

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA**  
**AGROALIMENTAR**

**EMBALAGEM INTELIGENTE ADICIONADA DE  
BETALAÍNAS EXTRAÍDAS DE BETERRABA (*Beta vulgaris*  
*L.*) COMO INDICADOR DE FRESCOR EM PEIXE**

**Patrícia Lima Araújo**

**Bacharel em Nutrição**

**Bananeiras, PB**

**2024**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA  
AGROALIMENTAR

EMBALAGEM INTELIGENTE ADICIONADA DE BETALAÍNAS  
EXTRAÍDAS DE BETERRABA (*Beta vulgaris L.*) COMO  
INDICADOR DE FRESCOR EM PEIXE

Dissertação apresentada ao centro de  
Ciências Humanas Sociais e Agrárias  
Campus de Bananeiras da como parte  
das exigências para obtenção do título  
de Mestre em Tecnologia Agroalimentar.

Patrícia Lima Araújo

Orientador: Prof. Dr. Bruno Raniere

Lins de Albuquerque Meireles

Coorientadores: Dra. Cristiani Viegas

Brandão Grisi

Prof. Dr. Sthelio Braga da Fonseca

**Bananeiras, PB**

**2024**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

A663e Araújo, Patrícia Lima.

Embalagem inteligente adicionada de betalaínas extraídas de beterraba (*Beta vulgaris* L.) como indicador de frescor em peixe / Patrícia Lima Araújo. - Bananeiras, 2024.

73 f. : il.

Orientação: Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles.

Coorientação: Cristiani Viegas Brandão Grisi, Sthelio Braga da Fonseca.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCHSA.

1. *Oreochromis niloticus*. 2. Sustentabilidade. 3. Indicador de frescor. I. Meireles, Bruno Raniere Lins de Albuquerque. II. Grisi, Cristiani Viegas Brandão. III. Fonseca, Sthelio Braga da. IV. Título.

UFPB/BC

CDU 63(043.3)

## PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

**TÍTULO:** Embalagem inteligente adicionada de betalaínas extraídas de beterraba (*Beta vulgaris L.*) como indicador de frescor em peixe.

**AUTOR:** Patrícia Lima Araújo

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles


### JULGAMENTO

**CONCEITO:** APROVADO


**EXAMINADORES:**



Prof. Dr. Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles  
Orientador  
Universidade Federal da Paraíba/UFPB

Documento assinado digitalmente  
 CAMILA SAMPAIO MANGOLIM  
Data: 16/03/2024 18:58:12-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Camila Sampaio Mangolim  
Examinadora  
Universidade Federal da Paraíba/UFPB

Documento assinado digitalmente  
 VALQUIRIA CARDOSO DA SILVA FERREIRA  
Data: 18/03/2024 05:52:08-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Valquíria Cardos Silva Ferreira  
Examinadora  
Universidade Federal da Paraíba/UFPB

Bananeiras, 15 de março de 2024

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Eu, Patrícia Lima Araújo, brasileira, solteira, natural da cidade de Campina Grande/PB, e nascida no dia 21 de março de 1997. Me graduei em Nutrição no ano de 2022 pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) no Centro de Educação e Saúde (CES), campus Cuité/PB. Durante a graduação tive experiência com diversos projetos, iniciando no ano de 2018 com o programa de Iniciação à docência (monitoria), passando este ano inteiro como monitora no componente curricular de Química de Biomoléculas para os cursos de Nutrição e Enfermagem. Ainda em 2018, participei do fluxo de extensão (FLUEX) intitulado “Mel no semiárido: aspectos do meio ambiente e sustentabilidade no desenvolvimento rural”. Do primeiro semestre do ano de 2019 até o primeiro semestre de 2021, fui integrante do Projeto de Extensão e Tutoria (PET) Saúde Interprofissionalidade Cuité – Nova Floresta/PB. Ainda no segundo semestre de 2019 até o segundo semestre de 2021 também fui integrante do grupo de Pesquisa em Ciência e Tecnologia de Alimentos (GPCTA). Ao finalizar as atividades no PET no ano de 2021, fui aprovada como aluna de iniciação científica (PIBIC) utilizando a minha pesquisa para escrita do meu TCC intitulado: “Desenvolvimento e Avaliação Físico-química de *Nuggets* de Frango Adicionado do Extrato da Folha da Aroeira”, como fruto desta, também foi gerada uma patente. Finalizei a graduação em abril de 2022 com os estágios obrigatórios e extracurricular no Setor de Nutrição e Dietética e Nutrição Clínica Hospitalar no Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC/EBSERH/UFCG). Em agosto de 2022 iniciei o curso de Mestrado em Tecnologia Agroalimentar pela Universidade Federal da Paraíba, no Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias, no qual trabalho atualmente com Tecnologia de Embalagem com ênfase no desenvolvimento de Embalagens Biodegradáveis, inteligente e ativa para aplicação em produtos cárneos.

*“Nada é pequeno se feito com amor.”*

Santa Teresinha do Menino Jesus

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente, a Deus e a Nossa Senhora, por terem me dado força e coragem, por me abençoar e, iluminar o meu caminho, para que eu conseguisse vencer todas as lutas e chegar até aqui. Que a minha vontade e a de Deus coincidam, mas se não for possível, que a dele prevaleça como tem sido até aqui.

A meu Painho Robson e a minha Mainha Neusa, que sempre estiveram ao meu lado, que não mediram esforços para me ajudar, e jamais deixaram de acreditar em mim. Que são responsáveis pela pessoa que me tornei, e que viveram essa fase junto a mim, eles sabem mais do que ninguém que esse não era um sonho que eu sonhava, mas um sonho que Deus sonhou para mim. O meu amor por vocês é incondicional.

Aos meus irmãos (Eduardo e Priscila), cunhados (Aluska e Rafael) e sobrinhos (Marcella e Henrique) que procuraram sempre me apoiar e saber como eu estava e, se precisava de algo, por apoiarem e compreenderem minha ausência algumas vezes, vocês são a presença e o cheiro de Deus em minha vida.

A Vozinha Augusta e família, Dedéa, Tio Daniel, Lara, Lucas, Tio Fabinho, Tia Momo, Anna Clara, Henrique, Mariana, Patrícia Hilbert e família, que me apoiaram bastante, apesar de toda distância física, mas, que sempre fizeram muita questão de serem presentes em amor, carinho e atenção. Vocês não são a família de sangue, mas são a família que eu escolhi, bênçãos sobre bênçãos sejam derramadas em suas vidas.

Ao meu orientador, Professor Bruno Meireles, por me apoiar, incentivar e me abrir novas possibilidades. Uma pessoa de muita luz, foi um privilégio ser orientada pelo senhor. Gratidão, por todo cuidado, apoio, paciência e compreensão, gratidão por sua disponibilidade, sei como sua vida é corrida. Gratidão por sua confiança e por acreditar em mim.

A minha coorientadora Cristiani Grisi, que além de todas as orientações, é uma grande amiga que ganhei. Gratidão por todo incentivo, por levantar minha energia em momentos que ela não estava tão alta, por acreditar que tudo ia dar

certo enquanto eu achava que não. Gratidão por mesmo em momentos seus de dificuldade você não esquecer de mim. Que Deus continue a lhe abençoar, grandes coisas ainda estão por vir. Agradeço também ao meu coorientador, Professor Sthélio Braga, por todos as contribuições e tempo dedicado ao nosso trabalho.

À Valquíria Cardoso e a Professora Camila Mangolim, que tão gentilmente aceitaram o convite para compor a banca avaliadora, a participar e colaborar com este trabalho de dissertação, desde a bancada até as contribuições no trabalho escrito. Gratidão por tudo.

Aos meus amigos e pessoas que pude conhecer e conviver em Bananeiras/PB, estes que de algum modo me fizeram crescer. Em especial Michele Santos, Alice Soares, Elen Alves e Luana Danieli. Gratidão pela cumplicidade, pelos momentos de alegrias, dificuldades e laboratório, o PPGTA é pequeno para vocês.

Agradeço a todos os professores do PPGTA e a José Evangelista, técnico do Laboratório juntamente com Valquíria, que tive o prazer de conviver e aprender durante o mestrado, com certeza estes contribuíram para o meu crescimento.

Agradeço também a todos que fazem parte do PPGTA/LACE que trabalham para manter as estruturas do programa, para que estejam sempre em condições de receber os alunos. Bem como, gratidão a UFPB e aos órgãos de fomento (FAPESQ e CAPES), por fornecer financiamento, estrutura, instalações e equipamentos para que eu conseguisse realizar os meus estudos, como a pesquisa em questão.

Finalizo, agradecendo a todos que direta ou indiretamente me ajudaram na construção desse trabalho, vocês contribuíram de algum modo para o meu crescimento e para que eu pudesse chegar até aqui. Grandes coisas ainda estão por vir.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	18
2.1 EMBALAGEM.....	18
<b>2.1.1 Embalagem Inteligente</b> .....	18
2.1.1.2 Embalagens indicadoras de frescor e pH.....	19
2.2 BETERRABA.....	20
<b>2.2.1 Betalínas</b> .....	21
2.3 QUALIDADE DO PEIXE.....	22
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO.....	24
3.2 OBTENÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS.....	26
3.3 ELABORAÇÃO DOS EXTRATOS.....	26
3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS DE BETERRABA .....	28
<b>3.4.1 Quantificação do teor de betalínas</b> .....	28
<b>3.4.2 Teor de Compostos Fenólicos Totais</b> .....	29
<b>3.4.3 Atividade antioxidante</b> .....	29
<b>3.4.4 Colorimetria</b> .....	29
3.5 PREPARO DAS EMBALAGENS.....	30
3.6 CARACTERIZAÇÃO DAS EMBALAGENS.....	31
<b>3.6.1 Espessura e Propriedades Mecânicas</b> .....	31
<b>3.6.2 Colorimetria das embalagens</b> .....	31
<b>3.6.3 Permeabilidade ao Oxigênio</b> .....	32
<b>3.6.4 Análise Termogravimétrica</b> .....	32
<b>3.6.5 Espectroscopia Infravermelha com Transformada de Fourier (FTIR)</b> .....	32
<b>3.6.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</b> .....	33
3.7 ANÁLISE DOS FILÉS DE TILÁPIA E APLICAÇÃO DAS EMBALAGENS INTELIGENTES.....	33
<b>3.7.1 Avaliação do filé de tilápia</b> .....	33
<b>3.7.2 Aplicação das embalagens no peixe</b> .....	33
<b>3.7.3 pH</b> .....	34
<b>3.7.4 Oxidação lipídica (número de TBARs)</b> .....	34
<b>3.7.5 Determinação de nitrogênio de bases voláteis totais (NBVT)</b> .....	35
<b>3.7.6 Contagem Total de Bactérias</b> .....	36
<b>3.7.5 Perfil eletroforético por SDS-PAGE</b> .....	36
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	37
<b>4.1 Determinação do extrato de maior potencial para aplicação nas embalagens</b> .....	37
<b>4.2 Caracterização do extrato de beterraba selecionado</b> .....	37
<b>4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS EMBALAGENS</b> .....	39

<b>4.3.1 Espessura, propriedades mecânicas e permeabilidade ao oxigênio.....</b>	<b>39</b>
<b>4.3.2 Análise termogravimétrica.....</b>	<b>41</b>
<b>4.3.3 Espectroscopia Infravermelha com Transformada de Fourier (FTIR).....</b>	<b>44</b>
<b>4.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</b>	<b>47</b>
<b>4.4 APLICAÇÃO DAS EMBALAGENS INTELIGENTES EM FILÉ DE TILÁPIA.....</b>	<b>49</b>
<b>4.4.1 Avaliação do filé de tilápia.....</b>	<b>49</b>
<b>4.4.2 Análise instrumental de cor das embalagens no tempo (0, 1, 2, 3 e 4 dias) .....</b>	<b>50</b>
<b>4.4.3 Análise de pH e oxidação lipídica no tempo (0, 1, 2, 3 e 4 dias).....</b>	<b>54</b>
<b>4.4.4 Perfil eletroforético por SDS-PAGE .....</b>	<b>57</b>
<b>4.4.5 Análise de NBVT e contagem total de bactérias ao longo do tempo (0, 1, 2, 3 e 4 dias) .....</b>	<b>58</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>61</b>
<b>6 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>62</b>

ARAÚJO, P. L. **Embalagem Inteligente adicionada de betalaínas extraídas de beterraba (*Beta vulgaris* L.) como indicador de frescor em peixe.** 2024. 72 f. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Tecnologia Agroalimentar – Universidade Federal da Paraíba.

## RESUMO

O peixe é um alimento importante na alimentação humana, devido ao seu perfil em ácidos graxos essenciais poli-insaturados. No entanto, esta característica o faz bastante susceptível às alterações sensoriais e físico-químicas indesejáveis, ocasionadas pela oxidação lipídica. Estes fatores limitantes, aliados ao alto grau de exigência do mercado consumidor, requerem o desenvolvimento de mecanismos para monitoramento da qualidade para esta matéria prima, como as embalagens inteligentes. Assim, objetivou-se elaborar uma embalagem inteligente adicionada de betalaína extraídas de beterraba (*Beta vulgaris* L.) como indicador de frescor de peixe e avaliação das mudanças colorimétricas da embalagem e parâmetros de qualidade do filé de tilápia embalado. Além disto, foi realizada a caracterização do extrato e avaliada as características térmicas, mecânica, morfológicas e colorimétricas da embalagem. Foram avaliados três tratamentos: C (controle), T2,5% (adição de 2,5% de extrato) e T5,0% (adição de 5,0% de extrato). O extrato de beterraba apresentou conteúdo significativo de betalaínas (644,85 mg/L), compostos fenólicos totais (540,60 mg EAG/100g), atividade antioxidante por DPPH (0,95  $\mu\text{mol ETrolox/mL}$ ), FRAP (3,62  $\mu\text{mol ETrolox/mL}$ ) e ABTS (2,92  $\mu\text{mol ETrolox/mL}$ ), além de parâmetros de cor desejáveis. As características físico-químicas, pH, bases voláteis (NBVT) e oxidação lipídica (TBA) da tilápia apresentaram em concordância com as normas exigidas pela legislação brasileira vigente para peixes e pescados. As imagens da microscopia eletrônica de varredura dos tratamentos C e T2,5% em sua maioria apresentaram superfície e seção transversal homogêneas, sem a presença de ranhuras ou de qualquer outro espaço vazio. As embalagens foram aplicadas por *headspace* no filé de tilápia e analisados no decorrer de quatro dias sob temperatura ambiente, apresentando alterações de coloração nas embalagens, com diminuição dos valores da cor vermelha ( $a^*$ ) e consequente aumento da cor amarela ( $b^*$ ). Os valores de pH, da contagem total de bactérias e de NBVT foram elevados no último dia de monitoramento, porém, os valores de TBA não tiveram alterações significativas com valor máximo de 0,4 mg MDA/Kg. Portanto, a aplicação de embalagem inteligente adicionada do extrato de beterraba em filé de peixe foi eficiente para indicar a qualidade do peixe através de modificações colorimétricas das embalagens, bem como aumentar a estabilidade frente aos parâmetros de NBVT e contagem total de bactérias.

**Palavras-chave:** *Oreochromis niloticus*; Sustentabilidade; indicador de frescor

## ABSTRACT

Fish is an important food in the human diet, due to its profile in essential polyunsaturated fatty acids. However, this characteristic makes it very susceptible to undesirable sensory and physicochemical changes caused by lipid oxidation. These limiting factors, combined with the high level of demand from the consumer market, require the development of mechanisms to ensure greater stability and quality monitoring for this raw material, such as intelligent packaging. Thus, the objective was to develop a smart packaging added with beet extract (*Beta vulgaris* L.) by headspace in the tilapia fillet, and evaluate the colorimetric changes of the film and quality parameters of the tilapia. In addition, the extract was characterized and the thermal, mechanical, morphological and colorimetric characteristics of the packaging were evaluated. Three treatments were evaluated: C (control), T2.5% (addition of 2.5% extract) and T5.0% (addition of 5.0% extract). Beetroot extract showed significant content of betalains (644.85 mg/L), total phenolic compounds (540.60 mg EAG/100g), antioxidant activity by DPPH (0.95  $\mu\text{mol ETrolox/mL}$ ), FRAP (3.62  $\mu\text{mol ETrolox/mL}$ ) and ABTS (2.92  $\mu\text{mol ETrolox/mL}$ ), in addition to desirable color parameters that are perceptible to the human eye. The physicochemical characteristics, pH, volatile bases (NBVT) and lipid oxidation (TBA) of tilapia were in accordance with the standards required by current Brazilian legislation for fish and fish. The scanning electron microscopy images of the C and T2.5% treatments mostly showed a homogeneous surface and cross-section, without the presence of grooves or any other empty space. The films were applied by headspace to the tilapia fillet and analyzed over the course of four days at room temperature, showing color changes in the packaging, with a decrease in red color values ( $a^*$ ) and a consequent increase in yellow color ( $b^*$ ). The pH, total bacterial count and NBVT values were high on the last day of monitoring, however, the TBA values had no significant changes with a maximum value of 0.4 mg MDA/Kg. Therefore, the application of intelligent headspace packaging added with beet extract (*Beta vulgaris* L.) to tilapia fillet was efficient in indicating the quality of the fish through colorimetric modifications of the films, as well as increasing stability against NBVT and total bacteria count.

**Key words:** *Oreochromis niloticus*; Sustainability; freshness

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 - Fluxograma das etapas de execução experimental.....	25
Figura 2 - Beterraba ( <i>Beta vulgaris L.</i> ) .....	26
Figura 3 - Fluxograma do processamento para obtenção do extrato de beterraba.....	27
Figura 4 - Extrato de Beterraba.....	28
Figura 5 - Fluxograma da elaboração das embalagens indicadoras adicionados do extrato de beterraba.....	31
Figura 7 - Aplicação das embalagens indicadores por headspace em filé de tilápia.....	34
Figura 9 - Termogramas dos materiais utilizados na formulação das embalagens.....	41
Figura 10 - Termogramas das embalagens elaboradas.....	42
Figura 11 - Espectros do FTIR dos materiais utilizados nas formulações das embalagens .....	45
Figura 12 - Espectros do FTIR das embalagens, tratamento controle, T2,5% e T5,0%.....	46
Figura 13 - Micrografias MEV da superfície e da seção transversal das embalagens.....	48
Figura 14 - Análise instrumental de cor ao longo do tempo (dias).....	51
Figura 15 – Acompanhamento de cor das embalagens no tempo (0, 1, 2, 3 e 4 dias) .....	53
Figura 16 - Análises de pH e oxidação lipídica ao longo do tempo (dias).....	55
Figura 17 - Perfil eletroforético do filé de tilápia no tempo 0 e 4 dias .....	57
Figura 18 - Análises de NBVT e contagem total de bactérias ao longo do tempo (dias).....	59
Tabela 1 - Materiais utilizados na elaboração das embalagens adicionados do extrato de beterraba ( <i>Beta vulgaris L.</i> ) .....	27
Tabela 2 – Caracterização dos Extratos para escolha do extrato.....	30
Tabela 3 - Caracterização dos extratos.....	37
Tabela 4 - Composição Proximal do filé de tilápia.....	38
Tabela 5 – Espessura, propriedades mecânicas e permeabilidade ao oxigênio das embalagens .....	40
Tabela 6 - Estágios de degradação dos materiais.....	42
Tabela 7 - Estágios de degradação das embalagens.....	43
Tabela 8 - Composição proximal do filé de tilápia.....	50
Tabela 9 - Valores de $\Delta E$ para cada tratamento ao longo do tempo .....	53

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

<b>ABTS</b>	2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>AOAC</b>	<i>Official Methods of Analysis</i>
<b>APHA</b>	<i>American Public Health Association</i>
<b>ASTM</b>	<i>American Society for Testing and Materials</i>
<b>ATP</b>	Adenosina Trifostato
<b>ATR</b>	Reflectância Total Atenuada
<b>Aa</b>	Atividade de Água
<b>BC</b>	Betacianina
<b>BT</b>	Betaláina
<b>BX</b>	Betaxantina
<b>CCEN</b>	Centro de Ciências Exatas e da Natureza
<b>CCHSA</b>	Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias
<b>CFT</b>	Compostos Fenólicos Totais
<b>DPPH•</b>	2,2-difenil-1-picril-hidrazila radical
<b>EAG</b>	Equivalente de Ácido Gálico
<b>EI</b>	Embalagem Inteligente
<b>EMBRAPA</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>TE</b>	Equivalente ao Trolox
<b>FFI</b>	Indicadoras de Frescor
<b>FRAP</b>	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
<b>FTIR</b>	Espectrofotômetro Infravermelho por Transformada de Fourier
<b>HPP</b>	Processamento de Alta Pressão

<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>IN</b>	Instrução Normativa
<b>ITT</b>	Indicadoras de Tempo-temperatura
<b>LACE</b>	Laboratório de Cromatografia e Espectrometria
<b>LACOM</b>	Laboratório de Combustíveis e Materiais
<b>LMA</b>	Laboratório de Microbiologia de Alimentos
<b>LRPA</b>	Laboratório de Ranicultura e Produtos da Aquicultura
<b>MDA</b>	Malonaldeído
<b>MEV</b>	Microscopia Eletrônica de Varredura
<b>NBVT</b>	Bases Nitrogenadas Voláteis Totais
<b>PUFA</b>	Ácidos Graxos Poli-insaturados
<b>TBA</b>	Ácido Tiobarbitúrico
<b>TBARs</b>	Análise de Oxidação Lipídica
<b>TBCA</b>	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
<b>TCA</b>	Ácido Tricloroacético
<b>TG</b>	Análise Termogravimétrica
<b>TROLOX</b>	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico
<b>TS</b>	Resistência a Tração
<b>UFPB</b>	Universidade Federal da Paraíba

## 1 INTRODUÇÃO

As embalagens inteligentes são materiais projetados para detectar em tempo real mudanças no pH do alimento, alterações da temperatura no meio externo ou, ainda, modificações na concentração de gases no espaço livre entre a embalagem e o alimento, sendo que, essas mudanças podem ser associadas com a qualidade do produto (GHAANI et al., 2016; PELICIOLO, 2019). As mudanças de cor da embalagem indicadora representam um método simples e visual para detectar alterações de qualidade de produtos alimentares (CHOI et al., 2017), as quais ocorrem por meio de reações entre compostos ativos incorporados à matriz polimérica, os quais podem responder às variações de pH e mudanças microbiológicas do alimento ao longo do seu armazenamento.

Os compostos ativos adicionados as matrizes poliméricas podem ser provenientes de óleos essenciais, extratos ou compostos sintéticos isolados. Dentre os compostos naturais, destaca-se o corante presente na beterraba (*Beta vulgaris L.*), que é um dos mais importantes utilizados na indústria de alimentos, devido a sua fácil extração, poder de coloração e capacidade de estabilização de radicais livres (MEIRELES et al, 2020; CAI; SUN; CORKE, 2003; STINTZING; CARLE, 2007).

A raiz da beterraba possui a coloração avermelhada/arroxeadada devido à presença das betalaínas. Estas são moléculas estáveis na faixa de pH de 3 a 7, mas que podem sofrer variações estruturais e de cor (de vermelho a amarelo) em condições alcalinas (GANDÍA- HERRERO, ESCRIBANO, GARCÍA-CARMONA, 2016; GENGATHARAN et al., 2015; QIN et al., 2020), podendo ser utilizadas como indicadores naturais para elaboração de embalagens inteligentes.

O desenvolvimento de embalagens inteligentes em substituição às embalagens convencionais, é uma alternativa, as quais além de servirem como meio de acondicionamento e barreira aos impactos físicos e/ ou mecânicos, também possuam funções adicionais benéficas aos consumidores, como informar a qualidade do produto independente do prazo de validade. O alto grau de exigência do mercado consumidor quanto às características físico-químicas de peixe, requer o desenvolvimento de mecanismos para informar a qualidade

físico-química, sensorial e microbiológica desta matéria prima, além de alguns fatores limitantes como os processos de oxidação (JORGE, 2013; BITTENCOURT et al., 2021).

Uma das razões determinantes para a redução da vida de prateleira nos peixes e, conseqüentes mudanças sensoriais e nutricionais, é a oxidação dos ácidos graxos. Atrelado a isto, tem-se a degradação por microrganismos, influenciando na formação de compostos como: amônia e aminas, dióxido de carbono e ácidos orgânicos, estando estes relacionados às modificações no pH interno e externo à matriz analisada e ao ambiente a que está sendo exposto (NAGHDI; REZAEI; ABDOLLAHI, 2021).

Sabe-se que o peixe é uma interessante fonte de nutrientes na alimentação humana por conter proteínas de alta qualidade nutricional, vitaminas, em especial as vitaminas A e E, minerais e ácidos graxos poli-insaturados (PUFA). A constituição e deposição desses lipídios condicionadas a alguns fatores biológicos de acordo com cada espécie, ao meio ambiente, ao habitat, à salinidade da água e à estação do ano, podendo então, a depender do grau de insaturações desses lipídios, acelerar ou não o processo de deterioração do peixe (KHEIRI; ALIAKBARLU; TAHMASEBI, 2022).

Neste contexto, a hipótese deste estudo é que a betalaína presente no extrato de beterraba serve como pigmento para a embalagem inteligente, servindo como indicativo para o consumidor com relação a qualidade da carne, mesmo que ainda esteja dentro do prazo de validade, pois com a diminuição do frescor do filé de tilápia é provocada a mudança de coloração na embalagem.

Logo, o objetivo deste estudo foi elaborar uma embalagem inteligente adicionada de betalaína extraídas de beterraba (*Beta vulgaris* L.) como indicador de frescor de peixe e avaliação das mudanças colorimétricas da embalagem e parâmetros de qualidade do filé de peixe embalado.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 EMBALAGEM**

Segundo a RDC nº 91/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o sistema de embalagem trata do objeto que deve estar em contato direto com o produto, com o intuito de garantir a vida útil, conter, proteger de interferências externas e armazenar. As embalagens para alimentos devem ser elaboradas seguindo o manual das boas práticas de fabricação para que não exista a transferência de compostos para o alimento que sejam tóxicos ou que estejam acima do limite superior estabelecido de modo que não provoque modificações nas características sensoriais e/ou apresente risco à saúde humana.

A embalagem é um importante método de preservação e acompanhamento da qualidade dos alimentos tanto para proteção, como transporte e aquisição. O aumento das exigências do mercado consumidor e estilo de vida das pessoas elevaram a procura por produtos de alta qualidade, com processamento mínimo e vida de prateleira ampla, estimulando o desenvolvimento de novas tecnologias de embalagem. Podendo destacar as embalagens ativas e embalagens inteligentes (FIORUZ; MOHI-ALDEN; OMID, 2021).

#### **2.1.1 Embalagem Inteligente**

Embalagens Inteligentes (EI) são uma tecnologia em progresso na área das embalagens para alimentos, tendo como objetivo a rastreabilidade, qualidade e segurança dos alimentos. Ou seja, a ciência que insere os equipamentos de comunicação para um sistema de embalagem a fim de acompanhar possíveis alterações nas características externas e internas aos produtos, informando a condição do sistema de embalagem aos interessados ao longo da cadeia de produção, abastecimento e compra (FIORUZ; MOHI-ALDEN; OMID, 2021). As embalagens inteligentes podem dialogar com o consumidor de maneira visual e em tempo real, comunicando sobre a qualidade e frescor do peixe com auxílio de biossensores, sejam estes *tags* ou etiquetas de baixo custo e fácil acesso.

Estas EI podem ser elaboradas através da utilização de proteínas e

polissacarídeos, como amido e celulose, originados a partir de resíduos produzidos pela indústria de alimentos, resultando em embalagens biodegradáveis que podem ser comestíveis ou não. Uma possibilidade para a elaboração das EI é o uso de polímeros biodegradáveis como gelatina, amido e carragena que podem também ser atribuídas de características funcionais por meio da adição de extratos vegetais ou óleos essenciais (GASTI et al., 2021).

Sendo assim, a tecnologia de informação está cada vez mais eficiente e acessível, contribuindo positivamente na indicação do frescor e qualidade dos alimentos para o consumidor sem que exista tanta dependência pelos prazos de validade descritos nas embalagens (ONGARATTO; VITAL; PRADO, 2022).

As embalagens inteligentes oferecem qualidade a mais do que os sistemas de embalagem convencionais, os quais se preocupam em apenas proteger e conter os alimentos. As EI podem ser elaboradas com sistemas de funcionamento diversos, seja para indicar o frescor dos alimentos e troca de informações para o consumidor, como as que monitoram o frescor e o pH, as indicadoras de tempo-temperatura (TTI), ou como os dispositivos para rastreabilidade para as condições de armazenamento e transporte do produto (SOBHAN; MUTHUKUMARAPPAN; WEI, 2021). As TTI e indicadoras de frescor são os sistemas mais largamente empregados para a indicação de alterações de cor utilizados nas embalagens para alimentos (FORGHANI; ALMASI; MORADI, 2021).

#### **2.1.1.2 Embalagens indicadoras de frescor e pH**

As embalagens indicadoras de frescor e pH possuem mecanismos para sinalizar a degradação de alimentos de modo direto ou indireto. É importante que alguns pontos sejam levados em consideração para escolha desses indicadores na elaboração dessas embalagens, a exemplo, da temperatura de armazenamento, composição de degradação do alimento e perfil microbiológico deteriorante (WANG et al., 2015; FANG et al., 2017).

Nesse sentido, é fundamental o conhecimento prévio dos metabolitos que indicam a qualidade dos alimentos de acordo com as características de cada um. Os mais comuns para indicação da qualidade de peixe são os compostos

nitrogenados (dimetilamina, trimetilamina, amônia), aminas biogênicas (histamina), dióxido de carbono e de enxofre, glicose, entre outros metabólitos (ZHANG et al., 2019; ESFAHANI et al., 2022).

Desse modo, a funcionalidade das embalagens indicadoras de frescor e pH se dá de acordo com o grau de deterioração do alimento, sendo importante que não exista a presença desses metabólitos de início para que a embalagem seja efetiva, pois ao passo que esses compostos vão sendo gerados no produto, irão interagir com os pigmentos presentes na embalagem, que sofrerão reações químicas ou variação de pH, alterando a cor dos sinalizadores (ALIZADEH-SAMI et al., 2020).

Sabe-se que os sinalizadores de frescor e pH mais utilizados pela indústria de alimentos e que interagem com a presença desses metabólitos são os pigmentos sintéticos como, pH azul de bromotimol e roxo de bromo cresol. Porém, têm-se observado interesse para os corantes naturais na utilização em embalagens inteligentes como, as betalaínas e antocianinas, estes são compostos sensíveis a variação do pH que é possível modificar a sua estrutura e assim apresentar uma nova cor acompanhando simultaneamente a vida útil dos alimentos (QIN et al., 2021).

## 2.2 BETERRABA

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (2010), a beterraba (*Beta vulgaris L.*) é uma hortaliça que teve sua origem na Europa e é pertencente à mesma família da acelga e espinafre. É normalmente classificada como uma raiz, porém trata-se de uma parte mais grossa do caule. As beterrabas estão divididas ainda em três grupos, a beterraba açucareira, a beterraba forrageira e a beterraba mais comumente comercializada no Brasil como hortaliça. Além de ser abundante em açúcares, também possui alto teor de fibras, minerais e vitaminas como o ácido fólico e ácido ascórbico (LANA et al., 2022).

A beterraba pode ser consumida de diferentes formas como saladas, sucos, cozidos, além de ser utilizada como pigmento natural nas indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica, por sua fácil extração e alto poder de coloração, em consequência das betalaínas em sua composição (FLORES-

MANCHA et al., 2020). As beterrabas possuem fibras, aminoácidos essenciais, proteínas, carboidrato, micronutrientes (vitaminas e minerais), nitrito, nitrato, compostos fenólicos e pigmentos solúveis em água (NIRMAL et al., 2021).

### 2.2.1 Betalaínas

As betalaínas são um grupo de pigmentos nitrogenados solúveis em água formadas a partir do metabolismo secundário das plantas. Estão presentes em fungos do gênero *Amanita* e *Hygrocybe*, e também em vegetais da ordem *Caryophyllales*, sendo mais comum encontrá-las em beterrabas, pinyas, amaranto e bougainvillea (TABÍO-GARCIA et al., 2021; HOWARD et al, 2022).

Sabe-se que existem mais de setenta tipos de betalaínas, as quais estão dispostas em dois grupos conforme a estrutura química que apresentam. O primeiro grupo são as betacianinas, caracterizadas por possuírem coloração entre o vermelho e o violeta e as betaxantinas que variam entre as cores laranja e amarela. As duas categorias possuem a mesma estrutura química básica com a presença do ácido betalâmico, dois nitrogênios e dois radicais (R1 e R2) o que as diferem são os radicais e seus ligantes, que irão determinar a cor predominante (KLUGE; PRECZENHAK, 2016).

Por essas características químicas, esse grupo de pigmentos possui estrutura diferente de outros grupos colorantes naturais de cor semelhante como, flavonoides e antocianinas, sendo este último grupo e as betalaínas específicos em plantas, de modo que os dois não estão presentes simultaneamente na mesma espécie, pois além das betalaínas possuírem nitrogênio, elas têm como precursor o aminoácido tirosina, que não ocorre nas antocianinas (NOWACKA et al., 2019; LOMBARDELLI et al., 2021).

Alguns fatores positivos que tornam as betalaínas estáveis são alto grau de acilação e glicosilação, pouca atividade de água, pigmento concentrado, pH estável entre 3,0 e 7,0 e existência de antioxidantes. Enquanto, fatores que desestabilizam as betalaínas são metais catiônicos, oxigênio, peróxido de hidrogênio, altas temperaturas e enzimas degradantes. Apesar da sensibilidade térmica, possuem potencial antioxidante cerca de duas vezes maior que as antocianinas (TUTUNCHI et al., 2019).

### 2.3 QUALIDADE DO PEIXE

O peixe, um alimento frequente na dieta humana, é rico em ácidos graxos poli-insaturados, proteínas de excelente valor nutricional, vitaminas E, A e diversos minerais. No entanto, apesar de seu valor nutricional elevado, o peixe e seus produtos derivados são altamente perecíveis. Portanto, é necessário um cuidado especial na sua venda e armazenamento para assegurar a qualidade e a durabilidade do produto (CHEN et al., 2022).

A queda no frescor dos peixes se dá em decorrência da deterioração iniciada desde o momento da pescaria, reforçando a influência do manuseio correto e adequado em todos os processos da captura até a comercialização da matriz a fim de preservar a qualidade do produto, podendo essas fases interferirem na atividade enzimática, bacteriana e oxidativa. A velocidade da deterioração é dependente dos métodos de conservação, como também o tamanho do peixe, espécie, abate e armazenamento (DUARTE et.al, 2020).

Alguns fatores extrínsecos responsáveis por potencializar a deterioração microbiana em peixes podem ser, microrganismos externos, umidade, temperatura, presença ou ausência de gases. Já, os fatores intrínsecos como, atividade de água (Aa), pH, umidade, condições biológicas e potencial de oxidação e redução (UMARAW et al., 2020), também influenciam na deterioração acelerada deste produto.

Características sensoriais (olfativa e visual) devem ser levadas em consideração para que seja feita a avaliação da qualidade de peixes crus inteiros como: aparência da pele e escamas, brilho, formato e cor dos olhos, brânquias e guelras. Além da textura da carne, deve-se pressionar o dedo no dorso para sentir a firmeza, verificar a existência ou não de muco e, observar também, a cor e odor do peixe (EMBRAPA, 2011).

Algumas metodologias foram desenvolvidas para averiguar a qualidade dos peixes além das características sensoriais, como indicadores químicos que calculam a quantidade dos metabólitos de trifosfato de adenosina (ATP) e quantificação das bases nitrogenadas voláteis (NBVT), padrão físico de dureza, contagem microbiológica (contagem total de bactérias e de *Escherichia coli*) e análise do pH (YU et al, 2021).

As embalagens inteligentes vêm sendo empregadas para monitorar a qualidade destes produtos, através da sinalização dos indicadores de qualidade do produto (UMARAW et al., 2020; DIRPAN et al., 2022).

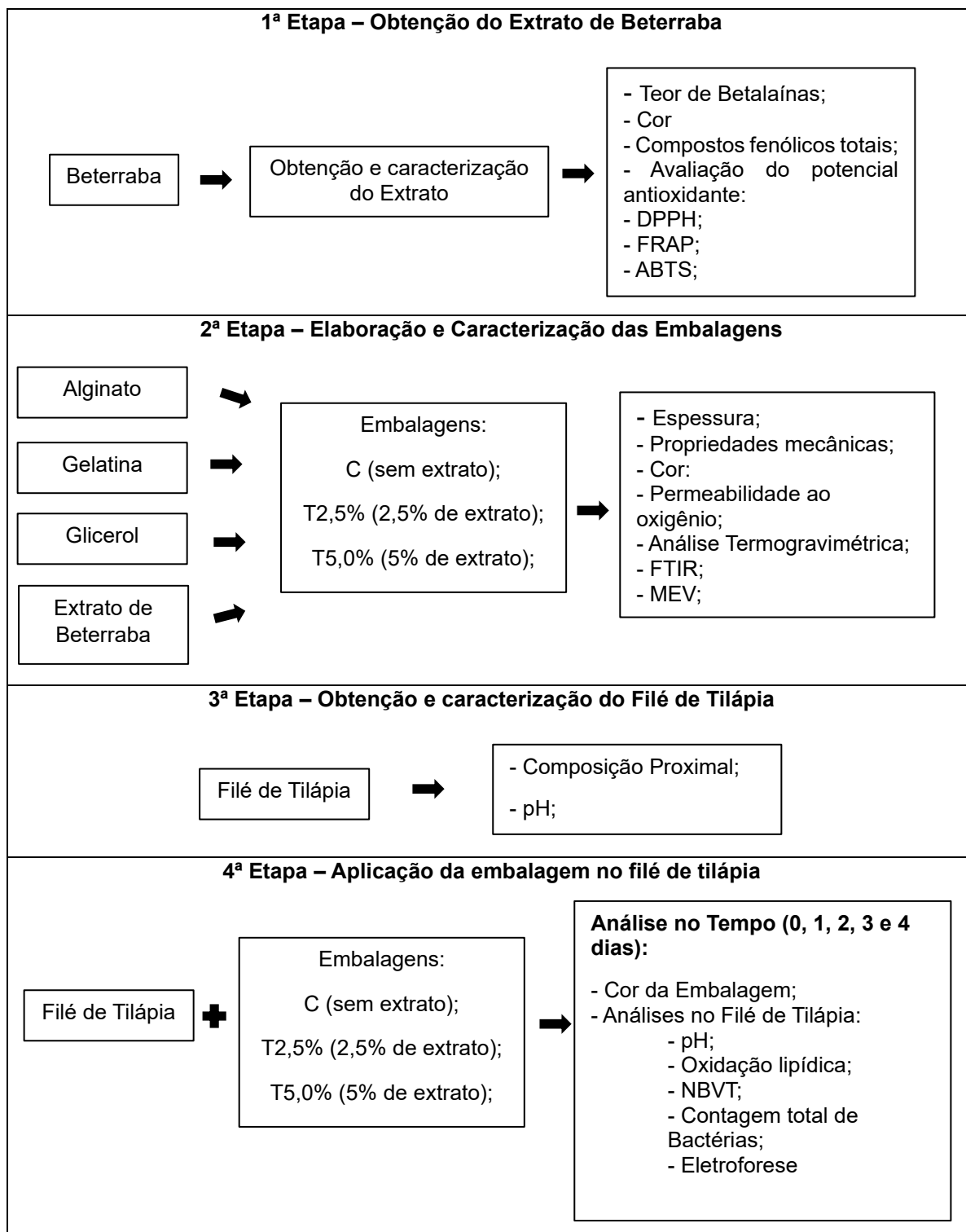
### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO**

O experimento e as análises foram realizadas no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria (LACE), no Laboratório de Análise Físico-química (LAFQ) e no Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LMA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) no Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA), campus III, Bananeiras/PB, município localizado na microrregião do Brejo Paraibano, situado a 544 metros de altitude com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 6° 45' 4" Sul, Longitude: 35° 38' 0" Oeste (IBGE, 2022).

Durante o experimento foi acompanhada a variação de temperatura e umidade relativa do ar com valores médios de 25,6°C e 68,50%, respectivamente, uma vez que, alterações nos valores dessas variáveis podem ocasionar modificações nas características da embalagem. Já a caracterização das embalagens foi realizada no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM/UFPB) no Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN), campus I, João Pessoa/PB. O fluxograma pode ser visualizado abaixo (figura 1).

Figura 1 – Fluxograma das etapas de execução experimental.



### 3.2 OBTENÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

As beterrabas para elaboração do extrato foram adquiridas em comércio local da cidade de João Pessoa/PB, município localizado na região litorânea do estado da Paraíba, enquanto o filé de tilápia foi fornecido pelo Laboratório de Ranicultura e Produtos da Aquicultura (LRPA/CCHSA/UFPB), campus III, Bananeiras/PB. Os insumos para elaboração da embalagem inteligente foram: gelatina em pó, incolor e sem sabor da marca Dr. Oetker®, obtido em comércio local da cidade de Campina Grande/PB, Alginato de Sódio Reagente P.A da ACS Científica® e Glicerina P.A da Química Moderna®.

Figura 2 – Beterraba (*Beta vulgaris L.*)



Como forma de caracterização das beterrabas, O °Brix foi medido conforme a metodologia descrita por Kimbal (1991). As beterrabas foram trituradas em mixer processador manual (figura 2), em seguida, o líquido remanescente foi colocado sobre refratômetro digital (Megabrix, série automotiva) e realizada a leitura. O valor verificado para o °Brix das beterrabas utilizadas para elaboração do extrato foi de 5,9%.

### 3.3 ELABORAÇÃO DOS EXTRATOS

A fim de encontrar o extrato com melhor potencial de uso nas embalagens inteligentes, foi realizado um planejamento fatorial  $2^2$  com três pontos centrais, o qual gerou 7 ensaios (Tabela 1). Os ensaios foram analisados em relação as variáveis respostas: teor de betalaínas, compostos fenólicos totais e cor (parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ).

Tabela 1 – Níveis codificados das variáveis do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> para elaboração dos extratos

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7
<b>Solvente</b>	Água	Etano	Água	Etano	Etanol:Água	Etanol:Água	Etanol:Água
<b>e</b>	100%	100%	100%	100%	a (70:30%)	a (70:30%)	a (70:30%)
<b>pH</b>	3,0	3,0	7,0	7,0	5,0	5,0	5,0

E1 – Ensaio 1; E2 – Ensaio 2; E3 – Ensaio 3; E4 – Ensaio 4; E5 – Ensaio 5; E6 – Ensaio 6; E7 – Ensaio 7.

Os extratos foram obtidos segundo a metodologia descrita por Dallagnol (2013), com modificações (figura 3), em concentração 1:2 (amostra:solvente). Após a adição do solvente e homogeneização a solução passou por agitação mecânica em incubadora shaker (Luca-223, Lucadema), a uma velocidade de 250 rpm e temperatura de 25 °C durante 4 h. Após o período de agitação, foi colocado em banho ultrassônico por 30 min e em seguida, deixado em repouso em geladeira de um dia para o outro (16 h). Passado o tempo em repouso, foi filtrado a vácuo (figura 4), armazenado em frasco âmbar e levado para o ultra freezer (-80°C) até sua utilização.

Figura 3 – Fluxograma do processamento para obtenção do extrato de beterraba.

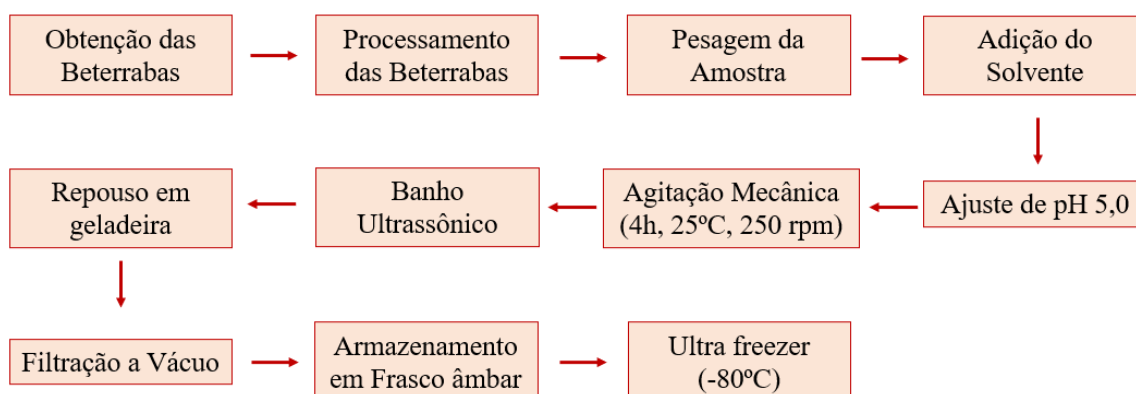
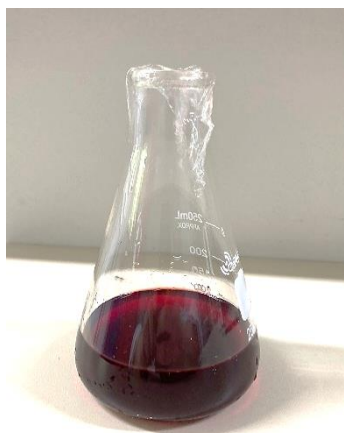


Figura 4 – Extrato de Beterraba.



### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS DE BETERRABA

#### 3.4.1 Quantificação do teor de betalaínas

A quantificação de betalaínas (BLC) foi determinada por espectrofotometria de acordo com Nilsson (1970) com adaptações, cujos resultados foram expressos em mg/L de extrato. Foi realizada a leitura do extrato em dois comprimentos de onda distintos, 480 nm para betaxantinas (Bx) e 538 nm para betacianinas (Bc). Em seguida, esses valores foram aplicados separadamente na equação 1 para quantificar as betaxantinas e as betacianinas presentes no extrato. Em seguida os resultados obtidos foram aplicados na equação 2 para quantificação do teor de betalaínas:

#### Equação 1:

$$\text{BLC [mg. L}^{-1}\text{]} = (\text{A} \times \text{DF} \times \text{PM} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

Em que:

A – Valor de absorção;

DF- Fator de Diluição;

PM – Peso Molecular (g/mol);

$\epsilon$  – Absortividade molar (L/mol.cm);

1 – Caminho óptico da cubeta (1cm);

Para Bx o peso molecular é 339 g/mol e a absorvidade molar corresponde a 48.000 L/mol.cm em água (H<sub>2</sub>O). Já, para Bc, o peso molecular é 550 g/mol e a absorvidade molar corresponde a 60.000 L/mol.cm em H<sub>2</sub>O.

#### **Equação 2:**

$$\text{BLC} = \text{Bx} + \text{Bc}$$

Em que:

BLC – Quantificação de Betaláínas;

Bx – Betaxantinas;

Bc – Betacianinas;

#### **3.4.2 Teor de compostos fenólicos totais**

Utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu, segundo Singleton e Rossi (1965). Os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico (mg EAG/g extrato) de acordo com a curva padrão de ácido gálico preparada no momento da análise.

#### **3.4.3 Atividade antioxidante**

A atividade de radicais livre do extrato de beterraba foi determinado pelo método sequestrador de radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila radical) seguindo a metodologia descrita por Rufino et al. (2007). Para a capacidade antioxidante de redução do ferro foi determinada pelo método de FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) descrita por Benzie et al. (1996). A determinação da capacidade de sequestrar o radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbezotiazolina-6-ácido sulfônico ABTS<sup>•+</sup>) seguindo o método descrito por Rufino et al. (2007). Os resultados foram expressos em µmol equivalente Trolox (TE)/mL extrato.

#### **3.4.4 Colorimetria**

O parâmetro de cor foi avaliado utilizando o Colorímetro 3nh TEC-200 para leitura dos parâmetros L\* (luminosidade), a\* (intensidade de vermelho/verde) e b\*(intensidade de amarelo/azul).

### 3.5 PREPARO DAS EMBALAGENS

As embalagens foram elaboradas em três formulações (Tabela 2).

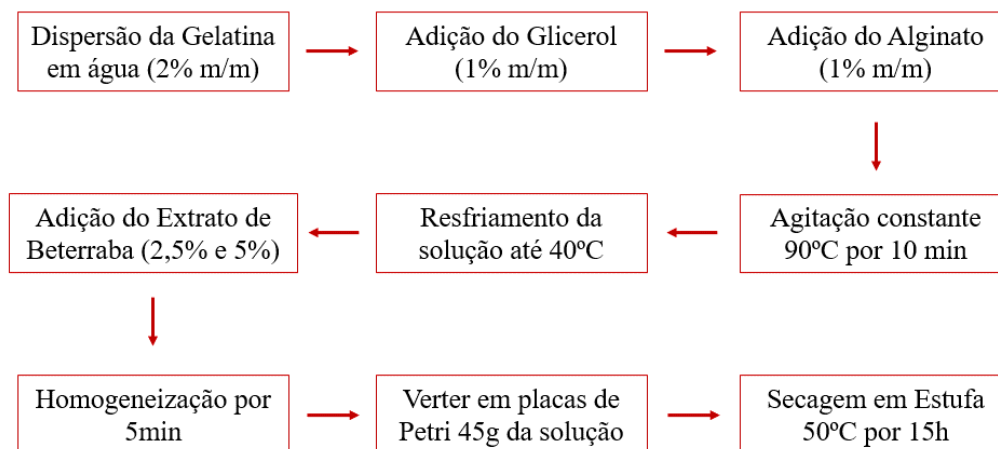
Tabela 2 – Materiais utilizados na elaboração das embalagens adicionados do extrato de beterraba (*Beta vulgaris L.*).

FORMULAÇÕES	MATERIAIS				
	Água (m/m)	Extrato (m/m)	Alginato 1% (m/m)	Glicerol 1% (m/m)	Gelatina 2% (m/m)
<b>C</b>	432	-	4,5	4,5	9,0
<b>T2,5%</b>	420,75	11,25	4,5	4,5	9,0
<b>T5,0%</b>	409,5	22,5	4,5	4,5	9,0

C (embalagem controle): embalagem elaborado com a formulação base sem a adição do extrato de beterraba; T2,5%: embalagem elaborado com a formulação base e a adição de 2,5% do extrato de beterraba com relação ao volume total; - T5,0%: embalagem elaborado com a formulação base e a adição de 5,0% do extrato de beterraba com relação ao volume total;

As embalagens foram elaboradas pela técnica de espalhamento (*casting*) de acordo com a metodologia descrita por Silva et al. (2018), com modificações. Foi utilizado gelatina (2% m/m), alginato (1% m/m) e glicerol (1% m/m). A gelatina (2% m/m) foi dispersa em água destilada sob homogeneização. Em seguida, foi adicionado alginato (1% m/m) e glicerina (1% m/m) ainda sob homogeneização e submetidos ao aquecimento em manta térmica com agitação a 90 °C por 10 minutos. Quando a solução atingiu 40 °C o extrato de beterraba foi adicionado em diferentes concentrações (2,5% e 5,0%) e homogeneizado, por aproximadamente 5 min. Posteriormente, foi vertido 45 g da solução em placas de petri estéreis (140 x 15 mm), e submetidas à secagem em estufa de ar circulante (Estufa com Circulação e Renovação de Ar SL-102, Solab) a 50 °C por aproximadamente 15 h (figura 5).

Figura 5 – Fluxograma da elaboração das embalagens indicadoras adicionados do extrato de beterraba.



### 3.6 CARACTERIZAÇÃO DAS EMBALAGENS

As embalagens foram analisadas, quanto as propriedades mecânicas, físicas, ópticas, térmicas e permeabilidade.

#### 3.6.1 Espessura e Propriedades Mecânicas

A espessura foi determinada utilizando-se um paquímetro digital da marca Mitutoyo, com divisões de 0,01 mm, em quatro pontos aleatórios para todas as embalagens. A resistência à tração (TS) foi avaliado utilizando um instrumento de ensaios estáticos da SHIMADZU – Linha AGS - X 10 Kn, atuando conforme as instruções da ASTM D882-12 (ASTM, 2012). Os corpos de prova foram cortados em tiras (80 x 15 mm) e presos entre as garras do equipamento, na posição inicial de 50 mm e com a velocidade de separação das garras de 12,5 mm/min. Foram realizadas 10 repetições para cada formulação.

#### 3.6.2 Colorimetria das embalagens

O parâmetro de cor foi avaliado utilizando o Colorímetro 3nh TEC-200 para leitura dos parâmetros  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (intensidade de vermelho/verde) e  $b^*$ (intensidade de amarelo/azul).

### 3.6.3 Permeabilidade ao Oxigênio

O teste de permeabilidade das embalagens ao gás oxigênio foi realizado em um equipamento GPD-C Brugger de acordo com as normas ASTM D 1434 e ISO 15105/1 a uma temperatura controlada em 25°C. O teste foi iniciado com a evacuação contínua do sistema durante 20 minutos. Após término da evacuação, a coleta de dados é iniciada pelo equipamento.

A área da embalagem testada corresponde a 78,4cm<sup>2</sup>. Neste teste a permeabilidade das embalagens (P) é calculada multiplicando-se o valor da solubilidade (S) pela difusividade (D) do material ambas obtidas no ensaio (Equação 2). O equipamento informa a solubilidade sob condições padrão de temperatura e pressão - STP - (0°C, 1 atm) em unidades de cm<sup>3</sup>STP/cm<sup>3</sup>·bar e a difusividade em cm<sup>2</sup>/s. O resultado da permeabilidade é expresso em cm<sup>3</sup>STP/cm·s·bar. O valor é multiplicado por 3600 s/h para obter a permeabilidade expressa em cm<sup>3</sup>STP/cm·h·bar

$$P = D.S \quad (2)$$

### 3.6.4 Análise Termogravimétrica

A análise foi realizada por meio de um analisador térmico simultâneo Shimadzu DTG-60H (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). Foi pesada aproximadamente 5 – 10 mg da amostra e depositada em cadinho de alumina com atmosfera de nitrogênio, fluxo de 50 mL/min, e aquecidas de 25 a 900 °C com razão de aquecimento de 10 °C/min.

### 3.6.5 Espectroscopia Infravermelha com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise foi realizada de acordo com ASTM D5477-11 (ASTM, 2011). A determinação foi feita por meio de um espectrofotômetro Shimadzu IR Prestige-2, com reflectância total atenuada (ATR), na faixa de 4000 a 600 cm<sup>-1</sup>, resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e 40 de varredura.

### **3.6.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A Microscopia Eletrônica de Varredura foi realizada para avaliar a morfologia da superfície das embalagens. As amostras foram fixadas em suporte metálico com fita dupla-face de carbono e revestida com uma fina camada de ouro. A análise foi performada em um microscópio modelo MIRA-3 LMH (Marca Tescan São Paulo, SP, Brasil), fonte de alto brilho, alto vácuo. As imagens foram capturadas através software operacional MiraTC, com uma voltagem de aceleração de 5kV, detectores SE, com fluxo de 1750mA e ampliação de 5000x.

## **3.7 ANÁLISE DOS FILÉS DE TILÁIA E APLICAÇÃO DAS EMBALAGENS INTELIGENTES**

### **3.7.1 Avaliação do filé de tilápia**

Para a avaliação das características físico-químicas do filé de tilápia, o peixe foi cortado em cubos em tamanhos padronizados 1 cm x 1 cm e triturado em multiprocessador manual, em seguida foi pesado de acordo com o recomendado para cada análise. O excedente foi armazenado em saco plástico e transferidos para ultra freezer (-80°C). Os teores de umidade, cinzas e proteínas foram determinados utilizando a metodologia descrita nos itens no 950.46.41, 920.153 e 928.08, respectivamente (AOAC, 2012). E o extrato etéreo foi determinado seguindo os procedimentos de Folch, Lees e Stanley (1957).

### **3.7.2 Aplicação das embalagens no peixe**

Para aplicação das embalagens como indicadores de qualidade, foram utilizados potes coletores estéreis, o filé de tilápia e as embalagens elaborados. O centro da tampa dos coletores foi removido, ficando apenas a parte de encaixe. Em cada recipiente foi pesado, com auxílio de balança analítica, cerca de 20 g de filé de tilápia, com espaço livre de aproximadamente 3 cm e fechado com a embalagem respectivo (figura 7), sendo estes divididos em três tratamentos: 12 amostras com embalagem controle (C), 12 amostras com embalagem de T2,5% e 12 amostras com embalagem de T5,0%. Foram avaliados os parâmetros de cor da embalagem e para a qualidade do filé de tilápia: pH, TBA, N-BVT e contagem total de bactérias. As amostras foram analisadas em intervalos de 24 horas com período total de 96 horas, sendo realizada todas as análises em triplicata. Destaca-se que o armazenamento foi

a temperatura ambiente (25,15°C) para que o processo de deterioração do filé de tilápia fosse acelerado para avaliação do comportamento das embalagens inteligentes.

Figura 7 – Aplicação das embalagens indicadoras por headspace em filé de tilápia.



### 3.7.3 pH

O pH foi quantificado seguindo as recomendações do método 977.20, descrito pela AOAC (2012).

### 3.7.4 Oxidação lipídica (número de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARs)

A determinação da oxidação lipídica do filé de tilápia foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Rosmini et al. (1996). Em tubo falcon de 50 mL foi pesado 2,5 g da amostra triturada, em sequência foi adicionado 5 mL de solução de ácido tricloroacético - TCA (10%) e 2,5 mL de água destilada, homogeneizado com auxílio do vórtex para estimular a extração do malonaldeído (MDA) e centrifugado por 5 min a 3500 rpm. A mistura foi filtrada em tubos falcons e volume aferido com água destilada para 10 mL. Em tubos de ensaio (10 mL) foi adicionado 2 mL da amostra filtrada e 2 mL de ácido tiobarbitúrico – TBA (0,02M), aquecido em banho maria a 100 °C por 35 min. Dado o tempo de

aquecimento, os tubos foram levados para resfriamento em banho de gelo e feita a leitura da absorbância a 532 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em mg MDA/kg amostra.

### **3.7.5 Determinação de nitrogênio de bases voláteis totais (NBVT)**

O nitrogênio de bases voláteis totais foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Contreras-Guzmán (1988) com adaptações. Em tubos de Kjeldahl com tampa foi pesado 10 g do filé de tilápia triturado e adicionado 60 mL de TCA, homogeneizado com auxílio de um bastão de vidro e depois agitado em vórtex por 5 min seguido de repouso por 30 min. Após o tempo de descanso, a amostra foi filtrada em funil de vidro com papel filtro adequado, e transferido 20 mL do filtrado para o tubo digestor de proteína e adicionada 2 gotas de fenolftaleína e 1 g de óxido de magnésio (MgO) agitado levemente até obter coloração rosa e reservado. Em um erlenmeyer de 125 mL foi adicionado 20 mL de ácido bórico (4%), após todo esse procedimento, as vidrarias foram acopladas no aparelho de micro-kjeldahl (Destilador de Nitrogênio SL-74, Solab) para que fosse feita a destilação de 75 mL. Ao atingir o volume do destilado, foi realizada a titulação com ácido clorídrico – HCL (0,01N) até a cor preto-azulado virar vermelho e anotado o volume de ácido gasto. A quantificação do teor de N-BVT das amostras seguiu a seguinte equação:

$$\text{N-BVT} = (\text{mL de HCL} \times \text{N} \times 7 \times 67) / \text{Peso da amostra} \times \text{mL de HCL}$$

Em que:

mL de HCL – Volume gasto na titulação;

N – Normalidade do HCL (0,01N);

O valor de 67 g corresponde a fração líquida que estaria em 10 g do filé de tilápia extraído com 60 mL de TCA. Foi considerado que o peixe tem 70% de água, logo, contribuiria com 7 g de água somado a 60 mL.

### 3.7.6 Contagem Total de Bactérias

A contagem total de bactérias foi determinada utilizando a metodologia descrita pela APHA (2015). A amostra foi diluída em água peptonada até a concentração  $10^{-3}$  e inoculada em placas de petri com ágar APC (ágar padrão para contagem). As placas foram mantidas em estufa a 37 °C por 48 h, para posterior contagem de colônias.

### 3.7.7 Perfil eletroforético por SDS-PAGE

A técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE) foi aplicada, conforme o método estabelecido por Laemmli em 1970. Utilizou-se um marcador proteico para estabelecer um padrão de peso molecular variando de 12 kDa a 225 kDa (Amersham™ ECL™ Rainbow™ Marker - Full Range, GE Healthcare, RPN800E). Depois de concluída a corrida, os géis passaram por um processo de incubação, coloração, descoloração e digitalização.

Para as amostras do filé de tilápia foram adicionados 20 µL de amostra no gel. Para o gel de poliacrilamida utilizou-se malha de 12% e no gel de entrada a malha de 4,5%. A corrida durou entre 2 h 30 minutos a 3 h em condições elétricas de 125 V, 30 mA e 15 W.

## 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi desenvolvido em Delineamento Inteiramente Casualizado, composto por três formulações de embalagem e três repetições. Os dados da elaboração do extrato, bem como os de espessura, tração e alongamento das embalagens foram avaliados pela Análise de Variância a 5% de probabilidade seguido pelo teste de Tukey com auxílio do software SisEapro (versão 3.5).

As variáveis de cor, frescor e microbiológicas foram analisadas por Análise de Regressão ao longo do tempo, onde optou-se pelo modelo que apresentou melhor ajuste quanto ao Índice Determinístico ( $R^2$ ). Existindo efeito de regressão, os modelos foram comparados entre si pela estatística “W” com auxílio do software SisEapro (versão 3.5) a 5% de probabilidade.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Determinação do extrato de maior potencial para aplicação nas embalagens

De acordo com a tabela 3, é possível perceber que os extratos de ponto central (E5, E6 e E7), mostraram a maior concentração de betalaínas (860,8 mg/L, 770,2 mg/L e 870 mg/L) em comparação com os demais extratos produzidos. Os extratos de ponto central também apresentaram maiores teores de CFT, variando de 508,1 a 594,5 mg EAG/mL.

Tabela 3 – Caracterização dos extratos.

Extratos	BT (mg/L)	CFT (mg EAG/mL)	Cor		
			L*	a*	b*
E1	420,6 ± 0,01 <sup>bc</sup>	314,5 ± 0,63 <sup>b</sup>	42,6 ± 0,7 <sup>c</sup>	23,47 ± 2,21 <sup>b</sup>	14,73 ± 2,54 <sup>b</sup>
E2	280,1 ± 0,01 <sup>bc</sup>	269,8 ± 0,00 <sup>bc</sup>	59,93 ± 2,17 <sup>a</sup>	6,3 ± 0,46 <sup>d</sup>	16., ± 3,92 <sup>ab</sup>
E3	450,27 ± 0,00 <sup>b</sup>	184,9 ± 0,21 <sup>cd</sup>	50,30 ± 3,91 <sup>b</sup>	10,43 ± 0,6 <sup>c</sup>	19,43 ± 6,88 <sup>a</sup>
E4	31,02 ± 0,00 <sup>c</sup>	96,0 ± 0,14 <sup>d</sup>	58,23 ± 0,91 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,21 <sup>d</sup>	10,17 ± 0,9 <sup>d</sup>
E5	860,8 ± 0,17 <sup>a</sup>	508,1 ± 4,10 <sup>a</sup>	35,1 ± 3,49 <sup>cd</sup>	28,10 ± 5,46 <sup>a</sup>	17,33 ± 4,1 <sup>ab</sup>
E6	770,2 ± 0,08 <sup>a</sup>	594,5 ± 3,26 <sup>a</sup>	37,8±2,31 <sup>cd</sup>	30,4 ± 3,11 <sup>a</sup>	17.,7 ± 6,7 <sup>ab</sup>
E7	870,8 ± 0,17 <sup>a</sup>	589,6 ± 3,68 <sup>a</sup>	37,27 ± 3,6 <sup>cd</sup>	30,97 ± 0,87 <sup>a</sup>	17,36 ± 2,9 <sup>ab</sup>

E1 - água com pH 3,0; E2 - etanol com pH 3,0; E3 - água com pH 7,0; E4 - etanol com pH 7,0; E5, E6, E7 - hidroalcolico (30:70%) com pH 5,0; BT – Conteúdo de betalaínas; CFT – Teor de compostos fenólicos totais; coordenada L\* (Luminosidade); coordenada a\* (vermelho); coordenada b\* (amarelo). Média ± desvio-padrão com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05) entre os tratamentos.

Os extratos E5, E6 e E7 apresentaram a maior intensidade para a cor vermelha (a\*). De acordo com as variáveis respostas analisadas, os extratos produzidos tiveram variações consideráveis de acordo com o tipo de solvente e condição de pH a que foram submetidos. Sendo a melhor condições de extração avaliada com o uso de etanol 70% e pH 5,0 (E5, E6 e E7).

### 4.2 Caracterização do extrato de beterraba selecionado

Foram obtidos os seguintes resultados para as análises de quantificação do teor de betalaínas, teor de compostos fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante do extrato de beterraba por DPPH, FRAP e ABTS e cor (Tabela 4).

Tabela 4 – Caracterização do extrato de beterraba escolhido.

Variáveis	Extrato de Beterraba
BT (mg/L)	644,85±7,30
CFT (mg EAG/mL)	540,60±3,25
DPPH (TE µmol/mL)	0,95±0,02
FRAP TE µmol/mL)	3,62±0,10
ABTS (TE µmol/mL)	2,92±0,17
L*	13,63±0,49
a*	12,67±0,25
b*	-0,43±0,25

BT – Conteúdo de betalaínas; CFT – Teor de compostos fenólicos totais; DPPH – Atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH; FRAP – Atividade antioxidante pelo poder redutor de ferro; ABTS - Atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre ABTS.

O valor médio do conteúdo de betalaínas presentes no extrato de beterraba foi de 644,85 mg/L, valor superior ao encontrado por Hernández-Aguirre et al (2021), que extraíram as betalaínas utilizando água como solvente obtendo 398,9 mg/L. A maneira como o extrato foi produzido, associado ao tipo de solvente utilizado e ajuste do pH, podem ter influenciado para melhor extração das betalaínas, uma vez que este grupo é hidrossolúvel, com baixa estabilidade térmica, além de sensibilidade as variações de pH acima de 7,0.

Os valores significativos de betalaína deste estudo corroboram com as condições bioativas protetoras e, principalmente, na pigmentação do extrato, que contribuiu com a coloração e visualização das alterações nas embalagens inteligentes adicionadas do extrato de beterraba ao longo do armazenamento.

Os compostos fenólicos totais são metabolitos secundários dos vegetais, sintetizados a partir de carboidratos e possuem propriedades bioativas como a ação antioxidante (Zeb, 2020). O teor de compostos fenólicos totais no extrato avaliado foi de 540,60 mg EAG/g. Enquanto Yasaminshirazi et al (2020) em seu estudo obtiveram 489,06 mg EAG/g para beterrabas *in natura*. Fatores como, grau de maturação do vegetal, armazenamento e processo de extração podem influenciar para que existam diferentes concentrações de CFT nas beterrabas, além do local em que as mesmas foram cultivadas.

Para os parâmetros de DPHH e ABTS foram obtidos valores médios de 0,95 TE  $\mu\text{mol/mL}$  e 2,92 TE  $\mu\text{mol/mL}$ , respectivamente. Šeremet et al. (2022) obteve em seu estudo valores de 1,04 TE  $\mu\text{mol/mL}$  para DPHH e 1,69 TE  $\mu\text{mol/mL}$  para ABTS em extrato de beterraba vermelha. Assim, a necessidade em preservar a funcionalidade dos antioxidantes, como as atividades antirradicais, além da busca pela melhor maneira de extração, são fundamentais em razão do efeito danoso dos radicais livres tanto nos alimentos como em sistemas biológicos (GAWLIK-DZIKI et al., 2020). O valor médio obtido para a análise de FRAP foi de 3,62 TE  $\mu\text{mol/mL}$ , enquanto Hidalgo et al (2018) obteve em seu estudo score de 2,75 TE  $\mu\text{mol/mL}$  para polpa de beterraba.

O extrato analisado obteve parâmetros de cor desejáveis e perceptíveis ao olho humano, o valor de  $L^*$  (13,63) próximo ao zero associado ao baixo valor de  $a^*$  (12,67) conferiu ao extrato uma cor vermelha mais intensa e escura. A cor vermelha intensa foi bastante importante para adição e funcionalidade nas embalagens inteligentes elaboradas, contribuindo como indicador do frescor do tilápia, pois a presença da betalaína no extrato de beterraba é sensível as bases nitrogenadas que são liberadas à medida que o peixe é degradado, provocando variações do vermelho para o amarelo.

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS EMBALAGENS

#### **4.3.1 Espessura, propriedades mecânicas e permeabilidade ao oxigênio**

Com relação a espessura (tabela 5), não houve diferença estatística entre os três tratamentos (C, T2,5% e T5,0%). No entanto, é importante destacar que a baixa espessura das embalagens pode interferir em outras características dos mesmos, como as propriedades mecânicas e a permeabilidade ao oxigênio. A interação entre a espessura da embalagem e suas demais propriedades é mencionada na literatura, em que a incorporação de diferentes tipos de materiais provoca tais alterações (ADILAH et al., 2018; NETO et al., 2024).

Tabela 5 – Espessura, Propriedades mecânicas e Permeabilidade ao Oxigênio das embalagens elaborados

	<b>Espessura (mm)</b>	<b>Tração (Mpa)</b>	<b>Alongamento (%)</b>	<b>Permeabilidade (10<sup>-7</sup>cm<sup>3</sup>STP/cm<sup>2</sup>-h-bar)</b>
<b>C</b>	0,080 ± 0,02 <sup>a</sup>	5,39 ± 0,20 <sup>a</sup>	67,80 ± 0,82 <sup>a</sup>	2,96 ± 0,11 <sup>a</sup>
<b>T2,5%</b>	0,090 ± 0,01 <sup>a</sup>	6,59 ± 0,16 <sup>a</sup>	91,66 ± 2,26 <sup>b</sup>	2,26 ± 0,39 <sup>a</sup>
<b>T5,0%</b>	0,090 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,14 <sup>b</sup>	71,23 ± 3,22 <sup>b</sup>	1,08 ± 1,15 <sup>b</sup>

C: embalagem elaborada somente com a formulação base; T2,5%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 2,5% do extrato de beterraba; T5,0%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 5,0% do extrato de beterraba. Média ± desvio-padrão com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05) entre os tratamentos.

Foi observado que para a análise de tração, o tratamento T2,5% diferiu estatisticamente do T5,0%, porém não apresentou diferença estatística com relação ao tratamento controle. Sendo um material com alta resistência à tração, sugere que essa formulação proporciona uma estabilidade entre a flexibilidade e a resistência nas embalagens. Enquanto o tratamento T5,0% apresentou a menor resistência a tração e diferiu estatisticamente dos tratamentos controle e T2,5%. Diante do observado, é possível inferir que concentrações acima de 2,5% de extrato de beterraba, desestabiliza a matriz filmogênica diminuindo seus valores das propriedades mecânicas.

A taxa de permeabilidade ao oxigênio também foi analisada nas embalagens produzidos. Uma vez que, essa propriedade é crucial para as embalagens de alimentos, pois a presença de oxigênio pode levar à deterioração dos alimentos, alterando suas características sensoriais e nutricionais (KLANGMUANG; SOTHORNVIT, 2016; JASPAL et al.,2022). Foi observado que à medida que aumentou a concentração do extrato de beterraba na embalagem, a permeabilidade ao oxigênio diminuiu.

Evidenciando que a inserção do extrato de beterraba exerceu influencia sob a permeabilidade ao oxigênio, limitando a passagem do gás ou por absorção ou por adsorção, prolongando a vida útil do filé de tilápia embalado.

Li et al. (2022) caracterizaram embalagens a base de alginato, gelatina e glicerol e obtiveram altas taxas de permeabilidade ao oxigênio, variando de 19,09

( $10^{-7}\text{cm}^3\text{STP}/\text{cm}^2\text{-h-bar}$ ) até 57,69 ( $10^{-7}\text{cm}^3\text{STP}/\text{cm}^2\text{-h-bar}$ ) de acordo com cada uma das sete formulações produzidas. Resultados estes que diferem dos encontrados nesse estudo, que possuía a mesma base para as embalagens, mais a adição do extrato de beterraba, que forneceu uma característica de baixa permeabilidade a embalagem

#### **4.3.2 Análise Termogravimétrica**

Os termogramas dos materiais utilizados para a elaboração das embalagens e os termogramas das embalagens nos tempos 0 e 4 dias estão expressos nas figuras 9 e 10.

Figura 9 – Termogramas dos materiais utilizados na formulação das embalagens.

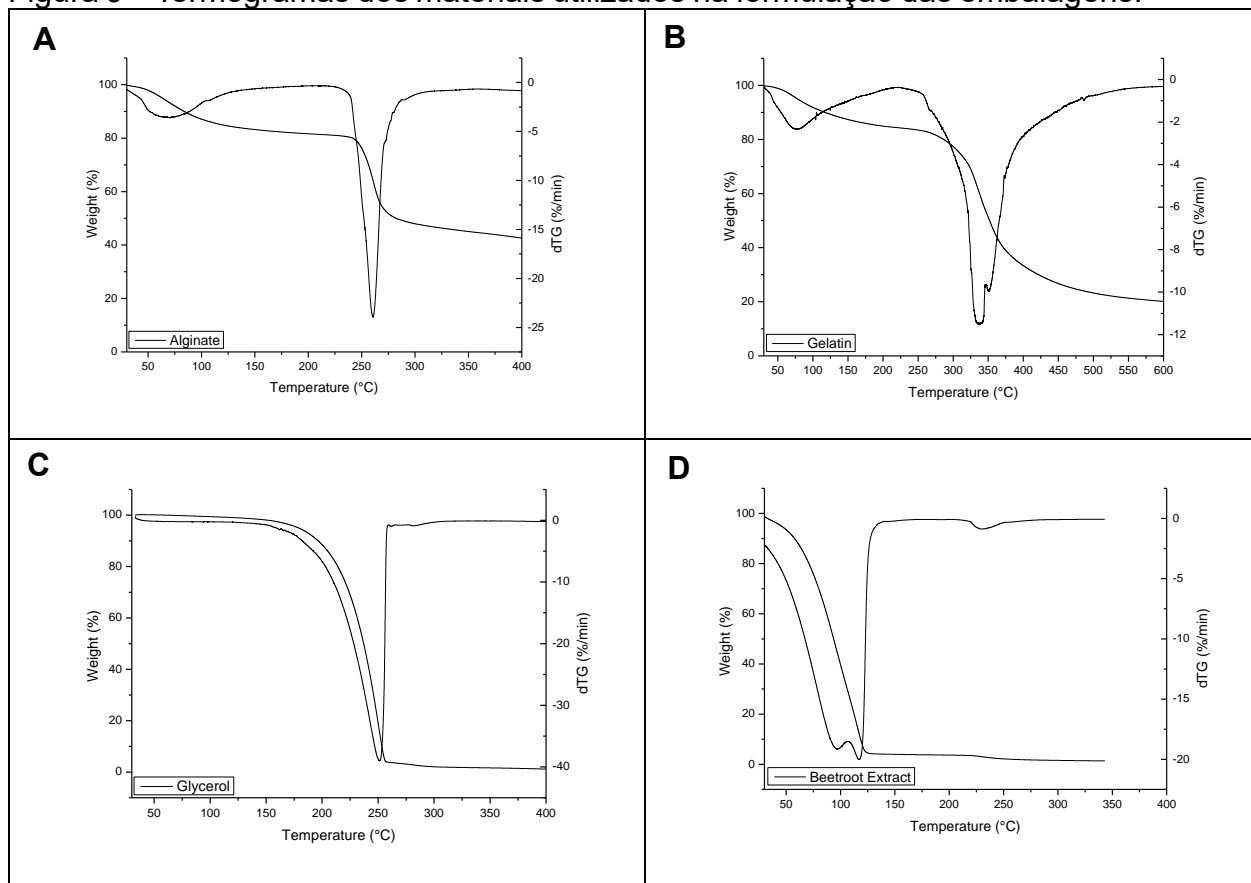
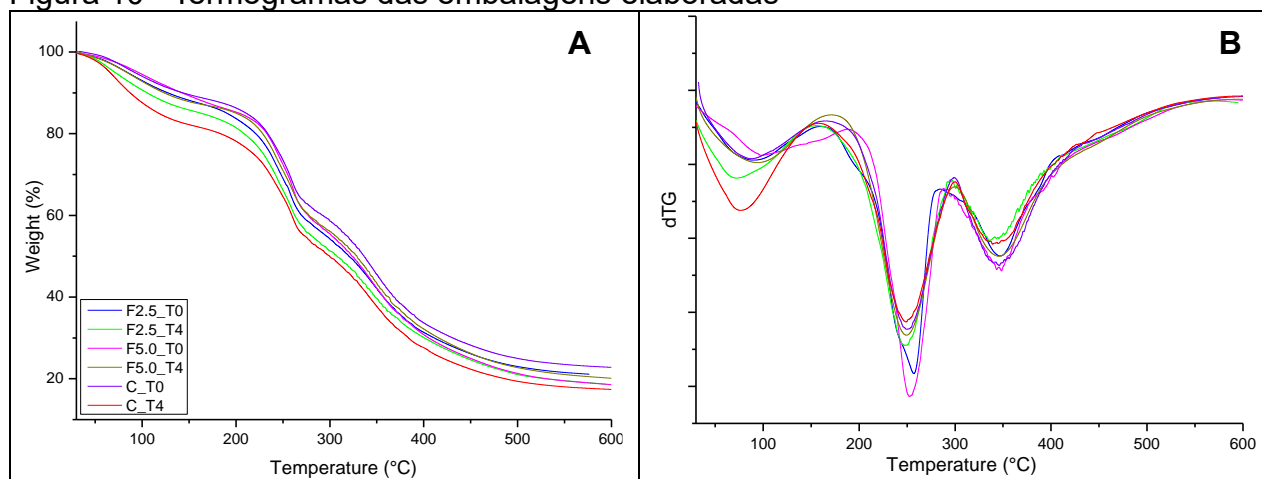


Tabela 6 – Estágios de degradação dos materiais

AMOSTRAS	1º ESTÁGIO				2º ESTÁGIO			
	T <sub>onset</sub> (°C)	T <sub>endset</sub> (°C)	T <sub>máx</sub> (°C)	Δm	T <sub>onset</sub> (°C)	T <sub>endset</sub> (°C)	T <sub>máx</sub> (°C)	Δm
<b>Alginato</b>	55	92	72	9	219	305	261	33
<b>Gelatina</b>	63	158	106	10	235	436	352	56
<b>Glicerol</b>	135	302	228	97				
<b>Extrato Beterraba</b>	42	171	94	92				

T<sub>inicial</sub> – Temperatura inicial; T<sub>final</sub> – Temperatura final; T<sub>máx</sub> – Temperatura máxima; Δm - Variação da perda de massa.

Figura 10 - Termogramas das embalagens elaboradas



C – T0: embalagem controle sem a adição do extrato de beterraba no tempo zero; C – T4: embalagem controle sem a adição do extrato de beterraba no tempo quatro; T2,5% - T0: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 2,5% do extrato de beterraba no tempo zero; T2,5% - T4: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 2,5% do extrato de beterraba no tempo quatro; T5,0% - T0: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 5,0% do extrato de beterraba no tempo zero; T5,0% - T4: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 5,0% do extrato de beterraba no tempo quatro.

Tabela 7 – Estágios de degradação das embalagens

AMOSTRAS	1º ESTÁGIO				2º ESTÁGIO				3º ESTÁGIO			
	T <sub>inicial</sub> (°C)	T <sub>final</sub> (°C)	T <sub>máx</sub> (°C)	Δm	T <sub>inicial</sub> (°C)	T <sub>final</sub> (°C)	T <sub>máx</sub> (°C)	Δm	T <sub>inicial</sub> (°C)	T <sub>final</sub> (°C)	T <sub>máx</sub> (°C)	Δm
<b>T0</b>												
<b>C</b>	65	177	122	10	209	299	253	26	315	391	345	21
<b>T2,5%</b>	47	155	102	11	204	304	243	29	345	448	367	17
<b>T5,0%</b>	68	174	107	11	206	302	253	30	317	430	355	25
<b>T4</b>												
<b>C</b>	34	150	114	17	182	294	248	31	320	439	348	23
<b>T2,5%</b>	33	146	99	13	184	298	248	30	326	432	367	22
<b>T5,0%</b>	52	172	106	11	198	300	248	29	315	407	348	22

Tinicial – Temperatura inicial; T final – Temperatura final; T máx – Temperatura máxima; Δm Variação da perda de massa.

A análise térmica é uma ferramenta útil para estudar como diversos materiais respondem a mudanças de temperatura (YAO et al., 2022). Na figura 10A, observamos que o aumento da temperatura resulta em uma redução percentual do peso em todas as amostras. Isso pode sugerir uma perda de massa, possivelmente devido à evaporação ou à decomposição térmica dos materiais. Já figura 10B, são notadas variações na derivada termogravimétrica (DTG) conforme a temperatura se eleva.

As curvas de TG mostraram que a degradação térmica ocorreu em três estágios para as amostras no tempo 0 e 4 dias. O primeiro estágio (47 - 177°C) no T0, com uma perda de massa em torno de 10%, que correspondeu à perda de água, com temperatura máxima acima de 100 °C (tabela 6 e 7). Com relação ao T4, a variação de temperatura foi semelhante, com temperatura máxima acima de 100 °C, com um aumento médio da perda de massa em torno de 14%. Neste estágio, a embalagem controle C0 apresentou menor perda de massa em T0 e maior perda de massa em T4. Além disto, comparando os termogramas dos materiais da matriz filmogênica, pode afirmar que neste estágio ocorreu a degradação do extrato de beterraba, que teve um pico em 94 °C, com uma perda de massa de 92%. Bem como, o alginato, teve seu primeiro estágio entre 55 e 72 °C, com uma perda de massa de 9%.

O segundo estágio (204 - 304°C) do T0, com a temperatura máxima em 250 °C, e uma perda de massa média de 28%, tendo a maior perda na amostra C. Já, nas amostras em T4, este estágio diminuiu a temperatura inicial e a temperatura final e máxima foram semelhantes (182 – 300 °C). O comportamento foi semelhante ao primeiro estágio, onde em T4 a maior perda de massa ocorreu na amostra C. Neste estágio, a degradação térmica pode ser atribuída ao plastificante glicerol, que teve um único estágio entre 135 e 302 °C, com a temperatura máxima em torno de 228 °C. Padrão este também observado por Ruiz-Martínez et al (2022) ao caracterizar biofilmes a base de gelatina.

O terceiro estágio (315 – 448 °C) no T0 e (315 – 439 °C) no T4, com a temperatura máxima média em 355 °C e uma perda de massa média de 22% nos tempos T0 e T4, mostrando que o tempo de armazenamento não influenciou na degradação térmica do material base da embalagem. Este estágio em está relacionado à degradação térmica das frações de alginato e gelatina, que apresentaram dois estágios de degradação térmica, com destaque para o segundo estágio (219 – 305 °C) para alginato e (235 – 436 °C) para a gelatina, com perdas de massa elevada em torno de 33% e 56%, respectivamente.

Todas as embalagens apresentaram uma maior perda de massa no segundo estágio de degradação, indicando que são resistentes a altas temperaturas (250 °C), sendo a estabilidade térmica das embalagens influenciada positivamente por suas macromoléculas (alginato e gelatina), que

apresentaram estágio de degradação máxima em temperaturas médias acima de 300 °C (DAUT et al., 2017; MARQUES et al., 2019).

### 4.3.3 Espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (FTIR)

Nas figuras 11 e 12 estão representados os espectros de análise de FTIR dos materiais utilizados nas formulações e das embalagens elaboradas. Os grupos funcionais foram identificados com base no estudo de Pavia et al. (2015).

Figura 11 - Espectros do FTIR dos materiais utilizados nas formulações das embalagens

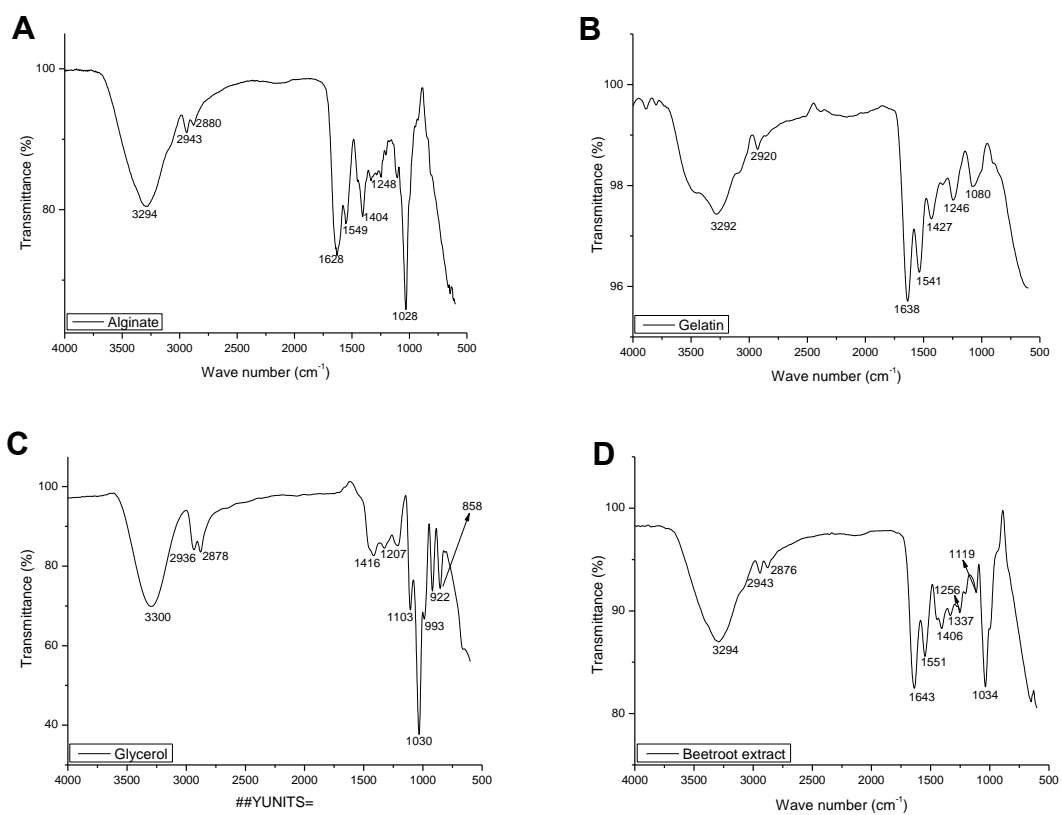
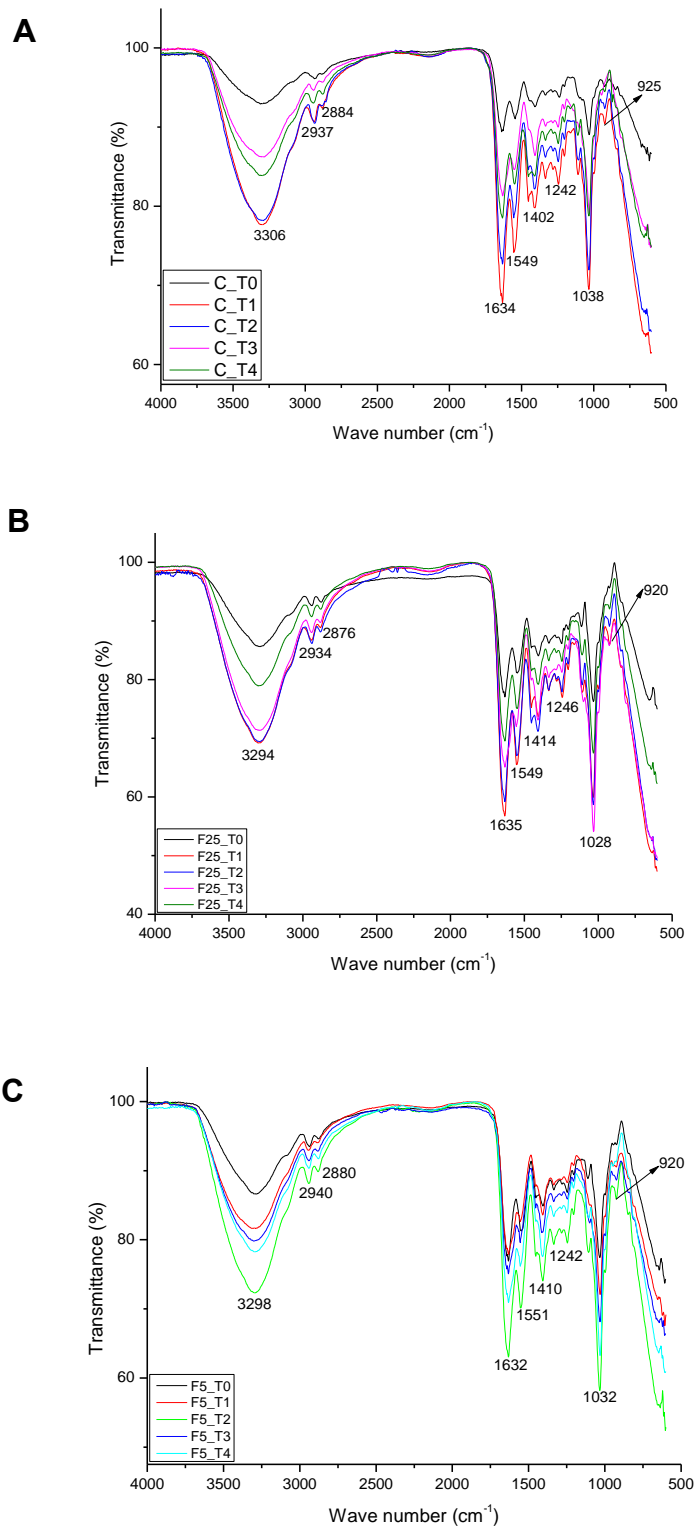


Figura 12 - Espectros do FTIR das embalagens, tratamento controle, T2,5% e T5,0%.



C – T0: embalagem controle no tempo zero; C – T4: embalagem controle tempo quatro; T2,5% - T0: embalagem adicionada de 2,5% do extrato de beterraba no tempo zero; T2,5% - T4: embalagem adicionada de 2,5% do extrato de beterraba no tempo quatro; T5,0% - T0: embalagem adicionada de 5,0% do extrato de beterraba no tempo zero; T5,0% - T4: embalagem adicionada de 5,0% do extrato de beterraba no tempo quatro.

Os espectros do alginato, gelatina, glicerol e extrato de beterraba, bem como as embalagens com e sem adição do extrato foram bastante semelhantes. As bandas representadas entre 3292 e 3000  $\text{cm}^{-1}$  correspondem ao estiramento OH em gelatina, alginato, glicerol, extrato e água, tanto na MP como nas embalagens.

Li et al. (2021) encontraram bandas em torno de 3300  $\text{cm}^{-1}$  e 2937  $\text{cm}^{-1}$  relacionadas à vibração de alongamento de OH e banda de 1636  $\text{cm}^{-1}$  relacionada alongamento da amida, ao caracterizarem filmes a base de gelatina e alginato. Observou-se também uma banda 2920  $\text{cm}^{-1}$  devido a dobramento CH e uma faixa de 1103  $\text{cm}^{-1}$  associada a C-O.

Apesar das bandas presentes no alginato e na gelatina serem coincidentes, a gelatina possui grupos funcionais diferentes, com bandas de 1541 e 1638  $\text{cm}^{-1}$  que correspondem as amidas. Comparando o glicerol com o extrato de beterraba, os picos entre 1000 e 1200  $\text{cm}^{-1}$  são próximas, sendo espectros coincidentes no mesmo comprimento de onda e os possíveis grupos funcionais são álcoois, éteres, ésteres e ácidos carboxílicos. A banda 1643  $\text{cm}^{-1}$  pode ser um estiramento do grupo C=C, que são ligações fortes que podem impactar as propriedades mecânicas enquanto a banda 993  $\text{cm}^{-1}$  é característica da ação plastificante do glicerol.

Bhatia et al. (2022) caracterizaram filmes a base de alginato e caseína, relataram a presença banda 1643  $\text{cm}^{-1}$  também relacionada ao estiramento do grupo C=C. Dang e Yoksan (2021) analisaram filmes de amido com glicerol e observaram uma banda vibracional 994  $\text{cm}^{-1}$  associada a ação plastificante do glicerol e as ligações intramoleculares do grupo hidroxila.

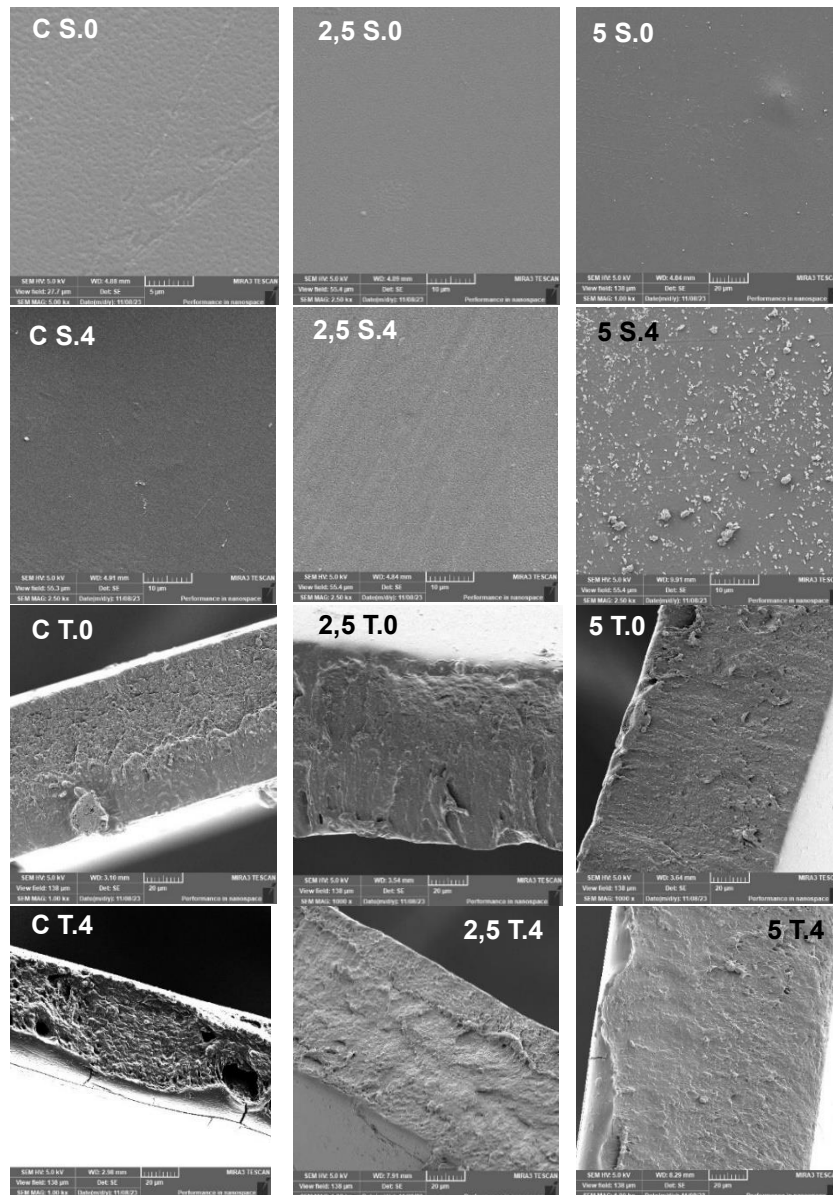
Com relação as embalagens, apesar do grupo controle ter um deslocamento pequeno, os tratamentos não diferem entre si, não conseguindo identificar diferenças mais aprofundadas entre os espectros.

#### **4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura**

Para avaliar as propriedades morfológicas e homogeneidade das embalagens, foi feita a análise de MEV, obtendo as micrografias da superfície e da seção transversal embalagens controle, embalagem adicionada de 2,5% do

extrato de beterraba (T2,5%) e embalagem adicionada de 5,0% do extrato de beterraba (T5,0%) (figura 13).

Figura 13 - Micrografias MEV da superfície e da seção transversal das embalagens.



C S 0- superfície do grupo controle no tempo 0; C S.4- superfície do grupo controle no tempo 4; 2,5 S.0- superfície do grupo T2,5% no tempo 0; 2,5 S.4- superfície do grupo T2,5% no tempo 4; 5 S.0- superfície do grupo T5,0% no tempo 0; 5 S.4- superfície do grupo T5,0% no tempo 4; C T.0- seção transversal do grupo controle no tempo 0; C T.4- seção transversal do grupo controle no tempo 4; 2,5 T.0- seção transversal do grupo T2,5% no tempo 0; 2,5 T.4- seção transversal do grupo T2,5% no tempo 4; 5 T.0- seção transversal do grupo T5,0% no tempo 0; 5 T.4- seção transversal do grupo T5,0% no tempo 4.

As micrografias de superfície das embalagens dos tratamentos C e T2,5% em sua maioria apresentaram superfície e seção transversal homogêneas, sem a presença de ranhuras ou de qualquer outro espaço vazio, com exceção da seção transversal do tratamento controle no tempo 4 que apresentou alguns espaços vazios.

Já, a formulação com 5% do extrato, no tempo zero também se apresentou como homogêneo, mas com o decorrer do armazenamento, foi observada uma mudança em sua morfologia de superfície devido à presença de um biofilme, onde possivelmente ocorreu a migração de microrganismos por consequência da deterioração do filé de tilápia para a superfície da embalagem provocando essa alteração na morfologia.

Drohler et al. (2021) em seu estudo avaliou o efeito da inserção do extrato de beterraba em plásticos ecológicos, sendo observado em sua morfologia alterações de superfície, estratificação e homogeneidade, porém após os filmes serem expostos a câmara UV, o processo de degradação ficou perceptível com rachaduras e fragmentos, porém foram alterações mínimas que afetaram apenas a camada superficial. Mas que não foi observado no presente estudo, mesmo após a exposição do material a deterioração do produto embalado.

#### 4.4 APLICAÇÃO DAS EMBALAGENS INTELIGENTES EM FILÉ DE TILÁPIA

##### 4.4.1 Avaliação do filé de tilápia

Estão presentes na Tabela 8 os valores da composição proximal do filé de tilápia. O resultado para o parâmetro de umidade (79,41 g/100g), como também, o valor de proteína (18,75 g/100g) está em conformidade com a Instrução Normativa nº 21, de 31 de maio de 2017 que orienta que a relação umidade/proteína ( $79,41 \text{ g/100g} / 18,75 \text{ g/100g} = 4,23$ ) deve ser de no máximo 6,0 para peixe.

Tabela 8– Composição proximal do filé de tilápia.

Parâmetros	Filé de Tilápia
	(média ± desvio padrão)
Umidade (g/100g)	79,41 ± 0,83
Proteína (g/100g)	18,75 ± 0,85
Cinzas (g/100g)	1,71 ± 0,23
Lipídeos (g/100g)	1,84 ± 0,28

O teor de umidade é responsável por influenciar as características físico-químicas, atributos sensoriais do peixe como, maciez, sabor e suculência, e qualidade microbiológica, de modo que, quanto maior a umidade, maior a susceptibilidade ao crescimento microbiológico (BASTIANI, 2016). Desse modo, a alta umidade no filé de tilápia torna o produto susceptível a uma deterioração mais acelerada, como também, mais propício ao desenvolvimento microbiológico diminuindo a sua vida de prateleira.

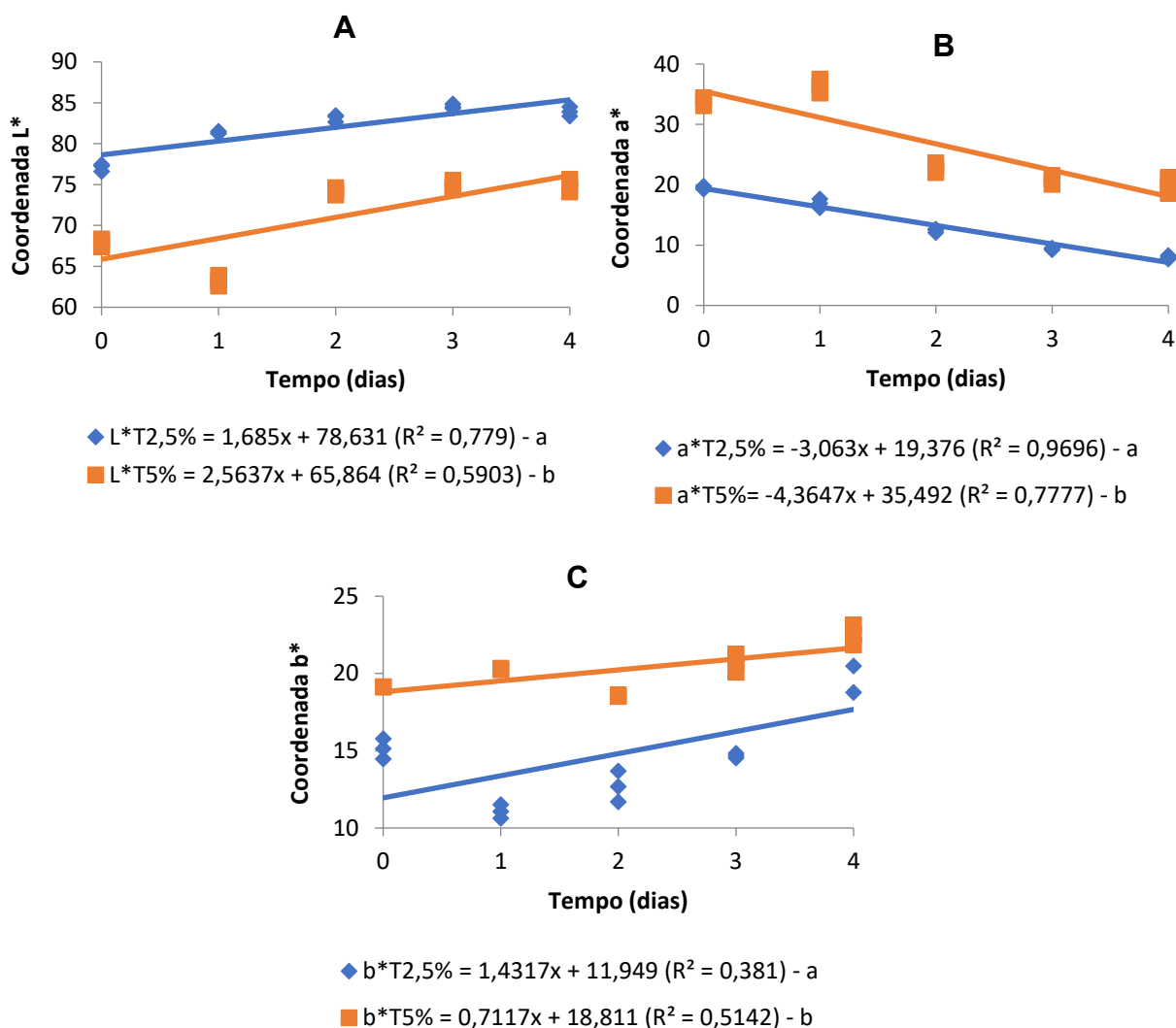
Para os parâmetros de cinzas e lipídeos, foram obtidos valores de 1,71 g/100g e 1,84 g/100g respectivamente. Segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TBCA (2013), o valor médio desses parâmetros é de 1,45 g/100g e 2,07 g/100g, respectivamente. Essa variação nos dados pode ser associada a idade do animal, alimentação, a porção do corte que foi analisada e habitat (LIMA; KIRSCHNIK, 2013).

O teor baixo de lipídeos (1,71 g/100g), caracterizando uma matriz magra, com relação a amostra em questão, pode estar correlacionado a espécie do peixe utilizada, estando menos passível as reações de oxidação lipídica que são responsáveis por acelerar a deterioração e causar alterações indesejáveis ao alimento como, cor e aroma (MADANE et al., 2019).

#### 4.4.2 Colorimetria das embalagens no tempo (0, 1, 2, 3 e 4 dias)

Os parâmetros instrumentais de cor para as embalagens foram analisados nos tempos 0, 1, 2, 3 e 4 dias (Figura 14).

Figura 14 – Análise instrumental de cor ao longo do tempo (dias).



A: coordenada L\* (Luminosidade); B: coordenada a\* (vermelho); C: coordenada b\* (amarelo); T2,5%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 2,5% do extrato de beterraba; T5,0%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 5,0% do extrato de beterraba.

O parâmetro L\* (luminosidade) não apresentou efeito de regressão para o tratamento controle, logo, não foi verificada alteração significativa ao longo do tempo de armazenamento. Por outro lado, houve efeito de regressão linear nos tratamentos T2,5% e T5,0%, os quais diferiram estatisticamente. Porém, o tratamento T5,0% por possuir uma maior concentração do extrato, apresentou

uma coloração mais escura, iniciando o experimento (tempo 0) com valor médio de 67,87. Ao longo do armazenamento sua variação e aumento da luminosidade foi maior que o T2,5%, como demonstrado pela inclinação da reta, indicando mudanças visuais para o consumidor através das embalagens inteligentes.

O fato do tratamento controle (C) não ter tido efeito de regressão linear para o parâmetro  $L^*$ , pode ser justificado pela ausência do extrato de beterraba, o que fez com que a embalagem permanecesse com os mesmos valores médios do início (95,77) ao final (95,23) do experimento.

Este mesmo padrão pode ser observado para os parâmetros  $a^*$  (vermelho) e  $b^*$  (amarelo), em que também só foi constatado efeito de regressão linear nos dois tratamentos adicionados do extrato de beterraba (T2,5% e T5,0%), com diferença estatística entre eles.

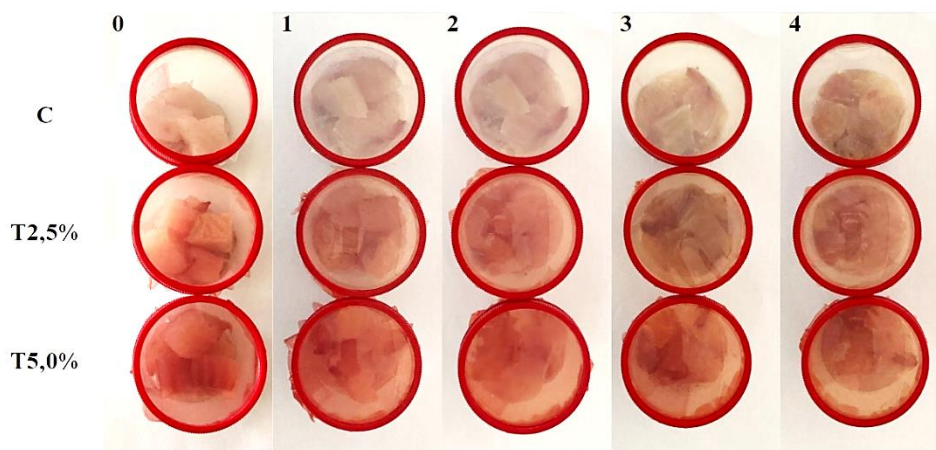
Em relação ao parâmetro  $a^*$ , observou-se diferença estatística entre as equações das retas, caracterizadas por um decréscimo da pigmentação com o passar dos dias para os tratamentos T2,5% e T5,0%, sendo o decréscimo mais intenso no T5% ( $\beta_1 = -4,3647$ ) em relação ao T2,5% ( $\beta_1 = -3,063$ ). Tal resultado pode ser justificado pela presença das betacianinas (BC), responsáveis por conferir a coloração vermelha do extrato de beterraba. As BC ao passo que têm contato com as bases nitrogenadas, que foram liberadas ao longo do armazenamento pelo filé de tilápia de acordo com o seu grau de deterioração, são reduzidas a betaxantinas (BX), pigmento responsável por originar a cor amarela (KLUGE; PRECZENHAK, 2016).

Desse modo, com a diminuição da intensidade da cor vermelha, foi possível observar um aumento na pigmentação do parâmetro  $b^*$ , ficando então mais visível a coloração amarela nas embalagens, sendo este um indicativo de que quanto mais intensa a presença da cor amarela, maior o grau de deterioração do filé de tilápia. Esta mudança colorimétrica reforça ainda mais a ação e funcionamento das embalagens elaboradas como inteligentes.

Segundo Romano et al (2020), sendo o  $\Delta E$  (diferença total de cores) entre os parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , para valores de  $\Delta E$  entre 2 – 10 já são perceptíveis ao olho humano. Portanto, as embalagens desenvolvidas neste estudo estão aptas para serem embalagens inteligentes e interajam de forma

confiável com o consumidor, uma vez que os valores de  $\Delta E$  no tempo 4 (tabela 9) foram de: 3,70 para o tratamento C; 22,24 para o tratamento T2,5% e 32,85 para o tratamento T5,0%.

Figura 15 – Acompanhamento da cor das embalagens no tempo (0, 1, 2, 3 e 4 dias)



C: embalagem controle sem a adição do extrato de beterraba; T2,5%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 2,5% do extrato de beterraba; T5,0%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 5,0% do extrato de beterraba.

Tabela 9 – Valores de  $\Delta E$  para cada tratamento ao longo do tempo.

	$\Delta E$	$\Delta E$	$\Delta E$	$\Delta E$	$\Delta E$
TRATAMENTOS	(Dia 0)	(Dia 1)	(Dia 2)	(Dia 3)	(Dia 4)
<b>C</b>	4,23	4,76	4,61	4,29	3,70
<b>T2,5%</b>	31,49	24,61	22,09	22,77	22,24
<b>T5,0%</b>	49,02	51,29	38,14	35,57	32,85

C: embalagem controle sem a adição do extrato de beterraba; T2,5%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 2,5% do extrato de beterraba; T5,0%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 5,0% do extrato de beterraba;  $\Delta E$  – diferença total de cores.

Foi observado que o tratamento T2,5% evidenciou a cor amarela das embalagens mais rapidamente ( $\beta_1$ : 1,4317 vs 0,7117) (Figura 13C), podendo ser justificado por ter uma menor concentração do extrato de beterraba em sua formulação, favorecendo para que as reações de interação entre os compostos liberados pelo filé de tilápia e o extrato presente na embalagem, em que a betacianina (vermelho) é reduzida a betaxantina (amarelo), ocorressem de maneira mais acelerada. Enquanto, o tratamento T5,0% precisaria de mais

tempo para mudança mais intensa da coloração de vermelha para amarela, uma vez que, possuía a maior concentração de extrato.

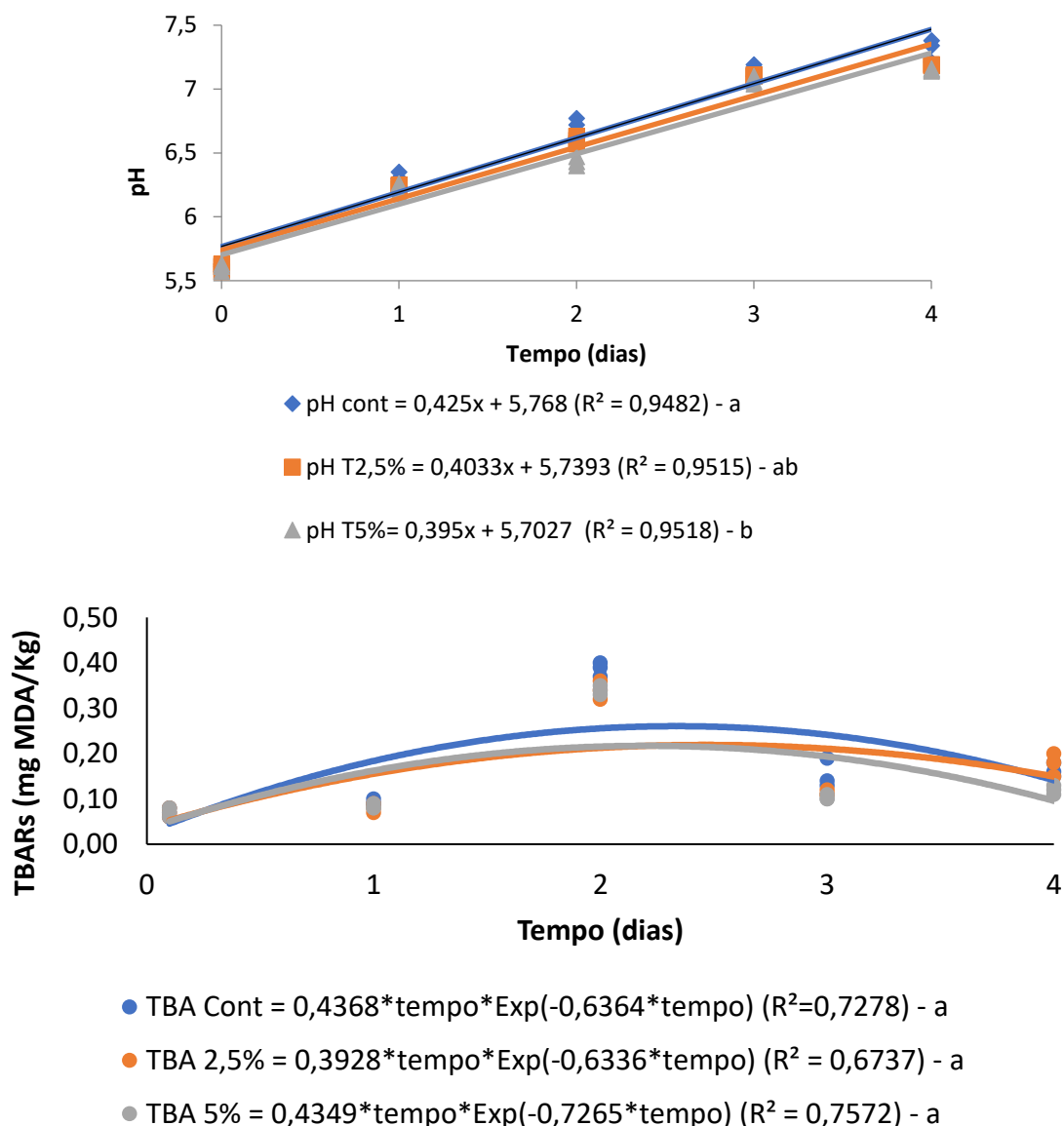
Padrão semelhante foi obtido por Naghdi et al (2021) ao aplicarem um filme inteligente contendo betacianina do extrato de bougainvillea em espadilha fresca. Ao longo dos dias puderam observar a mudança de cor da embalagem de vermelho para amarelo com valores de  $a^*$  (vermelho) diminuindo e valores de  $b^*$  (amarelo) aumentando à medida que o filé de tilápia deteriorou.

Sendo assim, para os parâmetros de cor avaliados na embalagem, foi observado (figura 15), que as embalagens que continham a presença do extrato foram mudando da cor vermelha ( $a^*$ ) para uma coloração laranja/amarelado ( $b^*$ ), diminuindo por consequência os valores de  $a^*$  e aumentando os valores de  $b^*$ , essas alterações puderam ser observadas mais rapidamente nas embalagens com 2,5% do extrato de beterraba, porém o tratamento com 5% do extrato apresentou diferença de coloração mais facilmente identificada ao olho humano, sendo este grupo também que melhor controlou as mudanças para os padrões avaliados.

#### **4.4.3 Análises de pH e oxidação lipídica no tempo (0, 1, 2, 3 e 4 dias)**

Para o parâmetro de pH houve efeito de regressão linear para os três tratamentos (C, T2,5% e T5,0%), no qual o pH aumentou de forma menos intensa no T5% em relação ao Controle ( $\beta_1 = 0,395$  vs  $0,425$ ). Tal aumento está relacionado ao fato de o pH ter relação direta com a estabilidade dos alimentos, como também, possuir correlação com atividades microbiológicas e reações de deterioração, formando compostos como histaminas, aminas e amônia (TEXEIRA; GARCIA, 2017). Além disso, nota-se que o T5% atuou retardando a elevação do pH das tilápias, tendo como consequência um aumento em sua vida útil.

Figura 16 – Análises de pH e oxidação lipídica ao longo do tempo (dias).



C: embalagem controle sem a adição do extrato de beterraba; T2,5%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 2,5% do extrato de beterraba; T5,0%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 5,0% do extrato de beterraba.

Pode-se destacar que o tratamento C teve a maior variação nos valores de pH durante o experimento, porém não houve diferença estatística para o tratamento T2,5%, mas diferiu estatisticamente do tratamento T5,0%, que continham o extrato de beterraba mais concentrado em sua formulação, retardando um pouco mais a elevação nos níveis do pH.

Segundo a Sallam et al (2007) o limiar máximo aceitável para pH em peixes e pescados é de 6,5, sendo este um bom indicador de frescor, pois começam com níveis mais baixos e vão elevando à medida que o produto vai sendo deteriorado, estando relacionado também ao crescimento bacteriano. O valor inicial para o filé de tilápia foi de 5,60. No 4º dia de experimento, a tilápia já estava com pH de 7,15 para o tratamento T5,0%; 7,19 para o tratamento T,25% e 7,31 para o tratamento controle, níveis estes acima do limite máximo aceitável, caracterizando um produto deteriorado.

Para a análise de oxidação lipídica (TBARs), observou-se um efeito de regressão exponencial para os três tratamentos (C, T2,5% e T5,0%), com destaque para o 2º dia do experimento que obteve os maiores valores de oxidação, seguido de uma queda. Apesar de ter existido um pico de oxidação, os valores de um modo geral são baixos atingindo 0,4 mg MDA/kg. Segundo Chouliara et al. (2008), apenas alimentos com produção de malonaldeído maiores que 3 mg MDA/kg são considerados inapropriados para o consumo.

O ácido tiobarbitúrico (TBA) se trata de um índice de oxidação lipídica que mede a concentração de malonaldeído (MDA), envolvendo os hidroperóxidos, que são os primeiros reagentes de ácidos graxos ao oxigênio. Quando existe a redução dos hidroperóxidos em produtos de oxidação secundária como os aldeídos, pós oxidação lipídica, explica altos níveis de TBARs. Como isto não ocorreu, possivelmente pode estar relacionado ao bloqueio da quebra inicial dos hidroperóxidos e interação entre os radicais livres, ou a reação de oxidação proteica, ocorrendo em paralelo a oxidação lipídica, na qual os produtos intermediários da oxidação proteica, reagiram com o MDA para a formação dos compostos carbonílicos presentes na fase final da oxidação proteica. (FERNÁNDEZ et al., 1997; CHANG et al., 2002; CHAIJAN et al., 2006; ESTÉVEZ, 2011; EL-BELTAGI et al., 2022).

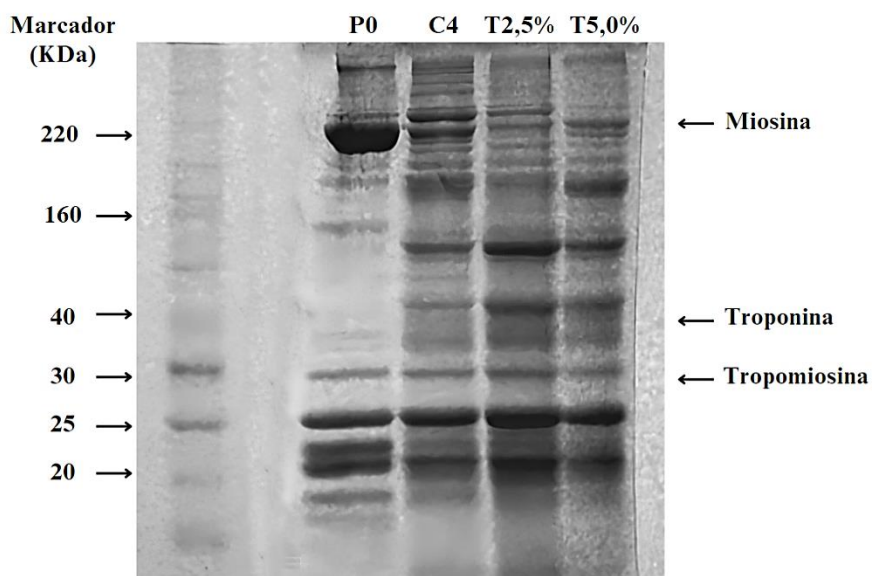
Os resultados obtidos para pH (5,63 – 7,38) e TBARs (0,4 mg MDA/Kg) concordam com El-Beltagi et al (2022) que utilizaram extrato seco da casca da beterraba vermelha para manutenção da qualidade do filé de tilápia, em que obtiveram valor inicial de 5,72 e final de 7,08 para o pH, enquanto para TBARs o valor de 0,5 mg MDA/Kg se manteve constante. O valor inicial do pH pode ser

justificado devido a fatores como, tipo de dieta oferecida, estresse durante a captura/abate e época em que ocorreu a pesca.

#### 4.4.4 Perfil eletroforético por SDS-PAGE

Os padrões eletroforéticos de proteínas do filé de tilápia com diferentes intensidades foram mostrados na figura 17.

Figura 17– Perfil eletroforético da tilápia nos tempos 0 e 4.



Eletroforese SDS-PAGE. P0 – Tilápia no tempo 0; C4 – Tilápia no tempo 4 aplicada a embalagem controle; T2,5% - Tilápia no tempo 4 aplicada a embalagem com adição de 2,5% do extrato de beterraba; T5,0% - Tilápia no tempo 4 aplicada a embalagem com adição de 5,0% do extrato de beterraba.

A análise das frações proteicas do filé de tilápia no tempo zero e tempo quatro já com a embalagem inteligente, apresentou padrão diferente entre as amostras para algumas proteínas. A variação na distribuição da massa molecular da fração proteica no filé de tilápia foi de 220 a 20 KDa.

De acordo com a imagem, as bandas proteicas mais evidentes são relacionadas a cadeia pesada de miosina, encontrada acima de 220 KDa. É observado que no tempo zero a presença dessa proteína era mais evidente quando comparado ao tempo quatro, sinalizando a sua degradação. Canção et al (2022) também observaram a presença da miosina ao analisarem a tilapia e bacalhau do pacífico. A banda de 25 kDa foi identificada como fragmentos da cadeia de miosina, também observado em proteínas miofibrilares de peixes

(BAO et al., 2020). Zhang e Chang (2021) relataram resultados próximos para as proteínas miofibrilares do bagre.

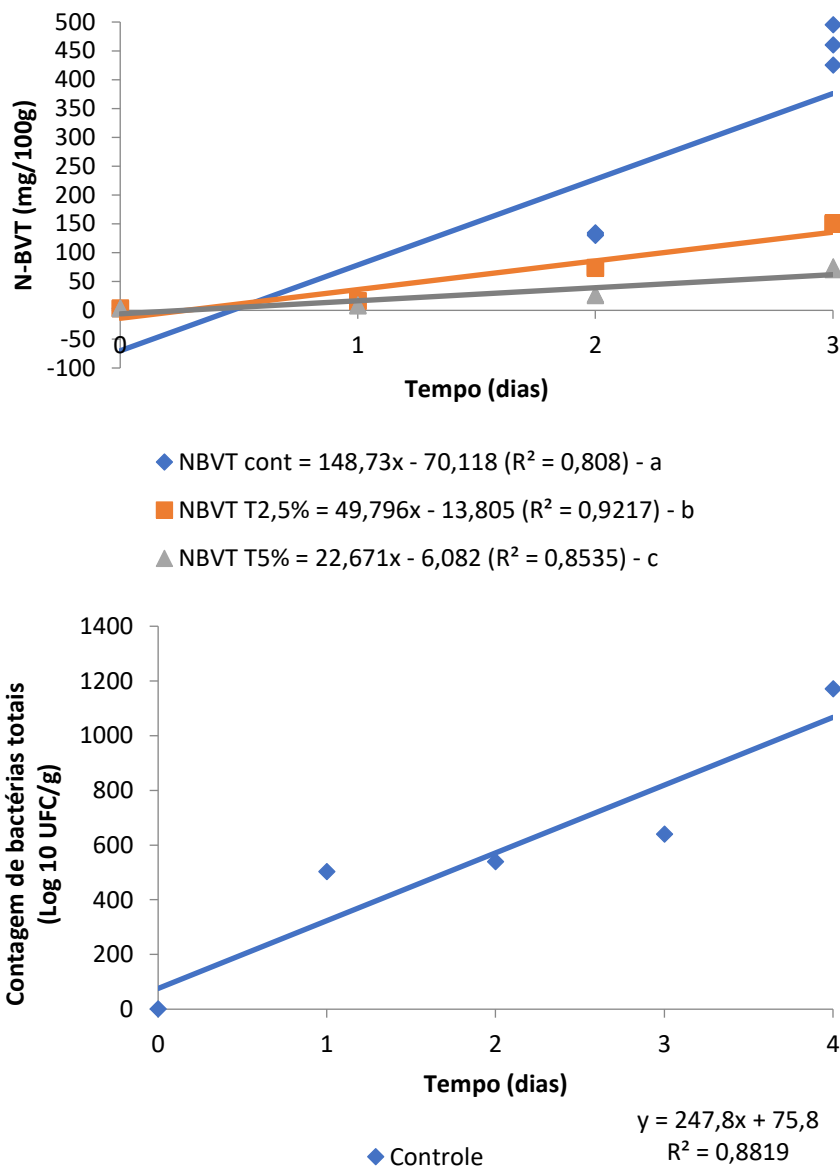
As bandas de 40 a 30 kDa possivelmente são cadeias de tropomiosina e troponina, uma revela menor intensidade quando comparada a banda de miosina. Já a faixa de peso molecular perto a 160 kDa é relacionado a compostos proteicos oriundos da degradação das moléculas de miosina, frequentemente identificado em peixes frescos. A quebra da miosina acontece por meio da ação de enzimas proteolíticas da miosina ocorre através da ação de enzimas proteolíticas como calpaína e catepsina (KAEWPRACHUP et al., 2018). Lima et al (2022) também observaram a presença de bandas semelhantes às encontradas neste estudo, ao em peixe dourado e cavala da serra espanhola.

Com o perfil eletroforético da matriz estudada foi observada a degradação de algumas proteínas ao longo do tempo, sendo evidenciado pelo aparecimento de outras bandas proteicas que não foram visualizadas no tempo zero sem alteração identificável entre os tratamentos independente da embalagem em que a tilápia estava embalada.

#### **4.4.5 Análises de NBVT e contagem total de bactérias ao longo do tempo (0, 1, 2, 3 e 4 dias)**

O valor inicial (tempo 0) de NBVT no filé de tilápia foi de 2,92 mg/100g e de 1 UFC/g para contagem total de bactérias, apresentando um excelente frescor do produto. Shi et al (2021) analisaram o frescor do filé de tilápia utilizando filmes inteligentes contendo antocianinas do extrato da casca de mirtilo, obtendo valor inicial de NBVT de 8,24 mg/100g e 21,88 mg/100g com 24 h, e valores de 2,95 UFC/g para contagem total de bactérias.

Figura 18– Análises de NBVT e contagem total de bactérias ao longo do tempo (dias).



C: embalagem controle sem a adição do extrato de beterraba; T2,5%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 2,5% do extrato de beterraba; T5,0%: embalagem elaborada com a formulação base adicionada de 5,0% do extrato de beterraba.

Foi observado efeito de regressão linear para o parâmetro das bases nitrogenadas voláteis totais (NBVT) nos três tratamentos (C, T2,5% e T5,0%), os quais diferiram estatisticamente, com destaque para o tratamento controle. Este obteve, após 72 horas, um valor médio de 400 mg/100g de NBVT, enquanto o máximo permitido segundo a Instrução Normativa (IN) nº 21, de 31 de maio de

2017 é de 30 mg/100g para o peixe ser considerado apto para o consumo (Brasil, 2017).

Sendo assim, a ausência do extrato da beterraba no grupo controle influenciou para que o processo de deterioração do filé acontecesse de maneira mais acelerada, enquanto, os tratamentos 2,5% e 5,0% tiveram esse aumento mais controlado ( $\beta_1 = 49,796$  e  $22,671$ ), em especial o grupo que possuía a embalagem com a maior concentração do extrato (5%), estando até o segundo dia de experimento com valor de 21,62 mg/100g dentro do limite exigido pela IN 21 (Brasil, 2017).

Já no 3º dia do experimento os valores de NBVT para os três tratamentos estavam bem acima do limite permitido de 30 mg/100g (402,45 mg/100g para o tratamento controle, 157,56 mg/100g para o tratamento 2,5% e 84,17 mg/100g para o tratamento 5,0%), não sendo analisado no 4º dia de experimento.

No tocante a contagem total de bactérias houve efeito de regressão linear apenas para o tratamento controle, podendo observar já no dia 1 de experimento um crescimento acelerado na quantidade de unidades formadoras de colônia (468 UFC/g). Podendo afirmar o efeito antibacteriano da embalagem devido as betalainas, presentes na embalagem

As bases nitrogenadas voláteis totais servem como indicador do grau de deterioração microbiana de pescados por meio da quantificação das aminas, a amônia está na primeira fase de degradação e a trimetilamina é a principal responsável pelas alterações nos valores de NBVT. Compostos orgânicos presentes no peixe são liberados, possibilitando que os microrganismos se proliferem ainda mais, degradando as proteínas a gases nitrogenados e provocando alterações no pH do filé de tilápia, estando todos estes fatores intimamente relacionados com o processo de deterioração do produto (CICERO et al., 2014; ZAM et al., 2022).

Desse modo, os gases nitrogenados que são liberados durante esse processo, interagem com as betalaínas presentes na embalagem aplicada, de modo a sinalizar ao consumidor a qualidade da tilápia através da mudança de coloração da embalagem. Por isso a importância da caracterização inicial da tilápia, para garantir um produto de boa qualidade e que não estivesse deteriorado antes da aplicação na embalagem.

## 5 CONCLUSÃO

O extrato de beterraba exibiu-se como uma interessante fonte de betalaínas com altas concentrações de betalaínas, compostos antioxidantes, além de um excelente potencial corante e indicativo da qualidade do filé de tilápia quando aplicado as embalagens inteligentes.

Com o desenrolar do experimento, observou-se que os filés de tilápia que estavam embalados com as embalagens que continham extrato de beterraba (T2,5% e T5,0%) tiveram alterações diminuídas para os parâmetros de pH, NBVT e contagem total de bactérias quando comparados ao grupo controle (ausência do extrato) que obteve mudanças consideráveis na qualidade do filé de tilápia.

Para os parâmetros de cor avaliados na embalagem, foi observado que ao passo que o filé de tilápia degradou, as embalagens que continham a presença do extrato foram mudando da cor vermelha ( $a^*$ ) para uma coloração laranja/amarelado ( $b^*$ ), diminuindo por consequência os valores de  $a^*$  e aumentando os valores de  $b^*$ , essas alterações puderam ser observadas mais rapidamente nas embalagens com 2,5% do extrato de beterraba, porém o tratamento com 5% do extrato apresentou diferença de coloração mais facilmente identificada ao olho humano, sendo este grupo também que melhor controlou as mudanças para os padrões avaliados.

Nesse contexto, concluiu-se que a embalagem inteligente adicionada de betalaína extraídas de beterraba (*Beta vulgaris* L.) como indicador de frescor de peixe foi efetiva para indicar a qualidade do peixe através de modificações colorimétricas das embalagens inteligentes, bem como, retardou processos de deterioração da matriz analisada. Porém, outros estudos podem ser realizados para avaliar a eficiência da embalagem em temperatura de refrigeração, bem como, análises de oxidação proteica e elaboração de uma embalagem comercial para dar uma nova roupagem ao trabalho.

## 6. REFERÊNCIAS

ADILAH, Z.A. Maryam; JAMILAH, B.; HANANI, Z.A. Nur. Functional and antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract for active packaging. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 74, p. 207-218, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.017>.

ALIZADEH-SANI, Mahmood *et al.* PH-responsive color indicator films based on methylcellulose/chitosan nanofiber and barberry anthocyanins for real-time monitoring of meat freshness. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 166, p. 741-750, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.231>

ALMEIDA, J. N. et al. Suplementação de selênio quelatado na ração e qualidade da carne de frango. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, n. 2, p. 3117-3122, 2012.

ALAMDARI, Navid Etebari *et al.* A novel paper-based and pH-sensitive intelligent detector in meat and seafood packaging. **Talanta**, [S.L.], v. 224, p. 121913, mar. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121913>.

ANVISA. RDC nº 91/2001 de 11 de maio de 2001. Ministério da Saúde - MS. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa**

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC International (19 th ed.). Washington, D. C.: AOAC International, 2012.

ASTM. Standard test method of water vapor transmission of materials. In: Annual book of American Standard Testing Methods. Philadelphia; 95-96; 1995.

AYKIN-DINÇER, E; ERBAS, M. Effect of packaging method and storage temperature on quality properties of cold-dried beef slices. **Lwt**, [S.L.], v. 124, p. 109171, abr. 2020. **Elsevier BV**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109171>.

Bao, Y., Wang, K., Yang, H., Regenstein, JM, PerErtbjerg, Zhou, P. : Degradação de proteínas do músculo da carpa preta ( *Mylopharyngodon piceus* ) durante o armazenamento refrigerado. *Alimentos Chimi* 308, 125576 (2020).

BALDIN, J. C. *et al.* Microencapsulated jabuticaba (*Myciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidante and antimicrobial activity. **Meat Science**, 118, 15-21.

BERTOL, T. M. Estratégias nutricionais para melhoria da qualidade da carne suína. Embrapa Suínos e Aves-Capítulo em livro científico (ALICE), 2019.

BHATIA, Saurabh *et al.* Preparation and Physiochemical Characterization of Bitter Orange Oil Loaded Sodium Alginate and Casein Based Edible

Films. **Polymers**, [S.L.], v. 14, n. 18, p. 3855, 15 set. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/polym14183855>.

BHARGAVA, Nitya; SHARANAGAT, Vijay Singh; MOR, Rahul s; KUMAR, Kshitiz. Active and intelligent biodegradable packaging films using food and food waste-derived bioactive compounds: a review. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 105, p. 385-401, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.015>.

BITTENCOURT, V. R. et al. Embalagens ativas como novas abordagens sustentáveis e ambientalmente corretas: uma revisão da literatura. *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2, 217-232. Editora Científica Digital, 2021.

BRASIL (2017). Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 21, de 31 de maio de 2017

CAI, Y; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant Activity of Betalains from Plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51, n.8, p.2288-2294, 2003.

CHAIJAN, M.; Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Faustman, C. Alterações de lipídios no músculo da sardinha (*Sardinella gibbosa*) durante o armazenamento gelado. *Química Alimentar*. **2006**, 99, 83–91.

CHANG, L.-W.; Iene, W.-J.; Huang, SC; Duh, P.-D. Atividade antioxidante da casca de gergelim. *Química Alimentar*. **2002**, 78, 347–354.

CHEN, J *et al.* A critical review on the health benefits of fish consumption and its bioactive constituents. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 369, p. 130874, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130874>.

CHOI, I. et al. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food chemistry*, v. 218, p. 122-128, 2017.

CHOULIARA, Eirini *et al.* Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes. **European Food Research And Technology**, [S.L.], v. 226, n. 4, p. 877-888, 30 mar. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-007-0610-3>.

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

CORDEIRO, A. M. T. M.; MEDEIROS, M. L.; SANTOS, N. A.; SOLEDADE, L. E. B.; PONTES, L. F. B. L.; SOUZA, A. L.; QUEIROZ, N.; SOUZA, A. G. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract: Thermal study evaluation of the antioxidante effect on vegetable oils. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2012.

CUNHA, Débora Cristina *et al.* Comercialização e consumo de pescado na região metropolitana de Cuiabá-MT: percepção da qualidade, formas de apresentação dos produtos e destino dos resíduos. **Brazilian Journal Of Food Research**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 26, 1 jan. 2021. Universidade Tecnológica Federal do Parana (UTFPR). <http://dx.doi.org/10.3895/rebrapa.v12n1.14560>.

DANG, Khanh Minh *et al.* Thermoplastic starch blown films with improved mechanical and barrier properties. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 188, p. 290-299, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.027>.

DAUDT, R.M.; SINROD, A.J.G.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I.C.; MARCZAK, L.D.F.; MCHUGH, T.H.. Development of edible films based on Brazilian pine seed (*Araucaria angustifolia*) flour reinforced with husk powder. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 71, p. 60-67, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.04.033>.

DIRPAN, Andi *et al.* Application of an Intelligent Sensor and Active Packaging System Based on the Bacterial Cellulose of *Acetobacter xylinum* to Meat Products. **Sensors**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 544, 11 jan. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/s22020544>.

DUARTE, Ana M *et al.* Quality Assessment of Chilled and Frozen Fish—Mini Review. **Foods**, [S.L.], v. 9, n. 12, p. 1739, 25 nov. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/foods9121739>.

DROHSLER, Petra *et al.* Effect of an Antioxidant Based on Red Beetroot Extract on the Abiotic Stability of Polylactide and Polycaprolactone. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 17, p. 5190, 27 ago. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26175190>.

EL-BELTAGI, H. S. *et al.* Phytochemical Characterization and Utilization of Dried Red Beetroot (*Beta vulgaris*) Peel Extract in Maintaining the Quality of Nile Tilapia Fish Fillet. **Antioxidants**, v. 11, n. 5, 1 maio 2022.

EMBRAPA. Central de inteligência de aves e suínos, 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas/suinos/brasil>. Acesso em: 04 ago. 2021. Erva-Mate (*IlexParaguariensis*). Universidade de Brasília, Brasília.

EMBRAPA. **Hortaliça não é só salada**. 2010. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortaliça-nao-e-so-salada/beterraba#:~:text=A%20beterraba%20%C3%A9%20uma%20hortali%C3%A7a,de%20uma%20por%C3%A7%C3%A3o%20do%20caule>. Acesso em: 18 jul. 2023

ESFAHANI, Azadeh *et al.* Fabrication and characterization of a smart film based on cassava starch and pomegranate peel powder for monitoring lamb meat freshness. **Food Science & Nutrition**, [S.L.], v. 10, n. 10, p. 3293-3301, 13 maio 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/fsn3.2918>.

ESTÉVEZ, Mario *et al.* Protein carbonyls in meat systems: a review. **Meat Science**, [S.L.], v. 89, n. 3, p. 259-279, nov. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.025>.

FERNÁNDEZ, J.; Pérez-Álvarez, JA; Fernández-López, JA Teste de ácido tiobarbitúrico para monitoramento da oxidação lipídica em carnes. *Química Alimentar*. **1997**, 59, 345–353.

FIROUZ, M. S.; MOHI-ALDEN, K.; OMID, M. A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: research and development. **Food Research International**, [S.L.], v. 141, p. 110113, mar. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110113>.

FLORES-MANCHA, M. A. *et al.* Characterization of Beet Root Extract (Beta vulgaris) Encapsulated with Maltodextrin and Inulin. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 23, p. 5498, 24 nov. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25235498>.

FOLCH, J.; LESS, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v 226, p. 497-509, 1957.

FORGHANI, S.; ALMASI, H.; MORADI, M. Electrospun nanofibers as food freshness and time-temperature indicators: a new approach in food intelligent packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.L.], v. 73, p. 102804, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102804>.

GASTI, T. *et al.* Smart biodegradable films based on chitosan/methylcellulose containing Phyllanthus reticulatus anthocyanin for monitoring the freshness of fish fillet. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 187, p. 451-461, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.128>.

GANDÍA-HERRERO, F.; ESCRIBANO, J.; GARCÍA-CARMONA, F. Biological activities of plant pigments betalains. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 56, n. 6, p. 937-945, 2016.

GAWLIK-DZIKI, U. *et al.* Leaves of white beetroot as a new source of antioxidant and anti-inflammatory compounds. **Plants**, v. 9, n. 8, p. 1–14, 1 ago. 2020.

GENGATHARAN, A.; DYKES, G. A.; CHOO, W. S. Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. **LWT-Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 645-649, 2015.

GHAANI, M. *et al.* An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, p. 1-11, 2016.

GURUNATHAN, K *et al.* Effect of aerobic and modified atmosphere packaging on quality characteristics of chicken leg meat at refrigerated storage. *Poult Sci*. 2022 Dec;101(12):102170. doi: 10.1016/j.psj.2022.102170. Epub 2022 Sep 10. PMID: 36252502; PMCID: PMC9579415.

HAGHIGHI, H. *et al.* Caracterização abrangente de filmes ativos de mistura de quitosana-gelatina enriquecidos com diferentes óleos essenciais. **Hidrocolagem Alimentar**. 2019, 95, 33–42

HERNÁNDEZ SALUEÑA, B. *et al.* CIELAB color paths during meat shelf life. **Meat Science**, v. 157, 1 nov. 2019.

HERNÁNDEZ-AGUIRRE, O. A. *et al.* Extraction and stabilization of betalains from beetroot (*Beta vulgaris*) wastes using deep eutectic solvents. **Molecules**, v. 26, n. 21, 1 nov. 2021.

HIDALGO, A. *et al.* Microencapsulates and extracts from red beetroot pomace modify antioxidant capacity, heat damage and colour of pseudocereals-enriched einkorn water biscuits. **Food Chemistry**, v. 268, p. 40–48, 1 dez. 2018.

HODGES, D. M. *et al.* Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, v. 207, n. 4, p. 604-611, 1999. Jorge, N. *Embalagens para Alimentos*. 1. ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 198p. 2013.

HOWARD, Jay E. *et al.* Amaranth as a natural food colorant source: survey of germplasm and optimization of extraction methods for betalain pigments. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 13, p. 1-13, 21 set. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2022.932440>

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://www.cidade-brasil.com.br/municipio-bananeiras.html>. Acesso em: 06 dez. 2023

ICMSF, Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos, Planos de amostragem de peixes e mariscos, em Microorganismos em Alimentos. Amostragem para Análise Microbiológica: Princípios e Aplicações Científicas, Vol.2,2ª ed., ed. pelo ICMSF. University of Toronto Press, Toronto, pp.

JALALI, Ali *et al.* Integrative programming for simulation of packaging headspace and shelf life of fresh produce. **Methodsx**, [S.L.], v. 8, p. 101514, 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mex.2021.101514>.

JANČI, Tibor *et al.* Influence of Fish Handling Practices Onboard Purse Seiners on Quality Parameters of Sardines (*Sardina pilchardus*) during Cold Storage. **Biomolecules**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 192, 17 jan. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biom13020192>.

JASPAL M, H. *et al.* Effect of Packaging Type and Aging on the Meat Quality Characteristics of Water Buffalo Bulls. *Animals (Basel)*. 2022 Jan 6;12(2):130. doi: 10.3390/ani12020130. PMID: 35049754; PMCID: PMC8772538.

KAEWPRACHUP, O, K. *et al.* Caracterização de filme de proteína miofibrilar de peixe incorporado com extrato de catequina-Kradon. *Int J Biol Macromol* 107, 1463–1473 (2018).

KLUGE, R. A; PRECZENHAK, A. P. BETALAÍNAS EM BETERRABA MINIMAMENTE PROCESSADA: PERDAS E FORMAS DE PRESERVAÇÃO. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 17, núm. 2, pp. 175-192, 2016. Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C.

LANA, M. M.; TAVARES, S. A. **50 Hortaliças: como comprar, conservar e consumir**. 2. ed. rev. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2022. 209 p. il. Color

LI, Shuo *et al.* Characterization and Application in Packaging Grease of Gelatin–Sodium Alginate Edible Films Cross-Linked by Pullulan. **Polymers**, [S.L.], v. 14, n. 15, p. 3199, 5 ago. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/polym14153199>.

LIMA, DAS, Santos, MMF, Sousa, AMBL *et al.* O Subproduto do Corte da Filetagem de Peixe na Serra Fita: Qualidade Nutricional e Potencial Tecnológico. *Resíduos de Biomassa Valor* **13**, 4575–4584 (2022). <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01818-6>

LIMA, Leandro Kanamaru Franco de; KIRSCHNIK, Peter Gaberz. Composição, alterações pós-morte e métodos de conservação do pescado. **Embrapa**, Si, v. 12, p. 401-421, jul. 2013.

LOMBARDELLI, Claudio *et al.* Betalain Extracts from Beetroot as Food Colorants: effect of temperature and uv-light on storability. **Plant Foods For Human Nutrition**, [S.L.], v. 76, n. 3, p. 347-353, 5 ago. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11130-021-00915-6>.

MADANE, P *et al.* Dragon fruit (*Hylocereus undatus*) peel as antioxidant dietary fibre on quality and lipid oxidation of chicken nuggets. *Journal Of Food Science and Technology*, v.57, n. 4, p. 1449-1461, 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-019-04180-z>

MALLMANN, Ronan Michael *et al.* Elaboração de produto cárneo empanado de carne suína com adição de fibra: caracterização microbiológica, físico-química, e análise sensorial. *Fag journal of health (fjh)*, v. 1, n. 1, p. 69-80, 2019.

MARIUTTI, Lilian Regina Barros; BRAGAGNOLO, Neura. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*, v. 68, n. 1, p. 1-11, 2009.

MARTIN, Doriane *et al.* Volatilome Analysis and Evolution in the Headspace of Packed Refrigerated Fish. **Foods**, [S.L.], v. 12, n. 14, p. 2657, 10 jul. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/foods12142657>.

MARQUES, Geovana Silva; CARVALHO, Guilherme Ribeiro de; MARINHO, Nelson Potenciano; MUNIZ, Graciela Inês Bolzón de; JORGE, Luiz Mário de Matos; JORGE, Regina Maria Matos. Production and characterization of starch-based films reinforced by ramie nanofibers (*Boehmeria nivea*). **Journal Of**

**Applied Polymer Science**, [S.L.], v. 136, n. 36, p. 1-11, 8 maio 2019. Wiley.  
<http://dx.doi.org/10.1002/app.47919>

MEI, F., Liu, J., Wu, J., Duan, Z., Chen, M., Meng, K., ... Zhao, M. (2020). Collagen peptides Isolated from *Salmo salar* and *Tilapia nilotica* skin accelerate wound healing by altering cutaneous microbiome colonization via upregulated NOD2 and BD14. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(6), 1621–1633. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b0800210>.

MEIRELES, Bruno Raniere Lins et al. Avaliação do potencial corante e antioxidante de betalaínas (*Beta vulgaris*, L.) em mortadela de frango. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 7, p. e237973995-e237973995, 2020.

MÜLLER, Patricia *et al.* Intelligent Packaging in the Food Sector: a brief overview. **Foods**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 16, 7 jan. 2019. MDPI AG.  
<http://dx.doi.org/10.3390/foods8010016>.

NAGHDI, Shahab *et al.* A starch-based pH-sensing and ammonia detector film containing betacyanin of paperflower for application in intelligent packaging of fish. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 191, p. 161-170, nov. 2021. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.045>.

NIRMAL, Nilesh Prakash *et al.* Recent developments in emerging technologies for beetroot pigment extraction and its food applications. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 356, p. 129611, set. 2021. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129611>.

NOWACKA, Malgorzata *et al.* The Impact of Pulsed Electric Field on the Extraction of Bioactive Compounds from Beetroot. **Foods**, [S.L.], v. 8, n. 7, p. 244, 5 jul. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/foods8070244>.

ONGARATTO, G. C.; VITAL, A. C. P.; PRADO, I. N do. Embalagens ativas e inteligentes para proteção da carne e seus derivados: revisão. **Pubvet**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 1-11, abr. 2022. Editora MV Valero.  
<http://dx.doi.org/10.31533/pubvet.v16n04a1091.1-11>.

PAVIA, D. L. *et al.* **Introduction to S pectroscopyb** v. 5b p. 15-102, 2015

PEREIRA, D. A. A.; CRUZ, J. M., PASEIRO LOSADA, P. Active and inteligente packaging for the food industry. *Food Reviews International*, v. 28, p.146-187, 2012.

PIRSA, Sajad *et al.* Intelligent and active packaging of chicken thigh meat by conducting nano structure cellulose-polypyrrole-ZnO film. **Materials Science And Engineering: C**, [S.L.], v. 102, p. 798-809, set. 2019. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2019.02.021>.

QIN, Yan et al. Development of active and intelligent packaging by incorporating betalains from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel into starch/polyvinyl alcohol films. *Food Hydrocolloids*, v. 100, p. 105410, 2020.

QU, P. *et al.* Embalagens microporosas em atmosfera modificada para prolongar a vida útil de alimentos frescos: uma revisão, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62:1, 51-65, 2022. DOI:[10.1080/10408398.2020.1811635](https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1811635)

RODRIGUES, Carolina *et al.* Bio-Based Sensors for Smart Food Packaging—Current Applications and Future Trends. *Sensors*, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 2148, 18 mar. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/s21062148>.

ROMANO, Roberto Cesar de Oliveira *et al.* Influência da utilização de diferentes teores de lama vermelha nas propriedades de ladrilhos hidráulicos. *Ambiente Construído*, [S.L.], v. 20, n. 3, p. 647-659, jul. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1678-86212020000300450>.

ROOBAB, Ume *et al.* High-pressure processing of fish and shellfish products: safety, quality, and research prospects. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, [S.L.], v. 21, n. 4, p. 3297-3325, 31 maio 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12977>.

RUIZ-MARTÍNEZ, Isidra Guadalupe; RODRIGUE, Denis; ARENAS-OCAMPO, Martha Lucía; CAMACHO-DÍAZ, Brenda Hildeliza; AVILA-REYES, Sandra Victoria; SOLORZA-FERIA, Javier. Production and Characterization of Gelatin Biomaterials Based on Agave Microfibers and Bentonite as Reinforcements. *Foods*, [S.L.], v. 11, n. 11, p. 1573, 27 maio 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/foods11111573>.

RUFINO, M. S. M; ALVES, R. E; BRITO, E. S; MORAIS, S. M; SAMPAIO, C. G; JIMENEZ, J. P; CALIXTO, F. D. S. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Embrapa. 125. 2006. (Comunicado Técnico).

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; JIMENEZ, J.P.; CALIXTO, F.D.S. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Comunicado Técnico Embrapa, v. 127, p.1- 4, 2007.

SALLAM, KI; Ahmed, AM; Elgazzar, MM; Eldaly, EA Qualidade química e atributos sensoriais do sauro do Pacífico marinado ( *Cololabis saira* ) durante armazenamento embalado a vácuo a 4 °C. *Química Alimentar*. 2007, 102, 1061–1070.

SANTANA NETO, Deocleciano Cassiano de; PAIVA, Thainnane Silva; SANTOS, Rogério Willian Silva dos; HELM, Cristiane Vieira; SILVA, Fábio Anderson Pereira da; JORGE, Luiz Mário de Matos; JORGE, Regina Maria Matos. Potential of Pinhão husk (*Araucaria angustifolia*) as a structural reinforcement agent in the properties of edible films of Pinhão flour and gelatin. *Journal Of Applied Polymer Science*, [S.L.], 22 fev. 2024. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/app.55233>.

SARANTOPOULOS, Claire *et al.* Embalagens Inteligentes para Alimentos Perecíveis. *Instituto de Tecnologia de Alimentos*, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 1-9, set. 2015.

ŠEREMET, D. et al. Red Beetroot and Banana Peels as Value-Added Ingredients: Assessment of Biological Activity and Preparation of Functional Edible Films. **Polymers**, v. 14, n. 21, 1 nov. 2022.

SIGWELA, V. et al. molecules Bioactive Betalain Extracts from Cactus Pear Fruit Pulp, Beetroot Tubers, and Amaranth Leaves. 2021.

SILVA, Tania Maria Sarmiento et al. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of food composition and analysis*, v. 19, n. 6-7, p. 507-511, 2006.

SINGLETON, Vernon L.; ROSSI, Joseph A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOBHAN, A.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; WEI, L. Biosensors and biopolymer-based nanocomposites for smart food packaging: challenges and opportunities. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 30, p. 100745, dez. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100745>.

SONG, Xue; LI, Zhaoxuan; LI, Yanyan; HOU, Hu. Typical structure, biocompatibility, and cell proliferation bioactivity of collagen from Tilapia and Pacific cod. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 210, p. 112238, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112238>.

SHI, C. et al. Intelligent pH indicator films containing anthocyanins extracted from blueberry peel for monitoring tilapia fillet freshness. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 5, p. 1800–1811, 30 mar. 2021.

STINTZING, F.C.; CARLE, R. Analysis of Betalains. Em C. Socaciu (Ed.), *Food colorantes: Chemical and Functional Properties*, p. 507-520, CRC Press: Boca Raton, 2008.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). **Food Research Center (FoRC)**. Versão 7.2. São Paulo, 2023. [Acesso em: 26 de dezembro de 2023]. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>.

TABIO-GARCÍA, Danger *et al.* Optimisation of the ultrasound-assisted extraction of betalains and polyphenols from *Amaranthus hypochondriacus* var. Nutrisol. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 77, p. 105680, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105680>.

TEIXEIRA, Luciana Chaves; GARCIA, Paloma Popov Custódio. Qualidade do pescado: captura, conservação e contaminação. **Acta de Ciências e Saúde**, v. 2, n. 3, p. 62-76, 2014.

TUTUNCHI, Parizad *et al.* Extraction of red beet extract with  $\beta$ -cyclodextrin-enhanced ultrasound assisted extraction: a strategy for enhancing the extraction efficacy of bioactive compounds and their stability in food models. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 297, p. 124994, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124994>.

- UMARAW, P. *et al.* Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 98, p. 10-24, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.032>.
- VANDERROOST, M.; RAGAERT, P.; DEVLIEGHERE, F.; MEULENAER, B. Intelligent food packaging: The next generation. *Trends in Food Science & Technology*, v. 39, p. 47-62, 2014.
- VASCONCELOS, Margarida Angélica da Silva *et al.* **Conservação de Alimentos**. Recife: E-Tec/Mec, 2010.
- XIONG, Q. *et al.* Lipid oxidation induced by heating in chicken meat and the relationship with oxidants and antioxidant enzymes activities. **Poultry Science**, [S.L.], v. 99, n. 3, p. 1761-1767, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.013>.
- WANG LC, CHEN XG, ZHONG D, XU QC. Study on poly (vinyl alcohol) / carboxymethyl-chitosan blend film as local drug delivery system. *Journal of Material Science: Material in Medicine*. v. 18, n.6, p. 1125-1133, 2007.
- WU, H; RICHARDS, M. P.; UNDELAND, I. Lipid oxidation and antioxidant delivery systems in muscle food. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [S.L.], v. 21, n. 2, p. 1275-1299, 26 jan. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12890>.
- YAO, Fanglan; XU, Pengcheng; JIA, Hao; LI, Xinyu; YU, Haitao; LI, Xinxin. Thermogravimetric Analysis on a Resonant Microcantilever. **Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 94, n. 26, p. 9380-9388, 22 jun. 2022. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.2c01374>.
- YASAMINSHIRAZI, K. *et al.* Bioactive Compounds and Total Sugar Contents of Different Open-Pollinated Beetroot Genotypes Grown Organically. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 21, 22 out. 2020.
- YU, Hai-Dong *et al.* Hyperspectral imaging in combination with data fusion for rapid evaluation of tilapia fillet freshness. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 348, p. 129129, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129129>.
- ZEB, Alam. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. [S. I.]: Blackwell Publishing Ltd, 2020.
- ZAM, M. *et al.* Fabrication and Characterization of Intelligent Multi-Layered Biopolymer Film Incorporated with pH-Sensitive Red Cabbage Extract to Indicate Fish Freshness. **Polymers**, v. 14, n. 22, 1 nov. 2022.
- ZANG, Jinhong *et al.* Quality, functionality, and microbiology of fermented fish: a review. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 60, n. 7, p. 1228-1242, 24 jan. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2019.1565491>.

Zhang Y, Chang SKC. Protein extraction from catfish byproducts and physicochemical properties of the protein isolates. *J Food Sci.* 2021 Jul;86(7):3061-3074. doi: 10.1111/1750-3841.15805. Epub 2021 Jun 20. PMID: 34151429.