\gamma_{SG} - \gamma_{LS}}{\gamma_{LG}} \quad (\text{eq. 2.1})$$

Em que SG = interface sólido-vapor, LS = interface sólido-líquido e LG = interface líquido-vapor.

A equação de Young-Dupré não é suficiente para se determinar as tensões interfaciais, já que é comum haver duas tensões com valores desconhecidos nessa equação (γ_{SG} e γ_{LS} , geralmente). Logo, outra equação se faz necessária para encontrar os valores restantes, relacionando-os. Li e Neumann (1992) [74] determinaram-na como mostrado abaixo.

$$\gamma_{LS} = \frac{\sqrt{\gamma_{LG}} - \sqrt{\gamma_{SG}}}{1 - 0,0015\sqrt{\gamma_{LG}\gamma_{SG}}} \quad (\text{eq. 2.2})$$

Combinando-se as equações 2.1 e 2.2, obtém-se uma equação suficiente para o cálculo das tensões.

$$\cos\theta = \frac{(0,015\gamma_{SG} - 2)\sqrt{\gamma_{LG}\gamma_{SG}} + \gamma_{LG}}{\gamma_{LG}(0,0015\sqrt{\gamma_{LG}\gamma_{SG}} - 1)} \quad (\text{eq. 2.3})$$

O ângulo de contato determinado pela equação 2.1 indica a intensidade da energia ou tensão superficial de um sólido. Se é alta, a interface sólido-gás é

substituída pela interface menos energética líquido-gás, em uma tentativa de reduzir a energia total do sistema. Tal substituição é chamada de molhamento e se caracteriza pela redução gradual de ACe até que a energia atinja um mínimo possível, momento em que a gota se estabilizará. Se a energia é baixa, substituir uma interface pela outra pode conduzir a um aumento de energia, o que não é termodinamicamente viável. Logo, a gota não se espalha pela superfície e adota uma forma esférica, com $ACe = 180^\circ$ [73].

O ângulo de contato e a energia superficial a ele atrelada relacionam-se à permeabilidade ao vapor d'água nos filmes ao influenciar diretamente a etapa de adsorção na superfície: se maior a energia superficial, menor o ângulo de contato, maior a atração das moléculas de vapor do meio para a superfície do filme e maior a adsorção. Com isso, a permeabilidade será maior.

2.6 Casting contínuo de solução (CCS)

A obtenção de sensores colorimétricos baseados em filmes compostos de amido/cera de abelha incorporados de antocianinas possui alguns desafios: (i) a combinação de amidos e cera de abelha demanda uma estabilização da fase descontínua lipídica, isto é, manter a distribuição da cera na matriz de amido; (ii) escala de produção compatível à demanda pelos sensores colorimétricos; e (iii) condições de processamento para obtenção destes sensores que não interfiram nas funções de cada componente presente. As antocianinas são o componente mais susceptíveis ao processamento, já que são sensíveis a altas temperaturas, degradando-se rapidamente quando expostas por tempos prolongados [75]. Por conta disso, é comum obter sensores colorimétricos incorporados com estes compostos por casting de bancada, técnica em que é possível empregar temperaturas ambiente que dificilmente irão degradar as antocianinas. No entanto, esta técnica é de baixa produtividade, restringindo-se a pesquisas laboratoriais. A incorporação de antocianinas em filmes poliméricos por extrusão foi então explorada para superar essa limitação de escala. Porém, as condições de processamento (altas temperaturas e taxas de cisalhamento) degradaram rapidamente as antocianinas, não sendo a extrusão uma técnica viável para produção de sensores para embalagens inteligentes [76,77]. Dessa forma, faz-

se necessário o desenvolvimento de uma técnica que agregue as condições de processamento amenas do casting de bancada à larga escala de produção de filmes poliméricos. Nesse contexto, surge o casting contínuo de solução (CCS).

A técnica CCS (Figura 2.9) é uma técnica amplamente utilizada na indústria de conversão de diferentes tipos de materiais. Para soluções poliméricas, consiste em verter a formulação sobre um substrato móvel que a conduz sob uma faca laminadora estacionária, conformando-a em uma lâmina úmida que, por sua vez, será conduzida através de um sistema de aquecimento para remoção do solvente e obtenção de um filme polimérico seco. O CCS tem se mostrado dezenas de vezes mais produtivo do que o casting de bancada convencional, além de ser adequado para o processamento de diferentes soluções filmogênicas baseadas em amido, proteínas, resíduos de frutas [12,13,47,78–82].

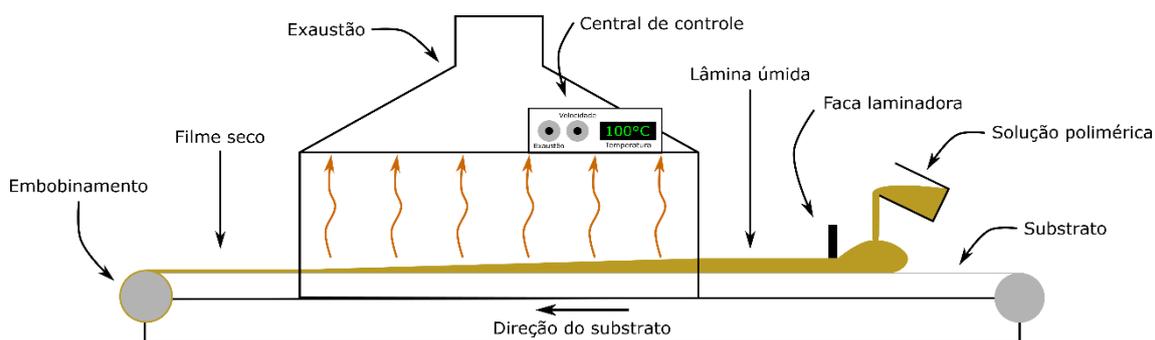


Figura 2.9 – Esquema representativo do casting contínuo de solução: versão da solução polimérica filmogênica sobre um substrato móvel, laminação desta solução, evaporação do solvente e obtenção do filme seco. Fonte: próprio autor.

Alguns pontos do CCS merecem atenção especial por serem centrais na obtenção de filmes e influenciarem diretamente suas características. O primeiro ponto refere-se ao formato da faca laminadora. Ao passar pela faca, as cadeias da solução polimérica na superfície da lâmina úmida sofrem um leve cisalhamento e alinham-se na direção de avanço do substrato. Quando não há mais ação cisalhante, as cadeias relaxam a deformação imposta pela faca e expandem-se, o que leva a um aumento na espessura da lâmina úmida. Por

conta disso, a faca laminadora possui pequena espessura em forma de vírgula, o que minimiza o inchamento da solução, além de ser posicionada a uma distância suficiente para formar a lâmina úmida e minimizar o cisalhamento. Menores velocidades do substrato têm o mesmo efeito. No entanto, isso leva a maiores tempos de secagem da lâmina úmida e compromete a produtividade do CCS [83].

A secagem (Figura 2.10b) é, junto ao ajuste da faca laminadora e da velocidade do substrato, uma das mais importantes etapas do processo. O objetivo é evaporar o solvente da lâmina úmida a fim de se obter o filme seco depositado sobre o substrato. Para tanto, considera-se que somente a superfície superior da lâmina está exposta ao ar da câmara de secagem e, por isso, a eliminação do solvente ocorrerá exclusivamente através dela. Sua parte inferior está em contato com o substrato e por ele bloqueada, não contribuindo significativamente ao processo; sua espessura pode ser desconsiderada uma vez que é muitas vezes menor do que as outras dimensões e contribui minimamente à evaporação do solvente. Este processo ocorre em duas etapas: evaporação das moléculas do solvente da superfície da lâmina e a difusão de outras moléculas da parte inferior até a superfície. Dessa forma, a concentração de solvente se reduz uniformemente ao longo da espessura da lâmina, levando a eficientes secagens e obtenção do filme polimérico [83].

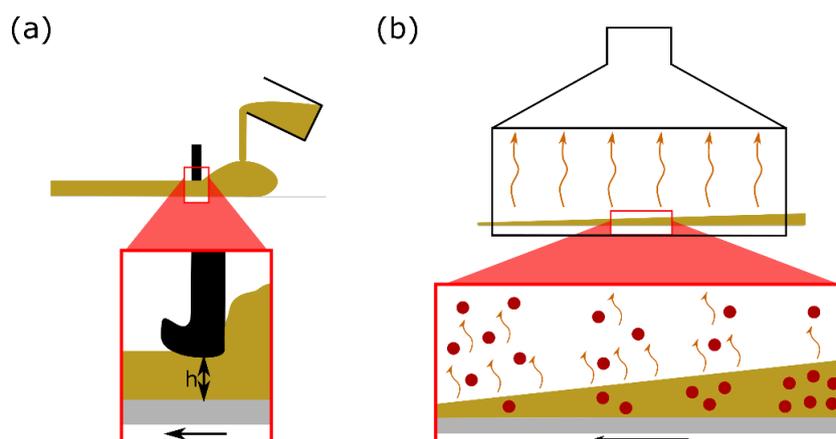


Figura 2.10 – (a) detalhe da passagem da solução sob a faca laminadora; h = altura da faca em relação ao substrato e (b) detalhe da secagem da lâmina úmida, com a difusão das moléculas de solvente para a superfície e a evaporação para a câmara. Fonte: próprio autor.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Desenvolvimento de filmes biodegradáveis de amido incorporados com ceras naturais

A revisão apresentada a seguir baseou-se na incorporação de antocianinas em filmes biodegradáveis e o impacto destas sobre suas propriedades.

Han e autores (2006) [81] produziram filmes de amido de ervilha e cera de abelha por casting de bancada. Micrografias mostraram domínios lipídicos distribuídos uniformemente na matriz, presentes em maior número quanto maior o teor de cera presente (de 0% a 40%, m/m, em relação à massa de amido). A espessura aumentou com o teor de cera, porém não se mostrou diferente estatisticamente entre os teores, comportamento que não foi explicado pelos autores. A resistência à tração e o alongamento na ruptura foram reduzidos em cerca de 20% e 60%, respectivamente, ao passo que o módulo elástico aumentou em 250% para as formulações com 30% (m/m) de cera presente. Tais resultados mecânicos não foram associados à morfologia ou à interação existente entre a cera de abelha e o amido de ervilha, inclusive sem apresentarem avaliações espectroscópicas no infravermelho dos filmes. A permeabilidade a vapor d'água foi reduzida em cerca de 20%, assim como a resistência à degradação térmica, ambos valores obtidos para formulações com 30% (m/m) de cera adicionada. Mais uma vez, os autores não indicaram os motivos que levaram às propriedades de barreira à água e de resistência térmica, somente induzindo que houve a formação de complexos amilose-lipídeos entre os componentes da cera e a matriz de amido, porém sem especificar quais.

Muscat e autores (2013) [84] obtiveram filmes de amido de milho com alta concentração de amilose e cera de abelha por casting de bancada, avaliando os efeitos da ausência e presença de Tween-80 (como surfactante) sobre as propriedades de tais filmes. Para os filmes sem surfactantes, a incorporação de 5% e 10% (m/m) de cera ao amido não alterou significativamente a resistência à tração e o módulo elástico dos filmes e aumentou em 50% o alongamento na ruptura, ao passo que a densidade dos filmes e a permeabilidade a vapor d'água foram reduzidas. A sorção de água na superfície foi medida e mostrou-se maior,

em contraponto à difusão de água através dos filmes, que foi reduzida. Os autores, no entanto, não mostraram a morfologia dos filmes e, portanto, não consideraram o efeito desta sobre as propriedades obtidas. Para os resultados de ensaio mecânico, atribui-se os valores encontrados à flexibilidade das cadeias dos componentes da cera de abelha. A redução na densidade foi explicada simples e unicamente pelo maior empacotamento da matriz, sem citar a causa, enquanto a redução na permeabilidade foi atribuída ao caráter hidrofóbico da cera de abelha. A adição dos surfactantes fez reduzir a resistência à tração e o módulo elástico e aumentar o alongamento na ruptura (devido à presença de grupos polares do Tween-80 que possibilitaram a plasticização da matriz), assim como aumentou também umidade e a permeabilidade a vapor d'água (devido aos mesmos grupos polares).

Oliveira e colaboradores (2018) [10] produziram filmes de amido de mandioca e cera de abelha por casting de bancada. Para isso, adicionaram duas concentrações diferentes de cera fundida (5% e 10%) a emulsões de óleo de girassol (2,5% e 5%), um surfactante natural aniônico, ambos em relação à massa seca de amido. A presença de cera aumentou o ângulo de contato superficial em 50% e reduziu a permeabilidade a vapor d'água em menos de 20%. Para o primeiro, atribuiu-se o aumento à hidrofobicidade dos componentes da cera de abelha que reduz as forças adesivas dos filmes e impede o espalhamento do líquido sobre suas superfícies. Para o último, a queda na permeabilidade foi atribuída à mudança das forças coesivas da matriz, porém os autores não citaram qual seria esta mudança tampouco como afetou a permeabilidade. A incorporação de cera tornou os filmes mais resistentes à decomposição térmica, fato atribuído à diferente cristalização da cera de abelha. Além disso, os autores não avaliaram o impacto dos diferentes teores de cera adicionados sobre as propriedades dos filmes, assim como negligenciaram a variação no teor de óleo de girassol adicionado.

Diyana e autores (2021) [85] produziram amido de mandioca termoplástico incorporado de cera de abelha por termo-prensagem em diferentes teores (2,5%, 5% e 10% em relação à massa de amido). Espectrometria no infravermelho mostrou interação entre as duas fases, fato comprovado pelas micrografias de fratura. A estabilidade térmica das amostras foi aumentada com a adição de cera, fato não explicado pelos autores. Resistência à tração e o alongamento na

ruptura foram reduzidos com o teor de cera e o módulo elástico permaneceu estatisticamente inalterado. Tais resultados foram explicados de diferentes formas, sendo devidos à morfologia heterogênea formada, à baixa resistência mecânica da cera de abelha, à baixa compatibilidade com a matriz e à interação entre grupos polares da cera e do amido que reduziram a elongação da matriz. Amostras com cera de abelha absorveram menores teores de água após 11 dias de análise e se mostraram menos solúveis em água, ambas propriedades dependentes do teor de cera adicionado. Estes resultados foram devidos ao caráter hidrofóbico da cera de abelha e à blindagem dos grupos hidroxila da matriz.

Recentemente, Luchesi, Moreira e Marconcini (2023) [13] incorporam cera de abelha a filmes de amido de milho utilizando o CCS. A técnica permitiu explorar mais eficientemente a interação cera/amido sem a adição de surfactantes ou compatibilizantes. Observou-se produtividade de $0,55 \text{ m}^2 \text{ h}^{-1}$, valor cerca de 50 vezes maior em relação às técnicas convencionais reportadas na literatura. A adição de teores crescentes de cera de abelha (30%, 50% e 70% em relação à massa seca de amido) reduziu a resistência à tração e o módulo elástico e aumentou o alongamento na ruptura. Estes efeitos foram mais pronunciados para os teores de 50% e 70% devido à incorporação massas de cera próximas àsquelas de amido, inclusive invertendo as fases para o maior teor. Sendo assim, as propriedades mecânicas dos filmes foram altamente dependentes da massa de cera presente. Além disso, não foram adicionados compatibilizantes superficiais entre as duas fases, levando à baixa adesão interfacial e queda nas propriedades mecânicas. O mais baixo teor adicionado mostrou propriedades mecânicas estatisticamente próximas às dos filmes sem cera, indicando que há um valor mínimo para o qual as propriedades são afetadas significativamente. Além disso, a adição de somente 30% de cera de abelha aumentou em 100% a hidrofobicidade superficial e reduziu em 200% a permeabilidade a vapor d'água dos filmes. Isto ocorreu devido à introdução de ondulações que reduziram a energia superficial, ao caráter hidrofóbico da cera, ao aumento do caminho percorrido por moléculas de água ao atravessar os filmes e à blindagem das hidroxilas da matriz de amido pela interação direta com grupos polares do lipídeo. Portanto, a incorporação de cera de abelha a filmes

de amido os tornou menos susceptíveis ao efeito da umidade, alcançando os objetivos propostos.

O processamento por CCS possibilitou que a cera fosse incorporada ao amido sem a necessidade de qualquer compatibilizante e, ainda assim, apresentasse microestrutura semelhante àquela obtida em trabalhos semelhantes que incorporaram teores menores deste lipídeo associados a compatibilizantes interfaciais e que mostraram propriedades iguais e/ou inferiores aos obtidos por Luchesi, Moreira e Marconcini (2023) [13]. As morfologias obtidas em outros trabalhos mostraram domínios de cera maiores, mesmo na presença de compatibilizantes, o que afeta diretamente as propriedades mecânicas, ao potencializar o baixo desempenho mecânico da cera de abelha, e as propriedades de barreira, ao introduzir menos desvios para as moléculas de água no interior dos filmes. Além disso, alguns compatibilizantes anularam o caráter hidrofóbico da cera devido a eles próprios serem altamente hidrofílicos e facilitarem a passagem de água.

Portanto, o uso do CCS para obtenção de filmes de amido incorporados de cera de abelha sem qualquer compatibilizante mostrou-se fundamental para torná-los menos susceptíveis à ação da água. Além disso, a escala de produção de tais filmes superou largamente a escala utilizada em laboratório, ampliando os limites de obtenção de filmes poliméricos naturais por técnicas simples e não degradantes a estes polímeros naturais. Logo, torna-se viável usar filmes de amido de milho e cera de abelha como base para sensores colorimétricos, seja devido às propriedades obtidas, seja pela produtividade capaz de suprir a altíssima produção de embalagens poliméricas.

3.2 Desenvolvimento de sensores colorimétricos amido/antocianinas

A revisão apresentada a seguir baseou-se na incorporação de antocianinas em filmes biodegradáveis e o impacto destas sobre as propriedades físicas desses materiais.

Abolghasemi e Sobhi (2016) [86] obtiveram filmes sensoriais de agarose incorporados com antocianinas extraídas da uva. Os filmes produzidos mostraram baixo tempo de resposta (3 minutos), alterando sua cor prontamente

com a variação de pH, altas repetibilidade e estabilidade de cor e, na avaliação dos autores, não mostrou exsudação aparente do corante. Os autores não avaliaram outras propriedades físicas dos filmes, não sendo possível avaliar o impacto das antocianinas de uvas sobre o comportamento mecânico ou de barreira à água de tais filmes.

Choi e autores (2017) [30] produziram filmes sensoriais de amido de batata por casting de bancada incorporados com antocianinas de batata-doce. Foi mostrado que os filmes sensoriais variaram de cor com o pH (vermelho, rosa, lilás, azul e verde, de meio ácido para básico). Quanto à resposta colorimétrica em presença de carne de porco, os filmes sensoriais mostraram-se sensíveis aos voláteis emitidos durante o envelhecimento das amostras, variando de vermelho à marrom em cerca de 20h. Não foram avaliadas propriedades mecânicas ou de barreira à água dos filmes.

Zhai e colaboradores (2017) [17] produziram filmes sensores de amido e poli(vinil álcool) incorporados com antocianinas extraídas das pétalas de hibisco. A incorporação de antocianinas aumentou a compatibilidade entre o amido e o PVA e reduziu o teor de umidade dos filmes, uma vez que suas hidroxilas blindaram as hidroxilas do amido, impedindo a interação da água com estes grupos. A resistência à tração foi reduzida ao passo que o alongamento na ruptura aumentou com o teor de antocianina. Os autores determinaram que os filmes com os menores teores de antocianina (30mg e 60mg a cada 100g de amido) mostram-se mais sensíveis aos voláteis da deterioração de amostras de peixe.

Dudnyk e colaboradores (2018) [16] produziram filmes colorimétricos de pectina por casting com a incorporação de antocianinas extraídas de repolho-roxo. A sensibilidade dos filmes foi medida por um pré-teste de exposição a vapores de compostos aminados por 24h – todos os filmes avaliados tiveram mudança de cor com o tempo, fato causado pelo acúmulo de compostos de amina. Os testes com amostras de carne vermelha, camarão, peixe e frango mostraram alteração de cor com o tempo, sinal de que os filmes foram sensíveis aos voláteis liberados durante o processo de decomposição das amostras. Os autores realizaram testes dinâmico-mecânicos dos filmes sob aquecimento a $4^{\circ}\text{C min}^{-1}$ de 4°C até 70°C , porém se limitaram a citar que a introdução de

plasticizantes reduziu a T_g dos filmes e possibilitou que estes fossem dobrados ao meio sem fraturarem.

Qin e autores (2019) [8] obtiveram filmes colorimétricos pela incorporação de antocianinas extraídas de uma fruta típica da Ásia, o goji preto, em filmes de amido de mandioca. As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas, sendo que a resistência à tração aumentou dentro do desvio-padrão e a deformação na ruptura diminuiu com a incorporação das antocianinas. A permeabilidade à vapor d'água foi reduzida com o teor de antocianinas. Por fim, os filmes mostraram-se sensíveis a compostos de amina, alterando a cor com o aumento na concentração do extrato.

Mei e autores (2020) [32] desenvolveram filmes de amido de sagu incorporados com antocianinas de gengibre. A espessura e a umidade dos filmes aumentaram com o teor de antocianinas, ao passo que a permeabilidade a vapor d'água foi reduzida. A incorporação dos extratos reduziu a resistência à tração e o módulo elástico e aumentou o alongamento dos filmes. Os filmes com maior concentração de antocianinas mostraram alterações de cor mais intensas, possíveis de serem detectadas a olho nu.

Koshy e colaboradores (2021) [87] produziram filmes de amido de batata e nano estruturas de carbono por casting de bancada incorporados de extratos de flores de cunhã. A presença do extrato não alterou a espessura dos filmes, porém aumentou sua umidade e grau de inchamento e reduziu a solubilidade. A interação com as nano estruturas de carbono também não alterou a espessura, mas reduziu umidade e solubilidade. A incorporação do extrato e das nano estruturas aumentou a resistência à tração e o alongamento na ruptura. Os filmes variaram de cor com o pH, de vermelho a azul, de azul a verde e de verde a marrom, independente da presença das nano estruturas de carbono. Quando submetidos a atmosferas ricas em voláteis de amônia, os filmes de cor mudaram completamente de cor em menos de 5 minutos, indicando relativa sensibilidade a tais voláteis.

Vedove, Maniglia e Tadini (2021) [88] obtiveram filmes extrudados de amido termoplástico de mandioca incorporados com antocianinas extraídas de cascas de uva. A resistência à tração e o módulo elástico foram reduzidos com as antocianinas, que agiram como plasticizantes. Na direção oposta, a

hidrofobicidade superficial dos filmes aumentou. Os testes de mudança de cor indicaram mudanças estatisticamente significativas, porém sutis ao olho nu.

Zhu e autores (2021) [89] obtiveram filmes de amido de mandioca e PVA por casting de bancada incorporados com extratos de cascas de uva ou de cascas de mangostão. Os extratos tornaram os filmes mais resistentes à tração e reduziram o alongamento na ruptura. Não foram percebidas mudanças significativas nas propriedades dos filmes entre os dois extratos. Os autores observaram que a incorporação do extrato de cascas de uva provocou uma variação de vermelho a marrom, de marrom a verde e de verde a amarelo, ao passo que a incorporação do extrato de cascas de mangostão alterou a cor de vermelho a verde e de verde a marrom (para ambos, partindo de um pH ácido). A cor dos filmes se manteve após 14 dias segundo avaliação dos autores. Além disso, os filmes mostraram-se sensíveis a presença de voláteis, alterando perceptivelmente suas cores após 24h de exposição a carne de porco em decomposição.

Luz e colaboradores (2023) [9] produziram filmes de amido de fruta de lobeira e antocianinas de cascas de jaboticaba por casting de bancada. A solubilidade em água e a permeabilidade a vapor d'água aumentaram com a incorporação do extrato, assim como a resistência à tração e o alongamento na ruptura. A cor dos filmes só foi alterada para valores de pH maiores que 9, indicando estabilidade.

Com base na revisão da literatura apresentada, fica evidente que o uso de polímeros biodegradáveis e de fonte renovável para obtenção de sensores colorimétricos é recorrente, empregando-se também as mais diferentes fontes de antocianinas. Os filmes mostraram-se sensíveis aos voláteis analisados independentemente tanto da matriz polimérica quanto das antocianinas empregadas, evidenciando a versatilidade destes filmes na produção de embalagens inteligentes por casting. Fica evidente também que as diversas técnicas para incorporação de antocianinas em filmes biodegradáveis carecem de escala de produção, o que é desejável para o desenvolvimento de embalagens inteligentes.

Antocianinas podem ser extraídas de diversas fontes abundantes. Porém, é atrativo explorar outras fontes de antocianinas que não concorram, mas sim que agreguem valor a outras cadeias de produção de produtos de origem vegetal. A

literatura sobre o uso de resíduos como fonte de antocianinas foi explorada e, baseado nos trabalhos encontrados, foram escolhidas as pétalas de hibisco, as brácteas de bananas e as cascas de jabuticaba (Figura 3.1), três fontes de fácil acesso, abundantes, baratas e pouco utilizadas.

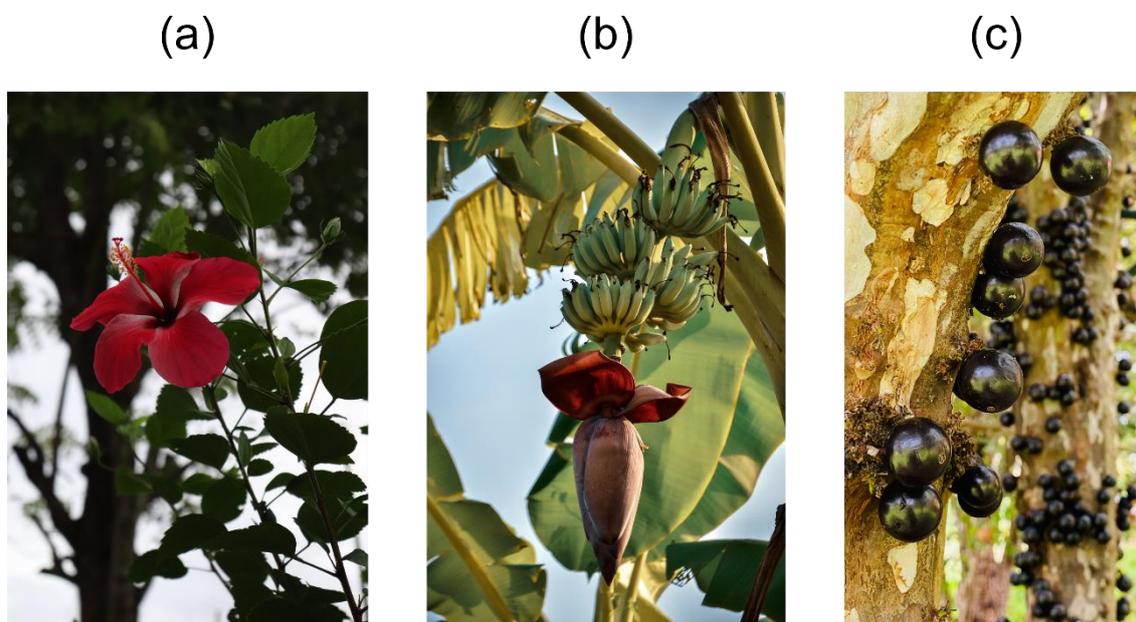


Figura 3.1 – Fontes de antocianinas: (a) pétalas de hibisco; (b) brácteas de banana; e (c) cascas de jabuticaba. Imagens sem direitos autorais encontradas em bancos de dados gratuitos.

Além disso, foi considerado o teor de antocianinas de cada uma a fim de se otimizar o processo e garantir alta produtividade também nesta etapa do desenvolvimento dos filmes colorimétricos (951, 250 e 1113 mg L⁻¹, respectivamente para pétalas de hibisco, brácteas de banana e cascas de jabuticaba) [17,90,91]. A produção nacional de jabuticabas foi de 3,7 mil toneladas em 2017, segundo dados mais recentes divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (disponível em <https://www.ibge.gov.br/explica/produção-agropecuaria/jabuticaba/br>). Parte desse montante foi destinado ao consumidor interno comum, que descarta as cascas após a ingestão da polpa. Logo, o uso desta fonte para obtenção de antocianinas visa valorizar um resíduo que seria descartado ou, na melhor das hipóteses, usado como adubo natural em plantações particulares. Já para as brácteas de bananas, é recomendado cortá-las para favorecer o acúmulo de

nutrientes no fruto e seu consequente desenvolvimento [92]. Após o corte, as brácteas são descartadas ou simplesmente usadas como adubo. Visando valorizar este resíduo, propôs-se usar as brácteas como fonte para obtenção de antocianinas

Assim, a revisão da literatura apresentada denota o potencial da combinação de amido com ceras naturais para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis com maior resistência aos efeitos da umidade. A formação deste sistema associa, em um mesmo material, dois componentes de fonte renovável e que são biodegradáveis. Tais filmes são ideias para aplicação como sensores colorimétricos, uma vez que a umidade interfere negativamente na capacidade destes sensores de interagir com analitos [7,93]. No entanto, nenhum trabalho foi realizado nesta direção. Apesar de a literatura sobre a obtenção de filmes sensoriais colorimétricos a base de antocianinas ser vasta, pouquíssimos abordam sua incorporação em filmes de amido e ceras de abelha. Se considerar o modo de obtenção dos filmes, esta tese se coloca como o único a obter filmes sensoriais de amido, cera de abelha e antocianinas por CCS, o que representa um avanço em relação às técnicas já exploradas de obtenção de sensores colorimétricos.

O casting de bancada, apesar de trazer as propriedades desejáveis em sensores, tal como a mínima degradação das antocianinas durante o processamento, é pouco produtivo e não seria capaz de suprir a demanda por embalagens inteligentes em escala comercial. A extrusão, apesar de ser altamente produtiva, degrada facilmente as antocianinas e inviabiliza quaisquer tentativas de se obter sensores eficientes [76,77]. Assim, a hipótese geral desta tese de doutorado foi centrada no CCS como método de produção de filmes colorimétricos baseados em antocianinas com mínima degradação destes compostos, logo preservando suas propriedades sensoriais. Os filmes de amido, cera de abelha e antocianinas foram utilizados neste trabalho com o intuito de se produzir sensores biodegradáveis mais resistentes à umidade, e, portanto, mais adequados para aplicação como embalagens inteligentes.

4 OBJETIVOS

A presente tese de doutorado se insere no contexto geral das pesquisas realizadas pelo PPGCEM/UFSCar e Embrapa Instrumentação, concernentes ao desenvolvimento de materiais multifuncionais de fonte renovável. Teve-se como objetivo geral desta tese o desenvolvimento de sensores colorimétricos biodegradáveis baseados em amido, cera de abelha e antocianinas por casting contínuo de solução para aplicação como embalagens inteligentes. Foram definidos como objetivos específicos:

- Avaliar a incorporação de antocianinas extraídas de pétalas de hibisco, brácteas de banana e cascas de jabuticaba em filmes compostos amido/cera de abelha.
- Avaliar as condições de processamento no casting contínuo (temperatura, espessura da lâmina úmida e velocidade) sobre a estabilidade e sensibilidade da resposta colorimétrica dos filmes amido/cera de abelha/antocianinas.
- Avaliar o efeito da incorporação de antocianinas nas propriedades mecânicas e de barreira à vapor d'água de filmes amido/cera de abelha;
- Avaliar os filmes amido/cera de abelha/antocianinas como sensores colorimétricos.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais

O amido de milho regular (72%, m/m, amilopectina e 28%, m/m, amilose) utilizado foi fornecido pela Ingredion (São Paulo – SP). Glicerol (99,5% de pureza) foi fornecido por Dinâmica Contemporânea LTDA (Diadema – SP). Álcool etílico (99,5%) foi fornecido por LAC (Araraquara – SP). A cera de abelha (ponto de fusão em 65°C) foi adquirida de Wendel & Mecca Produtos Naturais (São Carlos – SP), com teor de pureza próximo a 100%. A cera está listada na RDC nº 326 do Ministério da Saúde, que estabelece uma lista positiva de aditivos usados em materiais poliméricos para contato direto com alimentos.

As pétalas de hibisco desidratadas foram adquiridas de Dória Produtos Naturais (São Carlos – SP) e foram usadas como padrão para o projeto dada a vasta literatura disponível sobre antocianinas extraídas desta fonte, além da disponibilidade imediata do produto. As principais antocianinas encontradas em pétalas de hibisco são delfinidina-3-sambubiose e cianidina-3-sambubiose, mais abundantes, além de delfinidina-3-glicose e cianidina-3-glicose, presentes em menor quantidade [94,95]. As estruturas destas quatro antocianinas são mostradas na Figura 5.1.

As cascas de jabuticaba foram retiradas dos frutos comprados em supermercados e quitandas locais de São Carlos – SP e de produtores de Casa Branca – SP. A principal antocianina encontrada em cascas de jabuticaba é a cianidina-3-glicose (Figura 5.1) [96,97].

As brácteas (ou corações de banana) foram obtidos de plantações particulares de São Carlos – SP e São José do Rio Pardo – SP. Cianidina-3-rutinose, em maior quantidade, peonidina-3-glicose e cianidina-3-glicose (mostradas na Figura 5.1) são as antocianinas mais comuns em brácteas [91,98].

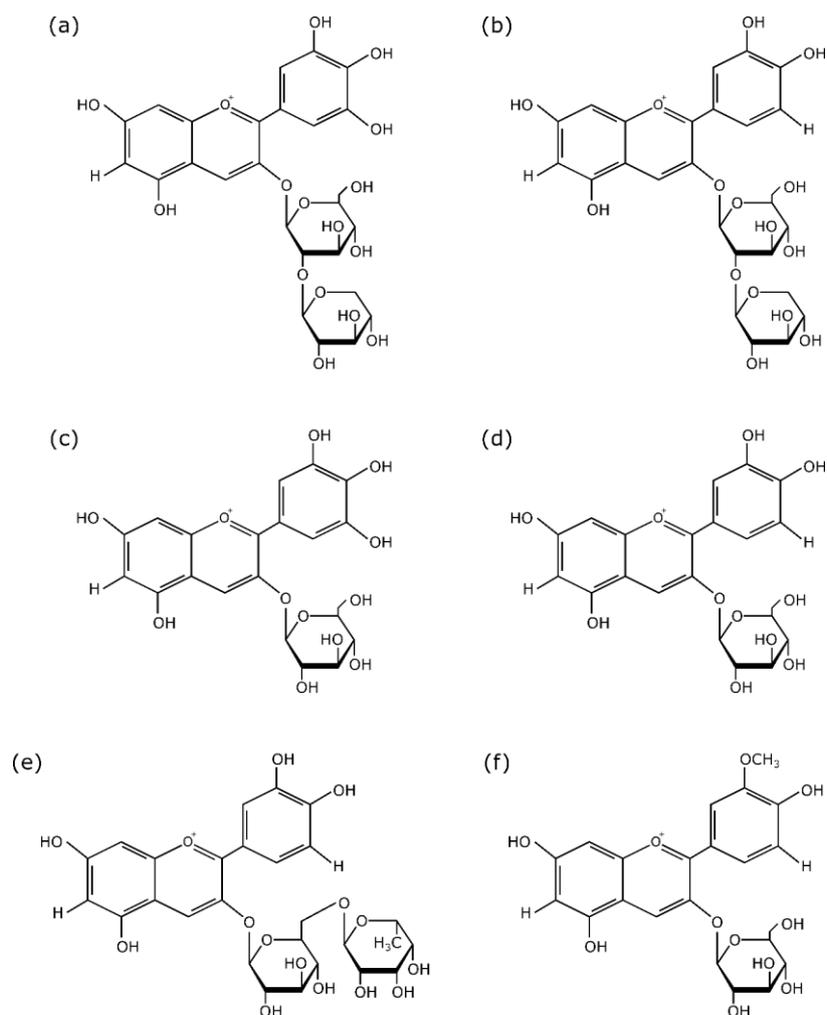


Figura 5.1 – Estruturas das antocianinas presentes nas fontes utilizadas no projeto: (a) delphinidina-3-sambubiose, (b) cianidina-3-glicose, (c) delphinidina-3-glicose, (d) cianidina-3-glicose, (e) cianidina-3-rutinoside e (f) peonidina-3-glicose. Fonte: próprio autor.

5.2 Métodos

5.2.1 Pré-tratamentos das fontes de antocianinas

Previamente à extração das antocianinas, as pétalas de hibisco desidratadas (PHD) foram moídas em moinho de facas (Solab Willey SL-31) equipado com uma peneira seletora de abertura 1,5 mm, sendo armazenadas em embalagem plástica selada para evitar o contato das partículas obtidas com umidade e sujidades. Para as brácteas (BBL), as folhas foram lavadas

individualmente, centrifugadas, cortadas à mão, congeladas por 2 dias, liofilizadas por 5 dias e moídas em moinho de facas (Solab Willey SL-31) equipado com peneira seletora de abertura 1,5 mm. As partículas obtidas foram armazenadas em embalagem plástica selada para evitar contato com umidade e sujidades. Para a jabuticaba (CJL), após a retirada da polpa, as cascas foram lavadas, centrifugadas, congeladas por 2 dias e liofilizadas por 5 dias. O sólido com teor de umidade próximo a zero foi macerado em cadinho cerâmico até se obter partículas menores que 1,5 mm, armazenadas em embalagem de vidro selada para evitar contaminações.

5.2.2 Extração das antocianinas

As antocianinas foram extraídas com solução etanólica através de um processo assistido por ultrassom. Propôs-se o delineamento experimental para se determinar as combinações de fatores do processo que resultaram na maior concentração total de antocianinas (CTA). Com base nas condições encontradas na literatura [17,99,100], variou-se a proporção de etanol em água (de 25% a 75%, v/v), o tempo de extração (10 a 30 minutos), a amplitude do sonificador de ponteira (Branson SFX550) (de 30% a 70%) e o teor de sólidos empregado (de 1:10 a 1:50, m/v), mantendo-se constantes potência e frequência do processo (550 W e 20 kHz, respectivamente). Após a extração seguindo cada combinação de fatores, os extratos foram filtrados à vácuo em um funil de Buchner.

A concentração total de antocianinas (CTA) dos extratos foi determinada usando um espectrômetro UV-Vis (Shimadzu, modelo UV-1600, acompanhado pelo software UVProbe 2.31), baseado na metodologia proposta por Lee e autores (2001) [101]. Alíquotas de 0,5mL foram adicionadas a 4,5mL de KCl 0,025M (pH = 1) e a 4,5mL de acetato de potássio 0,4M (pH = 4,5) em tubos separados. A absorbância dos extratos foi medida a 522nm (A_{522}) e 700nm (A_{700}) e o CTA, determinado segundo a equação 5.1, é dado em unidades equivalentes de cianidina-3-glucosídeo (c3g equivalente), prática comum e aceita para quantificação de antocianinas.

$$CTA = \frac{[(A_{522} - A_{700})_{pH=1} - (A_{522} - A_{700})_{pH=4,5}] M_{\omega} DF}{eL} \quad (\text{eq. 5.1})$$

Onde M_{ω} = massa molar = 449,2 g mol⁻¹, DF = fator de diluição = 10, e = coeficiente de extinção molar = 26900 L cm⁻¹ mol⁻¹ e L = distância óptica = 1 cm.

Determinada a combinação de fatores, seguidas extrações foram realizadas até que se obtivesse um volume suficiente de extrato. Anteriormente à obtenção das soluções filmogênicas, tais extratos foram levados a uma estufa à vácuo (Nova Ética) por 12h a 50 °C para completa evaporação do etanol. Este procedimento foi aplicado para todos os extratos uma vez que o etanol não é solvente para o amido, dificultando o processo de gelatinização. Após este período, o volume de solvente do extrato PHD foi corrigido com água deionizada ao valor inicial anterior à estufa. Para o extrato BBL, o volume de solvente também foi corrigido ao inicial anterior à estufa. Para o extrato CJL, o volume inicial anterior à estufa foi diluído 10x, visto que a jabuticaba é uma fruta sazonal, não encontrada em qualquer época do ano. Logo, diluir o extrato significa torná-lo disponível e aumentar a produtividade na obtenção dos filmes por CCS.

5.2.3 Caracterização dos extratos de antocianinas

Os extratos PHD, BBL e CJL foram caracterizados quanto à cor em diferentes valores de pH. Para isso, foram diluídos em água deionizada (1:10, v/v) e o pH variado com auxílio de soluções de ácido clorídrico 1M e/ou hidróxido de sódio 5M até que os valores fossem obtidos com variação de até ± 0,15. As soluções foram submetidas a ensaios em UV-Vis (Shimadzu, modelo UV-1600, acompanhado pelo software UVProbe 2.31).

A densidade dos extratos foi obtida determinando-se a massa de 2 mL de amostra com o uso de uma micropipeta, medidas em triplicata. Os extratos foram também submetidos a ensaios de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) (espectrofotômetro Bruker Vertex 50) no modo de reflectância total atenuada (ATR) para determinação dos grupos funcionais presentes, medidas feitas em triplicata entre 400 e 4000 cm⁻¹, resolução de 1 cm⁻¹.

¹ e 32 varreduras por medida. O teor de sólidos dos extratos foi determinado em uma balança térmica Marte ID-50 a 105°C até que a massa restante não variasse mais que 0,01% (m/m) por 30 segundos. Todas as medidas foram feitas em triplicata.

5.2.4 Obtenção das soluções filmogênicas

A Figura 5.2 traz o fluxograma de obtenção das soluções filmogênicas de amido de milho, cera de abelha e extratos de PHD, BBL e CJL.

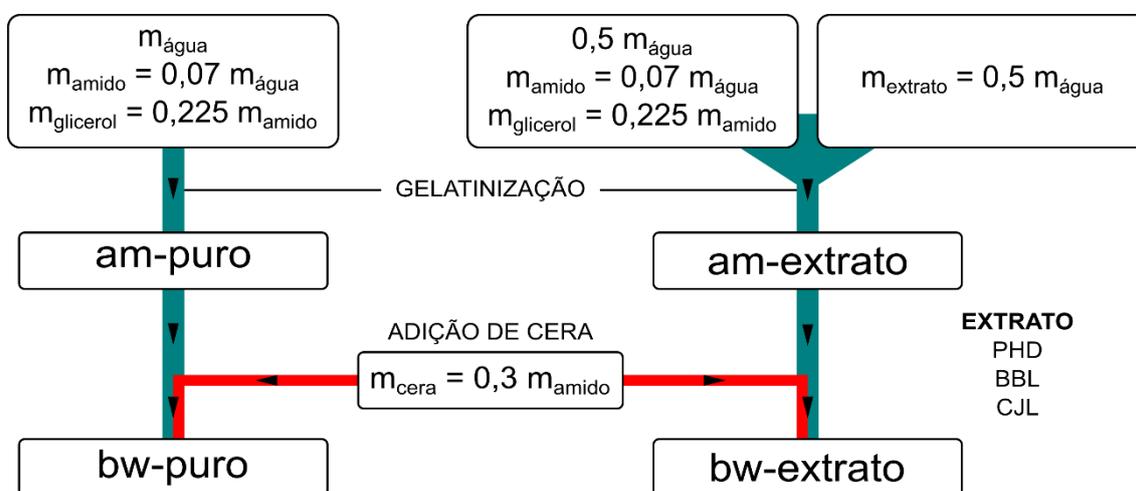


Figura 5.2 – Fluxograma de obtenção das soluções filmogênicas, em que PHD = pétalas de hibisco desidratadas, BBL = brácteas de banana liofilizadas e CJL = cascas de jabuticaba liofilizadas.

Para a obtenção do filme de amido de milho puro (am-puro), foi preparada uma mistura aquosa contendo 1,575% (m/m) de glicerol, mantida sob agitação mecânica, e 7% (m/m) de amido de milho (de forma que o glicerol representasse 22,5%, m/m, em relação à massa seca de amido). O teor de glicerol usado garantiu que não houvesse a formação de uma fase rica em plasticizante, mas sim que este estivesse distribuído e disperso no amido. A mistura resultante foi mantida sob agitação mecânica constante a 80°C por 30 min em banho de água até a completa gelatinização do amido. A essa solução gelatinizada, foram adicionados 30% de cera de abelha (m/m, em relação à massa seca de amido),

mantendo-se a agitação mecânica constante e a temperatura de 80°C por 5 min até que a cera fosse completamente fundida e uniformemente distribuída na solução.

Para a obtenção das soluções filmogênicas com as antocianinas, foi preparada uma mistura aquosa contendo o extrato PHD, BBL ou CJL (50:50, v/v) e 1,575% (m/m) de glicerol, mantida sob agitação mecânica, em que foram adicionados 7% (m/m) de amido de milho (de forma que o glicerol representasse 22,5%, m/m, em relação à massa seca de amido). A gelatinização de amido foi realizada equivalentemente ao procedimento adotado para as soluções sem extrato.

5.2.5 Caracterização reológica das soluções filmogênicas

As soluções filmogênicas foram submetidas a ensaios reológicos em reômetro de cilindros concêntricos (Anton Paar Physica MCR 301). Em um primeiro momento, foi determinada a temperatura de gelatinização das soluções filmogênicas base am-puro, am-PHD, am-BBL e am-CJL, com uma rampa de aquecimento de 5°C min⁻¹ de 25 a 80°C, isoterma a 80°C por 30 minutos e taxa de cisalhamento constante igual a 2000 s⁻¹, simulando o processo de gelatinização do amido descrito no item 5.2.4. Depois, a viscosidade das soluções filmogênicas foi determinada variando-se a taxa de cisalhamento entre 0,1 e 100 s⁻¹ e mantendo a temperatura constante em 80°C. Para as formulações com cera de abelha, este componente foi adicionado segundo a proporção estabelecida (30%, m/m, em relação à massa seca de amido). Os valores de índices da lei de potências e da consistência de cada solução foram determinados nesta etapa. Todas as medidas foram realizadas em triplicata.

5.2.6 Obtenção dos filmes colorimétricos por casting contínuo

As soluções filmogênicas amido/cera de abelha descritas no item 5.2.4 foram submetidas ao CCS em um equipamento de laminação Mathis KTF-S-B (Figura 5.3), utilizando-se $h_{\text{faca}} = 1,8$ mm, velocidade do substrato = 0,10 m min⁻¹,

temperaturas nas estufas de 100°C e 120°C (estufas 01 e 02, respectivamente), intensidade de exaustão em ambas as estufas igual a 5 e infravermelho à temperatura aproximada de 60°C.

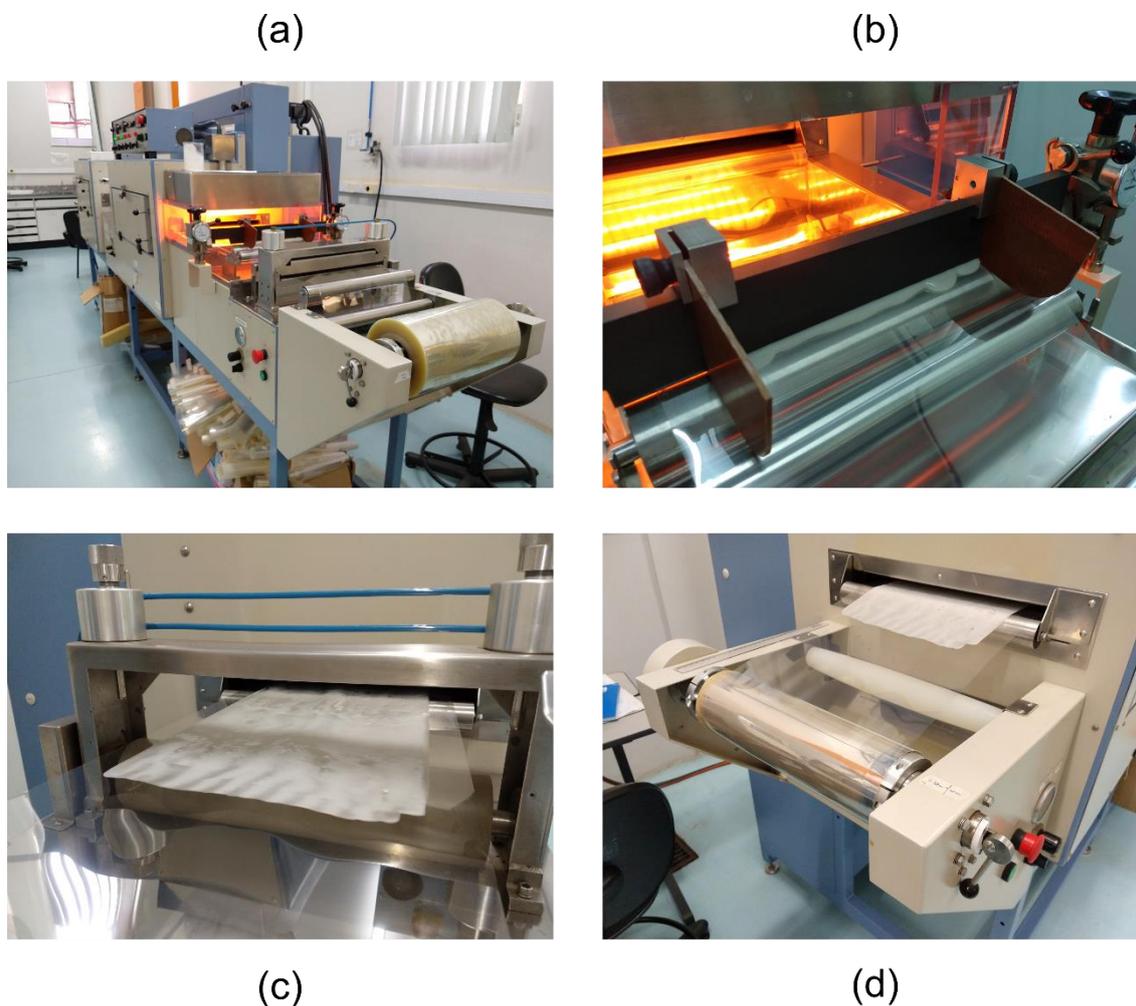


Figura 5.3 – Obtenção dos filmes sensoriais por CCS: (a) visão geral do equipamento; (b) versão e laminação da solução filmogênica; (c) lâmina após estufa 01; e (d) filme seco após estufa 02 e embobinamento.

Dos filmes obtidos foram retiradas amostras para os ensaios mecânicos, térmicos, óticos e outras caracterizações químicas e físicas, bem como permeação ao vapor d'água e ângulo de contato, a fim de se avaliar a interação dos extratos com os filmes em função da concentração de cera de abelha e do tipo de extrato adicionados.

5.2.7 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Ensaio térmico foi realizado em equipamento Q100 (TA Instruments) para avaliar a possibilidade de degradação térmica dos extratos durante o processamento das soluções filmogênicas por CCS (item 5.2.4). Assim, aproximadamente 10 mg dos extratos foram submetidos a isoterma a 120°C por 60 minutos em atmosfera oxidativa com fluxo constante de O₂ a 50 mL min⁻¹ e em panelas herméticas, identificando quaisquer alterações nas curvas obtidas que nelas indicassem degradação. A temperatura escolhida é a máxima utilizada em todo o CCS e o tempo escolhido é aproximadamente igual à duração da gelatinização e do processamento por CCS somados. Foi realizada uma repetição por tipo de extrato.

5.2.8 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise de espectroscopia no infravermelho dos extratos e dos filmes colorimétricos foi realizada em um espectrofotômetro Bruker Vertex 50 através da técnica de reflectância total atenuada (ATR) em ambiente com umidade relativa controlada a 54%. Foram feitas 32 acumulações espectrais por amostra, com resolução de 1 cm⁻¹ na faixa de 4000 cm⁻¹ até 400 cm⁻¹. Esta análise foi realizada para se avaliar a composição dos extratos e sua interação com o amido de milho e a cera de abelha dos filmes pelo estudo de suas bandas vibracionais.

5.2.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Microscopia eletrônica de varredura a partir da fratura criogênica em N₂ líquido e da fratura após ensaio mecânico dos filmes foram realizadas em um microscópio JEOL JMS 6510, com tensão de aceleração do feixe de elétrons em 5 kV, distância focal de 11 mm, aumento de 500x e recobrimento com ouro. Tal caracterização foi realizada para avaliar a morfologia dos filmes sensoriais colorimétricos.

5.2.10 Difração de raios-X (DRX)

Análises de difratometria de raios-X dos filmes foram realizadas em um equipamento Lab X-XRD 6000 (Shimadzu), de 5° a 55° de 2θ e velocidade de varredura de 2° min⁻¹. O índice de cristalinidade (IC, %) dos filmes foi calculado segundo a equação 5.2.

$$IC (\%) = \left(\frac{\sum A_{cristalino}}{A_{total}} \right) \times 100\% \quad (\text{eq. 5.2})$$

Sendo $\sum A_{cristalino}$ = somatório das áreas sob os picos cristalinos e A_{total} = somatório de todas as áreas sob cada pico de difração. As áreas sob os picos foram obtidas pela deconvolução do difratograma em picos de difração individuais através da técnica de deconvolução Gaussiana dos picos de difração no software MagicPlot Student.

5.2.11 Ensaios mecânicos de tração

Os filmes sensoriais colorimétricos foram submetidos a ensaios mecânicos de tração em um texturômetro TA.XT.Plus, com amostras medindo 50 mm x 10 mm, distância entre garras de 30 mm e velocidade estiramento de 10 mm min⁻¹, conforme adaptação da metodologia proposta em trabalhos anteriores do grupo [13,102]. Tais ensaios foram realizados a fim de se analisar o efeito da adição dos extratos e da cera de abelha na resistência à tração, alongamentos na tensão máxima e na ruptura e no módulo elástico dos filmes. Foram ensaiados 7 corpos-de-prova por tipo de filme.

5.2.12 Determinação da umidade

Amostras dos filmes foram condicionadas por 72h a 54% de umidade relativa anteriormente à determinação da umidade em uma balança Marte ID50 à temperatura de 105°C. Para este equipamento, as condições de equilíbrio foram de uma variação de massa menor que 0,01% mantida por 30 segundos. As

medidas foram realizadas em triplicata.

5.2.13 Determinação da densidade

A densidade nominal foi determinada pela razão entre a massa e o volume de uma amostra de 20 x 20 mm dos filmes. O volume foi determinado pelo produto entre a área de cada amostra e sua espessura, todas as medidas feitas em triplicata.

5.2.14 Determinação do ângulo de contato estático e energia superficial

Análises de ângulo de contato foram realizadas mediante deposição de gotas de água deionizada em amostras dos filmes usando, para isso, um equipamento KSV-CAM 101 operado pelo software cam2008, em uma corrida de 180 segundos por amostra. Os valores de ângulo de contato foram utilizados para se determinar as energias interfaciais de cada amostra com a água e com o ar de acordo com a equação 2.3 [74]. As medidas foram realizadas em triplicata.

5.2.15 Determinação da permeabilidade a vapor d'água

A permeação de vapor d'água dos filmes foi analisada segundo a norma ASTM E96 (2016) [103]. Um volume de 20 mL de água deionizada foi adicionado a um recipiente selado pelas amostras de filme. Os recipientes foram, então, colocados em uma estufa a 32°C e pesados em intervalos de tempo a fim de se determinar a perda de massa do sistema. A permeabilidade (WVP) foi obtida segundo as equações descritas na norma (equações 5.3 e 5.4).

$$WVT = \frac{\Delta m / \Delta t}{A} \quad (\text{eq. 5.3})$$

$$WVP = \frac{WVT}{S_{par} (R1 - R2)e} \quad (\text{eq. 5.4})$$

Com WVT = fluxo de transmissão de vapor d'água ($\text{g h}^{-1} \text{m}^{-2}$), $\Delta m/\Delta t$ = inclinação da região de linearidade do gráfico de perda de massa (g) por tempo (h), A = área do filme disponível para a permeação (m^2), WVP = permeação ao vapor d'água ($\text{g h}^{-1} \text{m}^{-1} \text{Pa}^{-1}$), S_{par} = pressão parcial do vapor d'água em 32°C (Pa), R_1 = umidade relativa dentro do recipiente = 1, R_2 = umidade relativa no ambiente = 0,54 e e = espessura do filme (m). As medidas foram realizadas em triplicata.

5.2.16 Determinação da cores dos filmes

As cores dos filmes foram medidas com o auxílio de um colorímetro CR-400 Chroma Meter (Konica Minolta), registrando os parâmetros L , a e b e processando-os segundo as equações 5.5, 5.6 e 5.7 para se obter os valores de luminosidade, intensidade e tonalidade, respectivamente. As medidas foram feitas em triplicata.

$$\text{Luminosidade} = L \quad (\text{eq. 5.5})$$

$$\text{Intensidade de cor} = (a^2 + b^2)^{1/2} \quad (\text{eq. 5.6})$$

$$\text{Tonalidade} = \arctg(a/b) \quad (\text{eq. 5.7})$$

5.2.17 Determinação da eficiência sensorial dos filmes

A eficiência dos filmes em detectar substâncias básicas voláteis foi analisada segundo metodologia adaptada de Xiao-wei e autores (2014). Amostras circulares dos filmes (diâmetro de 14 mm) foram condicionadas por 72h à umidade relativa de 54%. Após o condicionamento, foram colocadas em tampas de tubos de 5 mL e 14 mm de diâmetro preenchidos com 2 mL de hidróxido de amônio 33% (Sigma-Aldrich). Os tubos foram fechados e, com o auxílio de um colorímetro CR-400 Chroma Meter (Konica Minolta), os parâmetros L , a e b foram registrados a cada minuto até que não mais se alterassem. Para cada minuto de análise, a variação de cor ΔE foi calculada, usando como referência os valores de L , a e b das amostras antes da análise. A equação 5.8 traz a determinação de ΔE a partir de L , a e b .

$$\Delta E = ((L - L^*)^2 + (a - a^*)^2 + (b - b^*)^2)^{1/2} \quad (\text{eq. 5.8})$$

As medidas foram feitas em triplicata. A Figura 5.4 traz um esquema representativo da análise.

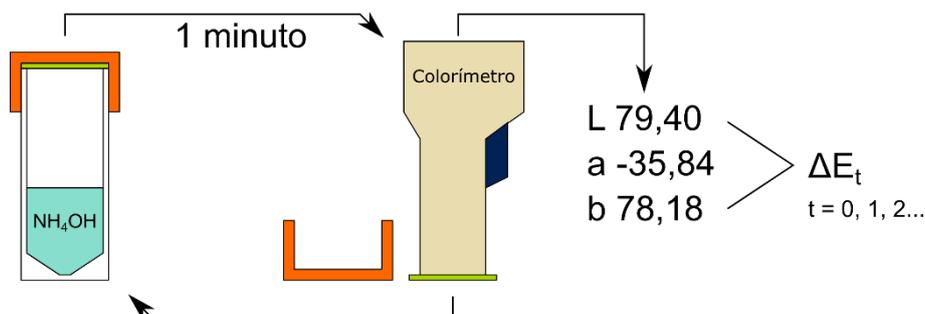


Figura 5.4 – Esquema representativo para avaliação da eficiência dos filmes sensoriais colorimétricos, sendo ΔE_t = variação de cor no instante t.
Fonte: próprio autor.

A partir desta mesma metodologia, a concentração mínima detectável (CMD) de amônia volatilizada e capaz de alterar significativamente a cor dos filmes foi determinada. Para tanto, foram utilizadas soluções de hidróxido de amônio (Sigma-Aldrich) em três concentrações diferentes (33%, 10% e 5%, m/v, em relação ao volume de água deionizada da solução). Os valores de L, a e b após 6 minutos foram registrados e, com eles, a variação de cor ΔE foi calculada. A CMD foi considerada aquela em que a diferença entre dois valores consecutivos de ΔE não seria percebida ao olho humano. As medidas foram feitas em triplicata.

5.2.18 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise estatística de variância de uma variável (*one-way ANOVA*) com o auxílio do software Minitab. As médias entre amostras foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade de 5% ($p < 0.05$).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Extração assistida por ultrassom

O planejamento experimental para extração de antocianinas a partir de PHD determinou que as condições de processo que renderam a maior CTA foram 25% (m/m) de etanol em água deionizada, 30% de amplitude e teor de sólido-solvente de 1:10 (g/mL), com CTA teórica igual a 308 mg/L (c3g equivalente ou 3,08 mg/g na base seca). O tempo não influenciou a CTA significativamente no intervalo analisado (entre 10 e 30 minutos), o que levou a um teste cinético variando-se o tempo fora deste intervalo. Para tanto, foram considerados os tempos de $t = 0,5, 1, 3, 5, 10$ e 20 minutos de extração, avaliando-se a CTA para cada um. O resultado é mostrado na Figura 6.1.

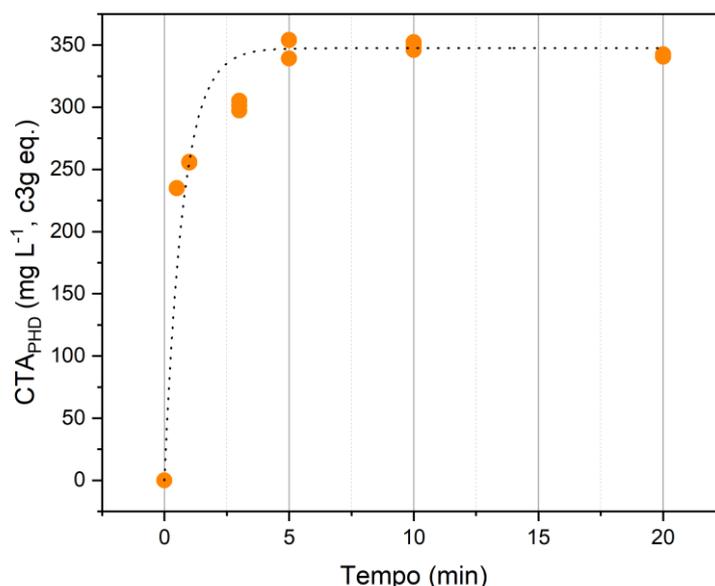


Figura 6.1 – Valores de CTA para os extratos PHD em função do tempo de extração. Após 5 minutos, a concentração tornou-se independente do tempo.

Nota-se que o tempo tem influência sobre CTA para $t < 5$ minutos, revelando que o ultrassom é altamente eficiente na extração em meio etanólico de antocianinas das PHD. A extração em $t < 5$ min é controlada pela lixiviação superficial das partículas pelo solvente, considerando que estas são

desaglomeradas *in situ* pela sonificação. Se a extração é facilitada, menos tempo é necessário para que CTA atinja valores satisfatórios (235 mg/L já em $t = 0.5$ min). Para $t \geq 5$ min, há penetração suficiente do solvente nas partículas de PHD para que os valores de CTA atinjam certo nível de saturação e permaneçam constantes e independentes do tempo. É importante considerar que a eficiência da extração depende também do tamanho de partículas de PHD: quanto menor o diâmetro, maior a relação área/volume, o que maximiza a extração das antocianinas, preferencialmente aquelas mais facilmente acessíveis na superfície das partículas. Neste trabalho, todas as extrações foram realizadas a partir das fontes de antocianinas pulverizadas à 12 mesh.

Além disso, foram realizadas extrações em sequência para se determinar o número de ciclos que maximizaria a CTA. Dessa forma, seguindo as condições ideais determinadas pelo planejamento experimental, três ciclos foram realizados: C1, um único ciclo de 5 minutos; C2, uma extração de 5 minutos, intervalo de 1 minuto e outra extração de 5 minutos; e C3, uma extração de 5 minutos, intervalo de 1 minuto, extração de 5 minutos, outro intervalo de 1 minuto e uma extração final de 5 minutos. Os valores de CTA obtidos foram respectivamente 308, 446 e 411 mg/L (c3g equivalente). Assim, o tempo total de extração de 10 minutos (5+5) foi escolhido, com CTA = 446 mg/L (4,46 mg/g na base seca).

Para a BBL, em um primeiro momento, determinou-se o teor de sólidos em solvente a ser utilizado. Para tanto, uma extração foi realizada utilizando as mesmas condições determinadas para PHD – isto é, 25% (v/v) de etanol em água deionizada, 5+5 minutos de processo e amplitude de 30%. O teor de sólidos variou de 1:10 a 1:50 (g/mL) e os valores de CTA para cada teor foram iguais a 176, 111, 62, 51 e 35 mg/L, respectivamente. Embora os valores de CTA obtidos tenham sido satisfatoriamente altos, verificou-se que os volumes de extrato obtidos para os teores 1:10 e 1:20 eram insuficientes para manter a alta produtividade do CCS. Dessa forma, avaliando-se os valores de CTA dos cinco teores utilizados (1:10, 1:20, 1:30, 1:40 e 1:50, g/mL), foi determinado que 1:30 seria o ideal, visto que mais de 95% do volume inicial de solvente foi recuperado após a extração. Seguindo o planejamento experimental com este teor, determinou-se que as condições de maximização de CTA para BBL foram de 50% (m/m) de álcool etílico em água deionizada, tempo de 10 minutos e

amplitude de 50%, com CTA de 62 mg/L (c3g equivalente ou 1,86 mg/g na base seca).

Para a CJL, o planejamento experimental indicou que as condições para maximizar CTA foram de 50% (m/m) de álcool etílico em água deionizada, tempo de 12,5 minutos e amplitude de 50%. O teor de sólidos no solvente foi fixado em 1:10 baseando-se nos resultados da extração a partir de PHD, com CTA de 960 mg/L (c3g equivalente ou 9,6 mg/g na base seca). Porém, para efeitos de produtividade, este extrato foi diluído em 10 vezes, resultando em um CTA final de 96 mg/L.

A Tabela 6.1 mostra comparações dos valores de CTA determinados neste trabalho com os valores encontrados em trabalhos similares da literatura.

O ultrassom mostrou-se uma técnica eficaz para a extração de antocianinas das três fontes utilizadas neste trabalho. Os valores de CTA obtidos mostraram-se diferentes daqueles encontrados na literatura, por vezes menores devido às diferentes condições de cada processo. No entanto, a extração assistida por ultrassom possui algumas vantagens em relação a outras técnicas de obtenção de antocianinas: (i) ser realizada em menores tempos e à temperatura ambiente, o que aumenta a produtividade da extração e reduz o gasto energético do processo; e (ii) consumir menores volumes de solvente e não utilizar soluções acidificadas, o que reduz o volume de resíduos gerados pela extração e a possibilidade de estes contaminarem o meio ambiente.

Para extrações que utilizaram a mesma fonte de antocianinas e condições de processo próximas, mas que obtiveram diferentes valores de CTA, a quantidade de antocianinas encontradas nas células das plantas é dependente de fatores climáticos (regime de chuvas e luminosidade ao longo do ano), ambientais (nutrientes no solo e pragas) e genéticos, além da época de colheita [105], o que explica a diferença vista nos valores de CTA.

Tabela 6.1 – Valores de CTA na base seca obtidos a partir de diferentes métodos de extração encontrados na literatura para cada fonte de antocianina utilizada neste trabalho. †não se aplica; ††n.d.: não disponível.

Fonte de antocianina	CTA (mg g ⁻¹)	Extração				Referência
		Técnica utilizada	Solvente (% m/m)	Tempo (min)	Temperatura (°C)	
Pétalas de hibisco	6,84	Solução etanólica	75	120	25	Zhai et al., 2017[17]
	4,22	Solução aquosa	n.a.†	30	50	Chumsri et al., 2008 [100]
	3,62	Solução etanólica	30	20	75	Wu et al., 2018 [99]
	4,46	Ultrassom de ponteira	25	10	25	Este trabalho
Brácteas de banana	11,51	Solução etanólica acidificada	20	1440	25	Jiang et al., 2023 [33]
	2,50	Solução etanólica acidificada	n.d.††	720	25	Pazmiño e Duran, 2001 [91]
	0,57	Banho de ultrassom	40 - 60	20	40 - 60	Begum e Deka, 2017 [98]
	1,86	Ultrassom de ponteira	50	10	25	Este trabalho
Cascas de jabuticaba	31,00	Ultrassom de ponteira	34,47	24,44	25	Albuquerque et al., 2020 [104]
	11,13	Solução metanólica acidificada	80	30	25	Paludo et al., 2019 [90]
	7,79	Banho de ultrassom	n.a.†	10	25	Fernandes et al., 2020 [96]
	9,6	Ultrassom de ponteira	50	12,5	25	Este trabalho

6.2 Caracterização dos extratos

Extrações de antocianinas a partir de fontes vegetais não são seletivas, retirando das células outros compostos além das antocianinas, denominados neste trabalho como compostos colaterais (CCol). A extração assistida por ultrassom, especificamente, rompe as paredes celulares e libera no meio líquido o conteúdo dessas células, além das antocianinas alojadas na epiderme das pétalas de hibisco, das cascas de jabuticaba e das brácteas de banana. Assim, quando rompem, tais células liberam carboidratos, proteínas, lipídeos e antocianinas no meio [106], de tal forma que a massa de sólidos dos extratos é esperada ser superior à massa de antocianinas determinada.

A Tabela 6.2 mostra os teores e massas dos sólidos e densidades dos extratos, além da massa de antocianinas presentes em 50mL de cada extrato.

Tabela 6.2 – Teor de sólidos e densidade dos extratos, massa de sólidos e de antocianinas presentes em 50mL de extratos, sendo PHD = pétalas de hibisco desidratada, BBL = brácteas de banana liofilizadas e CJL = cascas de jabuticaba liofilizadas. Valores médios acompanhados pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

Extrato	Teor de sólidos (%)	Densidade (g cm^{-3})	Sólidos (g)	Antocianinas (mg)
PHD	$2,97 \pm 0,17^a$	$1,08 \pm 0,04^a$	$1,60 \pm 0,12^a$	22,30
BBL	$1,02 \pm 0,18^b$	$1,08 \pm 0,02^a$	$0,55 \pm 0,10^b$	3,10
CJL	$0,50 \pm 0,20^c$	$1,15 \pm 0,07^a$	$0,29 \pm 0,13^b$	4,80

Verifica-se que as antocianinas compõem menos de 2% (m/m) do teor de sólidos solúveis dos extratos, enquanto os 98% (m/m) restantes compreendem os compostos colaterais (CCol). Tais compostos podem ser considerados equivalentes independentemente da fonte de extração já que o conteúdo das células epidérmicas das pétalas de hibisco, das cascas de jabuticaba e das brácteas de banana é o mesmo [107–109]. Tal resultado é importante uma vez que os extratos foram incorporados totalmente aos filmes de amido, conforme

detalhado no item 5.2.4. As propriedades físicas dos sensores obtidos são resultado não somente da incorporação das antocianinas, mas também da interação dos CCol com a matriz de amido. Assim, tais propriedades são dependentes do teor destes sólidos em relação ao amido, denominado nos próximos tópicos como teor de sólidos solúveis (TSS).

A Figura 6.2 traz os espectros de infravermelho para os extratos, obtidos considerando o uso de água deionizada como branco.

As bandas entre 3900 e 3700 cm^{-1} relacionam-se a diversos modos de vibração de grupos hidroxila e a banda entre 3030 e 3060 cm^{-1} ao estiramento de ligações C=C-O, ambas indicando a presença de carboidratos nos extratos. As bandas 2550 – 2500 cm^{-1} , 2350 cm^{-1} , 1720 – 1690 cm^{-1} , 1520 cm^{-1} , 1400 cm^{-1} e 1060 – 1030 cm^{-1} relacionam-se, respectivamente, ao estiramento de ligações S-H, de ligações P-H, de grupos amida primária e secundária, de ligações C-N e ligações S=O, todas indicando a presença de proteínas nos extratos. As bandas em 1770 cm^{-1} , 1550 cm^{-1} e 1260 cm^{-1} relacionam-se ao estiramento de ligações carbonila, de grupos carboxílicos e de ligações C-O de ésteres, indicando a presença de lipídeos no meio [110–112]. Os resultados encontrados estão de acordo com a literatura [107–109].

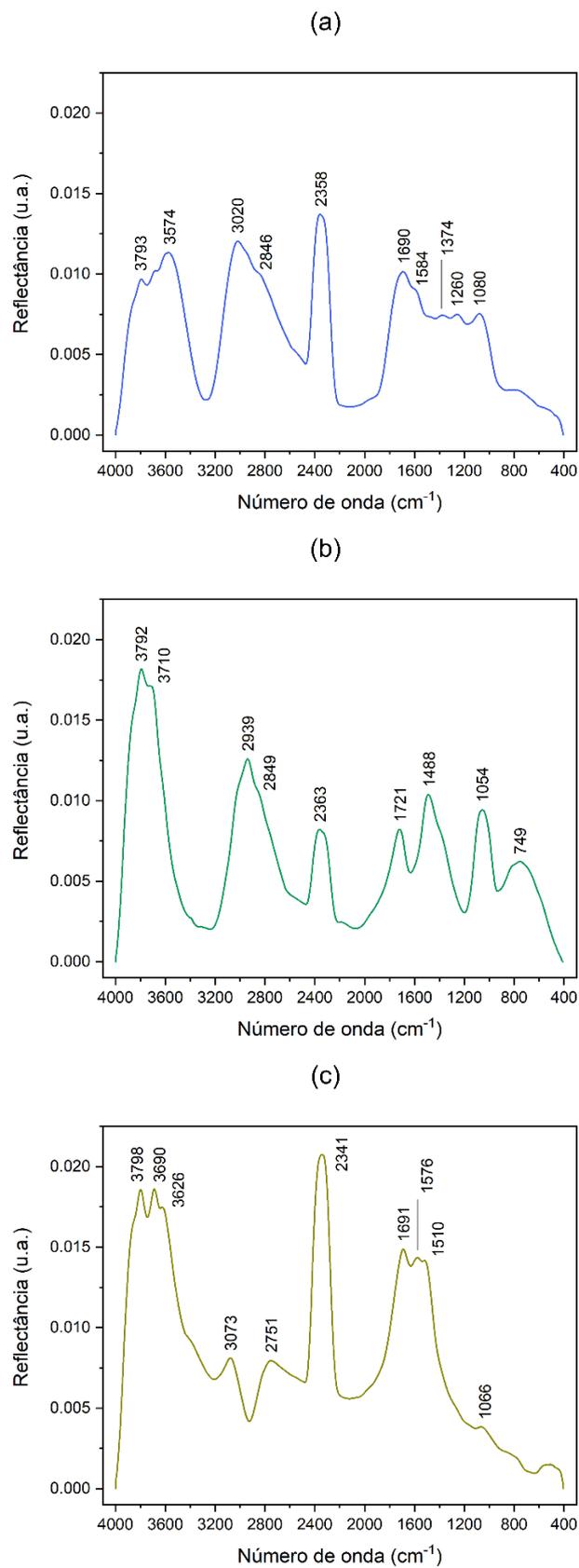


Figura 6.2 – Espectros de infravermelho dos extratos (a) PHD, (b) BBL e (c) CJL, indicando similaridades na composição de cada um (polissacarídeos, proteínas e lipídeos).

As cores de cada extrato (PHD, BBL e CJL) em diferentes valores de pH (Figura 6.3) se mostraram similares entre si embora com diferentes intensidades, o que era esperado dada a diferença na composição e concentração de antocianinas em cada um.

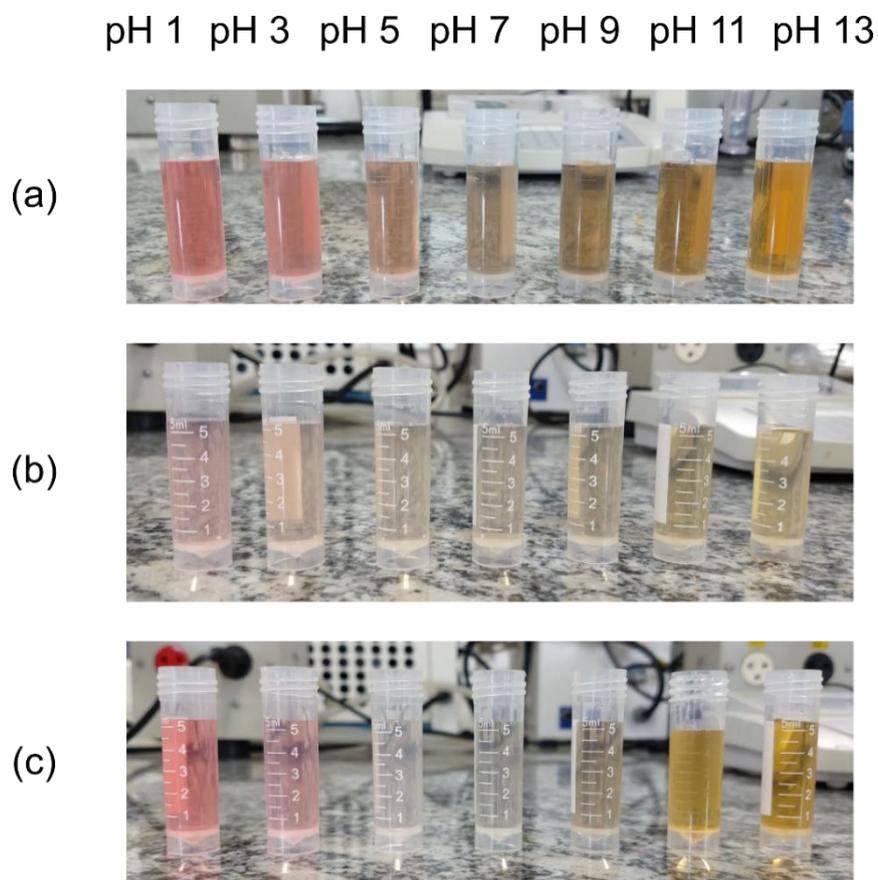


Figura 6.3 – Cores dos extratos de acordo com o pH, crescente da esquerda para a direita, sendo (a) PHD, (b) BBL e (c) CJL.

Extratos PHD são formados majoritariamente por delphinidina- e cianidina-3-sambubiose, além de delphinidina- e cianidina-3-glucosídeo [94,95]. Estes extratos variam sua cor de vermelho a amarelo, porém, por apresentarem outras antocianinas, os valores de pH intermediários mostram cores distintas, como um tom levemente marrom. Extratos CJL são compostos majoritariamente por cianidina-3-glucosídeo [96,97], antocianina que, por ser a mais comum na natureza, representa o comportamento geral das mais de 600 existentes. Sendo assim, a variação de cor entre vermelho em valores de pH baixos e amarelo em valores altos, passando por soluções incolores em pH neutro, é mais do que esperada dada a presença majoritária de cianidina-3-glucosídeo. Os extratos

BBL, apesar de serem formados por antocianinas completamente diferentes de PHD e CJL [91,98], mostram cores similares, menos intensas devido à menor CTA, partindo de vermelho até amarelo. As cores em valores intermediários de pH evidenciam a diferença de composição, mostrando-se distintas dos outros extratos. Os resultados aqui apresentados estão de acordo com outros trabalhos disponíveis na literatura [17,91,104].

A Figura 6.4 foi obtida considerando a absorbância no comprimento de onda médio das faixas de cores do espectro, baseado na divisão proposta por Picollo, Aceto e Vitorino (2018) e abrangendo somente a região visível (380 – 750 nm) [113]. Agindo dessa forma, garante-se que a cor percebida associada a um determinado comprimento de onda é a mais pura possível, sem interferência de cores adjacentes no espectro (regiões de transição entre cores foram consideradas como misturas de duas cores adjacentes).

De modo geral, para todos os extratos, quanto maior o pH, maior a absorbância em menores comprimentos de onda. Para um mesmo valor de comprimento de onda, a absorbância se altera com o pH devido à relação direta entre intensidade de absorção e concentração de um composto no meio [114]. Para $\lambda = 530\text{nm}$ (percebido como cor púrpura), a intensidade de absorção para $\text{pH} = 1$ é maior que aquela para $\text{pH} = 11$. Isso ocorre porque a estrutura mais estável (e presente em maior concentração) de antocianinas em valores de pH baixos é o íon flavílio, cuja cor característica é avermelhado-púrpura [29,115]. Conforme o pH aumenta, mudanças estruturais ocorrem (Figura 6.5) e a concentração do íon é reduzida, traduzindo-se em menor intensidade de absorção. Para $\lambda = 457\text{nm}$ (percebido como cor amarela), a intensidade para $\text{pH} = 11$ é maior, uma vez que, para este valor de pH, a estrutura mais estável e de maior concentração é a chalcona (Figura 6.5). Esta estrutura é caracterizada pela abertura irreversível do anel pirílico das antocianinas e por sua coloração verde-amarelada [29,115]. Logo, quanto menor o pH, menor a concentração das chalconas e menor a intensidade de absorção. Resultados semelhantes foram obtidos por Lin e autores (2022), Zhang e autores (2022) e Arafa e autores (2021) em seus extratos de cascas de uvas, flores de hibisco e folhas de repolho-roxo, respectivamente [116–118].

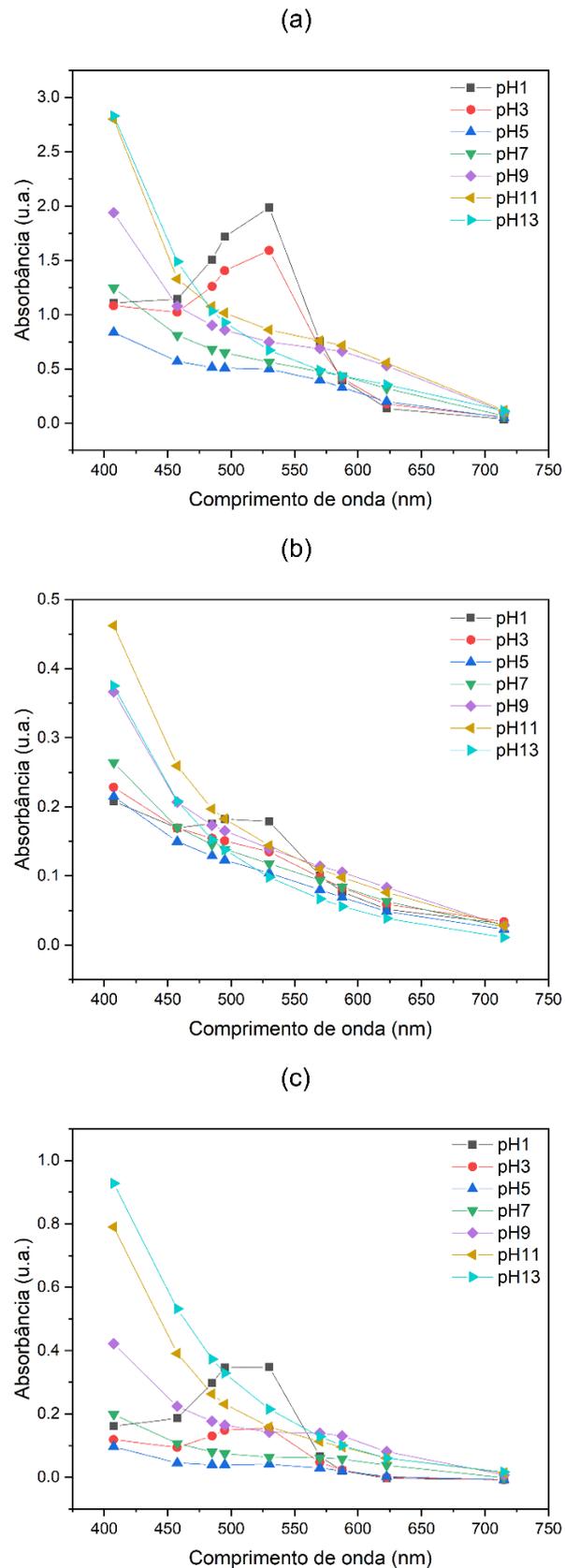


Figura 6.4 – Curvas de absorvância em função do comprimento de onda para os extratos de (a) PHD, (b) BBL e (c) CJL, corroborando as alterações de cor vistas na Figura 6.3.

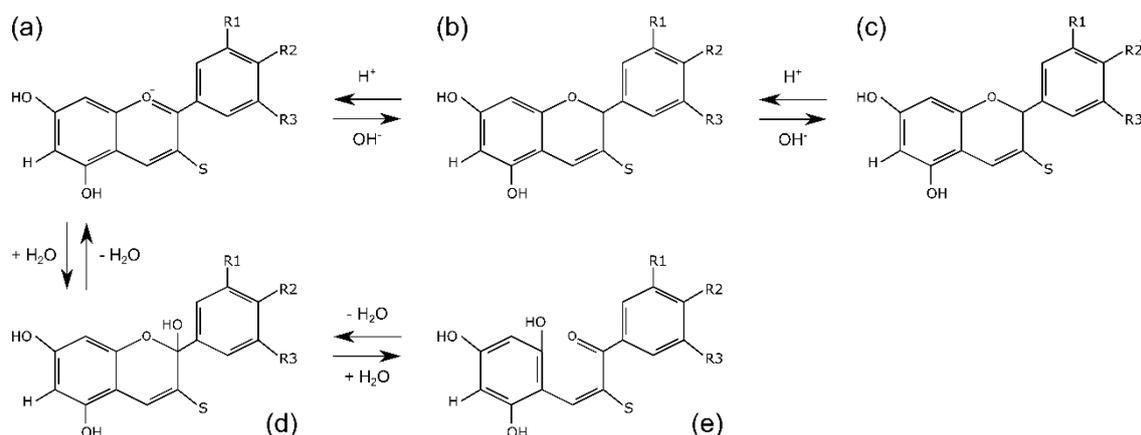


Figura 6.5 – Estruturas das antocianinas em diferentes valores de pH: (a) íon flavílio, em pH fortemente ácido; (b) base quinoidal em pH neutro; (c) base quinoidal aniônica em pH levemente básico; (d) hemicetal em pH básico; e (e) chalcona em pH fortemente básico. Fonte: próprio autor.

A Figura 6.6 traz as curvas de DSC para os extratos. Para todas, há uma transformação endotérmica com início em cerca de 80°C referente à evaporação da água, cuja intensidade é inversamente proporcional ao teor de sólidos solúveis listados na Tabela 6.2, como esperado. A partir de 120°C, a curva permanece constante em zero fluxo até o final da análise. Antocianinas são sensíveis a exposições longas à temperatura dado que a mudança de estrutura de flavílio para base quinoidal e hemicetal e de hemicetal para chalconas são reações endotérmicas. Como não houve alteração na linha-base do DSC depois da evaporação da água dos extratos, pode-se inferir que não houve nenhuma reação de mudança estrutural e, portanto, não houve degradação térmica das antocianinas durante a isoterma pelo tempo analisado (80 min). A temperatura empregada nesta análise (120°C) é a máxima atingida durante a obtenção dos filmes sensoriais, além de durar mais que o tempo das etapas de gelatinização do amido de milho e do CCS somadas. Com esse resultado, foi possível determinar a metodologia de obtenção das soluções filmogênicas, já descritas no item 5.2.4, sem que houvesse degradação das antocianinas.

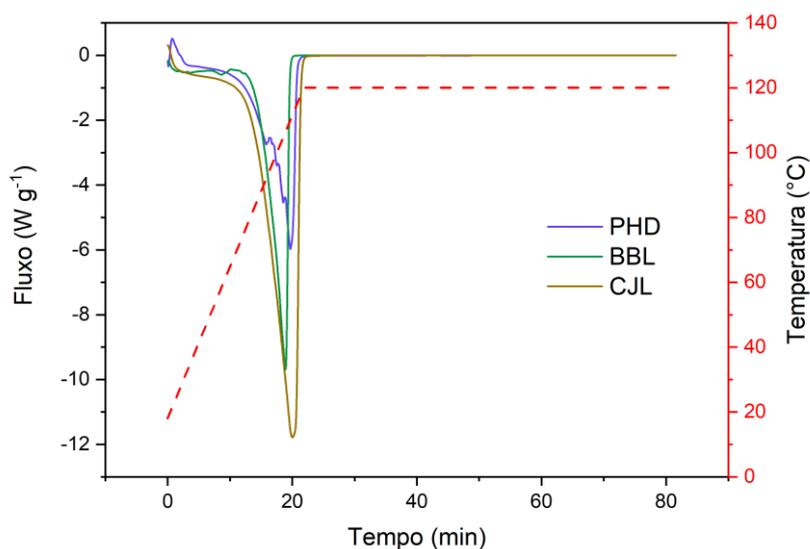


Figura 6.6 – Fluxogramas de degradação dos extratos PHD, BBL e CJL em DSC em função do tempo e rampa de aquecimento até se atingir a temperatura da isoterma (120°C).

6.3 Reologia das soluções de amido contendo antocianinas

Uma solução base de amido de milho 7% (m/m) contendo 22,5% (m/m) de glicerol foi usada como base para obtenção de todas as formulações filmogênicas propostas no item 5.2.4. Inicialmente, foi avaliado o efeito das fontes de extrato sobre a temperatura de gelatinização do amido e dos parâmetros reológicos das formulações, conforme mostrado na Tabela 6.3.

A incorporação dos extratos às formulações alterou diferentemente a temperatura de gelatinização do amido, processo que ocorre em duas etapas: inchamento da fase amorfa seguido pela desestruturação da fase cristalina dos grânulos. Assim, quando há uma alteração nas condições de início do processo, subentende-se que é devida à mudança na dinâmica de inchamento da fase amorfa, altamente dependente da difusão de água para o interior dos grânulos de amido [39,119]. Nota-se que a incorporação dos extratos PHD e CJL reduziu ligeiramente a temperatura de gelatinização, inferindo que facilitaram o processo de desestruturação dos grânulos, ao passo que o extrato BBL dificultou o processo de forma mais significativa. Sugere-se que as antocianinas e diferentes

CCol presentes nos extratos se adsorvem na superfície dos grânulos e interferem na absorção de água e, conseqüentemente, no processo de gelatinização do amido. É importante ressaltar, porém, que a gelatinização foi conduzida por 30 min para todas as formulações, o que garantiu a completa desestruturação dos grânulos de amido, independentemente das variações de T_{gel} .

Tabela 6.3 – Temperaturas de gelatinização (T_{gel}) para as formulações filmogênicas utilizadas na produção dos filmes sensoriais amido/antocianinas. Valores médios acompanhados pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

Amostra	T_{gel} (°C)
am-puro	73,1 ± 0,7 ^c
am-PHD	70,4 ± 0,3 ^a
am-BBL	77,0 ± 0,4 ^d
am-CJL	71,9 ± 0,1 ^b

A partir deste ponto da tese, as discussões dos resultados foram feitas considerando-se o teor de sólidos solúveis dos extratos nos filmes de amido, como mostrado na Tabela 6.4. A massa de cera de abelha não foi considerada na determinação deste teor de sólidos mesmo para as formulações contendo este lipídeo.

Tabela 6.4 – Massas de sólidos nos extratos e frações mássicas[†] dos sólidos dos extratos e da cera de abelha. Valores médios acompanhados pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

Amostra	Sólidos solúveis (g)	Cera de abelha (g)	Amido (g)	TSS [†]
am-puro	0,00	0,00	7,00	0,00
am-PHD	1,60 ± 0,12 ^a	0,00	7,00	0,23 ± 0,02 ^a
am-BBL	0,55 ± 0,10 ^b	0,00	7,00	0,08 ± 0,01 ^b
am-CJL	0,29 ± 0,13 ^b	0,00	7,00	0,03 ± 0,01 ^c
bw-puro	0,00	2,10	7,00	0,00
bw-PHD	1,60 ± 0,12 ^a	2,10	7,00	0,23 ± 0,02 ^a
bw-BBL	0,55 ± 0,10 ^b	2,10	7,00	0,08 ± 0,01 ^b
bw-CJL	0,29 ± 0,13 ^b	2,10	7,00	0,03 ± 0,01 ^c

[†] relação entre as massas de sólidos solúveis e de amido.

A Figura 6.7 traz os valores de índice de pseudoplasticidade (n) obtido pela lei das potências.

Todas as formulações se mostraram pseudoplásticas ($n < 1$). O índice de pseudoplasticidade está relacionado com a velocidade de mudança de viscosidade quando um esforço cisalhante é exercido sobre o sistema. Para sistemas poliméricos pseudoplásticos, a queda de viscosidade se deve à extinção de enrosos e de interações intermoleculares que ocorre pela ação de forças cisalhantes sobre as soluções filmogênicas.

Nota-se que a incorporação dos extratos à solução de amido sem cera de abelha alterou o valor de n , porém sem diferenças significativas ($p > 0.05$). Com relação à adição de 30% (m/m) de cera de abelha, não houve variação significativa no valor de n em relação à solução de amido puro (am-puro vs. bw-puro), apesar da tendência de aumento desse índice com a incorporação de maiores TSS. Infere-se, portanto, que a presença da cera exerceu maior influência sobre o comportamento das soluções filmogênicas quando incorporada juntamente aos extratos. Uma vez que a interações entre esses componentes alterou ligeiramente a pseudoplasticidade das formulações,

espera-se que as propriedades físicas dos sensores amido/antocianinas também sejam alteradas devido à incorporação da cera de abelha.

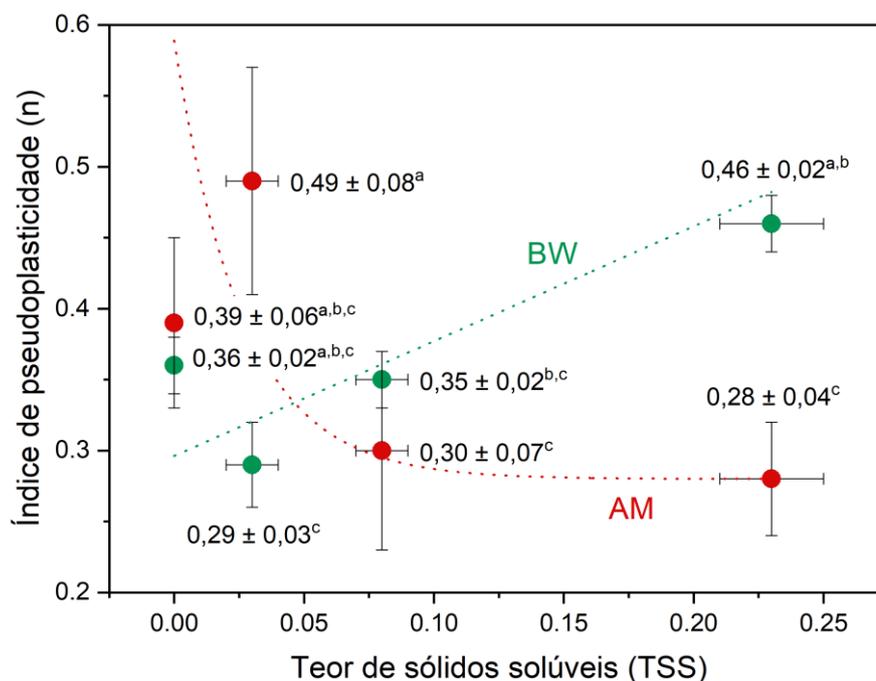


Figura 6.7 – Valores de índice de pseudoplasticidade (n) a 80°C para as soluções filmogênicas sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função de TSS. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

A viscosidade das soluções filmogênicas nas condições de processamento por CCS é ilustrada na Figura 6.8. Esta viscosidade foi calculada a partir da taxa de cisalhamento exercida pela faca laminadora sobre as soluções filmogênicas durante o processamento, sendo igual à razão entre a velocidade do substrato ($v = 0,10 \text{ m min}^{-1}$) e a altura da faca ($h = 1,8 \text{ mm}$). O resultado é uma taxa de cisalhamento igual a $0,93 \text{ s}^{-1}$

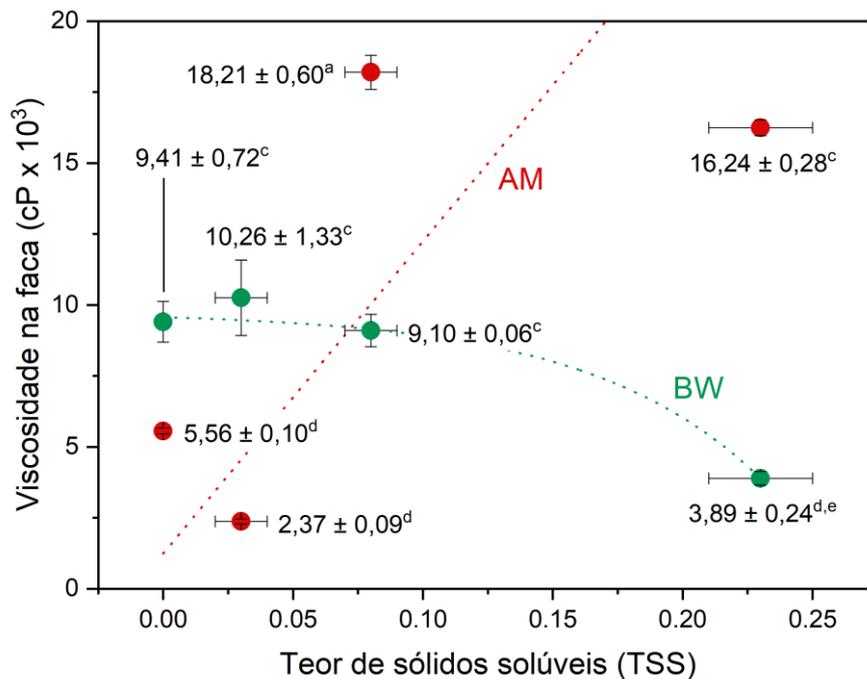


Figura 6.8 – Valores de viscosidade das soluções filmogênicas a 80 °C sob taxa de cisalhamento de $0,93 \text{ s}^{-1}$, sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente). Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

Os valores de viscosidade se situaram entre $2,37 \times 10^3 \text{ cP}$ (am-CJL) e $18,21 \times 10^3 \text{ cP}$ (am-BBL). A tendência geral é que a adição de cera de abelha alterou de forma significativa ($p < 0.05$) a viscosidade das soluções filmogênicas independentemente do tipo de extrato adicionado. Tais alterações de viscosidade não foram suficientes para dificultar o processamento das formulações por CCS, uma vez que não dificultaram significativamente a etapa de secagem por evaporação da água contida na lâmina úmida.

6.4 Caracterização dos filmes sensoriais colorimétricos

A Figura 6.9 traz imagens dos filmes sensoriais. É possível observar que a incorporação dos extratos modificou visivelmente a cor dos filmes am-puro e bw-

puro (Figuras 6.9a e 6.9b, respectivamente), estes pouco opacos e difíceis de serem notados na figura em questão.

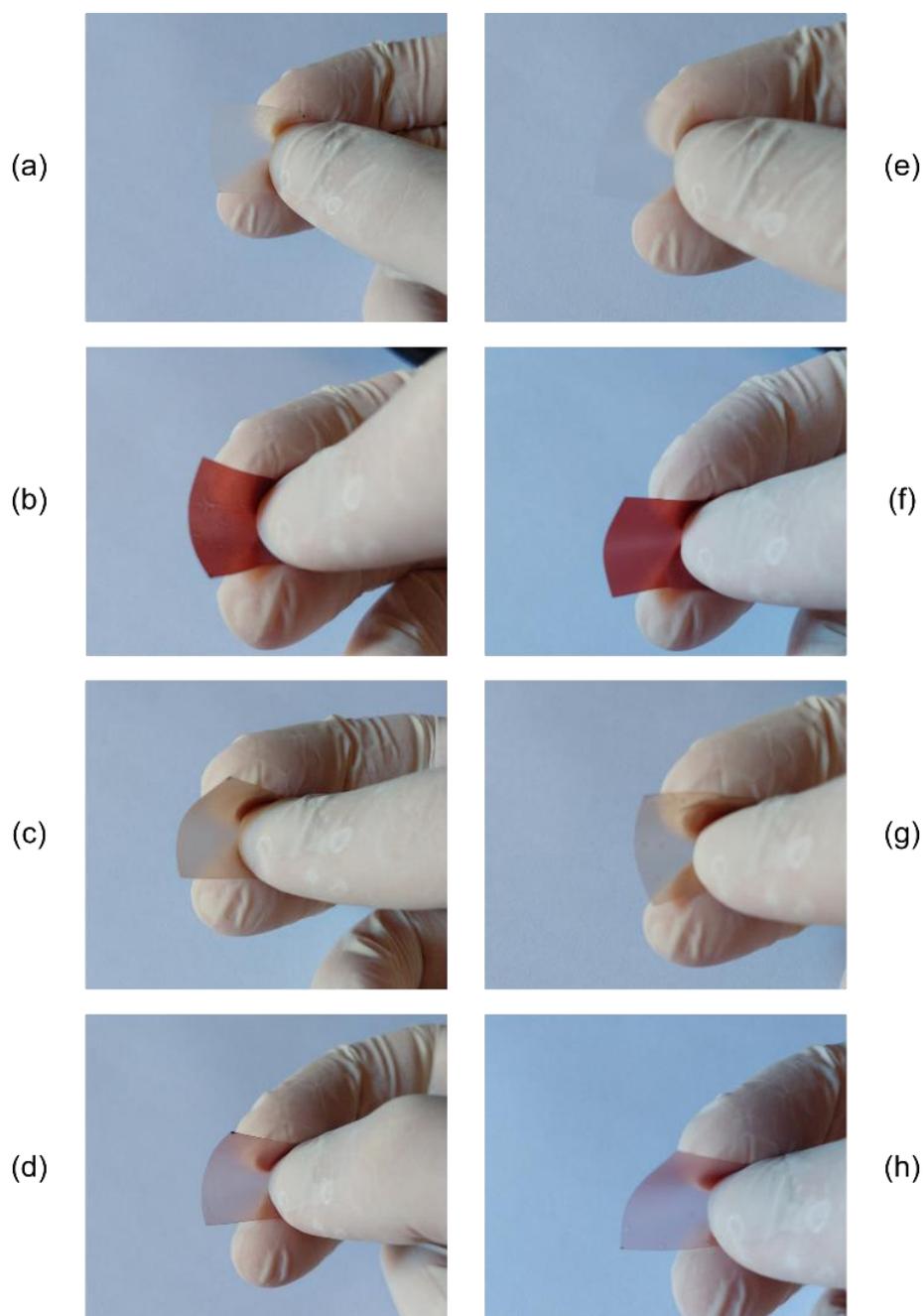


Figura 6.9 – Imagens dos filmes (a) am-puro, (b) am-PHD, (c) am-BBL, (d) am-CJL, (e) bw-puro, (f) bw-PHD, (g) bw-BBL e (h) bw-CJL.

Independentemente da formulação, foi obtida uma área de aproximadamente $0,1 \text{ m}^2$ para todos os filmes durante cerca de 30 minutos, o que representa uma produtividade de $0,2 \text{ m}^2 \text{ h}^{-1}$, valor no mínimo 20 vezes maior

que o máximo encontrado na literatura ($0,01 \text{ m}^2 \text{ h}^{-1}$ em Vu e Lumdubwong, 2016 [79])

A Tabela 6.5 traz os custos de produção dos filmes sensoriais.

Tabela 6.5 – Custos por metro quadrado para produção dos filmes por CCS.

Filme	Custo (R\$ m ⁻²)
am-puro	37,90
am-PHD	61,00
am-BBL	88,80
am-CJL	72,40
bw-puro	40,00
bw-PHD	63,10
bw-BBL	90,90
bw-CJL	74,50

Percebe-se que a incorporação dos extratos aos filmes am-puro e bw-puro aumentou o custo de produção destes, já que há, embutido no valor mostrado, o custo de extração das antocianinas e obtenção dos extratos PHD, BBL e CJL. Os custos dos filmes com cera de abelha foram maiores que aqueles sem cera justamente pela presença do lipídeo.

6.4.1 Caracterizações estruturais dos filmes

A Figura 6.10 traz os difratogramas dos filmes sensoriais. Aqueles sem a adição de cera de abelha mostraram-se amorfos, confirmando a completa gelatinização do amido e indicando que os sólidos solúveis dos extratos (antocianinas + CCoI) não formam componentes cristalinos nas condições de processamento via CCS. A literatura traz diversos trabalhos sobre a influência de extratos de antocianinas sobre a cristalinidade de filmes de amido. Por exemplo, Erna e autores (2022) [120] obtiveram filmes amorfos de amido de milho e extrato de pétalas de hibisco, resultado semelhante para os filmes de

amido de mandioca e extrato de goji preto confeccionados por Qin e autores (2019) [8].

Comparando-se os difratogramas dos filmes com cera de abelha e da cera pura, é possível notar que as duas reflexões características dos cristais ortorrômbicos da cera de abelha ($2\theta = 21,2^\circ$ e $2\theta = 23,5^\circ$) estão presentes, indicando que a cristalinidade vista nos filmes (Tabela 6.6) ocorre devido à presença da cera. Além disso, pela preservação dessas reflexões, pode-se dizer que há somente mistura física entre o amido de milho e a cera de abelha [121].

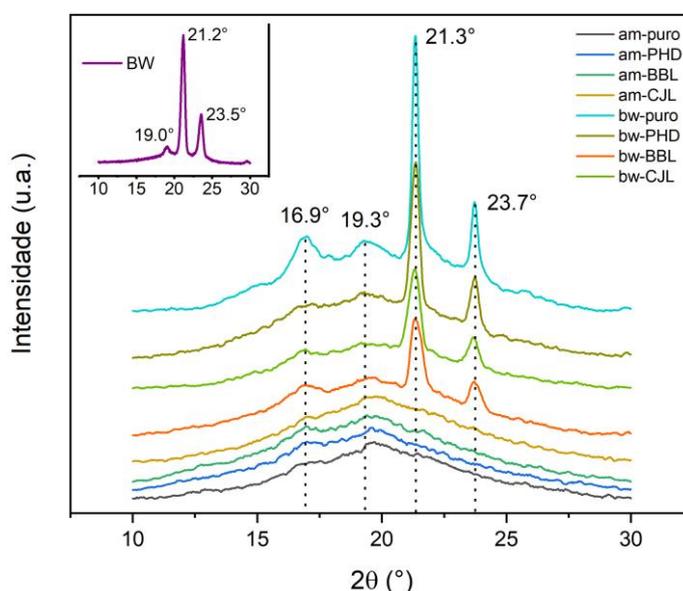


Figura 6.10 – Difratogramas dos filmes sensoriais e da cera de abelha pura (destaque). Filmes sem cera mostraram-se amorfos. A presença de cera de abelha fez surgirem regiões cristalinas do tipo V_H na matriz de amido, indicando a formação de complexos amilose-lipídeos.

Tabela 6.6 – Valores de cristalinidade observados e esperados para os filmes sensoriais com cera de abelha. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

Amostra	IC (%)	Amostra	IC (%)	IC _{BW} (%)
am-puro	0	bw-puro	12,3 ± 0,7 ^b	54,2 ± 0,2 ^a
am-PHD	0	bw-PHD	12,5 ± 0,1 ^b	54,2 ± 0,2 ^a
am-BBL	0	bw-BBL	9,2 ± 0,1 ^c	54,2 ± 0,2 ^a
am-CJL	0	bw-CJL	12,6 ± 0,1 ^b	54,2 ± 0,2 ^a

Além disso, há a formação de complexos cristalinos amilose-lipídeos entre a matriz de amido e a cera de abelha do tipo V_H, visto nos difratogramas da Figura 6.9 em $2\theta = 16,9^\circ$ e $2\theta = 19,3^\circ$ como reflexões largas de baixa intensidade [122,123]. Os difratogramas sugerem que a incorporação dos extratos tende a reduzir a formação desses complexos nos filmes, o que é inferido pela redução na definição e na intensidade dessas reflexões com TSS.

A Figura 6.11 mostra as micrografias dos filmes a 500x. Pelas micrografias, não foram vistas diferenças na morfologia dos filmes am-puro e am-PHD, am-BBL e am-CJL, indicando que os extratos foram bem homogeneizados na matriz de amido. Resultado semelhante foi obtido por Zhu e colaboradores (2021) [89] em seus filmes de amido de mandioca e extratos de cascas de uva e cascas de mangostão. Quando a cera de abelha foi incorporada aos filmes de amido, organizou-se em domínios de tamanho variado (Han e autores, 2006) [81], levando à formação de um composto, independente do extrato presente. Além disso, o formato dos domínios de cera de abelha pode ser considerado como sendo elipsoide, já que o corte transversal dos filmes mostrou regiões elípticas. Este formato surge durante o processamento por CCS. Termodinamicamente, o formato de menor energia dos domínios de cera de abelha fundida, ainda nas soluções filmogênicas, é uma esfera, como gotas de óleo em água. Quando a lâmina úmida é formada pela passagem desta solução sob a faca de laminação, os domínios esféricos experimentam ações cisalhantes suficientes para deformá-los, esticando-os até atingirem o formato alongado visto nas micrografias. Como os domínios de cera fundida são mais fluidos que o gel de

amido que os envolvem, permanecem alongados por todo o processamento, podendo inclusive aglutinarem-se entre si e formar domínios de diferentes tamanhos [124]. Como a solidificação da cera é mais rápida que a evaporação de água da lâmina úmida (resultado obtido em testes preliminares em laboratório), os domínios lipídicos permanecem com o formato elíptico inicial depois de se solidificarem. Conforme a água deixa a solução e o filme torna-se seco, o amido gelatinizado deposita-se sobre estes domínios, fazendo surgir as ondulações superficiais vistas nas micrografias da Figura 6.11.

Um dos resultados mais relevantes da caracterização microestrutural dos filmes amido/antocianinas produzidos é que a microestrutura vista nas micrografias da Figura 6.11 só foi possível devido ao uso do CCS. Não houve a incorporação de qualquer compatibilizante entre a cera de abelha e o amido de milho e, mesmo assim, não houve intensa coalescência dos domínios lipídicos, o que é tipicamente observado em filmes amido/cera obtidos por casting de bancada. No CCS, o tempo de evaporação da água da solução filmogênica é algumas vezes menor, não permitindo a coalescência e/ou migração da cera de abelha para a superfície do filme. Dessa forma, os domínios permanecem separados e estáveis durante a etapa de secagem, resultando na microestrutura de matriz de amido com domínios de cera bem distribuídos, como ilustrado na Figura 6.11. O efeito do CCS sobre o processamento de filmes amido/cera de abelha já foi descrito em um estudo anterior do grupo [13].

Não foi possível identificar por MEV a dispersão dos componentes dos extratos (antocianinas e CCol) nos filmes. Porém, assume-se que os sólidos solúveis dos extratos foram homogeneizados na matriz de amido e não nos domínios de cera de abelha. Para validar este resultado, testes preliminares foram conduzidos, adicionando 1g de extrato PHD liofilizado a um béquer aquecido contendo 30g de cera de abelha fundida, mantida sob aquecimento a 80°C e agitação mecânica constante. Após 10 min, a cera fundida foi transferida para uma folha de papel alumínio à temperatura ambiente, permitindo sua solidificação

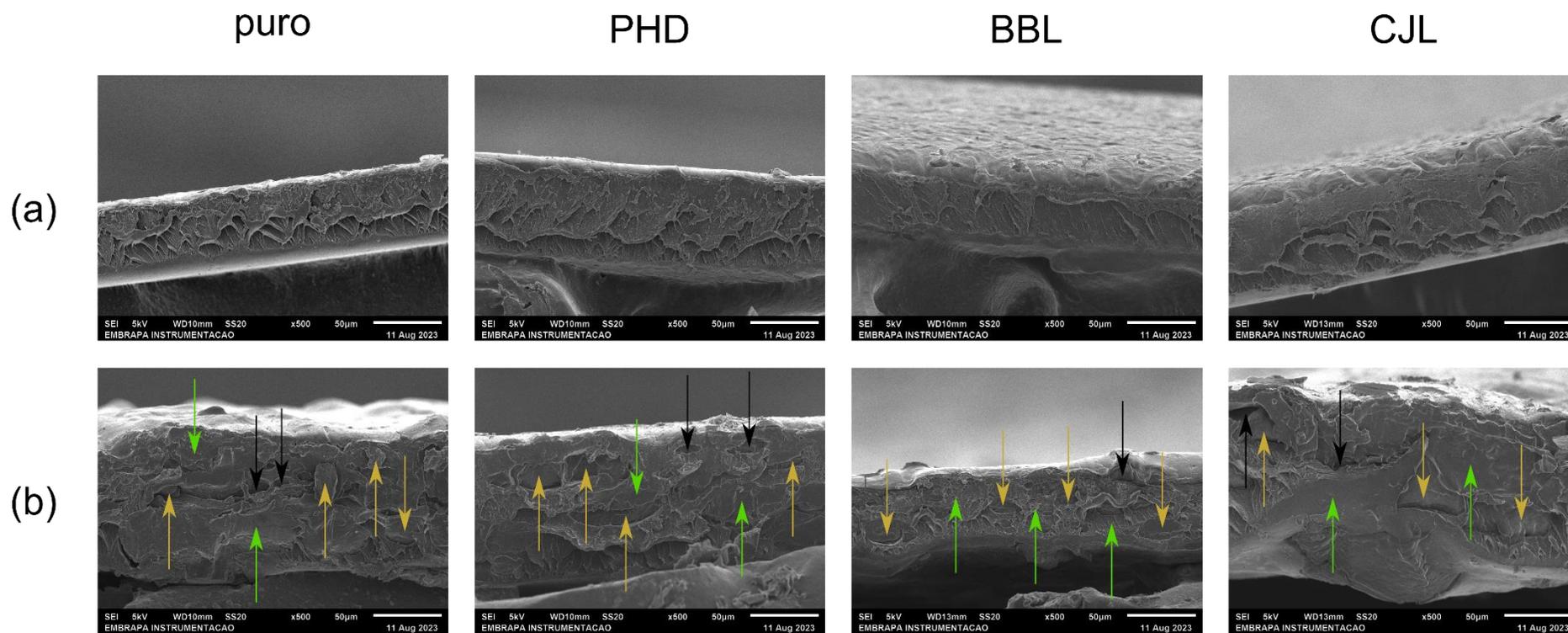


Figura 6.11 – Micrografias dos filmes sensoriais (a) sem e (b) com cera de abelha em aumento de 500x, destacando as fases amido (setas verdes), cera de abelha (amarelas) e vazios deixados pelo arrancamento da cera (pretas).

. Apesar da agitação mecânica constante, o extrato liofilizado não se solubilizou na cera fundida tampouco foi transferido para a folha de alumínio, mas sim, decantou-se no fundo do béquer. Visualmente, não havia partículas de extrato liofilizado dispersos na cera de abelha solidificada ou qualquer alteração de cor desta. Dessa forma, determinou-se a cor da cera de abelha solidificada com o auxílio de um colorímetro, mostrando objetivamente que não houve alterações em sua cor. Tal resultado reforça que os componentes dos extratos não foram incorporados na fase cera de abelha, alocando-se preferencialmente na matriz de amido.

Outra informação morfológica obtida por MEV é a presença de uma clara interface de separação entre a matriz de amido e os domínios de cera de abelha, o que era esperado considerando a diferença de hidrofilicidade/hidrofobicidade entre o amido e a cera. Todos os domínios de cera mostraram-se bem aderidos à matriz, o que pode ser explicado pela presença de componentes anfífilicos na cera que ajudam na compatibilização interfacial com a matriz de amido [13]. Com o intuito de avaliar possíveis interações entre a cera e a matriz de amido incorporada com os diferentes extratos de antocianinas, os filmes foram caracterizados por ATR-FTIR (Figura 6.12).

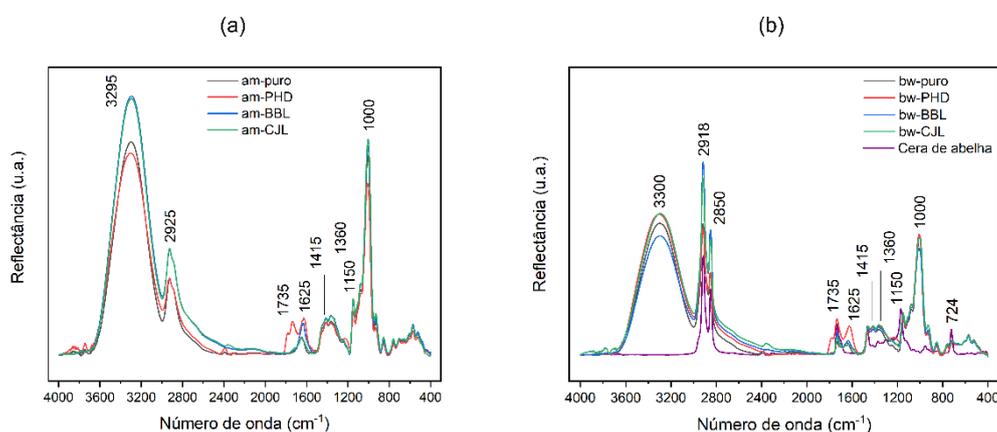


Figura 6.12 – Espectros de infravermelho dos filmes sensoriais (a) sem e (b) com cera de abelha (na mesma escala de intensidade).

É possível depreender das figuras que algumas bandas estão presentes em todas as formulações, tais como $3300 - 3295 \text{ cm}^{-1}$ (estiramento de grupos hidroxila presentes nas cadeias de amido de milho, nas antocianinas e nos

CCol), 2925 – 2915 cm^{-1} (estiramento de ligações C-H, presentes em todas as cadeias dos filmes sensoriais), 1735 cm^{-1} (estiramento de grupos carbonila de ésteres da cera de abelha e de sólidos no CCol), 1625 cm^{-1} (estiramento de ligações C=C presentes nos anéis das antocianinas), 1415 cm^{-1} (vibrações de hidrocarbonetos), 1360 cm^{-1} (dobramento de CH_3), 1150 – 1000 cm^{-1} (estiramento de ligações C-O-C presentes no amido, nas antocianinas e nos CCol) [125–128].

Houve deslocamentos das bandas em 3300 – 3295 cm^{-1} com a incorporação dos extratos PHD, BBL e CJL e da cera de abelha (Figura 6.13a), indicando que houve formação de ligações de hidrogênio entre as hidroxilas do amido e aquelas presentes nos sólidos dos extratos e entre tais hidroxilas e as carbonilas dos ésteres da cera, indicada pelo deslocamento das bandas em 1735 cm^{-1} (Figura 6.13b) [129]. Ainda, este comportamento evidencia a formação dos complexos amilose-lipídeos entre o amido e a cera, já que surgem a partir da interação intermolecular entre hidroxilas e ésteres [130,131].

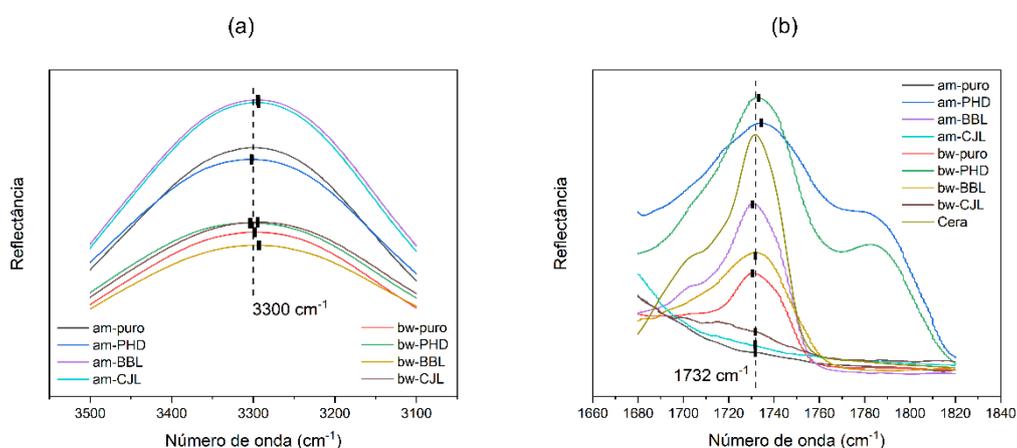


Figura 6.13 – Detalhe dos espectros de FTIR-ATR mostrando os deslocamentos de bandas em (a) 3300 cm^{-1} e (b) 1735 cm^{-1} e a variação de intensidade com a formulação. Traços pretos indicam o ponto de maior intensidade de cada banda.

A incorporação dos extratos aumenta a intensidade da banda em 1735 cm^{-1} relacionada ao estiramento C=O dos CCol, sendo que quanto maior o teor de sólidos solúveis nos extratos, e consequente maior fração no filme, maior a intensidade desta banda. Dessa forma, a variação observada pela incorporação

de cera foi camuflada pelo aumento de intensidade provocado pelos componentes dos extratos. Adicionalmente, duas bandas surgem somente com a incorporação da cera de abelha aos filmes. São elas: 2850 cm^{-1} , relacionada ao estiramento das ligações C-H dos componentes da cera, e 724 cm^{-1} , relacionada ao balanço de alcanos em cadeias longas da cera [125,128]. Ainda considerando interações entre os componentes dos filmes sensoriais, a espectrometria no infravermelho não indicou qualquer interação entre a cera de abelha e os extratos.

6.4.2 Propriedades mecânicas dos filmes amido/antocianinas/cera de abelha

A Figura 6.14 mostra as curvas representativas dos ensaios mecânicos de tração de cada filme sensorial. As curvas mostradas são de corpos de prova cujos valores de resistência à tração, alongamentos na tensão máxima e na ruptura e módulo elástico se aproximam dos valores médios (mostrados na Tabela 6.7).

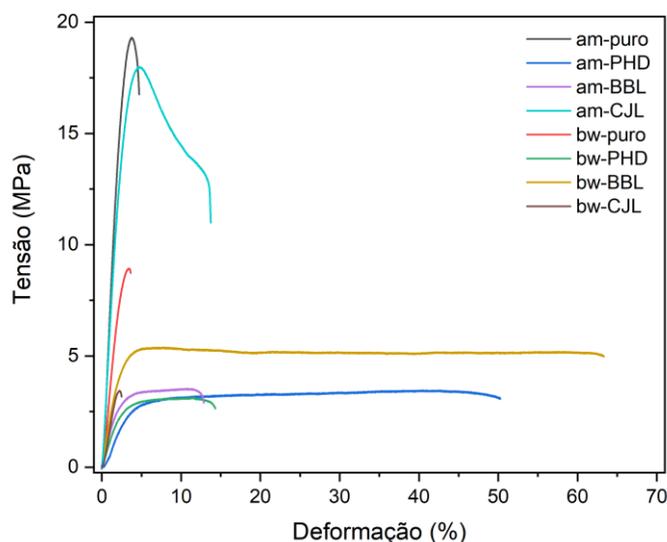


Figura 6.14 – Curvas tensão-deformação a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ representativas dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha.

É possível observar que a incorporação dos extratos deslocou as curvas e um claro efeito de plasticização sobre os filmes de amido é notado ao passo que o teor de sólidos solúveis aumentou, do extrato CJL para o extrato PHD. Este resultado era esperado uma vez que as antocianinas e demais CCol são compostos hidrofílicos e de baixa massa molecular, capazes de diminuir a interação entre as cadeias de amilose e amilopectina do amido.

A incorporação de cera de abelha aos filmes amido/antocianinas, no geral, reduziu a resistência e capacidade de deformação plástica dos filmes, resultado compartilhado com Oliveira e autores (2019) [10], Muscat e colaboradores (2013) [84] e Han e autores (2006) [81]. A cera foi adicionada aos filmes sem qualquer compatibilizante, e embora algum nível de interação intermolecular entre a matriz de amido e a cera de abelha tenha sido indicado por ATR-FTIR e MEV, quando um esforço mecânico de tração foi aplicado sobre os filmes, a interface cera-amido não foi eficiente em transferir a tensão da matriz para o domínio lipídico, acelerando a fratura dos filmes. Os valores médios das propriedades mecânicas de tração, juntamente com os valores de espessura, dos filmes são resumidos na Tabela 6.7.

É possível perceber que houve queda significativa nos valores de resistência à tração e de módulo elástico com TSS ($p < 0.05$), indicativo de redução do grau de interação intermolecular entre as cadeias de amido pela presença dos componentes dos extratos entre elas. Já o alongamento na ruptura aumentou com o aumento de TSS ($p < 0.05$). Para os filmes compostos, houve redução de todas as propriedades ($p < 0.05$) ou as propriedades foram mantidas ao nível das propriedades dos filmes sem cera ($p > 0.05$). Sugere-se que a diferença de polaridade entre a matriz de amido e a cera de abelha levou à falha mecânica na interface cera-amido.

Tabela 6.7 – Propriedades mecânicas e espessura para os filmes sensoriais amido/antocianinas e respectivos filmes com cera de abelha. Valores médios acompanhados pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

Amostra	Resistência à tração (MPa)	Deformação na ruptura (%)	Módulo elástico (MPa)	Espessura (μm)
am-puro	19,26 \pm 0,68 ^a	4,04 \pm 0,49 ^{c,d}	910 \pm 71 ^a	133 \pm 4 ^a
am-PHD	3,53 \pm 0,30 ^e	56,03 \pm 8,20 ^a	73 \pm 12 ^f	127 \pm 10 ^{a,b}
am-BBL	5,57 \pm 0,31 ^d	62,57 \pm 5,74 ^a	238 \pm 16 ^d	84 \pm 2 ^d
am-CJL	17,49 \pm 0,87 ^b	14,58 \pm 1,90 ^b	665 \pm 24 ^b	112 \pm 4 ^{b,c}
bw-puro	8,80 \pm 0,39 ^c	3,44 \pm 0,29 ^{c,d}	482 \pm 19 ^c	82 \pm 8 ^d
bw-PHD	3,11 \pm 0,14 ^e	16,94 \pm 4,70 ^b	143 \pm 14 ^e	86 \pm 2 ^d
bw-BBL	3,42 \pm 0,24 ^e	11,53 \pm 1,22 ^{b,c}	159 \pm 10 ^e	84 \pm 2 ^d
bw-CJL	3,42 \pm 0,16 ^e	2,47 \pm 0,24 ^d	257 \pm 16 ^d	91 \pm 12 ^d

As micrografias dos filmes fraturados mecanicamente por tração são mostradas na Figura 6.15 e corroboram tal fenômeno. Vazios nas matrizes de amido e domínios de cera de abelha projetados para fora do plano da fratura indicam que houve pull-out, característica maior de falha mecânica em interfaces. Contudo, os resultados indicam que para altas teores de sólidos solúveis, as propriedades mecânicas dos filmes são determinadas pela incorporação dos extratos do que pela presença da cera de abelha.

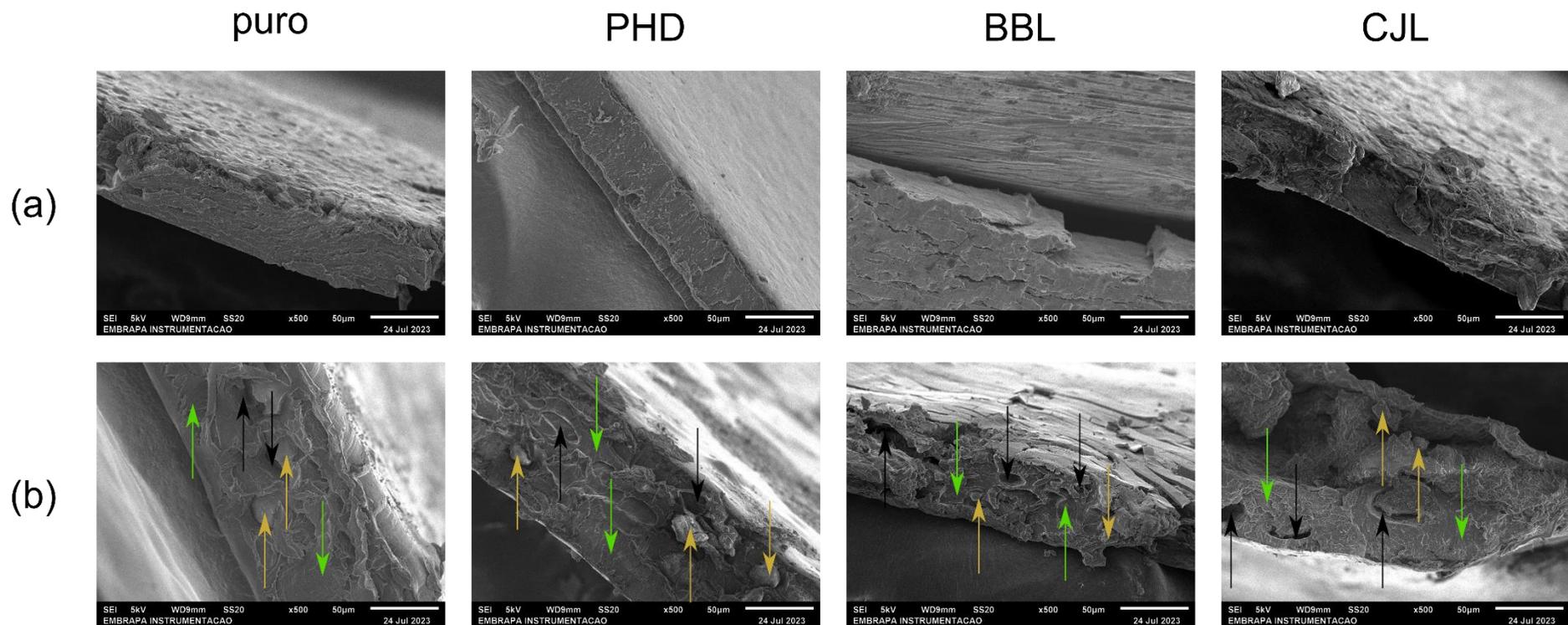


Figura 6.15 – Micrografias dos filmes sensoriais (a) sem e (b) com cera de abelha fraturados mecanicamente em aumento de 500x, destacando as fases amido (setas verdes), cera de abelha (amarelas) e vazios deixados pelo arrancamento da cera (pretas).

De forma geral, a incorporação de cera de abelha aumentou a espessura dos filmes sensoriais (Tabela 6.7), resultado semelhante ao obtido por Oliveira e colaboradores (2019) [10]. Para os filmes sem cera, a espessura permaneceu estatisticamente igual, com leve tendência crescente com o teor de sólidos solúveis. Para os filmes com cera de abelha, a espessura mostrou tendência geral de queda com o teor de sólidos, apesar da variação parabólica. A formação dos complexos amilose-lipídeos introduziu uma região ordenada de curto alcance na interface cera-amido, sendo maior esta região quanto maior o teor de sólidos solúveis, como já discutido acima. Regiões ordenadas são mais densas que regiões amorfas e, por conta disso, mais compactas, refletindo em menores espessuras para os filmes sensoriais com maiores teores de sólidos.

6.4.3 Propriedades de barreira dos filmes amido/antocianinas/cera de abelha

A Figura 6.16 mostra os valores de umidade dos filmes sensoriais. O teor de umidade dos filmes sem cera de abelha variou entre 7,7 e 8,9%, sendo os valores estatisticamente diferentes entre os filmes incorporados com os extratos e o filme controle (am-puro, umidade igual a 10,8%). Este parâmetro depende da quantidade de volumes livre na matriz de amido [132,133], sendo maior quanto mais abundantes os volumes. Porém, com o aumento de TSS, os componentes dos extratos ocuparam gradativamente os volumes livres, reduzindo a absorção de moléculas de água [132,133]. Para os filmes compostos, o teor de umidade é reduzido em comparação aos respectivos filmes sem cera, principalmente, devido ao caráter hidrofóbico do lipídeo, que modificou significativamente ($p < 0.05$) a interação da matriz de amido com as moléculas de água.

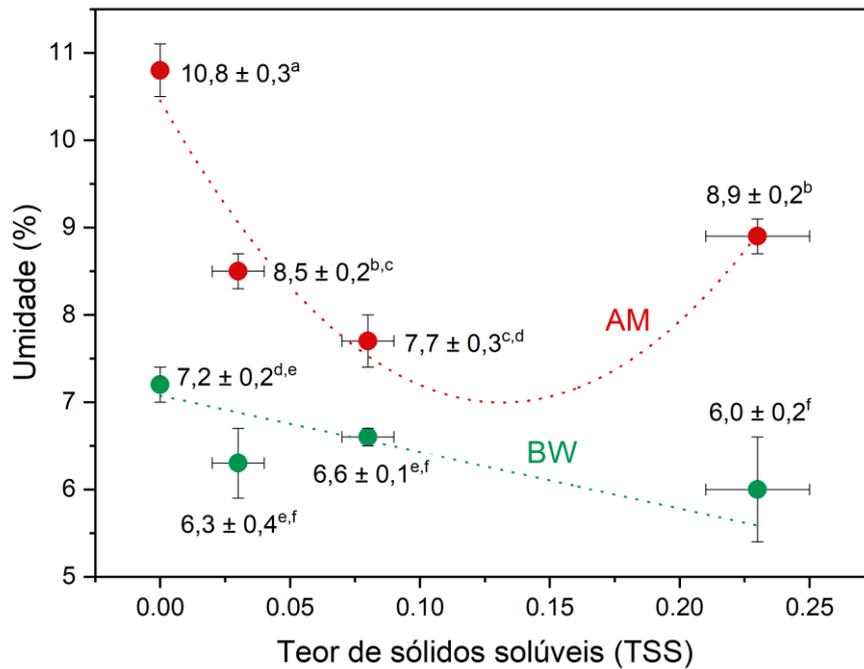


Figura 6.16 – Valor de umidade dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função de TSS. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

O teor de umidade também contribuiu para a densificação dos filmes (Figura 6.17). Quanto menor a umidade, maiores o TSS e a densidade. Isso ocorre pois há um menor número de volumes livres formados entre as cadeias de amido. Dessa forma, é possível que haja compactação destas cadeias, aumentando a densidade dos filmes como um todo [132,133].

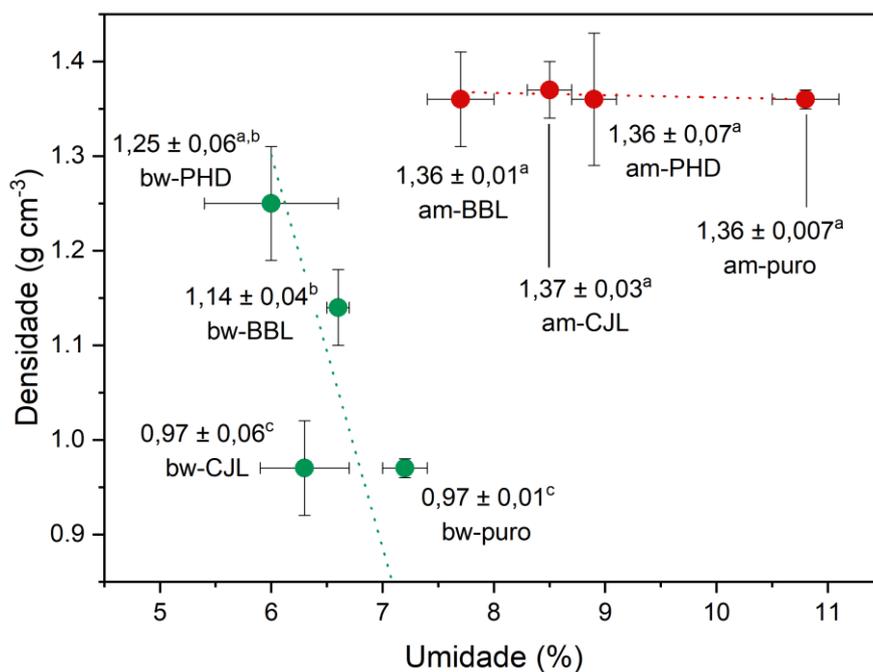


Figura 6.17 – Densidade dos filmes sensoriais em função de sua respectiva umidade. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

De forma geral, houve queda na densidade com a incorporação de cera de abelha aos filmes sensoriais, o que era esperado dada a menor densidade da cera em relação ao filme am-puro ($0,826 \text{ g cm}^{-3}$ e $1,36 \text{ g cm}^{-3}$, respectivamente).

A Figura 6.18 traz os valores de ângulo de contato dos filmes sensoriais como função de suas frações mássicas de sólidos.

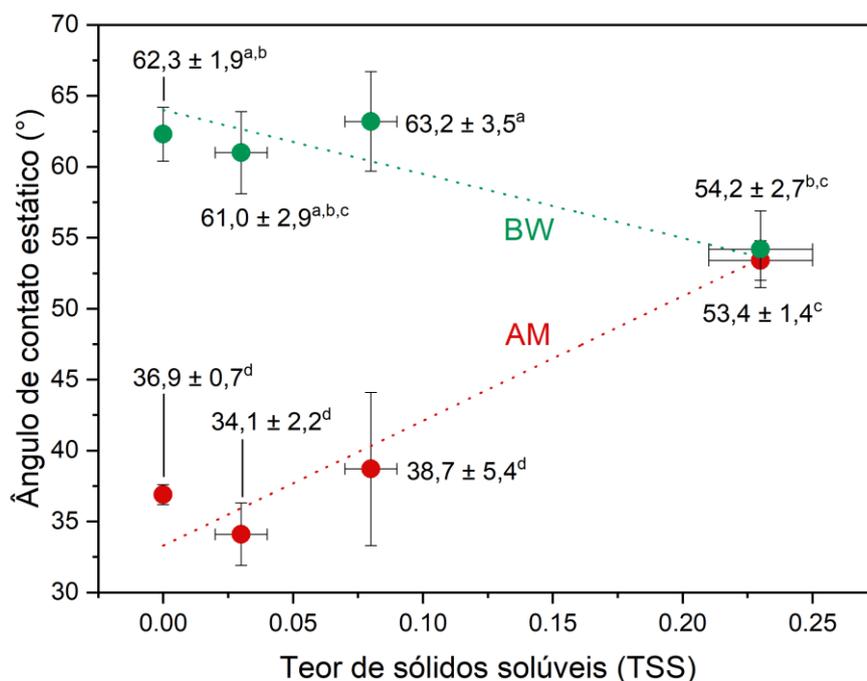


Figura 6.18 – Valores de ângulo de contato dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função de TSS, determinados em $t = 180s$. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

A adição dos extratos aos filmes aumentou o valor de ângulo de contato proporcionalmente ao TSS (Figura 6.18), apesar de somente o filme am-PHD apresentar ângulo de contato estatisticamente diferente dos demais. A incorporação de cera aumentou de forma significativa o ângulo de contato comparado com os filmes sem a adição deste lipídeo ($p < 0.05$). Embora não tenha havido diferença significativa entre os filmes compostos, independentemente do extrato presente, nota-se uma tendência de redução do ângulo de contato com o aumento de TSS, indicando que o efeito de hidrofobização da cera tende a ser minimizado para extratos com alto teor de sólidos solúveis. Para se obter filmes sensoriais mais hidrofóbicos, teores de cera acima de 30% (m/m) poderiam ser adicionados, o que será avaliado em

trabalhos futuros. Vale ressaltar que a cera de abelha pura possui ângulo de contato estático igual a $105,2^\circ$, cerca de 66% superior ao maior valor determinado neste trabalho ($63,2^\circ$ para bw-BBL)

Percebe-se, pela Figura 6.19, que o ângulo de contato estático é menor quanto maior for a energia superficial, isto é, o espalhamento da gota depositada sobre a superfície dos filmes sensoriais é mais intenso justamente para reduzir a maior energia desta superfície.

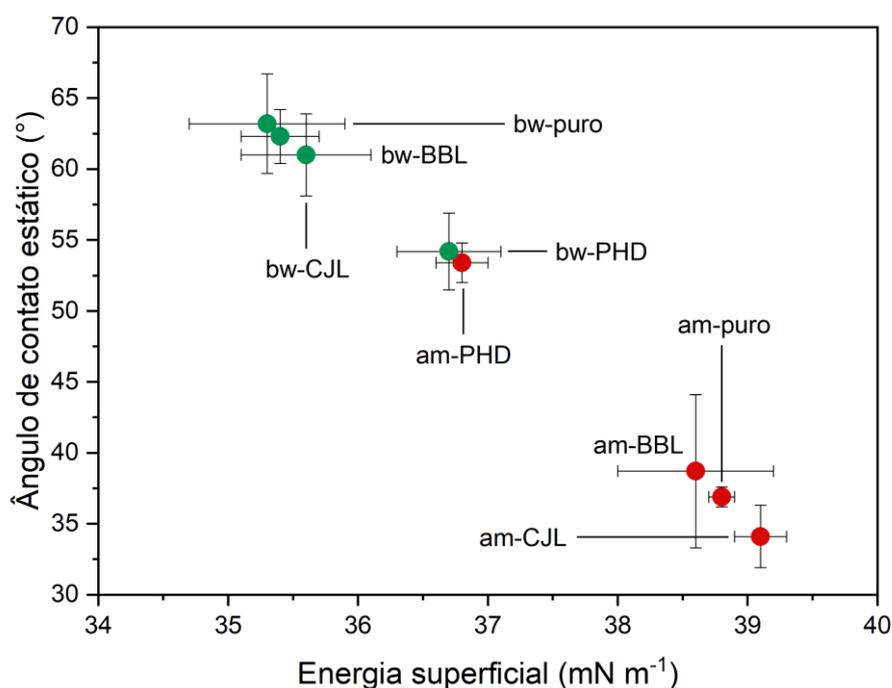


Figura 6.19 – Valores de ângulo de contato dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função da energia superficial, determinados em $t = 180s$. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

A permeabilidade a vapor d'água dos filmes sensoriais é mostrada na Figura 6.20.

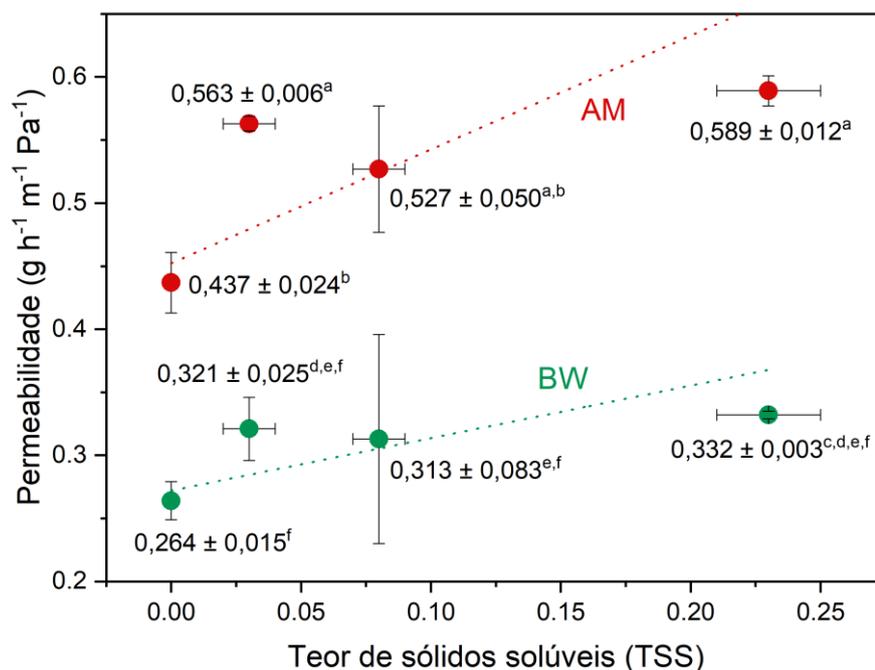


Figura 6.20 – Valores de permeabilidade a vapor d'água dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função de TSS, determinados em $t = 180\text{s}$. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

De forma geral, a permeabilidade a vapor d'água aumentou com TSS, dado o caráter hidrofílicos dos sólidos solúveis dos extratos. Em tendência oposta, a permeabilidade foi reduzida com a incorporação de cera de abelha pela alteração das condições de permeação em suas duas etapas consecutivas: (i) adsorção/dessorção (dependentes da energia superficial), que é reduzida com o aumento do ângulo de contato estático introduzido pela presença de cera; e (ii) difusão (proporcional ao fluxo de vapor através dos filmes), que é reduzida com o aumento da tortuosidade do caminho percorrido pelas moléculas de vapor d'água dentro dos filmes devido à distribuição dos domínios de cera (Figura 6.11), alcançada graças ao CCS. Estes domínios são hidrofóbicos e semicristalinos (o que por si só já é suficiente para dificultar a passagem das

moléculas), além de induzirem a formação de cristais amilose-lipídeos (V_H) na matriz, que também reduzem a difusão das moléculas de vapor d'água.

6.4.4 Propriedades ópticas dos filmes amido/antocianinas/cera de abelha

A Figura 6.21 traz representações das cores dos filmes sensoriais, detalhadas na Tabela 6.8 subsequente.

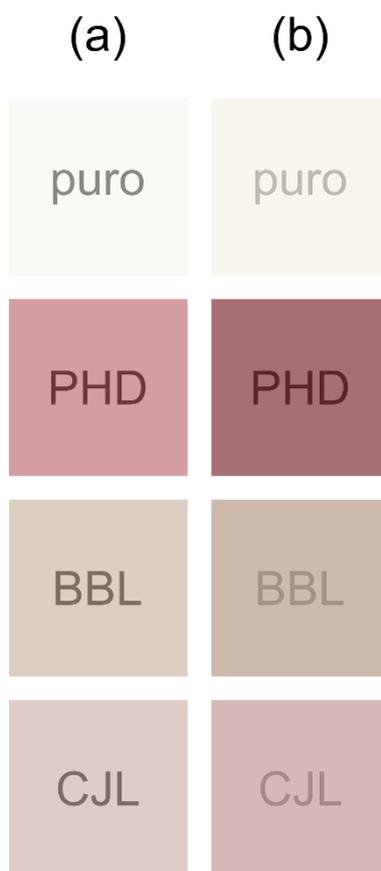


Figura 6.21 – Representação dos filmes sensoriais (a) sem e (b) com cera de abelha feita a partir dos valores dos parâmetros L, a e b de cada um, convertidos para a escala RGB.

Tabela 6.8 – Valores de opacidade, luminosidade, intensidade de cor e tonalidade dos filmes sensoriais. Valores médios acompanhados pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

Amostra	Opacidade (%)	Luminosidade (%)	Intensidade de cor (u.a.)	Tonalidade (°)
am-puro	55,44 ± 1,32 ^e	97,35 ± 0,03 ^a	2,59 ± 0,05 ^g	(-)3,47 ± 0,51 ^e
am-PHD	59,29 ± 0,09 ^{d,e}	51,20 ± 1,09 ^c	41,32 ± 0,45 ^a	72,12 ± 0,58 ^{a,b}
am-BBL	61,34 ± 1,64 ^d	74,21 ± 0,68 ^b	14,23 ± 0,51 ^e	25,22 ± 0,58 ^c
am-CJL	61,01 ± 0,90 ^d	73,45 ± 0,36 ^b	17,92 ± 0,26 ^c	75,71 ± 0,25 ^a
bw-puro	76,35 ± 1,52 ^b	96,30 ± 0,08 ^a	5,09 ± 0,13 ^f	(-)4,73 ± 0,22 ^e
bw-PHD	70,29 ± 1,46 ^c	33,20 ± 1,03 ^d	37,19 ± 0,86 ^b	70,84 ± 0,92 ^b
bw-BBL	82,65 ± 1,96 ^a	73,30 ± 0,31 ^b	13,90 ± 0,17 ^e	20,72 ± 2,90 ^d
bw-CJL	81,45 ± 2,90 ^a	72,76 ± 0,33 ^b	16,52 ± 0,06 ^d	71,16 ± 1,76 ^b

A opacidade relaciona-se com a quantidade de luz que não é transmitida pelo filme, isto é, aquela que é absorvida e/ou refletida. De maneira geral, a incorporação de cera de abelha aos filmes de amido de milho aumenta a opacidade devido à adição de frações de um componente totalmente opaco. Os sólidos dos extratos não exerceram influência estatisticamente significativa sobre a opacidade dos filmes, corroborando o fato desta propriedade ser diretamente relacionada à presença da cera de abelha.

A cor percebida dos filmes sensoriais é o resultado de três principais atributos: luminosidade, saturação e tonalidade. O primeiro relaciona-se à claridade dos filmes, sendo comparada a dois extremos (preto – L = 0; e branco – L = 100). A intensidade de cor, também chamada de saturação ou de pureza, fornece uma noção da vivacidade da cor, o que popularmente é diferenciado entre cores vivas e pastéis. Por fim, a tonalidade é o atributo que permite comparar duas cores e determinar se são semelhantes ou não [57].

A luminosidade dos filmes sensoriais mostrou-se independente à presença de cera de abelha, sendo função majoritariamente da incorporação dos extratos. Ademais, os extratos BBL e CJL exerceram estatisticamente a mesma influência sobre a luminosidade apesar de suas distintas composições de antocianinas

(seção 5.1). Os extratos PHD reduziram significativamente a luminosidade dos filmes, efeito mais pronunciado em presença da cera de abelha. Este extrato possui o maior TSS, portanto, infere-se que há um teor de sólidos limite, acima da qual os sólidos presentes exercem efeito significativo sobre a luminosidade dos filmes, efeito este ainda maior na presença da cera.

A adição de cera de abelha não alterou significativamente a intensidade de cor dos filmes sensoriais, indicando que esta propriedade depende diretamente dos extratos, mais especificamente da fração mássica destes (Figura 6.22). Quanto maior a concentração de antocianinas nos filmes, mais moléculas interagem com a luz e, como resultado, mais intensa é a cor observada para os filmes sensoriais.

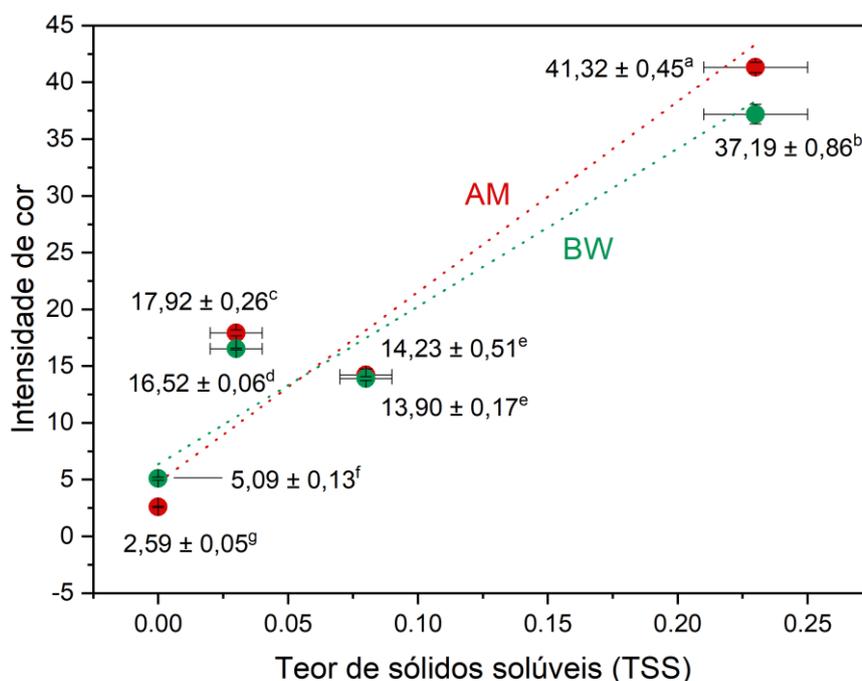


Figura 6.22 – Valores de intensidade de cor dos filmes sensoriais sem e com cera de abelha (AM e BW, respectivamente) em função de TSS. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

Não houve mudanças significativas ($p < 0.05$) nos valores de tonalidade dos filmes com a incorporação de cera de abelha, mostrando, mais uma vez, que a

cor percebida dos filmes é devida principalmente à interação das antocianinas com a luz. Ainda, os filmes CJL e PHD mostraram tonalidades estatisticamente iguais ($p < 0.05$). Isso se deve à composição de cada extrato, com antocianinas semelhantes que interagem com a luz de forma semelhante e, assim, concedem aos filmes sensoriais a mesma tonalidade.

6.5 CAPACIDADE SENSORIAL DOS FILMES COLORIMÉTRICOS

As cores dos materiais podem ser explicadas segundo a Teoria dos Orbitais Moleculares, pela qual toda molécula possui um orbital molecular total ou parcialmente ocupado denominado HOMO (sigla para Highest Occupied Molecular Orbital) e, em um nível energético maior, outro orbital molecular desocupado, este denominado LUMO (sigla para Lowest Unoccupied Molecular Orbital) e, entre estes dois orbitais, um gap energético. Quando a molécula é atingida, elétrons do HOMO são excitados para LUMO desde que a energia fornecida aos elétrons seja igual a energia do gap, isto é, a energia deve ser quantizada para que o salto energético entre orbitais ocorra. Por estar em um orbital de maior energia, os elétrons desestabilizam a molécula, o que é termodinamicamente desfavorável. Assim, esses elétrons decaem de LUMO para HOMO, liberando a energia que antes haviam recebido na forma de fótons com comprimento de onda específicos, percebidos por olhos humanos como diferentes cores [134].

Quando a amônia, volatilizada a partir de soluções de hidróxido de amônio, atingiu os filmes sensoriais, seu caráter nucleofílico levou à desprotonação das antocianinas e alterou a distribuição de cargas nestas. Dessa forma, o gap energético entre HOMO e LUMO foi alterado, afastando os dois orbitais e exigindo maiores energias para se excitar elétrons de HOMO para LUMO. Conseqüentemente, a energia liberada pelo decaimento de LUMO para HOMO também foi maior, reduzindo o comprimento de onda dos fótons e alterando a cor percebida dos filmes sensoriais [135–137]. Quanto maior a concentração de amônia nos filmes, maiores a desprotonação e a mudança de cor.

A Figura 6.23 mostra as mudanças de cor dos filmes em função do tempo.

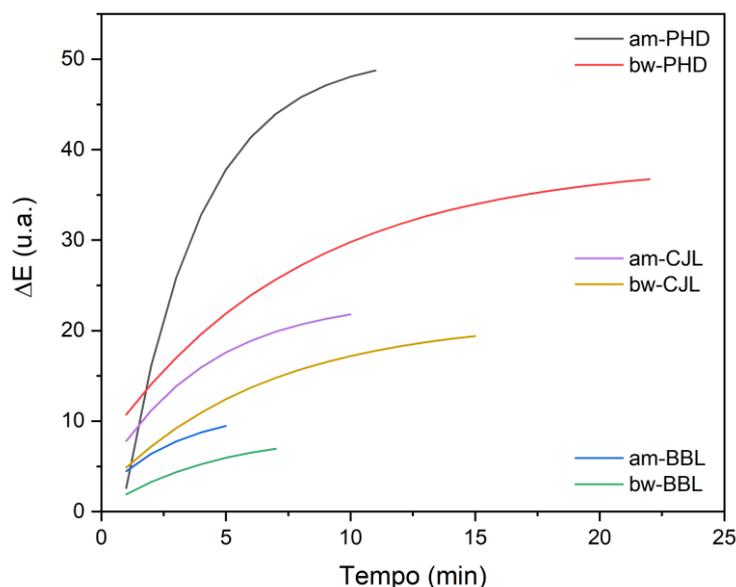


Figura 6.23 – Variação de cor (ΔE) dos filmes sensoriais em função do tempo.

O valor de ΔE foi obtido segundo a equação 5.8 (item 5.2.17). Quando há variações menores que 2 entre valores consecutivos de ΔE , considera-se que não houve variação significativa de cor dos filmes, já que esta é a menor diferença detectável por olhos humanos [138]. O comportamento assintótico visto na Figura 6.23 mostra que os filmes sensoriais, mais especificamente as antocianinas, saturam-se dos voláteis da solução de hidróxido de amônio com o tempo. Inicialmente, as antocianinas do meio estão disponíveis e facilmente acessíveis. À medida que os voláteis se liberam da solução, adsorvem-se na superfície dos filmes e se difundem para o interior destes, interagem com as antocianinas e fazem com que estas mudem de cor devido a um rearranjo de cargas em sua estrutura [139]. Porém, com o tempo, o número de antocianinas disponíveis se reduz e mais difícil é sua interação com os voláteis. Assim, a velocidade de variação de ΔE é reduzida gradualmente até que seja menor que 2, quando então a cor se estabiliza. De forma geral, os filmes com cera de abelha mostraram menores valores de ΔE em comparação a seus respectivos filmes sem cera. Isto ocorre pois o lipídeo aumenta o caminho percorrido pelas moléculas de amônia no interior dos filmes. Assim, após o mesmo tempo decorrido, o número destas que atingem e interagem com antocianinas é menor, o que resulta em menores variações de cor.

Os tempos para estabilização variaram conforme o extrato presente, conforme mostrado na Tabela 6.9.

Tabela 6.9 – Tempos para estabilização de cor dos filmes sensoriais submetidos a voláteis de amônia. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

Amostra	Tempo para estabilização de cor (min)	Amostra	Tempo para estabilização de cor (min)
am-puro	não se aplica	bw-puro	não se aplica
am-PHD	10,6 ± 0,2 ^c	bw-PHD	21,7 ± 0,4 ^a
am-BBL	4,6 ± 0,3 ^f	bw-BBL	6,6 ± 0,1 ^e
am-CJL	9,6 ± 0,2 ^d	bw-CJL	14,7 ± 0,1 ^b

A fração mássica de antocianinas em relação à massa seca de amido não se altera com a incorporação da cera de abelha, ou seja, a sua quantidade é constante para os respectivos filmes sem e com o lipídeo presente e ambos necessitam da mesma quantidade de vapor de amônia para ativar as antocianinas do meio e modificar sua cor até a estabilidade ser atingida. Porém, com o aumento da tortuosidade do caminho percorrido pelas moléculas de amônia no interior dos filmes incorporados com cera de abelha, o tempo para que estas encontrem as antocianinas e com elas interajam é aumentado.

Os menores tempos para a estabilização foram vistos pelas formulações com extrato BBL (4,6 e 6,6 minutos para os filmes sem e com cera de abelha, respectivamente). A mudança de cor dos filmes depende da mudança de estrutura das antocianinas pelo rearranjo de cargas eletrônicas. Assim, o tempo para se atingir a estabilidade de cor depende da velocidade com que a estrutura se altera. Esta mudança, por sua vez, depende diretamente de quão rápida é a redistribuição das cargas, que é dependente da existência e da posição de grupos funcionais nas moléculas de antocianinas que facilitam ou dificultam este rearranjo, comumente por impedimento estérico [140–142]. Logo, pode-se inferir que as antocianinas presentes nos filmes BBL não impedem a redistribuição de cargas, reduzindo o tempo para a estabilização de cor, ao passo que as

antocianinas nos filmes PHD e CJL apresentam certa resistência ao rearranjo. Os tempos para os filmes BBL estão próximos aos encontrados por Koshy e autores (2021) [87] e seus filmes de amido de batata e nano estruturas de carbono incorporados por extrato de flores de cunhã.

A Figura 6.24 mostra uma comparação de cores dos filmes sensoriais antes e depois de serem expostos aos voláteis de NH_3 .

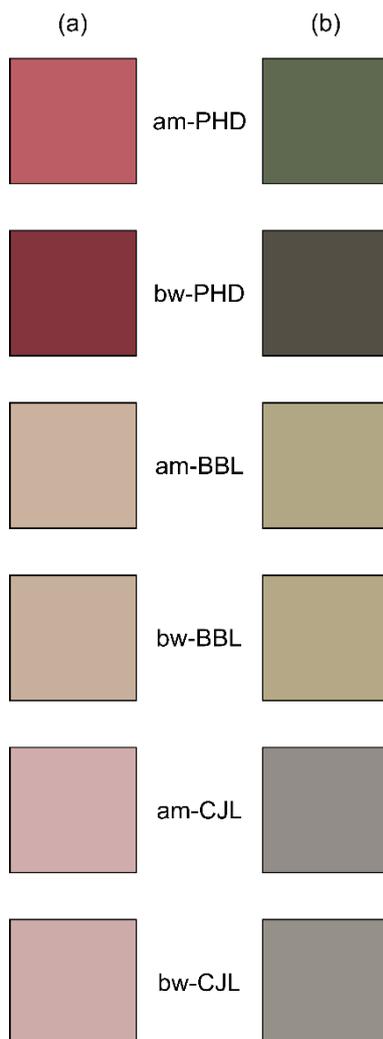


Figura 6.24 – Cores dos filmes (a) antes e (b) depois da estabilização.

Percebe-se que os filmes após a exposição mudaram de tonalidade em relação ao início. Isso ocorre pois a amônia altera o pH ao interagir com as antocianinas presentes nestes filmes. A Tabela 6.10 mostra os valores de pH antes e depois da exposição a NH_3 . Os valores de pH foram determinados considerando-se a massa de antocianinas e de voláteis presentes nos filmes após o tempo de estabilização ser atingido. A massa de voláteis foi calculada

considerando-se uma taxa de evaporação de $685 \mu\text{g min}^{-1}$ (baseado em considerações feitas por Miyamoto e colaboradores, 1975) [143].

Tabela 6.10 – Valores de pH antes e depois da exposição a voláteis de NH_3 .

Amostra	pH inicial	pH final
am-PHD	4,30	> 13
am-BBL	4,30	> 13
am-CJL	5,16	> 13
bw-PHD	5,16	> 13
bw-BBL	4,97	> 13
bw-CJL	4,97	> 13

É mostrado que o pH dos filmes aumentou com a concentração de voláteis, o que já era esperado. O pH final maior que 13 indica que a concentração de amônia nos filmes foi maior que a massa de antocianinas, já que valores de pH próximos a 14 são obtidos após um intenso processo de desprotonação, tendendo a zero a concentração de cargas positivas no meio.

A Figura 6.25 mostra a variação de cor ΔE dos filmes em função da concentração de amônia em água durante os testes descritos no item 5.2.17.

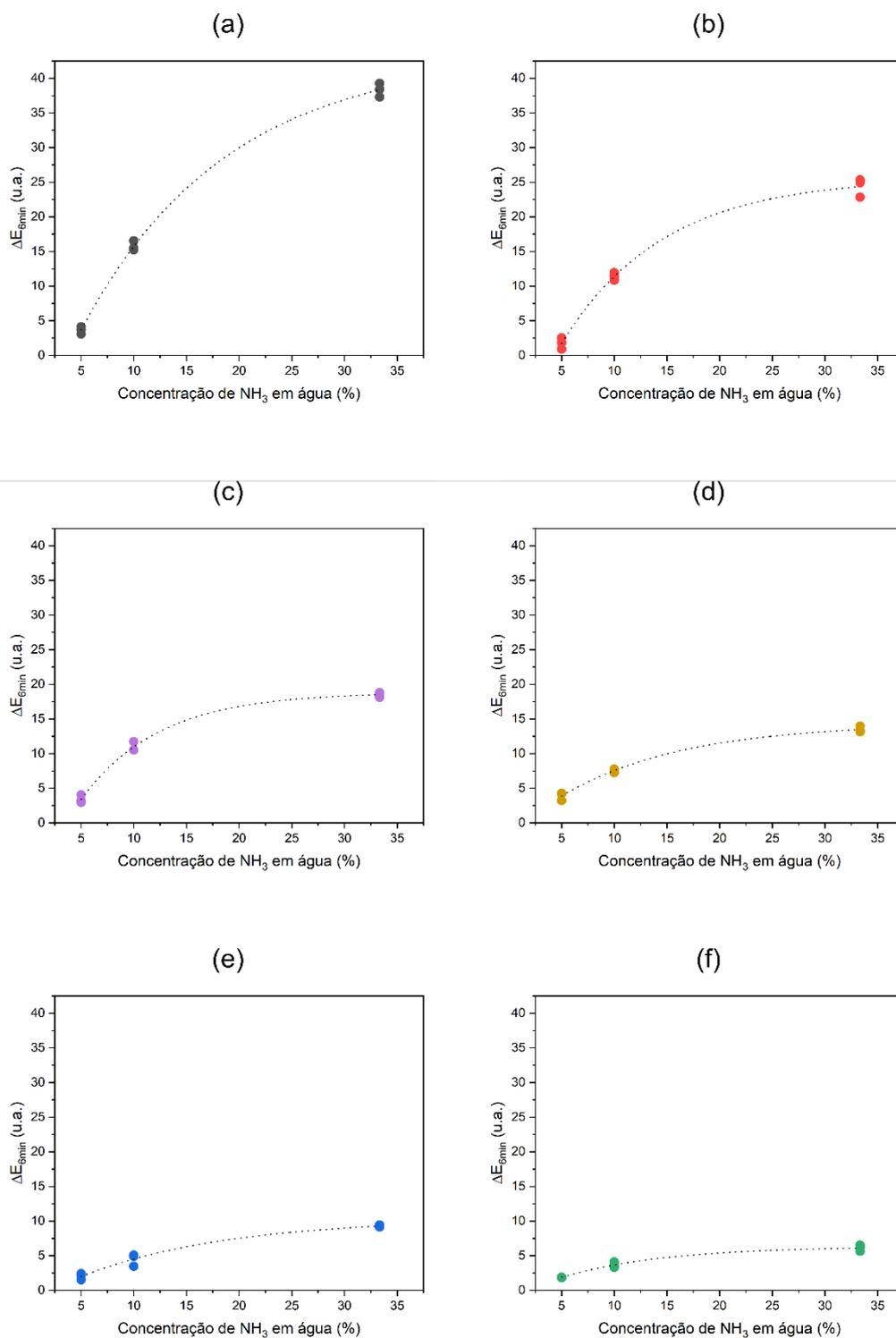


Figura 6.25 – Variação de cor ΔE com a concentração de NH_3 em água para os filmes (a) am-PHD, (b) bw-PHD, (c) am-BBL, (d) bw-BBL, (e) am-CJL e (f) bw-CJL.

Independente do extrato adicionado, a variação de cor foi reduzida conforme a concentração de NH_3 em água diminuiu, isto pois a volatilização da amônia é função da concentração deste gás no meio aquoso [144]. Sendo assim, quanto menor a concentração, menor será a volatilização e menor será a quantidade de moléculas de vapor que interagem com as antocianinas dos filmes, reduzindo, assim, a variação de cor.

A menor variação de cor detectável por olhos humanos é igual a $\Delta E = 2$ [138]. Dessa forma, aplicando-se este valor às equações dos ajustes da Figura 6.22 (não mostradas), determinou-se as concentrações mínimas detectáveis (CMD) de NH_3 para cada filme (Tabela 6.11). Miyamoto e autores (1975) [143] determinaram que soluções aquosas de amônia em baixas concentrações (< 200 ppm) perdiam cerca de 50% de massa de NH_3 em 12 horas. Aplicando este resultado aos dados, determina-se a massa de NH_3 nos filmes sensoriais e a sua concentração mínima detectável (CMD) em relação às antocianinas presentes.

Tabela 6.11 – Valores de concentração mínima detectável (CMD) de NH_3 em água e nos filmes sensoriais. Valores médios acompanhados pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade de 5% de acordo com o teste de Tukey ($p > 0.05$).

Amostra	$[\text{NH}_3]^{\dagger}$ (%)	Massa de NH_3^{\dagger} (ug)	Massa de $\text{NH}_3^{\dagger\dagger}$ (ug)	CMD ^{†††} (ug m ⁻²)
am-PHD	4,4	88	0,37	90,4 ± 0,6 ^c
am-BBL	5,0	100	0,42	102,9 ± 0,8 ^b
am-CJL	3,1	63	0,26	63,6 ± 0,4 ^d
bw-PHD	5,1	102	0,43	104,1 ± 0,3 ^b
bw-BBL	5,3	106	0,44	107,8 ± 0,4 ^a
bw-CJL	4,4	88	0,36	89,6 ± 0,9 ^c

[†] valores de amônia em água.

^{††} massa presente nos filmes sensoriais após 6 minutos de análise.

^{†††} em relação à área das amostras dos filmes utilizadas na análise de CMD.

Apesar de haver diferenças entre os valores de CMD determinados, a massa detectável de NH_3 pelos filmes é da ordem de grandeza de 10^{-5} g, o que, na prática, pode-se considerar que não há diferenças perceptíveis na mínima concentração deste volátil nos filmes. Tal resultado já era esperado uma vez que a fração mássica das antocianinas não se altera e, assim, a mesma quantidade de NH_3 seria necessária para interagir com estes corantes e alterar a cor dos filmes sensoriais. No entanto, apesar de pequena, houve variação de CMD, o que se deve à sensibilidade das antocianinas, dependente de sua estrutura, isto é, da quantidade e posição de grupos hidroxila e/ou metoxila, de quais açúcares estão ligados ao anel pirílico e em que posições e se há ou não acilação das moléculas [140–142].

De acordo com Dudynik e autores (2018) [16], a concentração de voláteis associada à deterioração de alimentos é igual a 11,11 g por m^2 de filme sensorial. Já Qin e autores (2019) [8] consideraram 11,25 g de voláteis nitrogenados por m^2 de filme sensorial como a concentração mínima associada à deterioração de alimentos (valores calculados baseando-se nos números fornecidos pelos autores do trabalho original).

A Tabela 6.12 mostra os valores de pH dos filmes antes e depois da exposição destes a voláteis de NH_3 .

Tabela 6.12 – Valores de pH iniciais e em CMD dos filmes sensoriais.

Amostra	pH inicial	pH em CMD
am-PHD	4,30	5,10
am-BBL	4,30	5,10
am-CJL	5,16	5,95
bw-PHD	5,16	5,95
bw-BBL	4,97	5,76
bw-CJL	4,97	5,76

A CMD foi calculada considerando a menor variação de cor perceptível por olhos humanos. Sendo assim, uma variação de pH de 0,8 já pode ser percebida,

valor bem abaixo daqueles vistos para os filmes após a estabilização de suas cores (Tabela 6.10).

Logo, os valores de CMD calculados para os filmes sensoriais PHD, BBL e CJL permitem afirmar que estes são capazes de detectar a deterioração dos alimentos já em seus estágios iniciais, o que é considerado de suma importância para garantir o consumo de alimentos em condições ótimas e evitar danos à saúde.

7 CONCLUSÕES

Esta tese de doutorado visava desenvolver sensores colorimétricos biodegradáveis baseados em amido, cera de abelha e antocianinas de diferentes fontes vegetais por casting contínuo de solução (CCS). As principais conclusões do trabalho são:

- As condições de processamento via CCS foram suficientes para se obter filmes que reforçaram a atividade sensorial das antocianinas. Os extratos de antocianinas utilizados na obtenção dos filmes não se degradaram nas condições empregadas ($v_{\text{SUBSTRATO}} = 0,10 \text{ m min}^{-1}$, $h_{\text{FACA}} = 1,8 \text{ mm}$, temperaturas na estufa 01 = 100°C e na estufa 02 = 120°C e tempo de processamento de cerca de 30 minutos);
- A incorporação de extratos de antocianinas em filmes de amido de milho e cera de abelha mostrou-se ótima, com a formação de filmes homogêneos e com antocianinas distribuídas e dispersas uniformemente na matriz de amido. Não houve incorporação perceptível dos componentes do extrato na fase cera de abelha;
- A técnica CCS permitiu a obtenção de filmes de amido e cera de abelha sem a necessidade de um compatibilizante, garantindo uma morfologia de compostos em que os domínios de cera de abelha foram bem distribuídos na matriz de amido;
- A incorporação da cera de abelha reduziu a susceptibilidade da matriz de amido à água, reduzindo a permeabilidade ao vapor d'água em cerca de 40% e aumentando o ângulo de contato dos filmes em aproximadamente 70%, mesmo na presença dos extratos de antocianinas, os quais classicamente tendem a tornar sensores a base de polissacarídeos mais hidrofílicos;

- As diferentes fontes de extrato (pétalas de hibisco, bráctea de banana e casca de jabuticaba) exerceram influência significativa sobre as propriedades ópticas dos filmes sensoriais. Nesse caso, diferentes fontes resultaram em diferentes cores dos filmes, além de diferentes tempos (de 4,6 a 21,7 minutos) e sensibilidade para detecção de voláteis nitrogenados (CMD aproximadamente igual a 93 mg m^{-2}). As demais propriedades dos filmes foram dependentes diretamente do teor de sólidos solúveis nos extratos e seu efeito conjunto à cera de abelha, quando presentes;

- Dada a maior diferença de cor vista nos filmes com extrato PHD, estes se mostraram mais adequados para aplicação em embalagens inteligentes. Os filmes com extratos BBL e CJL necessitam de maiores estudo e engenharia para se tornarem sensores colorimétricos mais eficientes;

- Comparando as propriedades dos filmes sensoriais obtidos neste projeto àqueles da literatura, percebe-se que suas capacidades sensoriais são mais que suficientes para detectar as mínimas concentrações de voláteis nitrogenados produzidos por alimentos em processo de deterioração e perda de qualidade. A obtenção destes sensores através do CCS garantiu que as propriedades ópticas e de barreira à água dos filmes fossem satisfatoriamente atingidas para atender aplicações em embalagens.

8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Identificar e quantificar os componentes colaterais (CCol) dos extratos de bráctea de banana, pétalas de hibisco e casca de jabuticaba por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e racionalizar as propriedades dos sensores compostos amido/antocianinas/cera de abelha em função dos seus teores;
- Avaliar o efeito de diferentes teores de cera de abelha sobre as propriedades físicas e de detecção de voláteis dos sensores compostos amido/antocianinas/cera de abelha em sensoriamento;
- Explorar a extração de antocianinas a partir de outras fontes e avaliar o impacto de cada uma sobre as propriedades de sensores amido/antocianinas/cera de abelha;
- Avaliar o uso de nanoceluloses como agentes de reforço em sensores amido/antocianinas/cera de abelha;
- Aplicar o casting contínuo de solução para a produção escalonada de novos sensores baseados em antocianinas e outras matrizes poliméricas biodegradáveis.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Risch, S.J. Food Packaging History and Innovations. *J Agric Food Chem*, **2009**, *57*, 8089–8092.
- [2] Brody, A.L.; Bugusu, B.; Han, J.H.; Sand, C.K.; McHugh, T.H. Innovative Food Packaging Solutions. *Journal of Food Science*, **2008**, *73*.
- [3] Lee, S.Y.; Lee, S.J.; Choi, D.S.; Hur, S.J. Current Topics in Active and Intelligent Food Packaging for Preservation of Fresh Foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2015**, *95*, 2799–2810.
- [4] Yam, K.; Takhistov, P.; Miltz, J. Intelligent Packaging: Concepts and Applications. *J Food Sci*, **2005**, *70:1*, 1–10.
- [5] Kangas, M.J.; Burks, R.M.; Atwater, J.; Lukowicz, R.M.; Williams, P.; Holmes, A.E. Colorimetric Sensor Arrays for the Detection and Identification of Chemical Weapons and Explosives. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **2017**, *47*, 138–153.
- [6] Biji, K.B.; Ravishankar, C.N.; Mohan, C.O.; Srinivasa Gopal, T.K. Smart Packaging Systems for Food Applications: A Review. *Journal of Food Science and Technology*, **2015**, *52*, 6125–6135.
- [7] Janzen, M.C.; Ponder, J.B.; Bailey, D.P.; Ingison, C.K.; Suslick, K.S. Colorimetric Sensor Arrays for Volatile Organic Compounds. *Anal Chem*, **2006**, *78*, 3591–3600.
- [8] Qin, Y.; Liu, Y.; Yong, H.; Liu, J.; Zhang, X.; Liu, J. Preparation and Characterization of Active and Intelligent Packaging Films Based on Cassava Starch and Anthocyanins from *Lycium Ruthenicum* Murr. *Int J Biol Macromol*, **2019**, *134*, 80–90.
- [9] Luz, R.F.; Ferreira, R.D.R.; Silva, C.N.S.; Miranda, B.M.; Piccoli, R.H.; Silva, M.S.; Paula, L.C.; Leles, M.I.G.; Fernandes, K.F.; Cruz, M. V.; Batista, K.A. Development of a Halochromic, Antimicrobial, and Antioxidant Starch-Based Film Containing Phenolic Extract from Jaboticaba Peel. *Foods*, **2023**, *12*.
- [10] Oliveira, V.; Monteiro, M.; Silva, K.; Leite, R.; Aroucha, E. Analysis of the Barrier and Thermogravimetric Properties of Cassava Starch Biopolymeric Films with Addition of Beeswax. *J Food Process Technol*, **2018**, *10*, 777.

- [11] Chiumarelli, M.; Hubinger, M.D. Evaluation of Edible Films and Coatings Formulated with Cassava Starch, Glycerol, Carnauba Wax and Stearic Acid. *Food Hydrocoll*, **2014**, *38*, 20–27.
- [12] Munhoz, D.R.; Moreira, F.K.V.; Bresolin, J.D.; Bernardo, M.P.; De Sousa, C.P.; Mattoso, L.H.C. Sustainable Production and in Vitro Biodegradability of Edible Films from Yellow Passion Fruit Coproducts via Continuous Casting. *ACS Sustain Chem Eng*, **2018**, *6*, 9883–9892.
- [13] Luchesi, B.R.; Moreira, F.K.V.; Marconcini, J.M. Scalable Production of Hydrophobic Starch/Beeswax Films by Continuous Solution Casting. *J Appl Polym Sci*, **2023**.
- [14] Meng, X.; Kim, S.; Puligundla, P.; Ko, S. Carbon Dioxide and Oxygen Gas Sensors-Possible Application for Monitoring Quality, Freshness, and Safety of Agricultural and Food Products with Emphasis on Importance of Analytical Signals and Their Transformation. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, **2014**, *57*, 723–733.
- [15] Cichosz, S.; Masek, A.; Zaborski, M. Polymer-Based Sensors: A Review. *Polym Test*, **2018**, *67*, 342–348.
- [16] Dudnyk, I.; Janeček, E.R.; Vaucher-Joset, J.; Stellacci, F. Edible Sensors for Meat and Seafood Freshness. *Sens Actuators B Chem*, **2018**, *259*, 1108–1112.
- [17] Zhai, X.; Shi, J.; Zou, X.; Wang, S.; Jiang, C.; Zhang, J.; Huang, X.; Zhang, W.; Holmes, M. Novel Colorimetric Films Based on Starch/Polyvinyl Alcohol Incorporated with Roselle Anthocyanins for Fish Freshness Monitoring. *Food Hydrocoll*, **2017**, *69*, 308–317.
- [18] Zhao, M.; Yu, H.; He, Y. A Dynamic Multichannel Colorimetric Sensor Array for Highly Effective Discrimination of Ten Explosives. *Sens Actuators B Chem*, **2019**, *283*, 329–333.
- [19] Piriya V.S, A.; Joseph, P.; Daniel S.C.G., K.; Lakshmanan, S.; Kinoshita, T.; Muthusamy, S. Colorimetric Sensors for Rapid Detection of Various Analytes. *Materials Science and Engineering C*, **2017**, *78*, 1231–1245.
- [20] Ding, Y.; Zhu, W.H.; Xie, Y. Development of Ion Chemosensors Based on Porphyrin Analogues. *Chem Rev*, **2017**, *117*, 2203–2256.
- [21] Zilberman, Y.; Chen, Y.; Sonkusale, S.R. Dissolved Ammonia Sensing in Complex Mixtures Using Metalloporphyrin-Based Optoelectronic Sensor

- and Spectroscopic Detection. *Sens Actuators B Chem*, **2014**, *202*, 976–983.
- [22] Thyagarajan, S.; Leiding, T.; Årsköld, S.P.; Cheprakov, A. V.; Vinogradov, S.A. Highly Non-Planar Dendritic Porphyrin for PH Sensing: Observation of Porphyrin Monocation. *Inorg Chem*, **2010**, *49*, 9909–9920.
- [23] Kaewtong, C.; Kampaengsri, S.; Tuntulani, T.; Pulpoka, B. A Solvatochromic-Based Sensor for Chromium(III) in Real Systems. *New Journal of Chemistry*, **2018**, *42*, 9930–9934.
- [24] Rankin, J.M.; Zhang, Q.; Lagasse, M.K.; Zhang, Y.; Askim, J.R.; Suslick, K.S. Solvatochromic Sensor Array for the Identification of Common Organic Solvents. *Analyst*, **2015**, *140*, 2613–2617.
- [25] Xiao-wei, H.; Xiao-bo, Z.; Ji-yong, S.; Zhi-hua, L.; Jie-wen, Z. Colorimetric Sensor Arrays Based on Chemo-Responsive Dyes for Food Odor Visualization. *Trends in Food Science and Technology*, **2018**, *81*, 90–107.
- [26] Khoo, H.E.; Azlan, A.; Tang, S.T.; Lim, S.M. Anthocyanidins and Anthocyanins: Colored Pigments as Food, Pharmaceutical Ingredients, and the Potential Health Benefits. *Food and Nutrition Research*, **2017**, *61*.
- [27] Arruda, H.S.; Silva, E.K.; Araujo, N.M.P.; Pereira, G.A.; Pastore, G.M.; Junior, M.R.M. Anthocyanins Recovered from Agri-Food by-Products Using Innovative Processes: Trends, Challenges, and Perspectives for Their Application in Food Systems. *Molecules*, **2021**, *26*.
- [28] Su, X.; Xu, J.; Rhodes, D.; Shen, Y.; Song, W.; Katz, B.; Tomich, J.; Wang, W. Identification and Quantification of Anthocyanins in Transgenic Purple Tomato. *Food Chem*, **2016**, *202*, 184–188.
- [29] Castañeda-Ovando, A.; Pacheco-Hernández, M. de L.; Páez-Hernández, M.E.; Rodríguez, J.A.; Galán-Vidal, C.A. Chemical Studies of Anthocyanins: A Review. *Food Chemistry*, **2009**, *113*, 859–871.
- [30] 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 Chem*, **2017**, *218*, 122–128.
- [31] Toro-Márquez, L.A.; Merino, D.; Gutiérrez, T.J. Bionanocomposite Films Prepared from Corn Starch With and Without Nanopackaged Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*) Flower Extract. *Food Bioproc Tech*, **2018**, *11*, 1955–1973.

- [32] Xue Mei, L.; Mohammadi Nafchi, A.; Ghasemipour, F.; Mat Easa, A.; Jafarzadeh, S.; Al-Hassan, A.A. Characterization of PH Sensitive Sago Starch Films Enriched with Anthocyanin-Rich Torch Ginger Extract. *Int J Biol Macromol*, **2020**, *164*, 4603–4612.
- [33] Jiang, H.; Zhang, W.; Cao, J.; Jiang, W. Development of Biodegradable Active Films Based on Longan Seed Starch Incorporated with Banana Flower Bract Anthocyanin Extracts and Applications in Food Freshness Indication. *Int J Biol Macromol*, **2023**, *251*.
- [34] Xie, F.; Halley, P.J.; Avérous, L. Rheology to Understand and Optimize Processibility, Structures and Properties of Starch Polymeric Materials. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, **2012**, *37*, 595–623.
- [35] Schirmer, M.; Höchstötter, A.; Jekle, M.; Arendt, E.; Becker, T. Physicochemical and Morphological Characterization of Different Starches with Variable Amylose/Amylopectin Ratio. *Food Hydrocoll*, **2013**, *32*, 52–63.
- [36] Avérous, L.; Halley, P.J. Biocomposites Based on Plasticized Starch. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, **2009**, *3*, 329–343.
- [37] Pérez, S.; Baldwin, P.M.; Gallant, D.J. Structural Features of Starch Granules I. In *Starch: Chemistry and Technology*; Academic, **2009**; pp. 149–192.
- [38] Matignon, A.; Tecante, A. Starch Retrogradation: From Starch Components to Cereal Products. *Food Hydrocoll*, **2017**, *68*, 43–52.
- [39] Hoover, R. Composition, Molecular Structure, and Physicochemical Properties of Tuber and Root Starches: A Review. *Carbohydr Polym*, **2001**, *45*, 253–267.
- [40] Garavand, F.; Rouhi, M.; Razavi, S.H.; Cacciotti, I.; Mohammadi, R. Improving the Integrity of Natural Biopolymer Films Used in Food Packaging by Crosslinking Approach: A Review. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2017**, *104*, 687–707.
- [41] Molavi, H.; Behfar, S.; Ali Shariati, M.; Kaviani, M.; Atarod, S. A REVIEW ON BIODEGRADABLE STARCH BASED FILM. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, **2015**, *4*, 456–461.

- [42] Mali, S.; Sakanaka, L.S.; Yamashita, F.; Grossmann, M.V.E. Water Sorption and Mechanical Properties of Cassava Starch Films and Their Relation to Plasticizing Effect. *Carbohydr Polym*, **2005**, *60*, 283–289.
- [43] Sothornvit, R.; Krochta, J.M. Plasticizers in Edible Films and Coatings. In *Innovations in food packaging*; Elsevier Academic, **2005**; pp. 403–434.
- [44] Steeneken, P.A.M. *Rheological Properties of Aqueous Suspensions of Swollen Starch Granules*; **1989**; Vol. 11.
- [45] Campos, A. de; Sena Neto, A.R. de; Rodrigues, V.B.; Luchesi, B.R.; Moreira, F.K.V.; Correa, A.C.; Mattoso, L.H.C.; Marconcini, J.M. Bionanocomposites Produced from Cassava Starch and Oil Palm Mesocarp Cellulose Nanowhiskers. *Carbohydr Polym*, **2017**, *175*, 330–336.
- [46] Slavutsky, A.M.; Bertuzzi, M.A. Improvement of Water Barrier Properties of Starch Films by Lipid Nanolamination. *Food Packag Shelf Life*, **2016**, *7*, 41–46.
- [47] Luchesi, B.R. Desenvolvimento de Filmes de Amido Incorporados Com Cera de Abelha Por Casting Contínuo, Universidade Federal de São Carlos: São Carlos, **2019**.
- [48] Fratini, F.; Cilia, G.; Turchi, B.; Felicioli, A. Beeswax: A Minireview of Its Antimicrobial Activity and Its Application in Medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **2016**, *9*, 839–843.
- [49] Tulloch, A.P. Beeswax—Composition and Analysis. *Bee World*, **1980**, *61*, 47–62.
- [50] Aichholz, R.; Lorbeer, E. *Investigation of Combwax of Honeybees with High-Temperature Gas Chromatography and High-Temperature Gas Chromatography-Chemical Ionization Mass Spectrometry I. High-Temperature Gas Chromatography*; **1999**; Vol. 855.
- [51] Gaillard, Y.; Mija, A.; Burr, A.; Darque-Ceretti, E.; Felder, E.; Sbirrazzuoli, N. Green Material Composites from Renewable Resources: Polymorphic Transitions and Phase Diagram of Beeswax/Rosin Resin. *Thermochim Acta*, **2011**, *521*, 90–97.
- [52] Bogdanov, S. Quality and Standards of Pollen and Beeswax. *Apiacta*, **2004**, *38*, 334–341.

- [53] Jose, J.P.; Malhotra, K.; Thomas, S.; Joseph, K.; Goda, K.; Sreekala, M.S. Advances in Polymer Composites: Macro-and Microcomposites-State of the Art, New Challenges, and Opportunities. In *Polymer Composites*; **2012**; pp. 1–16.
- [54] Tcherdyntsev, V. V. Reinforced Polymer Composites. *Polymers*, **2021**, *13*, 1–7.
- [55] Hsissou, R.; Seghiri, R.; Benzekri, Z.; Hilali, M.; Rafik, M.; Elharfi, A. Polymer Composite Materials: A Comprehensive Review. *Compos Struct*, **2021**, *262*, 113640.
- [56] Biswal, T.; BadJena, S.K.; Pradhan, D. Synthesis of Polymer Composite Materials and Their Biomedical Applications. In *Materials Today: Proceedings*; Elsevier Ltd, **2020**; Vol. 30, pp. 305–315.
- [57] Sharma, G.; Trussell, H.J. Digital Color Imaging. *IEEE Transactions on Image Processing*, **1997**, *6:7*, 901–932.
- [58] Li, Y.; Huang, X.; Zeng, L.; Li, R.; Tian, H.; Fu, X.; Wang, Y.; Zhong, W.H. A Review of the Electrical and Mechanical Properties of Carbon Nanofiller-Reinforced Polymer Composites. *J Mater Sci*, **2019**, *54:2*, 1036–1076.
- [59] Silva, C.; Bobillier, F.; Canales, D.; Sepúlveda, F.A.; Cament, A.; Amigo, N.; Rivas, L.M.; Ulloa, M.T.; Reyes, P.; Ortiz, J.A.; Gómez, T.; Loyo, C.; Zapata, P.A. Mechanical and Antimicrobial Polyethylene Composites with CaO Nanoparticles. *Polymers (Basel)*, **2020**, *12:9*, 2132.
- [60] Zubair, M.; Pradhan, R.A.; Arshad, M.; Ullah, A. Recent Advances in Lipid Derived Bio-Based Materials for Food Packaging Applications. *Macromol Mater Eng*, **2021**, *306:7*, 2000799.
- [61] Yousuf, B.; Sun, Y.; Wu, S. Lipid and Lipid-Containing Composite Edible Coatings and Films. *Food Reviews International*, **2022**, *38*, 574–597.
- [62] Petropoulos, J.H. Mechanisms and Theories for Sorption and Diffusion of Gases in Polymers. In *Polymeric gas separation membrane*; **2018**; pp. 17–82.
- [63] Yuan, Y.; Lee, T.R. Contact Angle and Wetting Properties. *Springer Series in Surface Sciences*, **2013**, *51*, 3–34.
- [64] Erbil, H.Y. Contact Angle of Liquid Drops on Solids. In *Surface Chemistry of Solid and Liquid Interfaces*; **2006**; pp. 308–337.

- [65] Gecol, H. The Basic Theory. In *Chemistry and Technology of Surfactants*; **2006**; pp. 24–45.
- [66] Oyama, S.T.; Yamada, M.; Sugawara, T.; Takagaki, A.; Kikuchi, R. Review on Mechanisms of Gas Permeation through Inorganic Membranes. *Journal of the Japan Petroleum Institute*, **2011**, *54*, 298–309.
- [67] Piringer, O. Permeation of Gases, Water Vapor and Volatile Organic Compounds. In *Plastic Packaging Materials for Food: Barrier Function, Mass Transport, Quality Assurance, and Legislation*; **2000**; pp. 239–286.
- [68] Rogers, C.E. Permeation of Gases and Vapours in Polymers. In *Polymer Permeability*; **1985**; pp. 11–73.
- [69] Prasad, K.; Nikzad, M.; Sbarski, I. Permeability Control in Polymeric Systems: A Review. *Journal of Polymer Research*, **2018**, *25*.
- [70] Prasad, K.; Nikzad, M.; Sbarski, I. Modeling Permeability in Multi-Phase Polymer Composites: A Critical Review of Semi-Empirical Approaches. *Polymer Reviews*, **2021**, *61*, 194–237.
- [71] Decker, E.L.; Frank, B.; Suo, Y.; Garoff, S. *Physics of Contact Angle Measurement*; **1999**; Vol. 156.
- [72] Schrader, M.E. *Young-Dupre Revisited*; **1995**; Vol. 11.
- [73] Hebbar, R.S.; Isloor, A.M.; Ismail, A.F. Contact Angle Measurements. In *Membrane Characterization*; Elsevier Inc., **2017**; pp. 219–255.
- [74] Li, D.; Neumann, A.W. Contact Angles on Hydrophobic Solid Surfaces and Their Interpretation. *J Colloid Interface Sci*, **1992**, *148*, 190–200.
- [75] Zhang, Y.; Jiang, P.; Cao, W.; Li, X.; Lai, J. High-Sensitivity Ethylene Gas Sensor Based on NDIR and Dual-Channel Lock-in Amplifier. *Optik (Stuttg)*, **2020**, *223*.
- [76] Hirth, M.; Leiter, A.; Beck, S.M.; Schuchmann, H.P. Effect of Extrusion Cooking Process Parameters on the Retention of Bilberry Anthocyanins in Starch Based Food. *J Food Eng*, **2014**, *125*, 139–146.
- [77] Nayak, B.; Berrios, J.D.J.; Powers, J.R.; Tang, J. Thermal Degradation of Anthocyanins from Purple Potato (Cv. Purple Majesty) and Impact on Antioxidant Capacity. *J Agric Food Chem*, **2011**, *59*, 11040–11049.
- [78] Leite, L.S.F.; Ferreira, C.M.; Corrêa, A.C.; Moreira, F.K.V.; Mattoso, L.H.C. Scaled-up Production of Gelatin-Cellulose Nanocrystal Bionanocomposite Films by Continuous Casting. *Carbohydr Polym*, **2020**, *238*.

- [79] Nguyen Vu, H.P.; Lumdubwong, N. Starch Behaviors and Mechanical Properties of Starch Blend Films with Different Plasticizers. *Carbohydr Polym*, **2016**, *154*, 112–120.
- [80] Bravin, B.; Peressini, D.; Sensidoni, A. Development and Application of Polysaccharide-Lipid Edible Coating to Extend Shelf-Life of Dry Bakery Products. *J Food Eng*, **2006**, *76*, 280–290.
- [81] Han, J.H.; Seo, G.H.; Park, I.M.; Kim, G.N.; Lee, D.S. Physical and Mechanical Properties of Pea Starch Edible Films Containing Beeswax Emulsions. *J Food Sci*, **2006**, *71*.
- [82] García, M.A.; Martino, M.N.; Zaritzky, N.E. *Lipid Addition to Improve Barrier Properties of Edible Starch-Based Films and Coatings*; **2000**; Vol. 65.
- [83] Mistler, R.E.; Twiname, E.R. The Tape Casting Process. In *Tape Casting: Theory and Practice*; **2000**; pp. 83–185.
- [84] Muscat, D.; Adhikari, R.; McKnight, S.; Guo, Q.; Adhikari, B. The Physicochemical Characteristics and Hydrophobicity of High Amylose Starch-Glycerol Films in the Presence of Three Natural Waxes. *J Food Eng*, **2013**, *119*, 205–219.
- [85] Diyana, Z.N.; Jumaidin, R.; Selamat, M.Z.; Suan, M.S.M. Thermoplastic Starch/Beeswax Blend: Characterization on Thermal Mechanical and Moisture Absorption Properties. *Int J Biol Macromol*, **2021**, *190*, 224–232.
- [86] Abolghasemi, M.M.; Sobhi, M.; Piryaei, M. Preparation of a Novel Green Optical PH Sensor Based on Immobilization of Red Grape Extract on Bioorganic Agarose Membrane. *Sens Actuators B Chem*, **2016**, *224*, 391–395.
- [87] Koshy, R.R.; Koshy, J.T.; Mary, S.K.; Sadanandan, S.; Jisha, S.; Pothan, L.A. Preparation of PH Sensitive Film Based on Starch/Carbon Nano Dots Incorporating Anthocyanin for Monitoring Spoilage of Pork. *Food Control*, **2021**, *126*.
- [88] Vedove, T.M.A.R.D.; Maniglia, B.C.; Tadini, C.C. Production of Sustainable Smart Packaging Based on Cassava Starch and Anthocyanin by an Extrusion Process. *J Food Eng*, **2021**, *289*.
- [89] Zhu, B.; Lu, W.; Qin, Y.; Cheng, G.; Yuan, M.; Li, L. An Intelligent PH Indicator Film Based on Cassava Starch/Polyvinyl Alcohol Incorporating

- Anthocyanin Extracts for Monitoring Pork Freshness. *J Food Process Preserv*, **2021**, *45*.
- [90] Paludo, M.C.; Colombo, R.C.; Filho, J.T.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Ballus, C.A.; Godoy, H.T. Optimizing the Extraction of Anthocyanins from the Skin and Phenolic Compounds from the Seed of Jaboticaba Fruits (*Myrciaria Jaboticaba* o (Vell.) O. Berg) with Ternary Mixture Experimental Designs. *J Braz Chem Soc*, **2019**, *30*, 1506–1514.
- [91] Pazmiño-Durán, E.A.; Giusti, M.M.; Wrolstad, R.E.; Glória, M.B.A. Anthocyanins from Banana Bracts (*Musa X Paradisiaca*) as Potential Food Colorants. *Food Chem*, **2001**, *73*, 327–332.
- [92] Lichtemberg, L.A.; Lichtemberg, P. dos S.F. Avanços Na Bananicultura Brasileira. *Rev Bras Frutic*, **2011**, 29–36.
- [93] Wang, F.; Qiu, L.; Tian, Y. Super Anti-Wetting Colorimetric Starch-Based Film Modified with Poly(Dimethylsiloxane) and Micro-/Nano-Starch for Aquatic-Product Freshness Monitoring. *Biomacromolecules*, **2021**, *22*, 3769–3779.
- [94] Grajeda-Iglesias, C.; Figueroa-Espinoza, M.C.; Barouh, N.; Baréa, B.; Fernandes, A.; De Freitas, V.; Salas, E. Isolation and Characterization of Anthocyanins from Hibiscus Sabdariffa Flowers. *J Nat Prod*, **2016**, *79*, 1709–1718.
- [95] Pacôme Obouayeba, A.; Diarrassouba, M.; Soumahin, E.F.; Kouakou, T.H.; Pacôme, O.A. *Phytochemical Analysis, Purification and Identification of Hibiscus Anthocyanins*; Vol. 3.
- [96] Fernandes, F.A.N.; Fonteles, T. V.; Rodrigues, S.; de Brito, E.S.; Tiwari, B.K. Ultrasound-Assisted Extraction of Anthocyanins and Phenolics from Jaboticaba (*Myrciaria Cauliflora*) Peel: Kinetics and Mathematical Modeling. *J Food Sci Technol*, **2020**, *57*, 2321–2328.
- [97] Rodrigues, S.; Fernandes, F.A.N.; de Brito, E.S.; Sousa, A.D.; Narain, N. Ultrasound Extraction of Phenolics and Anthocyanins from Jaboticaba Peel. *Ind Crops Prod*, **2015**, *69*, 400–407.
- [98] Begum, Y.A.; Deka, S.C. Stability of Spray-Dried Microencapsulated Anthocyanins Extracted from Culinary Banana Bract. *Int J Food Prop*, **2017**, *20*, 3135–3148.

- [99] Wu, H.Y.; Yang, K.M.; Chiang, P.Y. Roselle Anthocyanins: Antioxidant Properties and Stability to Heat and PH. *Molecules*, **2018**, *23*.
- [100] Chumsri, P.; Sirichote, A.; Itharat, A. *Studies on the Optimum Conditions for the Extraction and Concentration of Roselle (Hibiscus Sabdariffa Linn.) Extract*, **2008**; Vol. 30.
- [101] Lee, J.; Durst, R.W.; Wrolstad, R.E.; Barnes, K.W.; Eisele, ; T; Giusti, ; M M; Haché, ; J; Hofsommer, ; H; Koswig, ; S; Krueger, D.A.; Kupina, ; S; Martin, ; S K; Martinsen, ; B K; Miller, T.C.; Paquette, ; F; Ryabkova, ; A; Skrede, ; G; Trenn, ; U; Wightman, J.D. *Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the PH Differential Method: Collaborative Study*; **2001**.
- [102] Claro, P.; de Campos, A.; Corrêa, A.; Rodrigues, V.; Luchesi, B.; Silva, L.; Tonoli, G.; Mattoso, L.; Marconcini, J. Curaua and Eucalyptus Nanofiber Films by Continuous Casting: Mixture of Cellulose Nanocrystals and Nanofibrils. *Cellulose*, **2019**, *26*, 2453–2470.
- [103] ASTM E96. *Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*; **1995**.
- [104] Albuquerque, B.R.; Pinela, J.; Barros, L.; Oliveira, M.B.P.P.; Ferreira, I.C.F.R. Anthocyanin-Rich Extract of Jaboticaba Epicarp as a Natural Colorant: Optimization of Heat- and Ultrasound-Assisted Extractions and Application in a Bakery Product. *Food Chem*, **2020**, 316.
- [105] Jackman, R.L.; Smith, J.L. Anthocyanins and Betalains. In *Natural Food Colorants*; **1996**; pp. 245–309.
- [106] Riglet, L.; Gatti, S.; Moyroud, E. Sculpting the Surface: Structural Patterning of Plant Epidermis. *iScience*, **2021**, *24*, 1–24.
- [107] Barros, H.D.F.Q.; Baseggio, A.M.; Angolini, C.F.F.; Pastore, G.M.; Cazarin, C.B.B.; Marostica-Junior, M.R. Influence of Different Types of Acids and PH in the Recovery of Bioactive Compounds in Jaboticaba Peel (*Plinia Cauliflora*). *Food Research International*, **2019**, *124*, 16–26.
- [108] Adeolu AT; Enesi DO. *Assessment of Proximate, Mineral, Vitamin and Phytochemical Compositions of Plantain (Musa Paradisiaca) Bract-an Agricultural Waste*; **2013**; Vol. 4.

- [109] Jung, E.; Kim, Y.; Joo, N. Physicochemical Properties and Antimicrobial Activity of Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.). *J Sci Food Agric*, **2013**, *93*, 3769–3776.
- [110] Wiercigroch, E.; Szafraniec, E.; Czamara, K.; Pacia, M.Z.; Majzner, K.; Kochan, K.; Kaczor, A.; Baranska, M.; Malek, K. Raman and Infrared Spectroscopy of Carbohydrates: A Review. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2017**, *185*, 317–335.
- [111] Barth, A. Infrared Spectroscopy of Proteins. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, **2007**, *1767*, 1073–1101.
- [112] Tipson, R.S. *Infrared Spectroscopy of Carbohydrates: A Review of the Literature*; Gaithersburg, MD, **1968**.
- [113] Picollo, M.; Aceto, M.; Vitorino, T. UV-Vis Spectroscopy. *Physical Sciences Reviews*, **2019**, *4:4*, 20180008.
- [114] Mäntele, W.; Deniz, E. UV–VIS Absorption Spectroscopy: Lambert-Beer Reloaded. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2017**, *173*, 965–968.
- [115] Bueno, J.M.; Sáez-Plaza, P.; Ramos-Escudero, F.; Jiménez, A.M.; Fett, R.; Asuero, A.G. Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments. Part II: Chemical Structure, Color, and Intake of Anthocyanins. *Crit Rev Anal Chem*, **2012**, *42*, 126–151.
- [116] Lin, X.; Li, N.; Xiao, Q.; Guo, Y.; Wei, J.; Jiao, T.; Chen, Q.; Chen, Q.; Chen, X. Polyvinyl Alcohol/Starch-Based Film Incorporated with Grape Skin Anthocyanins and Metal-Organic Framework Crystals for Colorimetric Monitoring of Pork Freshness. *Food Chem*, **2022**, 395.
- [117] Zhang, P.; Li, Y.; Chong, S.; Yan, S.; Yu, R.; Chen, R.; Si, J.; Zhang, X. Identification and Quantitative Analysis of Anthocyanins Composition and Their Stability from Different Strains of *Hibiscus Syriacus* L. Flowers. *Ind Crops Prod*, **2022**, 177.
- [118] Arafa, A.A.; Nada, A.A.; Ibrahim, A.Y.; Sajkiewicz, P.; Zahran, M.K.; Hakeim, O.A. Preparation and Characterization of Smart Therapeutic PH-Sensitive Wound Dressing from Red Cabbage Extract and Chitosan Hydrogel. *Int J Biol Macromol*, **2021**, *182*, 1820–1831.

- [119] Lund, D. Influence of Time, Temperature, Moisture, Ingredients, and Processing Conditions on Starch Gelatinization. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **1984**, *20*, 249–273.
- [120] Erna, K.H.; Felicia, W.X.L.; Vonnie, J.M.; Rovina, K.; Yin, K.W.; Nur'aqilah, M.N. Synthesis and Physicochemical Characterization of Polymer Film-Based Anthocyanin and Starch. *Biosensors (Basel)*, **2022**, *12*.
- [121] Amin, M.; Putra, N.; Kosasih, E.A.; Prawiro, E.; Lunto, R.A.; Mahlia, T.M.I. Thermal Properties of Beeswax/Graphene Phase Change Material as Energy Storage for Building Applications. *Appl Therm Eng*, **2017**, *112*, 273–280.
- [122] Kong, L.; Perez-Santos, D.M.; Ziegler, G.R. Effect of Guest Structure on Amylose-Guest Inclusion Complexation. *Food Hydrocoll*, **2019**, *97*.
- [123] Chen, X.; He, X.W.; Zhang, B.; Fu, X.; Jane, J. lin; Huang, Q. Effects of Adding Corn Oil and Soy Protein to Corn Starch on the Physicochemical and Digestive Properties of the Starch. *Int J Biol Macromol*, **2017**, *104*, 481–486.
- [124] Wang, N.; Liu, H.; Zhang, C. Deformation and Breakup of a Confined Droplet in Shear Flows with Power-Law Rheology. *J Rheol (N Y N Y)*, **2017**, *61*, 741–758.
- [125] Bucio, A.; Moreno-tovar, R.; Bucio, L.; Espinosa-dávila, J.; Anguebes-franceschi, F. Characterization of Beeswax, Candelilla Wax and Paraffin Wax for Coating Cheeses. *Coatings*, **2021**, *11*, 1–18.
- [126] Dini, C.; Zaro, M.J.; Rolny, N.; Caputo, M.; Boido, E.; Dellacassa, E.; Viña, S.Z. Characterization and Stability Analysis of Anthocyanins from *Pachyrhizus Ahipa* (Wedd) Parodi Roots. *Food Biosci*, **2020**, *34*.
- [127] Paraíso, C.M.; dos Santos, S.S.; Ogawa, C.Y.L.; Sato, F.; dos Santos, O.A.A.; Madrona, G.S. Hibiscus Sabdariffa L. Extract: Characterization (FTIR-ATR), Storage Stability and Food Application. *Emir J Food Agric*, **2020**, *32*, 55–61.
- [128] Luo, W.; Li, T.; Wang, C.; Huang, F. Discovery of Beeswax as Binding Agent on a 6th-Century BC Chinese Turquoise-Inlaid Bronze Sword. *J Archaeol Sci*, **2012**, *39*, 1227–1237.
- [129] Kaur, H.; Rana, B.; Tomar, D.; Kaur, S.; Jena, K.C. Fundamentals of ATR-FTIR Spectroscopy and Its Role for Probing In-Situ Molecular-Level

- Interactions. In *Progress in Optical Science and Photonics*; Springer, **2021**; Vol. 13, pp. 3–37.
- [130] Cervantes-Ramírez, J.E.; Cabrera-Ramirez, A.H.; Morales-Sánchez, E.; Rodriguez-García, M.E.; Reyes-Vega, M. de la L.; Ramírez-Jiménez, A.K.; Contreras-Jiménez, B.L.; Gaytán-Martínez, M. Amylose-Lipid Complex Formation from Extruded Maize Starch Mixed with Fatty Acids. *Carbohydr Polym*, **2020**, *246*.
- [131] Kang, X.; Liu, P.; Gao, W.; Wu, Z.; Yu, B.; Wang, R.; Cui, B.; Qiu, L.; Sun, C. Preparation of Starch-Lipid Complex by Ultrasonication and Its Film Forming Capacity. *Food Hydrocoll*, **2020**, *99*.
- [132] Benczédi, D. Estimation of the Free Volume of Starch-Water Barriers. *Trends Food Sci Technol*, **1999**, *10*, 21–24.
- [133] Marousis, S.N.; Saravacos, G.D. Density and Porosity in Drying Starch Materials. *J Food Sci*, **1990**, *55:5*, 1367–1372.
- [134] Nassau, K. *The Fifteen Causes of Color: The Physics and Chemistry of Color*.
- [135] Rusishvili, M.; Grisanti, L.; Laporte, S.; Micciarelli, M.; Rosa, M.; Robbins, R.J.; Collins, T.; Magistrato, A.; Baroni, S. Unraveling the Molecular Mechanisms of Color Expression in Anthocyanins. *Physical Chemistry Chemical Physics*, **2019**, *21*, 8757–8766.
- [136] De Souza Farias, S.A.; Da Costa, K.S.; Martins, J.B.L. Analysis of Conformational, Structural, Magnetic, and Electronic Properties Related to Antioxidant Activity: Revisiting Flavan, Anthocyanidin, Flavanone, Flavonol, Isoflavone, Flavone, and Flavan-3-Ol. *ACS Omega*, **2021**, *6*, 8908–8918.
- [137] Sakata, K.; Saito, N.; Honda, T. Ab Initio Study of Molecular Structures and Excited States in Anthocyanidins. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 3721–3731.
- [138] Mokrzycki, W.; Tatol, M. Colour Difference ΔE - A Survey. *Machine Graphics and Vision*, **2011**, 1–28.
- [139] Tang, B.; He, Y.; Liu, J.; Zhang, J.; Li, J.; Zhou, J.; Ye, Y.; Wang, J.; Wang, X. Kinetic Investigation into PH-Dependent Color of Anthocyanin and Its Sensing Performance. *Dyes and Pigments*, **2019**, *170*.
- [140] Muche, B.M.; Speers, R.A.; Rupasinghe, H.P.V. Storage Temperature Impacts on Anthocyanins Degradation, Color Changes and Haze

- Development in Juice of “Merlot” and “Ruby” Grapes (*Vitis Vinifera*). *Front Nutr*, **2018**, 5.
- [141] Rodríguez-Saona, L.E.; Giusti, M.M.; Wrolstad, R.E. *Color and Pigment Stability of Red Radish and Red-Fleshed Potato Anthocyanins in Juice Model Systems*; **1999**; Vol. 64.
- [142] Brouillard, R. The in Vivo Expression of Anthocyanins Colour in Plants. *Phytochemistry*, **1983**, 22, 131–1323.
- [143] Miyamoto, S.; Ryan, J.; Sxroehlein, J.L. Sulfuric Acid for the Treatment of Ammoniated Irrigation Water: I. Reducing Ammonia Volatilization. *Arizona Agric. Exp. Sta. Journal*, **1975**, 39, 544–548.
- [144] Jayaweera, G.R.; Mikkelsen, D.S. Ammonia Volatilization from Flooded Soil Systems: A Computer Model. I. Theoretical Aspects. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **1990**, 54, 1447–1455.

APÊNDICES

A1 Planejamento experimental das extrações de antocianinas por ultrassom

As Tabelas A.1, A.2 e A.3 trazem os planejamentos experimentais das extrações a partir dos sólidos PHD, BBL e CJL, respectivamente.

Tabela A.1 – Condições de extração assistida por ultrassom de antocianinas a partir de sólidos PHD.

Tempo (min)	Etanol : água deionizada (v/v)	Amplitude (%)	Teor de sólidos (g/ml)	CTA (mg/L)
10	75	30	10	101
20	50	50	30	124
30	75	30	10	214
10	25	70	10	244
20	50	50	30	124
30	25	70	10	182
10	75	70	10	266
10	75	70	50	55
30	25	70	50	102
30	25	30	10	356
10	25	30	50	85
30	75	30	50	34
10	25	30	10	358
10	25	70	50	86
20	50	50	30	124
30	75	70	50	115
30	75	70	10	272
10	75	30	50	51
30	25	30	50	127

Tabela A.2 – Condições de extração assistida por ultrassom de antocianinas a partir de sólidos BBL.

Tempo (min)	Etanol : água deionizada (v/v)	Amplitude (%)	CTA (mg/L)
5	75	30	20
20	75	70	27
5	75	70	27
12,5	50	50	24
20	25	70	17
20	25	30	18
5	25	70	13
12,5	50	50	24
5	25	30	14
20	75	30	20
12,5	50	50	24
12,5	50	50	24
5	50	50	37
12,5	50	30	34
12,5	25	50	40
12,5	50	50	24
12,5	50	70	41
20	50	50	61
12,5	50	50	24
12,5	75	50	60

Tabela A.3 – Condições de extração assistida por ultrassom de antocianinas a partir de sólidos CJL.

Tempo (min)	Etanol : água deionizada (v/v)	Amplitude (%)	CTA (mg/L)
12,5	50	50	989
12,5	50	50	989
20	25	30	612
20	75	70	488
12,5	50	50	989
5	25	30	242
20	75	30	648
5	25	70	565
20	25	70	383
5	75	70	496
5	75	30	439
12,5	75	50	353
5	50	50	423
12,5	50	50	989
12,5	50	50	989
12,5	25	50	609
12,5	50	50	989
12,5	50	70	622
20	50	50	494
12,5	50	30	400

A2 Custos de obtenção dos extratos e de produção dos filmes sensoriais por CSC

As Tabelas A.4, A.5, A.6 e A.7 trazem os custos de obtenção dos filmes sem e com os extratos PHD, BBL e CJL, respectivamente. Os valores foram obtidos

considerando-se as condições determinadas pelo planejamento experimental para cada fonte de antocianinas. Para os extratos, foi considerado um volume produzido igual a 1 litro, valor de referência para se determinar as proporções de cada componente adicionado para realizar a extração.

Tabela A.4 – Custos estimados de cada etapa de obtenção dos filmes puros.

Etapa		Parâmetros			Valor
Produção dos filmes	Amido	m (kg)		R\$/kg	R\$
		0,007		18,99	0,13
	Glicerol	m (kg)		R\$/kg	R\$
		0,0016		29,37	0,05
	Água deionizada	Litros		R\$/litro	R\$
		0,05		23	1,15
Agitação mecânica	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$	
	0,0808	0,5	0,85	0,03	
Aquecimento	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$	
	0,0970	0,5	0,85	0,04	
bw-puro	Cera de abelha	m (kg)		R\$/kg	R\$
		0,0021		100	0,21
Casting contínuo	Secagem	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		5	0,5	0,85	2,13
	Infravermelho	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		3,6	0,083	0,85	0,26
Filmes			SUBTOTAL	R\$	3,79
	am-puro	R\$	área produzida (m ²)	R\$/m ²	
		3,79	0,1		37,90
			SUBTOTAL	R\$	4,00
	bw-puro	R\$	área produzida (m ²)	R\$/m ²	
		4,00	0,1		40,00

Tabela A.5 – Custos estimados de cada etapa de obtenção dos filmes PHD.

Etapa	Parâmetros			Valor	
	m (kg)		R\$/kg	R\$	
Compra da pétalas desidratadas	0,1		59,97	6,00	
	<hr/>				
Moagem - moinho de facas	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$	
	0,736	0,083	0,85	0,05	
			SUBTOTAL	R\$ 6,05	
<hr/>					
Sólidos PHD		Compra + moagem de 0,1kg		R\$ 6,05	
<hr/>					
Extração por ultrassom (volume obtido de extrato = 1 litro)	Etanol	Litros	R\$/litro	R\$	
		0,25	7	1,75	
	Água deionizada	Litros	R\$/litro	R\$	
		0,75	23	17,25	
	Ultrassom	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		0,55	0,167	0,85	0,08
	Filtragem	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		0,3	0,083	0,85	0,02
	Eliminação etanol	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		1,5	12	0,85	15,30
Correção do volume	Litros		R\$/litro	R\$	
	0,25		23	5,75	
			SUBTOTAL	R\$/litro 46,20	
<hr/>					
Produção dos filmes	Amido	m (kg)	R\$/kg	R\$	
		0,007	18,99	0,13	
	Glicerol	m (kg)	R\$/kg	R\$	
		0,0016	29,37	0,05	
	Água deionizada	Litros	R\$/litro	R\$	
0,05		23	1,15		
Agitação mecânica	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$	
	0,0808	0,5	0,85	0,03	

	Aquecimento	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		0,0970	0,5	0,85	0,04
	Extrato PHD	Litros		R\$/litro	R\$
		0,05		46,20	2,31
bw-PHD	Cera de abelha	m (kg)		R\$/kg	R\$
		0,0021		100	0,21
Casting contínuo	Secagem	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		5	0,5	0,85	2,13
	Infravermelho	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		3,6	0,083	0,85	0,26
		SUBTOTAL		R\$	6,10
Filmes	am-PHD	R\$	área produzida (m ²)		R\$/m ²
		6,1	0,1		61,00
		SUBTOTAL		R\$	6,31
	bw-PHD	R\$	área produzida (m ²)		R\$/m ²
		6,31	0,1		63,10

Tabela A.6 – Custos estimados de cada etapa de obtenção dos filmes BBL.

Etapa		Parâmetros		Valor
Lavagem em água corrente das folhas do coração de banana	Litros		R\$/litro	R\$
	5		4,33	21,65
Congelamento das folhas	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
	0,053	48	0,85	2,16
Liofilização das folhas	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
	1,5	120	0,85	153,00
Moagem - moinho de facas	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
	0,736	0,25	0,85	0,16
		SUBTOTAL		R\$ 176,97
Extração por ultrassom (volume obtido de extrato = 1 litro)	Sólidos BBL	m (kg)	R\$/kg	R\$
		0,033	1815,06	59,90

	Etanol	Litros	R\$/litro	R\$	
		0,5	7	3,50	
	Água deionizada	Litros	R\$/litro	R\$	
		0,5	23	11,50	
	Ultrassom	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		0,55	0,167	0,85	0,08
	Filtragem	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		0,3	0,083	0,85	0,02
	Eliminação etanol	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		1,5	12	0,85	15,30
	Correção do volume	Litros	R\$/litro	R\$	
		0,5	23	11,50	
		SUBTOTAL	R\$/litro	101,80	
	Amido	m (kg)	R\$/kg	R\$	
		0,007	18,99	0,13	
	Glicerol	m (kg)	R\$/kg	R\$	
		0,0016	29,37	0,05	
	Água deionizada	Litros	R\$/litro	R\$	
		0,05	23	1,15	
Produção dos filmes	Agitação mecânica	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		0,0808	0,5	0,85	0,03
	Aquecimento	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		0,0970	0,5	0,85	0,04
	Extrato PHD	Litros	R\$/litro	R\$	
		0,05	101,80	5,09	
bw-BBL	Cera de abelha	m (kg)	R\$/kg	R\$	
		0,0021	100	0,21	
	Secagem	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		5	0,5	0,85	2,13
	Infravermelho	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$

		3,6	0,083	0,85	0,26
		SUBTOTAL		R\$	8,88
Filmes	am-BBL	R\$	área produzida (m ²)	R\$/m ²	
		8,88	0,1	88,80	
		SUBTOTAL		R\$	9,09
	bw-BBL	R\$	área produzida (m ²)	R\$/m ²	
		9,09	0,1	90,90	

Tabela A.7 – Custos estimados de cada etapa de obtenção dos filmes CJL.

Etapa	Parâmetros			Valor	
Lavagem em água corrente das cascas de jabuticaba	Litros	R\$/litro		R\$	
	5	4,33		21,65	
Congelamento das cascas	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$	
	0,053	48	0,85	2,16	
Liofilização das cascas	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$	
	1,5	120	0,85	153,00	
Moagem - moinho de facas	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$	
	0,736	0,25	0,85	0,16	
	SUBTOTAL		R\$	176,97	
Extração por ultrassom (volume obtido de extrato = 1 litro)	Sólidos CJL	m (kg)	R\$/kg		R\$
		0,01	3025,11		30,25
	Etanol	Litros	R\$/litro		R\$
		0,05	7		0,35
	Água deionizada	Litros	R\$/litro		R\$
		0,05	23		1,15
	Ultrassom	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		0,55	0,208	0,85	0,10
	Filtragem	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		0,3	0,083	0,85	0,02
Eliminação etanol	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$	

		1,5	12	0,85	15,30
	Correção do volume	Litros		R\$/litro	R\$
		0,95		23	21,85
		SUBTOTAL		R\$/litro	69,02
Produção dos filmes	Amido	m (kg)		R\$/kg	R\$
		0,007		18,99	0,13
	Glicerol	m (kg)		R\$/kg	R\$
		0,0016		29,37	0,05
	Água deionizada	Litros		R\$/litro	R\$
		0,05		23	1,15
	Agitação mecânica	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
	0,0808	0,5	0,85	0,03	
	Aquecimento	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		0,0970	0,5	0,85	0,04
	Extrato CJL	Litros		R\$/litro	R\$
		0,05		69,02	3,45
bw-CJL	Cera de abelha	m (kg)		R\$/kg	R\$
		0,0021		100	0,21
Casting contínuo	Secagem	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		5	0,5	0,85	2,13
	Infravermelho	P (kW)	t (h)	R\$/kWh	R\$
		3,6	0,083	0,85	0,26
		SUBTOTAL		R\$	7,24
Filmes	am-CJL	R\$	área produzida (m ²)		R\$/m ²
		7,24	0,1		72,40
		SUBTOTAL		R\$	7,45
	bw-CJL	R\$	área produzida (m ²)		R\$/m ²
		7,45	0,1		74,50