



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Yessica Alexandra Rodriguez Gaviria

**Rótulos inteligentes contendo antocianinas da casca de uva
nanoencapsuladas para aplicação como indicadores de mudanças de pH.**

Florianópolis
2023

Yessica Alexandra Rodriguez Gaviria

**Rótulos inteligentes contendo antocianinas da casca de uva
nanoencapsuladas para aplicação como indicadores de mudanças de pH.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador(a): Profa. Cristiane da Costa, Dra.
Coorientador(a): Prof. Germán Ayala Valencia, Dr.

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rodriguez Gaviria, Yessica Alexandra

Rótulos inteligentes contendo antocianinas da casca de uva nanoencapsuladas para aplicação como indicadores de mudanças de pH. / Yessica Alexandra Rodriguez Gaviria ; orientador, Cristiane da Costa, coorientador, Germán Ayala Valencia, 2023.
76 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. antocianinas. 3. nanopartículas de quitosana. 4. poli(vinil álcool). 5. indicador colorimétrico. I. da Costa, Cristiane. II. Ayala Valencia, Germán . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

Yessica Alexandra Rodriguez Gaviria

**Rótulos inteligentes contendo antocianinas da casca de uva
nanoencapsuladas para aplicação como indicadores de mudanças de pH.**

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 12 de dezembro de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz, Dr.(a)
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Sergio Yesid Gómez González, Dr.
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestra em Engenharia Química.

Insira neste espaço a
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof.(a) Cristiane da Costa, Dr.(a)
Orientador(a)

Florianópolis, 2023.

Dedico este trabalho aos meus queridos pais, Edwin y Nila, e ao Federman,
meu amor e companheiro.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e pela oportunidade de estar aqui.

Aos meus pais, Nila Misbay Gaviria Pabón e Edwin Antonio Rodriguez Herreño, e as minhas irmãs Daniela Rodriguez Gaviria e Sara Yineth Rodriguez Gaviria, por todo amor, ensinamento, carinho e apoio. Sem vocês eu não seria nada, vocês foram os melhores.

Ao meu namorado Federman Bonilla Pérez, que sempre acreditou em mim, me apoiou e motivou para alcançar os meus objetivos.

À minha orientadora Cristiane da Costa por ter construído esse trabalho, com confiança, dedicação e paciência.

Ao meu orientador German Ayala Valencia pela orientação, contribuição e motivação.

Ao aluno de doutorado Wilson Caicedo por auxiliar no desenvolvimento deste trabalho.

Ao aluno de mestrado Gabriel Coelho pela disponibilidade e colaboração.

Aos meus amigos Clara, Damázio, Jéssica, José, Júlia, Manuela, Marcelo, Micael e Natalia, Ricardo pelos conselhos, risos e bons momentos, obrigada de coração.

À Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química por toda estrutura para realização deste trabalho. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes, pelo apoio financeiro.

Ao Laboratório de Controle de Polimerização (LCP), Laboratório Integrado de Engenharia Biológica (LiEB) especialmente à Karina Cesca, Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME), Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas (LINDEN), Laboratório de Propriedades Físicas e Químicas de Alimentos (PROFI) e Central de Análises Químicas do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos (CA-EQA) especialmente ao Leandro, pela disponibilidade e parceria na realização de diversas análises.

RESUMO

A casca de uva um resíduo da indústria vinícola é uma fonte rica em antocianinas, pigmento natural responsável pelas cores vermelhas, azuis e roxas em muitas frutas e vegetais. Estes compostos têm diversas aplicações na indústria de alimentos devido às suas propriedades de pigmentação e benefícios para a saúde, porém, são consideradas relativamente instáveis e podem degradar-se facilmente em determinadas condições. Alguns fatores que podem contribuir para a instabilidade das antocianinas incluem pH, temperatura, luz e oxigênio. Uma forma de estabilizá-las é através da sua encapsulação. Assim, neste trabalho foram extraídas e encapsuladas antocianinas (ACN-NPs) da casca de uva Isabella e nanopartículas de quitosana, as quais foram incorporadas em rótulos inteligentes à base de poli(vinil álcool) (PVA), utilizados como indicador de mudanças de pH em camarão fresco. As ACNs foram extraídas da casca de uva pelo método de extração sólido-líquido. O solvente utilizado foi uma solução aquosa acidificada (0,35 % de ácido clorídrico) de pH final igual a 1,15. A extração foi realizada em shaker a 40 °C por 80 min. Os ensaios de nanoencapsulação foram realizados para proporções em massa de quitosana (CS) e tripolifosfato de sódio (TPP) iguais a 1:0,5, 1:0,6 e 1:0,7. As caracterizações das nanopartículas foram feitas pela avaliação do tamanho de partícula, estabilidade, eficiência de encapsulação (EE), estrutura e composição. Os rótulos foram produzidos pela técnica casting, analisados e aplicados em camarão refrigerado, com o objetivo de avaliar a possibilidade de aplicação em alimentos. O extrato obtido apresentou coloração roxa intensa, com quantidade de ACNs totais de $3052,05 \pm 39,79$ mg/100 g de casca seca. Das diferentes relações CS:TPP (m/m) estudadas a melhor foi 1:0,5, devido a sua estabilidade ao longo do tempo, apresentando uma EE de 59,8 % e tamanho de partícula de $291 \pm 4,50$ nm. A interação entre as ACNs e a quitosana é medida por meio de ligações de hidrogênio, que indicaram sucesso na encapsulação do extrato de uva. Os resultados dos rótulos revelaram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na cor dos rótulos com ACNs livres em comparação com o rótulo contendo ACNs encapsuladas; as micrografias do SEM mostraram que todos os rótulos eram homogêneos e compactos; a presença de ACNs não alterou a umidade; a espessura aumentou com a presença de ACNs nos rótulos; as avaliações de sensibilidade à pH e amônia mostraram a eficiência de mudança de cor dos rótulos. O teste de fotodegradação à luz, mostrou que a incorporação de ACNs encapsuladas nos rótulos teve um efeito protetor sobre as antocianinas contra os tratamentos de calor e luz UV e ajudou a preservar a cor original do rótulo. Finalmente, o teste de aplicação do rótulo contendo ACNs encapsuladas mostrou ter potencial monitorar a qualidade dos alimentos.

Palavras-chave: extração de antocianinas; nanopartículas de quitosana; poli(vinil álcool); indicador colorimétrico.

ABSTRACT

Grape peel residue from the wine industry is a source rich in anthocyanins, a natural pigment responsible for the red, blue and red cores of many fruits and vegetables. These composites have various applications in the food industry due to their pigmentation properties and health benefits, therefore, they are considered relatively stable and can easily degrade under certain conditions. Some factors that can contribute to anthocyanin instability include pH, temperature, light, and oxygen. A way to stabilize them through their encapsulation. Thus, in this work, extracted and encapsulated anthocyanins (ACN-NPs) from Isabella grape peel and chitosan nanoparticles were incorporated into smart labels based on poly(vinyl alcohol) (PVA), used as an indicator of pH changes in a fresh chamber. As ACN it is extracted from grape peels using the solid-liquid extraction method. The solvent used for an acidified water solution (0.35% hydrochloric acid) with a final pH equal to 1.15. The extraction was carried out in a shaker at 40 °C for 80 min. The nanoencapsulation tests performed for mass ratios of chitosan (CS) and sodium tripolyphosphate (TPP) are 1:0.5, 1:0.6 and 1:0.7. The characterization of nanoparticles includes the evaluation of particle size, stability, encapsulation efficiency (EE), structure and composition. The labels are produced using the casting technique, analyzed and applied in a refrigerated chamber, with the aim of evaluating the possibility of application in food. The extract obtained has an intense red color, with a total amount of ACN of 3052.05 ± 39.79 mg/100 g of dry husk. The different CS:TPP ratios (m/m) studied were best 1:0.5, due to their long-term stability, presenting an EE of 59.8% and particle size of 291 ± 4.50 nm. The interaction between ACN and chitosan is measured by hydrogen bonding, which indicates success in the encapsulation of grape extract. The label results reveal that there is no significant difference ($p > 0.05$) between the labels with ACN in pounds compared to the label containing encapsulated ACN; The SEM micrographs show that all labels were homogeneous and compact; the presence of ACN does not alter humidity; The thickness increased with the presence of ACNs on the signs; As evaluations of sensitivity to pH and ammonia show the efficiency of changing the two labels. The light photodegradation test shows that the incorporation of encapsulated ACN in the signs has a protective effect on anthocyanins against heat and UV light treatments and helps preserve the original color of the sign. Finally, the application test of the label containing encapsulated ACN shows its potential for monitoring food quality.

Keywords: extraction of anthocyanins; chitosan nanoparticles; poly(vinyl alcohol); colorimetric indicator.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura química das seis antocianinas mais comuns	20
Figura 2 Alteração da cor das antocianinas conforme o pH varia	22
Figura 3 Representação esquemática da mudança estrutural da antocianina na mudança de pH	22
Figura 4 Uva Isabella (<i>Vitis Labrusca</i>)	25
Figura 5 Nanoesfera vs nanocápsula	28
Figura 6 Estrutura química da quitosana	34
Figura 7 Diagrama esquemático do processo de obtenção do extrato da casca de uva Isabella em água acidificada com HCl	36
Figura 8 Diagrama esquemático da preparação de nanopartículas de quitosana contendo antocianinas via gelificação iônica	37
Figura 9 Diagrama esquemático do processo de preparação dos rótulos inteligentes	39
Figura 10 Pó liofilizado e moído das cascas de uva Isabella, extrato antes e após ser centrifugado e filtrado (a) e espectro de absorção do extrato de antocianinas obtido em água acidificada com HCl	42
Figura 11 mudanças de cor do extrato de antocianinas da casca de uva Isabella em função do pH	43
Figura 12 Evolução do tamanho hidrodinâmico de partícula (DZ) (a) e índice de dispersão do polímero (PDI) (b) durante 90 dias	44
Figura 13 Diagrama de Diagrama de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do (a) pó de quitosana (CS), (b) nanopartículas vazias de quitosana (C-NPs), (c) extrato de antocianinas (ACNs) e (d) nanopartículas de quitosana carregadas com extrato (ACN-NPs) na razão de peso de quitosana/TPP de 1:0.5 ..	46
Figura 14 Foto (a) e Micrografias de TEM de nanocomplexos ACN-NPs 0,2 μm (b) e 100 nm (c)	48
Figura 15 Aspecto visual do rótulo de controle (a), rótulo de ACNs livres (b) e ACN-NPs (c) e suas respectivas micrografias de microscopia eletrônica de varredura (d, e, f)	49
Figura 16 Transmitância de luz UV-vis de C1 (rótulo controle), F1 (rótulo de ACNs livres) e F2 (rótulo de ACN-NPs)	51

Figura 17 Sensibilidade ao pH de F1 (rótulo de ACNs livres) e F2 (rótulo de ACN-NPs) antes (A) e após exposição a 40°C e radiação de luz UV por 144 horas (B)	55
Figura 18 Mudança de cor dos rótulos inteligentes F1 (ACNs livres) e F2 (ACN-NPs) após exposição ao NH ₄ OH	57
Figura 19 Alterações na cor de acordo com as coordenadas CIELab dos rótulos expostos à luz UV controlada em função do tempo a 40 °C, e aspecto visual da cor do F1 (rótulo de ACNs livres) e F2 (rótulo de ACN-NPs) antes e depois da exposição à luz UV controlada por 144 horas, com respectivo valor de ΔE^* : Rótulos de indicadores colorimétricos com antocianinas livres (a) e antocianinas encapsuladas (b). Os valores de ΔE^* dos rótulos foram calculados usando a Equação (4) e considerando os parâmetros de cor de cada rótulo no tempo zero como padrão	59
Figura 20 Mudança de cor do rótulo à base de poli(vinil álcool) com extrato de antocianina encapsulada (F2), usado para monitorar o frescor dos camarões a 4 °C	60

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Estado da arte do encapsulamento de antocianinas	29
Quadro 2 - Estado da arte de ACNs encapsuladas e incorporadas em filmes	31
Quadro 3 - Artigos com encapsulação de ACNs via gelificação iônica, em NPs de quitosana reticuladas com TPP	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tamanho hidrodinâmico das partículas (DZ), potencial Zeta (ZP), índice de polidispersão (PDI) e eficiência de encapsulamento (EE) das nanopartículas encapsulando antocianinas (ACN-NPs), com diferentes razões de peso de quitosana/TPP	44
Tabela 2 - Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* e ΔE^*) e opacidade dos rótulos indicadores colorimétricos	50
Tabela 3 - Espessura, teor de umidade (MC) e solubilidade em água (WS) dos rótulos.....	52
Tabela 4 - Parâmetros colorimétricos (L^* , a^* , b^* e ΔE^*) dos rótulos após contato com soluções tampão em diferentes valores de pH (variando entre 2.0 e 13.0).....	56
Tabela 5 - Mudança de cor visual dos rótulos inteligentes F1 (ACNs livres) e F2 (ACN-NPs) após exposição ao NH_4OH	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN-NPs	Nanopartículas de quitosana carregadas com antocianinas
ACNs	Antocianinas
BNPs	Nanopartículas biopoliméricas
C-NPs	Nanopartículas de quitosana vazias
CS	Quitosana
CGE	Equivalente de cianidina-3-glicosídeo
DW	Peso seco
NPs	Nanopartículas
PVA	Poli(vinil álcool)
TPP	Tripolifosfato de sódio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1	ANTOCIANINAS	20
3.1.1	Estabilidade das antocianinas	21
3.1.1.1	<i>Influência do pH</i>	21
3.1.1.2	<i>Influência da temperatura</i>	22
3.1.2	Funções e aplicações das antocianinas	23
3.1.3	Uva isabella	24
3.1.4	Subprodutos do processamento de uvas	25
3.2	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	25
3.3	NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS.....	27
3.4	ENCAPSULAÇÃO DE ANTOCIANINAS.....	28
3.5	GELIFICAÇÃO IÔNICA.....	32
3.5.1	Quitosana	33
4	MATERIAIS DE MÉTODOS	35
4.1	MATERIAIS.....	35
4.2	EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE CASCA DE UVA ISABELLA.....	35
4.3	PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA QUE ENCAPSULAM ANTOCIANINAS	36
4.4	PREPARAÇÃO E CARATERIZAÇÃO DE RÓTULOS INTELIGENTES	38
4.4.1	Propriedades ópticas dos rótulos	39
4.4.2	Espessura e morfologia dos rótulos	40
4.4.3	Teor de umidade e solubilidade em água	40
4.4.4	Determinação da sensibilidade ao pH e sensibilidade à amônia dos rótulos	41
4.4.5	Determinação da fotossensibilidade dos rótulos	41
4.4.6	Aplicação dos rótulos	41
4.4.7	Análise estatística	42

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1	EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS MONÉRICAS TOTAIS	42
5.2	PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS.....	44
5.2.1	Diâmetro, índice de polidispersidade e estabilidade física das dispersões de nanopartículas.....	45
5.2.2	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier.....	46
5.2.3	Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	48
5.3	CARACTERIZAÇÃO DOS RÓTULOS INTELIGENTES	49
5.3.1	Propriedades ópticas e morfologia dos rótulos.....	49
5.3.2	Espessura, teor de umidade e solubilidade em água dos rótulos.....	51
5.3.3	Avaliação dos rótulos inteligentes: sensibilidade ao pH, sensibilidade à amônia e fotodegradação	53
5.3.4	Avaliação da fotossensibilidade dos rótulos	58
5.3.5	Aplicação dos rótulos inteligentes contendo antocianinas encapsuladas, para monitorar o frescor do camarão	60
6	CONCLUSÃO	60
7	REFERÊNCIAS	63
	APÊNDICE A – TESTES PRELIMINARES E DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS ACN-NPS.....	75

1 INTRODUÇÃO

As antocianinas (ACNs) são flavonóides solúveis em água que são amplamente distribuídos em várias flores, vegetais e sementes (Zhang *et al.*, 2022). Recentemente, vários estudos relataram que os pigmentos naturais têm o potencial de monitorar o frescor de produtos cárneos, como carne de boi (Gaviria *et al.*, 2021), de porco (Choi *et al.*, 2017) e camarão (Kang *et al.*, 2020), devido a sua resposta colorimétrica dependente do pH. A maioria das pesquisas sobre filmes de embalagens inteligentes à base de antocianinas incorpora apenas antocianinas livres na matriz do filme, o que torna sua aplicação limitada devido à baixa estabilidade das antocianinas (Liu *et al.*, 2022).

As ACNs podem ser encapsuladas com benefícios protetores fornecidos pelo encapsulamento da quitosana (CS) com o tripolifosfato de sódio (TPP) (Chatterjee *et al.*, 2021). As Nanopartículas (NPs) baseadas em CS, encontram-se entre os polissacarídeos naturais mais investigados devido à sua biodegradabilidade, bioacessibilidade, biocompatibilidade, naturalidade catiônica, propriedades antibacterianas e baixa toxicidade. NPs de CS podem ser fabricadas através do método de gelificação iônica onde se forma a reticulação quando os grupos amino carregados positivamente da CS entram em contato com espécies de tripolifosfato de sódio (TPP) carregadas de um polímero aniônico (Tyagi; Mani, 2023).

Atualmente, biomateriais derivados de fontes naturais são considerados substitutos potenciais para materiais plásticos convencionais porque são biodegradáveis, baratos e amplamente disponíveis. Portanto, a maioria dos filmes inteligentes são feitos destes materiais com um indicador de pH incorporado a eles. O poli(vinil álcool) (PVA) mesmo sendo um polímero sintético é biodegradável e não cancerígeno pelo que é amplamente utilizado como matriz de filme de embalagem de alimentos devido à sua não toxicidade e boa capacidade de formação de filme (Ma *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2022).

Recentemente, (Zhang *et al.*, 2022) desenvolveram filmes inteligentes à base de PVA e antocianinas de mirtilo. Os autores observaram mudanças colorimétricas nos filmes para uma faixa de pH entre 4 e 11, concluindo que estes materiais poderiam ser utilizados como filmes indicadores na indústria de alimentos.

A casca de uva um subproduto da indústria de sucos e vinhos, é uma fonte de pigmentos naturais rica em ACNs (You *et al.*, 2022a). Poucos estudos avaliaram a quitosana de baixo peso molecular reticulada com TPP para nanoencapsulação de antocianinas, e até onde sabemos, nenhum estudo avaliou o efeito da variação da razão CS:TPP (m/m) para nanoencapsulação deste composto de bioativo extraído da casca de uva Isabella (*Vitis Labrusca*). Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo produzir e caracterizar nanopartículas de CS em diferentes razões CS:TPP (m/m) por gelificação iônica, para o encapsulamento das ACNs e sua respectiva incorporação em rótulos inteligentes a base de poli(vinil álcool). O propósito é desenvolver um indicador colorimétrico mais estável aos fatores ambientais e capaz de detectar e informar a degradação dos frutos do mar, contribuindo assim na qualidade e segurança alimentar para o consumidor.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver nanopartículas de quitosana contendo antocianinas de uva Isabella (*Vitis Labrusca*), para aplicação em rótulos inteligentes sustentáveis e atóxicos que mudam de coloração em diferentes pH, de maior estabilidade na manufatura e aplicação em embalagens de alimentos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Avaliar a eficácia da extração de antocianinas a partir da casca da uva Isabella utilizando água acidificada com HCl como solvente.
- b. Avaliar diferentes razões de CS:TPP (m/m) para estudar sua estabilidade e reprodutibilidade na encapsulação de antocianinas da casca de uva Isabella.
- c. Comparar rótulos à base de poli(vinil álcool) contendo antocianinas livres e encapsuladas, em quanto à homogeneidade, estabilidade, exposição a luz e temperatura, assim como sua resposta colorimétrica de acordo com a variação do pH.
- d. Avaliar propriedades físico-químicas como umidade, solubilidade e espessura dos rótulos contendo antocianinas livres e encapsuladas.

- e. Aplicar rótulo contendo antocianinas encapsuladas, como indicador de frescor no camarão.

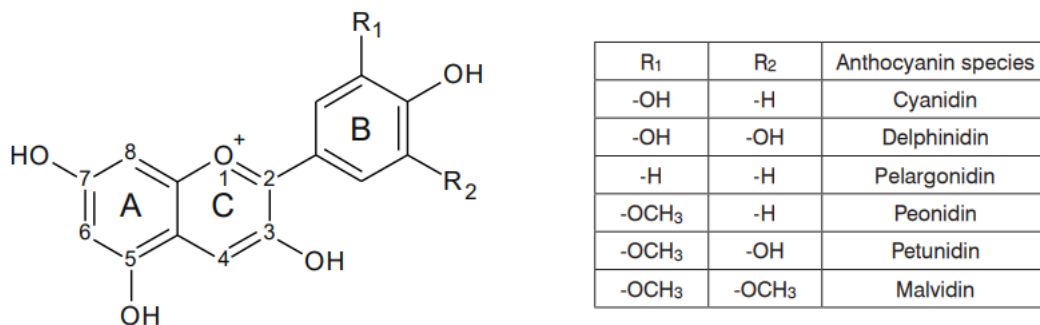
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ANTOCIANINAS

As antocianinas (do grego *anthos* = flor e *kianos* = azul), um tipo de composto fenólico conhecido como flavonoide, estão amplamente distribuídas no reino vegetal. Este grande e mais importante grupo de pigmentos solúveis em água é responsável pela cor de muitas frutas e flores, como vermelho, azul, roxo e laranja (Sharif; Khoshnoudi-Nia; Jafari, 2020).

A unidade estrutural básica das antocianinas é o 3,5,7-trihidroxi-2-fenilbenzopirílio, composto por dois anéis benzílicos (anéis A e B) e um heterocíclico de seis membros contendo oxigênio (anel C), formando a estrutura básica de C6-C3-C6 com um total de 15 carbonos. Dentro desta estrutura, os substituintes R1 e R2 no anel B podem variar, incluindo diferentes grupos como -OH e -OCH₃, o que resulta em seis categorias distintas de antocianinas (Figura 1). De acordo com sua proporção nas plantas, as seis principais classes de antocianinas são cianidina (50%), delphinidina (12%), pelargonidina (12%), peonidina (12%), petunidina (7%) e malvidina (7%). Entre essas categorias, as três primeiras são antocianinas não metiladas, que são amplamente distribuídas na natureza (Liu *et al.*, 2021).

Figura 1 Estrutura química das seis antocianinas mais comuns



Fonte: (Liu *et al.*, 2021)

3.1.1 Estabilidade das antocianinas

A utilização de antocianinas como corantes alimentares e ingredientes funcionais é limitada pela sua baixa estabilidade e interação com outros compostos na matriz alimentar (Rodriguez-Amaya, 2019). Vários fatores ambientais podem afetar significativamente a estabilidade das antocianinas, incluindo temperatura, luz, oxigênio, enzimas e pH, especialmente um pH neutro ou alcalino (Huang *et al.*, 2023).

3.1.1.1 *Influência do pH*

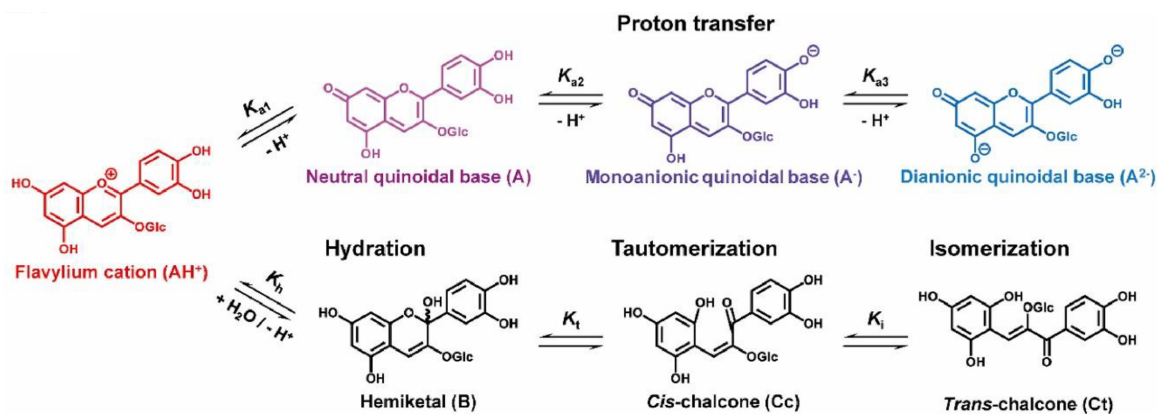
As antocianinas têm uma capacidade distintiva de formar cátions flavilium e adquirir cores diferentes, do vermelho ao azul ou violeta, dependendo do pH do meio (Avula *et al.*, 2023) (Figura 2). A forma catiônica flavílio (AH^+), que geralmente é vermelha, só é estável em condições extremamente ácidas ($pH < 2$). À medida que o valor do pH aumenta, ocorrem duas reações competitivas de AH^+ : (1) transferência de prótons, na qual AH^+ pode perder três prótons sucessivamente para dar bases quinoidais neutras, monoaniônicas e dianiônicas (A , A^- e A^{2-}) exibindo púrpura para tons azuis; (2) hidratação, em que AH^+ é propenso à adição de água em C2 para produzir hemicetal incolor (B) (Figura 3). Além disso, a cis-chalcona (Cc) é formada a partir de B através de um processo tautomérico e a Cc pode isomerizar ainda mais para dar trans-chalcona (Ct). Normalmente, a transferência de prótons é mais rápida que a hidratação, enquanto esta última é mais favorecida termodinamicamente. Consequentemente, as bases quinoidais são os produtos cinéticos e desaparecem gradualmente para atingir o equilíbrio termodinâmico e produzir formas incolores (Yang *et al.*, 2023).

Figura 2 Alteração da cor das antocianinas conforme o pH varia



Fonte: (Merz *et al.*, 2020)

Figura 3 Representação esquemática da mudança estrutural da antocianina na mudança de pH



Fonte: Adaptado de (Yang *et al.*, 2023)

3.1.1.2 Influência da temperatura

A estabilidade das antocianinas é significativamente afetada pela temperatura, sem alteração significativa na taxa de degradação total dos monômeros das antocianinas quando submetidas a tratamento térmico a baixa temperatura (menos de 60 °C) e um aumento significativo na taxa de degradação quando a temperatura é mais alta acima de 80°C (Duan *et al.*, 2024).

(Aaby; Amundsen, 2023) ao estudar a estabilidade das antocianinas sob a variação de temperatura (75, 85 e 95°C) em suco de lingonberry indicou que a taxa de degradação aumentou com o aumento da temperatura. (Jiang *et al.*, 2019) também relataram que após aquecimento do extrato roxo de batata doce a 90°C, a

cor das antocianinas mudou significativamente ao longo do tempo. Em outra pesquisa, (Brauch *et al.*, 2015) evidenciaram que soluções aquosas de antocianinas em pH ácido foram mais estáveis quando armazenadas a 4 °C em comparação com 20 °C.

3.1.2 Funções e aplicações das antocianinas

As cores atraentes, a elevada solubilidade em água e as propriedades biológicas de corantes naturais a base de antocianinas, juntamente com a sua origem natural e baixa toxicidade, têm atraído um grande interesse por parte de investigadores, da indústria e dos consumidores para a sua aplicação na indústria alimentar e em produtos alimentares (Becerril; Nerín; Silva, 2021). Os corantes de antocianinas (E163), têm sido utilizadas numa grande variedade de produtos, sendo a sua principal aplicação em refrigerantes (baixo pH), confeitaria, preparados de fruta, lacticínios, como queijos cremosos, leite fermentado e milkshakes e em matrizes alimentares sólidas, como panquecas e omeletes (Molina *et al.*, 2023).

Pesquisas estão sendo conduzidas na substituição de corantes sintéticos por indicadores de pH com corantes naturais, especialmente extratos ricos em antocianinas obtidos de plantas, para a elaboração de indicadores de frescor. Esta aplicação se baseia no fato das antocianinas ter capacidade de mudança de cor com alterações do pH, e na variação do pH devido ao deterioro de produtos alimentícios como carne suína e frutos do mar (Becerril; Nerín; Silva, 2021; Merz *et al.*, 2020). É o caso do estudo de (Zhu *et al.*, 2021) que produziram filmes indicadores de pH a partir de amido e poli(vinil álcool) com antocianinas extraídas da casca de uva pela técnica de casting. Os resultados apontaram que o filme quando aplicado em carne de porco como sensor de deterioração apresentou alterações de pH e o ponto de deterioração das amostras, passando da cor rosa para amarelo.

Também foram conduzidas aplicações na encapsulação, com o propósito de estabilizar as ACNs perante condições externas como luz e temperatura, mantendo-as disponíveis e ativas para aplicações em produtos como alimentos e fármacos, por exemplo, no estudo realizado por (Sakulnarmrat; Konczak, 2022) o extrato de *Lamduan* (*Melodorum fruticosum* Lour.) foi utilizado como fonte de ACNs e encapsulado por maltodextrina dextrose equivalente 20 (MD20) e goma arábica (AG). A eficiência do encapsulamento excedeu 97,9% e o extrato de *Lamduan*

encapsulado aplicado em geleias, resultou em uma cor vermelha atraente e maior capacidade antioxidante, demonstrando o potencial uso de *Lamduan* encapsulado na indústria alimentícia.

Ainda em aplicações das antocianinas, o seu potencial terapêutico foi comprovado *in vitro*, *in vivo* e em estudos epidemiológicos, e desta forma demonstrou resultados promissores como neuroprotetor, cardioprotetor, antidiabético, anti-obesidade, e efeitos anticancerígenos, bem como a capacidade de equilibrar a microbiota intestinal como uma fonte potencial de prebióticos (Ayvaz *et al.*, 2023). Em um ensaio clínico randomizado e controlado, a adiposina sérica aumentou e a visfatina diminuiu em participantes com pré-diabetes ou diabetes recém-diagnosticado após 12 semanas de suplementação de antocianina (Yang *et al.*, 2021).

3.1.3 Uva isabella

As uvas são ricas em substâncias bioativas com alto potencial antioxidante, que ficam retidas no bagaço da uva em aproximadamente 70% após o processamento (dos Santos Silva *et al.*, 2022). Especificamente a uva Isabella (*V. Labrusca*) possui altos teores de compostos fenólicos, como antocianinas e flavonoides (Vélez *et al.*, 2023). A uva (*Vitis Labrusca*) é de extrema importância na economia mundial. Em 2018, por exemplo, a produção total de uvas em todo o mundo foi de 77,8 milhões de toneladas. Deste valor 57% foram utilizados para fazer vinho, sendo o restante consumido como uva de mesa (Carra *et al.*, 2022). No Brasil a uva "Isabella", cultivar de uva americana (*Vitis Labrusca*) é amplamente cultivada e o 50% de todas as uvas desse tipo são processadas no país. A industrialização levou à diversificação de produtos e, atualmente, as uvas "Isabella" são usadas para a fabricação de vinho, vinagre, geleias e sucos (Comarella *et al.*, 2022).

Figura 4 Uva Isabella (*Vitis Labrusca*)

Fonte: A autora (2023)

3.1.4 Subprodutos do processamento de uvas

Os resíduos gerados na produção de vinho têm sido estudados como fonte alternativa para substituir antioxidantes sintéticos em alimentos por ser um produto natural e promover o reaproveitamento de resíduos industriais (Tuffi *et al.*, 2021). Dentre os inúmeros resíduos provenientes do agronegócio no Brasil destaca-se o setor vinícola, pelo alto volume gerado, de aproximadamente 20 a 30%, comparado com o peso total. Esse resíduo é composto pelo engaço, bagaço (casca e sementes) e a borra resultante do processo fermentativo. A casca da uva representa em média 82% do peso do bagaço, sendo uma fonte de antocianidinas e antocianinas. De acordo com o Instituto Brasileiro do Vinho, em 2019, a safra de uva no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, foi caracterizada por sua qualidade, tendo sido colhidos 614,3 milhões de quilos de uvas destinados ao processamento de produtos vinícolas. Assim, devido ao grande volume de resíduos gerados e a importância relacionada às questões de sustentabilidade e problemas de caráter ambiental, cresce ainda mais a demanda por novas perspectivas que possibilitem o reuso desses subprodutos oriundos das indústrias vinícolas (Jacobs *et al.*, 2021).

3.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

A extração de componentes bioativos de subprodutos vegetais é uma forma interessante de aumentar o valor do bagaço de uva (Bonfigli *et al.*, 2017). Materiais vegetais ricos em antocianinas são geralmente secos antes da extração, usando um

forno, liofilizador ou secador industrial rotativo. A extração por solvente pode ser categorizada como um dos métodos de extração convencionais mais comuns usados para extrair antocianinas. Solventes polares, como água, metanol e etanol são tipos comuns de solventes usados neste método (Ijod *et al.*, 2022).

O metanol é comumente utilizado como solvente para extração de antocianinas e é mais amplamente utilizado quando acidificado com HCl, para manter um pH baixo, onde a antocianina está em sua forma flavílio mais estável. No entanto, existe a preocupação com os solventes orgânicos, devido à sua toxicidade (Gizir; Turker; Artuvan, 2008; Ryu; Koh, 2018; Taghavi; Patel; Rafie, 2022). Portanto, a utilização de meios ecologicamente corretos para substituir solventes orgânicos durante a extração de compostos bioativos a partir de subprodutos agrícolas tornou-se cada vez mais popular e a água continua a ser a opção mais segura, mais barata, mais facilmente disponível e mais amiga do ambiente. Razão pela qual, a extração a baixas temperaturas (<50°C) empregando água acidificada parece ser uma alternativa promissora (Azman *et al.*, 2022; Roda-Serrat *et al.*, 2021).

(Azman *et al.*, 2022) extraíram antocianinas de bagaço de groselha preta (*Ribes nigrum L.*) em água acidificada com ácido acético e observaram que os extratos obtidos apresentaram diferentes concentrações de fenólicos e tonalidades de cor dependendo do pH e que um pH de 1,5 favorece a extração de compostos fenólicos já que maiores quantidades de antocianinas, ácidos hidroxicinâmicos, flavonóis, atividade antioxidante e fenólicos totais foram encontradas em pH 1,5. (Ryu; Park; Koh, 2020) também estudaram a extração de antocianinas em água acidificada com ácido acético (pH 2) da uva *Campbell Early*, obtendo um teor total de antocianinas 197,52 mg/100 g de peso seco sob condições otimizadas, que foram relação sólido-líquido de 1/50 g/mL, tempo de extração de 10 min e temperatura de extração de 80 °C.

Na última década, surgiram novas técnicas de extração, tais como o uso de fluidos supercríticos, campos elétricos pulsados e ultrassom. Além disso, o uso de solventes eutéticos tem chamado a atenção como uma alternativa promissora aos solventes orgânicos comumente utilizados (Ongkowijoyo; Luna-Vital; Gonzalez de Mejia, 2018).

Como é o caso de (José Aliaño González *et al.*, 2022) que otimizaram a extração de antocianinas de groselha preta Assistida por Ultrassom e Assistida por Enzima. Foi confirmado que ambas as metodologias apresentaram características

de alta precisão e repetibilidade além de que não foram observadas diferenças na extração das antocianinas, obtendo na melhor condição por ultrassom (65% de MeOH em água; pH 4,97; temperatura 5°C; amplitude 50% y tempo 5 min) 21,99±1,20 mg de ACNs totais/g e (10% de EtOH em água; pH 4,1; temperatura de 30°C; e 91,0 unidades de enzima) 21,64±1,08 mg de ACNs totais/g com enzimas. É importante destacar os curtos tempos destes métodos de extração.

As vantagens de uso de tais técnicas incluem a produção de rendimento de boa qualidade, menor consumo de solventes e energia e tempos de extração mais curtos. Mas são limitados para aplicações industriais devido aos elevados custos do equipamento e aos complicados procedimentos de instalação (Tena; Asuero, 2022).

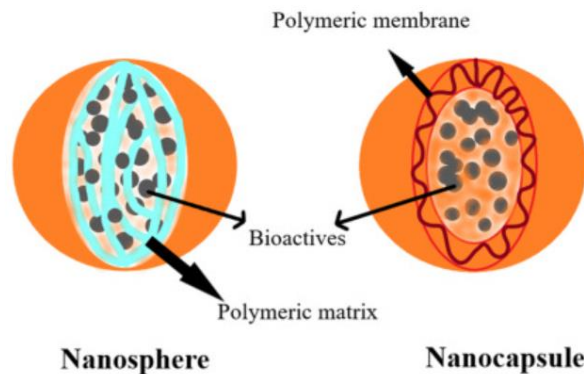
3.3 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

A nanotecnologia tem diversas aplicações na indústria alimentícia e auxilia significativamente na caracterização, fabricação e manipulação de nanoestruturas, com algumas aplicações surpreendentes para melhorar o sabor, cor, textura e durabilidade dos alimentos, assim como o desenvolvimento de materiais de embalagem de alimentos de longa duração com resistência mecânica melhorada e propriedades antimicrobianas, nano-sensores para rastreabilidade de perigos para a saúde, bionano-sensores para verificar a qualidade dos alimentos durante o transporte e armazenamento, juntamente com o encapsulamento, uma das tecnologias mais promissoras para reter compostos bioativos e, ao mesmo tempo, prolongar a vida útil contra a degradação durante o armazenamento (Doronio *et al.*, 2022; Sahani; Sharma, 2021).

NPs poliméricas são partículas coloidais na faixa de 100–1000 nm e podem ser carregadas com compostos ativos aprisionados ou adsorvidos na superfície do núcleo polimérico. Com base em sua morfologia as NPs são classificadas como nanosferas e nanocápsulas. As nanocápsulas possuem parede polimérica envolvendo um núcleo líquido/sólido, enquanto as nanoesferas consistem em uma rede polimérica contínua (Figura 5). Um dos principais mecanismos para o encapsulamento de antioxidantes naturais são as nanopartículas biopoliméricas (BPNs), que são nanopartículas biodegradáveis construídas a partir de polímeros naturais encontrados em espécies biológicas como proteínas (por exemplo, β -lactoglobulina, zeína, gelatina, proteínas de soja, colágeno e albumina) e

carboidratos (por exemplo, quitosana, pectina, alginato e outros polissacarídeos) (Deng *et al.*, 2020; Maqsoodlou *et al.*, 2020; Sahani; Sharma, 2021; Vodyashkin *et al.*, 2022; Zielińska *et al.*, 2020; Zielinska *et al.*, 2020).

Figura 5 Nanoesfera vs nanocápsula



Fonte: (Awuchi *et al.*, 2022)

3.4 ENCAPSULAÇÃO DE ANTOCIANINAS

O uso de antocianinas como corantes alimentares saudáveis é limitado devido à baixa estabilidade térmica, oxidativa e fotostática durante o processamento ou armazenamento. Nesse sentido, alternativas como o encapsulamento permitem minimizar as perdas nutricionais e sensoriais e aumentar a meia vida destas substâncias ativas. O processo de nano-aprisionamento tem sido amplamente considerado pelos pesquisadores como uma estratégia bem sucedida para melhorar a biodisponibilidade e estabilidade das antocianinas (Chatterjee *et al.*, 2021; Tarone; Cazarin; Marostica Junior, 2020). Conforme apresentado no Quadro 1, vários métodos de encapsulamento são utilizados, como secagem por pulverização, liofilização, gelificação iônica, coacervação, formação de emulsão entre outros e segundo pesquisa realizada por (Sharif; Khoshnoudi-Nia; Jafari, 2020) as técnicas de secagem por pulverização e liofilização são as mais utilizadas assim como materiais como as gomas e as maltodextrina. A tendência atual é utilizar polímeros (revestimentos) derivados de fontes naturais como o alginato de sódio obtido de algas marrons, a gelatina da pele de peixes de água fria e a quitosana (Martinović *et al.*, 2023).

Quadro 1 - Estado da arte do encapsulamento de antocianinas

Técnica de encapsulamento	Fonte de antocianinas	Material de parede	Resultados	Referências
Secagem por pulverização	Jambolão	Maltodextrina	Suco de Jambolão em pó com tamanho de partícula de 289,67 nm a 150°C	(Santhalakshmy <i>et al.</i> , 2015)
Secagem por pulverização e liofilização	Extrato de casca de uva de bordo	Goma arábica, goma guar parcialmente hidrolisada e polidextrose	A degradação no pó liofilizado é mais sensível à temperatura do que no pó obtido por pulverização	(Kuck; Wesolowski; Noreña, 2017)
Secagem por pulverização	Jambolão	Maltodextrina	O pó otimizado a 185°C manteve seu valor nutricional e funcional e teve mais estabilidade devido à sua baixa higroscopicidade e menor teor de água.	(Singh; Paswan; Rai, 2019)
Liofilização	Uva	Maltodextrina e goma arábica	Micropartículas com 89.6% de eficiência de encapsulação, cor estável durante 21 dias.	(Stoll <i>et al.</i> , 2016)
Liofilização	Jaboticaba	Maltodextrina, pectina e soja	Partículas de 370,89 µm, com menor degradação à radiação UV para a formulação contendo apenas maltodextrina.	(Pereira Souza; Deyse Gurak; Damasceno Ferreira Marczak, 2017)
Liofilização	Hibiscus sabdarifa L. Calyx	Levedura e Maltodextrina	O pó de levedura apresentou menor efeito protetor sobre antocianina do que pó MD.	(Nguyen <i>et al.</i> , 2022)
Liofilização	Fruta Aronia (Aronia melanocarpa)	Maltodextrina (MD) com carboximetilcelulose (CMC), goma arábica (GA) e goma xantana (XG)	MD + CMC e MD + XG são agentes de revestimento adequados para o encapsulamento de antocianinas em aronia, com uma eficiência de encapsulamento de 98% e 94% respectivamente.	(Jang; Koh, 2023)
Emulsão	Extrato de mirtilo	Óleo de semente de mirtilo/isolado de proteína de soro de leite	Estrutura de emulsão estável e protegida contra degradação.	(Svanberg <i>et al.</i> , 2019)
Complexação	Cranberry	β-ciclodextrina, cloridrato de quitosana e carboximetil quitosana	As ACNs dos nanocomplexos de encapsulamento duplo melhoraram a estabilidade dos ACNs sob	(Liu <i>et al.</i> , 2023)

			condições ambientais adversas ou num ambiente gastrointestinal simulado	
Complexação	Mirtilo	Quitosana e pectina de azeitona	Tamanho de partícula em nanoescala 81.22 nm e uma eficiência de encapsulamento de 91.97% em pH 3,0. Em comparação com as ACNs livres os nanocomplexos apresentaram maior estabilidade ambiental e melhor liberação direcionada na digestão in vitro.	(Xie <i>et al.</i> , 2023)
Lipossomas	Repolho roxo	Fosfatidilcolina	Eficiência de encapsulação de 74%. Durante 21 dias de armazenamento, os nanolipossomas carregados de antocianina foram mais estáveis a 4 °C em comparação com 25 °C.	(Ghareaghajlou; Hallaj-Nezhadi; Ghasempour, 2022)
Gelificação Iônica	Jambolão	Alginato de sódio, cloreto de cálcio e gelatina	As micropartículas apresentaram morfologia irregular e heterogênea, com rede de gel desorganizada devido à presença de partículas sólidas de jambolão no interior das mesmas.	(Silva <i>et al.</i> , 2023)

Fonte: elaborado pela autora

A cada passo, a ciência da conservação da antocianina avança, juntamente com a redução de custos do processo e o aumento da proteção ambiental. Neste sentido, o verdadeiro desafio no encapsulamento de antocianinas é reunir estes três tópicos em um único processo (Tarone; Cazarin; Marostica Junior, 2020). Observe por meio do Quadro 2 que os métodos de encapsulamento de antocianinas para incorporação em filmes e aplicação como indicador de frescor em alimentos, tem sido pouco estudada e a complexação até agora é a mais utilizada com esse fim, pelo que a encapsulação via gelificação iônica devido sua simplicidade, as baixas

temperaturas do processo e o não uso de solventes, torna-se em uma técnica interessante para aplicação em filmes na indústria de alimentos. O método de gelificação iônica permite encapsular quase todos os componentes, como hidrofílicos ou hidrofóbicos, sensíveis ao calor, fluidos ou viscosos, sólidos ou líquidos (Tekin; Özcan; Ersus, 2023). Recentemente, (Tekin; Özcan; Ersus, 2023) estabilizaram pigmentos naturais do suco concentrado de beterraba vermelha por meio de encapsulamento com gelificação iônica usando alginato e cloreto de cálcio, os resultados mostraram que a gelificação iônica é um método promissor para obter cápsulas de betalaína estáveis proporcionando 79,48% de preservação de betalaína.

No Quadro 2 são apresentados os diferentes materiais e técnicas empregadas na encapsulação de antocianinas para incorporação em filmes inteligentes.

Quadro 2 - Estado da arte de ACNs encapsuladas e incorporadas em filmes inteligentes

Técnica de encapsulamento	Fonte de antocianinas	Material de parede	Material dos filmes	Aplicação	Referências
Nanocomplexação	Lycium ruthenicum	Cloridrato de quitosana e Carboximetil quitosana	Amido mandioca/PVA	Monitoramento do frescor de filetes de peixe	(Qin <i>et al.</i> , 2021)
Nanocomplexação	Blueberries	Ovoalbumina e carbometil celulose	Amido de milho/PVA	Monitoramento do frescor do champignon	(Liu <i>et al.</i> , 2022a)
Nanocomplexação	Blueberries	Ovoalbumina e Alginato de propilenglicol	PVA/glicerol	Monitoramento de frescor de carne suína	(Zhang <i>et al.</i> , 2022)
Nanocomplexação	Cranberry	Carbometil quitosana e Cloridrato de quitosana	Gelatina	Proteção do azeita à oxidação	(Wang <i>et al.</i> , 2019)
Nanocomplexação	Rosa	Amilopectina	Amido/quitosana	Monitoramento de frescor de camarão	(Zheng <i>et al.</i> , 2023)
Eletrofiação (nanofibras)	Extrato de Rosa damascena	Quitosana e goma	Quitosana e goma	Monitoramento de frescor de	(Shavisi; Shahbazi, 2022)

				filés de frango cru	
Liofilização	Polpa de amora preta	Amido de araruta e goma arábica	Amido de araruta	Não especificou	(Nogueira; Fakhouri; de Oliveira, 2019)
Lipossomas	Extrato de flor de feijão borboleta	Lecitina e colesterol	Ágar e carragenina	Indicadores de frescor dos camarões	(Zhang <i>et al.</i> , 2023)

Fonte: elaborado pela autora

3.5 GELIFICAÇÃO IÔNICA

A gelificação iônica é um processo que ocorre sob a influência de interações eletrostáticas entre polímeros iônicos e agentes de reticulação. Este método produz nanopartículas estáveis de quitosana, alginato, de amido, celulose e outros biopolímeros. Nanopartículas obtidas pelo método de gelificação iônica apresentam boa eficiência de encapsulamento e preservação da bioatividade das moléculas incorporadas (Vodyashkin *et al.*, 2022). A gelificação iônica é um método mais adequado para preparar NPs de quitosana para encapsular compostos bioativos, a maioria dos pesquisadores utiliza esse método devido ao seu processo simples e as partículas liberadas são facilmente controladas. O princípio de formação de nanopartículas de quitosana reticuladas com TPP é baseado na ocorrência de interações eletrostáticas entre grupos amina em quitosana carregada positivamente com poliânion TPP carregado negativamente para formar uma estrutura intramolecular tridimensional (Muchtaromah *et al.*, 2021; Soleymanfallah *et al.*, 2022). O método de gelificação iônica, foi empregado na encapsulação de compostos bioativos da cenoura preta, utilizando a quitosana (Chatterjee *et al.*, 2021), mostrando a melhora da atividade antioxidante *in vivo* das antocianinas, indicando maior estabilidade e biodisponibilidade das mesmas. (Soleymanfallah *et al.*, 2022) por meio da gelificação iônica, também sintetizaram NPs de quitosana contendo extrato de uva e os resultados indicaram que o extrato de uva encapsulado em nanopartículas de quitosana apresentava propriedades antioxidantes mais elevadas e, ao mesmo tempo, poderia proporcionar uma vida útil e estabilidade maiores aos diversos produtos alimentícios. O Quadro 3 traz o estado da arte sobre o encapsulamento de antocianinas empregando quitosana/TPP como materiais de

parede e é evidenciado que o seu uso tem sido pouco estudado para encapsulamento destes compostos bioativos.

Quadro 3 - Artigos com encapsulação de ACNs via gelificação iônica, em NPs de quitosana reticuladas com TPP

Antocianinas	Principais resultados	Referências
Extrato de antocianina de cenoura preta em pó	Obteve partículas de 274 nm, PDI= 0,376 com 70% eficiência de encapsulação	(Chatterjee <i>et al.</i> , 2021)
Extrato de uva em água desionizada	Nanopartículas de 177.5 nm com 40.33% de eficiência de encapsulação	(Soleymanfallah <i>et al.</i> , 2022)

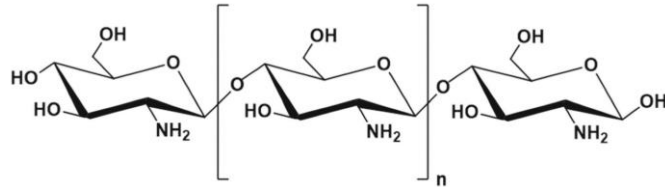
Fonte: elaborado pela autora

3.5.1 Quitosana

A quitosana é um biopolímero polissacarídeo linear com unidades estruturais principais de 2-amino-2-desoxi-d-glucopiranosose que são ligadas por conexões 1,4-glicosídicas (Figura 6) e é o segundo biopolímero predominante na natureza depois da celulose. Os -NH₂ e -OH na estrutura da quitosana são os principais grupos funcionais responsáveis pelas propriedades da quitosana e sua aplicação ilimitada. Em 1859, Rouget descobriu a quitosana quando estudou as formas desacetiladas de quitina de crustáceos marinhos. Desde a primeira conferência internacional sobre quitina e quitosana (Boston, EUA, 1977), as comunidades científicas e industriais têm demonstrado um interesse exponencial na quitina e na quitosana como uma forma estrutural biopolimérica de baixo custo. (Ababneh; Hameed, 2023; Shoueir *et al.*, 2021). A sua biocompatibilidade, não toxicidade e capacidade de biodegradação fazem da quitosana uma candidata versátil para diversas aplicações biomédicas e industriais, incluindo distribuição de medicamentos, regeneração de tecidos, cicatrização de feridas, membranas semipermeáveis, sistemas de purificação e como componente integral de suplementos nutricionais (Chatterjee *et al.*, 2021). Os materiais à base de quitosana são excelentes candidatos para o encapsulamento de compostos bioativos para prolongar a vida útil de produtos alimentares de importância industrial (Soleymanfallah *et al.*, 2022). A quitosana forma nanopartículas com antocianinas através de ligações não covalentes (ligação iônica fraca e ligações de hidrogênio), tornando as antocianinas resistentes ao oxigênio,

altas temperaturas, ácido ascórbico e ambientes neutros, melhorando assim a estabilidade das antocianinas (Tang; He; Fan, 2023).

Figura 6 Estrutura química da quitosana



Fonte: (Ababneh; Hameed, 2023)

A quitosana ao ser um polissacarídeo catiônico tem a capacidade de gelificar em contato com poliânions polivalentes como o tripolifosfato (TPP). Essa interação leva à formação de interações eletrostáticas entre cargas opostas dos componentes. O mecanismo de formação de nanopartículas de quitosana por gelificação iônica usando TPP, captura efetivamente pequenas moléculas hidrofóbicas e hidrofílicas, bem como peptídeos, proteínas e genes. A estrutura interna das partículas e a topologia da superfície são determinados pelos seguintes parâmetros: o grau de acetilação e a massa molar da quitosana, viscosidade intrínseca, concentração e razão molar de $-NH_3^+/TPP$. Outros fatores também podem influenciar as propriedades das nanopartículas, como temperatura operacional, velocidade de agitação e vazão de adição de TPP. Isto pode afetar o tamanho das partículas e a polidispersidade, pois parecem reduzir significativamente a quantidade de agregação de nanopartículas (Shoueir *et al.*, 2021).

(Benamer Oudih *et al.*, 2023) Relataram a influência significativa dos parâmetros de preparação como a velocidade de agitação, o peso molecular da quitosana, concentração de quitosana e a concentração de TPP, no tamanho meio de partícula. (Yang *et al.*, 2022) também investigou a influência da concentração de quitosana, da proporção do agente de reticulação e da velocidade de agitação na morfologia microscópica e na distribuição do tamanho das partículas da nanosfera de quitosana. Um outro exemplo de encapsulação de compostos bioativos em NPs de CS reticuladas com TPP é (Tyagi; Mani, 2023) que fabricaram NPs baseadas em CS-TPP carregados com vitamina D3 pelo Método de Gelificação Iônica, otimizando vários parâmetros durante o processo de formulação para produzir a mais alta

eficácia e eficiência de encapsulamento e observaram uma eficiência máxima de encapsulamento de 97,26%.

4 MATERIAIS DE MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

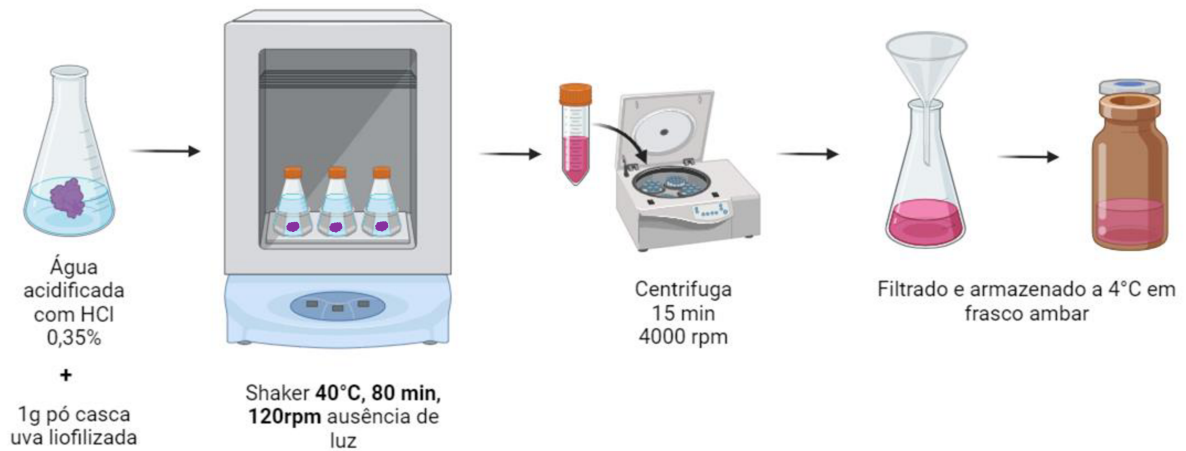
Uvas do tipo Isabella (*Vitis Labrusca*) e camarões foram adquiridas no mercado local de Florianópolis, SC, Brasil. Quitosana (baixo peso molecular, grau de desacetilação de 85%, *SigmaAldrich*®) e trifosfato de sódio (*TPP, P.A. Labsynth*®) foram utilizados para preparar as nanopartículas. Os rótulos foram preparados a partir de poli(vinil álcool) (PVA, LAFAN, Brasil) e glicerol P.A. (Neon, Brasil) foi usado como plastificante. Água destilada e ácido clorídrico (37%, Neon, Brasil) foram utilizados como solventes.

4.2 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE CASCA DE UVA ISABELLA

As uvas foram lavadas e descascadas manualmente, separando as cascas das sementes e da polpa. Em seguida, as cascas foram congeladas a -24 °C em placas de Petri e desidratadas usando um liofilizador. O material liofilizado foi triturado em um liquidificador (*Mallory B. Power, Brasil*). O pó resultante foi armazenado em um frasco escuro a 4 °C até o uso. O teor de umidade do pó de casca de uva Isabella liofilizado foi determinado como $17,20 \pm 0,29\%$.

A extração de antocianinas em água acidificada com HCl foi baseada na otimização realizada por (Li *et al.*, 2019) com uma pequena modificação no tempo de extração. A amostra de pó de casca de uva (1 g) foi adicionada em 50 mL de solução aquosa acidificada com HCl a uma concentração de 0,35% e mantida sob agitação contínua (120 rpm) em um agitador (*SLL-222, SOLAB*) na ausência de luz por 80 minutos a 40 °C. O extrato obtido foi centrifugado por 15 minutos a 4000 rpm (*K14-015C, KASVI*), filtrado e transferido para um frasco âmbar e armazenado a 4 °C (Figura 7).

Figura 7 Diagrama esquemático do processo de obtenção do extrato da casca de uva Isabella em água acidificada com HCl



Fonte: elaborado pela autora

As antocianinas monoméricas totais (TAC, mg.L⁻¹) foram medidas usando um espectrofotômetro UV-visível (U-2900, Hitachi) conforme proposto por (Giusti; Wrolstad, 2001). A absorvância do extrato foi medida a 523 nm e a 700 nm. Em seguida, a TAC foi obtida pela Equação (1).

$$TAC = \frac{[(A_{max} - A_{700nm})_{pH=1,0} - (A_{max} - A_{700nm})_{pH=4,5}]M_w DF}{\epsilon L} \quad (1)$$

Onde M_w é o peso molecular da cianidina-3-glucosídeo (449,2 g.mol⁻¹), DF é o fator de diluição (40), ϵ é o coeficiente de extinção molar (29.600 L.(cm. mol⁻¹) e L é o comprimento do caminho óptico (1 cm). Água destilada foi usada como branco.

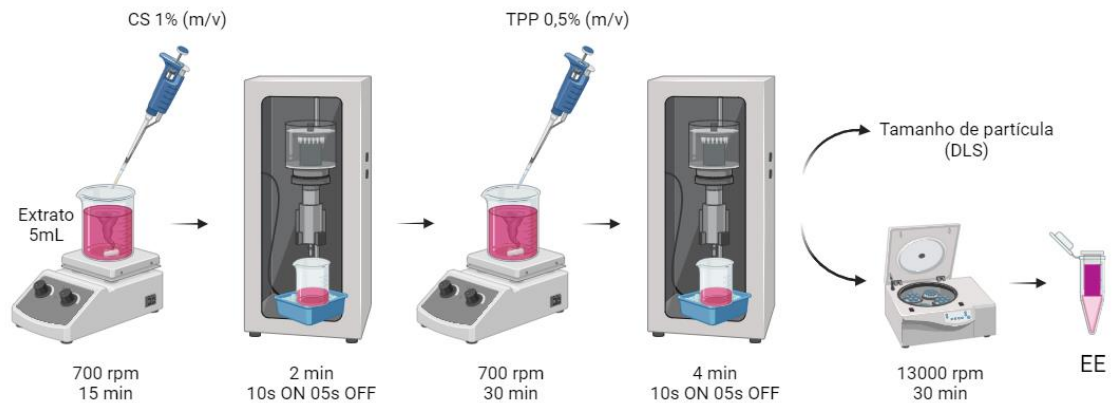
A cor do extrato foi analisada após ser misturada em diferentes tampões de pH (pH = 2 a 13).

4.3 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA QUE ENCAPSULAM ANTOCIANINAS

As nanopartículas de quitosana carregadas com antocianinas (ACN-NPs) foram preparadas por gelificação iônica. A metodologia utilizada foi adaptada de (Chatterjee *et al.*, 2021). A solução de quitosana a 1% (p/v) (pH=3,8) foi previamente preparada dissolvendo quitosana em temperatura ambiente em uma solução de

ácido acético a 1% (v/v) por 24 horas, sob agitação magnética. Foram adicionados 2,53 mL da solução de quitosana a 5 mL do extrato [razão 1:10 (ACNs/CS; p/p)] sob agitação magnética a 700 rpm por 15 minutos. Posteriormente, a mistura foi submetida a ultrassom usando o Dispersor Ultrassônico (VC 505, Sonics Vibra-Cell) por 2 minutos, 10 s ON/5 s OFF. TPP foi usado como agente de reticulação em três razões CS:TPP (1:0,5, 1:0,6, 1:0,7 p/p). A solução de TPP (0,5% p/v) foi adicionada gota a gota à solução de CS-extrato sob agitação magnética (700 rpm) por 30 minutos. A suspensão coloidal resultante foi submetida a ultrassom por 4 minutos, 10 s ON/5 s OFF (Figura 8). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Figura 8 Diagrama esquemático da preparação de nanopartículas de quitosana contendo antocianinas via gelificação iônica



Fonte: elaborado pela autora

O tamanho médio de partícula (Dz), índice de polidispersão (PDI) e o potencial zeta (PZ) das nanopartículas (NPs) foram determinados por espalhamento dinâmico de luz (DLS) e espalhamento de luz eletroforética (ELS) usando o equipamento Zeta Sizer Nano S da Malvern Instruments. Para avaliar a estabilidade das ACN-NPs, as suspensões de NPs foram armazenadas no escuro e sob refrigeração (4 °C) por 90 dias. O tamanho da partícula e o PDI foram medidos a cada 30 dias.

A eficiência de encapsulamento (EE) foi determinada usando a metodologia adaptada de (De Carvalho *et al.*, 2013). A EE foi definida como a diferença entre o conteúdo total de ACN adicionado à formulação e o conteúdo de ACNs livre obtido

após a dispersão. Para obter o conteúdo de ACN livre, 400 µL da dispersão de nanocápsulas foram adicionados aos filtros de ultracentrifugação *Amicon*® Ultra (100 kDa) e centrifugados a 13.000 rpm por 30 minutos em uma mini centrifugadora (*Eppendorf, MiniSpin*®) (Figura 8). A concentração de ACNs livres foi então determinada pelo método de pH diferencial usando um espectrofotômetro UV-vis (*U-1900, Hitachi*). A eficiência de encapsulamento foi calculada usando a Equação 2.

$$EE = \left(\frac{\text{Teor de ACNs totais} - \text{Teor de ACNs livre}}{\text{Teor de ACNs totais}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Os espectros de FTIR das ACNs, ACN-NPs e C-NPs (nanopartículas de quitosana sem ACNs) foram registrados usando um Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (*FTIR, Cary 600, Agilent, EUA*). A informação espectral das amostras foi registrada na faixa de 500-4000 cm⁻¹ com uma resolução de 4 cm⁻¹.

A morfologia das nanopartículas foi determinada por meio de um microscópio eletrônico de transmissão (TEM) *JEOL JEM-1011*. A dispersão das nanopartículas foi diluída em água acidificada (1:10) e uma gota foi dispersa em uma grade de cobre revestida com carbono e seca à temperatura ambiente para observação por meio de TEM.

4.4 PREPARAÇÃO E CARATERIZAÇÃO DE RÓTULOS INTELIGENTES

O poli(vinil álcool) em pó foi dissolvido em água desionizada acidificada 0.35% com HCl a 100 °C por 30 minutos para obter uma solução de poli(vinil álcool) a 4% (p/v) (Zhang *et al.*, 2022). Em todas as suspensões, foi adicionado 20% em peso de glicerol em relação ao PVA e agitado por mais 10 min. As soluções para formação dos rótulos foram preparadas da seguinte forma:

Rótulo C1: A solução de poli(vinil álcool) foi misturada em volume igual de água desionizada acidificada com HCl (pH=1,5).

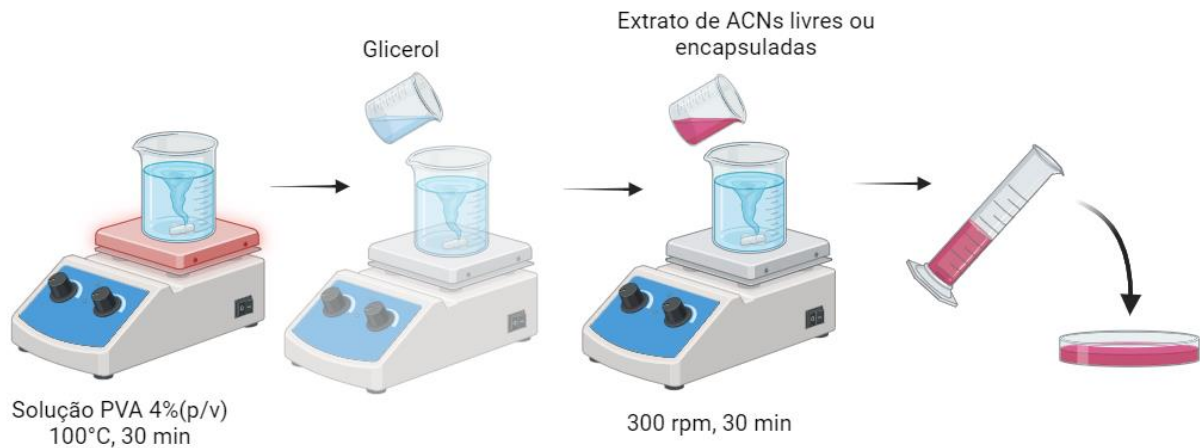
Rótulo F1: Mistura da solução de poli(vinil álcool) em volume igual de solução de ACNs (forma livre, 0,25 mg/mL) (pH=1,5).

Rótulo F2: A suspensão de ACN-NPs foi adicionada à solução de poli(vinil álcool) em uma proporção de volume de 1:1 (pH=1,5).

Todas as soluções para a formação dos rótulos foram agitadas continuamente por 30 minutos a 300 rpm. Após isso, a solução para a formação dos rótulos (20 mL) foi espalhada em uma placa de Petri de plástico circular (diâmetro de 9 cm) (Figura 9) e seca em uma capela a temperatura ambiente por 48 horas (Zhang *et al.*, 2022).

Antes da caracterização, os rótulos foram condicionados em dessecadores contendo soluções saturadas de NaBr (UR = 58%) a 25 °C por pelo menos sete dias. Todas as caracterizações foram realizadas em triplicata para cada rótulo.

Figura 9 Diagrama esquemático do processo de preparação dos rótulos inteligentes



Fonte: elaborado pela autora

4.4.1 Propriedades ópticas dos rótulos

A caracterização da cor foi realizada usando um colorímetro (Delta Vista 450G, Delta Color, Brasil) com o sistema CIELAB representado por: luminosidade (L^*), intensidade de cor verde-vermelho (a^*) e intensidade de cor azul-amarelo (b^*). Foram feitas três leituras para cada rótulo, determinando a diferença total de cor (ΔE^*) usando as médias dos parâmetros L^* , a^* e b^* na Equação 3 (Koop *et al.*, 2022).

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

Onde: $\Delta L^* = L_{\text{control}}^* - L_{\text{sample}}^*$; $\Delta a^* = a_{\text{control}}^* - a_{\text{sample}}^*$; $\Delta b^* = b_{\text{control}}^* - b_{\text{sample}}^*$

O espectro de transmitância da amostra de rótulo foi determinado por espectrofotômetro UV-vis (*U-1900, Hitachi*). Os rótulos foram cortados em tiras retangulares de 1 cm x 3 cm e colocadas na superfície da cubeta de quartzo. A absorvância foi medida a 600 nm (A_{600}) e a opacidade (Op) dos rótulos foi calculada pela Equação 4, onde ε é a espessura do rótulo (mm) (Zhang *et al.*, 2022).

$$Op = \frac{A_{600}}{\varepsilon} \quad (4)$$

4.4.2 Espessura e morfologia dos rótulos

A espessura dos rótulos foi medida usando um micrômetro (Mitutoyo, Japão) com uma precisão de 0,001 mm. Foram realizadas medições em dez pontos diferentes das amostras (Valencia *et al.*, 2019). Os rótulos foram condicionados em um dessecador com sílica gel anidro, e a microestrutura interna após imersão em nitrogênio líquido foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (*SEM, JSM-6390LV, JEOL*, Japão) a uma tensão de aceleração de 5 kV (Merz *et al.*, 2020).

4.4.3 Teor de umidade e solubilidade em água

As amostras dos rótulos foram secas em um forno a 105 °C por 24 horas, resfriadas em um dessecador contendo sílica gel e pesadas (Fonseca *et al.*, 2020). O teor de umidade (MC) foi calculado pela diferença entre o peso do rótulo antes e após a secagem.

A solubilidade em água (WS) dos rótulos foi determinada imergindo três amostras de cada rótulo (2 × 2 cm) com peso seco inicial conhecido em 50 mL de água destilada sob agitação contínua (100 rpm) a 20 °C por 24 horas. Em seguida, o rótulo foi removido da água destilada e seca em um forno a 105 °C por 24 horas. A WS (%) foi calculada pela diferença entre a massa inicial determinada a partir do teor de umidade da amostra (%) e a massa final após a secagem (Gaviria *et al.*, 2021).

4.4.4 Determinação da sensibilidade ao pH e sensibilidade à amônia dos rótulos

A sensibilidade ao pH dos rótulos foi determinada para pH 2 a 13, utilizando tampões de pH. A sensibilidade dos rótulos (F1 e F2) aos vapores de NH₃, foi avaliada pelo contato indireto do rótulo com 1 mL de solução aquosa de NH₄OH (10 e 25% v/v) por 15 minutos (Koop *et al.*, 2022).

Imagens das cores da superfície dos rótulos em resposta às mudanças de pH ou vapores de amônia foram capturadas e analisadas usando o software Image J (*National Institute Health, Bethesda, MD, USA*), equipado com o plugin Color Space Converter para converter cores do sistema RGB para a escala CIELab. As medidas de cor foram baseadas nas coordenadas CIELab, luminosidade (L*), intensidade de cor verde-vermelho (a*) e intensidade de cor azul-amarelo (b*). A diferença de cor (ΔE^*) foi calculada usando a Equação 3.

4.4.5 Determinação da fotossensibilidade dos rótulos

As amostras foram mantidas sob irradiação de luz UV (lâmpada fluorescente compacta de 26 W, cor preta, Taschibra, Brasil), a uma distância de 4 cm do guia de luz, a 40 °C, sob pressão atmosférica. A intensidade de luz das lâmpadas (2,93 mW/cm² ± 0,001) foi quantificada por meio de um Radiômetro de Registro de Dados (*PMA2100 Solar light, EUA*) e um Detector UVA+B (*PMA 2107 Solar light, EUA*). A avaliação da mudança de cor do rótulo foi determinada sob o mesmo método e configuração descritos na seção 4.4.1.

4.4.6 Aplicação dos rótulos

O rótulo contendo antocianinas encapsuladas (F2) foi selecionado para monitorar a frescura dos camarões. Uma faixa retangular do rótulo indicador colorimétrico (2,5 cm × 3 cm) foi fixada na superfície interna superior de uma embalagem de PET (tereftalato de polietileno). Os camarões foram colocados dentro da embalagem, que foi posteriormente selada e armazenada a 4°C. As mudanças

no rótulo foram visualmente observadas ao longo de um período de 8 dias.

4.4.7 Análise estatística

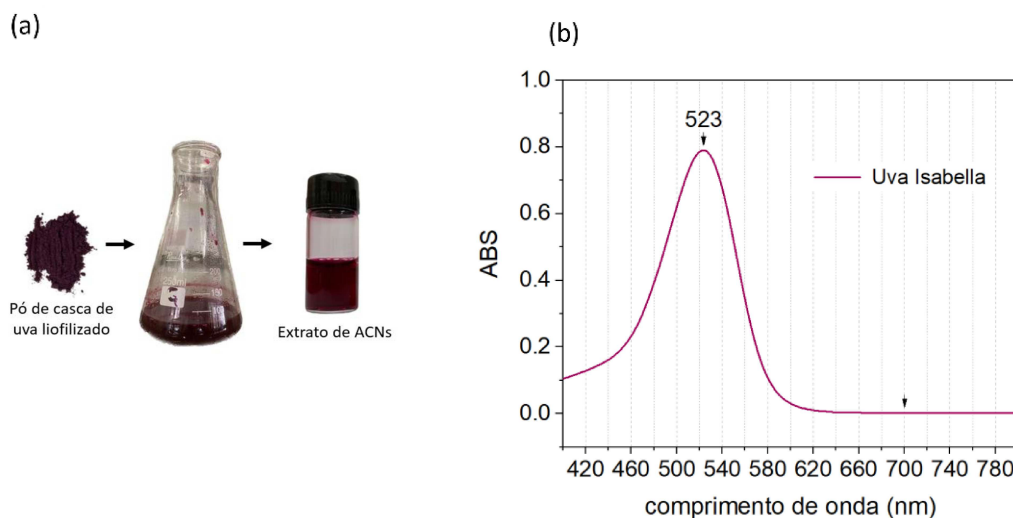
A análise de variância (ANOVA) foi realizada com o teste ANOVA de 2 vias de Friedman por ranks, com um nível de significância de 5%, utilizando o software *IBM SPSS Statistics* (*IBM SPSS Statistics, versão 25, EUA*). Os resultados foram expressos como médias \pm desvio padrão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS MONÉRICAS TOTAIS

A Figura 10 mostra o pó de casca de uva liofilizada que foi obtido na presente pesquisa e usado para a obtenção do extrato de antocianinas da casca de uva Isabella (pH=1,15) e o seu respectivo espectro de absorção, sendo o pico de absorbância máxima no comprimento de onda de 523 nm.

Figura 10 Pó liofilizado e moído das cascas de uva Isabella, extrato antes e após ser centrifugado e filtrado (a) e espectro de absorção do extrato de antocianinas obtido em água acidificada com HCl

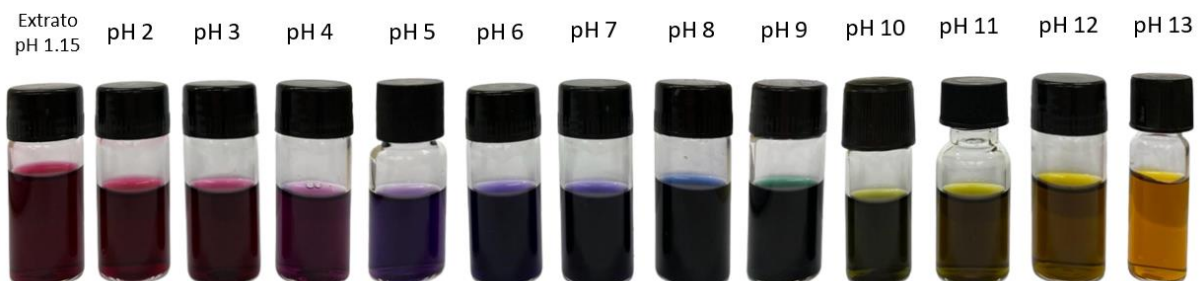


Fonte: elaborado pela autora

O total de antocianinas monoméricas obtidas após a extração foi de 3052 \pm 39,79 mg de equivalente de cianidina-3-glicosídeo, por 100 g de casca seca liofilizada de uva Isabella (505,42 mg de equivalente de cianidina-3-glicosídeo mg.L-1). As antocianinas monoméricas totais da cultivar Isabella (*Vitis Labrusca*) obtidas aqui, usando o método de extração com água acidificada, são superiores às relatadas em outros estudos de uvas (Aguirre *et al.*, 2010; Chengolova; Ivanov; Godjevargova, 2023; Lima *et al.*, 2017; Stafussa *et al.*, 2016; You *et al.*, 2022b). Por exemplo, (You *et al.*, 2022b) relata valores de 26,50 mg de cianidina.g-1 de peso seco de extrato de uva vermelha (ou seja, 2650 mg.100g-1). Além disso, o valor total de ACNs monoméricos na casca da uva Isabella foi maior quando comparado aos relatados na soja preta, nas bagas de madressilva azul e no Jambolão, consideradas fontes de alto teor de ACN, também extraídas em água acidificada com HCl (Gaviria *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2019; Ryu; Koh, 2018).

A cor do extrato de antocianina mudou (Figura 11) de vermelho (pH 2-3) para roxo (pH 4-7), azul (pH 8), verde (9-10), amarelo-esverdeado (pH 11-12) e finalmente amarelo (13). A coloração vermelha da solução deve-se à presença do cátion flavonoide em meio ácido forte, as bases carbinol foram formadas devido à transferência de próton do cátion flavylium e à formação de grupos hidroxila ácidos, e o extrato de antocianina tornou-se roxo, a coloração mudou de roxo para azul, devido à formação de quinonas de base anidra, e finalmente, para verde e amarelo como consequência da degradação de antocianinas em meios alcalinos (Merz *et al.*, 2020).

Figura 11 mudanças de cor do extrato de antocianinas da casca de uva Isabella em função do pH



Fonte: elaborado pela autora

5.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

Nanopartículas de quitosana encapsulando antocianinas (ACN-NPs) foram preparadas e caracterizadas. Os valores iniciais do tamanho hidrodinâmico de partícula (DZ), potencial zeta (ZP), índice de polidispersão (PDI) e eficiência de encapsulamento (EE) são mostrados na Tabela 1, para três diferentes razões em peso CS:TPP. O DZ e o PDI foram medidos até 90 dias para avaliar a estabilidade física dessas ACN-NPs (Figura 12).

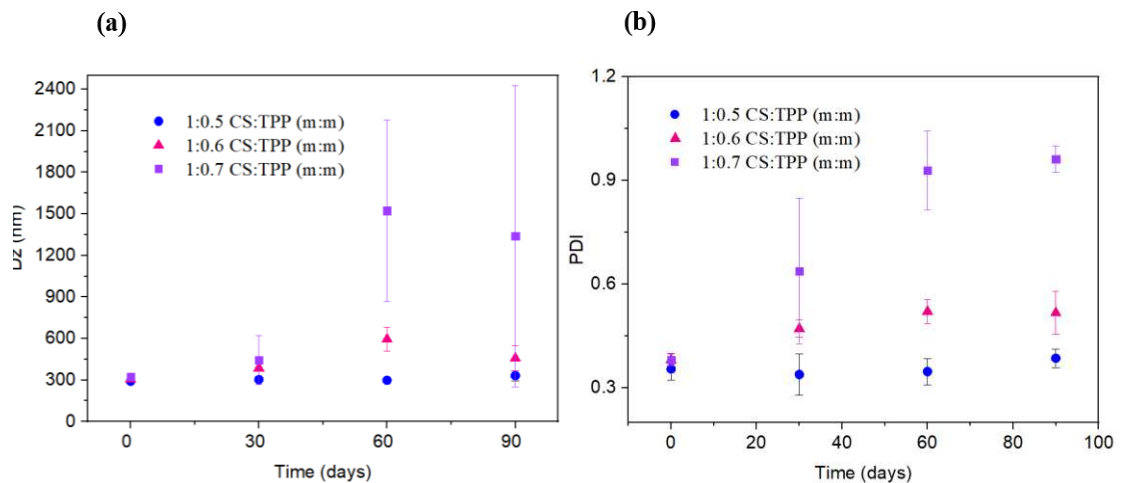
Tabela 1 - Tamanho hidrodinâmico das partículas (DZ), potencial Zeta (ZP), índice de polidispersão (PDI) e eficiência de encapsulamento (EE) das nanopartículas encapsulando antocianinas (ACN-NPs), com diferentes razões de peso de quitosana/TPP

CS:TPP (razão m/m)	D_z (nm)	ZP (mV)	PDI	EE (%)
1:0.5	291 ± 4.50 ^a	8.35 ± 0.29 ^a	0.355 ± 0.032 ^a	59.8 ± 1.3 ^a
1:0.6	308 ± 2.27 ^{ab}	7.06 ± 0.23 ^{ab}	0.382 ± 0.018 ^a	60.7 ± 2.1 ^a
1:0.7	325 ± 12.65 ^b	5.81 ± 0.38 ^b	0.382 ± 0.017 ^a	63.9 ± 0.8 ^a

Diferentes letras sobrescritas ^{a-b} na mesma coluna indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$), usando o teste ANOVA de 2 vias de Friedman por ranks.

Fonte: elaborado pela autora

Figura 12 Evolução do tamanho hidrodinâmico de partícula (DZ) (a) e índice de dispersão do polímero (PDI) (b) durante 90 dias



Fonte: elaborado pela autora

5.2.1 Diâmetro, índice de polidispersidade e estabilidade física das dispersões de nanopartículas

A proporção em massa CS:TPP é um fator importante que influencia as características das nanopartículas formadas. Os valores iniciais dos tamanhos hidrodinâmicos das partículas estavam entre 291 e 324 nm, com o aumento do diâmetro para concentrações mais altas de TPP, a Figura S1 no Apêndice A mostra a distribuição do tamanho de partículas de ACN-NPs nas razões de peso CS-TPP 1:0.5, 1:0.6 e 1:0.7. (Shahid *et al.*, 2022) relataram que o tamanho das partículas diminuiu linearmente com o aumento da proporção de massa CS:TPP (quantidade disponível de TPP é menor). Essa característica indica que, mesmo em baixas concentrações de poliânions TPP em comparação com os cátions CS, ocorreram interações iônicas suficientes que resultaram na formação de nanopartículas de tamanho pequeno devido à gelificação iônica. À medida que a proporção de massa CS:TPP diminuiu, a quantidade de TPP disponível para interações iônicas aumentou e o TPP em excesso teria se ligado às partículas para formar nanopartículas maiores.

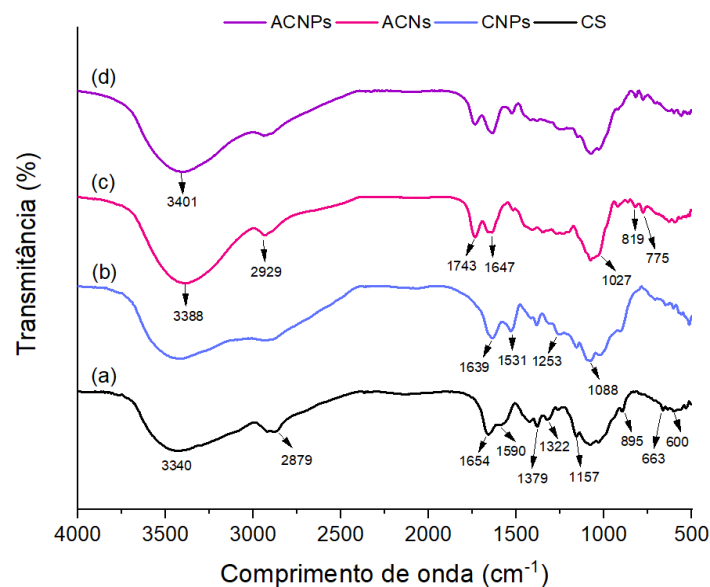
O efeito de diferentes razões de massa CS:TPP no potencial zeta de NPs foi estudado. De acordo com os resultados (Tabela 1), observou-se um ligeiro aumento no potencial zeta ao diminuir a quantidade de TPP. O potencial zeta aumentou proporcionalmente com o aumento da concentração de CS devido à neutralização de cargas entre o TPP carregado negativamente e os grupos de amina positivos do CS. O potencial zeta indica a repulsão ou atração entre partículas adjacentes (Shahid *et al.*, 2022). O valor do potencial zeta aumentou de +5,81 para a razão CS:TPP de 1:0,7 para +8,35 para a razão CS:TPP de 1:0,5. Geralmente, suspensões com potencial zeta mais alto possuem maior estabilidade eletrostática e maior resistência à agregação. Embora os valores de PZ não fossem suficientemente altos devido ao pH do extrato de antocianina utilizado (pH <3) (Chatterjee *et al.*, 2021), os valores de DZ e PDI medidos durante 90 dias (Figura 12) sugerem que as NPs com a razão CS:TPP de 1:0,5 mostram maior estabilidade ao longo do tempo em comparação com as outras duas formulações. Portanto, essa razão foi escolhida para fabricar rótulos inteligentes à base de PVA contendo

antocianinas encapsuladas. Além disso, nanopartículas de quitosana vazias (C-NPs) foram preparadas com água acidificada em vez de extrato e uma razão de peso de quitosana-TPP de 1:0,5. O tamanho de partícula medido para as C-NPs foi de $278,37 \pm 7,02$ nm, menor do que os valores de Dz obtidos para nanopartículas contendo antocianinas (ACN-NPs); o PDI para C-NPs ($0,286 \pm 0,007$) também menor do que para ACN-NPs, indicando uma diminuição na homogeneidade da distribuição do tamanho das partículas com a adição de antocianina.

5.2.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

A estrutura química da quitosana (CS), nanopartículas de quitosana (C-NPs), ACNs do extrato de uva e nanopartículas de quitosana carregadas com extrato (ACN-NPs) foi caracterizada usando a técnica de FTIR (Figura 13).

Figura 13 Diagrama de Diagrama de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do (a) pó de quitosana (CS), (b) nanopartículas vazias de quitosana (C-NPs), (c) extrato de antocianinas (ACNs) e (d) nanopartículas de quitosana carregadas com extrato (ACN-NPs) na razão de peso de quitosana/TPP de 1:0.5



Fonte: elaborado pela autora

No espectro da molécula de quitosana, a banda larga em torno de 3440 cm^{-1} é atribuída à sobreposição de vibrações de estiramento dos grupos amina e hidroxilo (Ahmadi *et al.*, 2018; Boonsongrit; Mueller; Mitrevej, 2008; Hasheminejad;

Khodaiyan; Safari, 2019; Ma *et al.*, 2018). O pico absorvido em 2879 cm^{-1} pode ser explicado pela vibração de estiramento dos grupos C-H (alílicos) no anel de quitosana. Os picos em 1590 cm^{-1} e 1654 cm^{-1} são atribuídos às principais forças de estiramento entre os grupos carbonila (C=ONH₂) e amino (N-H₂), respectivamente. A absorção em 1379 cm^{-1} , 1322 cm^{-1} e 1157 cm^{-1} pode ser atribuída à curvatura em plano de ligações C-O, O-H e ligações C-O-C (ligações glicosídicas dentro de ligações de quitosana), respectivamente. As bandas em $1000\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ estão associadas à estrutura sacarídica da quitosana. A absorção em 895 cm^{-1} é devido à vibração do anel de piranose. O pico em 663 cm^{-1} indica N-H e a curvatura de vibração dentro do anel de quitosana ocorre na região de 600 cm^{-1} (Ahmadi *et al.*, 2018; Boonsongrit; Mueller; Mitrevej, 2008; Hasheminejad; Khodaiyan; Safari, 2019; Soleymanfallah *et al.*, 2022). O deslocamento das bandas de 1590 cm^{-1} e 1654 cm^{-1} para 1531 cm^{-1} e 1639 cm^{-1} no espectro de C-NPs indica a formação de complexos por meio de interação eletrostática entre os grupos amino de CS e os grupos fosfóricos de TPP. Essas descobertas demonstram que os grupos carbonila e amino da quitosana se ligaram às moléculas de TPP para formação de C-NPs. Novos picos em 1088 cm^{-1} e 1253 cm^{-1} também foram observados devido à vibração de estiramento de grupos PO₃ e PO⁻, respectivamente (Hasheminejad; Khodaiyan; Safari, 2019; Ma *et al.*, 2018; Oudih *et al.*, 2023).

O espectro FTIR do extrato de uva revela uma banda entre $3600\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ associada à vibração de estiramento de ligações simples OH, e em 2929 cm^{-1} , uma banda característica para a vibração de estiramento de C-H é observada. Em 1743 cm^{-1} , é observada a característica vibração de estiramento do grupo éster carbonila (C=O), localizada na região central das cianidinas (3-glucosídeo e 3-rutinosídeo). A banda em 1647 cm^{-1} é atribuída ao grupo C=C para anéis aromáticos. A banda em 1515 cm^{-1} é atribuída à vibração de estiramento do grupo =C-O-C no anel aromático de flavonoides. A absorção significativa em 1027 cm^{-1} é devida ao estiramento C-O do grupo hidroxila sacarina. A vibração do anel de antocianina está associada às bandas em 819 cm^{-1} e 775 cm^{-1} . Outros estudos relataram picos semelhantes (Bhushan *et al.*, 2023; da Silva Crozatti *et al.*, 2023; Gaviria *et al.*, 2021; Soleymanfallah *et al.*, 2022).

A variedade de picos, o deslocamento na posição e o aumento na intensidade da banda nas nanopartículas carregadas de antocianina (ACN-NPs) indicam interações físicas por meio de ligação de hidrogênio intermolecular entre os

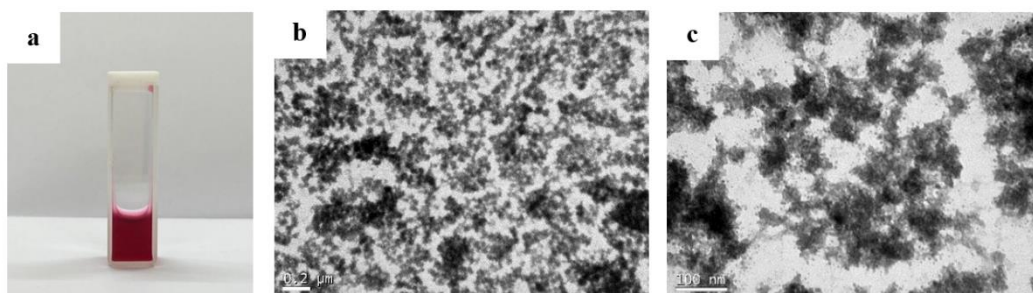
grupos hidroxila da quitosana e os grupos polifenólicos presentes no extrato de uva. Isso foi relatado por (Soleymanfallah *et al.*, 2022) e como observado na Figura 13, esses resultados indicam o sucesso na encapsulação do extrato de uva dentro das nanopartículas de quitosana.

A técnica de encapsulação aplicada, os materiais usados para encapsulação, suas concentrações, e as condições de sonicação desempenham um papel fundamental na obtenção de uma boa eficiência de encapsulação. Um dos fatores mencionados anteriormente por (Chatterjee *et al.*, 2021) na encapsulação de ACNs por gelificação iônica com CS e TPP é a concentração de ACNs, uma vez que, à medida que essa concentração aumenta, os sítios de ligação no encapsulante podem se saturar, reduzindo assim a EE. A eficiência de encapsulação de ACNs da casca de uva Isabella em nanopartículas de CS foi de cerca de 60% (Tabela 1), sem diferença significativa para as razões CS:TPP estudadas. Este resultado indica um bom procedimento de encapsulação, uma vez que a reticulação de CS com TPP pode favorecer a incorporação de ACNs nas nanopartículas, o que também pode influenciar sua estabilidade.

5.2.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

A morfologia das nanopartículas contendo antocianinas (ACN-NPs) foi analisada por TEM (Figura 14). As ACN-NPs apresentaram agregados de partículas. Isso se deve às interações iônicas entre os grupos amino carregados positivamente ($-NH_3^+$) da quitosana e os grupos fosfato carregados negativamente de TPP (Ma *et al.*, 2018).

Figura 14 Foto (a) e Micrografias de TEM de nanocomplexos ACN-NPs 0,2 μ m (b) e 100 nm (c)

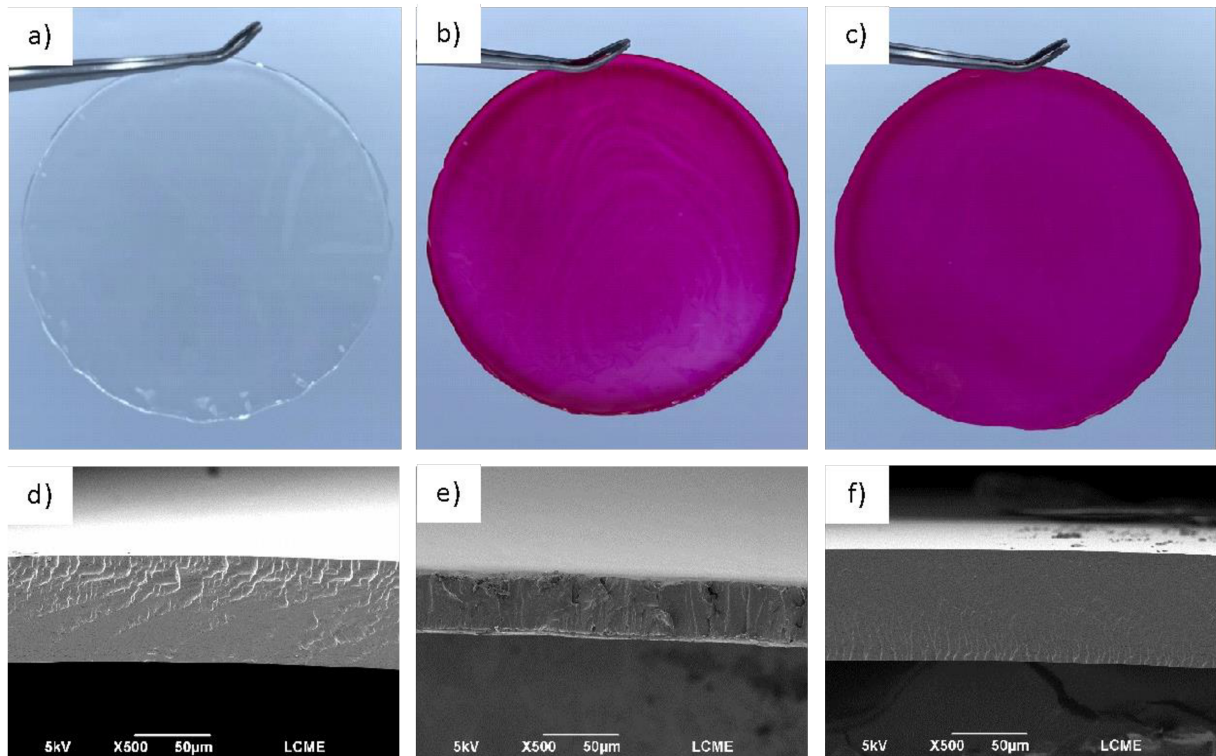


Fonte: elaborado pela autora

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS RÓTULOS INTELIGENTES

5.3.1 Propriedades ópticas e morfologia dos rótulos

Figura 15 Aspecto visual do rótulo de controle (a), rótulo de ACNs livres (b) e ACN-NPs (c) e suas respectivas micrografias de microscopia eletrônica de varredura (d, e, f)



Fonte: elaborado pela autora

Os rótulos preparados foram facilmente removidos das placas de Petri e apresentaram uma superfície homogênea. O rótulo controle era visualmente transparente (Figura 15a). A adição de extrato livre (F1) e ACNs encapsulados (F2) conferiu uma cor vermelha e mais homogênea aos rótulos de PVA (Figura 15 b e c). Outros autores também relataram que a matriz polimérica se tornou colorida após a incorporação de antocianinas (Merz *et al.*, 2020; Qin *et al.*, 2021) e a coloração roxa pode estar associada ao pH ácido, como observado anteriormente na Figura 11. As micrografias de SEM obtidas das seções transversais dos rótulos (Figura 15 d, e, e f) mostram que todos os rótulos eram homogêneos e compactos. Nenhuma

porosidade, separação de fases ou agregação de nanopartículas foi detectada na seção transversal, sugerindo que tanto as antocianinas livres quanto as encapsuladas foram incorporadas e dispersas eficientemente na matriz de PVA, confirmando a boa compatibilidade e interação entre ACN-NPs e poli(vinil álcool). Esses resultados estão de acordo com os observados por (Liu *et al.*, 2022b; Merz *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2022) em filmes de quitosana/PVA com antocianinas, PVA e amido de milho/PVA com nanocomplexos contendo antocianinas.

Após a adição de antocianinas livres e encapsuladas à matriz de PVA, a luminosidade (valor L^*), os valores positivos de a^* indicaram que a cor dos rótulos tendia para o vermelho e o parâmetro b^* para todos os rótulos mostrou um valor positivo, indicando uma tendência para a coloração amarela (Tabela 2). Os resultados obtidos por (You *et al.*, 2022a) em filmes indicadores com ACNs extraídas da casca de uva mostraram a mesma tendência. A diferença total de cor (ΔE^*) dos rótulos aumentou, com $\Delta E^* > 3$ a diferença de cor dos rótulos é perceptível ao olho humano (Koop *et al.*, 2022). A encapsulação das ACNs não afetou significativamente a diferença total de cor em comparação com o rótulo com ACNs livres ($p > 0,05$) (Tabela 2), concordando com a aparência visual dos rótulos (Figura 15). Outra propriedade óptica afetada pela incorporação de ACNs livres e encapsuladas foi a opacidade, cujos valores aumentaram com a presença do extrato de antocianinas e ACN-NPs (amostras F1 e F2, respectivamente, na Tabela 2).

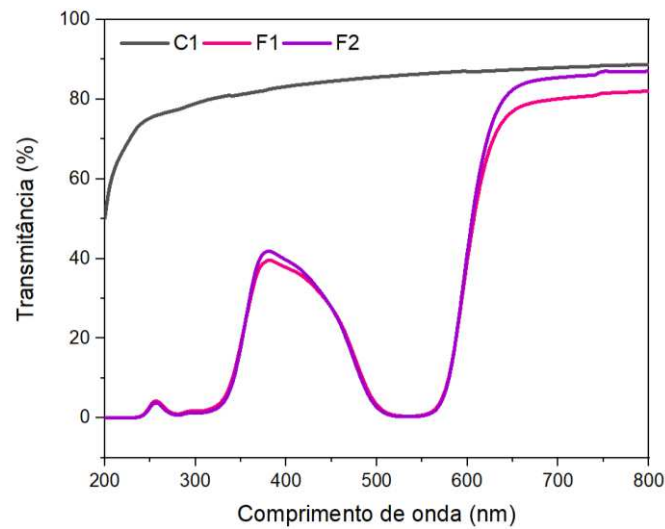
Tabela 2 - Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* e ΔE^*) e opacidade dos rótulos indicadores colorimétricos

Rótulo	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	Opacidade ($A_{600/mm}$)
C1	87.32 ± 0.17 ^a	-0.28 ± 0.52 ^a	4.72 ± 0.21 ^a	0	1.70 ± 0.47 ^a
F1	34.51 ± 1.56 ^b	61.76 ± 0.14 ^b	1.35 ± 2.72 ^b	81.16 ± 0.99 ^a	5.63 ± 0.18 ^b
F2	34.50 ± 1.46 ^b	61.63 ± 0.27 ^b	3.13 ± 2.80 ^{ab}	80.98 ± 0.62 ^a	4.56 ± 0.40 ^b

Diferentes letras sobrescritas ^{a-b} na mesma coluna indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$), usando o teste ANOVA de 2 vias de Friedman por ranks. C1 (rótulo controle), F1 (rótulo de ACNs livres) e F2 (rótulo de ACN-NPs).

Fonte: elaborado pela autora

Figura 16 Transmitância de luz UV-vis de C1 (rótulo controle), F1 (rótulo de ACNs livres) e F2 (rótulo de ACN-NPs)



De acordo com o aumento da opacidade, foi observada uma menor transmitância de luz para os rótulos com ACNs (Figura 16). Os espectros de UV/Vis mostram alta transmitância de luz para os rótulos controle de PVA. Por outro lado, os rótulos F1 e F2 mostraram praticamente nenhuma transmitância na faixa de luz ultravioleta de 200 a 320 nm, aumentando apenas no final da faixa ultravioleta (320 - 400 nm, faixa UVA), sugerindo que ambos os rótulos têm boa capacidade de absorção de luz ultravioleta. Na região de luz visível, a capacidade de transmitir luz dos rótulos contendo ACNs livres e encapsuladas foi alta, mas diminuiu na faixa de 500 a 570 nm. Resultados semelhantes foram relatados por (Kamer *et al.*, 2022; Qin *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2020), e sugerem que essa diminuição na transmitância ocorreu devido à absorção por parte das antocianinas presentes nesses filmes.

5.3.2 Espessura, teor de umidade e solubilidade em água dos rótulos

A espessura é um fator importante que pode influenciar a qualidade dos rótulos inteligentes. Uma maior espessura pode proporcionar uma melhor informação visual, pois teria a capacidade de conter um número maior de nanopartículas. Como mostrado na Tabela 3, a adição tanto do extrato de ACNs livres quanto das nanoencapsuladas resultou em um aumento significativo na espessura do rótulo em comparação com o rótulo de controle. Isso pode ser

atribuído ao fato de que os rótulos contendo antocianinas apresentam um maior teor sólido em relação ao rótulo de controle contendo apenas PVA e glicerol. Isso também pode implicar que tanto as ACNs livres quanto as encapsuladas alteram a densidade do rótulo devido à repulsão eletrostática entre as antocianinas e as macromoléculas (Merz *et al.*, 2020). Resultados semelhantes foram observados em filmes baseados em PVA contendo antocianinas de repolho roxo e filmes de quitosana, gelatina e amido, todos contendo antocianinas de amora ou da flor de *Hibiscus sabdariffa* (Nogueira; Fakhouri; de Oliveira, 2019; Pereira; de Arruda; Stefani, 2015). Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas entre os rótulos com ACNs livres e os nanoencapsulados. Apesar dos rótulos com antocianinas encapsuladas conterem compostos adicionais como quitosana e TPP (tripolifosfato), sua espessura não aumentou em comparação aos rótulos com extrato livre. Isso sugere que a presença e configuração desses compostos adicionais podem potencialmente reduzir o espaçamento molecular nas cadeias poliméricas, provavelmente devido a interações de ligação de hidrogênio que podem comprimir a matriz (Koop *et al.*, 2022).

Tabela 3 - Espessura, teor de umidade (MC) e solubilidade em água (WS) dos rótulos

Rótulo	Espessura(mm)	MC (%)	WS (%)
C1	0,067± 0,003a	43,83 ± 1,65a	11,60 ± 1,54a
F1	0,075± 0,008b	42,88 ± 0,20a	16,60 ± 1,1ab
F2	0,084± 0,003b	38,30 ± 2,51a	22,65 ± 2,70b

Diferentes letras sobrescritas ^{a-b} na mesma coluna indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$), usando o teste ANOVA de 2 vias de Friedman por ranks. C1 (rótulo controle), F1 (rótulo de ACNs livres) e F2 (rótulo de ACN-NPs).

Fonte: elaborado pela autora

O teor de umidade e a solubilidade em água dos rótulos inteligentes são parâmetros importantes que podem afetar a estabilidade e a vida útil do rótulo, assim como sua interação com alimentos. A umidade é um fator crítico que pode afetar o funcionamento e a estabilidade dos sensores no rótulo inteligente. O excesso de umidade pode alterar a sensibilidade e a precisão do sensor, enquanto a baixa umidade pode afetar a resposta do sensor. Conforme observado na Tabela 3,

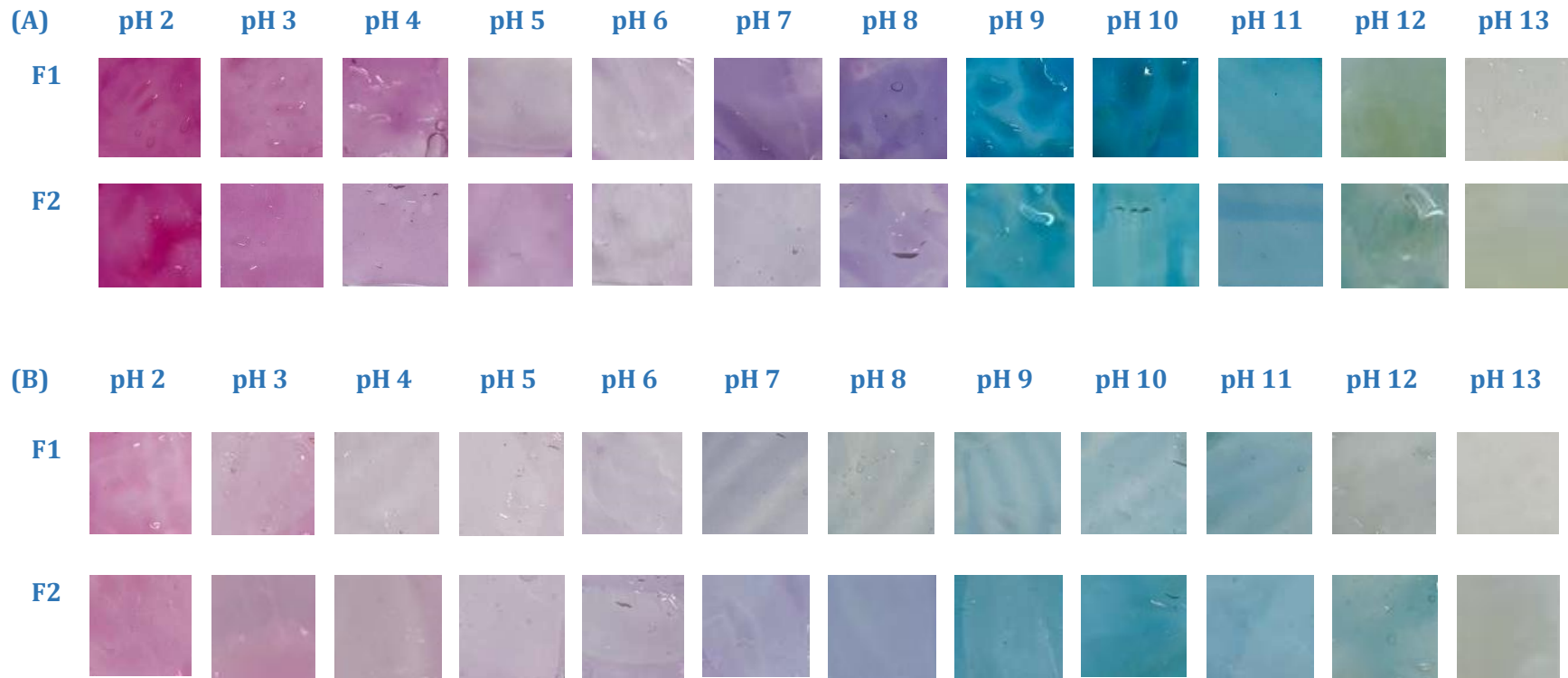
tanto o rótulo controle quanto os rótulos com extrato de ACNs não apresentaram diferenças significativas, no entanto, apresentaram higroscopicidade relativamente alta em comparação com outras investigações (Koop *et al.*, 2022; Merz *et al.*, 2020; Qin *et al.*, 2019). Essa alta umidade pode ser influenciada por ter dois compostos na formulação que fornecem flexibilidade, glicerol e PVA, uma vez que ambos têm alta afinidade pela água, formando ligações de hidrogênio com as moléculas de água circundantes (Zhang *et al.*, 2022), ao contrário de outras investigações que geralmente usam um único composto que fornece flexibilidade (Pereira; de Arruda; Stefani, 2015; Qin *et al.*, 2019). Em relação à solubilidade, observou-se que o rótulo de controle apresentou similaridade estatística com o rótulo com extrato livre. A adição de antocianinas livres à matriz de PVA e glicerol não promoveu desintegração significativa em água. No entanto, uma diferença foi observada nos rótulos com ACNs encapsuladas. Indicando que as nanopartículas de quitosana-TPP provavelmente interferiram na coesão do rótulo em certa medida. (Liu *et al.*, 2022b; Zhang *et al.*, 2022) observaram resultados semelhantes ao introduzir nanopartículas de antocianina na matriz polimérica de PVA, aumentando a solubilidade em água.

5.3.3 Avaliação dos rótulos inteligentes: sensibilidade ao pH, sensibilidade à amônia e fotodegradação

A deterioração de alimentos ricos em proteínas leva à geração de compostos nitrogenados voláteis, o que cria um ambiente alcalino dentro da embalagem. Portanto, a sensibilidade ao pH dos rótulos em condições alcalinas é uma característica essencial em embalagens inteligentes (Qin *et al.*, 2021). Os rótulos desenvolvidos, tanto com antocianinas livres (F1) quanto encapsuladas (F2), sofreram uma mudança significativa de cor em condições alcalinas ($\text{pH} > 7$), como pode ser visto na Figura 17A. A cor dos rótulos mudou de azul para verde devido a alterações na estrutura das antocianinas pela formação de pseudo carbinol e base quinoid. Em pH 13, a cor das antocianinas nos rótulos ficou amarela devido à formação da base de chalcona (Gaviria *et al.*, 2021). Valores de ΔE^* maiores que 3,0 (Tabela 4) indicam que quando F1 e F2 são expostos a soluções tampão, podem apresentar mudanças de cor perceptíveis ao olho humano (Koop *et al.*, 2022). A encapsulação das antocianinas não comprometeu a função dos rótulos, indicando

que tanto F1 quanto F2 podem ser usados como indicadores de frescor em embalagens de alimentos.

Figura 17 Sensibilidade ao pH de F1 (rótulo de ACNs livres) e F2 (rótulo de ACN-NPs) antes (A) e após exposição a 40°C e radiação de luz UV por 144 horas (B)



Fonte: elaborado pela autora

Tabela 4 - Parâmetros colorimétricos (L^* , a^* , b^* e ΔE^*) dos rótulos após contato com soluções tampão em diferentes valores de pH (variando entre 2.0 e 13.0)

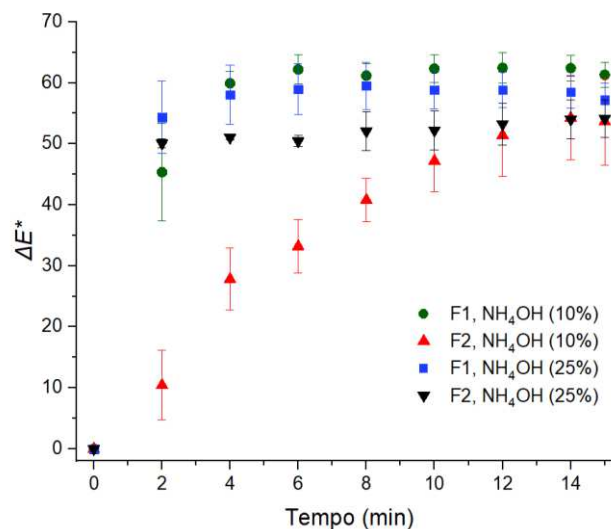
pH	Rótulo indicador colorimétrico							
	F1				F2			
	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
Rótulo	36.40±1.17	58.20±0.94	-22.32±0.40	-	29.99±1.24	56.22±1.71	-14.36±2.25	-
2	45.44±0.35	45.79±0.86	-14.69±0.65	16.85±1.02 ^a	40.25±0.88	53.91±1.48	-14.63±0.64	10.60±1.09 ^a
3	57.03±0.74	30.14±1.74	-12.62±0.70	35.82±1.96 ^{a,b}	56.02±1.60	33.91±1.88	-16.70±0.76	34.38±2.35 ^b
4	56.64±2.08	29.07±2.97	-14.89±1.67	35.92±3.88 ^{a,b}	65.40±0.23	17.85±0.59	-12.39±0.24	52.26±0.40 ^c
5	69.65±1.74	8.027±1.37	-5.64±0.92	62.15±2.25 ^c	65.52±0.13	18.39±0.62	-12.29±0.25	51.95±0.51 ^c
6	71.92±2.11	8.769±1.23	-7.25±1.27	62.38±2.41 ^c	74.34±2.10	6.07±1.64	-5.47±1.46	67.55±2.71 ^d
7	52.51±1.18	18.12±0.47	-21.08±0.71	43.01±0.85 ^b	72.19±0.60	4.44±0.32	-6.93±0.27	67.22±0.64 ^d
8	47.71±1.40	17.43±0.74	-24.98±1.50	42.27±0.64 ^b	61.32±2.83	12.54±0.97	-16.82±1.92	53.86±2.33 ^c
9	49.13±2.37	-13.64±1.59	-29.70±0.71	73.25±1.92 ^d	54.98±1.82	-20.12±0.47	-19.38±1.40	50.51±0.36 ^c
10	42.35±1.54	-12.97±1.32	-26.21±1.77	71.50±1.28 ^d	60.39±0.59	-21.33±0.31	-15.32±2.47	83.33±0.12 ^e
11	58.29±1.06	-18.50±1.27	-16.88±2.21	79.82±0.81 ^d	58.49±0.06	-12.39±0.36	-15.50±0.85	74.31±0.35 ^e
12	60.95±0.65	-13.36±0.68	7.04±2.03	80.99±1.13 ^d	58.98±1.56	-14.69±1.39	-1.73±0.92	77.66±0.65 ^e
13	76.07±0.75	-1.86±0.50	4.19±2.45	76.42±1.59 ^d	71.02±0.60	-5.21±0.26	4.33±1.69	76.21±0.59 ^e

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$), usando o teste ANOVA de 2 vias de Friedman por ranks. C1 (rótulo controle), F1 (rótulo de ACNs livres) e F2 (rótulo de ACN-NPs).

Fonte: elaborado pela autora

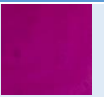





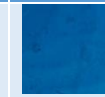
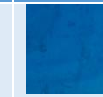

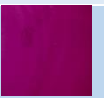





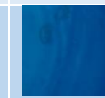


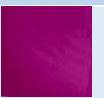


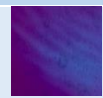

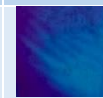



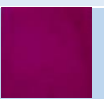
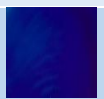
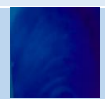
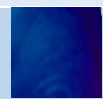
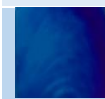

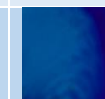
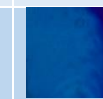
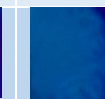
O vapor de amônia é comumente produzido como consequência da deterioração das proteínas nos alimentos, portanto, pode ser usado para simular a deterioração de alimentos ricos em proteínas. O princípio se baseia no fato de que a amônia hidrolisa os grupos hidroxila presentes na estrutura do indicador colorimétrico (ACNs), criando condições alcalinas que podem causar a mudança de cor das antocianinas no filme (Kamer *et al.*, 2022). Portanto, os rótulos inteligentes F1 e F2 foram expostos ao vapor de NH_4OH (10 e 25% v/v). Ambos os rótulos apresentaram mudanças de cor perceptíveis de vermelho para azul durante os 15 minutos de experimento, independentemente da concentração de amônia utilizada (Figura 18 e Tabela 5). Em uma concentração mais alta de amônia (25% v/v), uma mudança de cor mais rápida foi obtida, como já esperado e também observado por outros autores (Koop *et al.*, 2022). O rótulo contendo antocianinas encapsuladas (F2) apresentou uma mudança de cor mais gradual em comparação com o rótulo que utilizou antocianinas livres (F1) quando exposto a 10% v/v de amônia (Tabela 5). Isso sugere que a encapsulação cumpriu sua função sem comprometer o objetivo do rótulo, uma vez que a mudança de cor global em ambos os rótulos após 2 minutos de exposição à solução de amônia pode ser percebida pelo olho humano ($\Delta E^* > 3$) (Koop *et al.*, 2022). Portanto, os rótulos desenvolvidos mostram grande potencial para aplicação em embalagens inteligentes.

Figura 18 Mudança de cor dos rótulos inteligentes F1 (ACNs livres) e F2 (ACN-NPs) após exposição ao NH_4OH



Fonte: elaborado pela autora

Tabela 5 - Mudança de cor visual dos rótulos inteligentes F1 (ACNs livres) e F2 (ACN-NPs) após exposição ao NH₄OH

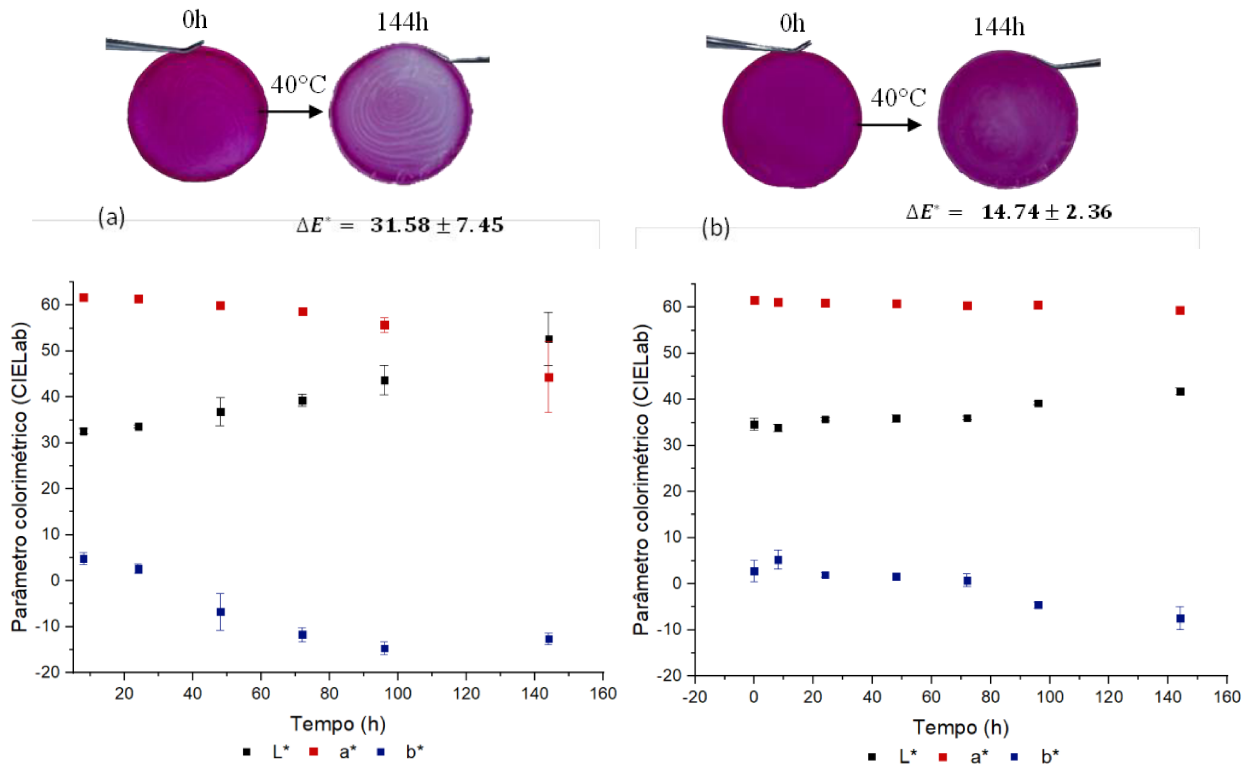
NH ₄ OH %(v/v)		Tempo (min)								
		0	2	4	6	8	10	12	14	15
F1	10									
	25									
F2	10									
	25									

Fonte: elaborado pela autora

5.3.4 Avaliação da fotossensibilidade dos rótulos

Com o fim de avaliar o impacto da nanoencapsulação na estabilidade dos rótulos, F1 e F2 foram submetidos a tratamento térmico (40°C) e radiação UV por um período de 144 horas. As antocianinas livres presentes no rótulo F1 mostraram-se especialmente sensíveis ao calor e à radiação de luz, resultando em uma modificação de sua cor e aumento da transparência do rótulo após 144 horas, como pode ser observado na Figura 19a. Essas mudanças resultaram em uma diminuição do valor de a^* e um aumento do valor de L^* . A rápida diminuição do parâmetro b^* indica que a cor do rótulo F1 está perdendo intensidade em sua cor amarela e aumentando a cor azul. Em contraste, o rótulo F2 teve uma tendência ao original após 144 horas (Figura 19b). Os valores de a^* e L^* permaneceram relativamente constantes, e o parâmetro colorimétrico b^* não diminuiu tão significativamente quanto no caso do rótulo F1. Esses resultados sugerem que a nanoencapsulação de ACNs teve um efeito protetor sobre as antocianinas contra os tratamentos de calor e luz, e ajudou a preservar a cor roxa original em maior medida em comparação com o rótulo F1, que sofreu uma modificação de cor mais perceptível devido à sensibilidade das antocianinas livres.

Figura 19 Alterações na cor de acordo com as coordenadas CIELab dos rótulos expostos à luz UV controlada em função do tempo a 40 °C, e aspecto visual da cor do F1 (rótulo de ACNs livres) e F2 (rótulo de ACN-NPs) antes e depois da exposição à luz UV controlada por 144 horas, com respectivo valor de ΔE^* : Rótulos de indicadores colorimétricos com antocianinas livres (a) e antocianinas encapsuladas (b). Os valores de ΔE^* dos rótulos foram calculados usando a Equação (4) e considerando os parâmetros de cor de cada rótulo no tempo zero como padrão



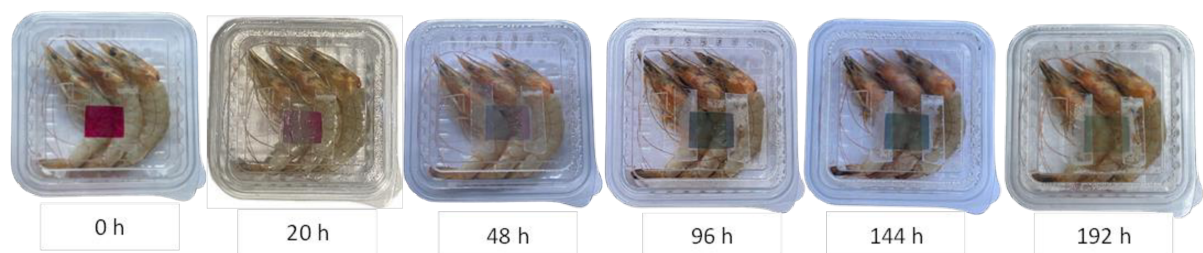
Fonte: elaborado pela autora

A sensibilidade ao pH dos rótulos submetidos a tratamento térmico e radiação UV, também foi avaliada. Após os tratamentos de calor e luz por 144 horas, a sensibilidade ao pH do rótulo F1 foi significativamente enfraquecida, enquanto a sensibilidade ao pH do rótulo F2 não sofreu alterações perceptíveis devido aos tratamentos de calor e luz (Figura 19B). Todos os resultados mencionados acima sugerem que o rótulo F2 apresentou maior estabilidade do que o rótulo F1 sob tratamentos de calor e luz UV. Esses resultados estão de acordo com a pesquisa realizada por (Qin *et al.*, 2021), onde observaram que um nanocomplexo carregado com antocianinas de *Lycium ruthenicum* em uma matriz de amido/PVA apresentou maior estabilidade em comparação com um filme contendo antocianinas livres.

5.3.5 Aplicação dos rótulos inteligentes contendo antocianinas encapsuladas, para monitorar o frescor do camarão

O rótulo F2, com ACNs encapsulados, foi utilizado para avaliar o frescor dos camarões a 4 °C. Apresentou coloração vermelha, roxa e azul esverdeada durante as primeiras 96 horas (4 dias) de avaliação, finalmente amarelando às 144 e 192 horas (6 e 8 dias) como consequência da deterioração do camarão durante o armazenamento (Figura 20), resultados que também foram previamente evidenciados e relatados por (Merz *et al.*, 2020) no teste de monitoramento do frescor do camarão com filmes colorimétricos contendo ACNs do Jambolán. A mudança de cor dos camarões foi devido à liberação de astaxantina durante o teste (Niamnuy *et al.*, 2008). Esses resultados são consistentes com testes anteriores de mudança de cor em função do pH (Figura 11, Figura 17 e Tabela 5). Esses achados sugerem que a hidrólise de proteínas do camarão e consequentemente seu deterioro, pode ser detectada sem a necessidade de abrir o recipiente e perceber um odor desagradável, devido à capacidade dos rótulos de mudarem de cor durante o armazenamento do camarão fresco, portanto o rótulo desenvolvido é um potencial indicador colorimétrico. de tempo e temperatura, fornecendo informações sobre o frescor do camarão.

Figura 20 Mudança de cor do rótulo à base de poli(vinil álcool) com extrato de antocianina encapsulada (F2), usado para monitorar o frescor dos camarões a 4 °C



Fonte: elaborado pela autora

6 CONCLUSÃO

Este estudo forneceu informações sobre a extração sustentável e não tóxica das antocianinas de casca de uva Isabella e sua respectiva encapsulação em

nanopartículas de quitosana. Utilizando água acidificada durante 80 minutos foi possível obter o extrato rico em ACNS e utiliza-lo para a formação dos rótulos inteligentes. Com eficiência de encapsulação de 59.8% a uma relação CS:TPP (m/m) de 1:0.5 as ACN-NPs mostram-se estáveis ao longo de 90 dias. O tamanho hidrodinâmico das ACN-NPs utilizadas na preparação dos rótulos foi de $291,4 \pm 4,50$ nm. Os resultados do FTIR para a análise de nanopartículas de quitosana revelaram interações de hidrogênio entre os componentes. As imagens de SEM retrataram uma estrutura compacta nos rótulos de PVA, tanto com antocianinas livres quanto encapsuladas. O encapsulamento das ACNs não implicou alterações na cor do rótulo, espessura e higroscopicidade em comparação com o rótulo contendo ACNs livres. Houve um leve aumento da solubilidade em água com nos rótulos com ACNs encapsuladas, mas o encapsulamento conseguiu proteger as antocianinas da fotodegradação e a temperatura, sem comprometer sua função. O processo de encapsulação não comprometeu a propriedade bioativa das antocianinas, pois os rótulos colorimétricos F1 e F2 exibiram respostas visíveis semelhantes de mudança de cor para soluções dentro da faixa de pH de 2 a 13.

A análise colorimétrica no espaço de cor CIELab permite concluir que os rótulos produzidos variam de cor conforme o pH e com os vapores de amônia, apresentando diferenças de cor claramente visível, as quais descrevem as mudanças estruturais das antocianinas.

Desta forma, o resultado obtido foi o esperado, atingindo os objetivos propostos neste estudo, descritos na seção 2.1 e 2.2, o que pode ser demonstrado e validado com os testes de estabilidade das antocianinas encapsuladas e seus filmes assim como pelo experimento feito em camarão fresco, fazendo com que o rótulo através das antocianinas encapsuladas, assumisse o papel de embalagem inteligente, colaborando na qualidade e na segurança dos alimentos.

6.1 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Sugere-se para trabalhos futuros estudar o mecanismo de encapsulamento para outros pigmentos como clorofila e carotenoides em nanopartículas de quitosana.
- Utilizar outras matrizes poliméricas para avaliação da formação de filme, parâmetros de permeação e suas características físico-químicas,

morfológicas, térmicas e a capacidade de mudança de cor frente a diferentes valores de pH.

- Determinar a composição do extrato.

7 REFERÊNCIAS

AABY, Kjersti; AMUNDSEN, Mathias Rudolf. The stability of phenolic compounds and the colour of lingonberry juice with the addition of different sweeteners during thermal treatment and storage. **Heliyon**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. e15959, 2023. Disponível em: Acesso em: 25 ago. 2023.

ABABNEH, Hani; HAMEED, B.H. Chitosan and chitosan composites for oil spills treatment: Review of recent literature. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 55, p. 104193, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214714423007134>. Acesso em: 7 set. 2023.

AGUIRRE, María J. *et al.* Electrochemical behaviour and antioxidant capacity of anthocyanins from Chilean red wine, grape and raspberry. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 121, n. 1, p. 44–48, 2010. Disponível em: Acesso em: 2 jul. 2023.

AHMADI, Zeinab *et al.* Encapsulation of *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) in chitosan/TPP nanoparticles with enhanced acaricide activity against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 161, p. 111–119, 2018. Disponível em: Acesso em: 11 ago. 2023.

AVULA, Bharathi *et al.* **Advances in the Chemistry, Analysis and Adulteration of Anthocyanin Rich-Berries and Fruits: 2000–2022**. [S. l.]: MDPI, 2023.

AWUCHI, Chinaza Godswill *et al.* Nanoencapsulation of food bioactive constituents and its associated processes: A revisit. **Bioresource Technology Reports**, [s. l.], v. 19, p. 101088, 2022. Disponível em: Acesso em: 6 set. 2023.

AYVAZ, Huseyin *et al.* **Anthocyanins: Metabolic Digestion, Bioavailability, Therapeutic Effects, Current Pharmaceutical/Industrial Use, and Innovation Potential**. [S. l.]: MDPI, 2023.

AZMAN, Ezzat Mohamad *et al.* Effect of acidified water on phenolic profile and antioxidant activity of dried blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) pomace extracts. **LWT**, [s. l.], v. 154, p. 112733, 2022. Disponível em: Acesso em: 1 set. 2023.

BECERRIL, Raquel; NERÍN, Cristina; SILVA, Filomena. Bring some colour to your package: Freshness indicators based on anthocyanin extracts. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 111, p. 495–505, 2021. Disponível em: Acesso em: 25 ago. 2023.

BENAMER OUDIH, Samah *et al.* Chitosan nanoparticles with controlled size and zeta potential. **Polymer Engineering and Science**, [s. l.], v. 63, n. 3, p. 1011–1021, 2023.

BHUSHAN, Bharat *et al.* FTIR spectra, antioxidant capacity and degradation kinetics of maize anthocyanin extract under variable process conditions. **Applied Food Research**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 100282, 2023. Disponível em: Acesso em: 12 ago. 2023.

BONFIGLI, M. *et al.* Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 207, p. 56–72, 2017. Disponível em: Acesso em: 1 set. 2023.

BOONSONGRIT, Yaowalak; MUELLER, Bernd W.; MITREVEJ, Ampol. Characterization of drug–chitosan interaction by ¹H NMR, FTIR and isothermal titration calorimetry. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s. l.], v. 69, n. 1, p. 388–395, 2008. Disponível em: Acesso em: 11 ago. 2023.

BRAUCH, Johanna E *et al.* Studies into the Stability of 3-O-Glycosylated and 3,5-O-Diglycosylated Anthocyanins in Differently Purified Liquid and Dried Maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz) Preparations during Storage and Thermal Treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 63, n. 39, p. 8705–8714, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03471>.

CARRA, Jéssica Bassetto *et al.* Spray-drying of casein/pectin bioconjugate microcapsules containing grape (*Vitis labrusca*) by-product extract. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 368, p. 130817, 2022. Disponível em: Acesso em: 19 ago. 2023.

CHATTERJEE, Niladri Sekhar *et al.* Nanoencapsulation in low-molecular-weight chitosan improves in vivo antioxidant potential of black carrot anthocyanin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 101, n. 12, p. 5264–5271, 2021.

CHENGOLOVA, Zlatina; IVANOV, Yavor; GODJEVARGOVA, Tzonka. Comparison of Identification and Quantification of Polyphenolic Compounds in Skins and Seeds of Four Grape Varieties. **Molecules (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 28, n. 10, 2023.

CHOI, Inyoung *et al.* Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 218, p. 122–128, 2017. Disponível em: Acesso em: 25 abr. 2023.

COMARELLA, Carine Glauca *et al.* Ultrasound irradiation of grapes: effect on the anthocyanin profile of “Isabella” juice. **British Food Journal**, [s. l.], v. 124, n. 4, p. 1333–1349, 2022.

DA SILVA CROZATTI, Tamara Thaianie *et al.* Extraction, microencapsulation, and application of anthocyanins from juçara palm fruit (*Euterpe edulis* Mart.): enhancement of natural pigment. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 60, n. 1, p. 361–371, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05623-w>.

DE CARVALHO, Sabrina Matos *et al.* Optimization of α -tocopherol loaded solid lipid nanoparticles by central composite design. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 49, p. 278–285, 2013. Disponível em: Acesso em: 21 abr. 2023.

DENG, Siyuan *et al.* **Polymeric nanocapsules as nanotechnological alternative for drug delivery system: Current status, challenges and opportunities**. [S. l.]: MDPI AG, 2020.

DORONIO, Jocelyn P. *et al.* Nanoencapsulation of Anthocyanin Extract from Fermented Black Garlic (FBG) Based on Biocompatible Polymeric Materials. **Annales de Chimie: Science des Materiaux**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 37–43, 2022.

DOS SANTOS SILVA, Marcelo Edvan *et al.* Microencapsulated phenolic-rich extract from juice processing grape pomace (*Vitis labrusca*. Isabella Var): Effects on oxidative stability of raw and pre-cooked bovine burger. **Food Bioscience**, [s. l.], v. 50, p. 102212, 2022. Disponível em: Acesso em: 26 ago. 2023.

DUAN, Chuchu *et al.* In situ Raman characterization of the stability of blueberry anthocyanins in aqueous solutions under perturbations in temperature, UV, pH. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 431, p. 137155, 2024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814623017739>. Acesso em: 23 ago. 2023.

FONSECA, Jéssica de Matos *et al.* Hydroxypropyl methylcellulose-TiO₂ and gelatin-TiO₂ nanocomposite films: Physicochemical and structural properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 151, p. 944–956, 2020. Disponível em: Acesso em: 2 jul. 2023.

GAVIRIA, Yessica Alexandra Rodriguez *et al.* Nanostructured pH-Indicator Films Based on Cassava Starch, Laponite, and Jambolan (*Syzygium cumini*) Fruit Manufactured by Thermo-Compression. **Starch/Staerke**, [s. l.], v. 73, n. 5–6, 2021.

GHAREAGHAJLOU, Nazila; HALLAJ-NEZHADI, Somayeh; GHASEMPOUR, Zahra. Nano-liposomal system based on lyophilization of monophasic solution technique for encapsulating anthocyanin-rich extract from red cabbage. **Dyes and Pigments**, [s. l.], v. 202, p. 110263, 2022. Disponível em: Acesso em: 11 nov. 2023.

GIUSTI, M.Mónica; WROLSTAD, Ronald E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 00, n. 1, p. F1.2.1-F1.2.13, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>.

GIZIR, A. Murat; TURKER, Nuzhet; ARTUVAN, Erdem. Pressurized acidified water extraction of black carrot [*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.] anthocyanins. **European Food Research and Technology**, [s. l.], v. 226, n. 3, p. 363–370, 2008.

HASHEMINEJAD, Nayeresadat; KHODAIYAN, Faramarz; SAFARI, Mohammad. Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 275, p. 113–122, 2019. Disponível em: Acesso em: 11 ago. 2023.

HUANG, Wuyang *et al.* Improving Blueberry Anthocyanins' Stability Using a Ferritin Nanocarrier. **Molecules**, [s. l.], v. 28, n. 15, 2023.

IJOD, Giroon *et al.* **Thermal and nonthermal pretreatment methods for the extraction of anthocyanins: A review**. [S. l.]: John Wiley and Sons Inc, 2022.

JACOBS, Bruno *et al.* Evaluation of the total concentration and the bioaccessible fraction of metals in samples of grape skins of cultivars tannat and cabernet sauvignon by MIP OES. **Química Nova**, [s. l.], v. 44, n. 5, p. 547–552, 2021.

JANG, Youngbin; KOH, Eunmi. Characterisation and storage stability of aronia anthocyanins encapsulated with combinations of maltodextrin with carboxymethyl cellulose, gum Arabic, and xanthan gum. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 405, p. 135002, 2023. Disponível em: Acesso em: 11 nov. 2023.

JIANG, Tian *et al.* Degradation of anthocyanins and polymeric color formation during heat treatment of purple sweet potato extract at different pH. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 274, p. 460–470, 2019. Disponível em: Acesso em: 25 ago. 2023.

JOSÉ ALIAÑO GONZÁLEZ, María *et al.* A comparison study between ultrasound-assisted and enzyme-assisted extraction of anthocyanins from

blackcurrant (*Ribes nigrum* L.). **Food Chemistry: X**, [s. l.], v. 13, p. 100192, 2022. Disponível em: Acesso em: 2 set. 2023.

KAMER, Deniz Damla Altan *et al.* Development of gelatin/PVA based colorimetric films with a wide pH sensing range winery solid by-product (Vinasse) for monitor shrimp freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 220, p. 627–637, 2022. Disponível em: Acesso em: 20 jul. 2023.

KANG, Shaolei *et al.* Colorimetric film based on polyvinyl alcohol/okra mucilage polysaccharide incorporated with rose anthocyanins for shrimp freshness monitoring. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 229, p. 115402, 2020. Disponível em: Acesso em: 25 abr. 2023.

KOOP, Betina Luiza *et al.* Intelligent labels manufactured by thermo-compression using starch and natural biohybrid based. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 220, p. 964–972, 2022. Disponível em: Acesso em: 2 jul. 2023.

KUCK, Luiza Siede; WESOLOWSKI, Júlia Lerina; NOREÑA, Caciano Pelayo Zapata. Effect of temperature and relative humidity on stability following simulated gastro-intestinal digestion of microcapsules of Bordo grape skin phenolic extract produced with different carrier agents. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 230, p. 257–264, 2017. Disponível em: Acesso em: 11 nov. 2023.

LI, Fengfeng *et al.* Simultaneous optimization of the acidified water extraction for total anthocyanin content, total phenolic content, and antioxidant activity of blue honeysuckle berries (*Lonicera caerulea* L.) using response surface methodology. **Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 7, n. 9, p. 2968–2976, 2019.

LIMA, Álvaro Silva *et al.* Extraction and consecutive purification of anthocyanins from grape pomace using ionic liquid solutions. **Fluid Phase Equilibria**, [s. l.], v. 451, p. 68–78, 2017.

LIU, Ranran *et al.* Coordinated encapsulation by β -cyclodextrin and chitosan derivatives improves the stability of anthocyanins. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 242, p. 125060, 2023. Disponível em: Acesso em: 11 nov. 2023.

LIU, He *et al.* **Current advances in anthocyanins: structure, bioactivity and human health.** [S. l.: s. n.], 2021. Disponível em: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&AuthType=ip,uid&db=ffh&AN=2>

022-08-Ja10606&lang=pt-br&site=eds-live&scope=site&authtype=ip,uid&group=main&profile=eds.

LIU, Liming *et al.* Intelligent packaging films incorporated with anthocyanins-loaded ovalbumin-carboxymethyl cellulose nanocomplexes for food freshness monitoring. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 387, p. 132908, 2022a. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814622008706>.

LIU, Liming *et al.* Intelligent packaging films incorporated with anthocyanins-loaded ovalbumin-carboxymethyl cellulose nanocomplexes for food freshness monitoring. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 387, 2022b.

MA, Qianyun *et al.* Intelligent poly (vinyl alcohol)-chitosan nanoparticles-mulberry extracts films capable of monitoring pH variations. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 108, p. 576–584, 2018. Disponível em: Acesso em: 11 ago. 2023.

MAQSOU DLOU, Atefe *et al.* Improving the efficiency of natural antioxidant compounds via different nanocarriers. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 278, p. 102122, 2020. Disponível em: Acesso em: 2 set. 2023.

MARTINOVIĆ, Josipa *et al.* In Vitro Bioaccessibility Assessment of Phenolic Compounds from Encapsulated Grape Pomace Extract by Ionic Gelation. **Molecules**, [s. l.], v. 28, n. 13, 2023.

MERZ, Barbara *et al.* A novel colorimetric indicator film based on chitosan, polyvinyl alcohol and anthocyanins from jambolan (*Syzygium cumini*) fruit for monitoring shrimp freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 153, p. 625–632, 2020. Disponível em: Acesso em: 2 jul. 2023.

MOLINA, Adriana K. *et al.* **Bioactive Natural Pigments' Extraction, Isolation, and Stability in Food Applications**. [S. l.]: MDPI, 2023.

MUCHTAROMAH, Bayyinatul *et al.* Chitosan-tripolyphosphate nanoparticles of Mango Ginger (*Curcuma mangga*) Extract: Phytochemical screening, formulation, characterization, and antioxidant activity. **Pharmacognosy Journal**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 1065–1071, 2021.

NGUYEN, T. Thu *et al.* Microencapsulation of *Hibiscus sabdariffa* L. Calyx Anthocyanins with Yeast Hulls. **Plant Foods for Human Nutrition**, [s. l.], v. 77, n. 1, p. 83–89, 2022.

NIAMNUY, Chalida *et al.* Kinetics of astaxanthin degradation and color changes of dried shrimp during storage. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 87, n. 4, p. 591–600, 2008. Disponível em: Acesso em: 25 dez. 2023.

NOGUEIRA, Gislaine Ferreira; FAKHOURI, Farayde Matta; DE OLIVEIRA, Rafael Augustus. Effect of incorporation of blackberry particles on the physicochemical properties of edible films of arrowroot starch. **Drying Technology**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 448–457, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07373937.2018.1441153>.

ONGKOWIJOYO, Paulina; LUNA-VITAL, Diego A.; GONZALEZ DE MEJIA, Elvira. Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 250, p. 113–126, 2018. Disponível em: Acesso em: 1 set. 2023.

OUDIH, Samah Benamer *et al.* Chitosan nanoparticles with controlled size and zeta potential. **Polymer Engineering and Science**, [s. l.], v. 63, p. 1011+, 2023. Disponível em: <https://link.gale.com/apps/doc/A744352204/AONE?u=capes&sid=ebsco&xid=f00c2f23>.

PEREIRA, Valdir Aniceto; DE ARRUDA, Iza Natália Queiroz; STEFANI, Ricardo. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from Brassica oleraceae (Red Cabbage) as Time–Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 43, p. 180–188, 2015. Disponível em: Acesso em: 11 ago. 2023.

PEREIRA SOUZA, Ana Cardinale; DEYSE GURAK, Poliana; DAMASCENO FERREIRA MARCZAK, Ligia. Maltodextrin, pectin and soy protein isolate as carrier agents in the encapsulation of anthocyanins-rich extract from jaboticaba pomace. **Food and Bioproducts Processing**, [s. l.], v. 102, p. 186–194, 2017.

QIN, Yan *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**, [s. l.], v. 134, p. 80–90, 2019. Disponível em: Acesso em: 11 ago. 2023.

QIN, Yan *et al.* Smart packaging films based on starch/polyvinyl alcohol and Lycium ruthenicum anthocyanins-loaded nano-complexes: Functionality, stability and application. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 119, p. 106850, 2021. Disponível em: Acesso em: 19 jul. 2023.

RODA-SERRAT, Maria Cinta *et al.* Optimization of the Recovery of Anthocyanins from Chokeberry Juice Pomace by Homogenization in Acidified Water. **Waste and Biomass Valorization**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 1815–1827, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01127-w>.

RODRIGUEZ-AMAYA, Delia B. Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. **Food Research International**, [s. l.], v. 124, p. 200–205, 2019.

RYU, Dayeon; KOH, Eunmi. Application of response surface methodology to acidified water extraction of black soybeans for improving anthocyanin content, total phenols content and antioxidant activity. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 261, p. 260–266, 2018. Disponível em: Acesso em: 1 set. 2023.

RYU, Dayeon; PARK, Hyun-Mee; KOH, Eunmi. Effects of Solid-Liquid Ratio, Time, and Temperature on Water Extraction of Anthocyanin from Campbell Early Grape. **Food Analytical Methods**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 637–646, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01688-0>.

SAHANI, Shalini; SHARMA, Yogesh Chandra. **Advancements in applications of nanotechnology in global food industry**. [S. l.]: Elsevier Ltd, 2021.

SAKULNARMRAT, Karunrat; KONCZAK, Izabela. Encapsulation of *Melodorum fruticosum* Lour. anthocyanin-rich extract and its incorporation into model food. **LWT**, [s. l.], v. 153, 2022.

SANTHALAKSHMY, Swaminathan *et al.* Effect of inlet temperature on physicochemical properties of spray-dried jamun fruit juice powder. **Powder Technology**, [s. l.], v. 274, p. 37–43, 2015.

SHAHID, Nariman *et al.* Synthesis and evaluation of chitosan based controlled release nanoparticles for the delivery of ticagrelor. **Designed Monomers and Polymers**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 55–63, 2022.

SHARIF, Niloufar; KHOSHNOUDI-NIA, Sara; JAFARI, Seid Mahdi. Nano/microencapsulation of anthocyanins; a systematic review and meta-analysis. **Food Research International**, [s. l.], v. 132, p. 109077, 2020. Disponível em: Acesso em: 19 ago. 2023.

SHAVISI, Nassim; SHAHBAZI, Yasser. Chitosan-gum Arabic nanofiber mats encapsulated with pH-sensitive *Rosa damascena* anthocyanins for freshness monitoring of chicken fillets. **Food Packaging and Shelf Life**, [s. l.], v. 32, p. 100827, 2022. Disponível em: Acesso em: 7 nov. 2023.

SHOUEIR, Kamel R. *et al.* **Chitosan based-nanoparticles and nanocapsules: Overview, physicochemical features, applications of a nanofibrous scaffold, and bioprinting.** [S. l.]: Elsevier B.V., 2021.

SILVA, Vitor Gonçalves da *et al.* Anthocyanin-Rich Jamun (*Syzygium cumini* L.) Pulp Transported on Protein-Coated Ionic Gelation Microparticles of Calcium Alginate: Production and Morphological Characteristics. **Polysaccharides**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 33–50, 2023.

SINGH, Chandra Shekhar; PASWAN, Vinod Kumar; RAI, Dinesh Chandra. Process optimization of spray dried Jamun (*Syzygium cumini* L.) pulp powder. **LWT**, [s. l.], v. 109, p. 1–6, 2019.

SOLEYMANFALLAH, Sepideh *et al.* Preparation, physical properties, and evaluation of antioxidant capacity of aqueous grape extract loaded in chitosan-TPP nanoparticles. **Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 3272–3281, 2022.

STAFUSSA, Ana Paula *et al.* Biosorption of anthocyanins from grape pomace extracts by waste yeast: kinetic and isotherm studies. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 169, p. 53–60, 2016. Disponível em: Acesso em: 2 jul. 2023.

STOLL, Liana *et al.* Microencapsulation of Anthocyanins with Different Wall Materials and Its Application in Active Biodegradable Films. **Food and Bioprocess Technology**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 172–181, 2016.

SVANBERG, Lina *et al.* Effect of anthocyanins on lipid oxidation and microbial spoilage in value-added emulsions with bilberry seed oil, anthocyanins and cold set whey protein hydrogels. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 272, p. 273–278, 2019. Disponível em: Acesso em: 11 nov. 2023.

TAGHAVI, Toktam; PATEL, Hiral; RAFIE, Reza. Anthocyanin Extraction Method and Sample Preparation Affect Anthocyanin Yield of Strawberries. **Natural Product Communications**, [s. l.], v. 17, n. 5, 2022.

TANG, Rui; HE, Yong; FAN, Kai. Recent advances in stability improvement of anthocyanins by efficient methods and its application in food intelligent packaging: A review. **Food Bioscience**, [s. l.], v. 56, p. 103164, 2023. Disponível em: Acesso em: 7 nov. 2023.

TARONE, Adriana Gadioli; CAZARIN, Cinthia Baú Betim; MAROSTICA JUNIOR, Mario Roberto. **Anthocyanins: New techniques and challenges in microencapsulation.** [S. l.]: Elsevier Ltd, 2020.

TEKIN, İdil; ÖZCAN, Kardelen; ERSUS, Seda. Optimization of ionic gelling encapsulation of red beet (*Beta vulgaris* L.) juice concentrate and stability of betalains. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 51, p. 102774, 2023. Disponível em: Acesso em: 7 set. 2023.

TENA, Noelia; ASUERO, Agustin G. Up-To-Date Analysis of the Extraction Methods for Anthocyanins: Principles of the Techniques, Optimization, Technical Progress, and Industrial Application. **Antioxidants**, Basel, v. 11, n. 2, p. 286, 2022. Disponível em: <https://www.proquest.com/scholarly-journals/up-date-analysis-extraction-methods-anthocyanins/docview/2632196620/se-2?accountid=29068>.

TUFFI, Larissa Christine *et al.* Grape residue flour as an antioxidant and fiber source in beef meatballs. **British Food Journal**, [s. l.], v. 123, n. 8, p. 2831–2843, 2021.

TYAGI, Sakshi; MANI, Shalini. Process parameter optimization of vitamin D3 loaded Chitosan-TPP nanoparticles. **Materials Today: Proceedings**, [s. l.], v. 76, p. 453–458, 2023. Disponível em: Acesso em: 25 abr. 2023.

VALENCIA, Germán Ayala *et al.* Morphological and physical properties of nano-biocomposite films based on collagen loaded with laponite®. **Food Packaging and Shelf Life**, [s. l.], v. 19, p. 24–30, 2019. Disponível em: Acesso em: 2 jul. 2023.

VÉLEZ, M. Daniela *et al.* Antioxidant capacity and cytotoxic effect of an optimized extract of isabella grape (*Vitis labrusca*) on breast cancer cells. **Heliyon**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. e16540, 2023. Disponível em: Acesso em: 19 ago. 2023.

VODYASHKIN, Andrey A. *et al.* **Biopolymeric Nanoparticles–Multifunctional Materials of the Future**. [S. l.]: MDPI, 2022.

WANG, Shuo *et al.* Packaging films formulated with gelatin and anthocyanins nanocomplexes: Physical properties, antioxidant activity and its application for olive oil protection. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 96, p. 617–624, 2019.

XIE, Chenjing *et al.* Olive pectin-chitosan nanocomplexes for improving stability and bioavailability of blueberry anthocyanins. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 417, p. 135798, 2023. Disponível em: Acesso em: 11 nov. 2023.

YANG, Liping *et al.* Anthocyanins regulate serum adiponin and visfatin in patients with prediabetes or newly diagnosed diabetes: a randomized controlled trial. **European Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 60, n. 4, p. 1935–1944, 2021.

YANG, Peiqing *et al.* New insights into the pH dependence of anthocyanin-protein interactions by a case study of cyanidin-3-O-glucoside and bovine serum

albumin. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 140, p. 108649, 2023. Disponível em: Acesso em: 23 ago. 2023.

YANG, Yaqi *et al.* Preparation of chitosan nanospheres and optimization of process parameters by response surface method. **Polymer Engineering and Science**, [s. l.], v. 62, n. 1, p. 201–209, 2022.

YOU, Shuhan *et al.* Development of highly stable color indicator films based on κ-carrageenan, silver nanoparticle and red grape skin anthocyanin for marine fish freshness assessment. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 216, p. 655–669, 2022a. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813022014209>. Acesso em: 21 abr. 2023.

YOU, Shuhan *et al.* Development of highly stable color indicator films based on κ-carrageenan, silver nanoparticle and red grape skin anthocyanin for marine fish freshness assessment. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 216, p. 655–669, 2022b. Disponível em: Acesso em: 26 dez. 2023.

ZHANG, Junjun *et al.* High-Stability Bi-Layer Films Incorporated with Liposomes @Anthocyanin/Carrageenan/Agar for Shrimp Freshness Monitoring. **Foods**, [s. l.], v. 12, n. 4, 2023.

ZHANG, Xinyue *et al.* Intelligent colorimetric film incorporated with anthocyanins-loaded ovalbumin-propylene glycol alginate nanocomplexes as a stable pH indicator of monitoring pork freshness. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 368, 2022.

ZHANG, Kailong *et al.* Novel pH-sensitive films based on starch/polyvinyl alcohol and food anthocyanins as a visual indicator of shrimp deterioration. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 145, p. 768–776, 2020. Disponível em: Acesso em: 20 jul. 2023.

ZHENG, Luman *et al.* Intelligent starch/chitosan-based film incorporated by anthocyanin-encapsulated amylopectin nanoparticles with high stability for food freshness monitoring. **Food Control**, [s. l.], v. 151, p. 109798, 2023. Disponível em: Acesso em: 11 nov. 2023.

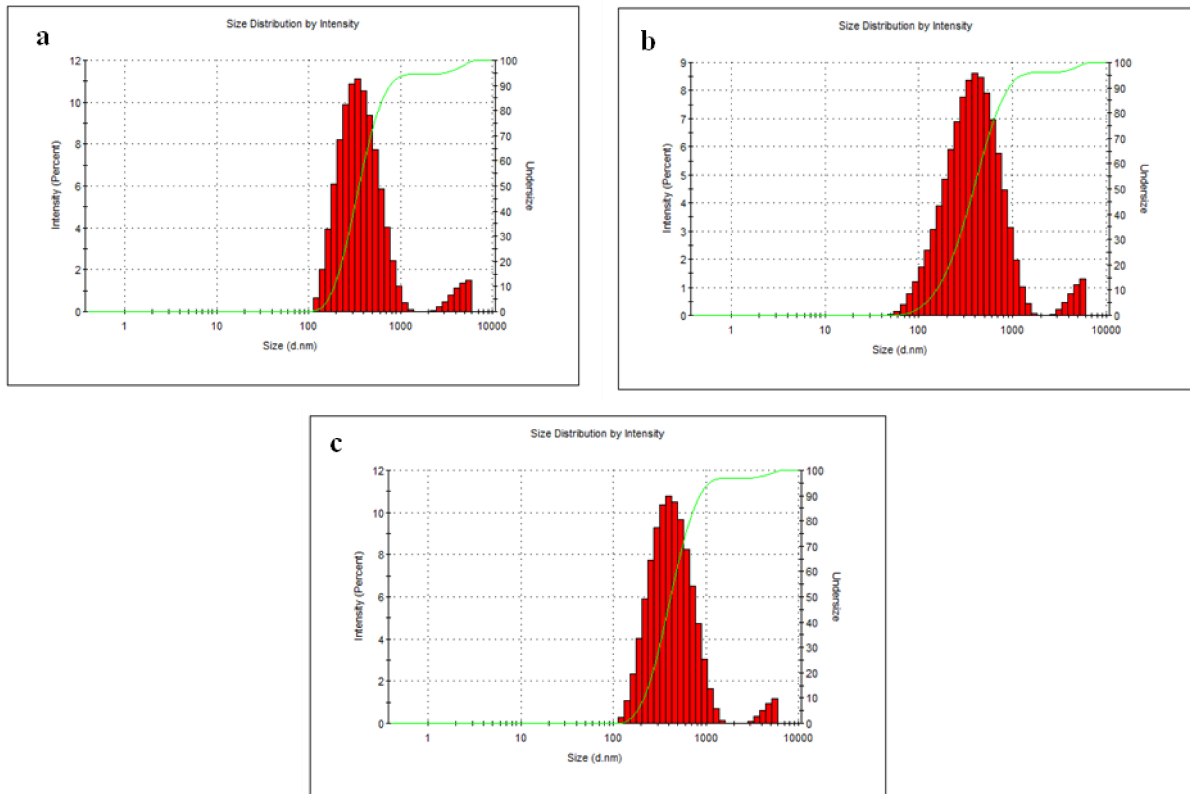
ZHU, Bifen *et al.* An intelligent pH indicator film based on cassava starch/polyvinyl alcohol incorporating anthocyanin extracts for monitoring pork freshness. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 45, n. 10, 2021.

ZIELIŃSKA, Aleksandra *et al.* Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 16, p. 3731, 2020. Disponível em: <https://www.proquest.com/scholarly-journals/polymeric-nanoparticles-production/docview/2435633638/se-2?accountid=29068>.

ZIELINSKA, Aleksandra *et al.* **Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology**. [S. l.]: MDPI AG, 2020.

APÊNDICE A – Testes preliminares e distribuição de tamanho das ACN-NPs

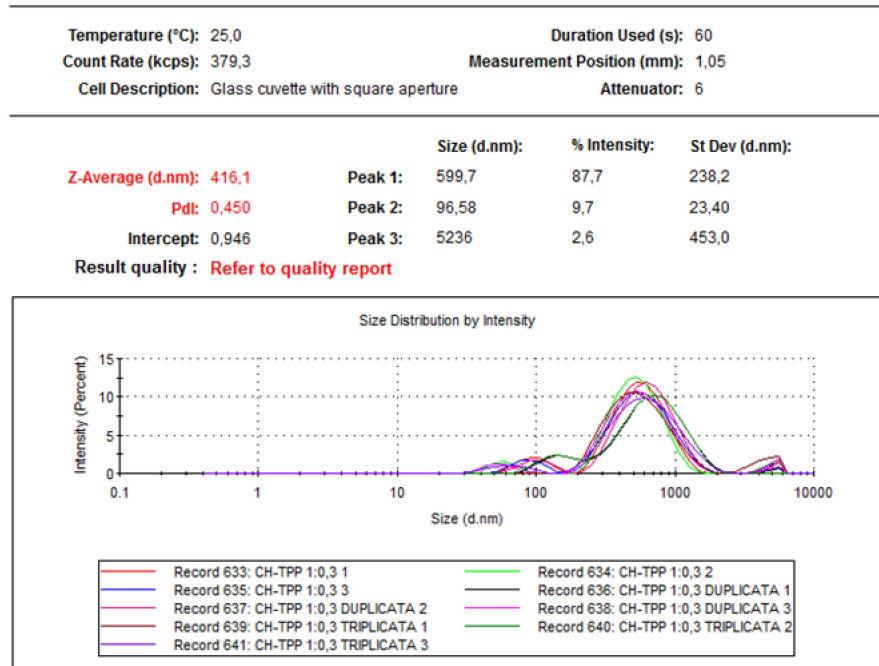
Figura S 1 Distribuição de tamanhos de nanopartículas de quitosana-extrato de uva Isabella usando um analisador de tamanho de partículas (a) proporção de peso CS:TPP 1:0.5 (b) proporção de peso CS:TPP 1:0.6 proporção de peso CS:TPP 1:0.7



A Figura S2 mostra os resultados da distribuição de tamanhos de partículas de testes preliminares, realizados em triplicata da relação de peso CS:TPP 1:0,3 e 1:1. Conforme visto nas imagens (Figura S2a e S2b), a qualidade da amostra não era boa ($PDI > 4,0$), possivelmente devido à agregação das partículas, o que sugere um sistema instável. Por esse motivo, essas formulações não foram selecionadas para o presente estudo.

Figura S 2 Distribuição de tamanhos de nanopartículas de quitosana-extrato de uva Isabella usando um analisador de tamanho de partículas (a) proporção de peso CS:TPP 1:0.3 (b) proporção de peso CS:TPP 1:1

a



b

