



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM  
ENGENHARIA QUÍMICA



# Estudo de Caso: Indicadores de Frescor em Produtos Cárneos

*Autor: Patricia de Paula Benvenuto*

*Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Isabel Cristina Tessaro*

*Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Jordana Corralo Spada*

Porto Alegre, novembro de 2020



Autor: Patricia de Paula Benvenuti

## Estudo de Caso: Indicadores de Frescor em Produtos Cárneos

*Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
COMGRAD/ENQ da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul como parte dos requisitos para a  
obtenção do título de Bacharel em Engenharia  
Química*

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Isabel Cristina Tessaro  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Jordana Corralo Spada

Banca Examinadora:

Dr.<sup>a</sup> Cláudia Leites Luchese, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Nilson Romeu Marcilio, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre

2020

## AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadoras Isabel e Jordana, por todo suporte, dedicação e incentivo durante a elaboração deste trabalho.

Aos meus pais, Nelci, Gilberto e irmã Débora, pelo exemplo de força e dedicação, por serem minhas inspirações, acreditarem em mim, estarem sempre presentes com seu apoio e amor incondicional.

Aos meus avós Alzira, Andrino (*in memorian*) e Élide, por todo cuidado e carinho.

Aos meus amigos, Camila, Luana, Matheus, Michele, Nataniel, Sabrine e Victória, que se tornaram minha segunda família, por todo companheirismo, suporte e ajuda durante a faculdade e além dela.

Ao meu namorado, William, pela compreensão, amor, força e apoio durante esse período.

## RESUMO

O plástico se tornou uma das matérias-primas mais utilizadas na indústria de transformação por ter um custo baixo, ser versátil e confiável. Grande parte dos produtos produzidos a partir desse material é fabricada com a finalidade da utilização única antes de seu descarte, como é o caso das embalagens. Entretanto, grande parte desses não são biodegradáveis e, acrescido do descarte incorreto, tornam-se poluentes para a natureza. Como alternativa, o uso de polímeros biodegradáveis de fonte natural vem sendo estudado para esse propósito. Este trabalho tem por objetivo elencar dados quantitativos de pesquisas que estudaram a aplicação de embalagens inteligentes produzidas a partir polímeros biodegradáveis contendo marcadores colorimétricos obtidos de antocianinas extraídas de folhas, frutos e raízes, no monitoramento da degradação de produtos cárneos. Para tanto, foi utilizada a metodologia de Análise de Componentes Principais (PCA), a fim de verificar a relação entre as principais variáveis de estudos encontrados nas publicações: bases voláteis totais (N-BVT) liberadas pelo produto, pH do alimento e diferença de cor total do filme ( $\Delta E$ ). Como resultado, concluiu-se que os produtos cárneos apresentaram boa relação entre N-BVT e pH, porém em diferentes intensidades. Já os filmes analisados apresentaram uma considerável diferença de cor quando expostos a diferentes teores de N-BVT liberados pela amostra. Neste caso, foram detectados filmes mais sensíveis que outros, sendo que o indicador elaborado a partir de papel filme, revestido com solução de agarose e antocianinas do extrato da casca de jamelão demonstrou os melhores resultados. Além disso, verificou-se a necessidade de uma maior padronização dos experimentos empregados nos artigos analisados, uma vez que alguns não constaram as análises básicas. Contudo, ao averiguar e estudar estatisticamente os dados, ficou claro que é necessário um estudo que aponte o uso de um mesmo indicador/filme para diferentes tipos de matérias-primas, visto que dependendo da carne, a mudança de pH é alterada de maneira distinta com variações no valor de liberação da amônia no meio. Além disso, existem poucos estudos relacionando as principais variáveis e a análise microbiológica. Assim, os pesquisadores do presente projeto pretendem estudar, após a escolha do melhor indicador, a sensibilidade de um mesmo filme em diferentes produtos cárneos. Para uma melhor análise e conclusão dos resultados, serão

estudadas as relações de diferentes propriedades ao longo do armazenamento como cor, pH e N-BVT. Outro ponto importante é a questão da sensibilidade, pois diferenças sutis de pH, por exemplo, entre 6,12 e 6,5 levam a valores bem diferentes de N-BVT. Ou seja, em trabalhos futuros se faz necessário a realização de testes preliminares de detecção em uma faixa de pH mais estreita, o que geralmente não é feito nos trabalhos encontrados na literatura.

***Palavras-chave:*** Embalagens inteligentes, antocianinas, polímeros biodegradáveis, análise de componentes principais.

## ABSTRACT

Plastic has become one of the most used raw materials in the manufacturing industry because it is low-cost, versatile and reliable. Most of the products produced from this material are manufactured for single use before disposal, as is the case with packaging. However, most of these are not biodegradable and, in addition to incorrect disposal, they become pollutants for nature. As an alternative, the use of biodegradable polymers from natural sources has been studied for this purpose. This work aims to list quantitative data of articles that analyzed the application of smart packaging produced from biodegradable polymers containing colorimetric markers obtained from anthocyanins extracted from leaves, fruits and roots, in the monitoring of the degradation of meat products. For this purpose, the Principal Component Analysis (PCA) methodology was used in order to verify the relationship between the main study variables found in the publications: total volatile basic nitrogen (TVB-N) released by the product, food pH and difference in total film color ( $\Delta E$ ). As a result, it was concluded that meat products showed a good relationship between TVB-N and pH, however at different intensities. The analyzed films showed a considerable color difference when exposed to different levels of TVB-N released by the sample. In this case, more sensitive films were detected than others, and the indicator made from film paper, coated with a solution of agarose and anthocyanins from the extract of the jamun fruit showed the best results. In addition, there was a need for a greater standardization of the experiments used in the analyzed articles, since some did not include the basic analyzes. However, when verifying and statistically studying the data, it became clear that a study that points out the use of the same indicator/film for different types of raw materials is needed, since depending on the meat, the pH change is influenced in a different way with variations in the ammonia release value in the medium. In addition, there are few studies relating the main variables and the microbiological analysis. Thus, the researchers of the present project intend to study, after choosing the best indicator, the sensitivity of the same film on different substrates. For a better analysis and conclusion of the results, relationships of different properties will be made during storage, such as color, pH and TVB-N. Another important point is the issue of sensitivity, because subtle differences in pH, for example, between 6.12 and 6.5, lead to quite different values of TVB-N.

That means in future studies it is necessary to make preliminary detection tests in a narrower pH range, which is not usually done in the works found in the literature.

**Keywords:** *Intelligent packaging, anthocyanins, biodegradable polymers, Principal Component Analysis.*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Indicador inteligente de tempo-temperatura disponível no mercado conhecido comercialmente como MonitorMark™.....	5
Figura 2: Representação da mudança colorimétrica do indicador inteligente de tempo-temperatura disponível no mercado conhecido comercialmente como Vitsab L5-8 Smart TTI Seafood Label, conforme variação da temperatura.....	5
Figura 3: Indicador comercial para a presença de gás oxigênio, utilizado para produtos farmacêuticos e alimentícios, Ageless Eye®.....	6
Figura 4: Marcador colorimétrico comercial de frescor utilizado em frutas da marca ripeSense®.....	6
Figura 5: Representação da estrutura do cátion Flavílico e os radicais das 6 principais antocianidinas.....	12
Figura 6: Representação das mudanças estruturais e colorimétricas das antocianinas em relação ao pH do meio. ....	12
Figura 7: Estruturas básicas das betalaínas - betacianinas e betaxantinas – composta por ácido betalâmico.....	13
Figura 8: Mudanças de coloração na mioglobina de acordo com a presença de luz e oxigênio. ....	15
Figura 9: Projeção das variáveis no plano PC1 e PC2 na análise de correlação entre quantidade de bases voláteis totais (N-BVT) e pH. ....	25
Figura 10: Projeção de todas as amostras no plano PC1 e PC2 na análise de correlação entre quantidade de bases voláteis totais (N-BVT) e pH. ....	26
Figura 11: Projeção das variáveis no plano PC1 e PC2 na análise de correlação entre quantidade de bases voláteis totais (N-BVT) e $\Delta E$ (diferença de cor total).....	28
Figura 12: Projeção das amostras no plano PC1 e PC2 na análise de correlação entre quantidade de Compostos Básicos Voláteis de Nitrogênio (N-BVT) liberados e $\Delta E$ (diferença de cor total). ....	28

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Publicações selecionadas sobre embalagens inteligentes indicadoras de frescor à base de diferentes polímeros e compostos indicadores, produzidas a partir de diferentes métodos.....	7
<b>Tabela 2:</b> Síntese da busca nas plataformas de publicações. ....	19
<b>Tabela 3:</b> Artigos selecionados a partir das buscas descritas na metodologia para o estudo de caso. ....	22
<b>Tabela 4:</b> Informações das amostras de produtos alimentícios utilizadas para Análise de Componentes Principais (PCA) das variáveis bases voláteis totais (N-BVT) e pH. ....	23
<b>Tabela 5:</b> Dados das amostras utilizadas na Análise de Componentes Principais (PCA) para relacionar as variáveis denominadas como quantidade de bases voláteis totais (N-BVT) e diferença de cor total ( $\Delta E$ ). ....	27

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a	Cromaticidade do eixo de cores verde (negativo) ao vermelho (positivo)
a*	Cromaticidade do eixo de cores verde (negativo) ao vermelho (positivo) no tempo da primeira medida
AB	Azul de Bromotimol
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AERE	Extrato da Raiz de <i>Arnebia Euchroma</i>
ALE	Extrato da Folha de <i>Amaranthus A Tricolor</i>
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
b	Cromaticidade do eixo de cores azul (negativo) ao amarelo (positivo)
b*	Cromaticidade do eixo de cores azul (negativo) ao amarelo (positivo) no tempo da primeira medida
CA	Acetato de Celulose
CMC	Carboximetilcelulose
CO <sub>2</sub>	Gás Carbônico
DMA	Dimetilamônia
GSP	Pó da Casca da Uva
HPC	Hidroxipropilcelulose
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
JPE	Extrato da Casca de Jamelão
L	Luminosidade

L*	Luminosidade no tempo da primeira medida
LRA	Extrato do Fruto Goji Berry Preto
MAE	Extrato da Polpa de Amora
MC	Metilcelulose
NBR	Norma Brasileira
N-BVT	Bases Voláteis Totais
NH <sub>3</sub>	Amônia
O <sub>2</sub>	Gás Oxigênio
ORP	Potencial de Oxidação/Redução
PB	Púrpura de Bromocresol
PVA	Polivinil Álcool
PCA	Análise de Componentes Principais ( <i>Principal Component Analysis</i> )
PLA	Ácido Polilático
RFID	Etiquetas de Identificação por Radiofrequência
RS	Extrato do Cálice de Caruru-azedo
TMA	Trimetilamina
TMAO	Óxido de Trimetilamina
TVB-N	<i>Total Volatile Basic Nitrogen</i>
VM	Vermelho de Metila

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\Delta E$	Diferença de Cor Total
$^{\circ}C$	Grau Celcius
g	Gramas
g/L	Gramas por litro
mg	Miligramas
mg N/100g	Miligramas de nitrogênio por 100 gramas
mL	Mililitro
m/m	Massa por massa
v/v	Volume por volume

## SUMÁRIO

1	Introdução	1
2	Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica	3
2.1	Embalagens Inteligentes	3
2.2	Polímeros	7
2.2.1	Polímeros Biodegradáveis	8
2.3	Agentes Indicadores	11
2.3.1	Antocianinas e Betacianinas	11
2.4	Degradação e Análise de Frescor em Produtos Cárneos	14
3	Materiais e Métodos	19
3.1	Coleta de Dados	19
3.2	Medida das Variáveis	19
3.3	Análise Estatística	20
4	Resultados e Discussão	21
4.1	Artigos Selecionados	21
4.2	Análise de Componentes Principais	22
5	Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros	31

## 1 Introdução

Os plásticos são encontrados nos mais variados setores do mercado mundial devido a alguns fatores tais como baixo custo, versatilidade e confiabilidade. Como consequência da propagação de seu consumo nas últimas décadas, metade da quantidade total já produzida foi fabricada a partir do ano 2000, sendo que em 2016 mundialmente atingiu-se a marca anual de 396 milhões de toneladas métricas. Estima-se que 75 % já tenha sido descartado, que isso tenha ocorrido de forma incorreta para cerca de 1/3 desse montante e que apenas 12,6 % foram reciclados (Wit et al., 2019). O Brasil, quarto maior produtor de lixo plástico (11,3 milhões de toneladas em 2019), recicla somente 145 mil toneladas anualmente (WWF - Brasil, 2020).

As embalagens fabricadas a partir de plásticos de origem fóssil se tornaram as mais utilizadas mundialmente, sendo responsáveis pela utilização de aproximadamente 40 % do plástico virgem (Wit et al., 2019). Muitas dessas embalagens são fabricadas com o propósito de serem utilizadas apenas uma vez antes de seu descarte. Esse fato associado ao descarte incorreto, comentado anteriormente, levam a sérios danos ambientais. Diante deste cenário, estudam-se materiais mais ambientalmente amigáveis para a produção de embalagens, como aquelas à base de materiais poliméricos naturais e biodegradáveis. Além de possuírem propriedades mecânicas similares aos polímeros fósseis, esses podem ser acrescidos de aditivos naturais devido à compatibilidade entre eles. Esses compostos são adicionados com o intuito de produzir embalagens ativas, que são aquelas capazes de interagir com o produto embalado aumentando seu tempo de prateleira, e/ou para produzir embalagens inteligentes que são usadas para monitorar alguma propriedade e transmiti-la ao consumidor.

As antocianinas, um subgrupo de compostos fenólicos, são pigmentos encontrados em folhas, frutos, verduras, hortaliças e raízes de plantas, responsáveis pela coloração vermelha até a azul. Além de apresentarem atividade antioxidante, elas são sensíveis às mudanças de pH, ou seja, a alteração de sua cor está diretamente ligada à modificação do pH no meio em que essa substância se encontra. Por esse motivo, elas têm sido estudadas na produção de embalagens inteligentes indicadoras de frescor de produtos cárneos. Metabólitos gerados em

produtos alimentícios como ácidos, gases, aminas e bases voláteis durante o armazenamento indicam deterioração microbiana ou alterações químicas. A liberação destes metabólitos promove aumento do pH do meio causando mudança visual de cor no filme, fornecendo assim informações sobre o estado de conservação do produto ao consumidor.

O presente trabalho representa um estudo de caso que tem por objetivo analisar trabalhos desenvolvidos sobre embalagens inteligentes aplicadas no monitoramento da deterioração de produtos cárneos. Para tanto, foi feita uma coleta de dados quantitativos relacionados à qualidade do produto cárneo (teor de bases voláteis e pH) e resposta do filme (parâmetros de cor) a essas mudanças. Os dados elencados foram analisados estatisticamente através da Análise de Componentes Principais (PCA), a fim de verificar possíveis semelhanças e diferenças entre os filmes analisados com diferentes polímeros e indicadores.

## **2 Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica**

### **2.1 Embalagens Inteligentes**

De acordo com Robertson (2013), a embalagem possui quatro funções fundamentais. A primeira delas é a contenção, que garante a integridade do produto, preservando o meio ambiente de poluições. A proteção busca evitar possíveis adulterações e previne contra interferências externas como contato com água, gases, vapor d'água, microrganismos e sujidades. Já a conveniência reflete em facilitar o consumo do produto conforme a necessidade, por exemplo, poder cozinhar ou reaquecer o alimento dentro da própria embalagem. Por último, é indispensável a comunicação entre fabricante e consumidor. Para isso, a embalagem deve ser capaz de identificar o produto e marca, data de fabricação, lista de ingredientes, informação nutricional, peso, validade, modo de uso e armazenamento. Além das embalagens convencionais, existem as chamadas embalagens inteligentes, que possuem a capacidade de interagir com o ambiente em que o produto se encontra.

Segundo Yam, Takistov e Miltz (2005):

Embalagem inteligente é o sistema de embalagem que é capaz de realizar funções inteligentes, como detecção, registro, rastreamento, comunicação e aplicação de lógica científica, para facilitar a tomada de decisão para estender a vida útil, aumentar a segurança, melhorar a qualidade, fornecer informações e avisar sobre possíveis problemas.

As embalagens inteligentes podem ser divididas em dois grandes grupos de acordo com suas funções: carreadoras de dados, que são utilizadas para armazenar e transmitir informações, e indicadoras, que monitoram o ambiente de armazenamento e relatam possíveis problemas. A diferenciação se dá pela maneira que a informação é passada ao consumidor.

Entre as primeiras, encontram-se os códigos de barras, que são capazes de conter algumas informações como a identificação do fabricante, mas que possuem um limitante: a baixa capacidade de armazenamento. Esse grupo também contém as Etiquetas de Identificação por Radiofrequência (RFID), compostas por um microchip - que carrega os dados - conectado a uma pequena antena que os transmitirá, e um substrato para proteção do sistema. Ademais, é necessário um leitor capaz de capturar as informações contidas na etiqueta e um computador para recebê-las, possibilitando a análise e tomada de decisão. Atualmente, essa tecnologia é comercializada na indústria de alimentos para armazenamento de alterações da temperatura e no rastreamento logístico do produto. Como exemplo temos as etiquetas Freshtime™ RFID, produzidas pela Infratab Inc. (Oxnard, Calif., U.S.A.), e as ThermAssureRFT™, produzidas pela Evidencia (Memphis, Tenn., U.S.A.) (Kumar et al., 2009).

As embalagens inteligentes indicadoras conseguem transmitir a informação para o cliente através de alterações visuais em seu filme, como intensidade diferente da sua coloração ou difusão de um corante ao longo de um sinalizador geométrico. É possível categorizá-las em 3 diferentes tipos, de acordo com seus componentes: indicadores de tempo-temperatura, de gases ou de frescor (GHAANI, *et al.*, 2016).

Na primeira categoria, encontram-se aquelas que são capazes apenas de identificar se houve aquecimento ou resfriamento além da temperatura crítica do produto, alertando o consumidor para a possibilidade de sobrevivência de microrganismos ou perda de proteínas (GHAANI, *et al.*, 2016). Elas também englobam os indicadores integradores, que possuem registro histórico da variação de temperatura e possíveis danos à qualidade causados por esse fator ao longo da logística do produto (TAOUKIS e LABUZA, 2003). Alguns exemplos desses modelos já inseridos no mercado seriam o MonitorMark™, representado na Figura 1, e o Vitsab L5-8 Smart TTI Seafood Label (Figura 2), que demonstram a variação colorimétrica do indicador e o teor de deterioração do produto em relação ao tempo e temperatura. Esses indicadores podem ser usados, por exemplo, em produtos cárneos e pescados durante o processo de transporte e armazenagem, para garantir que não houve processo de degradação por aumento de temperatura.

Figura 1: Indicador inteligente de tempo-temperatura disponível no mercado conhecido comercialmente como MonitorMark™.



Fonte: 3M™, 2020.

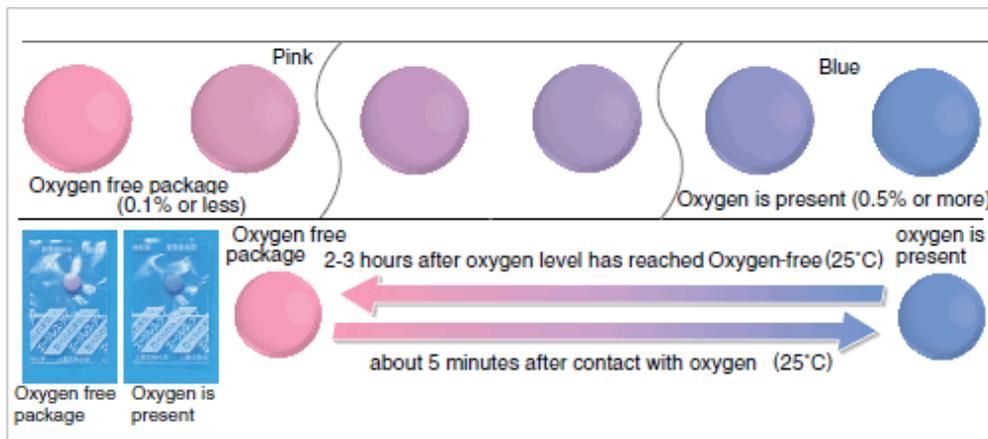
Figura 2: Representação da mudança colorimétrica do indicador inteligente de tempo-temperatura disponível no mercado conhecido comercialmente como Vitsab L5-8 Smart TTI Seafood Label, conforme variação da temperatura.



Fonte: Vitsab®, 2020.

A quantidade de gases  $O_2$  e  $CO_2$  na atmosfera em contato com alimentos perecíveis, como frutas e vegetais, influencia diretamente a atividade enzimática e a respiração desses alimentos, diminuindo seu tempo de prateleira, exceto em embalagens de atmosfera modificada. Além disso, a indústria farmacêutica precisa garantir que certos tipos de medicamentos não entrem em contato com esses gases, para preservar as propriedades ativas dos medicamentos. Para controlar a presença, ausência e quantidade presentes desses gases são utilizados indicadores da segunda categoria, que devem apresentar respostas irreversíveis, a fim de evitar falsos negativos (Robertson, 2013). Atualmente, indicadores como o Ageless Eye® da Mitsubishi Gas Chemical Company, representados na Figura 3, são comercializados para os dois mercados e possuem tempo de resposta rápida (em torno de 5 minutos) quando o produto entra em contato com esses gases.

Figura 3: Indicador comercial para a presença de gás oxigênio, utilizado para produtos farmacêuticos e alimentícios, Ageless Eye®.



Fonte: Mitsubishi Gas Chemical Company, 2020.

Indicadores da terceira categoria são utilizados para obtenção de informações diretas sobre a qualidade do alimento. Devido ao crescimento microbiano ou reações químicas que ocorrem durante o processo de deterioração, há a lenta liberação/produção de metabólitos voláteis como aminas, etileno, diacetil, sulfeto de hidrogênio ou ácidos orgânicos, levando a variações no pH do meio. Como o exemplo mostrado na Figura 4, o indicador comercial da ripeSense® contido na embalagem sofre alteração colorimétrica irreversível e proporcional à quantidade de etileno liberada na atmosfera durante a maturação da fruta. Ou seja, quanto maior for a concentração deste composto, a coloração do indicador mudará de vermelho para laranja, e posteriormente de laranja para amarelo, indicando o estágio de maturação da fruta (GHAANI, *et al.*, 2016; Robertson, 2013).

Figura 4: Marcador colorimétrico comercial de frescor utilizado em frutas da marca ripeSense®.



Fonte: ripeSense®, 2020.

Nos últimos anos, o número de trabalhos envolvendo o estudo de embalagens inteligentes foi intensificado. Com o objetivo de situar a pesquisa científica de embalagens inteligentes para a indústria de alimentos no panorama mundial, uma pesquisa no banco de dados Scopus ([www.scopus.com](http://www.scopus.com)) com as palavras “*Intelligent*”, “*Food Packaging*” e “*Biopolymer*” encontrou 456 artigos publicados no período de 1990 até 2020.

Algumas publicações dos últimos 3 anos foram selecionadas e estão detalhadas na Tabela 1. Essas pesquisas tratam do desenvolvimento de embalagens inteligentes do tipo indicadoras de frescor sensíveis a alterações no pH. Além disso, selecionou-se embalagens produzidas com diferentes bases poliméricas de fonte renováveis, como o amido de mandioca, de fonte vegetal, e a celulose de fonte bacteriana, além de compostos indicadores advindos de variados resíduos alimentícios.

**Tabela 1:** Publicações selecionadas sobre embalagens inteligentes indicadoras de frescor à base de diferentes polímeros e compostos indicadores, produzidas a partir de diferentes métodos.

Polímero	Indicador (composto)	Método de Produção	Aplicação/testes	Referência
Amido de Mandioca e Polivinil Álcool (PVA)	Extrato da casca de Pitaya (betacianinas)	Casting	Testes colorimétricos em diferentes pHs e resposta ao N-BVT	Qin et al., 2020a
κ-Carragenina e HPCM	Pó da casca de uva (antocianinas)	Casting	Testes colorimétricos em diferentes pHs e resposta ao N-BVT	Chi et al., 2020
Amido de Mandioca	Pó do bagaço de mirtilo (antocianinas)	Compressão	Testes colorimétricos em diferentes pHs	Andretta et al., 2019
Quitosana	Extrato do bagaço de mirtilo ou amora (antocianinas)	Casting	Testes colorimétricos em diferentes pHs	Kurek et al., 2018
Celulose Bacteriana	Extrato do repolho roxo (antocianinas)	impregnação em membrana	Testes colorimétricos em diferentes pHs	Pourjavaher et al., 2017

## 2.2 Polímeros

Polímeros são substâncias compostas por grandes cadeias de macromoléculas formadas por agrupamentos de monômeros (menor unidade estrutural molecular) e podem ser obtidos a partir do craqueamento do petróleo ou de recursos renováveis. Convém destacar que os materiais utilizados para a produção de embalagens plásticas atualmente são classificados em

quatro grupos, com base na sua biodegradabilidade e fonte da matéria-prima (bio ou fóssil), conforme descrito a seguir (Gómez e Michel, 2013).

- a) Polímeros petroquímicos (fonte fóssil e não biodegradável, por exemplo, polietileno, polipropileno, poliestireno, etc.).
- b) Biopolímeros (fonte bio e não biodegradável, por exemplo, polietileno verde).
- c) Polímeros petroquímicos biodegradáveis (fonte fóssil e biodegradável, por exemplo, ácido polilático - PLA derivado do petróleo).
- d) Biopolímeros biodegradáveis (amidos, proteína da soja e PLA derivado da fermentação do amido).

### 2.2.1 Polímeros Biodegradáveis

Conforme normas da *American Society for Testing and Materials* (ASTM), mais especificamente a ASTM D5488-94, polímeros biodegradáveis são

Polímeros que são capazes de sofrer decomposição em dióxido de carbono, metano, água, compostos inorgânicos, ou biomassa, em que o mecanismo predominante é a ação enzimática de microrganismos que podem ser medidos por testes padrão, ao longo de um período específico de tempo.

Se a rota de degradação for anaeróbia (sem presença de oxigênio no meio) serão produzidos dióxido de carbono, metano e água. Se ela ocorrer através de rota aeróbia (com presença de oxigênio no meio) serão produzidos dióxido de carbono, água e biomassa. Evita-se utilizar a primeira rota, pois o metano produzido é um gás do efeito estufa, ou seja, ele absorve parte dos raios solares e os emite em forma de radiação na atmosfera, no entanto, em processos industriais, o metano gerado pode ser usado como combustível para integração energética da planta. Ademais, para um envoltório ser compostável, sua biodecomposição deve propiciar ao solo em que se encontra um meio fértil para crescimento de vegetação. No Brasil, as normas que regem as questões de biodegradação e compostagem correspondem à NBR 15 448-1 e à NBR 15 448-2, ambas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Existem vários polímeros biodegradáveis que podem ser usados na produção de embalagens. No entanto, neste trabalho apenas alguns polímeros serão apresentados, visto que eles serão reportados futuramente no estudo de caso: amido, PVA (polivinil álcool), carragenina, gelatina, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e ágar.

O amido é um polímero obtido através da biomassa de cereais, raízes e tubérculos como a mandioca, trigo e batata, sendo formado por dois tipos de polímeros de glicose: a amilose (linear) e a amilopectina (ramificada). Ele pode ser encontrado no formato de grânulos em cloroplastos e amiloplastos, o último com capacidade de armazenamento do composto por diversas semanas. Suas características dependem da proporção entre essas moléculas e da presença de lipídios, proteínas e fosfatos. Em escala laboratorial, sua capacidade de formar filme está relacionada à gelatinização do amido sob aquecimento em água, quando essa encontra-se em excesso. Os filmes formados possuem baixo custo, boas propriedades mecânicas e de barreira ao oxigênio, no entanto, possuem característica hidrofílica, que aumenta a permeabilidade ao vapor de água pela estrutura da embalagem, dificultando seu uso para essa finalidade (Ellis et al., 1998).

A carragenina e o ágar são polissacarídeos extraídos da biomassa de algas vermelhas (*Rhodophyceae*) que possuem como base a galactose e se diferem pela proporção e localização de ésteres sulfatados e de 3,6-anidrogactose (Imeson, 2000 *apud* Sanchez-García, 2011). A carragenina pode ser classificada em 3 diferentes tipos:  $\lambda$ -carragenina (altamente sulfatada, solúvel em água, não forma géis, mas soluções de alta viscosidade),  $\iota$ -carragenina (solúvel em água sob determinadas condições, forma géis flexíveis e elásticos) e  $\kappa$ -carragenina (menos sulfatada e possui a menor solubilidade em água, forma géis firmes e quebradiços). O ágar é formado principalmente por dois tipos de polissacarídeos: a agarose, responsável pela capacidade de formação de géis, sendo uma cadeia linear composta de galactose e 3,6-anidrogactose, e a agarpectina, que é uma cadeia ramificada e sulfatada (parte não gelificante da estrutura). O ágar consegue formar géis duros em baixas concentrações e, dentre os polímeros provenientes desse tipo de fonte, é o polímero mais hidrofóbico em baixas temperaturas e estável em baixos pHs e altas temperaturas. No entanto, microfaturas são formadas no filme derivadas de flutuações na temperatura e umidade ambiente (BeMiller, 2019; Meritainne da Rocha et al., 2018; Mondal et al., 2019).

A celulose é um polissacarídeo linear composto de glicose, sendo considerada o recurso de biomassa mais abundante. Ela pode ser obtida das plantas (folhas, tronco, casca) e de uma grande variedade de organismos como bactérias, procariotos e eucariotos. Além disso, é termodinamicamente estável e cristalina, no entanto, em altas temperaturas se torna amorfa. Sua desvantagem é que certos tipos de enzimas microbianas são capazes de digeri-la. Por ser facilmente modificável, diferentes derivados são utilizados na indústria alimentícia, como o acetato de celulose (CA), hidroxipropilcelulose (HPC), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e carboximetilcelulose (CMC) ou metilcelulose (MC). A MC e a HPMC são éteres de celulose não iônicos, solúveis em água fria. Devido às substituições de hidroxilas por grupos hidroxipropila e/ou metila, os filmes formados permitem a incorporação de pigmentos apolares, possuem barreira ao oxigênio, e apresentam termogelação e boas propriedades mecânicas, como resistência à tração e flexibilidade (Meritane da Rocha et al., 2018; Mondal et al., 2019).

O polivinil álcool (PVA) é produzido através da hidrólise parcial ou completa do acetato de polivinila. Suas propriedades físicas dependem de diversos fatores, como processo de produção do composto de origem, grau de hidrólise, quantidade de água e plastificante utilizados. Como esse polímero é solúvel em água, seus filmes podem ser fabricados por meio da fundição da solução, porém, esse processo é de elevado custo, diminuindo a sua atratividade. Ademais, por sua temperatura de degradação ser menor que a de fusão, esse não é um polímero termoplástico, contudo, a adição de plastificantes torna possível seu uso em processos de extrusão. Filmes fabricados a partir desse polímero são biodegradáveis e de alta qualidade, inodoros e não tóxicos, resistentes à tração e flexíveis, e possuem boa propriedade de barreira ao oxigênio. Entretanto, em razão da sua afinidade com a água, eles são suscetíveis à umidade do ambiente, reduzindo sua resistência à tração e aumentando seu alongamento e dificultando a ruptura (Tang e Alavi, 2011).

O colágeno é uma proteína composta pelos aminoácidos glicina, prolina, hidroxiprolina e alanina, encontrado em ossos, cartilagens e peles de animais. A gelatina é a proteína obtida através da hidrólise parcial do colágeno e tem suas propriedades influenciadas pela origem (peixes, bovina, suína e outros), idade do animal, tipo e método de processamento do colágeno. O seu grau de conversão depende do pré-tratamento com extração em água quente, pH, temperatura e tempo de extração. Ela pode ter dois tipos de tratamento aplicados

à matéria-prima: ácido ou alcalino. A partir desse polímero é possível fabricar filmes fortes, flexíveis e impermeáveis ao oxigênio. No entanto, suas propriedades mecânicas, de permeabilidade e físico-químicas dependem principalmente da composição dos aminoácidos presentes. A principal desvantagem dos filmes de colágeno, assim como a de outros biopolímeros, é a sua higroscopicidade, sendo necessário o controle da umidade relativa do meio em que se encontra (Meritainne da Rocha et al., 2018; Shankar et al., 2016).

### **2.3 Agentes Indicadores**

Os agentes indicadores são substâncias inseridas na base polimérica da embalagem inteligente com o intuito de identificar a presença/ausência de um ou mais compostos, reações que ocorreram e alterações no pH do produto, transmitindo tal informação para o ambiente externo (GHAANI, et al., 2016). No mercado alimentício existem diferentes substâncias que podem ser usadas como indicadores, como os corantes sintéticos púrpura de bromocresol, azul de bromotimol e vermelho de metila (Chen et al., 2019), e os corantes naturais como as antocianinas e betacianinas (Andretta et al., 2019; Qin et al., 2020b).

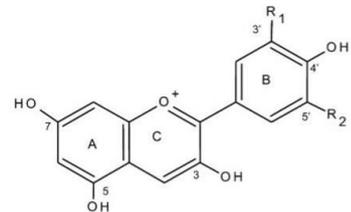
#### *2.3.1 Antocianinas e Betacianinas*

Os flavonóides, subgrupo dos compostos fenólicos constituídos de 15 carbonos em configuração C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Angelo e Jorge, 2007) são obtidos na natureza pelo metabolismo secundário das plantas, sendo responsáveis pela coloração dos frutos e vegetais (atrativo para polinização) e pela proteção contra raios ultravioletas e oxidação (Vuolo et al., 2018). As diferentes classes de flavonóides (flavonóis, flavonas, flavononas, catequinas, isoflavonas, flavanonóis e antocianidinas) são diferenciadas pelas substituições dos radicais nos anéis aromáticos (Vuolo et al., 2018).

As antocianinas são oriundas das ligações mono e diglicosídicas das antocianidinas, sendo responsáveis pela coloração laranja, vermelha, roxa e azul dos alimentos nos quais são produzidas. Esses componentes são polares, ou seja, são solúveis em solventes como metanol, etanol e água (YOUSUF, GUL, et al., 2016). Elas possuem características antioxidantes, anticancerígenas, anti-inflamatórias, antimicrobianas e atividade neuro protetora, que são benéficas à saúde humana (QIN et al., 2020). Existem mais de 600 espécies de antocianinas encontradas na natureza, que são diferenciadas pelos ligantes do cátion flavílico,

representado na Figura 5, na qual os radicais das principais 6 antocianidinas estão destacados (TERCI e ROSSI, 2002).

Figura 5: Representação da estrutura do cátion Flavílico e os radicais das 6 principais antocianidinas.

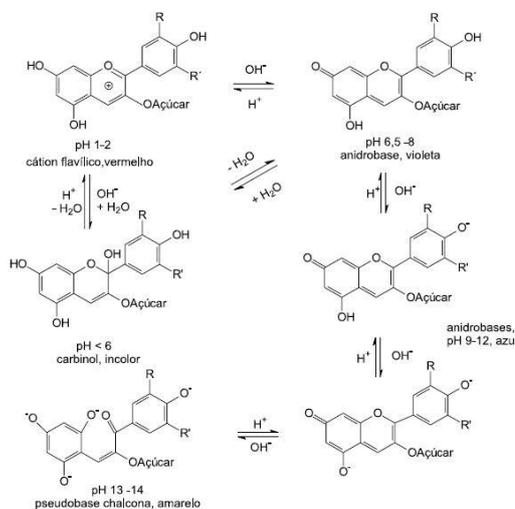


Antocianidinas	Substitutos		$\lambda_{\text{max}}$ (nm) Espectro visível	Massa Molar (g/mol)
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>		
Pelargonidina	H	H	494 (laranja)	271
Cianidina	OH	H	506 (laranja-vermelho)	287
Delfinidina	OH	OH	508 (vermelho)	303
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	H	506 (laranja-vermelho)	301
Petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH	508 (vermelho)	317
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	510 (azul-vermelho)	331

Fonte: Adaptado de Jing et al., 2008.

Além disso, as antocianinas são sensíveis colorimetricamente a mudanças de pH. Em condições ácidas, há o predomínio da coloração vermelha, alterando-se para violeta e azul conforme ocorre o aumento de pH e para amarelo em meio extremamente alcalino. Na Figura 6 é possível verificar as mudanças estruturais em relação ao pH (Terci e Rossi, 2002). Devido a essa característica, esses compostos possuem grande potencial para uso como agentes indicadores de frescor em embalagens inteligentes.

Figura 6: Representação das mudanças estruturais e colorimétricas das antocianinas em relação ao pH do meio.

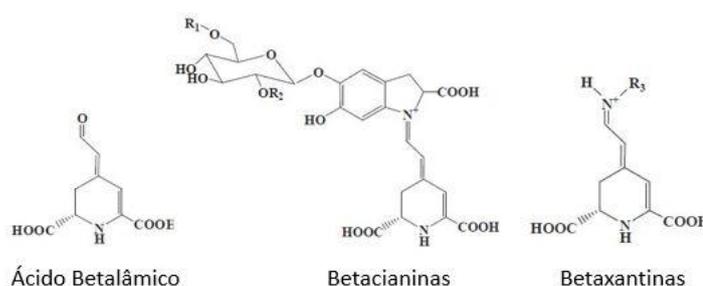


Fonte: Terci e Rossi, 2002.

Betalainas são compostos fenólicos derivados do ácido betalâmico e podem ser divididas em 2 grupos: as betacianinas, que são responsáveis pela coloração vermelha/roxa, e as betaxantinas, responsáveis pela coloração amarela/laranja de frutos e vegetais, representadas na Figura 7. Apesar de apresentarem colorações semelhantes às plantas que possuem antocianinas, diferentemente destas, a coloração dos compostos ricos em betalainas é estável em meios com pH no intervalo entre 3 e 7, o que as torna particularmente adequadas à aplicação em uma ampla faixa de alimentos levemente ácidos e neutros (Stintzing e Carle, 2007). Dessa forma, as betalainas podem ser uma alternativa para substituir as antocianinas como corante natural em uma vasta gama de produtos alimentícios (Stintzing e Carle, 2007).

Segundo Gonçalves et al. (2012), o extrato de betalainas retirado da beterraba vermelha é utilizado amplamente como corante natural em produtos lácteos, bebidas e doces. Se o meio em que esse composto se encontra possui um pH menor que 3, a estrutura da betalaina é convertida da forma aniônica (vermelha) para a forma catiônica (violeta). Para pHs maiores que 7, ocorre a alteração de coloração para amarelo-marrom, devido à hidrólise da betalaina (Miguel, 2018), possibilitando assim seu uso como indicador em embalagens inteligentes.

Figura 7: Estruturas básicas das betalainas - betacianinas e betaxantinas – composta por ácido betalâmico.



Fonte: (Qin et al., 2020a)

O estudo recente de Yan Qin (2020b) realiza a comparação de performance de ambos agentes para potencial uso como indicadores de pH na indústria alimentícia. Neste estudo, os autores verificaram que os filmes incorporados com betacianinas possuem maior barreira ao vapor d'água e a à luz UV-vis, e melhores propriedades mecânicas, antioxidantes e antimicrobianas, enquanto filmes incorporados com antocianinas apresentam maior sensibilidade à amônia e maior resposta colorimétrica ao pH.

## 2.4 Degradação e Análise de Frescor em Produtos Cárneos

A principal preocupação em relação ao processamento e armazenamento de produtos cárneos é que, por serem alimentos perecíveis, a sua degradação ocorre rapidamente devido à ação de microrganismos e reações bioquímicas. Os principais macronutrientes (proteínas, gorduras e carboidratos) são decompostos por enzimas e bactérias em amônia, hidrogênio, aldeídos, álcoois, cetonas e ácidos carboxílicos (KONG e MA, 2003 apud Mohebi e Marquez, 2015). Além disso, pode haver contaminação do produto por microrganismos patogênicos, seja por processamento, armazenamento ou conservação inadequados que quando ingeridos podem causar diversas manifestações, como febre, dores abdominais, diarreia e vômito. Esses sintomas podem durar vários dias e em casos mais graves a hospitalização para tratamento adequado pode ser necessária (KERRY, 2012).

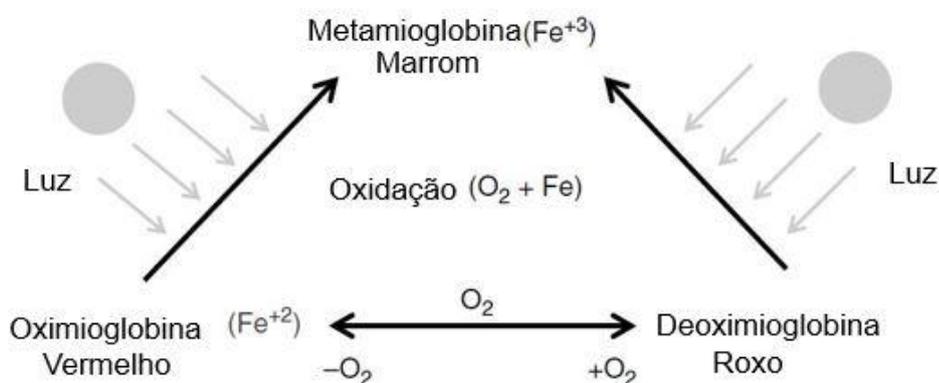
O crescimento desses agentes patogênicos em alimentos depende de fatores intrínsecos como atividade de água, tipo de fonte de carbono para energia, da quantidade de nitrogênio, vitaminas e minerais, e do Potencial de Oxidação/Redução (ORP) do alimento. Ademais, depende de fatores extrínsecos como temperatura, pH do meio, umidade relativa e composição atmosférica, que afetam diretamente a proliferação desses organismos (Cutter, 2002). A temperatura ótima de crescimento dos microrganismos pode variar entre 10 °C e 60 °C, enquanto o pH propício está entre 6,6 e 7,5.

A deterioração desse tipo de alimento pode ser classificada de acordo com a atmosfera que o envolve, além de ser fortemente influenciada pela temperatura de armazenamento. Os tipos de microrganismos que se desenvolverão durante esse processo dependem das condições de abate, estresse do animal, microbiota inicial, temperatura e a presença ou ausência de oxigênio. Entre esses, destacam-se os Gram-negativos como as bactérias *Pseudomonas*, que são não fermentadores de carboidratos e produzem pigmentos hidrossolúveis, e as *Acinetobacter* e *Flavobacterium*, que crescem na superfície do alimento, não reduzem o nitrato e geram pigmentos amarelos em alimentos e meios de cultura. Também existem os microrganismos Gram-positivos como *Lactobacillus*, que predominam no interior da carne, causando alterações na cor, odor, textura, sabor e fermentam carboidratos produzindo ácido lático (De Alcantara et al., 2012).

Em condições aeróbias e sob temperaturas de refrigeração, a microbiota deteriorante da carne é dominada por *Pseudomonas spp.* (LAWRIE, 2005 apud De Alcantara et al., 2012). Elas utilizam preferencialmente a glicose disponível como fonte de energia, porém quando a glicose se esgota, esses microrganismos metabolizam o aminoácido, produzindo amônia e sulfetos orgânicos e, por consequência, há a alteração do odor e sabor do produto ( HOLLEY & GILL, 2005 apud De Alcantara et al., 2012). Em condições anaeróbias, há o predomínio das bactérias ácido lácticas psicrotróficas, que causam modificações no odor e sabor, devido ao aumento da concentração de ácidos graxos ou lácticos ( BANDEIRA, 2004 apud De Alcantara et al., 2012; FRANCO & LANGGRAF, 2008 apud De Alcantara et al., 2012).

A cor da carne é um dos principais fatores considerados pelos consumidores. A coloração é formada majoritariamente por proteínas como a hemoglobina, pigmento sanguíneo, e a mioglobina, pigmento muscular que pode ser encontrado de três formas ( ROÇA, 2000 apud De Alcantara et al., 2012). A deoximioglobina (roxa) sofre oxidação rápida quando exposta ao oxigênio para sua forma ferrosa (oximioglobina) de coloração vermelha e posteriormente para sua forma férrica de coloração marrom-acizentado (metamioglobina), conforme o envelhecimento do produto, como apresentado na Figura 8. Esse processo depende da oxidação lipídica, quantidade de oxigênio presente, temperatura e pH (KERRY, 2012; O’Sullivan, 2016).

Figura 8: Mudanças de coloração na mioglobina de acordo com a presença de luz e oxigênio.



Fonte: Adaptado de KERRY, 2012.

As alterações de coloração também podem ser consequências da produção de sulfetos de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) e peróxidos (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por bactérias. Para produtos processados, na presença de

ar, há produção da porfirina oxidada esverdeada em decorrência da formação de  $H_2O_2$ , que reage com nitroso-hemecromo. O crescimento de microrganismos no centro do produto, geralmente *Lactobacillus*, reduz o ORP, propiciando o acúmulo de  $H_2O_2$  e modificando a cor do produto. Já carnes vermelhas frescas embaladas a vácuo ou em embalagens impermeáveis a trocas gasosas, armazenadas em temperaturas entre 1 °C e 5 °C, com um pH acima de 6,0, apresentam esverdeamento causado pela produção de  $H_2S$ , a partir das *Pseudomonas* e *Lactobacillus*, que reagem com a mioglobina para formar a sulfomioglobina. Ademais, em condições extremas, pode ocorrer a decomposição da mioglobina em consequência do desenvolvimento bacteriano, especialmente de *Lactobacillus*, que a utilizam como nutriente. Com a separação do grupo heme da parte proteica há a liberação de ferro da estrutura, levando à cor esverdeada e/ou amarelada do alimento (FRANCO & LANDGRAF, 2008 apud De Alcantara et al., 2012).

Além de afetar diretamente a coloração do produto, a oxidação lipídica influencia no sabor, qualidade nutricional e textura do produto. Esse processo inicia nas frações fosfolipídicas dos sistemas musculares, como um mecanismo de cadeia autocatalítica de radical livre. Ou seja, os ácidos graxos polinsaturados interagem com os pró-oxidantes, formando os radicais livres e propagando a cadeia oxidativa. Ademais, metais de transição, como o ferro encontrado na ferritina, atuam como catalisadores dessa reação (KERRY, 2012).

O método Kjeldahl tem sido utilizado internacionalmente na determinação do teor de deterioração de produtos cárneos por ser extremamente confiável e preciso, no entanto, envolve reagentes perigosos e possui alto custo. Nesse procedimento, uma amostra pesada do alimento sofre oxidação úmida quando aquecida junto a uma solução de ácido sulfúrico concentrado e um catalisador a uma temperatura de 400 °C, convertendo o nitrogênio em sulfato de amônio (não volátil e solúvel). Após resfriada, a amostra é diluída e alcalinizada pela adição de hidróxido de sódio, produzindo amônia (volátil). Posteriormente é feita a neutralização da solução e então é realizada a destilação, separando os outros constituintes da amônia, que é condensada. Por último, a quantificação desse composto é executada através da titulação com um ácido padrão, sendo possível relacionar o volume utilizado desse ácido e a quantidade de nitrogênio presente na amostra. Segundo o Padrão Chinês, produtos suínos consumíveis devem apresentar valores para o nitrogênio volátil menores que 15

mg/100g e para aves devem estar abaixo de 20mg/100g (Chen et al., 2019; Chi et al., 2020; O'Sullivan, 2011; Talukder et al., 2020; Zhang et al., 2019).

Quando se trata do pescado, durante o processo de deterioração por enzimas e microrganismos, a decomposição do óxido de trimetilamina (TMAO) e aminoácidos leva à liberação de substâncias como amônia (NH<sub>3</sub>), dimetialamina (DMA) e trimetilamina (TMA), que em conjunto são conhecidas como bases voláteis totais (N-BVT), na atmosfera na qual o produto se encontra. Alguns trabalhos sugerem limites para N-BVT para consumo humano, com valores diferenciados por grupos de peixes, de acordo com suas características, especialmente quanto à composição química, variando de 25 mg N/100 g em peixes gordos e de carne avermelhada até o limite de 35 mg N/100 g para espécies magras e de carne branca. A quantidade máxima de N-BVT permitida no Brasil, segundo a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, é de 30 mg N/100 g de pescado para as diferentes espécies de peixes, com exceção dos elasmobrânquios, como os cações, em que a mensuração desses compostos não serve como parâmetro de qualidade. Segundo o padrão chinês, o limite de N-BVT para considerar este alimento viável é de 20 mg N/100g (Brasil, 1997; Byrne et al., 2002; CONNELL, 1995 apud Cicero et al., 2014; Code et al., 2020; EUROPEIA, 1995; HOWGATE, 2010; Huang et al., 2019).

Esse parâmetro pode ser monitorado através de experimentos como cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, macro destilação utilizando óxido de magnésio, semi-micro destilação de extrato alcoólico utilizando hidróxidos de sódio e bário, e microdifusão em unidade de Conway. No caso do pescado, existem metodologias de quantificação de N-BVT (mg N/100 g de pescado) citadas na legislação brasileira. Os métodos de destilação anteriormente citados utilizam uma solução de ácido tricloroacético para a extração do nitrogênio proteico da amostra, que após filtração resulta em um extrato límpido contendo o nitrogênio volátil. No entanto, essas metodologias utilizam diferentes agentes alcalinizantes antes da destilação por arraste de vapor, sendo que uma delas utiliza hidróxido de sódio, enquanto a outra utiliza o óxido de magnésio. A metodologia de microdifusão em placas de Conway é descrita no Manual do Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA e se baseia na extração das bases voláteis pela adição de ácido tricloroacético 10 % à amostra e liberação dessas bases pela adição de carbonato de potássio ao extrato. O

nitrogênio volátil liberado difunde-se pelo ar e fixa-se na solução de ácido bórico, sendo posteriormente titulado com ácido clorídrico. Contudo, as metodologias acima citadas possuem altos custos e somente podem ser realizadas em laboratório (BRASIL, 1981, 1999; Brasil e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2019; Byrne et al., 2002; Pearson, 1968).

Como alternativa, devido ao aumento do pH do meio em consequência da liberação desses compostos, há a possibilidade de monitoramento das mudanças desse parâmetro através de indicadores colorimétricos. Atualmente, têm sido realizadas diversas pesquisas para o desenvolvimento desses indicadores de baixo custo, que possam estar em contato com o alimento e que consigam ser facilmente interpretados pelo consumidor, como é o caso de indicadores com base em corantes naturais, como as antocianinas e betacianinas (Chi et al., 2020; Qin et al., 2020a).

### 3 Materiais e Métodos

#### 3.1 Coleta de Dados

O presente estudo de caso corresponde a uma pesquisa quantitativa, visto que os dados coletados são quantificáveis e serão analisados estatisticamente. Esses dados secundários, ou seja, dados já existentes na literatura, serão elencados com a finalidade de verificar semelhanças e diferenças entre as distintas embalagens inteligentes usadas como indicadoras de frescor em produtos cárneos. Para isso, foram realizadas buscas na plataforma de publicações científicas Science Direct ([www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)) e nos bancos de dados Scopus ([www.scopus.com](http://www.scopus.com)) e Google Acadêmico (<https://scholar.google.com.br>) com as expressões “Biopolymer meat packaging”, “Biopolymer intelligent meat packaging”, “Bioindicator meat packaging”, “Sustainable indicator meat packaging”, “Anthocyanins indicator meat freshness” e “Intelligent meat packaging”, restringindo-as a artigos publicados entre 2015 e 2020. O número de textos encontrados para cada conjunto de palavras acima mencionado está apresentado na Tabela 2.

**Tabela 2:** Síntese da busca nas plataformas de publicações.

Descritores	Google Acadêmico	Science Direct	Scopus
Biopolymer meat packaging	7510	1494	43
Biopolymer intelligent meat packaging	1620	276	144
Bioindicator meat packaging	393	58	20
Sustainable indicator meat packaging	16800	2481	304
Anthocyanins indicator meat freshness	1440	416	116
Intelligent meat packaging	15200	963	964

#### 3.2 Medida das Variáveis

As variáveis que serão analisadas no presente estudo de caso foram obtidas a partir dos artigos escolhidos. Para a quantificação das bases voláteis totais (N-BVT) foi utilizado o método de Kjeldhal. Já na obtenção dos valores de pH foram utilizadas amostras do produto que foi macerado e seu pH foi medido através de phmetro digital.

Os valores apresentados para a diferença de cor total ( $\Delta E$ ) das amostras a serem utilizadas nas análises foram calculados pelos parâmetros de cor da escala Cielab através da seguinte equação:

$$\Delta E = \sqrt{(L-L^*)^2 + (a-a^*)^2 + (b-b^*)^2} \quad (3.1)$$

Os parâmetros L, a e b são, respectivamente, os valores de luminosidade (0 a 100), cromaticidade verde (valores negativos) ao vermelho (valores positivos) e cromaticidade azul (valores negativos) ao amarelo (valores positivos) em determinado tempo de armazenamento, e  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  correspondem aos valores no tempo da primeira medida (tempo inicial).

### 3.3 Análise Estatística

Os dados coletados nos trabalhos selecionados foram avaliados estatisticamente pela Análise de Componentes Principais (PCA) no software Statistica, versão 13.0 (Statsoft Inc., Tulsa, USA). Esse método estatístico consiste em uma técnica de análise multivariada, utilizada principalmente para verificar inter-relações de um grande banco de dados e amostras, procurando explicar suas variáveis em termos de dimensões inerentes. O principal objetivo da metodologia PCA é encontrar uma forma de condensar e desmembrar as informações contidas no grupo original em diferentes componentes que também explicam, com certo grau de assertividade, o caso em estudo, porém de forma mais simples.

O nome desse método estatístico se dá, pois o número de componentes principais se torna o número de variáveis de interesse na análise. Conforme se alteram as variáveis de interesse, aumenta ou diminui-se a perda de informação do grupo inicial de dados, sendo que, normalmente, os componentes são classificados de acordo com suas respectivas influências na variação total. Geralmente procura-se por análises em que os dois primeiros componentes, também conhecidos como fatores, explicam mais de 80% da variação total dos dados analisados, sendo possível representar a análise em um gráfico de duas dimensões, facilitando o processo de avaliação dos resultados.

## 4 Resultados e Discussão

### 4.1 Artigos Selecionados

Na Tabela 3 estão apresentados os trabalhos que serão utilizados para o estudo de caso, relacionados ao uso de marcadores inteligentes para verificação do frescor de produtos cárneos via quantificação de bases voláteis totais (N-BVT), que alteram significativamente o pH do meio. Os filmes apresentados na Tabela 3 foram elaborados com base em diferentes polímeros biodegradáveis (amido, ágar, agarose, carragenina, celulose, gelatina e PVA) e matérias-primas distintas para extração dos compostos indicadores. Ademais, também foram citadas as quantidades de polímero e plastificante utilizados. No processo de fabricação dos indicadores de fontes naturais, primeiramente foi realizada a maceração do fruto/raiz/folha até a formação de pó, com exceção da amora, que foi colocada no liquidificador para formar polpa que então passou por processo de filtração. Após, excetuando o pó da casca de uva, foi adicionada solução aquosa de etanol ou ácido cítrico para extração do agente indicador. Quando necessário, foi adicionado solução aquosa de ácido clorídrico para ajuste de pH. Em seguida foram realizados processos de filtração, centrifugação e evaporação do solvente para obter o eluente ou pó indicador a ser utilizado na elaboração dos filmes.

Os filmes produzidos nos artigos A, B, D, E, F, G e H foram elaborados pela metodologia de *Casting*. Nesse método, os polímeros são misturados em água destilada sob agitação e aquecimento. Se um plastificante for usado, ele deve ser adicionado mantendo-se a agitação e aquecimento, e por fim, adiciona-se o indicador na mistura. Após, o filme é despejado em placas e deixado para secar antes do seu uso.

O marcador produzido no artigo C foi elaborado através da dissolução do polímero em água destilada e adição da solução contendo o indicador. Seguidamente, um papel filtro foi mergulhado na solução formada durante alguns segundos e levado ao refrigerador para secar.

No artigo H, posteriormente à secagem do filme, este foi cortado e o papel filtro foi utilizado como fundo branco para melhorar a percepção de alterações colorimétricas, sendo que foram embrulhados em uma película aderente de polietileno. Cabe ressaltar que variados

tipos de carnes (frutos do mar, aves e suínos) foram usados para a análise da eficiência dos filmes.

**Tabela 3:** Artigos selecionados a partir das buscas descritas na metodologia para o estudo de caso.

Artigo	Polímeros (quantidade)	Plastificante (quantidade)	Indicador (sigla)	Agente	Referência
A	$\kappa$ -carragenina (6 g) e HPMC (4:1 - 1,5 g)	Sorbitol (40% m/m dos polímeros)	Pó da Casca da Uva (GSP)	Antocianina	Chi et al., 2020
B	Ágar (0,3 g)	Glicerol (1:5 m/m de ágar)	Extrato da Raiz de <i>Arnebia Euchroma</i> (AERE)	Antocianina	Huang et al., 2019
C	15 mL de solução de agarose (3%)	-	Extrato da Casca de Jamelão (JPE)	Antocianina	Talukder et al., 2020
D	Amido (2 g em 100 mL de água) e PVA (2 g em 100 mL água)	-	Extrato do Cálice de Caruru-azedo (RS)	Antocianina	Zhang et al., 2019
E	Carboximetilamido de sódio (7 g) e $\kappa$ -carragenina (3 g)	Glicerol (40% m/m da mistura)	Extrato da Polpa de Amora (MAE)	Antocianina	Zhang et al., 2020
F	PVA (2%) e Gelatina (5%)	Glicerol (0,5% v/v da solução)	Extrato da Folha de <i>Amaranthus A Tricolor</i> (ALE)	Betacianina	Kanatt, 2020
G	Amido (6,8 g)	Glicerol (30% m/m de amido)	Extrato do Fruto Goji Berry Preto (LRA)	Antocianina	Qin et al., 2019
H	Metilcelulose (30 g/L) e polietilenoglicol (10 g/L)	-	Púrpura de Bromocresol (PB), Azul de Bromotimol (AB) e Vermelho de Metila (VM)	-	Chen et al., 2019

## 4.2 Análise de Componentes Principais

Nesta seção do trabalho serão apresentados os principais resultados da Análise de Componentes Principais (PCA) obtidos a partir dos dados coletados nos trabalhos mencionados na Tabela 3. Para que seja possível comparar e correlacionar os dados das diferentes pesquisas elencadas, esse tipo de análise gera figuras com as projeções das amostras e variáveis no plano PC1 e PC2, que devem ser examinadas de forma simultânea e conjunta. A figura contendo a projeção das variáveis, por meio de vetores, apresenta os sentidos dos eixos em que os valores das amostras analisadas são mais altos. Portanto, sempre que uma amostra estiver localizada em posição contrária àquela indicada pelo vetor da variável em questão, significa que o valor deste parâmetro é mais baixo.

A atmosfera da embalagem do produto cárneo fresco possui pH levemente ácido, e conforme ocorre a deterioração, há a liberação dos compostos básicos, conhecidos por N-BVT, e como consequência ocorre um aumento do pH desta atmosfera. Ou seja, a presença desses compostos voláteis de nitrogênio está diretamente ligada à viabilidade do consumo desse alimento. No entanto, somente é possível afirmar se o produto atende às normas estabelecidas através da verificação da quantidade desse fator em experimentos laboratoriais de alto custo. Como indicadores sensíveis ao pH são acessíveis e facilmente interpretáveis, e já que há uma relação intrínseca entre essas duas variáveis, é possível fazer o uso desse marcador para averiguar a qualidade do cárneo.

Para verificar o vínculo entre pH e N-BVT, foram analisadas estatisticamente amostras de produtos alimentícios estudados nos artigos F, G e H, mencionados na Tabela 3. Na Tabela 4 estão apresentadas as informações relevantes para esta análise, em que as medidas foram nomeadas com a inicial do artigo seguido de um número de identificação. O número inicia em 0 (momento da primeira medida) e aumenta até a contagem do último dado para as amostras F, G e H relacionadas à análise de pescado. Na análise dos experimentos com frango realizados no artigo F, a numeração iniciou no número 2 para melhorar a visualização gráfica.

**Tabela 4:** Informações das amostras de produtos alimentícios utilizadas para Análise de Componentes Principais (PCA) das variáveis bases voláteis totais (N-BVT) e pH.

Amostra	Cárneo	T (°C)	Tempo	N-BVT (mg N/100g)	pH
F0	Peixe	2-4	0	7	5,9
F1	Peixe	2-4	12 dias	14,1	8,4
F2	Frango	2-4	0	3,2	5,7
F3	Frango	2-4	12 dias	7,8	6,5
G0	Porco	25	0	6,56	5,96
G1	Porco	25	8 horas	7,59	6,1
G2	Porco	25	16 horas	10,89	6,15
G3	Porco	25	24 horas	17,21	6,49
G4	Porco	25	32 horas	26,06	6,65
G5	Porco	25	40 horas	31,45	6,96
G6	Porco	25	48 horas	41,19	7,45
H0	Porco	5	0	4,23	5,84
H1	Porco	5	1 dia	6,86	5,93
H2	Porco	5	2 dias	7,77	6,07
H3	Porco	5	3 dias	9,19	6,12
H4	Porco	5	4 dias	11,5	6,18
H5	Porco	5	5 dias	13,28	6,22
H6	Porco	5	6 dias	19,07	6,33
H7	Porco	5	7 dias	24,21	6,39
H8	Porco	5	8 dias	28,96	6,67

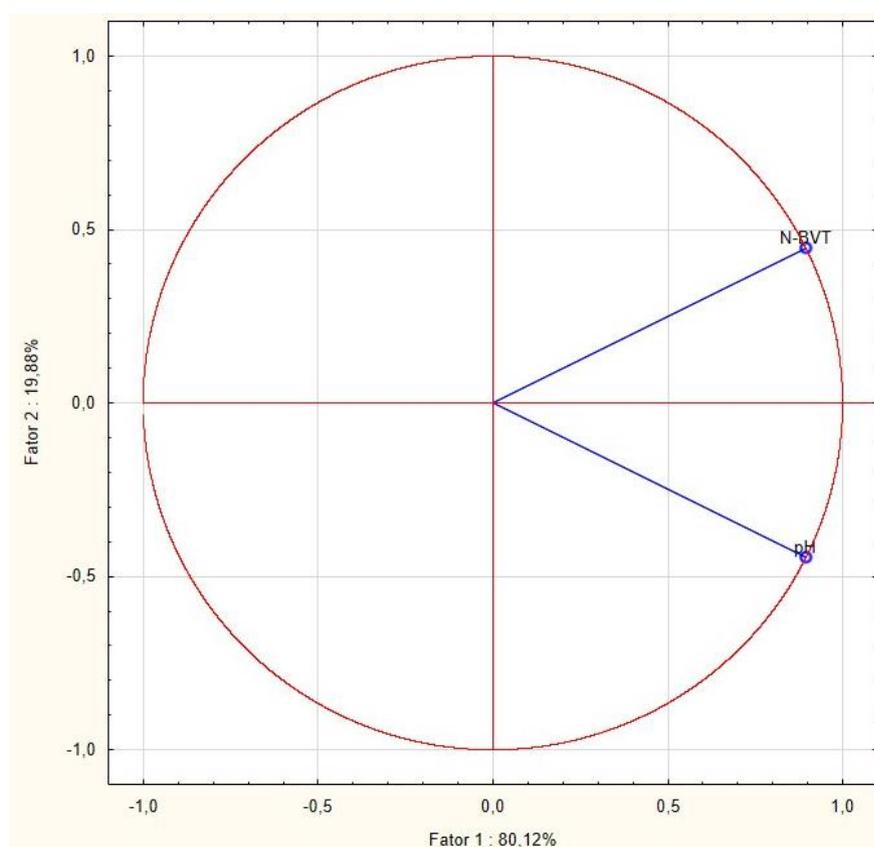
Na Figura 9 observa-se que, somando o fator 1 e 2, a análise dos componentes principais explicou 100% dos dados, e que amostras com maiores valores de N-BVT encontram-se no sentido positivo dos eixos das abcissas e ordenadas, enquanto os maiores valores de pH encontram-se no sentido positivo das abcissas e negativo das ordenadas. Com base nessa informação, através dos dados da Figura 10, é possível verificar a influência de ambos os fatores no comportamento dos filmes estudados durante o experimento.

As amostras apresentadas nos artigos G e H foram aplicadas a carnes suínas e apresentaram comportamento semelhante em relação às alterações de N-BVT e pH, apesar de diferentes temperaturas de armazenamento e tempo de medição utilizados pelos autores. Nota-se que com o passar do tempo, essas amostras foram se aproximando do quadrante referente ao N-BVT, mas continuaram apresentando um distanciamento em relação ao quadrante do pH. Amostras com N-BVT acima do máximo permitido pelo padrão chinês (15 mg N/100 g) para carnes suínas (G3, G4, G5, G6, H6, H7 e H8) apresentaram mudanças mínimas nos valores de pH, causando pouca alteração no indicador e podendo dificultar a sua interpretação por parte do consumidor. Sendo assim, neste caso, são necessários marcadores extremamente sensíveis a pequenas alterações de pH. Ao verificar os dados apresentados na Tabela 4, é possível notar que uma mudança de 13,28 mg N/100 g para 19,07 mg N/100 g entre o quinto e sexto dia (amostra H) já mostra que o alimento não está próprio para consumo, entretanto, a mudança no valor de pH foi muito sutil, de 6,22 para 6,33.

As amostras apresentadas no artigo F da Tabela 3, se referem a amostras de peixe e frango, como descrito na Tabela 4. Através da análise da Figura 10 é possível notar que as amostras de peixe (F0 e F1) se distanciaram durante o experimento. A amostra F1 se aproximou dos quadrantes positivos, principalmente no quadrante referente ao pH, pois após 12 dias sob refrigeração a carne de peixe apresentou um considerável aumento de pH, mas a quantidade de N-BVT continuou dentro dos limites da legislação brasileira (30 mg N/100 g). No entanto, amostras aplicadas ao frango (F2 e F3), não foram quantificados valores elevados de pH e N-BVT, o que pode ser explicado pela baixa temperatura de armazenamento, tempo de análise e natureza da carne. Assim seria interessante conduzir experimentos mais longos para quantificação de N-BVT e pH nestes tipos de carne a fim de relacionar melhor estas duas propriedades.

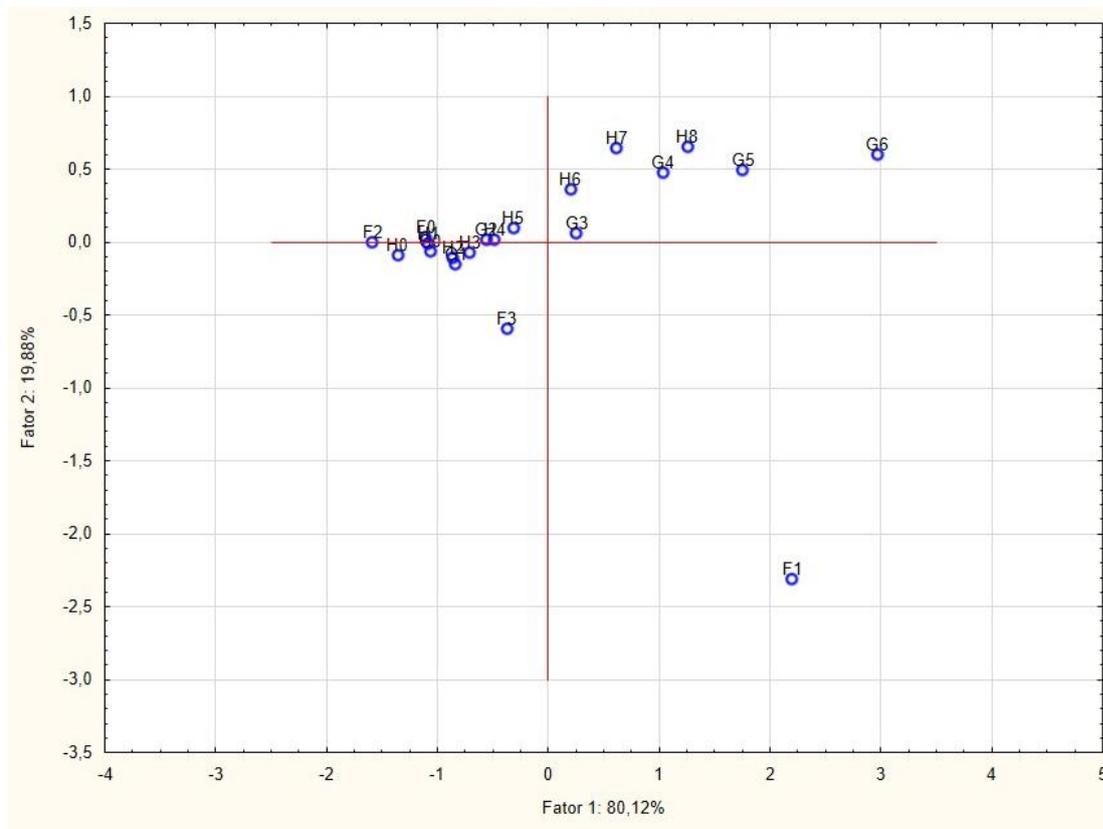
No Brasil, em produtos cárneos de origem bovina, suína e frangos, geralmente são feitas análises qualitativas para verificação da presença de gás sulfídrico e amônia conhecidas como avaliação de éber, além da determinação do pH. No caso do pH, valores entre 5,8 e 6,2 estão relacionados a uma carne boa para consumo; se o pH for igual a 6,4, a carne serve apenas para consumo imediato, sendo este valor considerado o limite crítico para consumo, enquanto que, valores acima de 6,4 correspondem a uma carne em decomposição (Brasil, 1952; Maria e Dias, 2013).

Figura 9: Projeção das variáveis no plano PC1 e PC2 na análise de correlação entre quantidade de bases voláteis totais (N-BVT) e pH.



Fonte: Autor

Figura 10: Projeção de todas as amostras no plano PC1 e PC2 na análise de correlação entre quantidade de bases voláteis totais (N-BVT) e pH.



Fonte: Autor

As mudanças de coloração de filmes indicadores de frescor ocorrem devido às alterações de pH da atmosfera em que se encontra o alimento. No entanto, como mencionado, é a liberação N-BVT que está diretamente associada à viabilidade de consumo de produtos cárneos. Portanto, para que seja possível aplicar esses marcadores colorimétricos para esse tipo de produto, é fundamental analisar a relação entre sua capacidade de alteração de cor e a quantidade de compostos voláteis de nitrogênio liberada. Para o estudo de correlação dessas variáveis através da análise de componentes principais, foram utilizadas as amostras apresentadas nos artigos A, B, C, D e E (Tabela 3). Os dados utilizados encontram-se dispostos na Tabela 5, em que as medidas foram nomeadas com a inicial do artigo seguido de um número de identificação. O número inicia em 0 (momento da primeira medida) e aumenta até a contagem do último dado para as amostras A, C, D e E. Na análise dos experimentos realizados no artigo B, os dados foram organizados em função da temperatura, quantidade de indicador utilizado e tempo, com o objetivo de melhorar a visualização gráfica. A numeração

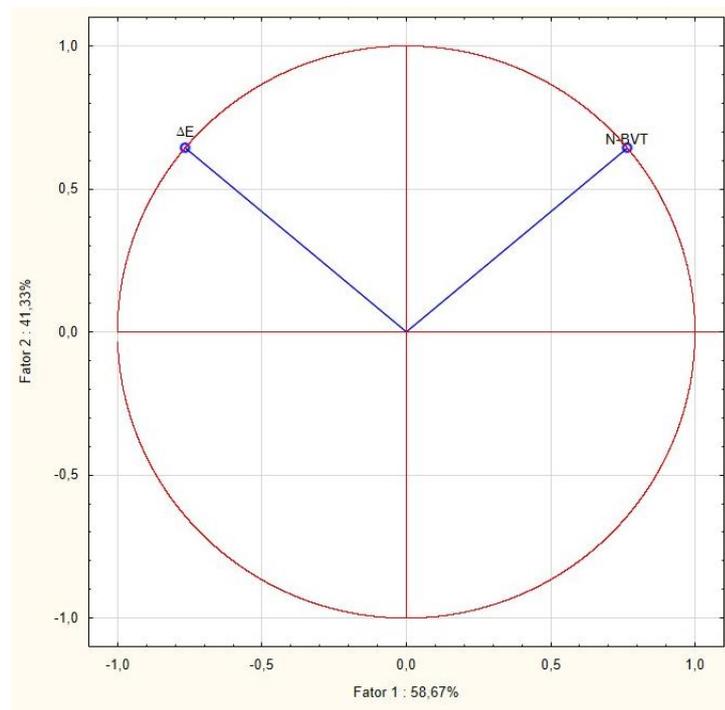
dessas amostras iniciou em 0 para o filme com menor quantidade de extrato da raiz de *Arnebia Euchroma* (AERE) - 2 mg/g de ágar a temperatura de 4 °C no primeiro dia de armazenamento (tempo 0).

**Tabela 5:** Dados das amostras utilizadas na Análise de Componentes Principais (PCA) para relacionar as variáveis denominadas como quantidade de bases voláteis totais (N-BVT) e diferença de cor total ( $\Delta E$ ).

Amostra	Indicador	Cárneo	T (°C)	Tempo	N-BVT (mg N/100g)	$\Delta E$
A0	GSP (6% m/m polímeros)	Porco	25	0	8,23	-
A1	GSP (6% m/m polímeros)	Porco	25	15 h	14,63	20,07
B0	AERE (2 mg/g polímero)	Peixe	4	0	6,3	-
B1	AERE (2 mg/g polímero)	Peixe	4	6 dias	20,1	8,89
B2	AERE (5 mg/g polímero)	Peixe	4	0	6,3	-
B3	AERE (5 mg/g polímero)	Peixe	4	6 dias	20,1	8,25
B4	AERE (10 mg/g polímero)	Peixe	4	0	6,3	-
B5	AERE (10 mg/g polímero)	Peixe	4	6 dias	20,1	6,85
B6	AERE (2 mg/g polímero)	Peixe	25	0	6,3	-
B7	AERE (2 mg/g polímero)	Peixe	25	20 h	22,4	10,17
B8	AERE (5 mg/g polímero)	Peixe	25	0	6,3	-
B9	AERE (5 mg/g polímero)	Peixe	25	20 h	22,4	9,90
B10	AERE (10 mg/g polímero)	Peixe	25	0	6,3	-
B11	AERE (10 mg/g polímero)	Peixe	25	20 h	22,4	9,68
C0	JPE (15 mL)	Frango	4	1 dia	16,1	-
C1	JPE (15 mL)	Frango	4	3 dias	16,94	12,90
C2	JPE (15 mL)	Frango	4	6 dias	18,28	22,53
C3	JPE (15 mL)	Frango	4	9 dias	19,09	26,25
C4	JPE (15 mL)	Frango	4	12 dias	19,57	30,20
C5	JPE (15 mL)	Frango	4	15 dias	19,71	44,93
C6	JPE (15 mL)	Frango	4	18 dias	19,92	66,24
C7	JPE (15 mL)	Frango	4	21 dias	20,42	69,78
D0	RS (2,5% da qualidade do hidrogel)	Porco	25	0	7,52	-
D1	RS (2,5% da qualidade do hidrogel)	Porco	25	36 h	15,69	15,06
D2	RS (2,5% da qualidade do hidrogel)	Porco	25	48 h	23,79	25,42
D3	RS (2,5% da qualidade do hidrogel)	Porco	25	60 h	30,78	29,61
E0	MAE (5%)	Peixe	25	0	6,36	-
E1	MAE (5%)	Peixe	25	12 h	8,82	35,19
E2	MAE (5%)	Peixe	25	24 h	14,63	10,97
E3	MAE (5%)	Peixe	25	30 h	19,12	11,41
E4	MAE (5%)	Peixe	25	36 h	26,54	9,06
E5	MAE (5%)	Peixe	25	48 h	62,27	8,82

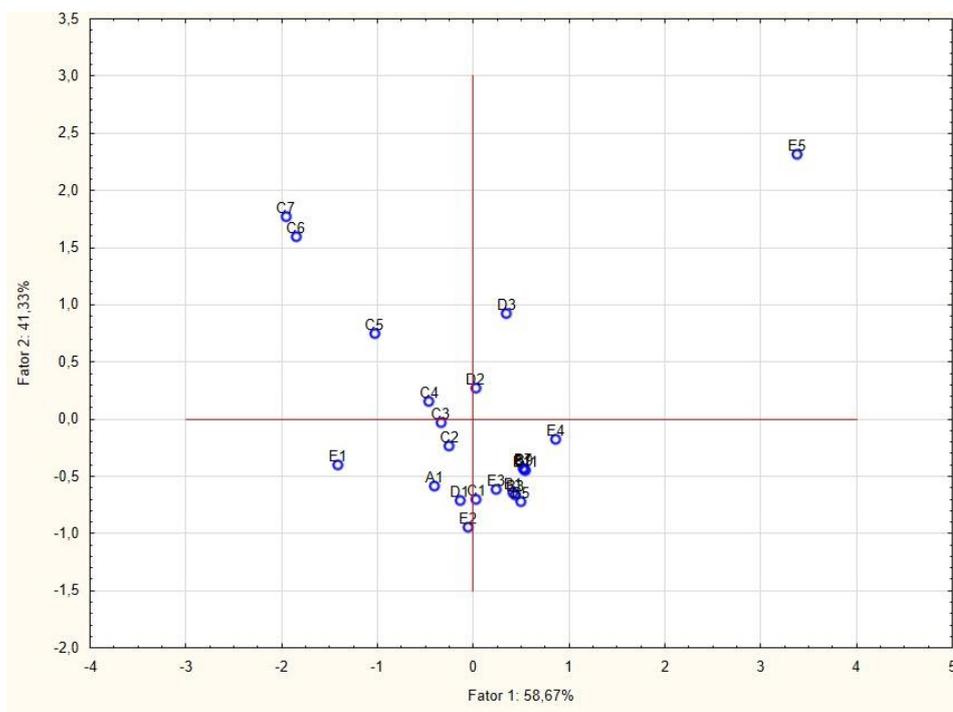
O estudo PCA das variáveis N-BVT e  $\Delta E$  apresentado na Figura 11, explicou 100% dos casos abordados. Ademais, indica que, na Figura 12, amostras com maiores valores de N-BVT se encontrarão no eixo positivo das abcissas e ordenadas, enquanto as que possuem maiores valores de diferença de cor estarão localizadas no eixo negativo das abcissas e positivo das ordenadas.

Figura 11: Projeção das variáveis no plano PC1 e PC2 na análise de correlação entre quantidade de bases voláteis totais (N-BVT) e  $\Delta E$  (diferença de cor total).



Fonte: Autor

Figura 12: Projeção das amostras no plano PC1 e PC2 na análise de correlação entre quantidade de Compostos Básicos Voláteis de Nitrogênio (N-BVT) liberados e  $\Delta E$  (diferença de cor total).



Fonte: Autor

Analisando conjuntamente os dados, é possível concluir que grande parte das amostras apresentou um comportamento similar, visto que, de maneira geral, a maioria das amostras está próxima ao eixo das abscissas e em valores negativos do eixo das ordenadas. Quando analisados os filmes que entraram em contato com carne suína, é possível perceber que aquele produzido com o pó da casca da uva apresentou uma maior mudança na sua cor ( $\Delta E$  de 20,07 para N-BVT de 14,63 mg N/100g), enquanto aquele produzido com o extrato de antocianinas obtidas do cálice de cururu-azedo obteve uma alteração de  $\Delta E$  de 15,06 para um N-BVT de 15,69 mg N/100g. Portanto, o primeiro indicador é mais sensível colorimetricamente à qualidade do produto cárneo. Já para o pescado, os filmes contendo indicadores obtidos da polpa de amora e da folha de *Arnebia Euchroma*, apresentaram variações semelhantes de  $\Delta E$  quando N-BVT se aproxima do máximo permitido. Para o primeiro indicador, observou-se uma diferença de cor de 11,41 para N-BVT de 19,12 mg N/100 g e as amostras contendo o segundo, para N-BVT próximos de 20 mg N/100 g, apresentaram diferenças entre 6,85 e 10,17 dependendo da quantidade de indicador utilizada. Considerando que para  $\Delta E$  superior a 3 o filme apresenta mudança de coloração perceptível a olho nú, todos os filmes analisados exibiram alterações diretamente perceptíveis ao consumidor.

As amostras apresentadas no artigo B, produzidas a partir de antocianinas obtidas do extrato da raiz da *Arnebia Euchroma* nas quantidades de 2, 5 e 10 mg/g de ágar, foram aplicadas no monitoramento da deterioração de peixe nas temperaturas de 4 °C e 25 °C. A partir dos resultados obtidos, o filme produzido com a menor quantidade de indicador apresentou as maiores diferenças de coloração ( $\Delta E$  de 8,89 para temperatura de 4 °C e de 10,17 para a temperatura de 25 °C). Portanto não há necessidade da utilização das maiores concentrações do indicador para que o filme apresente mudança colorimétrica devido à sensibilidade ao teor de bases voláteis totais.

Ao comparar todas as amostras analisadas, as amostras C6 e C7, relacionadas à degradação da carne de frango na temperatura de 4 °C durante 18 e 21 dias, foram aquelas mais próximas ao eixo referente à diferença de cor total ( $\Delta E$ ), i.e., elas apresentaram os maiores valores de  $\Delta E$  mesmo em amostras com valores de N-BVT inferiores aos quantificados em outros trabalhos. Essas amostras, feitas com antocianinas providas do extrato da casca

do jamelão, podem ser considerados as mais sensíveis à mudança de N-BVT neste conjunto de dados.

Outra amostra que se destacou foi a E5, produzida com antocianina do extrato da polpa de amora, que representa a qualidade do peixe após 48 h a 25 °C. Como as condições de armazenamento e tempo propiciam a degradação, essa amostra apresentou os maiores valores para N-BVT (62,27 mg N/100g), porém uma mudança de coloração de apenas 8,82 quando comparada ao filme inicial. Enquanto amostras como a B7, apresentaram maior  $\Delta E$  (10,17) para um menor valor de N-BVT (22,4 mg N/100g). Esse poderia ser um indicativo de que o marcador não transmite a informação da qualidade do produto, contudo, segundo o padrão chinês, o valor máximo permitido para bases voláteis totais nesse tipo de alimento é de 20 mg N/100g e as amostras analisadas perto desse limite apresentaram diferenças de coloração consideráveis. Portanto, este consegue ser um bom indicador de qualidade do produto durante o seu tempo de vida de prateleira.

## 5 Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros

A proposta deste estudo de caso foi a verificação do uso de marcadores colorimétricos biodegradáveis sensíveis à mudança de pH para indicação do frescor de produtos cárneos. Por meio da Análise de Componentes Principais dos dados obtidos em publicações prévias, foi realizada primeiramente a comparação entre as variáveis N-BVT (bases voláteis totais) e pH para confirmar que alterações no pH estão relacionadas com a degradação do produto, medida através da quantificação de N-BVT. Os resultados obtidos apontam que há uma boa relação entre os fatores para pescados. Para suínos observou-se a necessidade de utilização de marcadores extremamente sensíveis a pequenas mudanças no pH quanto maior o valor de N-BVT a ser medido. Para aves, não foi possível analisar com precisão a relação entre as variáveis, uma vez que as medidas experimentais não chegaram até o limite permitido. Desta forma, verifica-se que a natureza da carne tem um papel importante na escolha do indicador e que há a necessidade de estudos futuros a fim de relacionar melhor N-BVT e o pH. A análise da correlação entre a diferença de cor total do filme ( $\Delta E$ ) e as bases voláteis totais (N-BVT), revelou que as amostras estudadas apresentaram comportamento similar, com boa relação entre as variáveis. Os dados do marcador produzido de papel filme com extrato da casca de jamelão foram os que apresentaram os melhores resultados. Com isso, é possível concluir que indicadores fabricados a partir de antocianinas extraídas de folhas, frutos e raízes são sensíveis ao processo de deterioração de alimentos cárneos, apontando sua capacidade de monitorar o tempo de prateleira desses produtos.

Durante as pesquisas na plataforma de publicações e bancos de dados percebeu-se uma significativa divergência entre os fatores analisados. Os trabalhos não seguiram uma padronização de variáveis a serem medidas, sendo que alguns não apresentaram dados de controle de pH e do cálculo do  $\Delta E$ , quando aplicados os filmes no monitoramento da degradação do produto cárneo. Além disso, notou-se a ausência parcial de informações fundamentais, como a quantidade de cada composto utilizado durante a fabricação dos indicadores. Portanto, para trabalhos futuros, torna-se fundamental a padronização dos experimentos empregados na verificação da possibilidade de uso dos marcadores colorimétricos como indicadores de frescor em produtos cárneos.

## REFERÊNCIAS

- 3MTM.** Disponível em: <[https://www.3m.com/3M/en\\_US/company-us/all-3m-products/~MONMARK-3M-MonitorMark-Time-Temperature-Indicators/?N=5002385+3293785721&rt=rud](https://www.3m.com/3M/en_US/company-us/all-3m-products/~MONMARK-3M-MonitorMark-Time-Temperature-Indicators/?N=5002385+3293785721&rt=rud)>. Acesso em: 10 jul. 2020.
- ANDRETTA, R.; LUCHESE, C. L.; TESSARO, I. C.; et al. Development and characterization of pH-indicator films based on cassava starch and blueberry residue by thermocompression. **Food Hydrocolloids**, v. 93, n. February, p. 317–324, 2019.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- BEMILLER, J. Carrageenans Chapter. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists 3rd Edition**, p. 279–291, 2019.
- BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). **Diário Oficial da União, Brasil**, p. 154, 1952.
- BRASIL. Portaria nº 001/81, de 7 de outubro de 1981. Métodos analíticos para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II. Métodos físicoquímicos. Brasília: **Diário Oficial da União**, 1981.
- BRASIL. **Portaria nº 185, de 13 de Maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 19 Maio 1997**, 1997. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=670>>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 20, de 21 de Julho de 1999. Métodos analíticos físico químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura. **Diário Oficial da União**, 1999.
- BRASIL; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal**. 2. ed. [s.l: s.n.].
- BYRNE, L.; LAU, K. T.; DIAMOND, D. Monitoring of headspace total volatile basic nitrogen from selected fish species using reflectance spectroscopic measurements of pH sensitive films. **Analyst**, v. 127, n. 10, p. 1338–1341, 2002.
- CHEN, H. ZHI; ZHANG, M.; BHANDARI, B.; et al. Development of a novel colorimetric food package label for monitoring lean pork freshness. **Lwt**, v. 99, n. March 2018, p. 43–49, 2019.
- CHI, W.; CAO, L.; SUN, G.; et al. Developing a highly pH-sensitive κ-carrageenan-based intelligent film incorporating grape skin powder via a cleaner process. **Journal of Cleaner Production**, v. 244, p. 118862, 2020.

CICERO, L. H.; FURLAN, E. F.; TOMITA, R. Y.; et al. Estudo das metodologias de destilação na quantificação do Nitrogênio das Bases Voláteis Totais em pescada, tilápia e camarão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 3, p. 192–197, 2014.

CODE, T.; COMMITTEE, C.; PRODUCTS, F.; et al. Code of Practice for Fish and Fishery Products. **Code of Practice for Fish and Fishery Products**, 2020.

CUTTER, C. N. Microbial control by packaging: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 42, n. 2, p. 151–161, 2002.

DE ALCANTARA, M.; DE MORAIS, I.; DE MATOS, C.; et al. Principais Microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA**, v. 6, n. 1, p. 1–20, 2012.

ELLIS, R. P.; COCHRANE, M. P.; DALE, M. F. B.; et al. Starch production and industrial use. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, n. 3, p. 289–311, 1998.

EUROPEIA, C. Diretiva Europeia 95/149/CE. Decisão da Comissão, de 8 de Março de 1995, que Fixa os Valores de Azoto Basico Volátil Total (ABVT) para Determinadas Categorias de Produtos da Pesca e os Métodos de Análise a Utilizar. **Official Journal of the European Union, European Union**, n. L 097, p. 0084–0087, 1995.

GHAANI, MASOUD; COZZOLINO, CARLO A.; CASTELLI, G.; FARRIS, S. An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, p. 1–11, 2016.

GÓMEZ, E. F.; MICHEL, F. C. Biodegradability of conventional and bio-based plastics and natural fiber composites during composting, anaerobic digestion and long-term soil incubation. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, n. 12, p. 2583–2591, 2013.

GONALVES, L. C. P.; TRASSI, M. A. D. S.; LOPES, N. B.; et al. A comparative study of the purification of betanin. **Food Chemistry**, v. 131, n. 1, p. 231–238, 2012.

HOWGATE, P. A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 2. Formation of the bases, and application in quality assurance. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry**, v. 9, n. 1, 2010.

HUANG, S.; XIONG, Y.; ZOU, Y.; et al. A novel colorimetric indicator based on agar incorporated with *Arnebia euchroma* root extracts for monitoring fish freshness. **Food Hydrocolloids**, v. 90, n. August 2018, p. 198–205, 2019.

JING, P.; BOMSER, J. A.; SCHWARTZ, S. J.; et al. Structure-function relationships of anthocyanins from various anthocyanin-rich extracts on the inhibition of colon cancer cell growth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 20, p. 9391–9398, 2008.

KANATT, S. R. Development of active/intelligent food packaging film containing *Amaranthus* leaf extract for shelf life extension of chicken/fish during chilled storage. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 24, n. December 2019, p. 100506, 2020.

KERRY, J. P. **Advances in meat, poultry and seafood packaging**. [s.l.] Elsevier, 2012.

KUMAR, P.; REINITZ, H. W.; SIMUNOVIC, J.; et al. Overview of RFID technology and its applications in the food industry. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 8, 2009.

KUREK, M.; GAROFULIĆ, I. E.; BAKIĆ, M. T.; et al. Development and evaluation of a novel antioxidant and pH indicator film based on chitosan and food waste sources of antioxidants. **Food Hydrocolloids**, v. 84, n. March, p. 238–246, 2018.

MARIA, A.; DIAS, A. Análises Físico-Químicas dos Alimentos. 2013.

MERITAINE DA ROCHA; DE SOUZA, M. M.; PRENTICE, C. **Biodegradable Films: An Alternative Food Packaging**. [s.l.] Elsevier Inc., 2018.

MIGUEL, M. G. Betalains in some species of the amaranthaceae family: A review. **Antioxidants**, v. 7, n. 4, p. 1–33, 2018.

**Mitsubishi Gas Chemical Company**. Disponível em: <<https://www.mgc.co.jp/eng/products/sc/ageless-eye.html>>. Acesso em: 8 out. 2020.

MOHEBI, E.; MARQUEZ, L. Intelligent packaging in meat industry: An overview of existing solutions. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 7, p. 3947–3964, 2015.

MONDAL, K.; GHOSH, T.; BHAGABATI, P.; et al. **Sustainable Nanostructured Materials in Food Packaging**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019.

O’SULLIVAN, M. Analytical Methods: Proximate and Other Chemical Analyses. **Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition**, p. 76–82, 2011.

O’SULLIVAN, M. G. **The stability and shelf life of meat and poultry**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2016.

PEARSON, D. Application of chemical methods for the assessment of beef quality. II. Methods related to protein breakdown. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 19, n. 7, p. 366–369, 1968.

POURJAVAHER, S.; ALMASI, H.; MESHKINI, S.; et al. Development of a colorimetric pH indicator based on bacterial cellulose nanofibers and red cabbage (*Brassica oleraceae*) extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 193–201, 2017.

QIN, Y.; LIU, Y.; YONG, H.; et al. Preparation and characterization of active and intelligent packaging films based on cassava starch and anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 80–90, 2019.

QIN, Y.; LIU, Y.; ZHANG, X.; et al. Development of active and intelligent packaging by incorporating betalains from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel into starch/polyvinyl alcohol films. **Food Hydrocolloids**, v. 100, n. October 2019, 2020a.

QIN, Y.; XU, F.; YUAN, L.; et al. Comparison of the physical and functional properties of starch/polyvinyl alcohol films containing anthocyanins and/or betacyanins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 898–909, 2020b.

**ripeSense**. Disponível em: <[http://www.ripesense.co.nz/ripesense\\_gallery.html](http://www.ripesense.co.nz/ripesense_gallery.html)>. Acesso em:

10 jul. 2020.

ROBERTSON, G. L. **Food packaging, principle and practices**. [s.l.: s.n.].

SANCHEZ-GARCÍA, M. D. Carrageenan polysaccharides for food packaging. **Multifunctional and Nanoreinforced Polymers for Food Packaging**, p. 594–609, 2011.

SHANKAR, S.; JAISWAL, L.; RHIM, J. W. **Gelatin-Based Nanocomposite Films: Potential Use in Antimicrobial Active Packaging**. [s.l.] Elsevier Inc., 2016.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalains - emerging prospects for food scientists. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 10, p. 514–525, 2007.

TALUKDER, S.; MENDIRATTA, S. K.; KUMAR, R. R.; et al. Jamun fruit (*Syzygium cumini*) skin extract based indicator for monitoring chicken patties quality during storage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 537–548, 2020.

TANG, X.; ALAVI, S. Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 1, p. 7–16, 2011.

TAOUKIS, P. S.; LABUZA, T. P. Time-temperature indicators (TTIs). **Novel food packaging techniques**, p. 103–126, 2003.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 684–688, 2002.

**Vitsab**. Disponível em: <<http://vitsab.com/en/tti-label/>>. Acesso em: 10 jul. 2020.

VUOLO, M. M.; LIMA, V. S.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. **Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power**. [s.l.] Elsevier Inc., 2018.

WIT, W. DE; HAMILTON, A.; SCHEER, R.; et al. **Solucionar a poluição plástica: Transparência e responsabilização**. [s.l.: s.n.].

**WWF** - **Brasil**. Disponível em: <[https://wwfbr.awsassets.panda.org/downloads/ra2019\\_completo.pdf](https://wwfbr.awsassets.panda.org/downloads/ra2019_completo.pdf)>. Acesso em: 24 out. 2020.

YAM, KIT L.; TAKHISTOV, PAUL T.; MILTZ, J. Intelligent packaging: concepts and applications. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, p. R1–R10, 2005.

ZHANG, C.; SUN, G.; CAO, L.; et al. Accurately intelligent film made from sodium carboxymethyl starch/ $\kappa$ -carrageenan reinforced by mulberry anthocyanins as an indicator. **Food Hydrocolloids**, v. 108, n. February, p. 106012, 2020.

ZHANG, J.; ZOU, X.; ZHAI, X.; et al. Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness. **Food Chemistry**, v. 272, n. August 2018, p. 306–312, 2019.