

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO

FILME INTELIGENTE À BASE DE COLÁGENO INCORPORADO COM
ANTOCIANINAS DA FLOR DE *Catharanthus roseus* E SUA APLICABILIDADE NO
MONITORAMENTO DO FRESCOR DE *Oreochromis niloticus* POR MEIO DE
INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

JOÃO PESSOA -PB

2026

GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO

**FILME INTELIGENTE À BASE DE COLÁGENO INCORPORADO COM
ANTOCIANINAS DA FLOR DE *Catharanthus roseus* E SUA APLICABILIDADE NO
MONITORAMENTO DO FRESCOR DE *Oreochromis niloticus* POR MEIO DE
INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL**

JOÃO PESSOA -PB

2026

GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO

**FILME INTELIGENTE À BASE DE COLÁGENO INCORPORADO COM
ANTOCIANINAS DA FLOR DE *Catharanthus roseus* E SUA APLICABILIDADE NO
MONITORAMENTO DO FRESCOR DE *Oreochromis niloticus* POR MEIO DE
INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Centro de Tecnologia, da Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva

Coorientadora: Dra. Cristiani Viegas Brandão Grisi

JOÃO PESSOA -PB

2026

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F633f Florentino, Gabrielle Ingrid Bizerra.

Filme inteligente à base de colágeno incorporado com antocianinas da flor de catharanthus roseus e sua aplicabilidade no monitoramento do frescor de oreochromis niloticus por meio de inteligência artificial / Gabrielle Ingrid Bizerra Florentino. - João Pessoa, 2026.

156 f. : il.

Orientação: Fábio Anderson Pereira da Silva.

Coorientação: Cristiani Viegas Brandão Grisi.

Tese (Doutorado) - UFPB/CT.

1. Colágeno de peixe. 2. Pigmento natural. 3. Flor boa-noite. 4. Embalagem inteligente. 5. Aplicativo de smartphone. I. Silva, Fábio Anderson Pereira da. II. Grisi, Cristiani Viegas Brandão. III. Título.

UFPB/BC

CDU 664.8.038(043)

Universidade Federal da Paraíba
Centro de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA

ATA DE DEFESA DE TESE

DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aos vinte e quatro dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e seis, na sala do PPGCTA do Bloco Multimídia do Centro de Tecnologia, às 9h, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelo Prof. Dr. José Evangelista Santos Ribeiro, presidente da Banca, Profa. Dra. Cristiani Viegas Brandão Grisi (Coorientadora), Profa. Dra. Taliana Kênia Alencar Bezerra (Membro Interno/UFPB), Profa. Dra. Antônia Lucia de Souza (Membro Interno/UFPB), Profa. Dra. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro (Membro Externo/UFPB) e o Prof. Dr. Mário Estévez García (Membro Externo à Instituição/UNEX). A reunião teve por objetivo julgar o trabalho da estudante **Gabrielle Ingrid Bizerra Florentino**, matrícula nº 20221005893, sob o Título: "Filme inteligente à base de colágeno incorporado com antocianinas da flor de Catharanthus roseus e sua aplicabilidade no monitoramento do frescor de peixes por meio de aplicativo para smartphone." Os trabalhos foram abertos pelo Prof. Dr. José Evangelista Santos Ribeiro. A seguir foi dada a palavra à estudante para apresentação do trabalho. Cada Examinador(a) arguiu a doutoranda, com tempos iguais de arguição e resposta. Terminadas as arguições, procedeu-se o julgamento do trabalho, concluindo a Banca Examinadora por sua **APROVAÇÃO**. Atendidas as exigências da Resolução nº 15/2019/CONSEPE, que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, e nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente Ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora e pela doutoranda.

João Pessoa, 24 de fevereiro de 2026.

Se houver alteração no título do trabalho, informar o no título abaixo:

[Redacted]
Prof. Dr. José Evangelista Santos Ribeiro
Presidente da Banca

[Redacted]
Profa. Dra. Cristiani Viegas Brandão Grisi
Coorientadora

Prof. Dr. Mário Estévez García
(Membro Externo à Instituição/UNEX)

ESTEVEZ GARCIA
MARIO -
289480685

Firmado digitalmente por ESTEVEZ GARCIA MARIO - 289480685
Fecha: 2026.02.27 17:03:36 +01'00'

[Redacted]
Profa. Dra. Taliana Kênia Alencar Bezerra
(Membro Interno/UFPB)

[Redacted]
Prof. Dra. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro
(Membro Externo/UFPB)

[Redacted]
Profa. Dra. Antônia Lucia de Souza
(Membro Interno/UFPB)



Documento assinado digitalmente
GABRIELLE INGRID BIZERRA FLORENTINO
Data: 09/04/2026 08:57:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Gabrielle Ingrid Bizerra Florentino
Doutoranda

**Aos meus pais, João Batista e Gauba
Bizerra, e ao meu esposo, Rafael
Aguiar**

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sua fidelidade, proteção e amor, por me guiar, fortalecer e encorajar a enfrentar os obstáculos ao longo da minha vida acadêmica.

Agradeço aos meus pais, João e Gauba, pelo amor incondicional. Por me ensinar valores de família, respeito, dedicação, perseverança e fidelidade que fizeram de mim uma pessoa ciente da importância de cada conquista. Agradeço ao meu irmão Arthur pela amizade, apoio e cuidado de sempre. Meu eterno amor e gratidão a vocês.

Agradeço ao meu esposo, Rafael, pelo seu amor e companheirismo, pelo apoio em todos os momentos e por cuidar tão bem de mim. Obrigada por compreender tantas vezes com paciência as preocupações ao longo da minha vida acadêmica, por ser força e estímulo nos momentos delicados, por vibrar comigo cada conquista.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Fábio Silva pela sua orientação, tempo doado, ensinamentos, oportunidades, dedicação, paciência e conhecimento passado. Obrigada pelas experiências profissionais e oportunidades que contribuem para meu crescimento profissional.

Agradeço a Dra. Cristiani Grisi por estar sempre tão solícita a ajudar durante a execução deste estudo e por aceitar ser minha coorientadora, tempo doado, ensinamentos, oportunidades e dedicação.

Agradeço a Prof^a. Dr^a. Angela Maria, pela generosa disponibilidade de seu laboratório.

Agradeço aos doutores Taliana Kênia, Angela Maria, Marcos dos Santos e Mário Estévez, pela disponibilidade e por terem aceitado participar da minha banca de qualificação.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

RESUMO

O presente estudo objetivou avaliar o impacto de diferentes concentrações de extrato de antocianina (CAE), extraído das flores de *Catharanthus roseus*, no desenvolvimento de filmes inteligentes aplicados ao monitoramento do frescor de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*), utilizando inteligência artificial para detecção em tempo real das mudanças de qualidade do pescado. A extração hidroalcoólica das antocianinas foi realizada a partir das flores, enquanto o colágeno foi obtido da pele de tilápia por extração em água quente, sendo ambos caracterizados quanto às propriedades físico-químicas. Para a elaboração dos filmes, utilizou-se colágeno e pectina como matriz polimérica, com incorporação de diferentes concentrações do extrato de antocianina nas formulações FC (controle), F10, F20 e F30. As propriedades físicas, mecânicas, térmicas, funcionais e morfológicas foram avaliadas, incluindo a resposta a variações de pH. O filme com melhor desempenho foi selecionado para aplicação em filés de tilápia armazenados sob refrigeração por oito dias. As alterações cromáticas do filme, associadas aos valores de nitrogênio básico volátil total (TVB-N) e pH, foram utilizadas para compor um banco de dados para treinamento de modelos de inteligência artificial. Análises complementares foram realizadas para validar a correlação entre a resposta colorimétrica e o grau de deterioração do pescado, incluindo TBARS, contagem de microrganismos, textura, compostos voláteis e avaliação sensorial. Os resultados indicaram rendimento de extração de colágeno de 6,31%, com teor de hidroxiprolina de 4,83 g/100 g, e preservação da estrutura de tripla hélice confirmada por FTIR. O extrato de antocianina apresentou concentração de 4,78 mg CGE/g e elevada atividade antioxidante, com perfil fenólico composto por ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas, além de variação de cor em função do pH, evidenciando seu potencial como indicador de frescor. Os filmes apresentaram alterações nas propriedades físicas e morfológicas, como redução da espessura, transparência, luminosidade e elasticidade, devido às interações com a matriz polimérica. A incorporação do extrato não comprometeu a não toxicidade, a permeabilidade ao vapor d'água nem a integridade mecânica, mantendo solubilidade e estabilidade térmica adequadas. A formulação F30 destacou-se pela maior atividade antioxidante e sensibilidade à amônia. Durante o armazenamento, observou-se aumento de pH e TVB-N, redução da dureza e mastigabilidade e formação de compostos de deterioração, acompanhados de perda da aceitabilidade sensorial. A resposta colorimétrica do filme correlacionou-se com esses parâmetros e foi aplicada em um sistema de aprendizagem de máquina integrado ao aplicativo *SmartFish*, que classificou o frescor da tilápia em três níveis com acurácia de 93%. Assim, o sistema demonstrou elevada eficiência e potencial para aplicação prática no monitoramento do frescor de pescado. Os filmes inteligentes com antocianinas de *Catharanthus roseus* mostraram-se eficazes, especialmente a formulação F30, e a integração com inteligência artificial evidenciou uma abordagem promissora para aumentar a segurança alimentar e reduzir desperdícios.

PALAVRAS-CHAVE: colágeno de peixe, pigmento natural, flor boa-noite, embalagem inteligente, aplicativo de smartphone.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the impact of different concentrations of anthocyanin extract (CAE), extracted from *Catharanthus roseus* flowers, on the development of smart films applied to monitoring the freshness of tilapia fillets (*Oreochromis niloticus*), using artificial intelligence for real-time detection of changes in fish quality. Hydroalcoholic extraction of anthocyanins was performed from the flowers, while collagen was obtained from tilapia skin by hot water extraction; both were characterized in terms of their physicochemical properties. For the elaboration of the films, collagen and pectin were used as polymeric matrices, incorporating different concentrations of anthocyanin extract in the FC (control), F10, F20, and F30 formulations. The physical, mechanical, thermal, functional, and morphological properties were evaluated, including the response to pH variations. The film with the best performance was selected for application to tilapia fillets stored under refrigeration for eight days. The film's color changes, associated with total volatile basic nitrogen (TVB-N) and pH values, were used to create a database for training artificial intelligence models. Complementary analyses were performed to validate the correlation between the colorimetric response and the degree of fish deterioration, including TBARS, microorganism count, texture, volatile compounds, and sensory evaluation. The results indicated a collagen extraction yield of 6.31%, with a hydroxyproline content of 4.83 g/100 g, and preservation of the triple helix structure confirmed by FTIR. The anthocyanin extract showed a concentration of 4.78 mg CGE/g and high antioxidant activity, with a phenolic profile composed of phenolic acids, flavonoids, and anthocyanins, in addition to color variation as a function of pH, highlighting its potential as a freshness indicator. The films exhibited alterations in physical and morphological properties, such as reduced thickness, transparency, luminosity, and elasticity, due to interactions with the polymeric matrix. The incorporation of the extract did not compromise non-toxicity, water vapor permeability, or mechanical integrity, maintaining adequate solubility and thermal stability. The F30 formulation stood out for its higher antioxidant activity and sensitivity to ammonia. During storage, an increase in pH and TVB-N, a reduction in hardness and chewiness, and the formation of deterioration compounds were observed, accompanied by a loss of sensory acceptability. The colorimetric response of the film correlated with these parameters and was applied in a machine learning system integrated into the SmartFish application, which classified the freshness of tilapia into three levels with 93% accuracy. Thus, the system demonstrated high efficiency and potential for practical application in monitoring fish freshness. Smart films with anthocyanins from *Catharanthus roseus* have proven effective, especially the F30 formulation, and integration with artificial intelligence has shown a promising approach to increase food safety and reduce waste.

KEY-WORDS: fish collagen, natural pigment, four o'clock flower, smart packaging, smartphone app

LISTA DE ABREVIações

CAE	Extrato de antocianina da flor <i>Catharanthus roseus</i>
CIE	Comissão Internacional de Iluminação
DRX	Difração de raios X
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FTIR	Espectroscópica de absorção no infravermelho
MEV	Microscópio eletrônico de varredura
PVA	Permeabilidade ao vapor de água
pH	Potencial Hidrogeniônico
ROAV	Valor de atividade relativa do odor
RT	Resistência à tração
TAC	Teor Total de Antocianinas
TBARs	Substância reativas ao ácido tiobarbitúrico
TSC	Colágeno da pele de tilápia
TVB-N	Determinação nitrogênio de bases voláteis totais
TVC	Contagem total de microrganismos viáveis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Flor *Catharanthus roseus*

Figura 2 – *Random Forest*.

Figura 3 – Delineamento experimental para desenvolvimento filme inteligente e aplicação com detecção de frescor com auxílio de smartphone.

Figura 4 – Processo de obtenção extrato de antocianina da flor *Catharanthus roseus*

Figura 5 – Variação de pH do extrato de CAE.

Figura 6 – Processo de obtenção do colágeno da pele do peixe tilápia.

Figura 7 - Processo de obtenção do filme inteligente.

Figura 8 – Aplicação do filme inteligente (F30) em filé de peixe.

Figura 9 – Aplicação sob refrigeração do filme inteligente (F30) em filé de peixe.

Figura 10 – Treinamento de avaliadores e análise sensorial em filé de peixe.

Figura 11 – Teste do aplicativo “Smartfish”

ARTIGO 1

Figure 1 – FT-IR spectra A) Pectin; B) Collagen; C) Extract; D) Glycel; E) films added with CAE at different concentrations; F) Films degraded 60 days. FC: control; F10: 10 of CAE; F20: 20 of CAE; F30: 30 of CAE.

Figure 2 – A) Color changes of CAE in different buffer solutions ranging from pH 2 to 12, B) Ultraviolet–visible spectra of CAE in different buffer solutions ranging from pH 2 to 12.

Figure 3 – Characterization of the physical, structural and morphological properties of the films A) Picture films; B) XDR curve; C) Micrography of the bioplastics surface and cross-section; D) TG curve; E) DSC curve; F) Antioxidant activity of films ABTS and FRAP.

Figure 4 – The color sensitivity A) and changes (B) to different ammonia concentrations of films. F10: 10 of CAE; F20: 20 of CAE; F30: 30 of CAE.

Figure 5 – Application of indicator packaging and linear model between ΔE of the film and

pH of the fish during storage time: A) F10, B) F20 and C) F30, evaluated by headspace in tilapia fillet.

ARTIGO 2

Figura 1 – (A) Relação entre os valores de a^* e a diferença total de cor (ΔE) dos filmes inteligentes. (B) Alterações de cor do filme inteligente em resposta ao aumento da concentração de amônia.

Figura 2 – (A) Alterações no nitrogênio básico volátil total (TVB-N) de filés de tilápia armazenados a 4 °C por 8 dias. (B) Alterações de cor do filme inteligente durante o armazenamento refrigerado de filés de tilápia.

Figura 3 – Mapa de calor dos compostos voláteis identificados em filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado.

Figura 4 – Análise de componentes principais (PCA) de compostos voláteis identificados em filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado. (A) Gráfico de escores. (B) Gráfico de cargas.

Figura 5 – Alterações nos parâmetros de qualidade dos filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado: (A) pH; (B) contagem total de bactérias viáveis (TVC); (C) substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); (D) análise do perfil de textura (dureza, elasticidade e mastigabilidade); (E) avaliação sensorial.

Figura 6 – Aplicação do sistema Smartfish na embalagem de filés de tilápia. (A) Filés de tilápia em diferentes níveis de frescor; (B) aquisição de imagem do rótulo do espaço livre usando o aplicativo Smartfish; (C) classificação de frescor exibida pelo aplicativo; (D) interface gráfica do usuário do aplicativo Smartfish.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Desenvolvimento filme inteligente incorporado de extrato de antocianina de flores.

ARTIGO 1

Table 1 – Results of collagen and anthocyanin extract properties.

Table 2– Identification of phenolic compounds from anthocyanin extract of *Catharanthus roseus* flower.

Table 3– Thickness, mechanical properties, solubility, WPV, transparency, color and degradability of films.

ARTIGO 2

Tabela 1 – Perfil de compostos voláteis em filé de tilápia durante o armazenamento a 5°C.

Tabela 2 – ROAV dos principais compostos voláteis no filé de tilápia no dia 0 (T0) e no dia 8 (T8).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	19
3 REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1 SUSTENTABILIDADE E IMPACTOS AMBIENTAIS DAS EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS	21
3.2 BIOCOMPOSTOS PROTEÍCOS PARA OBTENÇÃO DE MATRIZES FILMOGÊNICAS BIODEGRADÁVEIS	23
3.3 COLÁGENO COMO FONTE DE PROTEÍNA	25
3.4 FILMES BIODEGRADÁVEIS OBTIDOS A PARTIR DE COLÁGENO	26
3.5 FILME INTELIGENTE: INOVAÇÃO E TIPOS	27
3.6 ANTOCIANINAS: POTENCIAL COMO CORANTE NATURAL	29
3.6.1 Toxicidade extrato de antocianina	32
3.7 FLOR: FONTE DE PIGMENTOS NATURAIS	33
3.7.1 Flor: <i>Catharanthus roseus</i>	35
3.8 PROPRIEDADES DOS FILMES INCORPORADOS DE ANTOCIANINA	37
3.9 MONITORAMENTO DO FRESCOR DE ALIMENTOS COM AUXÍLIO DE IA	39
3.10 VALIDAÇÃO DA APLICAÇÃO DO FILME INTELIGENTE EM PEIXE	41
4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	44
4.1 ARTIGO 1- ETAPA I: EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINA DA FLOR (CAE) E CARACTERIZAÇÃO	46
4.2 ARTIGO 1- ETAPA II: OBTENÇÃO DE COLÁGENO DE PELE DE TILÁPIA (TSC) E CARACTERIZAÇÃO	47
4.3 ARTIGO 1- ETAPA III: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FILME	48
4.4 ARTIGO 1- ETAPA IV: APLICAÇÃO DOS FILMES NA DETECÇÃO DO FRESCOR DE PEIXES TILÁPIA	49
4.5 ARTIGO 2- ETAPA I: APLICAÇÃO DE FILME INTELIGENTE E CONTROLE DE QUALIDADE EM FILÉS DE TILÁPIA	50
4.6 ARTIGO 2- ETAPA II: DESENVOLVIMENTO DO APLICATIVO “SMARTFISH”	52
5 RESULTADOS	53
5.1 ARTIGO 1	53
5.2 ARTIGO 2	71
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	129
7 REFERENCIAS	131
8 PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS	144
ANEXOS	145

1 INTRODUÇÃO

O desperdício de alimentos é um problema global crítico, com impactos ambientais, sociais e econômicos expressivos. Cerca de um terço dos alimentos produzidos (1,3 bilhão de toneladas) é perdido anualmente, gerando mais de US\$ 1 trilhão em prejuízos e agravando a insegurança alimentar e as emissões de gases de efeito estufa (Prabhu et al., 2024). Com a população mundial projetada para atingir aproximadamente 10 bilhões até 2050, a demanda por alimentos, especialmente os altamente perecíveis, tende a aumentar, tornando essencial o desenvolvimento de estratégias inovadoras para reduzir perdas e garantir a sustentabilidade e a segurança alimentar (Arsenović, 2024).

Entre as soluções emergentes, as embalagens inteligentes têm se destacado por sua eficácia, baixo custo e praticidade. Essas embalagens são projetadas para monitorar a qualidade dos produtos e fornecer informações em tempo real tanto para consumidores quanto para fabricantes, facilitando a tomada de decisões durante o armazenamento e transporte (Hasanin et al., 2024). Os métodos convencionais de avaliação do frescor dos alimentos, por sua vez, costumam ser complexos, onerosos e demorados, o que limita sua aplicabilidade em larga escala (Fernandez et al., 2022). Nesse contexto, os filmes indicadores colorimétricos surgem como uma alternativa promissora, pois são capazes de alterar sua coloração em resposta às variações de pH nos alimentos, oferecendo um meio eficiente e acessível de detecção precoce da deterioração.

Atualmente, os filmes indicadores colorimétricos disponíveis no mercado utilizam corantes sintéticos sensíveis ao pH, como o azul de bromofenol e o vermelho de clorofenol. No entanto, esses corantes são compostos químicos que podem apresentar efeitos adversos à saúde humana (Khan et al., 2024). Em vista disso, tem-se intensificado a busca por corantes naturais. As antocianinas, pigmentos naturais não tóxicos sensíveis ao pH, surgem como uma alternativa viável para a fabricação de filmes indicadores colorimétricos, tendo sido empregadas em escala laboratorial para essa finalidade (Kumar et al., 2024). Estudos recentes indicam que as antocianinas podem ser eficazes como indicadores de frescor em embalagens alimentícias inteligentes (Wu et al., 2024; Khairuddin et al., 2024; Rashid et al., 2024). Assim, torna-se cada vez mais relevante explorar novas fontes de antocianinas e desenvolver filmes inteligentes altamente responsivos baseados em essas substâncias naturais.

Diversas espécies florais têm sido identificadas como fontes potenciais de antocianinas, embora muitos desses recursos ainda sejam pouco explorados. Dentre elas, destacam-se as flores de *Clitoria ternatea* L. (clitória), *Echium amoenum* (borage), *Matthiola*

incana (lavanda) e *Hibiscus rosa-sinensis* (hibisco), cujos pigmentos têm mostrado potencial para a produção de filmes indicadores colorimétricos para embalagens alimentícias (Salacheep et al., 2020; Zannou et al., 2021; Nuraini et al., 2020; Maciel et al., 2018). Um exemplo promissor é a flor *Catharanthus roseus* (L.) Don., conhecida popularmente como "boa-noite". Esta planta ornamental, que apresenta flores de tonalidades róseas ou brancas, é rica em compostos fenólicos, incluindo flavonoides, antocianinas, quercetina, malvidina e derivados do ácido cinâmico, tornando-a uma valiosa fonte para a extração de pigmentos naturais (Santos et al., 2022).

Além disso, materiais biodegradáveis, como amido, quitosana, celulose e proteínas, têm sido empregados no desenvolvimento de filmes indicadores de pH. O colágeno, por exemplo, destaca-se como uma fonte proteica renovável, devido à capacidade de formar gel, promover elasticidade e conferir resistência ao material. Recentemente, o colágeno, extraído principalmente da pele de peixe descartada no processo de filetagem, tem sido considerado uma fonte promissora para a produção de bioplásticos. A utilização dessa biomassa subaproveitada contribui para um processo sustentável de extração de colágeno, alinhando-se com as diretrizes de desperdício zero, que visam promover a sustentabilidade econômica, ambiental e social (Coppola et al., 2020).

No que se refere ao monitoramento do frescor dos alimentos, atualmente, o processo é realizado de forma manual, com base na observação das mudanças de cor do filme, o que pode ser subjetivo (Doğan et al., 2024). Portanto, há uma demanda crescente por sistemas automatizados capazes de detectar essas mudanças de cor, proporcionando um monitoramento mais rápido e preciso. Até onde se sabe, um aplicativo de smartphone desenvolvido com auxílio de inteligência artificial, combinado com filmes de colágeno de peixe incorporados com antocianinas extraídas de flores, será utilizado pela primeira vez para permitir a vigilância colorimétrica da deterioração dos alimentos em tempo real, no local. Essa abordagem inovadora pode representar um avanço significativo na tecnologia de embalagens inteligentes, oferecendo uma solução eficiente e de baixo custo para a redução do desperdício alimentar.

Dado o crescente interesse por pigmentos naturais e embalagens sustentáveis, este estudo avaliou o desenvolvimento de um filme inteligente biodegradável utilizando subprodutos da filetagem da tilápia, como a pele rica em colágeno, visando à produção de filmes com boas propriedades mecânicas e de barreira, além da redução de custos e impactos ambientais. Demonstrando que a incorporação de antocianinas da flor *Catharanthus roseus* possibilitou o monitoramento do frescor de filés de tilápia por meio de mudanças de cor no

indicador. Além disso, um aplicativo de smartphone baseado em inteligência artificial permitiu aprimorar a detecção dessas alterações. Dessa forma, este estudo contribui para o avanço do uso de matérias-primas e tecnologias ainda pouco exploradas no desenvolvimento de sistemas inteligentes para o monitoramento da qualidade de alimentos.

2.0 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Desenvolver um filme biodegradável inteligente, incorporando com extrato de antocianinas da flor *Catharanthus roseus*, para monitorar o frescor de filés de tilápia durante o armazenamento, utilizando inteligência artificial e aplicativo de smartphone para detecção em tempo real da qualidade do peixe tilápia.

2.2 ESPECÍFICOS

- Extrair o colágeno da pele de tilápia, caracterizando-o em termos de rendimento, análise dos grupos funcionais e quantificação do teor total de colágeno.
- Obter o extrato de antocianinas das pétalas da flor *Catharanthus roseus* (CAE), caracterizando sua qualidade em relação ao teor total de antocianinas, perfil fenólico e variação de cor em diferentes valores de pH.
- Produzir filmes de colágeno incorporados com diferentes concentrações de (CAE), comparando suas propriedades físicas, mecânicas, estruturais, térmicas e a sensibilidade à amônia.
- Aplicar os filmes indicadores para monitorar o frescor de filés de tilápia sob refrigeração, correlacionando as variações de pH e TVB-N do peixe com as mudanças de cor do filme.
- Validar o filme inteligente através da correlação entre as respostas colorimétricas do filme e parâmetros clássicos de qualidade do peixe como TBARS, contagem total de microrganismos viáveis, propriedades instrumentais de textura, perfil de compostos voláteis e avaliação sensorial.
- Desenvolver um sistema colorimétrico com auxílio de inteligência artificial compatível com *smartphones* para monitorar a deterioração do peixe, fornecendo *feedback* em tempo real sobre o frescor.

3.0 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 SUSTENTABILIDADE E IMPACTOS AMBIENTAIS DAS EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS

Nas últimas décadas, o uso de embalagens na indústria alimentícia aumentou significativamente, impulsionado pela demanda por produtos mais duráveis, seguros e convenientes. Estima-se que mais de 40% das embalagens produzidas globalmente sejam destinadas ao setor alimentício (Hussain et al., 2024). As embalagens alimentícias desempenham papel fundamental na proteção dos produtos, garantindo sua segurança e preservação, controlando fatores como temperatura e condições atmosféricas, e prevenindo desperdícios e contaminações (Schudel et al., 2023).

Tradicionalmente, materiais como papelão, papel e plástico têm sido utilizados, embora o papel e o papelão sejam recicláveis, eles apresentam limitações quanto à proteção contra umidade e gases, fatores cruciais para a conservação de diversos alimentos, sendo que o plástico, por suas propriedades de leveza e resistência, tornou-se o material dominante. Além disso, até 2060, a demanda por plásticos no setor de embalagens deve aumentar para aproximadamente 380 milhões de toneladas métricas (Statista, 2024), o que acentua os desafios ambientais impostos pela origem fóssil desses materiais e pela persistência no meio ambiente.

A gestão inadequada de resíduos plásticos resultou na infiltração de microplásticos em ecossistemas, incluindo oceanos e solos, com impactos significativos para a saúde humana, como evidenciado pela presença de microplásticos em peixes consumidos (Ferries, 2024). Estima-se que 5,25 trilhões de partículas de microplásticos estejam nos oceanos, representando risco à saúde humana, pois sua ingestão pode induzir estresse oxidativo e inflamação (Alberghini et al., 2022). Esse problema é exacerbado pelo fato de que mais de 99% das embalagens plásticas atuais são derivadas de petróleo e persistem no ambiente por séculos (Precedence Research, 2024).

Apesar dos desafios ambientais, o mercado de embalagens plásticas continua em crescimento, projetando-se um aumento de US\$ 429,62 bilhões em 2023 para US\$ 639,84 bilhões até 2033, com uma taxa de crescimento anual composta de 4,06% (Precedence Research, 2024). Esse crescimento está diretamente ligado à demanda por alimentos convenientes e à pressão pela redução do desperdício alimentar. Contudo, a poluição por

plásticos requer soluções como reciclagem, *upcycling* e o desenvolvimento de alternativas biodegradáveis (Kibria et al., 2023).

A transição para materiais mais sustentáveis nas embalagens alimentícias é crucial para mitigar os impactos ambientais. Os biopolímeros, que são renováveis, biodegradáveis e têm uma emissão de carbono reduzida, emergem como alternativas viáveis aos plásticos convencionais (Stoica et al., 2024). Os biopolímeros podem ser classificados em dois grupos principais: os de origem natural, como polissacarídeos e proteínas, e os sintetizados a partir de biomassa. O segundo grupo inclui biopolímeros biodegradáveis, como os polihidroxialcanoatos (PHAs) e o ácido polilático (PLA), bem como biopolímeros não biodegradáveis, como o biopolietileno (bio-PE), o biopolietileno tereftalato (bio-PET) e o biopolipropileno (bio-PP), que possuem alta resistência à degradação microbiana (Stoica et al., 2024).

O mercado de bioplásticos tem se diversificado, com as embalagens representando 45% do mercado em 2024. A indústria, no entanto, está operando a 60% de sua capacidade instalada, com uma taxa de utilização média de 58% (1,44 milhão de toneladas produzidas contra uma capacidade de 2,47 milhões de toneladas) (European Bioplastics, 2024). Além disso, a crescente adoção de bioplásticos está sendo estimulada pela Estratégia de Desenvolvimento Sustentável da União Europeia (COM, 2015) e os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável das Nações Unidas para 2030 (ONU, 2015).

A demanda por embalagens bioplásticas reflete a busca por alternativas sustentáveis, impulsionada por fatores ambientais e regulatórios. Contudo, para o sucesso dessa transição, é necessário superar barreiras tecnológicas e econômicas, focando no desenvolvimento de bioplásticos mais acessíveis e eficientes. Os biopolímeros naturais, como polissacarídeos, proteínas e lipídios, podem ser encontrados em abundância em fontes vegetais e animais e têm grande potencial para serem usados como matéria-prima para materiais de embalagem biodegradáveis (Stoica et al., 2024).

3.2 BIOCOMPOSTOS PROTEÍCOS PARA OBTENÇÃO DE MATRIZES FILMOGÊNICAS BIODEGRADÁVEIS

As proteínas são biopolímeros formados por unidades de α -aminoácidos, que estão conectadas por ligações covalentes. Em geral, esses polímeros consistem em longas cadeias de aminoácidos, que organizam-se em uma estrutura multinível, conforme descrito por Chen et al. (2019). Cada aminoácido é composto por um átomo de carbono α , que se liga covalentemente a um átomo de hidrogênio, um grupo carboxila, um grupo amino e uma

cadeia lateral, que confere propriedades específicas à molécula (Yan et al., 2014). A combinação dos 20 aminoácidos disponíveis na formação de proteínas permite a criação de uma vasta gama de sequências poliméricas distintas, com propriedades físicas e químicas únicas (Gómez-Estaca et al., 2016). Essas propriedades estão intimamente relacionadas às interações entre as diferentes cadeias laterais dos aminoácidos, que podem conter átomos de oxigênio, nitrogênio, enxofre, além de carbono e hidrogênio. Essas interações são fundamentais para a formação de estruturas secundárias, terciárias e quaternárias das proteínas, conferindo a elas características específicas de estabilidade e funcionalidade (Chen et al., 2019).

As proteínas exibem notáveis propriedades de formação de filmes, particularmente devido à sua capacidade de gerar uma estrutura tridimensional amorfa, estabilizada principalmente por interações não covalentes (Álvarez et al., 2021). As propriedades físico-químicas desses filmes são influenciadas por diversos fatores, como a origem da proteína (animal ou vegetal), sua pureza, a composição de aminoácidos, o grau de desnaturação, o pH e a presença de aditivos. Em comparação com filmes à base de polissacarídeos, os filmes proteicos geralmente apresentam propriedades mecânicas, ópticas e de barreira superiores (Eghbal et al., 2016). As interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, ligações iônicas, forças de Van der Waals, ligações covalentes, interações hidrofóbicas e pontes dissulfeto desempenham papéis fundamentais na estabilização de filmes proteicos, sendo essas as principais forças envolvidas na sua formação (Hassan et al., 2018).

As proteínas utilizadas para a fabricação de filmes e revestimentos podem ser classificadas conforme sua origem, sendo de fontes animais ou vegetais. Entre as proteínas de origem animal, destacam-se a queratina, o colágeno, as proteínas das fibras musculares, a gelatina e as proteínas do leite (Mihalca et al., 2021). Esses materiais naturais são particularmente adequados para a produção de filmes e revestimentos para embalagens de alimentos, devido à sua capacidade de preservar gases e aromas de maneira eficiente.

Além disso, os polímeros proteicos oferecem outras vantagens, como a melhoria das características organolépticas dos produtos alimentícios, o aumento da vida útil dos alimentos, a função de transportadores naturais de aditivos e a possibilidade de integração com dispositivos inteligentes (Wu et al., 2021). Consequentemente, o interesse em filmes e revestimentos à base de proteínas para embalagens de alimentos tem crescido substancialmente nas últimas décadas.

Embora haja um esforço crescente para reduzir a dependência de proteínas de origem

animal, a demanda por essas proteínas permanece elevada, e elas continuam a desempenhar um papel importante nesse contexto. Os resíduos e coprodutos dos processos de abate animal são fontes ricas em proteínas que podem ser utilizadas para a produção de produtos de alto valor agregado (Álvarez et al., 2021).

Os peixes e produtos pesqueiros têm um papel significativo na segurança alimentar global, fornecendo mais de 17% das proteínas consumidas mundialmente. Mais de 3 bilhões de pessoas dependem dos produtos pesqueiros para obter pelo menos 20% de suas proteínas dietéticas. O consumo global per capita de peixe foi de 20,3 kg em 2020, com uma projeção de aumento de 21% até 2025. Dos 179 milhões de toneladas de peixes e produtos aquáticos produzidos globalmente em 2020, 87% foram destinados ao consumo humano direto, enquanto os 13% restantes foram utilizados para aplicações não alimentícias, como farinha de peixe e produção de óleo de peixe (FAO, 2022).

O processamento de peixes e mariscos gera uma grande quantidade de resíduos (~75% do peso total do peixe), que pode representar um desafio ambiental, de saúde e econômico, como exemplo na Europa, onde são gerados aproximadamente 5 milhões de toneladas de resíduos anualmente (FAO, 2022). No entanto, esses resíduos têm potencial para se tornar matérias-primas valiosas para a obtenção de produtos como colágeno, gelatina, queratina e proteínas miofibrilares, que podem ser utilizados na produção de filmes biodegradáveis.

Além disso, o Brasil ocupa a quarta posição mundial na produção de tilápia, ficando atrás apenas da China, Indonésia e Egito. A totalidade dessa produção é processada e comercializada na forma de filés, resultando em uma grande quantidade de subprodutos, que frequentemente são descartados ou destinados à fabricação de ração animal, compostos, silagem e biofertilizantes (do Nascimento et al., 2021). A pele da tilápia, rica em colágeno, pode ser aproveitada a partir desses subprodutos, oferecendo um valioso recurso para diversas aplicações científicas e industriais, como o desenvolvimento de filmes biodegradáveis.

3.3 COLÁGENO COMO FONTE DE PROTEÍNA

O colágeno representa aproximadamente 30% do peso corporal de mamíferos, sendo um componente essencial da matriz extracelular em diversos tecidos (Neff et al., 2021). Desde sua descoberta, foram identificados e caracterizados 28 tipos distintos de colágeno, que vão do tipo I ao tipo XXVIII (Gelse et al., 2003). O colágeno mais antigo registrado foi encontrado no tecido mole de um osso fossilizado de *Tyrannosaurus rex*, datando de aproximadamente 68 milhões de anos (Oliveira et al., 2022). A estrutura molecular do

colágeno, apesar de sua estrutura geral de tripla hélice, é altamente variável, refletindo a diversidade funcional e estrutural dessa proteína. A unidade estrutural do colágeno é composta por três cadeias α , cuja composição de aminoácidos varia conforme o tipo de colágeno, e os resíduos de prolina e hidroxiprolina são predominantes nos locais X e Y da repetição tripla (Gly-X-Y)_n (Ricard-Blum, 2011).

A função e a distribuição do colágeno nos diferentes tecidos são determinantes para essa diversidade, influenciando a organização molecular e supramolecular, como a ocorrência e o comprimento de domínios helicoidais triplos e o empacotamento das hélices triplas. Além disso, a origem, tipo, condições de pré-processamento e métodos de extração são fatores críticos que determinam as propriedades do colágeno extraído, incluindo o peso molecular, a composição de aminoácidos, a estrutura molecular, solubilidade e atividade funcional (Gallo et al., 2020).

Durante muitos anos, a maior parte do colágeno disponível foi extraída de subprodutos da indústria de processamento de carne bovina e suína. No entanto, nas últimas décadas, o uso de colágeno dessas fontes tem sido cada vez mais restrito. Em algumas culturas, o consumo de produtos derivados de suínos e bovinos é evitado devido a motivos religiosos, como no caso de muçulmanos, hindus e judeus, que representam 38,4% da população mundial (Hackett et al., 2012). Além disso, a utilização de colágeno bovino gerou preocupações durante surtos de doenças como encefalopatia espongiforme bovina, encefalopatia espongiforme transmissível e febre aftosa, que ocorreram principalmente no Reino Unido e na Ásia. Como esses produtos podem ser veículos para a transmissão de doenças, seu uso foi severamente restringido (Regulamentos CE nº 999/2001 e UE nº 142/2011) (Felician et al., 2018).

Em contrapartida, os organismos marinhos têm emergido como fontes promissoras de colágeno, pois não estão sujeitos a essas limitações religiosas e não apresentam riscos conhecidos de doenças transmissíveis. A biomassa gerada por indústrias pesqueiras e de processamento de peixe, incluindo subprodutos como pele, escamas, ossos, bexiga natatória e vísceras, oferece uma fonte abundante de colágeno (Felician et al., 2018). Entre esses subprodutos, a pele de peixe tem sido amplamente reconhecida como a principal fonte para a extração de colágeno devido à sua abundância e características favoráveis (Lim et al., 2019).

A extração de colágeno da pele de peixe tem ganhado destaque devido às suas diversas aplicações nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica. Vários métodos de extração têm sido desenvolvidos, cada um com suas vantagens e desafios, como eficiência, custo e qualidade do produto final. A extração enzimática, por exemplo, é considerada uma biotecnologia verde, pois reduz a utilização de solventes e a geração de resíduos, acelerando o

processo de decomposição sem a necessidade de solventes orgânicos ou substâncias químicas nocivas. Enzimas como alcalase, dispase e pepsina são utilizadas para quebrar as extremidades dos telopeptídeos nas cadeias de colágeno, permitindo a preservação da estrutura do colágeno devido à alta seletividade dessa técnica (Lee et al., 2023).

Outro método amplamente utilizado é a extração ácida, que envolve o uso de soluções de ácido acético ou ácido cítrico. Este processo é simples e de baixo custo, e seu principal objetivo é romper as ligações cruzadas na hélice de colágeno, resultando em um produto de qualidade superior (Bai et al., 2017). A extração com fluido supercrítico também tem sido explorada, baseando-se nas características de solvatação do solvente e em condições extremas de pressão e temperatura, que alteram fisicamente o solvente, aumentando sua capacidade de extração. No entanto, o alto custo dessa tecnologia é uma limitação significativa para aplicações em larga escala (Sousa et al., 2020).

Nos últimos anos, a extração por ultrassom tem se mostrado uma técnica inovadora, onde as ondas ultrassônicas geram cavidades no solvente, criando microbolhas que colapsam os tecidos do peixe e melhoram a interação entre as fases sólida e líquida. Isso acelera o processo e aumenta a eficiência, embora exija um controle rigoroso das condições para garantir bons resultados, além de demandar equipamentos com custos elevados (Petcharat et al., 2021).

Outra abordagem interessante é a utilização de solventes eutéticos profundos, que promovem interações de ligações de hidrogênio entre o aceitador e o doador dessas ligações, sendo uma técnica ecologicamente correta para a extração de colágeno. No entanto, a otimização das condições, como a composição do solvente e os parâmetros de extração, ainda representa um grande desafio (Passos et al., 2014).

Por fim, a extração térmica, que utiliza água quente para tratar a pele de peixe, tem se mostrado uma técnica simples e eficaz, sem o uso de solventes químicos, o método baseia-se na solubilização das fibras de colágeno. No entanto, exige um controle rigoroso da temperatura, pois o aquecimento excessivo pode desnaturar o colágeno e comprometer suas propriedades funcionais (da Costa et al., 2022). A escolha do método de extração depende de fatores como a aplicação desejada, os custos envolvidos e a qualidade exigida do colágeno. A pesquisa sobre esses processos continua avançando, buscando otimizar os métodos de extração e tornar o colágeno extraído de fontes marinhas mais acessível e de melhor qualidade, atendendo às demandas de diferentes indústrias. Além disso, bioplásticos derivados de colágeno de peixe apresentam um caminho promissor para materiais sustentáveis, alavancando o colágeno abundante encontrado em resíduos de peixe.

3.4 FILMES BIODEGRADÁVEIS OBTIDOS A PARTIR DE COLÁGENO

O colágeno tem despertado crescente interesse no desenvolvimento de materiais sustentáveis, devido às suas propriedades biodegradáveis e à capacidade de formar filmes, particularmente na indústria alimentícia. Nos últimos anos, os avanços na fabricação de filmes à base de colágeno têm sido amplamente explorados, dada a versatilidade e o potencial desse biopolímero para atender às crescentes demandas por alternativas ecológicas e inovadoras.

A estrutura molecular do colágeno, rica em grupos carboxila e hidroxila hidrofílicos, favorece a formação de uma densa rede de ligações de hidrogênio em sua superfície. Essa característica confere ao colágeno um modelo ideal para a formação de barreiras eficazes, ao mesmo tempo em que proporciona cargas biologicamente ativas. A rede de ligações de hidrogênio nos filmes de colágeno restringe a troca gasosa, o que contribui significativamente para a extensão da vida útil de produtos alimentícios, como os derivados de peixe, ao reduzir a oxidação e a perda de umidade (Wang et al., 2017).

Estudos recentes têm evidenciado o potencial do colágeno extraído de peixe na produção de filmes biodegradáveis, os quais não só promovem a diminuição do impacto ambiental, como também apresentam propriedades mecânicas e antibacterianas vantajosas. A transição para bioplásticos ecológicos está alinhada com a crescente demanda por alternativas sustentáveis em diversos setores industriais. Embora poucos estudos tenham abordado a tilápia (*Oreochromis niloticus*) como fonte de colágeno para a produção de filmes, pesquisas de Zhuang et al. (2019) e da Costa et al. (2022) demonstraram a viabilidade de filmes compostos de colágeno extraído da pele de tilápia, apresentando propriedades satisfatórias.

Adicionalmente, outras pesquisas investigaram filmes de colágeno derivados de pescados. Por exemplo, Tong et al. (2017) exploraram a utilização de colágeno extraído da pele do peixe Basa (*Pangasius hypophthalmus*), e os resultados indicaram boas propriedades mecânicas, elevada capacidade de absorção de água e biodegradabilidade, características que tornam os filmes adequados para o uso em embalagens alimentícias. Ma et al. (2020) desenvolveram filmes de colágeno comestíveis, combinados com alginato de sódio e carboximetilcelulose, avaliando a viabilidade de células de *Lactococcus lactis*. Os resultados sugerem que essas combinações oferecem propriedades adicionais benéficas para a indústria alimentícia. Outro exemplo de avanço é o trabalho de Kulkarni et al. (2022), que demonstraram a valorização de resíduos de peixe, combinando-os com quitosana e extrato de neem (*Azadirachta indica*) para a fabricação de filmes biodegradáveis com ação antimicrobiana eficaz. Além disso, Moreno-Ricardo et al. (2024) destacaram que a quitosana,

a gelatina e o colágeno extraídos das escamas de bocachico (*Prochilodus magdalenae*) oferecem alternativas promissoras para a produção de filmes sustentáveis na indústria alimentícia.

Embora os filmes derivados de um único biopolímero apresentem várias vantagens, eles muitas vezes carecem de propriedades essenciais, como flexibilidade e resistência à umidade. Uma alternativa eficaz para superar essas limitações é a combinação do colágeno com outros biocompostos. A adição de plastificantes, como glicerol e sorbitol, tem se mostrado uma estratégia eficaz para melhorar as propriedades físicas e químicas dos filmes de colágeno. A interação desses plastificantes com o colágeno, por meio de reações físicas e químicas, aumenta a mobilidade das cadeias poliméricas e o volume livre entre as moléculas, resultando em melhorias significativas na viscoelasticidade e extensibilidade dos filmes, tornando-os mais flexíveis e menos quebradiços (Rostamzad et al., 2016). A escolha apropriada do tipo e da concentração dos plastificantes pode ser otimizada para atender às necessidades específicas de cada aplicação.

Além disso, a combinação de colágeno com lipídios ou polissacarídeos tem se mostrado uma abordagem eficaz para aprimorar as características funcionais dos filmes. A pectina, um hidrocolóide polissacarídico de alto peso molecular, é comumente utilizada em processos de espessamento, estabilização e encapsulamento, além de evitar a cristalização. Como biopolímero, a pectina serve como uma excelente base para o desenvolvimento de revestimentos, proporcionando resistência mecânica e potencializando a funcionalidade do material (Khalid et al., 2024).

Esses avanços destacam o grande potencial do colágeno de peixe na criação de filmes biodegradáveis de alto desempenho, não apenas como uma alternativa sustentável às embalagens plásticas convencionais, mas também como uma plataforma inovadora para o desenvolvimento de materiais com propriedades otimizadas para diversas aplicações industriais.

3.5 FILME INTELIGENTE: INOVAÇÃO E TIPOS

Embalagens inovadoras têm se destacado como um dos principais avanços na indústria alimentícia, indo além da simples proteção física dos produtos. Elas oferecem funcionalidades adicionais que podem melhorar a segurança alimentar, aumentar a vida útil dos produtos, reduzir o desperdício e permitir o monitoramento em tempo real das condições dos alimentos ao longo da cadeia de suprimentos. Esse conceito engloba tecnologias que

promovem interações ativas ou informativas entre a embalagem, o seu conteúdo e o consumidor. As embalagens inteligentes podem ser divididas em duas categorias principais: embalagens ativas e embalagens inteligentes, baseadas em sensores (Drago et al., 2020).

As embalagens ativas são projetadas para interagir com o ambiente interno da embalagem, controlando fatores como umidade, oxigênio e, em alguns casos, temperatura, a fim de preservar a qualidade do alimento. Já as embalagens inteligentes têm a função de monitorar e fornecer dados sobre as condições do produto, como frescor, temperatura e umidade, durante o transporte e armazenamento. Além disso, tecnologias de rastreamento e identificação, como RFID e códigos QR, são cada vez mais integradas, garantindo a rastreabilidade e a qualidade dos produtos ao longo de toda a cadeia produtiva. Diversos tipos de sensores de base biológica têm sido empregados no monitoramento de alimentos embalados, oferecendo uma forma eficaz e em tempo real de avaliar a qualidade e a segurança dos produtos. Entre esses sensores, destacam-se os sensores de gás, os indicadores de tempo-temperatura (TTIs), sensores de base biológica para frescor de alimentos e os biossensores para contaminação de alimentos (D’Almeida et al., 2024).

Os indicadores de tempo-temperatura (TTIs) são dispositivos utilizados para monitorar a exposição cumulativa dos alimentos a variações de temperatura ao longo de sua cadeia de distribuição e armazenamento. Esses indicadores baseiam-se em reações químicas, enzimáticas ou físicas que são sensíveis à temperatura e ao tempo. A taxa de reação varia com as flutuações de temperatura, e essas mudanças resultam em uma alteração visível, como uma mudança de cor, que pode ser facilmente monitorada. Além de permitir a detecção de exposição inadequada a temperaturas elevadas, os TTIs também fornecem informações sobre o tempo de exposição, garantindo que alimentos sensíveis sejam mantidos em condições ideais para preservar sua qualidade e segurança (Forghani et al., 2021).

Os biossensores, que combinam material biológico com elementos de transdução, oferecem uma forma altamente sensível de detectar a presença de contaminantes químicos ou biológicos nos alimentos. O princípio de funcionamento desses dispositivos baseia-se no reconhecimento específico de um analito, que pode ser uma molécula, célula, microrganismo ou anticorpo, que interage com o biorreceptor presente no sensor. Após essa interação, um sinal mensurável (como calor, luz ou mudança de pH) é gerado e convertido em uma leitura quantitativa. Tais dispositivos são essenciais para a detecção precoce de patógenos ou substâncias tóxicas, aumentando a segurança alimentar e evitando riscos à saúde dos consumidores (Sanponpute; Wattong, 2017).

Os sensores de gás desempenham um papel crucial na detecção precoce de alterações

na qualidade dos alimentos, como o ranço. Estes sensores são especialmente eficazes para monitorar a presença de gases deteriorantes, como dióxido de carbono (CO_2) e oxigênio, que podem indicar o início de processos de deterioração. Sensores de CO_2 são amplamente utilizados em embalagens de alimentos perecíveis, como carnes e peixes, uma vez que esses alimentos liberam CO_2 à medida que começam a se decompor. Os sensores de amônia, por sua vez, são comumente empregados para avaliar o frescor de carnes e peixe, uma vez que a amônia é liberada durante a decomposição das proteínas da carne. Esses sensores são compostos por um receptor, que transforma informações físicas ou químicas em energia, e por um transmissor, que converte essa energia em um sinal mensurável (Osmólska et al., 2022).

Sensores de base biológica são particularmente eficazes para monitorar a frescura de alimentos perecíveis, como frutas, vegetais, carnes, peixes e laticínios, logo após a colheita ou o abate. Esses sensores podem detectar alterações em parâmetros como compostos à base de nitrogênio, H_2S , pH e até CO_2 como indicadores-alvo para investigar a deterioração de alimentos. No caso do peixe, por exemplo, que é altamente valorizado por seu teor de proteínas e ácidos graxos ômega-3, a utilização de biossensores para garantir o frescor e a segurança dos produtos é de extrema importância. Vários reagentes e indicadores, como o azul de bromotimol (BB) e verde de bromocresol (BCG), são utilizados para fornecer informações visíveis e mensuráveis sobre o frescor dos alimentos. Esses sensores podem ser observados a olho nu ou através de dispositivos eletrônicos, permitindo uma monitoração rápida e eficiente da qualidade dos produtos embalados (Dirpan et al., 2023). Além destes corantes sintéticos, pigmentos naturais como curcumina, betalaínas, antocianinas e outros, têm recebido atenção crescente em embalagens inteligentes para alimentos. A crescente demanda por soluções mais sustentáveis na indústria alimentícia tem impulsionado a busca por alternativas aos corantes sintéticos, com destaque para os pigmentos naturais.

Entre estes, as antocianinas se destacam por não causarem efeitos adversos à saúde do consumidor e por suas propriedades antioxidantes e corantes. Esse movimento está diretamente relacionado ao desenvolvimento de embalagens inteligentes, que utilizam sensores biológicos para monitorar a frescura dos alimentos, alinhando-se à crescente conscientização ambiental.

3.6 ANTOCIANINAS: POTENCIAL COMO CORANTE NATURAL

A antocianina é um metabólito secundário pertencente à família dos flavonoides, um grupo de compostos fenólicos amplamente distribuído no reino vegetal. O termo

“antocianina” tem origem no grego, sendo derivado de “anto”, que significa flor, e “cianina”, do termo “ciano”, que se refere à cor azul (Wahyuningsih et al., 2017). Trata-se de um pigmento natural comestível, solúvel em água, com um peso molecular que varia entre 400 e 1200 g/mol (Khoo et al., 2017). Sua estrutura básica é constituída por 2-fenilbenzopirílio, com a fórmula molecular $C_{15}H_{11}O$. Em termos químicos, as antocianinas são glicosídeos polihidroxiados, polimetoxilados ou acilglicosídeos derivados das antocianidinas. Sua estrutura é caracterizada pelo cátion 2-fenilbenzopirílium, também conhecido como cátion flavilium, composto por um anel aromático ligado a um anel heterocíclico de carbono, com oxigênio carregado positivamente e um terceiro anel aromático, por meio de uma ligação carbono-carbono (Rodriguez-Amaya, 2019).

Na natureza, existem 23 antocianinas distintas, que se distinguem por uma variedade de estruturas formadas por substituições alternadas nas posições de carbono dos dois anéis benzênicos. No entanto, apenas seis dessas antocianinas, cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, malvidina e petunidina, são amplamente distribuídas em plantas comestíveis, representando, respectivamente, 50%, 12%, 12%, 12%, 7% e 7% da totalidade encontrada (Borkowski et al., 2005).

A intensa coloração das antocianinas está diretamente associada à sua estrutura química. As oito ligações duplas conjugadas em seu esqueleto podem formar um cromóforo capaz de absorver ondas de luz com comprimentos de onda entre 500 e 600 nm, resultando em cores como vermelho, azul, roxo e cinza (Almasi et al., 2022). Sob condições ácidas (pH 1–4), as antocianinas se apresentam de maneira relativamente estável, predominantemente na forma de cátions flavina, exibindo a cor vermelha. Quando o pH se aproxima de valores neutros (pH 4–6), o cátion flavina se desprotona e forma uma pseudobase de carbinol, que pode ser cinza ou incolor. Em pH entre 6 e 8, a estrutura das antocianinas se converte para a base quinoidal, alterando a coloração para tons de rosa, roxo ou azul. Sob condições alcalinas (pH > 8), a antocianina assume a forma de uma chalcona amarela (Huang et al., 2021). A intensidade da cor das antocianinas é influenciada não apenas por sua estrutura molecular, mas também por fatores externos como pH, temperatura, radiação UV e presença de oxigênio (Li et al., 2019).

A extração das antocianinas é uma etapa crucial para sua obtenção e utilização em processos de identificação, quantificação ou aplicação em diferentes áreas, como a de corantes naturais (Khoo et al., 2017). Devido à sua polaridade, a extração dessas moléculas é comumente realizada utilizando solventes como etanol, metanol e acetona, com ou sem acidificação. Nos últimos anos, novas tecnologias têm sido exploradas para melhorar a

eficiência da extração, como métodos enzimáticos, ultrassom e campos elétricos pulsados (Li et al., 2019).

As antocianinas são conhecidas por suas potentes atividades biológicas, destacando-se como eficazes sequestradoras de radicais livres solúveis em água. Sua capacidade antioxidante está relacionada à estrutura química, que permite a neutralização de radicais livres por meio de dois mecanismos principais: a primeira envolve o grupo hidroxila presente no anel B da antocianina, enquanto a segunda ocorre através do íon oxigênio do anel C, que reage com os radicais livres. Em geral, quanto mais simples for a estrutura química da antocianina, maior será sua atividade antioxidante (Qi et al., 2022).

Além das propriedades antioxidantes, as antocianinas apresentam atividade antibacteriana significativa, sendo eficazes contra diversas bactérias e fungos. Estudos demonstram que essas substâncias podem inibir o crescimento de microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, principalmente devido à sua capacidade de interagir com a membrana celular e afetar a integridade da célula bacteriana (Chen et al., 2018).

Como corantes naturais, as antocianinas têm a capacidade de melhorar as características organolépticas de alimentos processados, conferindo-lhes cores vibrantes e atraentes (Santos et al., 2022). Sua sensibilidade ao pH e diversas atividades biológicas tornam-nas promissoras na produção de filmes para embalagens funcionais, com potenciais aplicações em monitoramento e preservação de alimentos.

Essas substâncias são amplamente encontradas em uma variedade de alimentos vegetais, como frutas, legumes, grãos, flores e cálices. Filmes elaborados a partir de matrizes de biopolímeros carregadas com antocianinas podem mudar de cor conforme o pH ambiente, funcionando como indicadores sensíveis do frescor dos alimentos. Diversos estudos têm demonstrado que antocianinas extraídas de fontes como bérberis (Alizadeh Sani et al., 2022), mirtilo (Kong et al., 2023), amoreira (Li et al., 2022), batata-doce roxa (Dong et al., 2023), repolho roxo (Abedi-Firoozjah et al., 2022) e arroz preto (Ge et al., 2020) podem ser utilizadas para esse fim. Contudo, é importante destacar que, embora as flores sejam fontes abundantes dessas moléculas, o conteúdo de antocianinas em muitas espécies florais ainda não foi adequadamente investigado, o que sugere a necessidade de estudos adicionais para explorar todo o potencial dessas fontes naturais.

3.6.1 Toxicidade extrato de antocianina

A avaliação da citotoxicidade é um requisito essencial para identificar fontes viáveis

de antocianinas, sobretudo quando esses materiais podem entrar em contato direto ou indireto com alimentos. Esse tipo de análise é usada para determinar a viabilidade das células após serem expostas a um composto ou substância. O número de células vivas e/ou mortas é contado após a cultura ter um período de incubação, e um controle é necessário para comparar corretamente os efeitos do composto que está sendo testado para o experimento (Ramakrishna et al., 2015).

Os ensaios de citotoxicidade podem ser classificados em quatro categorias: ensaios de exclusão de corantes, ensaios colorimétricos, ensaios fluorométricos e ensaios luminométricos. Ensaios colorimétricos, como MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium brometo) e MTS (5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4,5-dimetil-tiazolia)-3-(4-sulfofenil) tetrazolium, sal interno), são comumente usados devido à sua alta reprodutibilidade, precisão e baixos custos em comparação com outros (Zhao et al., 2019).

Entre os métodos mais empregados para essa finalidade, o ensaio colorimétrico de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo) destaca-se como uma técnica padrão para a determinação da viabilidade celular *in vitro*. Esse ensaio baseia-se na capacidade de células metabolicamente ativas reduzirem o MTT, um corante amarelo solúvel em água, a cristais insolúveis de formazan azul-arroxeados, por meio da ação de enzimas desidrogenases mitocondriais e citoplasmáticas, especialmente a succinato desidrogenase. Assim, a quantidade de formazan formada é diretamente proporcional ao número de células viáveis, permitindo a quantificação indireta da citotoxicidade dos materiais avaliados (Mosmann, 1983; Kumar et al., 2018).

Os resultados são expressos pela inibição da viabilidade celular (IC₅₀) e inibição do crescimento (IG₅₀), dependendo das condições experimentais e do ensaio utilizados. Além disso, é importante determinar a Dose Letal Mediana (LD₅₀) e a dosagem máxima tolerada pelas células vivas. De acordo com a norma ISO 10993-5, percentuais de viabilidade celular superiores a 80% são considerados não citotóxicos; entre 80 e 60%, indicam citotoxicidade fraca; entre 60 e 40%, citotoxicidade moderada; e abaixo de 40%, citotoxicidade forte (López-García et al., 2014).

Nesse contexto, estudos recentes têm investigado a toxicidade de extratos vegetais por meio do ensaio de MTT. Safari et al. (2024) avaliaram extratos obtidos da flor de azevinho preto (*Alcea rosea* var. *nigra*) e observaram baixa citotoxicidade em diferentes linhagens celulares, atribuída ao elevado teor de compostos fenólicos bioativos. De forma semelhante, Abdelrahman et al. (2024) relataram que extratos de flores de buganvília (*Bougainvillea*

spectabilis) apresentaram elevada viabilidade celular, confirmando o potencial desses pigmentos naturais para aplicações biomédicas e alimentares. Além disso, Lopez-Corona et al. (2022) demonstraram que extratos de framboesa (*Rubus idaeus*), ricos em antocianinas, exibiram baixa toxicidade celular e atividade antioxidante significativa, reforçando a segurança desses compostos para aplicações tecnológicas.

3.7 FLOR: FONTE DE PIGMENTOS NATURAIS

Os principais pigmentos presentes nas flores são os flavonóides, em particular, antocianina, que conferem as cores na faixa de vermelho a cores roxas. O conteúdo de antocianinas em flores depende estritamente da cultivar e da fase de desenvolvimento que se encontram. O teor de antocianinas pode variar significativamente tanto qualitativamente quanto quantitativamente, mesmo em flores de espécies relacionadas. Cultivares da mesma espécie também pode diferir fortemente em termos de teor de antocianinas (Łysiak, 2022).

Diante disso, estudos recentes exploraram a incorporação de extratos de antocianina de flores em filmes inteligentes, esses filmes utilizam as propriedades de mudança de cor das antocianinas para criar materiais responsivos que podem indicar mudanças no pH ou a presença de substâncias específicas, aumentando a segurança alimentar e o monitoramento da qualidade. A Tabela 1 resume estudos recentes de filmes poliméricos adicionados de extrato de antocianina de flores.

Quadro 1- Desenvolvimento filme inteligente incorporado de extrato de antocianina de flores.

Flor (Gênero e espécie)	Objetivo do Estudo	Principais Resultados	Referência
<i>Clitoria ternatea</i> L.	Desenvolver filme sensível ao pH utilizando compósitos de amido–quitina incorporados com antocianinas da flor de ervilha-borboleta.	Os filmes apresentaram variação de cor de vermelho brilhante a verde na faixa de pH de 1 a 12, sendo discriminada visualmente.	Mary et al., 2024
<i>Aronia melanocarpa</i>	Melhorar as propriedades físicas e estabilidade da cor de filmes de amido inteligentes à base de antocianina.	O filme demonstrou excelente estabilidade, propriedades responsivas ao pH e grande potencial como material de embalagem	Wu et al., 2024

		alimentar.	
<i>Bauhinia Kockiana</i>	Fabricar um filme inteligente utilizando amido de sagu incorporado à fonte natural de antocianinas da flor de <i>Bauhinia Kockiana</i> e utilizá-lo para monitorar o frescor do leite de coco.	O filme de amido de sagu incorporado ao BKE tem excelente potencial para atuar como um filme de pH inteligente no monitoramento do frescor do leite de coco.	Lau et al., 2024
<i>Torenia fournieri</i>	Desenvolvimento de filmes biodegradáveis à base de amido para aplicações em tratamento de feridas e embalagens alimentícias.	A adição de extratos de <i>Torenia fournieri</i> , ricos em antocianinas, aumentou a sensibilidade ao pH dos filmes.	Koshy et al., 2023
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Avaliar o uso dos pigmentos de <i>Hibiscus sabdariffa</i> como rótulos naturais para monitorar a qualidade de alimentos.	Os rótulos mudaram de cor de marrom claro (fresco) para cinza (estragado) conforme o aumento do pH e TVB-N, indicando a deterioração dos alimentos.	Khezerlou et al. 2023
<i>Ipomoea nil</i>	Investigar o potencial dos filmes sensíveis ao pH produzidos no rastreamento do processo de deterioração da carpa capim durante 10 dias de armazenamento a 4 °C.	O filme incorporado com extrato misto de <i>Ipomoea nil</i> e ficocianina possuiu as melhores variações de cor (laranja escuro, rosa, azul escuro) com o grau de deterioração do peixe.	Tavakoli et al., 2023
<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	Estudo sobre a antocianina natural da flor de <i>Jacaranda cuspidifolia</i> imobilizada em uma matriz biopolimérica de quitosana e álcool polivinílico.	A incorporação de antocianinas nos filmes compósitos melhorou significativamente as propriedades mecânicas, térmicas, de resistência à umidade, barreira a gases e atividades antimicrobianas.	Amaregouda et al. 2022
<i>Rhododendron simsii</i> (AR)	Desenvolvimento de filmes indicadores de frescor utilizando <i>Rhododendron simsii</i> incorporado em matrizes de goma de alfarroba e	Filmes contendo 2% e 4% de AR alteraram efetivamente a cor quando os níveis de nitrogênio volátil básico total (TVB-N)	Li et al. 2022

	PVA.	excederam os valores seguros, indicando deterioração.	
<i>Crocus sativus</i> L.	Avaliar a capacidade dos filmes inteligentes halocrômicos de realçar e detectar o frescor da carne de cordeiro durante o armazenamento.	A incorporação das antocianinas nos filmes compósitos também melhorou notavelmente suas propriedades mecânicas, de resistência à umidade, térmicas, de proteção à luz, de barreira a gases, antioxidantes e antimicrobianas.	Alizadeh-Sani et al., 2021

No entanto, várias espécies não foram estudadas profundamente, com isso, faz necessário investigar diferentes espécies de flores quanto ao seu teor e qualidade de antocianinas, para produção de corantes naturais, agregando valor principalmente as flores que são utilizadas apenas como arbustos ornamentais. Dentre elas encontra-se a flor *Catharanthus roseus*, espécie rica em antocianinas e facilmente encontradas nas diversas regiões do Brasil, porém pouco explorada como fonte de antocianina.

3.7.1 Flor: *Catharanthus roseus*

A planta *Catharanthus roseus*, pertencente à ordem Gentianales, integra a família Apocynaceae, cujos membros são predominantes em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, incluindo principalmente árvores decíduas, arbustos e ervas. Taxonomicamente, *C. roseus* está classificada no Reino Plantae, Classe Magnoliopsida, Ordem Gentianales, Família Apocynaceae e Gênero *Catharanthus*. Existem cerca de 359 gêneros na família e 9 espécies para o gênero *Catharanthus*. Os sinônimos históricos de *C. roseus* incluem *Ammocallis rosea* (L.) Small, *Lochnera rosea* (L.) Rchb. ex Spach, *Pervinca rosea* (L.) Gaterau, *Vinca rosea* L. e *Vinca speciosa* Salisb. A etimologia do nome *Catharanthus* deriva do grego, significando "flor pura", enquanto roseus é uma referência à cor rosa ou rosada da flor (Bihani, 2021).

A planta *C. roseus* apresenta várias características botânicas que a diferenciam de outras espécies dentro de seu gênero e família. Trata-se de uma erva perene ou subarbusto, com até 60 cm de altura, base lenhosa e secreção de látex leitosa (Allorge et al., 2015). Suas folhas são pecioladas, oblongas e de textura coriácea, dispostas de forma oposta e alternada

(Bertaccini, 2007). As flores surgem geralmente de forma solitária, apresentando cores atraentes como rosa, branco ou uma combinação de ambos, sendo frequentemente rosa pálido com um ponto violeta escuro no centro, com cinco pétalas espalhadas (Singh et al., 2008). Com base nas variações de cor das flores, *C. roseus* possui duas variedades principais: a variedade "Rosea", que produz flores rosas, e a variedade "Alba", cujas flores são brancas (Figura 1) (Sagar et al., 2020; Al-Quteimat, 2020).

Originária de Madagascar, *C. roseus* foi gradualmente distribuída mundialmente como planta ornamental e também como espécie introduzida para fins medicinais (Falcão et al., 2017). A planta tem sido amplamente utilizada em países asiáticos e africanos, onde historicamente foi cultivada em templos e jardins (Shukla et al., 2010). Tradicionalmente, diversas partes de *C. roseus* são utilizadas nos sistemas de medicina indiana, bem como na medicina tradicional chinesa (Das; Sharangi, 2017). Entre as condições tratadas com *C. roseus*, destacam-se câncer, doenças do sistema geniturinário, hepáticas, renais e cardiovasculares (Zhu et al., 2015).

Figura 1- Flor *Catharanthus roseus*.



Fonte: Autor.

No Brasil, *C. roseus* foi descrita por Peckolt em 1910, sendo utilizada em infusões de suas folhas para o controle de hemorragias, escorbuto, como enxaguatório bucal para dor de dente, além de ser indicada no tratamento de ferimentos crônicos. Na Europa, espécies relacionadas têm sido usadas para a supressão do fluxo de leite, enquanto nas Índias Ocidentais foi empregada no tratamento de úlceras diabéticas. Nas Filipinas, é reconhecida como um agente hipoglicemiante eficaz quando administrada oralmente. Os alcaloides totais de *C. roseus* apresentam atividade antibacteriana limitada e propriedades hipotensoras significativas e sustentadas, embora os efeitos hipoglicemiantes e antibacterianos não tenham

sido totalmente confirmados. Um dos alcaloides isolados, a ajmalicina, demonstrou efeitos transitórios na redução da pressão arterial (Mishra; Verma, 2017).

Nas últimas décadas, um grande número de publicações cobriu o conhecimento aprimorado sobre os alcaloides antitumorais de *Catharanthus*. Pelo contrário, os pigmentos antociânicos desta espécie atraíram pouca atenção, embora alguns estudos tenham sido conduzidos sobre vários aspectos *in vitro* da produção de antocianina. O perfil de antocianidinas das flores de *C. roseus* foi determinado há algum tempo atrás, e malvidina, petunidina e hirsutidina foram identificadas (Forsyth; Simmonds, 1957).

3.8 PROPRIEDADES DOS FILMES INCORPORADOS DE ANTOCIANINAS

A adição de antocianinas ou extratos ricos nessas substâncias em materiais de embalagem de alimentos influencia diretamente suas propriedades físicas, mecânicas, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, propriedades ópticas, térmicas, detecção de frescor em alimentos e entre outras. Estudos indicam que a interação entre antocianina e a matriz polimérica pode melhorar a resistência à tração dos filmes, devido à formação de ligações de hidrogênio que aumentam a densidade da rede polimérica (Jiang et al., 2020). No entanto, concentrações excessivas de antocianinas podem prejudicar a integridade da rede, diminuindo essa resistência (Zhang et al., 2020). Além disso, as antocianinas podem atuar como plastificantes, aumentando a flexibilidade dos filmes, embora em alguns casos possam reduzir o alongamento na quebra devido ao enfraquecimento da estrutura da matriz (You et al., 2022).

A estabilidade térmica dos filmes é influenciada pela concentração de antocianinas. Em baixas concentrações, elas melhoram as características térmicas dos filmes, mas em concentrações elevadas, podem causar acúmulo e ruptura da estrutura, reduzindo a estabilidade térmica (Lozano-Navarro et al., 2018). As interações moleculares entre antocianina e a matriz polimérica, avaliadas por espectroscopia FTIR, mostram variações nas bandas de absorção, dependendo dos polímeros utilizados e da presença de grupos funcionais (Liu et al., 2019). A microscopia eletrônica de varredura (SEM) revela que a adição de antocianina aumenta a densidade e a compatibilidade das camadas biopoliméricas, afetando sua microestrutura (Jiang et al., 2020).

Além disso, filmes ricos em antocianina apresentam maior capacidade de bloqueio de luz, devido à estrutura aromática da antocianina, que absorve radiação UV-vis. No entanto, a transparência do filme pode ser comprometida, especialmente após exposição à luz, devido à

degradação da antocianina. A antocianina também apresenta propriedades antimicrobianas e antioxidantes valiosas para embalagens ativas, melhorando a preservação dos alimentos (Yong, Liu, 2020).

Como também, os filmes inteligentes incorporados com antocianinas apresentam mudanças de cor em resposta às alterações químicas que ocorrem durante a deterioração dos alimentos, principalmente devido à produção de metabólitos alcalinos. Durante o armazenamento, a degradação proteica e a ação de bactérias deteriorantes levam à formação de compostos voláteis básicos, como amônia, trimetilamina e outras aminas biogênicas, promovendo o aumento do pH no microambiente do *headspace*. As antocianinas sofrem transformações estruturais reversíveis entre diferentes formas moleculares (flavilium cation, quinoidal base, carbinol pseudobase e chalcona), resultando em variações cromáticas perceptíveis, geralmente de vermelho/rosado em meio ácido para roxo, azul ou verde em condições alcalinas. Assim, a alteração de cor do filme reflete diretamente o estado de deterioração dos alimentos, permitindo a conversão de mudanças químicas complexas em um sinal visual simples e intuitivo para monitoramento do frescor (Mattioli et al., 2020).

Nesse contexto, as embalagens inteligentes à base de antocianinas têm sido aplicadas para detectar alterações no frescor e segurança dos alimentos, especialmente em carnes, ao monitorar variações de pH e composição durante o armazenamento (Tavassoli et al., 2022). Estudos recentes, como o de Amaregouda et al. (2022), demonstraram o potencial de filmes inteligentes à base de quitosana/PVA com antocianina extraída de *Jacaranda cuspidifolia*, para avaliar o frescor de alimentos. Esses filmes apresentam propriedades antioxidantes e antibacterianas, além de mudanças de cor visíveis que indicam a deterioração, tornando-os indicadores de qualidade ideais para alimentos marinhos.

No mesmo sentido, Nguyen et al. (2024) desenvolveram uma membrana composta de quitosana/álcool polivinílico com antocianinas para monitorar o frescor do peixe, correlacionando mudanças de cor com variações de pH e níveis de nitrogênio básico volátil, demonstrando a eficácia do sistema em diferentes condições de armazenamento. Além disso, um estudo recente propôs filmes colorimétricos à base de extrato de *Antigonon leptopus* em uma matriz de amido de milho-glicerol, capazes de detectar o frescor do peixe, com a formulação contendo 50% do extrato mostrando mudanças de cor significativas correlacionadas à deterioração (Ho et al., 2024).

Adicionalmente, Dubey et al. (2024) apresentaram um sensor de papel colorimétrico baseado em flor de hibisco, que utiliza antocianinas para monitorar o frescor do peixe. Este sensor detecta visualmente mudanças de pH, indicando a deterioração dos alimentos por meio

de variações de cor, configurando-se como uma solução inteligente e em tempo real para aplicações em embalagens.

Além dessas propriedades, a crescente demanda por métodos rápidos, não destrutivos e confiáveis para avaliação da qualidade de alimentos tem impulsionado o desenvolvimento de embalagens inteligentes associadas a técnicas de Inteligência Artificial (IA), aumentando significativamente a precisão na interpretação de sinais colorimétricos, uma vez que sistemas computacionais são capazes de detectar variações cromáticas imperceptíveis ao olho humano.

3.9 MONITORAMENTO DO FRESCOR DE ALIMENTOS COM AUXÍLIO DE IA

A inteligência artificial constitui um campo que estuda como criar programas computacionais com a capacidade de aprender e raciocinar como humanos para resolver problemas de forma criativa. Dentro desse domínio, o *Machine Learning* (ML) refere-se a algoritmos que aprendem padrões a partir de dados sem programação explícita, enquanto o *Deep Learning* (DL) representa um subconjunto do ML baseado em redes neurais profundas, inspiradas na arquitetura do cérebro humano, com elevada capacidade adaptativa e de aprendizado a partir de grandes volumes de dados (Bose et al., 2024).

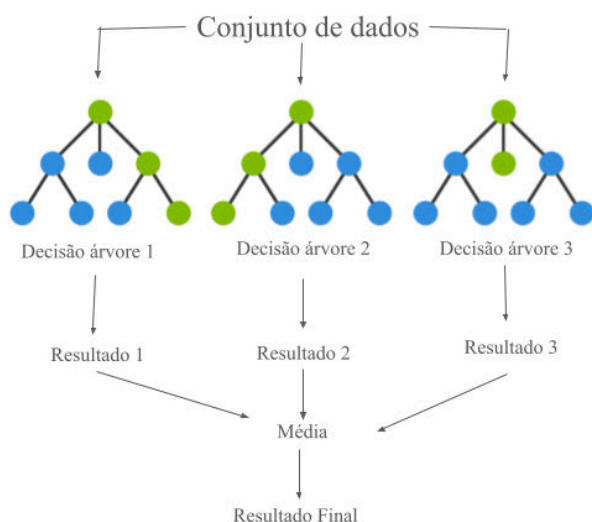
O *Deep Learning* tem sido explorado principalmente em aplicações envolvendo imagens digitais, nas quais redes neurais convolucionais (CNNs) são empregadas para extrair automaticamente padrões cromáticos e texturais. Esses modelos apresentam elevado desempenho preditivo, no entanto, demandam grandes conjuntos de dados e maior poder computacional (Bose et al., 2024).

No contexto do monitoramento do frescor de alimentos, técnicas de ML têm sido amplamente aplicadas para correlacionar dados provenientes de sensores colorimétricos, parâmetros físico-químicos e perfis voláteis, permitindo a classificação automática do estado de frescor. Algoritmos supervisionados, como árvores de decisão (Decision Trees), *Random Forest*, *Support Vector Machines* (SVM) e modelos baseados em *boosting*, são utilizados devido à sua robustez frente a dados heterogêneos e capacidade interpretativa (Geng et al., 2023).

As árvores de decisão são modelos hierárquicos que segmentam os dados em regiões homogêneas por meio de regras baseadas em atributos, permitindo a identificação direta das variáveis mais relevantes para a classificação do frescor. A extensão desse conceito, o *Random Forest* (Figura 2), combina múltiplas árvores geradas a partir de subconjuntos aleatórios de dados e variáveis, reduzindo o risco de *overfitting*, quando o modelo aprende

“demais” os dados de treinamento memorizando os dados em vez de aprender padrões gerais, aumentando a precisão preditiva. Essa abordagem tem sido aplicada em estudos recentes envolvendo sensores de alimentos, demonstrando elevada acurácia na predição dos níveis de deterioração (Geng et al., 2023).

Figura 2- *Random Forest.*



Fonte: Autor.

A validação de modelos de *Machine Learning* é preciso para assegurar a confiabilidade e a capacidade de generalização dos sistemas de classificação. Estratégias como divisão dos dados em conjuntos de treinamento e teste e validação cruzada *k-fold* são utilizadas para reduzir viés e *overfitting*. O desempenho dos modelos é avaliado por métricas como acurácia, sensibilidade, especificidade, curvas ROC e área sob a curva (AUC). O F1-score, que combina precisão e sensibilidade em uma única métrica harmônica, é particularmente relevante em conjuntos de dados desbalanceados, fornecendo uma medida equilibrada da performance do modelo (Huang et al., 2025).

Estudos recentes têm demonstrado que a integração entre filmes inteligentes e algoritmos de ML permite transformar alterações químicas complexas em informações quantitativas e classificações objetivas de frescor. Fang et al. (2022) desenvolveram rótulos inteligentes à base de antocianinas extraídas de repolho roxo combinados com uma rede neural de retropropagação para monitoramento do frescor de pescado. Os autores utilizaram parâmetros cromáticos para correlacionar as mudanças visuais dos rótulos com indicadores físico-químicos, como pH e TVB-N, aplicando algoritmos de classificação para discriminar

diferentes estágios de frescor. Os rótulos foram classificados em três categorias de qualidade, e a rede neural treinada com imagens apresentou uma precisão global de 92,6%, demonstrando que variações colorimétricas podem ser convertidas em métricas quantitativas de qualidade por meio de modelos computacionais.

De forma semelhante, Dogan et al. (2024) capturaram mudanças de cor de filmes baseados em antocianinas de repolho roxo expostas a diferentes concentrações de vapor de amônia sob diferentes condições de iluminação e com *smartphones* de diferentes marcas. Um conjunto de dados foi utilizado para treinar classificadores de ML e adaptáveis às condições ambientais, resultando em uma precisão de classificação de 98,8%. Além disso, o classificador foi incorporado ao aplicativo Android *SmartFood++*, demonstrando o potencial de sistemas portáteis para monitoramento inteligente da qualidade de alimentos.

Esses estudos evidenciam o potencial entre materiais inteligentes, visão computacional e aprendizado de máquina como uma estratégia inovadora para a indústria de alimentos, permitindo a implementação de sistemas de monitoramento em tempo real e suporte à tomada de decisão ao longo da cadeia produtiva, principalmente para alimentos altamente perecíveis, como é o exemplo do peixe.

3.10 VALIDAÇÃO DA APLICAÇÃO FILME DO INTELIGENTE EM PEIXE

A identificação do frescor do peixe ainda é um desafio. Tradicionalmente, a avaliação do frescor baseia-se em análises sensoriais, físico-químicas e microbiológicas, que, embora confiáveis, são geralmente destrutivas, demoradas e dependentes de infraestrutura laboratorial e mão de obra especializada. Com isso, tecnologias emergentes, como filmes inteligentes, têm sido utilizadas como ferramentas complementares para o monitoramento contínuo e não destrutivo da qualidade do pescado. A validação desses sistemas é geralmente realizada pela correlação entre as respostas colorimétricas e parâmetros clássicos de qualidade (Sentanin et al., 2025). Essa abordagem integrada permite assegurar que as alterações visuais dos filmes reflitam, de forma confiável, as transformações bioquímicas e microbiológicas do pescado ao longo do armazenamento.

Nesse contexto, a deterioração do peixe envolve uma série de processos interdependentes, nos quais a atividade microbiana desempenha papel central na perda de frescor. A carga microbiana é frequentemente avaliada pela contagem total de microrganismos viáveis (TVC), sendo valores superiores a 10^6 UFC/g geralmente associados ao início da deterioração sensorial perceptível (Wu et al., 2019). Paralelamente, a degradação proteica

mediada por enzimas endógenas e pela microbiota resulta na formação de compostos nitrogenados voláteis, como trimetilamina, dimetilamina e amônia, que compõem o TVB-N. Esse parâmetro é um dos principais indicadores químicos de deterioração do pescado e é utilizado em regulamentações e estudos científicos para definir limites de aceitabilidade. Normativas internacionais, como as da União Europeia, indicam que valores de TVB-N acima de aproximadamente 30–35 mg/100 g caracterizam o produto como impróprio para consumo (Zhang et al., 2022).

Além da degradação proteica, a oxidação lipídica constitui outro mecanismo relevante de deterioração, especialmente em peixes ricos em ácidos graxos poli-insaturados. Esse processo gera aldeídos, cetonas e outros compostos secundários responsáveis pelo desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis. O índice de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) é utilizado para quantificar a formação de malondialdeído, sendo valores em torno de 1,0 mg MDA/kg frequentemente considerados como limite crítico para a aceitabilidade sensorial do pescado (Wu et al., 2019).

As propriedades físicas do músculo, particularmente a textura, também refletem o estado de frescor do peixe e estão associadas à degradação das proteínas miofibrilares e à desestruturação da matriz muscular durante o armazenamento. A proteólise promove a ruptura das ligações estruturais responsáveis pela integridade das miofibrilas e do tecido conjuntivo, resultando na perda de firmeza, elasticidade e coesividade do músculo. Técnicas instrumentais de análise de perfil de textura têm sido empregadas para quantificar parâmetros como dureza, elasticidade e mastigabilidade, fornecendo indicadores objetivos da qualidade do pescado (Zhang et al., 2022).

Além disso, a caracterização de compostos voláteis tem sido utilizada para compreender as mudanças sensoriais e bioquímicas associadas à deterioração. Aldeídos, cetonas, álcoois, compostos nitrogenados e sulfurados constituem os principais grupos responsáveis pelo aroma característico de peixe fresco e deteriorado. Compostos como trimetilamina, 1-octen-3-ol, aldeídos insaturados e sulfetos são frequentemente identificados como marcadores-chave do frescor e têm sido estudados por técnicas analíticas, como cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC–MS) (Fan et al., 2025).

Dessa forma, a integração de análises microbiológicas, físico-químicas, texturais e de compostos voláteis constitui uma abordagem robusta para a validação de filmes inteligentes aplicados à tilápia, permitindo o desenvolvimento de sistemas de monitoramento confiáveis, não destrutivos e compatíveis com a cadeia moderna de distribuição de alimentos. Esses avanços reforçam o potencial das embalagens inteligentes como ferramentas estratégicas para

a indústria de pescado, contribuindo para o aumento da segurança alimentar e a melhoria da rastreabilidade da qualidade ao longo da vida útil do produto.

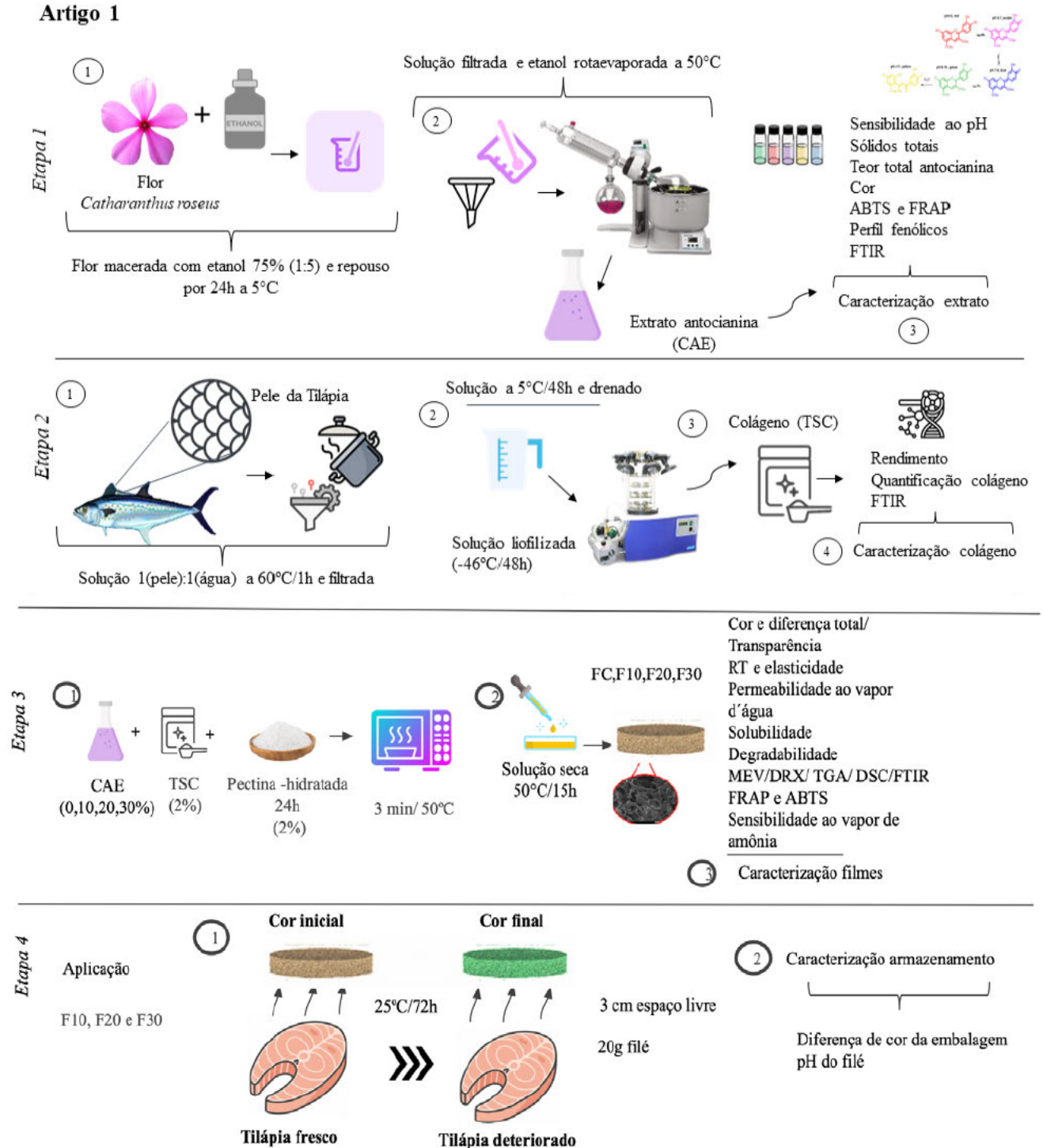
4.0 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

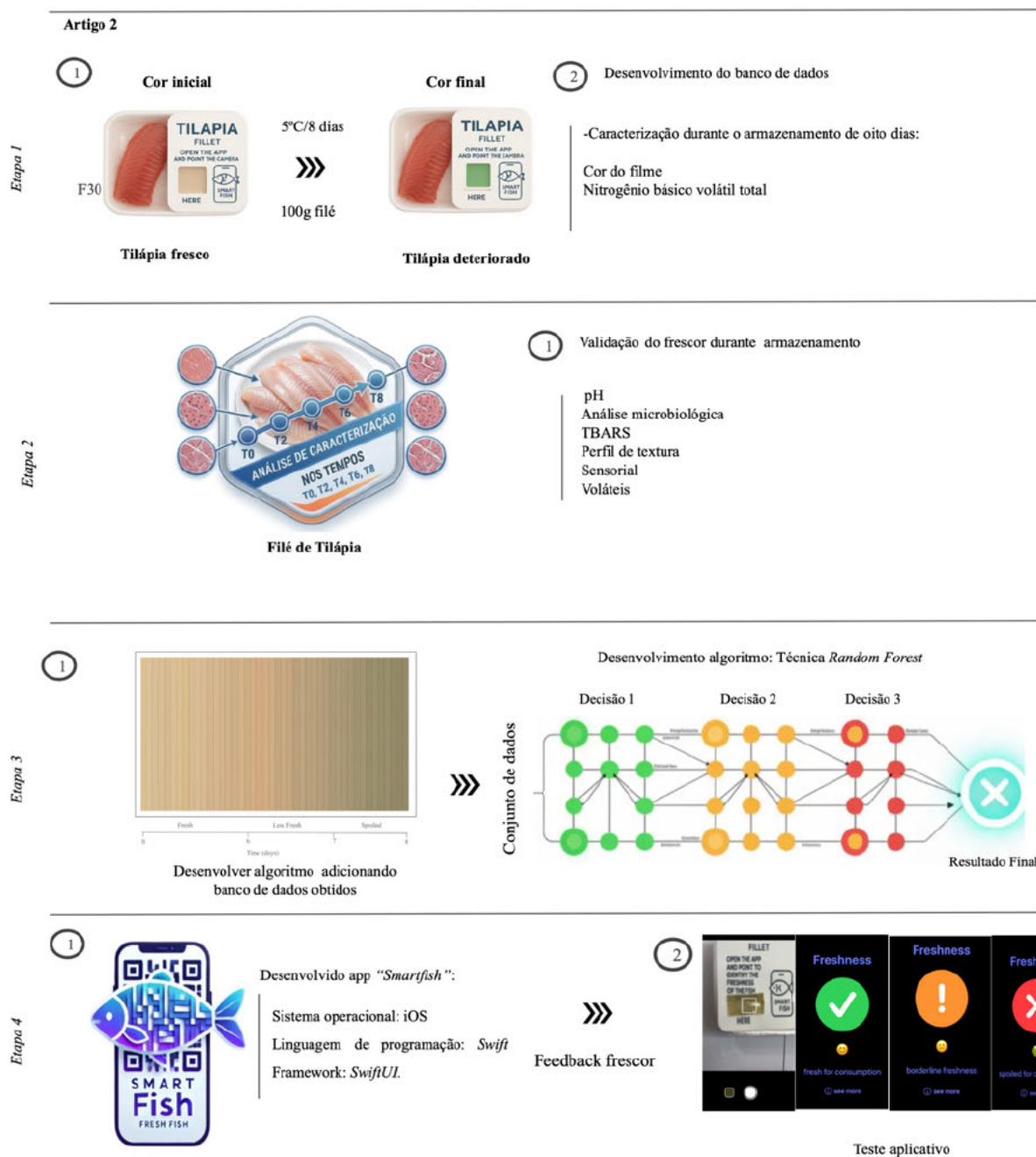
O desenvolvimento do experimento foi abordado em dois artigos, conforme resumo gráfico apresentado na Figura 3.

O primeiro artigo foi conduzido em quatro etapas. Inicialmente, o extrato de antocianina foi obtido a partir da flor *Catharanthus roseus* e caracterizado quanto às propriedades funcionais. Na segunda etapa, o colágeno foi extraído da pele de tilápia e também caracterizado em relação às propriedades funcionais. Na terceira etapa, foi desenvolvido um filme inteligente à base de pectina e colágeno, incorporado com diferentes concentrações de extrato de antocianina. Foram analisados os efeitos da concentração do extrato sobre as propriedades de qualidade e funcionalidade do filme. Por fim, na última etapa, os filmes inteligentes foram testados em filés de tilápia armazenados em temperatura ambiente, avaliando a mudança de cor do filme em resposta ao pH do pescado.

O segundo artigo teve como foco a aplicação do filme de melhor desempenho em filés de tilápia refrigerados. A primeira etapa do experimento consistiu no desenvolvimento de um banco de dados, relacionando a cor do filme ao longo do armazenamento com os valores de nitrogênio básico volátil total. A segunda etapa envolveu a validação da mudança de cor do filme por meio de análises de controle de qualidade do pescado. Na terceira etapa, o banco de dados foi utilizado para o desenvolvimento do algoritmo do aplicativo. Por fim, na última etapa do experimento, foi desenvolvido um aplicativo para smartphone, denominado *SmartFish*, com o objetivo de auxiliar os consumidores na identificação do frescor do pescado com base na coloração do filme indicador, sendo posteriormente testado para validação de sua aplicabilidade.

Figura 3- Delineamento experimental para desenvolvimento filme inteligente e aplicação com detecção de frescor com auxílio de smartphone.





Fonte: Própria do autor.

4.1 ARTIGO 1- ETAPA I: EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINA DA FLOR (CAE) E CARACTERIZAÇÃO

A primeira etapa do esquema apresentado na Figura 3 consistiu na extração de antocianinas da flor *Catharanthus roseus*. Inicialmente as flores foram maceradas em solução de etanol 75% (1:5, massa/volume) e mantidas em repouso por 24 h a 5 °C, em ambiente

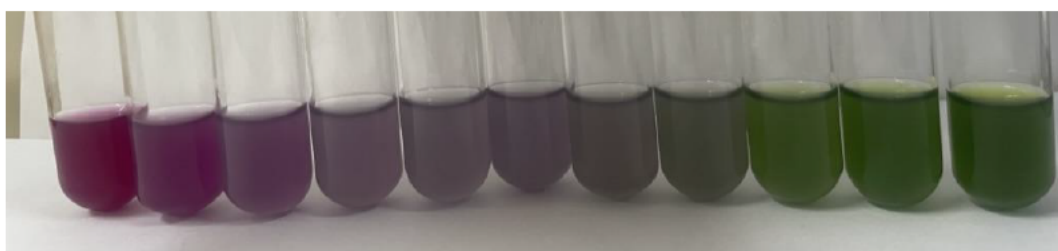
escuro. Após a extração, a solução foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo a 50 °C/ 30 rpm, até a remoção completa do etanol (Figura 4). O extrato resultante foi armazenado em recipiente de vidro opaco selado com papel alumínio, a 5 °C. O extrato (CAE) foi caracterizado quanto ao teor de sólidos, cor instrumental (L^* , a^* , b^*), conteúdo de antocianinas e atividade antioxidante (ABTS e FRAP). Também foram identificados compostos fenólicos por cromatografia líquida e avaliada a sensibilidade ao pH por espectrofotometria UV-Vis, com registro das variações de cor em diferentes faixas de pH (Figura 5).

Figura 4- Processo de obtenção extrato de antocianina da flor *Catharanthus roseus*.



Fonte: Própria do autor.

Figura 5- Variação de pH do extrato de CAE.



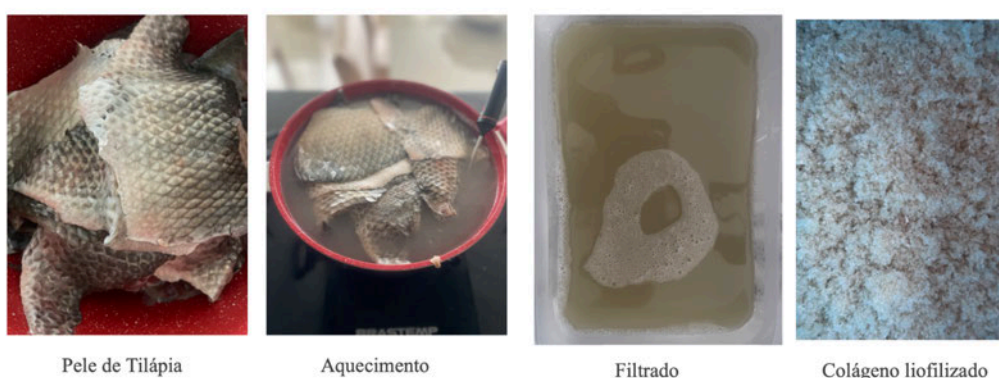
Fonte: Própria do autor.

4.2 ARTIGO 1- ETAPA II: OBTENÇÃO DE COLÁGENO DE PELE DE TILÁPIA (TSC) E CARACTERIZAÇÃO

A segunda etapa consistiu na extração de colágeno da pele da tilápia (*Oreochromis niloticus*) (Figura 6). Inicialmente, a matéria-prima foi lavada e, em seguida, homogeneizada com água na proporção de 1:1. Posteriormente, a mistura foi submetida a aquecimento a 60

°C por 1 hora, sendo filtrada para obtenção do extrato de colágeno. A solução obtida foi congelada a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h, resfriada a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 h para drenagem de água, e a massa resultante foi congelada a $-46\text{ }^{\circ}\text{C}$ e liofilizada por 48 h. As amostras foram embaladas a vácuo e armazenadas sob congelamento até o uso. O rendimento de extração foi determinado pela relação entre o colágeno liofilizado e a pele úmida, enquanto a quantificação foi realizada pelo método da hidroxiprolina. Os grupos funcionais foram analisados por FT-IR, com espectros obtidos entre $600\text{ e }4000\text{ cm}^{-1}$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Figura 6- Processo de obtenção do colágeno da pele do peixe tilápia.



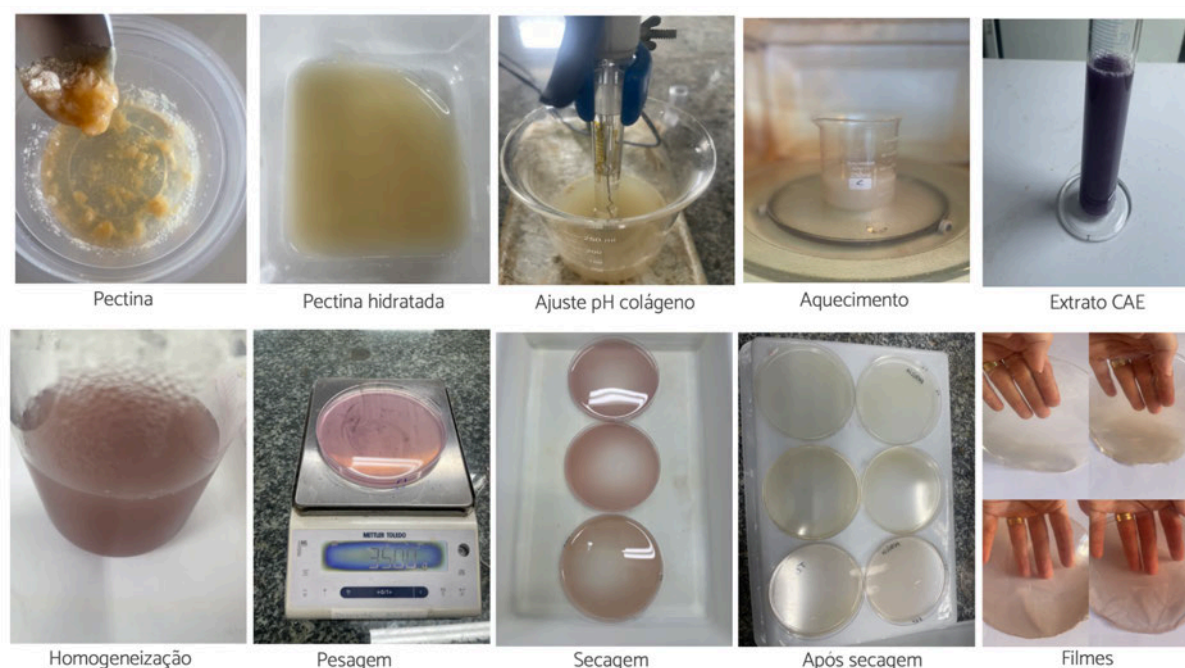
Fonte: Própria do autor.

4.3 ARTIGO 1- ETAPA III: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

A terceira etapa do estudo consistiu no desenvolvimento dos filmes inteligentes (Figura 7). As embalagens foram preparadas usando a técnica de fundição, com uma formulação de 2% de pectina, 2% de colágeno e 1% de glicerol (*p/p*). A pectina foi dispersa em água destilada ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$), homogeneizada e deixada descansar por 24 horas para hidratar. O colágeno foi disperso em água com o pH ajustado para a faixa de 3 a 4 usando 30% de ácido cítrico. A solução de colágeno foi aquecida a $83\text{ }^{\circ}\text{C}$ em um forno de microondas. Após o aquecimento, a solução de pectina hidratada foi incorporada à solução de colágeno, homogeneizada e mantida a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ em um forno de microondas por 3 minutos. A mistura foi resfriada a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, e o extrato de antocianina foi adicionado em concentrações de 10%, 20% e 30% m/m. A solução foi despejada em placas de Petri estéreis ($140 \times 15\text{ mm}$) e seca em um forno a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ por cerca de 15 horas (Figura 7). Para a caracterização dos filmes desenvolvidos foram realizadas a análise de espessura dos filmes através de paquímetro, enquanto a transmitância óptica foi avaliada por espectrofotometria a 600 nm . As

propriedades mecânicas (resistência à tração e alongamento), solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e degradabilidade foram determinadas por métodos padronizados. As características estruturais, térmicas e morfológicas foram analisadas por DRX, FT-IR, MEV e análises térmicas (TG/DTG/DSC), além da avaliação da atividade antioxidante pelos métodos FRAP e ABTS. A sensibilidade dos filmes ao vapor de amônia foi avaliada por meio da variação de cor (L^* , a^* , b^* e ΔE) após exposição a diferentes concentrações de hidróxido de amônio. A estabilidade foi verificada após 40 dias de armazenamento, comparando as alterações colorimétricas.

Figura 7- Processo de obtenção do filme inteligente.



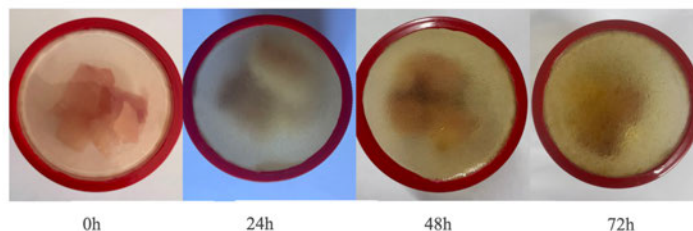
Fonte: Própria do autor.

4.4 ARTIGO 1- ETAPA IV: APLICAÇÃO DOS FILMES NA DETECÇÃO DO FRESCOR DE PEIXES TILÁPIA

A quarta etapa foi realizada para avaliar a embalagem como indicadores de qualidade, foram utilizados frascos estéreis de 70 mL e 5 cm de diâmetro, com filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). O centro das tampas foi removido, deixando apenas a parte de encaixe. Cada frasco recebeu 20 g de filé, com 3 cm de espaço livre, e foi fechado com a embalagem correspondente (F10, F20 e F30). Os filés foram armazenados a 25 °C e umidade relativa de $70 \pm 5\%$, para acelerar a deterioração e avaliar o comportamento da embalagem inteligente (Figura 8). As amostras foram analisadas a cada 24 horas por 72 horas, em

triplicado, para a diferença na cor da embalagem e no pH do filé.

Figura 8- Aplicação do filme inteligente (F30) em filé de peixe.



Fonte: Própria do autor.

4.5 ARTIGO 2- ETAPA I e II: APLICAÇÃO DE FILME INTELIGENTE E CONTROLE DE QUALIDADE EM FILÉS DE TILÁPIA

A primeira etapa consistiu na utilização do filme contendo 30% de extrato de antocianina, elaborado com colágeno hidrolisado e pectina, para aplicação em filés de peixe sob refrigeração. A toxicidade do extrato de antocianina e filme foram avaliados pelo método MTT. Além disso, sua sensibilidade ao vapor de amônia foi avaliada por meio da exposição a diferentes concentrações de hidróxido de amônio, analisando a resposta colorimétrica. Para a aplicação do filme, 100 g de amostra foi acondicionada em embalagem de isopor lacrada e armazenada sob condições controladas de temperatura (4 °C) e umidade relativa (UR = 50%). O rótulo inteligente, previamente preparado com dimensões de 1 cm × 1 cm, foi fixado no espaço livre da embalagem, posicionado a uma distância de 3 cm acima da amostra (Figura 9). Durante o armazenamento a 4 °C, imagens da coloração do rótulo foram capturadas utilizando um smartphone Apple, modelo iPhone 15, nos intervalos de 24 h por 8 dias, a fim de monitorar possíveis alterações visuais indicativas da deterioração do peixe. Simultaneamente, foi estabelecido um controle em branco para avaliar a estabilidade do rótulo inteligente na ausência da amostra. As amostras foram analisadas por 8 dias, em triplicata, quanto à parâmetros colorimétricos ($L^*a^*b^*$) e TVB-N, para compor o banco de dados.

Para validar a mudança de cor do filme inteligente em relação ao frescor do filé, foram realizadas análises de controle de qualidade. A caracterização dos filés ao longo do armazenamento incluiu a determinação de TVB-N, com extração de compostos voláteis assistida por solução salina, além da avaliação do perfil aromático por meio do valor de atividade relativa do odor (ROAV). Também foram realizadas análises de pH, contagem total

de microrganismos viáveis e oxidação lipídica, permitindo acompanhar a deterioração do pescado ao longo do tempo.

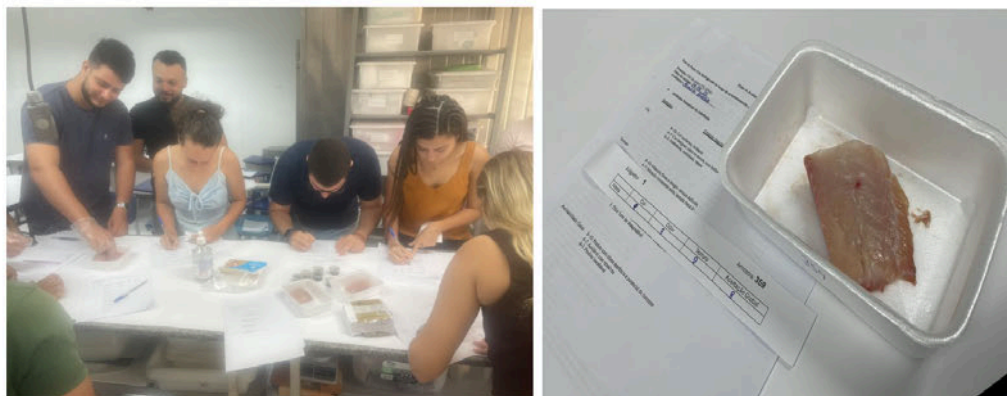
Figura 9- Aplicação sob refrigeração do filme inteligente (F30) em filé de peixe.



Fonte: Própria do autor.

Além disso, foram avaliadas as propriedades de textura, como dureza, elasticidade e mastigabilidade, bem como a aceitação sensorial por painel treinado, possibilitando uma análise integrada das alterações físico-químicas, microbiológicas e sensoriais durante o armazenamento (Figura 10).

Figura 10- Treinamento de avaliadores e análise sensorial em filé de peixe.



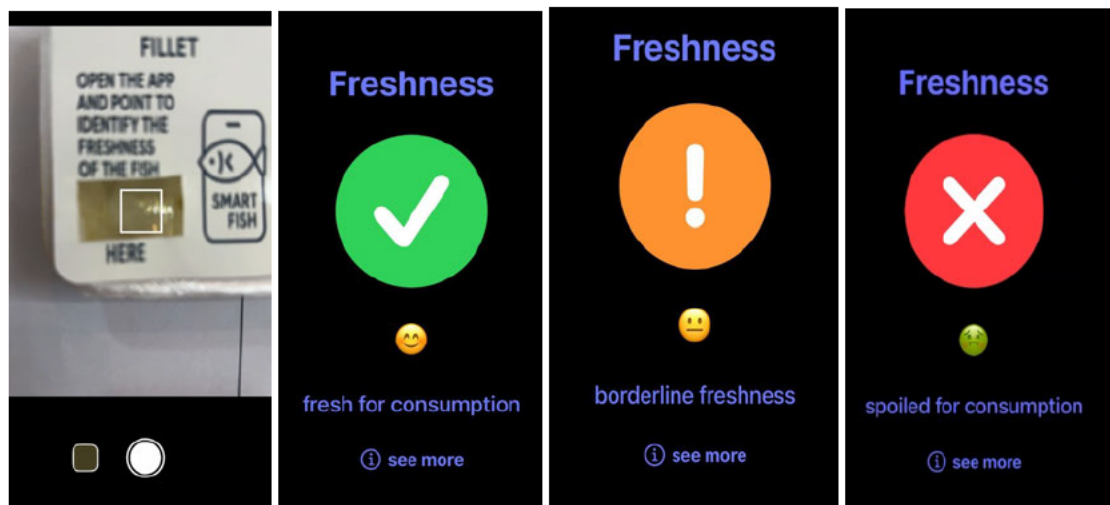
Fonte: Própria do autor.

4.6 ARTIGO 2- ETAPA III e IV: DESENVOLVIMENTO DO APLICATIVO “SMARTFISH”

A terceira etapa do experimento utilizou banco de dados elaborado e validado da primeira etapa para o desenvolvimento do algoritmo, a técnica *Random Forest* foi selecionada

para classificar o frescor da tilápia devido à sua robustez, capacidade de reduzir o *overfitting* e de lidar com variações não lineares nos dados colorimétricos, garantindo maior precisão na categorização. O modelo foi parametrizado com estado aleatório fixo (42), 10 árvores de decisão e profundidade máxima de 5 níveis, visando reprodutibilidade e eficiência computacional. Para aplicação prática na quarta etapa, foi desenvolvido uma aplicação nativa para o sistema operacional iOS denominada “*Smartfish*”, utilizando a linguagem de programação *Swift* e o framework *SwiftUI*. Portanto, ao digitalizar uma etiqueta utilizando o sensor óptico do dispositivo, a aplicação faz a conversão dos valores RGB para o sistema de cores CIELAB (L^* , a^* , b^*). Para testar a robustez e a repetibilidade da aplicação, foram validadas por meio de ensaios de estabilidade, utilizando quatro dispositivos com diferentes especificações ópticas (iPhone 14, iPhone 14 Pro Max, iPhone 15 e iPhone 15 Pro). O experimento consistiu no monitoramento do frescor de amostras armazenadas sob condições controladas de refrigeração (4 °C) durante um período de 8 dias (Figura 11).

Figura 11- Teste do aplicativo “*Smartfish*”.



Fonte: Própria do autor.

5.0 RESULTADOS

5.1 ARTIGO 1

O artigo investiga o desenvolvimento de um filme inteligente à base de colágeno de tilápia, incorporado com antocianinas extraídas das flores de *Catharanthus roseus*. O objetivo principal foi avaliar a capacidade desses filmes como sensores de frescor para monitoramento da deterioração de filés de tilápia, utilizando mudanças de cor como indicador visual.

Os resultados demonstraram que o filme apresentou boa estabilidade estrutural e propriedades físico-químicas adequadas para uso como embalagem. Os filmes apresentaram aumento da atividade antioxidante e redução da cristalinidade com o aumento da concentração do extrato. Observou-se sensibilidade significativa às variações de pH, com mudanças visíveis de cor. Além disso, houve relação consistente entre os parâmetros de qualidade do peixe e a resposta colorimétrica do filme, indicando sua eficiência como indicador de frescor. O tratamento com 30% de extrato (F30) foi o mais eficaz na detecção da deterioração do pescado, promovendo mudanças visíveis na coloração em resposta à volatilização de amônia.

Do ponto de vista crítico, o estudo apresenta uma abordagem relevante e alinhada às demandas por tecnologias sustentáveis e inteligentes na área de alimentos. A utilização de compostos naturais agrega valor ambiental e segurança ao material.

Por fim, o estudo conclui que os filmes desenvolvidos possuem alto potencial para aplicação na indústria alimentícia, fornecendo uma alternativa inovadora e sustentável, permitindo o monitoramento visual da qualidade do pescado de forma prática e não destrutiva. Pesquisas futuras devem validar sua aplicação em escala industrial e em diferentes condições de armazenamento.



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Biological Macromolecules

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijbiomac

Intelligent film based on collagen and anthocyanins from *Catharanthus roseus*: a new freshness sensor for fish

Gabrielle Ingrid Bizerra Florentino^a, Cristiani Viegas Brandão Grisi^{b,*},
 Marcos dos Santos Lima^a, Rita de Cassia Andrade da Silva^b,
 Valquíria Cardoso da Silva Ferreira^c, Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro^c,
 Fábio Anderson Pereira da Silva^a

^a Post-Graduate Program in Food Science and Technology, Department of Food Engineering, Technology Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^b Post-Graduate Program in Chemical, Department of Chemistry, Center for Exact and Natural Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^c Post-Graduate Program in Agro-Food Technology, Center for Humans, Social and Agrarian Sciences, Federal University of Paraíba, Bananeiras, Paraíba, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Intelligent packaging
 Colorimetric sensor
 Flower anthocyanin
 Collagen film
 Fish freshness

ABSTRACT

This study evaluated the impact of different concentrations of anthocyanin extract (CAE) from *Catharanthus roseus* flowers, an innovative and little-explored source of anthocyanins, on the properties of intelligent films for monitoring the freshness of tilapia fillets. The films were produced from collagen from tilapia skin and pectin, in 4 treatments: FC (control), F10 (10 % CAE), F20 (20 % CAE) and F30 (30 % CAE). The results demonstrated that CAE presented high anthocyanin content, significant antioxidant activity, and phenolic profile composed of phenolic acids, flavonoids and anthocyanins, in addition to color variation sensitive to changes in pH. The incorporation of CAE darkened the films and compromised the elasticity and thermal resistance at the highest concentrations (30 %), without affecting the tensile strength, solubility, and vapor permeability. The higher concentration of CAE also reduced soil film degradation, decreased crystallinity, and increased antioxidant activity. The films demonstrated sensitivity to the presence of different concentrations of ammonia, evidenced by chromatic changes. Among the treatments, the F30 film demonstrated a quick response to pH variations associated with fish spoilage, with a noticeable transition from translucent to an opaque yellowish. These results demonstrate the feasibility of using CAE in intelligent and sustainable systems for monitoring fish freshness.

1. Introduction

The increasing use of plastic products in everyday life has led to a massive accumulation of plastic waste in various ecosystems, such as microplastics, being a serious threat to aquatic environments and human health. These fragments are ingested by marine organisms, causing bioaccumulation of toxins and health risks through the food chain [1]. Detected in human tissues, such as the placenta, microplastics raise concerns about their long-term effects [2]. To combat this crisis, it is crucial to improve recycling processes and invest in biodegradable alternatives.

In this context, bioplastics present themselves as a promising alternative to traditional plastics, providing environmental benefits through their biodegradability and production from sustainable sources [3].

Among the innovative options, bioplastics made from fish collagen stand out, which use waste from the fishing industry to create biodegradable materials [4]. These bioplastics have good mechanical properties and flexibility and are especially suitable for food packaging. In addition to reducing environmental pollution, this approach promotes a zero-waste strategy [5].

In recent years, scientists have highlighted the potential of natural bioactive substances to improve the functional properties of films. Furthermore, in the field of food safety, there is a growing demand for solutions that track food quality during transportation and storage [6]. According to the World Health Organization (WHO), contaminated food is responsible for 600 million cases of foodborne illness and 420,000 deaths each year worldwide [7]. Intelligent food packaging has aroused great interest as they are systems that monitor internal and external

* Corresponding author.

E-mail address: crisgrisi.gere@gmail.com (C.V.B. Grisi).

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.147124>

Received 13 June 2025; Received in revised form 8 August 2025; Accepted 24 August 2025

Available online 25 August 2025

0141-8130/© 2025 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

changes in food, communicating these changes to the external environment, promoting traceability, transparency, and safety throughout the supply chain [8].

Among the promising technologies for these packaging, natural pigments sensitive to pH variations have been shown to be excellent colorimetric indicators, especially due to their ability to detect the accumulation of volatile amines, a process that occurs during the spoilage of protein-rich foods. These substances cause noticeable changes in the coloration of films containing pH-sensitive dyes [9]. In addition, indicators derived from natural sources offer advantages over chemically synthesized ones, mainly for food safety reasons and lower toxicity [10].

Among the most used natural pigments, anthocyanin, belonging to the group of polyphenols, stands out for its various biological activities, such as its potent antioxidant action. In addition to being an excellent alternative to synthetic dyes, due to its safety and biodegradability, anthocyanin also draws attention for its wide range of color variations, making it one of the most promising options for the development of intelligent packaging [11]. Previous studies have investigated different sources of anthocyanins, such as beets [12], red radish [13], apple peel [14], black rice [15], and rose [16], for the advancement of these technologies.

The development of freshness indicator films based on anthocyanins extracted from flowers is still limited. *Catharanthus roseus* (L.) Don., known as “bright eyes”, is an ornamental plant native to Madagascar, with vibrant pink or white flowers. In addition to its aesthetic value, the plant has great medicinal importance, being a source of alkaloids used in chemotherapy [17]. Its flowers are rich in phenolic compounds, including flavonoids, anthocyanins, quercetin, and cinnamic acid derivatives, which enhances its use in various applications [18].

This study stands out for using, for the first time, anthocyanins from *Catharanthus roseus*, a plant widely cultivated and readily available in various tropical and subtropical regions, facilitating access and obtaining the material for extraction. Furthermore, this species exhibits intense coloration in its petals, a characteristic that indicates a high concentration and diversity of flavonoid pigments, including anthocyanins. Its phytochemical composition has been studied and recognized for its pharmacological properties, suggesting that its anthocyanins may have interesting functional characteristics, such as high antioxidant activity, enhancing their use in industrial and food applications. This approach leverages underutilized natural resources in the visual detection of food freshness. Thus, incorporating these anthocyanins into films based on tilapia skin collagen demonstrates the potential to indicate the freshness of tilapia fillets, expanding their applications in monitoring food quality.

2. Material and methods

2.1. Material

The flowers of *Catharanthus roseus* were collected manually at the Federal University of Paraíba (UFPB), Paraíba, Brazil, between June and September 2024, at the maximum stage of flowering and lilac coloration, and transported to NPE-LACOM/UFPB. The tilapia skin and fillet were purchased at the local market in João Pessoa, Paraíba State, Brazil, at refrigeration temperature (5 °C). The reagents used, such as glycerol, citrus pectin, citric acid, ethyl alcohol and buffer solutions, were supplied by the companies Dinâmica, Sheron, Alphatec and Labsynth, respectively, with analytical grade purity.

2.2. Obtaining Tilapia skin collagen (TSC)

Collagen extraction followed the method of Costa et al. [19]. The tilapia skin was washed, homogenized with water (1:1), heated to 60 °C for 1 h, and filtered through a stainless-steel sieve (18 cm in diameter, model SQ3701). The solution obtained was frozen at −18 °C for 24 h, cooled at 5 °C for 48 h for water drainage, and the resulting mass was

frozen at −46 °C and lyophilized (Liotp L101) for 48 h. The samples were vacuum-packed and stored under freezing until use.

2.2.1. Extraction yield, chemical and physical characterization of collagen

The collagen extraction yield was calculated by the ratio of the weight of the lyophilized collagen to the wet weight of the skin. The quantification of collagen in the TSC was performed by the hydroxyproline method, in triplicate [20], where the sample was hydrolyzed with sulfuric acid, filtered and diluted. Hydroxyproline was oxidized with chloramine T, generating purple-red color. The intensity of the color was measured at 558 nm in a UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu UV-2550) to determine the collagen concentration, according to Eqs. (1) and (2):

$$H(\text{g}/100 \text{ g}) = \frac{(h \times 2.5)}{(w \times d)} \quad (1)$$

$$\text{Collagenous tissue (g}/100 \text{ g)} = H \times 8 \quad (2)$$

where: H = hydroxyproline. h = amount of hydroxyproline (μg) obtained from the standard curve. w = weight of the sample (g). d = dilution of the filtrate.

The analysis of the functional groups by Fourier Transform Infrared (FT-IR) was performed in a Shimadzu IR Prestige-2 spectrophotometer with ATR. The TSC was placed in the reading cell at 25 °C, and the spectra were collected from 600 to 4000 cm^{−1}, with a resolution of 4 cm^{−1} and 40 scans. After baseline correction, the self-deconvolution spectra were generated with IR Solutions software and adjusted in OriginPro.

2.3. Anthocyanin extraction from the *Catharanthus roseus* flower (CAE)

Preliminary tests were conducted with dried and fresh *Catharanthus roseus* flowers, using different solvents (water, ethanol, and acetic acid), to determine the most efficient extraction method for anthocyanins. Based on the results, fresh flowers and 75 % ethanol were chosen as the extraction solvent. Fresh flowers of *Catharanthus roseus* were macerated in 75 % ethanol solution (1:5, mass/volume) and kept at rest for 24 h at 5 °C, in a dark environment. After extraction, the solution was filtered and concentrated in a rotary evaporator (TECNAL, model TE-213) at 50 °C, until the ethanol was completely removed. The resulting extract was stored in an opaque glass container sealed with aluminum foil at 5 °C [21].

2.3.1. Physical, chemical and functional characterization of anthocyanin extract

The total solids content of CAE was obtained by the drying method in an oven at 105 °C, up to constant weight, in triplicate. Instrumental color was measured using a Konica Minolta digital colorimeter (CR-300), recording the parameters L*, a* and b*, in ten points, with calibration done with a standard white calibration plate, according to the specifications of the CIE [22].

The Total Anthocyanin Content (TAC) was analyzed by the differential pH method of Jeyaraj, Lim and Choo [23], in triplicate. The total anthocyanin content (TAC) of the extract was also monitored over 40 days, under storage in amber bottles at 5 °C. The absorbance of the samples was recorded in buffers pH 1 (potassium chloride 0.025 M) and pH 4.5 (sodium acetate 0.4 M) at wavelengths of 520 nm and 700 nm, using a UV-VIS spectrophotometer. The anthocyanin concentration was expressed in mg of cyanidin-3-glucoside equivalents/g of dry weight of extract (mg CGE/g extract). Absorbance was determined first, followed by quantification of total anthocyanins, according to Eqs. 3 and 4.

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})pH1 - ((A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})pH4, 5 \quad (3)$$

$$\text{Total Anthocyanin} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{A \times mm \times df \times 5}{\epsilon \times 1} \quad (4)$$

where: A = absorbance; mm = molecular mass (449.2 g/mol); df = dilution factor; l = optical path length (cm); ϵ = 26,900, molar extinction coefficient (L/mol.cm) for cyanidin-3-glucoside; 5 = mandatory dilution of the method (1 mL of sample + 4 mL of buffer).

The antioxidant potential of CAE was evaluated by the ABTS and FRAP methods, in triplicate. In the ABTS method, 30 μ L of the sample was mixed with 3.0 mL of ABTS solution, and the absorbance was measured at 734 nm after 30 min, with the results expressed in μ mol of Trolox equivalent (TEAC) per gram of dry sample [24]. In the FRAP method, 10 μ L of the extract was mixed with FRAP reagent and incubated at 37 °C for 30 min, with absorbance measured at 593 nm, and the results were also expressed in μ mol of TEAC per gram of dry extract [25].

The identification of phenolic compounds was performed by an Agilent 1260 LC liquid chromatograph (Santa Clara, USA), equipped with a quaternary pump and in-line degasser (G1311C), thermostated column compartment (G1316A), autosampler (G1329B) and diode array detector (DAD, G1315D). Data collection and processing were performed using OpenLAB CDS ChemStation Edition software (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). The column used was an Eclipse Plus RRHT RP-C18 (50 $\times$ 4.6 mm, 1.8 μ m; Zorbax, SC, USA). The mobile phase consisted of 0.5 % v/v phosphoric acid (solvent A) and methanol acidified with 0.5 % v/v phosphoric acid (solvent B), with a flow rate of 1.0 mL/min at 40 °C, injecting 10 μ L of the sample. The gradient was: 0 min: 0 % B; 2 min: 10 % B; 13 min: 26 % B; 19 min: 50 % B; 21 min: 80 % B; 21.1–23.1 min: 100 % B; 23.2 min: 0 % B, with 3 min of reequilibration. Phenolic detections occurred in the DAD at 220, 280, 320, 360, and 520 nm. The identification and quantification of the compounds were performed by comparison with external standards, considering retention time, calibration curves and spectral similarity [26].

The pH sensitivity of the CAE solution (1 mL extract: 1 mL buffer solution) was determined using a UV-Vis spectrophotometer (G105 UV-vis, Thermo Scientific Inc., USA). The solution spectra (pH 2.0–11.0) in the range of 400–800 nm was recorded and imaged to capture the colors of the solution.

2.4. Development of the films

The packages were prepared using the casting technique, according to the methodology adapted from Costa et al. [19], with a formulation of 2 % pectin, 2 % collagen and 1 % glycerol (w/w). The concentrations were defined based on preliminary tests, aiming at adequate film formation, good mechanical properties, and minimum use of ingredients. The pectin was dispersed in distilled water (25 °C), homogenized and left to rest for 24 h to hydrate. The collagen was dispersed in water with the pH adjusted to the range of 3 to 4 using 30 % citric acid. The collagen solution was heated to 83 °C in a microwave oven (SHARP - 342, Osaka, Japan), with continuous temperature monitoring using a digital thermometer (Ecotools - ET1415, Brazil). After heating, the hydrated pectin solution was incorporated into the collagen solution, homogenized and kept at 50 °C in a microwave oven for 3 min. The mixture was cooled to 40 °C, and the anthocyanin extract was added at concentrations of 10 %, 20 % and 30 % m/m and mechanical homogenizer for 5 min. The proportions refer to the mass of the concentrated extract in relation to the total mass of the film-forming matrix. Furthermore, the percentage was defined based on preliminary tests to ensure the color and functionality of the intelligent film. Concentrations above 30 % of the extract compromised the formation and applicability of the film. The solution was poured into sterile petri dishes (140 $\times$ 15 mm) and dried in an oven at 50 °C for about 15 h. After drying, the films were removed from the plates and subjected to analysis under environmental conditions of 25 °C and relative humidity of 60–70 %. The entire experiment was performed in a dark place to preserve the anthocyanin from exposure to sunlight.

2.4.1. Characterization of the physical, structural and morphological properties of films

The thickness of the bioplastic was measured with a portable micrometer (accuracy of 0.001 mm) at ten random points, 60 mm from the edges. The mean was used to evaluate the mechanical properties. The color was determined according to section 2.3.1, and the total color difference (ΔE) was calculated by Eq. 5, based on the difference between the parameters ΔL^* , Δa^* and Δb^* of the control and the formulations. The colors of the films were also analyzed after 40 days of storage at 25 °C.

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (5)$$

Optical transmittance was evaluated in rectangular samples (10 $\times$ 40 mm) at 600 nm, using a UV-vis spectrophotometer (G105 UV-vis, Thermo Scientific), in triplicate. Transparency was calculated based on the transmittance obtained by the equation:

$$\text{Transparency} = -\log T_{600}/x \quad (6)$$

where: T600 is the transmittance (%) at 600 nm, and x is the film thickness (mm).

The structural properties of the films, including tensile strength and elongation at break, were evaluated with a static analyzer (SHIMADZU) according to ASTM D882–12 [27]. Rectangular films (100 mm $\times$ 15 mm) were analyzed in ten replicates. The initial position of the jaws was 50 mm, with a separation speed of 12.5 mm/min. The results were expressed in MPa for tensile strength and as a percentage for elongation.

Solubility was determined according to Ojagh et al. [28], with modifications. 2 $\times$ 2 cm films were dried at 105 °C for 24 h, placed in 30 mL of distilled water at 25 °C and stirred for 24 h, in triplicate. After new drying, the final weight was recorded and the solubility calculated, according to eq. 7:

$$\text{Solubility (\%)} = [(m_i - m_f)/m_i] \times 100 \quad (7)$$

where: m_i = the initial mass of the dry material (g) and m_f = the final mass that has not dissolved (g).

Water vapor permeability (WVP) was evaluated by the gravimetric method (ASTM E96/E96M-16) [29]. Film samples were fixed inside a properly sealed container (3 cm in diameter) containing 10 g of silica gel, stored in a desiccator at 25 °C and 75 % relative humidity, and weighed every 24 h for 7 days, in triplicate. The WVP was calculated by the equation:

$$WVP = \frac{\left(\frac{C_i}{A}\right) X}{P_s \cdot (RH_1 - RH_2)} \quad (8)$$

where: WVP = water vapor permeability, C_i = slope of the line generated by the weight loss of the system as a function of time, A = exposed surface area of the film (m^2), X = average film thickness, P_s = water saturation pressure, RH_1 = relative humidity inside the desiccator (75 %) and RH_2 = relative humidity inside the capsule (0 %). The results were expressed in g/m s Pa.

The degradability of the films was evaluated by the loss of mass after 60 days of exposure to soil. Rectangular samples (2 $\times$ 2 cm) were weighed, buried at 15 cm depth, and retrieved at intervals of 7, 15, 30, and 60 days. The films were washed with distilled water, dried at 50 °C for 24 h and weighed, in triplicate [30]. The percentage of degradation was then calculated using the following equation:

$$\text{Degradability (\%)} = [(m_i - m_f)/m_i] \times 100 \quad (9)$$

where: m_i is the initial mass of the film (g), and m_f is the final mass of the dry film (g).

X-ray diffraction (XRD) was performed on the XRD-6000 diffractometer (Shimadzu), with CuK α radiation ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$), voltage of 30 kV and current of 30 mA, scanning angles from 10° to 50° at $2^\circ/\text{min}$, and the data were analyzed using the OriginPro 8.5 software [93]. The analysis to determine the functional groups of the films were performed by FT-IR, according to the procedure described in section 2.2.1.

The morphology of the films was analyzed by Scanning Electron Microscopy (SEM) under the MIRA-3 LMH microscope, with samples fixed on metal support, covered with gold. The images were acquired with 10 kV acceleration, using secondary electron (SE) detectors, 1750 mA flux and $5000\times$ magnification.

The thermal analyses of the films (thermogravimetric analysis -TG/DTG and differential scanning calorimetry -DSC) (TG/DTG/DSC) were obtained with a simultaneous thermal analyzer SHIMADZU DTG-60H, using a sample of 5–10 mg, heated from 30 to 800°C at $10^\circ\text{C}/\text{min}$, in a nitrogen atmosphere ($50 \text{ mL}/\text{min}$). The thermograms were processed in the OriginPro 8.5 software.

To evaluate the antioxidant potential of the films (FRAP and ABTS), the films were cut into 0.1 cm^2 squares (225 mg), dissolved in 10 mL of distilled water and stirred for 4 h. The solution was centrifuged at 3500 G for 12 min and the supernatant was used in the analyses, in triplicate. The methods employed are detailed in section 2.2.1.

2.4.2. Characterization of the functional properties of the films

The sensitivity of the films to detect ammonia vapors was tested according to Mei et al. [31]. Film samples with a diameter of 3.5 cm were exposed to flasks containing 10 mL of ammonium hydroxide solutions (10 % to 60 %) and films with 40 days of storage were exposed to 10 % ammonium hydroxide. The color change was recorded after 5 min of exposure, and the values L^* , a^* and b^* were obtained with a colorimeter, in triplicate. The ΔE was calculated based on the color difference between each formulation and the film exposed to the solutions. For the stability test, the color difference of the films was determined based on the values obtained after 40 days of storage and exposure to the solutions.

2.5. Application of the films in the detection of freshness of tilapia fish

To evaluate the packaging as quality indicators, sterile jars of 70 mL and 5 cm in diameter were used, with tilapia fillet. The center of the lids has been removed, leaving only the snap-on part. Each jar received 20 g of fillet, with 3 cm of free space, and was closed with the corresponding packaging (F10, F20 and F30). The fillets were stored at 25°C and relative humidity of $70 \pm 5 \%$, to accelerate deterioration and evaluate the behavior of the intelligent packaging [32]. The samples were analyzed every 24 h for 72 h, in triplicate, for the difference in the color of the package and the pH of the fillet.

2.6. Statistical analysis

Data were analyzed using ANOVA ($p < 0.05$) and presented as mean $\pm$ standard deviation (SD). Significant differences between treatments were compared using Tukey's test (95 % confidence interval) using IBM-SPSS software, version 23.0. The charts were generated in Microsoft Excel 2023 or OriginPro, version 8.5 (OriginLab Corporation).

3. Results and discussion

3.1. Extraction yield, chemical and physical characterization of collagen

The yield of collagen extraction from tilapia skin was 6.31% (Table 1) in relation to the wet weight of the skin. This is an intermediate value when compared to literature. Bi et al. [33], using hot water extraction, a method similar to the one used in this study, obtained a higher yield (10.7 %). On the other hand, different methodologies showed lower yields, as observed by Abdelaal et al. [34] with acid

Table 1
Results of collagen and anthocyanin extract properties.

Bioactives	Parameters	Results
Collagen	Yield (%)	6.31 ± 0.0260
	Hydroxyproline (g/100 g)	4.83 ± 0.0240
	Collagenous tissue (g/100 g)	38.65 ± 0.190
Extract CAE	Total solids (g/mL)	0.047 ± 0.001
	TAC (mg/g)	4.780 ± 0.013
	TAC 40 day (mg/g)	2.358 ± 0.012
	L	33.875 ± 0.064
	a^*	6.185 ± 0.078
	b^*	-3.835 ± 0.035
	FRAP ($\mu\text{mol trolox/g}$)	383.620 ± 9.364
	ABTS ($\mu\text{mol trolox/g}$)	357.190 ± 25.610

Note: CAE (Anthocyanin Extraction from the *Catharanthus roseus*); TAC (Total Anthocyanin Content).

extraction (4.30 %) and Song et al. [35] using fermentation processes combined with chemical treatments (4.27–8.14 %). Considering that hot water extraction represents an economically viable and operationally simple approach, the yield obtained is satisfactory, although there is potential for optimization.

The quantification of hydroxyproline, the predominant amino acid in the collagen molecule, resulted in $4.83 \text{ g}/100 \text{ g}$ (Table 1). This value is close to the results reported by Song et al. [35], who observed $4.97 \text{ g}/100 \text{ g}$ when extracting collagen from tilapia skin by acid extraction, but is lower than the results obtained by Menezes et al. [36] who optimized the extraction conditions with different temperatures and acid treatments, reaching values between 6.81 and $6.94 \text{ g}/100 \text{ g}$. The variations in hydroxyproline levels can be attributed both to environmental factors intrinsic to the raw material, especially the temperature of the fish habitat, and to the different extraction methodologies employed. Although the hydroxyproline found is consistent with the literature, the potential for optimization of extraction conditions is evidenced.

The FTIR spectra of collagen extracted from tilapia skin (Fig. 1-B) showed well-defined absorption bands at 3404 cm^{-1} (amide A), 3292 cm^{-1} (N–H stretch vibrations), 2924 cm^{-1} (amide B). In addition, the typical bands of amides I, II, and III were identified at 1629, 1546, and 1242 cm^{-1} , respectively [37]. This spectral profile is consistent with the results found by Elbially et al. [38] and Reátegui-Pinedo et al. [39] for fish collagen, confirming the preservation of the typical triple helix structure and the presence of N–H groups involved in hydrogen bonding.

3.2. Chemical, physical and functional characterization of anthocyanin extract

The anthocyanin extract of the *Catharanthus roseus* flower showed instrumental color values L^* (33.88), a^* (6.19) and b^* (−3.84), as shown in Table 1. The L^* value indicates a low luminosity, reflecting a lower light transmittance and higher color intensity, characteristic of extracts with high chromatic density. The values of a^* and b^* suggest a moderate trend towards reddish tones and a predominance of bluish tones, respectively, corroborating the violaceous-blue coloration visually observed in the extract [11].

The total anthocyanin content of *Catharanthus roseus* extract (4.78 mg CGE/g) was higher than several floral extracts reported in the literature (Table 1). The observed concentration is higher than the content found in Hibiscus (0.266 mg CGE/g) [40], and close to the values obtained by Lin et al. [41] in *Aronia melanocarpa* (4.456 mg CGE/g) using eutectic solvents, being higher than the ultrasonic microwave-assisted ethanol extraction (2.996 mg CGE/g). Although lower than the anthocyanin content reported for *Clitoria ternatea* extracts (9.91 mg CGE/g) [42], the results highlight the potential of *Catharanthus roseus* as a promising source of anthocyanins.

The extract of *Catharanthus roseus* flowers showed a reduction in total anthocyanin (TAC) content from 4.57 mg CGE/g to 2.36 mg CGE/g

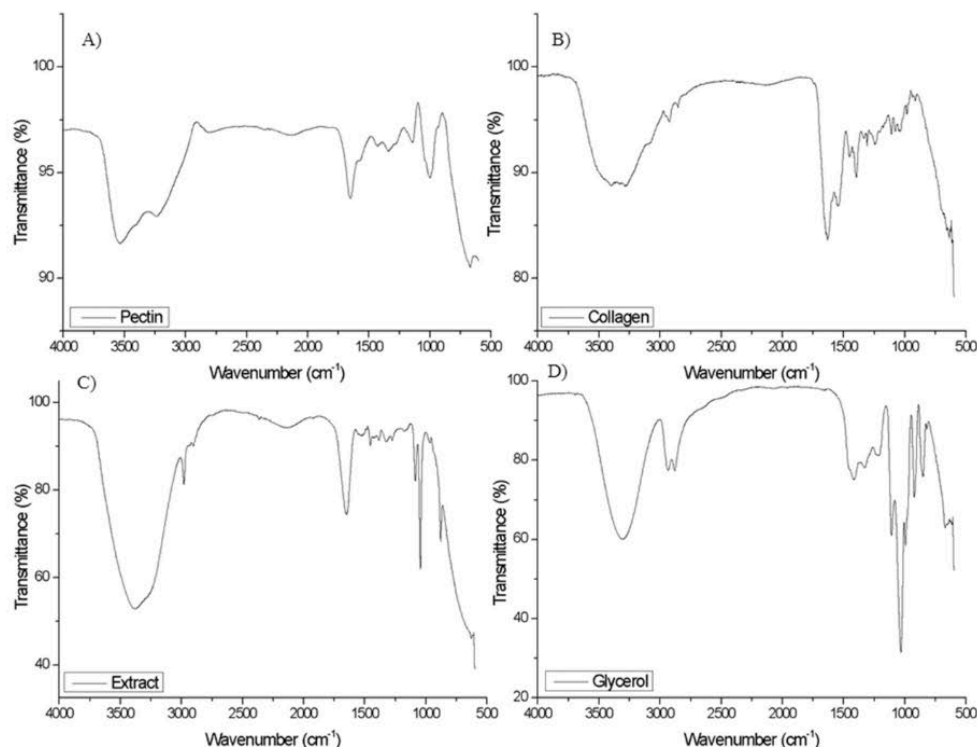


Fig. 1. FT-IR spectra A) Pectin; B) Collagen; C) Extract; D) Glycerol; E) films added with CAE at different concentrations; F) Films degraded 60 days. FC: control; F10: 10 of CAE; F20: 20 of CAE; F30: 30 of CAE.

after 40 days under refrigeration, representing a retention of approximately 52 %. This result is comparable to that observed in other studies with non-encapsulated floral extracts, such *Delonix regia*, which showed a 55 % decrease in TAC after 35 days under similar conditions [43]. Although the stability of *Clitoria ternatea* L. extracts is generally superior, studies such as that of Zaidan et al. [44] demonstrate that, in the absence of encapsulation, even this extract can present losses of up to 40 % in 45 days depending on pH and temperature.

The antioxidant activity of CAE anthocyanin extract, evaluated by the ABTS and FRAP methods, showed significant results. The ABTS analysis resulted in 89.40 mg trolox/g (357.19 μ mol trolox/g) (Table 1), higher than the *Clitoria ternatea* extracts obtained by reflux (52.48 mg trolox/g), but lower than those obtained by maceration (181.40 mg trolox/g) [45]. Similar results were observed by Baştürk and Yavaş, [46] in propolis (262.0 μ mol trolox/g). The FRAP test showed values of 93.29 mg trolox/g (383.64 μ mol trolox/g), values higher than those reported by Santos et al. [45] for *Clitoria ternatea* extracts obtained by maceration (112.10 μ mol TEAC/g) and reflux (64.05 μ mol TEAC/g). This variability highlights the influence of the plant matrix, extraction method and analytical technique used. The chemical structure of anthocyanins, including the glycosylated B-ring, enhances their antioxidant activity [47].

Analysis of the phenolic profile of *Catharanthus roseus* extract revealed 30 distinct metabolites, including phenolic acids (7), flavonoids (9), stilbenes (2), catechins (4), proanthocyanidins (3), phenolic aldehyde (1), and anthocyanins (4) (Table 2) (Fig. S1). Chlorogenic acid stood out as the main phenolic acid (2.938 g/kg), which is recognized for enhancing the stability and intensity of anthocyanin color, as

demonstrated with extracts of Aronia [48] and other plant sources [49].

Among the flavonoids identified, hesperidin (15.679 g/kg), kaempferol 3-glucoside (9.583 g/kg) and isorhamnetin (5.667 g/kg) stood out. Hesperidin has antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties, fighting oxidative stress related to chronic diseases [50], while kaempferol 3-glucoside, present in flowers such as *Asclepias syriaca* contributes to the stability of anthocyanins, as observed in extracts of *Hibiscus sabdariffa* [51]. Isorhamnetin, also isolated from *Asclepias syriaca*, enhances the antioxidant properties of the extract [52].

The cis-resveratrol (2.579 g/kg) and t-resveratrol (1.052 g/kg) stilbenes identified in the CAE extract, are known for their antioxidant, anti-inflammatory, and cardioprotective properties [53]. The main catechin identified was epigallocatechin gallate (EGCG) (2.522 g/kg), which inhibits peroxidase, preventing degradation and intensifying anthocyanin color [54]. The procyanidins B1, B2 and A2, identified in the extract, are important for the formation and stability of anthocyanins in hot and acidic environments [55], also present in flower buds of *Zingiber mioga* [56].

The anthocyanin profiles identified in the CAE included cyanidin 3-glucoside (0.052 g/kg), pelargonidin 3-glucoside (0.607 g/kg), peonidin 3-glucoside (0.098 g/kg), and malvidin 3-glucoside (0.516 g/kg), each with distinct roles in flower coloration. Cyanidin 3-glucoside, common in several plants, is sensitive to pH and metallic interactions [57], while pelargonidin 3-glucoside, predominant in red and orange flowers, interacts with carotenoids for chromatic modulation [58]. Peonidin 3-glucoside, associated with red and purple flowers [59], has greater stability due to glycosylation [60] and malvidin 3-glucoside, with a higher concentration in CAE, intensifies the color and increases the

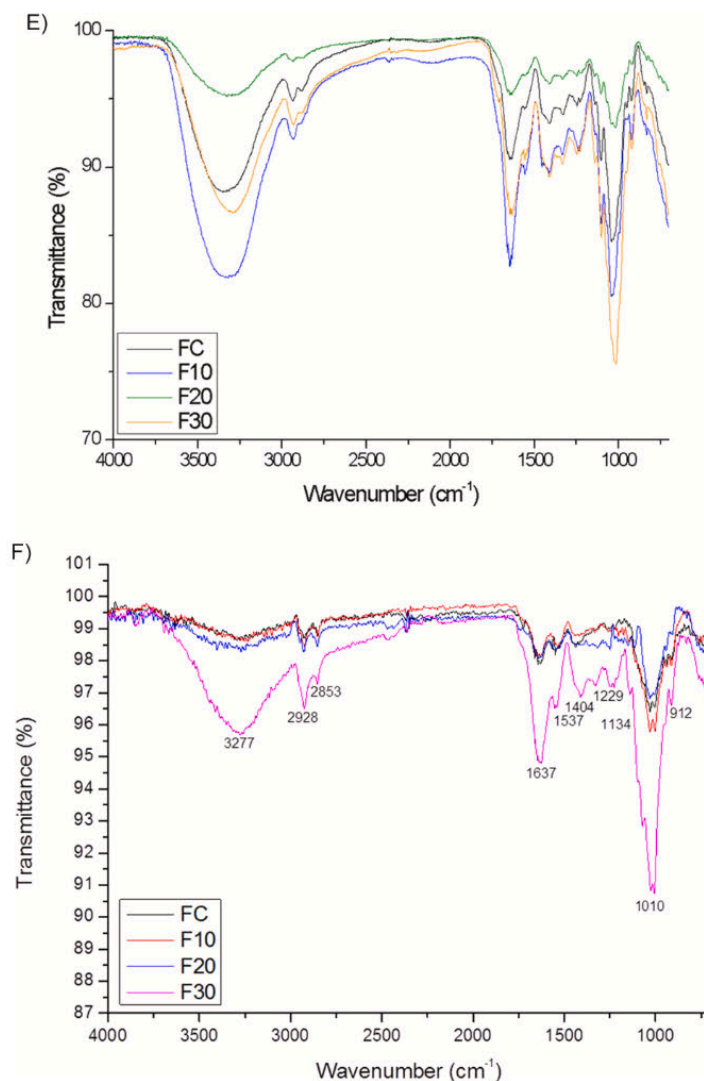


Fig. 1. (continued).

stability of flavanols, [61]. The pH-sensitive behavior of anthocyanins in CAE, coupled with its anthocyanin profile, makes the extract promising for application in intelligent films.

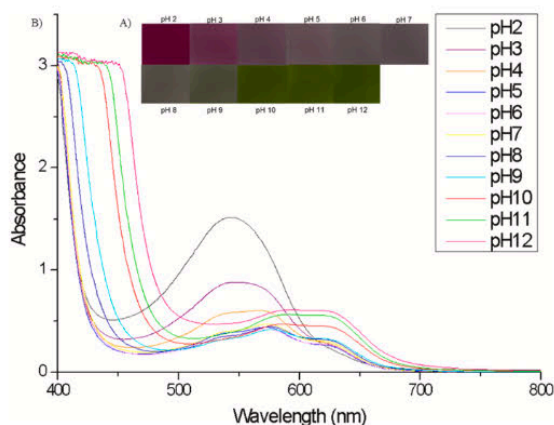
Spectroscopic analysis of the extract, subjected to different pH conditions (2–12), revealed a complex and gradual chromatic variation, as illustrated in Fig. 2A and B. The maximum absorption peak was recorded at approximately 542 nm, between pH 1 and 3, indicating the predominance of the flavylium cation, responsible for the red coloration, whose concentration decreased progressively with increasing pH [62]. Additionally, absorption peaks were observed at 564 nm (pH 5) and 598 nm (pH 12), accompanied by a gradual transition from violet to gray and, subsequently, to greenish tones. Similar results were reported by Li et al. [9] and Zhang et al. [63].

This behavior results from the typical structural changes of anthocyanins in response to pH variation (Fig. S2). Under highly acidic

conditions (pH 1–3), the predominant species is the flavylium cation, characterized by a highly conjugated system involving the 2-phenylbenzopyrylium core and phenolic hydroxyl groups. This extended conjugation facilitates absorption in the visible region, resulting in an intense red coloration. As the pH increases to the range of 4–5, nucleophilic hydration of the flavylium ion occurs, leading to the formation of the carbinol base, an unstable and colorless intermediate. Simultaneously, proton transfer and tautomeric equilibria give rise to neutral structures known as quinoidal bases, which display violet hues typically observed at pH 6–7. In mildly alkaline environments (pH 7–9), further deprotonation of the quinoidal forms leads to the generation of anionic species, exhibiting purplish to bluish colors due to shifts in electron density and reorganization of the π -conjugated system. These structural modifications are governed by the dynamic keto-enol equilibrium characteristic of anthocyanins. At strongly alkaline pH values (≥ 9), ring opening of

Table 2Identification of phenolic compounds from anthocyanin extract of *Catharanthus roseus* flower.

Phenolic compounds	Retention time (min)	λ (nm)	Amount (g/kg)
Phenolic acids			
Vanillic acid	6.488 $\pm$ 0.001	280	0.024 $\pm$ 0.000
Syringic acid	8.130 $\pm$ 0.003	280	0.045 $\pm$ 0.001
t-Cinnamic acid	17.755 $\pm$ 0.224	280	0.484 $\pm$ 0.128
Fumaric acid	1.489 $\pm$ 0.008	220	0.023 $\pm$ 0.000
p-Coumaric acid	9.407 $\pm$ 0.016	320	0.120 $\pm$ 0.006
Chlorogenic acid	6.929 $\pm$ 0.041	320	2.938 $\pm$ 0.129
Ferulic acid	11.370 $\pm$ 0.013	320	0.071 $\pm$ 0.004
Flavonoids			
Naringin	16.525 $\pm$ 0.001	280	1.717 $\pm$ 0.040
Hesperidin	17.348 $\pm$ 0.035	280	15.679 $\pm$ 0.568
Naringenin	19.170 $\pm$ 0.006	280	0.180 $\pm$ 0.075
Hesperitin	19.816 $\pm$ 0.004	280	0.117 $\pm$ 0.008
Myricetin	14.191 $\pm$ 0.052	360	2.290 $\pm$ 0.045
Quercetin 3-glucoside	16.300 $\pm$ 0.001	360	0.634 $\pm$ 0.047
Rutin	16.513 $\pm$ 0.002	360	0.513 $\pm$ 0.034
Kaempferol 3-glucoside	17.933 $\pm$ 0.028	360	9.583 $\pm$ 0.870
Isorhamnetin	18.183 $\pm$ 0.001	360	5.667 $\pm$ 0.125
Stilbenes			
cis-Resveratrol	17.952 $\pm$ 0.001	280	2.579 $\pm$ 0.242
trans-Resveratrol	16.130 $\pm$ 0.001	320	1.052 $\pm$ 0.075
Catechins			
Epigallocatechin gallate	5.357 $\pm$ 0.001	220	2.522 $\pm$ 0.126
Catechin	5.746 $\pm$ 0.000	220	0.014 $\pm$ 0.001
Epicatechin	8.871 $\pm$ 0.010	220	0.138 $\pm$ 0.003
Epicatechin gallate	11.938 $\pm$ 0.019	220	0.033 $\pm$ 0.000
Proanthocyanidins			
Procyanidin B1	5.069 $\pm$ 0.000	220	0.017 $\pm$ 0.000
Procyanidin B2	7.209 $\pm$ 0.001	220	0.197 $\pm$ 0.008
Procyanidin A2	12.892 $\pm$ 0.007	220	0.785 $\pm$ 0.012
Phenolic aldehyde			
Vanillin	7.835 $\pm$ 0.000	320	0.019 $\pm$ 0.000
Anthocyanin			
Cyanidin 3-glucoside	11.603 $\pm$ 0.000	520	0.052 $\pm$ 0.003
Pelargonidin 3-glucoside	12.747 $\pm$ 0.018	520	0.607 $\pm$ 0.005
Peonidin 3-glucoside	14.059 $\pm$ 0.007	520	0.098 $\pm$ 0.000
Malvidin 3-glucoside	15.168 $\pm$ 0.008	520	0.516 $\pm$ 0.001

**Fig. 2.** A) Color changes of CAE in different buffer solutions ranging from pH 2 to 12, B) Ultraviolet-visible spectra of CAE in different buffer solutions ranging from pH 2 to 12.

the flavylium cation occurs, resulting in the formation of chalcone structures that impart a yellow coloration to the solution [64,65].

Under such conditions, however, chalcone degradation products have also been associated with the emergence of a green coloration, which may result from the overlap of bluish tones from anionic quinoidal forms and the yellow hue of chalcones, reflecting additional

structural breakdown of anthocyanins in highly alkaline environments [66]. All these structural transitions are largely reversible, which gives anthocyanins high sensitivity and versatility as pH-dependent colorimetric indicators [67]. These characteristics make the anthocyanins from *Catharanthus roseus* promising for applications in intelligent films sensitive to food spoilage, especially due to their ability to reflect chemical changes associated with rancidity.

In addition to its experimentally observed function as a pH indicator, the ethanolic extract of *Catharanthus roseus* flowers demonstrated a safe toxicological profile. In an acute toxicity study, Nayak and Pinto [68] reported that oral administration of doses up to 8 g/kg to Sprague Dawley rats did not cause signs of toxicity or mortality. In contrast, the leaf extract of the same plant showed adverse effects starting at 300 mg/kg, as demonstrated by Vutukuri et al. [69]. These results indicate that the floral fraction presents a significantly lower toxicological risk, supporting its application in intelligent films, especially when there is no direct contact with food.

Thus, although several plant sources are widely used in the production of pH-sensitive films, the use of anthocyanins extracted from *Catharanthus roseus* presents potential advantages. This ornamental species is easily cultivated, widely distributed, and flowers throughout the year, ensuring a continuous and sustainable source of anthocyanins, without competing with food resources. In addition, the extracts of *C. roseus* demonstrated adequate sensitivity to pH variations, with distinct and stable chromatic changes, comparable to those observed in other traditional sources. These attributes indicate that *C. roseus* may be a viable and promising alternative for the development of intelligent films, expanding the possibilities of sustainable formulations for colorimetric freshness indicators.

3.3. Characterization of the physical, structural and morphological properties of the films

The thickness values of the films incorporated with anthocyanin extracts ranged from 0.116 to 0.102 mm (Table 3), with a tendency to decrease proportionally to the increase in the concentration of the extract. This behavior can be attributed to two main mechanisms: i) dilution of the polymeric matrix caused by the incorporation of the anthocyanin extract, resulting in lower viscosity of the filmogenic solution, and ii) specific interactions between anthocyanins and the structural components of the film (collagen, pectin, and glycerol), promoting a more compacted rearrangement of the polymeric chains. These results are similar to those reported for films with dye extract from petunia flowers on a colorimetric sensor [70].

The analysis of the optical properties (Table 3) showed that the incorporation of the extract caused a significant reduction in both the transparency and luminosity (L^*) of the films, especially at the concentration of 30 %. These changes in optical properties can be attributed to the scattering and absorption of visible light by the anthocyanins present in the extract. Higher opacity can help prevent color fading and anthocyanin instability, especially with exposure to UV radiation [71]. Similar behavior was observed by Qiu et al. [72] in sodium alginate/apricot peel pectin films incorporated with anthocyanins from roses.

The addition of CAE gave the films a wine coloration, intensified proportionally to the concentration of the extract (Fig. 3A). This color change was evidenced by the increase in the values of a^* and b^* . The total colorimetric variation (ΔE) showed a direct correlation with the concentration of CAE in the films, reaching a maximum value at the highest concentration tested.

Color analysis of the films after 40 days of storage at 25 °C indicated an increase in a^* and b^* values (Table 3), suggesting a transition to redder and yellower hues. These changes may be attributed to the degradation of anthocyanins present in the extract, evidenced by the reduction in the total anthocyanin content of the CAE, or to chemical reactions with the polymer matrix. Similar results were reported by Romruen et al. [73], who observed chromatic variations in intelligent

Table 3

Thickness, mechanical properties, solubility, WPV, transparency, color and degradability of films.

Parameters		C	F10	F20	F30	P-value
Thickness (mm)		0.116 ± 0.005 ^a	0.106 ± 0.005 ^{ab}	0.104 ± 0.005 ^b	0.102 ± 0.008 ^b	0.0139
TS (MPa)		5.294 ± 0.651 ^a	5.059 ± 0.822 ^a	4.686 ± 0.011 ^a	4.542 ± 1.386 ^a	0.8168
Elongation at break (%)		20.842 ± 1.051 ^a	19.185 ± 0.795 ^{ab}	19.131 ± 0.659 ^{ab}	16.981 ± 1.202 ^b	0.0653
WVP (10 ⁻⁸ g /m s Pa)		5.41 ± 0.262 ^a	6.02 ± 0.820 ^a	6.65 ± 0.453 ^a	6.65 ± 0.396 ^a	0.1909
Water solubility (%)		100 ± 0.000 ^a	100 ± 0.000 ^a	100 ± 0.000 ^a	100 ± 0.000 ^a	<0.001
Transparency (%)		2.853 ± 0.000 ^{ab}	2.858 ± 0.001 ^a	2.843 ± 0.000 ^b	2.824 ± 0.003 ^c	<0.001
Color	L*	84.95 ± 0.042 ^a	83.43 ± 0.184 ^b	78.3 ± 0.523 ^c	74.45 ± 0.155 ^d	<0.001
		-0.47 ± 0.014 ^c	1.06 ± 0.028 ^c	2.375 ± 0.190 ^b	4.535 ± 0.459 ^a	<0.001
	a*	7.695 ± 0.190 ^d	9.11 ± 0.254 ^c	15.63 ± 0.480 ^b	20.96 ± 0.381 ^a	<0.001
		0.190 ^d		0.480 ^b	0.381 ^a	<0.001
	ΔE	2.441 ± 0.141 ^b	16.084 ± 0.363 ^b	99.489 ± 0.660 ^a	<0.001	
Weight loss by degradability test (%)	Day 7	1.771 ± 0.011 ^b	2.550 ± 0.291 ^a	1.175 ± 0.203 ^{bc}	0.883 ± 0.030 ^c	0.0025
		3.265 ± 0.010 ^a	3.677 ± 0.011 ^a	2.126 ± 0.055 ^b	1.216 ± 0.212 ^c	<0.001
	Day 15	5.670 ± 0.162 ^a	4.189 ± 0.051 ^b	3.564 ± 0.180 ^b	2.564 ± 0.417 ^c	<0.001
		33.231 ± 0.733 ^a	31.399 ± 0.474 ^b	32.007 ± 0.057 ^{ab}	29.888 ± 0.127 ^c	0.0073
	Day 30	93.41 ± 0.395 ^a	83.25 ± 0.042 ^b	76.905 ± 0.007 ^c	69.30 ± 0.593 ^d	<0.001
		-0.59 ± 0.282 ^a	2.025 ± 0.007 ^b	5.695 ± 0.009 ^c	10.905 ± 0.629 ^d	<0.001
Color film (40 day)	L*	9.450 ± 0.537 ^d	29.40 ± 0.212 ^c	36.205 ± 0.883 ^b	39.715 ± 0.827 ^a	<0.001
		91.07 ± 0.538 ^a	83.55 ± 0.184 ^b	74.300 ± 0.693 ^c	73.465 ± 0.148 ^c	<0.001
	a*	-1.05 ± 0.045 ^a	-0.4 ± 0.214 ^b	4.25 ± 0.385 ^c	4.745 ± 0.134 ^c	<0.001
		9.770 ± 1.417 ^a	31.65 ± 1.357 ^b	40.61 ± 2.729 ^c	44.07 ± 2.602 ^c	<0.001
	ΔE	2.41 ± 0.121 ^a	3.32 ± 0.071 ^b	5.32 ± 0.145 ^c	8.82 ± 0.250 ^d	<0.001

FC: control; F10: 10 of CAE; F8: 20 of CAE; F30: 30 of CAE. WVP: Water Permeability Vapor. TS: Tensile Strength. Values are mean ± standard deviation. Each value consists of 3 independent measurements, except thickness ($n = 10$), elongation at break ($n = 6$) and color ($n = 12$). The means followed by the same letter do not differ statistically from each other by the Tukey test at the 5 % probability level ($p < 0.05$).

films containing natural pigments, and by Taylor and Francis [74], who associated these changes with dye instability during storage.

Regarding the mechanical properties of the films (Table 3), no variation was observed in the tensile strength (TS), which presented values between 4.542 MPa and 5.294 MPa. Similar results were found by

Liu et al. [75] on polylactide-based intelligent films embedded with butterfly pea flower extract (4.40 MPa and 7.50 MPa). In contrast, the addition of anthocyanins from red cabbage was associated with a decrease in the tensile strength of cellulose-based films [76]. However, the present study was able to incorporate higher concentrations of anthocyanin-rich CAE without substantially compromising the strength of the films. The elasticity of the films, however, showed a significant reduction with the increase in CAE concentration. High levels of anthocyanins can weaken the interactions between the macromolecules of the film's polymeric matrix, compromising the membrane structure and impairing its mechanical properties [77]. Similar results were observed by Zhang et al. [71] in indicator films based on κ -carrageenan, butterfly pea flower anthocyanin, and nano titanium dioxide. Despite this mechanical limitation, the films did not present limitations in their applicability and anthocyanins offer functional benefits such as improved antioxidant properties and pH sensitivity, justifying their incorporation into the developed films.

Regarding solubility, the results indicated that there was no significant variation between the treatments, with all formulations achieving 100 % solubilization in water. This characteristic can be explained by the hydrophilic nature of the film components (collagen, pectin, and anthocyanins), whose groups establish hydrogen bonds with water, a typical behavior of phenolic acids and flavonoids found in vegetables [78]. Similar results were reported by Gasti et al. [79] on chitosan/methylcellulose intelligent films with anthocyanin from *Phyllanthus reticulatus*. This high solubility in water directs the application of the material developed as a headspace film, where it can act as a barrier or indirect interaction with the product, without dissolution or direct interference with the characteristics of the food.

The water vapor permeability test did not show significant variation between treatments, with values between 5.4 and 6.7×10^{-8} g/m s Pa (Table 3). This behavior corroborates the results found by Kim et al. [80], who reported similar values (7.6×10^{-8} g/m s Pa) in films incorporated with butterfly pea anthocyanins. In contrast, Wu et al. [81] observed a significant reduction in the WVP of films after the addition of *Clitoria ternatea* L. extract, attributing this effect to the specific interactions between anthocyanins and polymer matrix. Maintaining low WVP values is desirable to minimize gas exchange and preserve the quality of the packaged product.

The structural characterization of the films by FT-IR spectroscopy (Fig. 1A-B-C-D) revealed characteristic bands at 3527 cm⁻¹ (pectin) and 3315 cm⁻¹ (glycerol), associated with the stretching vibrations of the -OH groups, typical of polysaccharides and polyalcohol. The extract obtained showed a band at 3381 cm⁻¹, indicating the presence of hydroxyl groups. Peaks in a similar region were observed in the extract (1651 cm⁻¹) and pectin (1645 cm⁻¹), attributed to stretching vibrations of the C=O bonds, characteristics of an amide or carboxylic structures in phenolic compounds, and carboxylate groups in galacturonic acids, respectively. The glycerol showed an intense band at 1031 cm⁻¹, corresponding to the C-O stretching of ester or alcohol bonds present in the structures of the compounds analyzed [82].

In Fig. 1E, it was observed that the films containing CAE presented spectral patterns similar to those of the control film, indicating that the incorporation of the extract did not alter the chemical structure of the films. However, small variations in the intensity of the peaks were detected, with maintenance of the characteristic bands: stretching of the -OH groups, vibration of the C-H bonds (-CH₂), C=O stretching (amide-I) and C-O bonds. Similar behavior was reported by Jiang et al. [6] in longan seed starch films incorporated with anthocyanin extract from the bracts of banana flower. These results indicate that the addition of CAE did not cause significant chemical changes in the structures of the analyzed films, preserving the integrity of the spectral properties of the materials.

The evaluation of the biodegradability of the films revealed distinct degradation patterns over 60 days of exposure to the soil (Table 3). The results showed that during the first seven days, the F20 and control

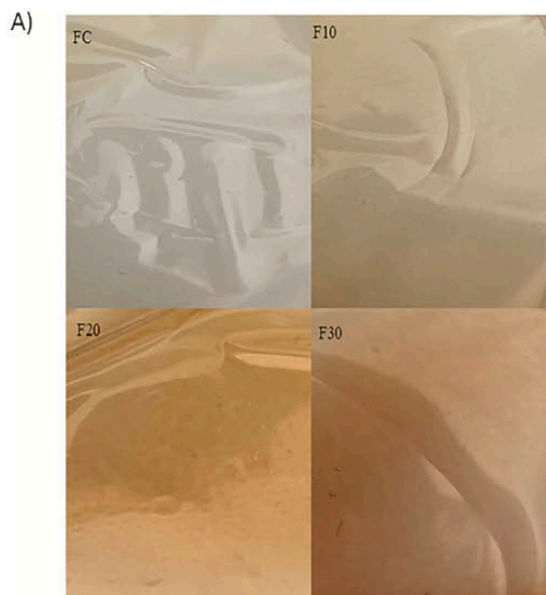


Fig. 3. Characterization of the physical, structural and morphological properties of the films A) Picture films; B) XDR curve; C) Micrography of the bioplastics surface and cross-section; D) TG curve; E) DSC curve; F) Antioxidant activity of films ABTS and FRAP. FC: control; F10: 10 of CAE; F8: 20 of CAE; F30: 30 of CAE. FC_T: control cross-sectional; F10_T: 10 of CAE cross-sectional; F20_T: 20 of CAE cross-sectional; F30_T: 30 of CAE cross-sectional. FC_S: control surface; F10_S: 10 of CAE surface; F20_S: 20 of CAE surface; F30_S: 30 of CAE surface.

treatments did not differ from each other, with F30 and F10 being the films with the lowest and highest percentage of degradation on this day, respectively. On the 15th day, the control treatment showed a degradation rate of 3.265 %, with no difference in F10, while F30 had the lowest rate (1.216 %). The greater degradation of the F10 film on days 7 and 15 may be associated with the lower concentration of phenolic compounds, which possibly acted as secondary plasticizers, increasing the mobility of the polymer matrix and favoring degradation in the initial phase. This effect was attenuated with treatments using higher concentrations of the extract, which provided greater structural stability to the films [83]. At 30 days of exposure, there was no significant difference in the degradation rate between F10 and F20, while F30 maintained the lowest degradation (2.564 %). After 60 days, the F30 treatment, with the highest concentration of anthocyanins, had the lowest degradation (33.231 %), suggesting that the presence of these bioactive compounds contributes to the reduction of the degradation rate of the films. This phenomenon can be attributed to the antioxidant properties of anthocyanins, which, in addition to giving color to the films, slow down oxidative degradation [84]. These findings corroborate previous studies on the incorporation of antioxidant compounds into biodegradable films [85,86].

The FT-IR analysis of the films after 60 days of exposure to soil (Fig. 1F) confirmed the structural changes resulting from the biodegradation process. Variations in the intensity of the peaks were observed, indicating changes in the chemical bonds of the materials over time. The characteristic peaks of the elongation vibration of the –OH groups, of the C–H bonds in the –CH₂ groups, of the C=O bonds in the amide-I groups, and of the C–O bonds, typical of the film components, showed greater intensity in the F30 treatment. This observation suggests that, although the degradation process occurred, the higher concentration of anthocyanins contributed to the maintenance of the stability of the molecular structure throughout the evaluated period.

The crystal structure of the films was analyzed by X-ray diffraction,

as illustrated in Fig. 3B. The control film presented four total peaks, with three wide diffraction peaks, observed at 9.72°, 13.44° and 28.68° that were attributed to the amorphous structure. The sharp and well-defined peak at 21.90° indicated the presence of semicrystalline structures. When CAE was incorporated into the films, a reduction in the intensity of the characteristic peaks of the semicrystalline structures was observed, with a progressive decrease in crystallinity proportional to the increase in the concentration of the extract. The appearance of new peaks with amorphous characteristics suggests the formation of hydrogen bonds between the anthocyanins of the CAE and the polymer matrix, resulting in a decrease in the crystallinity of the samples. Similar behavior was observed by Amaregouda et al. [87] in intelligent films based on chitosan/polyvinyl alcohol matrices containing anthocyanin from *Jacaranda cuspidifolia*. The predominance of amorphous regions gives the films desirable technological properties, such as greater deformability, elasticity, and malleability [88].

The morphology of the surface and cross-section of the films was analyzed by scanning electron microscopy (SEM), as shown in Fig. 3C. Superficial micrographs showed an association between the increase in CAE concentration and the development of progressively smoother, more continuous and homogeneous surfaces, corroborating the results obtained by X-ray diffraction.

The mechanical behavior of the films in relation to tear strength seems to be associated with the morphological characteristics of the samples analyzed. To investigate this hypothesis, the cross-section analysis of the films used in the tensile analysis was performed. The control film showed fibrils aligned in the direction of the tear, indicating that the polymeric chains were oriented. This structural organization suggests greater fracture resistance, since regions with greater molecular alignment tend to have greater crystallinity. In contrast, films containing CAE presented circular voids distributed in several regions, making them more susceptible to tearing under lower loads, when compared to fibrillar regions where the rupture of polymeric chains is necessary [89].

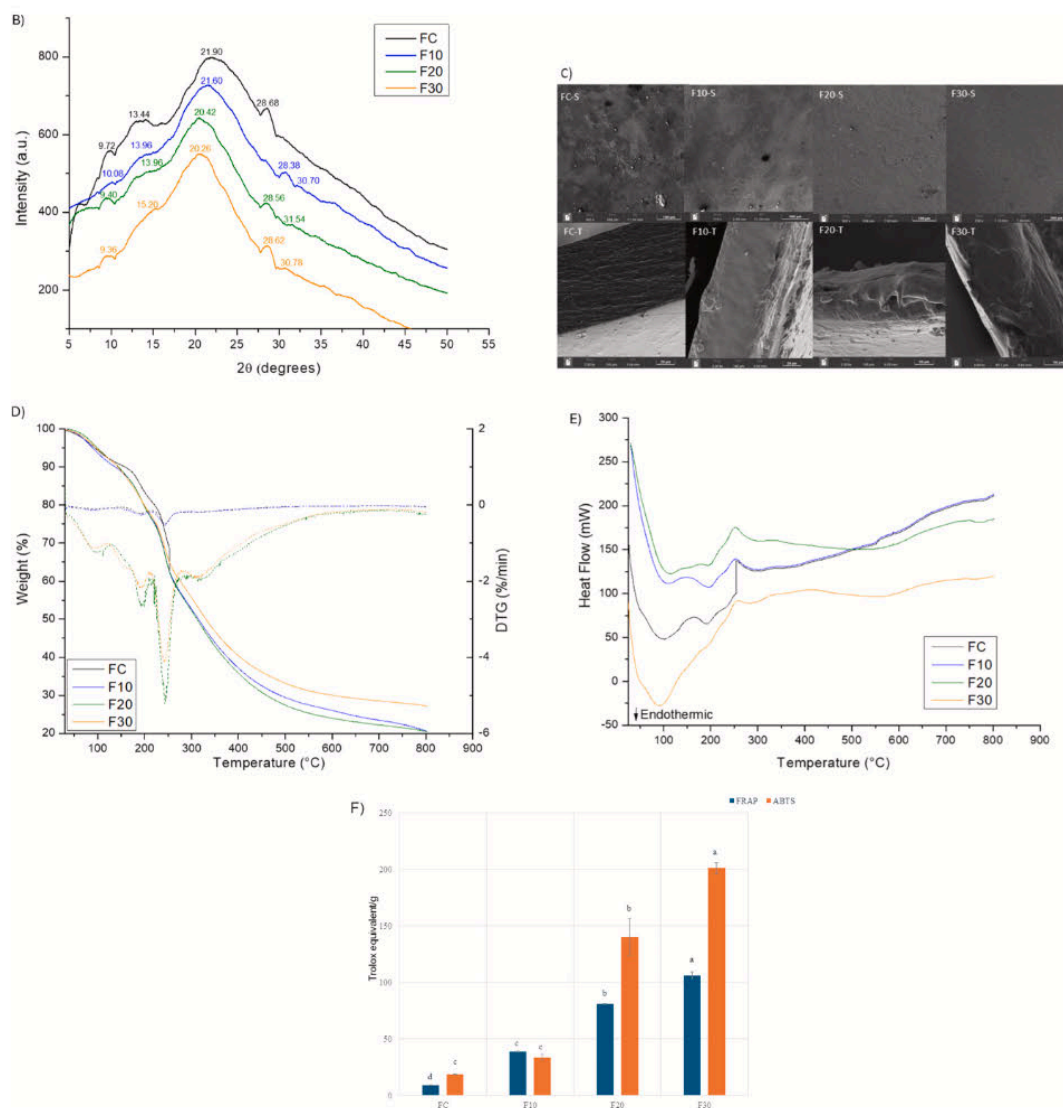


Fig. 3. (continued).

These morphological observations explain the reduction in elasticity and crystallinity of the films containing the extract.

The thermal properties of embedded films with different concentrations of CAE were evaluated by TGA and DSC. In the TGA analysis (Fig. 3D), four distinct stages of mass loss were identified. In general, the films showed higher thermal resistance compared to the control. The first stage, between 111 °C (control) and 120 °C (F10), was associated with the evaporation of surface water and residual solvents. The second stage, between 194 °C (control) and 219 °C (F10), corresponded to the release of intrinsic water from the film, with an increase in TG observed in the treated samples attributed to the hydrogen interactions between anthocyanins and the polymer matrix, according to the results of FT-IR. The third stage, between 250 °C (F20 and F30) and 260 °C (F10), was related to the decomposition of polysaccharides, protein chains and anthocyanins. The fourth stage, between 303 °C (control) and 334 °C (F20), represented the final decomposition of the residual matrix.

The F10 formulation showed higher thermal stability in most stages,

possibly due to the presence of thermally stable structures, such as the aromatic rings of anthocyanins [90]. However, higher concentrations of CAE resulted in a slight reduction in thermal stability, a behavior like that found by Freitas et al. [91] in studies with rice straw extracts. The final residue after heating was approximately 21 % for the control film and F10, 20 % for F20 and 27 % for F30, indicating greater thermal mass loss at high concentrations of CAE (30 %). However, the films maintained thermal stability superior to the control.

DSC analysis (Fig. 3E) identified an endothermic peak characteristic of the melting process, with higher temperatures in films with up to 20 % CAE. The peak melting was shifted from 101 to 191 °C (control) to 112–196 °C (F20), suggesting the presence of crystalline substances with degradation at different temperatures [78]. The F30 formulation showed a lower melting temperature and absence of evident crystallinity peaks, corroborating the data of XRD, TGA and SEM regarding lower crystallinity and thermal stability at high concentrations of CAE. Santos et al. [45] showed that the addition of amber extract in PLA films

reduced the crystallization rate and melting temperature. Despite the thermal changes, the use of these films as intelligent packaging does not compromise their efficiency or applicability.

The antioxidant capacity of the films, evaluated by the FRAP and ABTS methods (Fig. 3F), showed an increase proportional to the concentration of CAE added, attributed to the presence of phenolic compounds in the *Catharanthus roseus* flower. Among the phenolic compounds with the highest antioxidant activity in both methods, quercetin, catechins, epicatechins, and resveratrol stand out, all identified in CAE [92]. The F30 films showed higher values (106.09 μmol Trolox/g for FRAP and 201.13 μmol Trolox/g for ABTS) compared to the control (8.8 μmol Trolox/g and 18.49 μmol Trolox/g, respectively). The higher antioxidant activity measured by the ABTS method, compared to FRAP, can be attributed to differences in evaluation mechanisms: while ABTS quantifies the ABTS cationic radical scavenging capacity, FRAP evaluates the reducing power of antioxidants [93]. This methodological difference can lead to variations in the release and efficacy of the active compounds present in the extracts. The potentiating effect of anthocyanins on the antioxidant properties of biopolymeric films has been widely documented in the literature [6,9,11,94].

3.4. Characterization of the functional properties of the films

The validation of the intelligent film developed as an indicator of fish freshness was carried out through the evaluation of instrumental color parameters against nitrogenous volatile compounds (TVB-N), whose presence is directly associated with fish deterioration [95]. To simulate the degradation conditions, ammonia was used as a model compound, given its preponderant role among TVB-N compounds [96]. Fig. 4 illustrates the color variation (ΔE) of the films as a function of the different concentrations of ammonia in aqueous solution.

The interaction of the films with the ammonia solutions resulted in a change to yellowish hue (Fig. 8), with ΔE proportional to the concentration of CAE incorporated into the films. The color changes were noticeable to the naked eye, exceeding the threshold of human visual perception established at ΔE equal to or greater than 2 and quickly detected in less than 5 min [97]. The ΔE values gradually increased from 3.523 to 11.882 with the different treatments, even at the lowest ammonia concentration evaluated. The maximum variation was observed in the F30 treatment with 10 % ammonia. At concentrations higher than 20 % of ammonia, the colorimetric changes reached a plateau, remaining constant in all treatments.

After 40 days of storage, the films still showed a significant color response when exposed to 10 % ammonia (Table 3). Although ΔE values

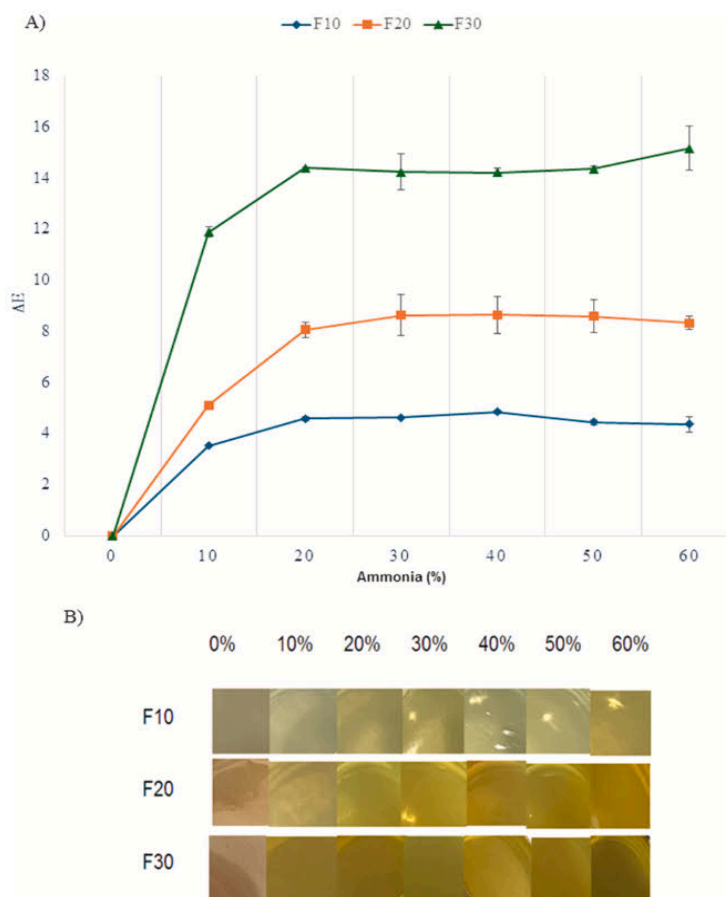


Fig. 4. The color sensitivity A) and changes B) to different ammonia concentrations of films. F10: 10 of CAE; F20: 20 of CAE; F30: 30 of CAE.

were lower than those observed in freshly produced films, the color variation remained noticeable, especially in formulations with higher extract concentrations, reaching ΔE of up to 8.82. These results indicate that, even after prolonged storage, the films maintain their visual responsiveness to volatile alkaline compounds, reinforcing their potential as intelligent indicators for monitoring food spoilage.

The mechanism responsible for the color change is based on the volatilization of ammonia and its subsequent interaction with the films. The nucleophilic nature of ammonia promotes the deprotonation of anthocyanins, altering the charge distribution of these molecules. This structural modification results in changes in the wavelength of absorbed photons, manifesting as a change in the perceived coloration of the films [98,99]. Consequently, films with higher anthocyanin concentrations showed more pronounced color changes due to the greater availability of sites for deprotonation.

3.5. Application of the films in the detection of freshness of tilapia fish

The potential of collagen films with anthocyanins from *Catharanthus roseus* as indicators of freshness and food spoilage was evaluated, using tilapia fillet as a model. This choice was based on the deterioration process characteristic of fish, in which the action of microorganisms and

enzymes on proteins results in the formation of volatile nitrogenous substances, causing an increase in the pH of the environment [100]. The fillets were stored at room temperature to accelerate the deterioration process, allowing the evaluation of the response of the intelligent films. The choice of this condition was based on similar approaches described by Fallah et al. [101], Oduse et al. [102], and Shi et al. [103].

In the performed experiments (Fig. 5A, B and C), the pH of the fish stored at room temperature exceeded 6.5 after 24 h, signaling the beginning of deterioration. This increase is associated with the onset of autolytic deterioration, in which muscle proteins are degraded by endogenous proteases and alkaline microorganisms, resulting in the formation of volatile compounds, such as ammonia, dimethylamine, and trimethylamine, and consequently, an increase in pH [104]. The color change in the packaging was observed, especially in the F30 treatment, which went from translucent to a yellow tone with a tendency to opaque green. In the F20 treatment, the color change was visible only when the pH exceeded 7, while in the F10 treatment there was no noticeable change in color, despite the deterioration of the fish. Said and Sarbon [105] observed an increase in pH from 6.26 to 7.76 in four days of storage, when monitoring the freshness of fish fillets using gelatin films incorporated with curcumin extract.

Graphical analysis of the data revealed a positive linear correlation

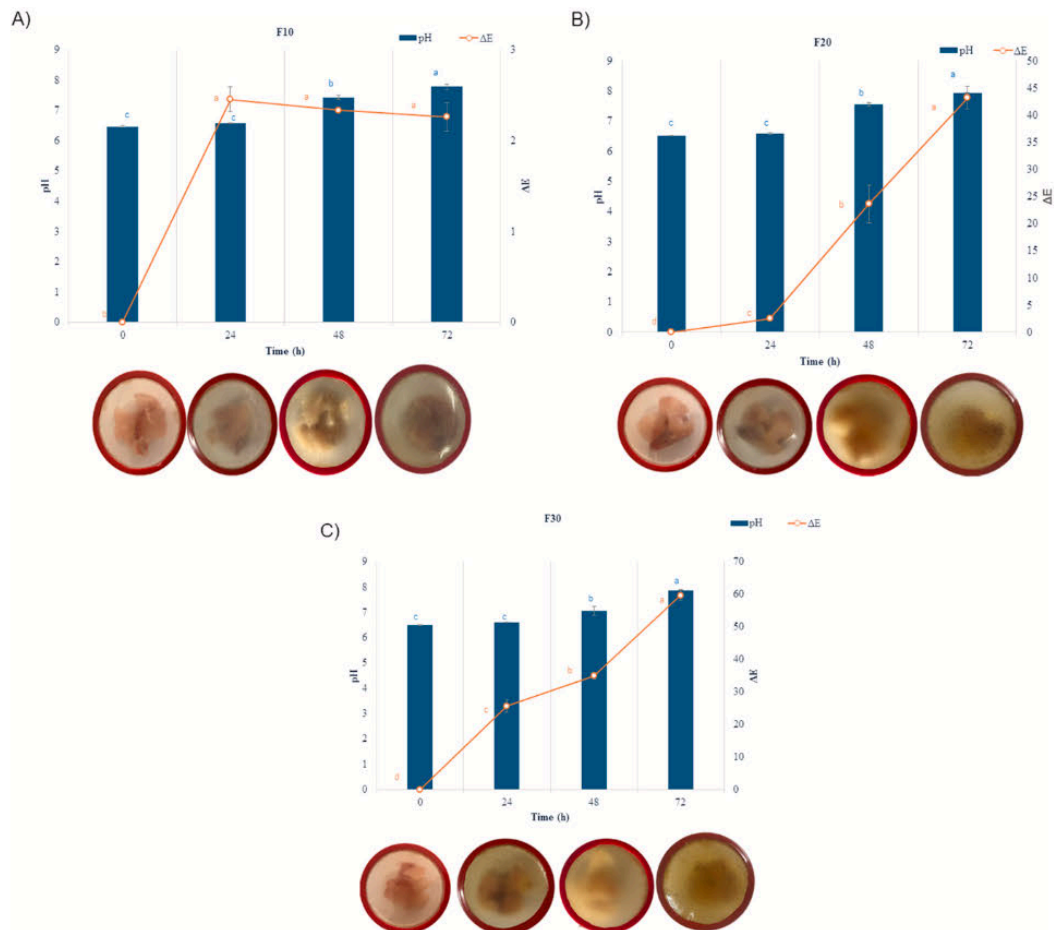


Fig. 5. Application of indicator packaging and linear model between ΔE of the film and pH of the fish during storage time: A) F10, B) F20 and C) F30, evaluated by headspace in tilapia fillet. FC: control; F10: 10 of CAE; F20: 20 of CAE; F30: 30 of CAE.

between ΔE and pH increase in F20 and F30 treatments, corroborating previous studies that highlight the use of natural pigments in biopolymer films as an effective tool to monitor food safety and quality [6,106]. The results indicate that the film with 30 % *Catharanthus roseus* extract can detect deterioration at an early stage and can serve as an efficient monitor of fish freshness, such as tilapia, in real time.

4. Conclusion

In this study, we investigated the potential of *Catharanthus roseus* flower extract and its impact on the properties of collagen-based films. The extract has a high concentration of anthocyanins, phenolic compounds, and antioxidant activity, with the ability to change its color in response to pH variations. The incorporation of the extract into bioplastics improves resistance to degradation, resulting in a more homogeneous and smaller crystalline microstructure, with light barrier properties, suggesting its potential in food protection. Although high concentrations of anthocyanins negatively impacted the elasticity and thermal stability of the films, these effects did not compromise their practical application, allowing safe handling and use in packaging without the risk of breakage or premature degradation.

The development of the intelligent packaging system demonstrated technical feasibility in indicating the fish deterioration process, using tilapia fillets as a model. F30 detected fish deterioration at an early stage, offering a non-invasive and environmentally responsible approach to quality monitoring. The application of these films represents a technological innovation with the potential to improve quality control and traceability in the fishing industry.

The use of collagen extracted from waste from the fishing industry as a polymeric matrix for biodegradable films represents an approach aligned with the principles of the circular economy, contributing to the reduction of environmental impacts associated with conventional plastic materials. Future studies may focus on developing effective stabilization strategies for anthocyanin extracts, such as encapsulation, and on assessing the long-term stability of the films under different environmental conditions and storage periods, thereby enhancing their industrial application.

CRedit authorship contribution statement

Gabrielle Ingrid Bizerra Florentino: Writing – review & editing, Writing – original draft, Investigation, Formal analysis, Data curation. **Cristiani Viegas Brandão Grisi:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Validation, Supervision, Investigation, Funding acquisition, Data curation, Conceptualization. **Marcos dos Santos Lima:** Writing – original draft, Methodology, Funding acquisition, Formal analysis. **Rita de Cassia Andrade da Silva:** Writing – original draft, Methodology, Formal analysis. **Valquíria Cardoso da Silva Ferreira:** Writing – original draft, Methodology, Formal analysis, Data curation. **Ângela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro:** Writing – original draft, Validation, Resources, Methodology, Investigation, Funding acquisition. **Fábio Anderson Pereira da Silva:** Writing – review & editing, Validation, Resources, Project administration, Methodology, Funding acquisition, Data curation, Conceptualization.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

The authors acknowledge the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for financial support and scholarships to the first author (G. I. B. Florentino). They also thank the

National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the financial support through the project 313663/2021-1. The authors acknowledge the laboratories NPE-LACOM, LAQA, LAMAB, LAPAMA and LABFILM, belonging to the Federal University of Paraíba (UFPB), and the laboratory LBCL belonging to the Federal Institute of Sertão Pernambucano (IFSertão-PE) for providing the essential infrastructure and support for the development of this work.

Data availability

Availability of data and materials data are available by contacting the authors.

References

- [1] S. Liaqat, M. Hussain, J. Riaz, Entry of microplastics into the food chain and the food supply chain, *Microplastic Pollut.* (2024) 289–306, https://doi.org/10.1007/978-981-99-8357-5_17.
- [2] B. Saiprasad, G.S. Sagar, K.S. Ashish, S. Bhautik, K. Tejaswin, R.D. Gautam, Microplastic (MP) pollution in aquatic ecosystems and environmental impact on aquatic animals, *Uttar Pradesh J. Zool.* 45 (2024) 59–68, <https://doi.org/10.56557/upjz/2024/v45i53931>.
- [3] S.G. Ricardo, T.G.A. Esmeralda, D.I. Alejandro, O.V. Gabriel, Use of the aquatic lily (*Eichhornia crassipes*) as an alternative in the generation of bioplastics, *Clenc. Lat. Multidiscip. Sci. J.* 8 (2024) 9621–9637, <https://doi.org/10.56557/upjz/2024/v45i53931>.
- [4] E.M.P.X. Neves, R.R. Pereira, G.V. da Silva Pereira, L.L. Vieira, L.D.F.H. Lourenço, Effect of polymer blend on the development of bioplastics from fish waste, *Bull. Fish. Inst.* 45 (2019) 1–10, <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.4.518>.
- [5] S. Vijayakumar, J. Chen, Z.I. González-Sánchez, K. Tungare, M. Bhoir, H. Shakila, P. Anbu, Biomedical and ecotoxicity assessment of marine fish collagen capped silver nanoparticles, *Int. J. Biol. Macromol.* 260 (2024) 129324, <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2024.129324>.
- [6] H. Jiang, W. Zhang, J. Cao, W. Jiang, Development of biodegradable active films based on longan seed starch incorporated with anthocyanin extracts from banana flower bracts and applications in food freshness indication, *Int. J. Biol. Macromol.* 251 (2023) 126372, <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2023.126372>.
- [7] World Health Organization (WHO), Food Safety, WHO, 2024. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety> (accessed 01 March 2025).
- [8] K. Ganeson, G.K. Mouriya, K. Bhupalan, M.R. Razifah, R. Jasmine, S. Sowmyia, S. Ramakrishna, Smart packaging – a pragmatic solution to approach sustainable food waste management, *Food Packag. Shelf Life* 36 (2023) 101044, <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101044>.
- [9] R. Li, S. Wang, H. Feng, D. Zhuang, J. Zhu, A chitosan/gelatin smart film via improving the accuracy of anthocyanin-induced color recognition for monitoring under-freshness differentiation of beef 146 (2024) 109219, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109219>.
- [10] L. Liu, W. Wu, L. Zheng, J. Yu, P. Sun, P. Shao, Intelligent packaging films incorporated with anthocyanins-loaded ovalbumin-carboxymethyl cellulose nanocomplexes for food freshness monitoring, *Food Chem.* 387 (2022) 132908, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132908>.
- [11] L. Wang, C. Yang, X. Deng, J. Peng, J. Zhou, G. Xia, H. Yang, A pH-sensitive intelligent packaging film harnessing *Dioscorea zingiberensis* starch and anthocyanin for meat freshness monitoring, *Int. J. Biol. Macromol.* 245 (2023) 125485, <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2023.125485>.
- [12] M. Ranjbar, M.H.A. Tabrizi, G. Asadi, H. Ahari, Investigating the microbial properties of sodium alginate/chitosan edible film containing red beetroot anthocyanin extract for smart packaging of chicken fillet as a pH indicator, *Heliyon* 9 (2023) e18879, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18879>.
- [13] F. Yi, F. Hou, S. Zhan, L. Song, R. Zhang, X. Han, Z. Liu, Preparation, characterization and application of pH-responsive smart film based on chitosan/zein and red radish anthocyanin, *Int. J. Biol. Macromol.* 253 (2023) 127037, <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2023.127037>.
- [14] Y.A. Chim-Chi, A.R. Fernández-Méndez, E. Pérez-Pacheco, J.C. Canto-Pinto, R. J. Estrada-León, A. Ortiz-Fernández, Y. Pérez-Padilla, Development of pH indicator smart packaging films with anthocyanins from the purple star apple shell (*Chrysophyllum cainito* L.), *J. Food Meas. Charact.* 18 (2024) 2651–2660, <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02344-2>.
- [15] F. Zeng, Y. Ye, J. Liu, P. Fei, Intelligent pH indicator composite film based on pectin/chitosan incorporated with black rice anthocyanins for meat freshness monitoring, *Food Chem.: X* 17 (2023) 100531, <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100531>.
- [16] W. Wu, L. Zheng, J. Yu, L. Liu, G. Goksen, P. Shao, High-sensitivity intelligent packaging films harnessing rose anthocyanins and hydrophilic silica aerogel for visual food freshness monitoring, *Food Qual. Saf.* 8 (2024) fyad051, <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyad051>.
- [17] A.F.D. Santos, L.T.D. Santos, M.P.D. Nascimento, E.L.D. Oliveira, T.G. Ribeiro, F. D. Pereira, G.G. Pereira, Review of three medicinal and ornamental species of the family Apocynaceae Juss. Res. Soc. Dev. 11 (2022) e1011224876, <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.24876>.

- [18] A.J. Afolayan, T.O. Sunmonu, In vivo studies on antidiabetic plants used in South African herbal medicine, *J. Clin. Biochem. Nutr.* 47 (2010) 98–106, <https://doi.org/10.3164/jcbn.09.126R>.
- [19] G.F. Costa, C.V.B. Grisi, B.R.L.A. Meireles, S. Sousa, A.M.T.M. Cordeiro, Collagen films, cassava starch, and their blends: physical-chemical, thermal and microstructure properties, *Packag. Technol. Sci.* 35 (3) (2022) 229–240, <https://doi.org/10.1002/pts.2621>.
- [20] AOAC, Hydroxyproline in meat and meat products (Method 990.26), in: *Off. Methods Anal.*, 17th ed, 2000, Gaithersburg, MD.
- [21] V. Villani, G. Di Marco, F. Iacovelli, D. Pietrucci, A. Canini, A. Gismondi, Profile and potential bioactivity of the miRNome and metabolome expressed in *Malva sylvestris* L. leaf and flower, *BMC Plant Biol.* 23 (1) (2023) 439.
- [22] CIE, Colorimetry: Understanding the System CIE, *Colorimetria*, 2007, pp. 25–78.
- [23] E.J. Jeyaraj, Y.Y. Lim, W.S. Choo, Antioxidant, cytotoxic, and antibacterial activities of *Clitoria ternatea* flower extracts and anthocyanin-rich fraction, *Sci. Rep.* 12 (1) (2022) 14890, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19146-z>.
- [24] R. Re, N. Pellegrini, A. Progettante, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.* 26 (9–10) (1999) 1231–1237, [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
- [25] I.F.F. Benzke, J.J. Strain, Ferric reducing capacity of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power: the FRAP assay", *Anal. Biochem.* 239 (1996) 70–76, <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- [26] L.M. dos Santos, B.S. Dantas, A.J.D.B.A. Carvalho, G.E. Pereira, T.C. Pimentel, M. Magnani, A novel method for ultra-fast determination of phenolics with performance comparable to UPLC/DAD: method development and validation on analysis of seedless table grapes, *J. Food Compos. Anal.* 134 (2024) 106511, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106511>.
- [27] ASTM, ASTM D882-12 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, *Am. Soc. Test. Mater.*, 2012.
- [28] S.M. Ojagh, M. Rezaei, S.H. Razavi, S.M.H. Hosseini, Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout, *Food Chem.* 120 (1) (2010) 193–198, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.006>.
- [29] ASTM, ASTM E96/E96M-16 Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials, *Am. Soc. Test. Mater.*, 2016.
- [30] R. Chandra, R. Rustgi, Biodegradation of maleated linear low-density polyethylene and starch blends, *Polym. Degrad. Stab.* 56 (2) (1997) 185–202, [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(96\)00212-1](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(96)00212-1).
- [31] C. Spagnoli, E.H. Fragal, A.G. Pereira, C.V. Nakamura, E.C. Muniz, H.D. Follmann, A.F. Rubira, Cellulose nanowhiskers decorated with silver nanoparticles as an additive to antibacterial polymers membranes fabricated by electrospinning, *J. Colloid Interface Sci.* 531 (2018) 705–715, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.07.096>.
- [32] L.X. Mei, A.M. Nafchi, F. Ghasempour, A.M. Easa, S. Jafarizadeh, A.A. Al-Hassan, Characterization of pH sensitive sage starch films enriched with anthocyanin-rich torch ginger extract, *Int. J. Biol. Macromol.* 164 (2020) 4603–4612, <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2020.09.082>.
- [33] C. Bi, X. Li, Q. Xin, W. Han, C. Shi, R. Guo, J. Zhong, Effect of extraction methods on the preparation of electrospon/electrosprayed microstructures of tilapia skin collagen, *J. Biosci. J. Biosci.* 128 (2019) 234–240, <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.02.004>.
- [34] H.A.G. Abdelal, H.M.A. Mohamed, S.A. Saleh, R. Korie, Characteristics and functional properties of collagen extracted from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin, *J. Mod. Res.* 3 (2021) 36–43, <https://doi.org/10.21608/JMR.2020.37541.1034>.
- [35] Z. Song, H. Liu, L. Chen, L. Chen, C. Zhou, P. Hong, C. Deng, Characterization and comparison of collagen extracted from the skin of the Nile tilapia by fermentation and chemical pretreatment, *Food Chem.* 340 (2021) 128139, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128139>.
- [36] M.D.I.L.R. Menezes, H.L. Ribeiro, M.F. de Oliveira, J.P. Feitosa, Optimization of the collagen extraction from Nile tilapia skin (*Oreochromis niloticus*) and its hydrogel with hyaluronic acid, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 189 (2020) 110852, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.110852>.
- [37] W.A. Lopes, M. Fascio, Scheme for interpretation of spectra of organic substances in the infrared region, *Quím. Nova* 27 (2004) 670–673, <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400025>.
- [38] Z.I. Elbially, A. Atiba, A. Abdelnaby, I.I. Al-Hawary, A. Elsheshtawy, H.A. El-Serehy, D.H. Assar, Collagen extract obtained from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin accelerates wound healing in a rat model by upregulating VEGF, bFGF, and α -SMA gene expression, *BMC Vet. Res.* 16 (2020) 1–11, <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02566-2>.
- [39] N. Reátegui-Pinedo, D. Salirrosas, L. Sánchez-Tuesta, C. Quiñones, S.R. Jáuregui-Rosas, G. Barraza, Z.A. Prieto, Characterization of collagen from three genetic lines (gray, red, and F1) from the skin of *Oreochromis niloticus* (tilapia) in young and old adults, *Molecules* 27 (2022) 1123, <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02566-2>.
- [40] T.R. Stella, C.M. Paraíso, J. dos Santos Pizzo, J.V. Visentainer, S.S. Dos Santos, G. S. Madrona, *Hibiscus sabdariffa* L. extracts freeze-dried and encapsulated by ionic gelation: an approach for yogurt application, *J. Food Meas. Charact.* 17 (2023) 2630–2638, <https://doi.org/10.1007/s11694-023-01818-7>.
- [41] S. Lin, X. Meng, C. Tan, Y. Tong, M. Wan, M. Wang, Y. Ma, Composition and antioxidant activity of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* extracted using an ultrasonic-microwave-assisted natural deep eutectic solvent extraction method, *Ultrason. Sonochem.* 89 (2022) 106102, <https://doi.org/10.1016/j.ultrsonch.2022.106102>.
- [42] G.C.V. Gamage, W.S. Choo, Hot water extraction, ultrasound, microwave and pectinase-assisted extraction of anthocyanins from blue pea flower, *Food Chem. Adv.* 2 (2023) 100209, <https://doi.org/10.1016/j.focva.2023.100209>.
- [43] T.T.T. Nguyen, H.D. Nguyen, L.T. Tran, et al., Characterization of *Delonix regia* flowers' pigment and biological activities, *Molecules* 28 (7) (2023) 3243, <https://doi.org/10.3390/molecules28073243>.
- [44] U.H. Zaidan, N.S. Kamaruzaman, F. Azhari, S.S.A. Gani, Anthocyanin stability and antioxidant capacity of *Clitoria ternatea* flower extract, *Food Res.* 8 (Suppl. 7) (2024) 59–66, [https://doi.org/10.26656/fr.2017.8\(s7\).8](https://doi.org/10.26656/fr.2017.8(s7).8).
- [45] L.G. Santos, V.G. Martins, Optimization of the green extraction of polyphenols from the edible flower *Clitoria ternatea* by high-power ultrasound: a comparative study with conventional extraction techniques, *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* 34 (2023) 100458, <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2023.100458>.
- [46] A. Baştürk, B. Yavaş, Improving sunflower oil stability with propolis: a study on antioxidative effects of Turkish propolis during accelerated oxidation, *J. Food Sci.* 89 (2024) 8910–8929, <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17482>.
- [47] W. Bors, W. Heller, C. Michel, M. Saran, Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies, *Methods Enzymol.* 186 (1990) 343–355, [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86128-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86128-1).
- [48] Y.B. Kang, E.M. Koh, Improved stability of anthocyanins in aronia upon addition of chlorogenic acid, *Korean J. Food Sci. Technol.* 55 (6) (2023) 546–552, <https://doi.org/10.9721/KJFST.2023.55.6.546>.
- [49] J. Wilksa-Jeszka, A. Korzuchowska, Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation—Influence on the colour of strawberry and chokeberry juices, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 203 (1996) 38–42, <https://doi.org/10.1007/BF01267757>.
- [50] R.S. Pal, Y. Pal, S. Punniyakotti, D. Katiyar, P. Kumari, Hesperidin: diversified prospects of naturally occurring bioflavonoid, *Nat. Prod. J.* 14 (3) (2014) 14–20, <https://doi.org/10.2174/2210315514666230816141802>.
- [51] A. Escobar-Ortiz, E. Castaño-Tostado, N.E. Rocha-Guzmán, J.A. Gallegos-Infante, R. Reynoso-Camacho, Anthocyanins extraction from *Hibiscus sabdariffa* and identification of phenolic compounds associated with their stability, *J. Sci. Food Agric.* 101 (1) (2021) 110–119, <https://doi.org/10.1002/jsfa.10620>.
- [52] V. Bhatt, N. Sendri, K. Swati, S.B. Devidas, P. Bhandari, Identification and quantification of anthocyanins, flavonoids, and phenolic acids in flowers of *Rhododendron arboreum* and evaluation of their antioxidant potential, *J. Sep. Sci.* 45 (14) (2022) 2555–2565, <https://doi.org/10.1002/jssc.202200145>.
- [53] C. Colica, M. Milanović, N. Milic, V. Aiello, A. De Lorenzo, L. Abenavoli, A systematic review on natural antioxidant properties of resveratrol, *Nat. Prod. Commun.* 13 (9) (2018), <https://doi.org/10.1177/1934578X1801300923>.
- [54] H. Luo, S. Deng, W. Fu, X. Zhang, X. Zhang, Z. Zhang, X. Pang, Characterization of active anthocyanin degradation in the petals of *Rosa chinensis* and *Brunfelsia calycina* reveals the effect of gallated catechins on pigment maintenance, *Int. J. Mol. Sci.* 18 (4) (2017) 699, <https://doi.org/10.3390/ijms18040699>.
- [55] Q. Chen, X. Zhang, H. Yu, W. Yan, H. Tang, Changes of total anthocyanins and proanthocyanidins in the developing blackberry fruits, *Int. J. ChemTech Res.* 4 (1) (2012) 129–137.
- [56] H. Liu, Z. Cheng, M. Luo, J. Xie, The dynamic variations of flavonoid metabolites in flower buds for *Zingiber mioga* at different developmental stages, *J. Food Compos. Anal.* 123 (2023) 105537, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105537>.
- [57] Y. Li, W. Li, D. Hu, T. Lei, P. Shen, J. Li, S. Gao, Metabolomics analysis reveals the role of cyanidin metabolism in *Plumbago auriculata* flower color, *J. Plant Biol.* 64 (2021) 253–265, <https://doi.org/10.1007/s12374-021-09305-6>.
- [58] G. Diretto, X. Jin, T. Capell, C. Zhu, L. Gomez-Gomez, Differential accumulation of pelargonidin glycosides in petals at three different developmental stages of the orange-flowered gentian (*Gentiana lutea* L. var. *aurantiaca*), *PLoS One* 14 (2) (2019) e0212062, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212062>.
- [59] Z. Zhang, W. Huang, L. Zhao, L. Xiao, H. Huang, Integrated metabolome and transcriptome reveals the mechanism of the flower coloration in cashew *Anacardium occidentale*, *Sci. Hortic.* 324 (2024) 112617, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112617>.
- [60] W.H. Chen, C.Y. Hsu, H.Y. Cheng, H. Chang, H.H. Chen, M.J. Ger, Downregulation of putative UDP-glucose: flavonoid 3-O-glucosyltransferase gene alters flower coloring in *Phalaenopsis*, *Plant Cell Rep.* 30 (2011) 1007–1017, <https://doi.org/10.1007/s00299-011-1006-1>.
- [61] M. Gómez-Míguez, S. González-Manzano, M.T. Escribano-Bailón, F.J. Heredia, C. Santos-Buelga, Influence of different phenolic copigments on the color of malvidin 3-glucoside, *J. Agric. Food Chem.* 54 (15) (2006) 5422–5429, <https://doi.org/10.1021/jf0604586>.
- [62] X. Fu, Q. Wu, J. Wang, Y. Chen, G. Zhu, Z. Zhu, Spectral characteristic, storage stability and antioxidant properties of anthocyanin extracts from flowers of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.), *Molecules* 26 (22) (2021) 7000, <https://doi.org/10.3390/molecules26227000>.
- [63] J. Zhang, X. Zou, X. Zhai, X. Huang, C. Jiang, M. Holmes, Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness, *Food Chem.* 272 (2019) 306–312, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.041>.
- [64] D. Sousa, N. Basílio, J. Oliveira, V. de Freitas, F. Pina, A new insight into the degradation of anthocyanins: reversible versus the irreversible chemical processes, *J. Agric. Food Chem.* 70 (2022) 656–668, <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c05927>.
- [65] H. Eghbaljoo, M. Alizadeh Sani, I.K. Sani, S.M. Maragheh, D.K. Sain, Z.H. Jawhar, S.M. Jafari, Desenvolvimento de filmes halocromicos para embalagens inteligentes incorporados com pigmentos de antocianina; avanços recentes, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 65 (2025) 770–786, <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2280769>.

- [66] J. Yan, R. Cui, Y. Qin, L. Li, M. Yuan, A pH indicator film based on chitosan and butterfly pudding extract for monitoring fish freshness, *Int. J. Biol. Macromol.* 177 (2021) 328–336, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.137>.
- [67] L. Zhao, Y. Liu, L. Zhao, Y. Wang, Anthocyanin-based pH-sensitive smart packaging films for monitoring food freshness, *J. Agric. Food Res.* 9 (2022) 100340, <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100340>.
- [68] B.S. Nayak, L.M. Pinto Pereira, *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats, *BMC Complement. Altern. Med.* 6 (1) (2006) 41, <https://doi.org/10.1186/1472-6882-6-41>.
- [69] V.R. Vutukuri, M.C. Das, M. Reddy, S. Prabodh, P. Sunethri, Evaluation of acute oral toxicity of ethanol leaves extract of *Catharanthus roseus* in Wistar albino rats, *J. Clin. Diagn. Res.* 11 (3) (2017), <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/24937.9325>.
- [70] L. Yuan, M. Gao, H. Xiang, Z. Zhou, D. Yu, R. Yan, A biomass-based colorimetric sulfur dioxide gas sensor for smart packaging, *ACS Nano* 17 (7) (2023) 6849–6856, <https://doi.org/10.1021/acsnano.3c00530>.
- [71] J. Zhang, J. Zhang, X. Huang, J. Shi, L. Liu, W. Song, M. Povey, A visual bi-layer sensor based on agar/TiO₂/butterfly bean flower anthocyanin/carrageenan with photostability for monitoring *Penaeus chinensis* freshness, *Int. J. Biol. Macromol.* 235 (2023) 123706, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123706>.
- [72] L. Qiu, M. Zhang, M. Huang, B. Chitrakar, L. Chang, Fabrication of sodium alginate/apricot peel pectin films incorporated with rose anthocyanin-rich extract for monitoring grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) freshness, *Food Packag. Shelf Life* 39 (2023) 101150, <https://doi.org/10.1016/j.foodpack.2023.101150>.
- [73] O. Romruen, P. Kaewprachu, S. Sai-Ut, et al., Impact of environmental storage conditions on properties and stability of a smart bilayer film, *Sci. Rep.* 14 (2024) 23038, <https://doi.org/10.1038/s41598-024-74004-4>.
- [74] G. Marappan, H.E. Tahir, N. Karim, A. Lakshmanan, M.R.I. Shishir, S.B. Hashim, X. Zou, Natural pigment-based pH/gas-sensitive intelligent packaging film for freshness monitoring of meat and seafood: influencing factors, technological advances, and future perspectives, *Food Rev. Int.* (2025) 1–38, <https://doi.org/10.1080/87559129.2025.2473026>.
- [75] X. Liu, X. Song, D. Gou, H. Li, L. Jiang, M. Yuan, M. Yuan, A polylactide based multifunctional hydrophobic film for tracking evaluation and maintaining beef freshness by an electrospraying technique, *Food Chem.* 428 (2023) 136784, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136784>.
- [76] M. Shayan, J. Gwon, M.S. Koo, D. Lee, A. Adhikari, Q. Wu, pH-responsive cellulose nanomaterial films containing anthocyanins for intelligent and active food packaging applications, *Cellulose* 29 (18) (2022) 9731–9751, <https://doi.org/10.1007/s10570-022-04855-5>.
- [77] Z. Xiao, L. Han, M. Gu, Y. Zhu, Y. Zhang, Z. Li, F. Lu, Performance comparison of anthocyanin-based smart indicator films, *Food Packag. Shelf Life* 40 (2023) 101187, <https://doi.org/10.1016/j.foodpack.2023.101187>.
- [78] M. Alizadeh-Sani, M. Tavassoli, E. Maometano, A. Ehsani, G.J. Khaniki, R. Priyadarshi, J.W. Rhim, Filmes indicadores de cor responsivos ao pH à base de nanofibra de metilcelulose/quitosana e antocianinas de berberis para monitoramento em tempo real do frescor da carne, *Int. J. Biol. Macromol.* (2020), <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.231>.
- [79] T. Gasti, S. Dixit, O.J. D'souza, V.D. Hiremani, S.K. Vootla, S.P. Masti, R. B. Malabadi, Chitosan/methylcellulose-based smart biodegradable films containing anthocyanin *Phyllanthus reticulatus* for monitoring fish fillet freshness, *Int. J. Biol. Macromol.* 187 (2021) 451–461, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.128>.
- [80] H.J. Kim, S. Roy, J.W. Rhim, Gelatin/agar-based color-indicator film integrated with *Clitoria ternatea* flower anthocyanin and zinc oxide nanoparticles for monitoring freshness of shrimp, *Food Hydrocoll.* 124 (2022) 107294, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107294>.
- [81] L.T. Wu, L.L. Tsai, Y.C. Ho, Y.H. Hang, C. Lin, M.L. Tsai, F.L. Mi, Active and intelligent gellan gum-based packaging films for controlling anthocyanins release and monitoring food freshness, *Carbohydr. Polym.* 254 (2021) 117410, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117410>.
- [82] J. Coates, Interpretation of infrared spectra, a practical approach, *Encycl. Anal. Chem.* 12 (2000) 10815–10837.
- [83] C.L.L.F. Arias, C. González-Martínez, A. Chiralt, Biodegradation behavior of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) containing phenolic compounds in seawater in laboratory testing conditions, *Sci. Total Environ.* 944 (2024) 173920, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173920>.
- [84] B. Zhu, Y. Zhong, D. Wang, Y. Deng, Active and intelligent biodegradable packaging based on anthocyanins for preserving and monitoring protein-rich foods, *Foods* 12 (24) (2023) 4491, <https://doi.org/10.3390/foods12244491>.
- [85] R.A. Arumsari, P. Wongphan, N. Harnkarnsujarit, Biodegradable TPS/PBAT blown films with ascorbyl palmitate and sodium ascorbyl phosphate as antioxidant packaging, *Polymers* 16 (23) (2024) 3237, <https://doi.org/10.3390/polym16233237>.
- [86] N. Piñeros-Guerrero, Y. Piñeros-Castro, R. Ortega-Toro, Active biodegradable films based on thermoplastic starch and poly(ϵ -caprolactone): technological application of antioxidant extracts from rice husk, *Rev. Mex. Ing. Quím.* 19 (3) (2020) 1095–1101, <https://doi.org/10.24275/rmiq/Poli898>.
- [87] Y. Amaregouda, K. Kamanna, T. Gasti, Fabrication of intelligent/active films based on chitosan/polyvinyl alcohol matrices containing *Jacaranda cuspidifolia* anthocyanin for real-time monitoring of fish freshness, *Int. J. Biol. Macromol.* 218 (2022) 799–815, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.07.174>.
- [88] M.S. Rabello, Structure and properties of polymers, in: *Structure of Crystalline Polymers* (Chapter 4), 1st ed, 2021.
- [89] K.E. Nissen, B.H. Stuart, M.G. Stevens, A.T. Baker, The tensile and tear properties of a biodegradable polyester film, *Int. J. Polym. Anal. Charact.* 13 (3) (2008) 190–199, <https://doi.org/10.1080/10236660802070538>.
- [90] K. Akhila, A. Sultana, D. Ramakanth, K.K. Gaikwad, Monitoring freshness of chicken using intelligent pH indicator packaging film composed of polyvinyl alcohol/guar gum integrated with *Ipomoea coccinea* extract, *Food Biosci.* (2023) 102397, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102397>.
- [91] P.A. Freitas, C. González-Martínez, A. Chiralt, Antioxidant starch composite films containing rice straw extract and cellulose fibres, *Food Chem.* 400 (2023) 134073, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134073>.
- [92] F. Shahidi, P. Ambigaipalan, Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects—a review, *J. Funct. Foods* 18 (2015) 820–897, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>.
- [93] I. Biskup, I. Golonka, Z. Sroka, A. Gamian, Antioxidant activity of selected phenols estimated by ABTS and FRAP methods, *Adv. Hyg. Exp. Med.* 67 (2013) 958–963.
- [94] S. Roy, H.J. Kim, J.W. Rhim, Effect of blended colorants of anthocyanin and shikonin on carboxymethyl cellulose/agar-based smart packaging film, *Int. J. Biol. Macromol.* 183 (2021) 305–315, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.162>.
- [95] K.P. Chaitra, T.P. Vinod, P. Nagarajan, Smartphone application-based colorimetric fish freshness monitoring using an indicator prepared by rub-coating of red cabbage on paper substrates, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 679 (2023) 132553, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2023.132553>.
- [96] B. Kuswandi, A. Jayus, A. Restyana, A. Abdullah, L.Y. Heng, M. Ahmad, A novel colorimetric food package label for fish spoilage based on polyaniline film, *Food Control* 25 (2012) 184–189, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.008>.
- [97] W. Mokrzycki, M. Tatol, Colour difference ΔE – a survey, *Mach. Graph. Vis.* 20 (2011) 1–28.
- [98] M. Rusishvili, L. Grisanti, S. Laporte, M. Micciarelli, M. Rosa, R.J. Robbins, T. Collins, A. Magistrato, S. Baroni, Unraveling the molecular mechanisms of color expression in anthocyanins, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 21 (2019) 8757–8766, <https://doi.org/10.1039/C9CP00747D>.
- [99] K. Sakata, N. Saito, T. Honda, Ab initio study of molecular structures and excited states in anthocyanidins, *Tetrahedron* 62 (2006) 3721–3731.
- [100] M.A. Sani, M. Tavassoli, H. Hamishehkar, D.J. McClements, Carbohydrate-based films containing pH-sensitive red barberry anthocyanins: application as biodegradable smart food packaging materials, *Carbohydr. Polym.* 255 (2021) 117488, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117488>.
- [101] N. Fallah, A. Aarabi, H. Zaki Dizaji, M. Ghashang, Development of a colorimetric intelligent film based on biodegradable polymers incorporated with *Hibiscus sabdariffa* anthocyanins for monitoring salmon fish spoilage, *Food Bioprocess Technol.* (2025) 1–17, <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03713-5>.
- [102] K.A. Oduse, T. Makinde, A. Saini, R.T. Alves, V.I. Reta, B.M. Tello, Development of intelligent packaging for real-time monitoring of the freshness of Canadian fish (tilapia and salmon) and pork during storage, *Int. Food Res. J.* 32 (1) (2025) 186–194, <https://doi.org/10.47836/ifrj.32.1.13>.
- [103] C. Shi, J. Zhang, Z. Jia, X. Yang, Z. Zhou, Intelligent pH indicator films containing anthocyanins extracted from blueberry peel for monitoring tilapia fillet freshness, *J. Sci. Food Agric.* 101 (5) (2021) 1800–1811, <https://doi.org/10.1002/jsfa.10794>.
- [104] Y. Yang, X. Yu, Y. Zhu, Y. Zeng, C. Fang, Y. Liu, S. Hu, Y. Ge, W. Jiang, Preparation and application of a colorimetric film based on sodium alginate/sodium carboxymethyl cellulose incorporated with rose anthocyanins, *Food Chem.* 393 (2022) 133342, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133342>.
- [105] N.S. Said, N.M. Sarbon, Monitoring the freshness of fish fillets by colorimetric gelatin composite film incorporated with curcumin extract, *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 50 (2023) 102722, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102722>.
- [106] T.A. Misharina, M.B. Terenina, N.I. Krikunova, Antioxidant properties of essential oils, *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 45 (2009) 710–716, <https://doi.org/10.1134/S0003683809060175>.

Supplementary material

Figure S1. Phenolic profile from anthocyanin extract of *Catharanthus roseus* flower.

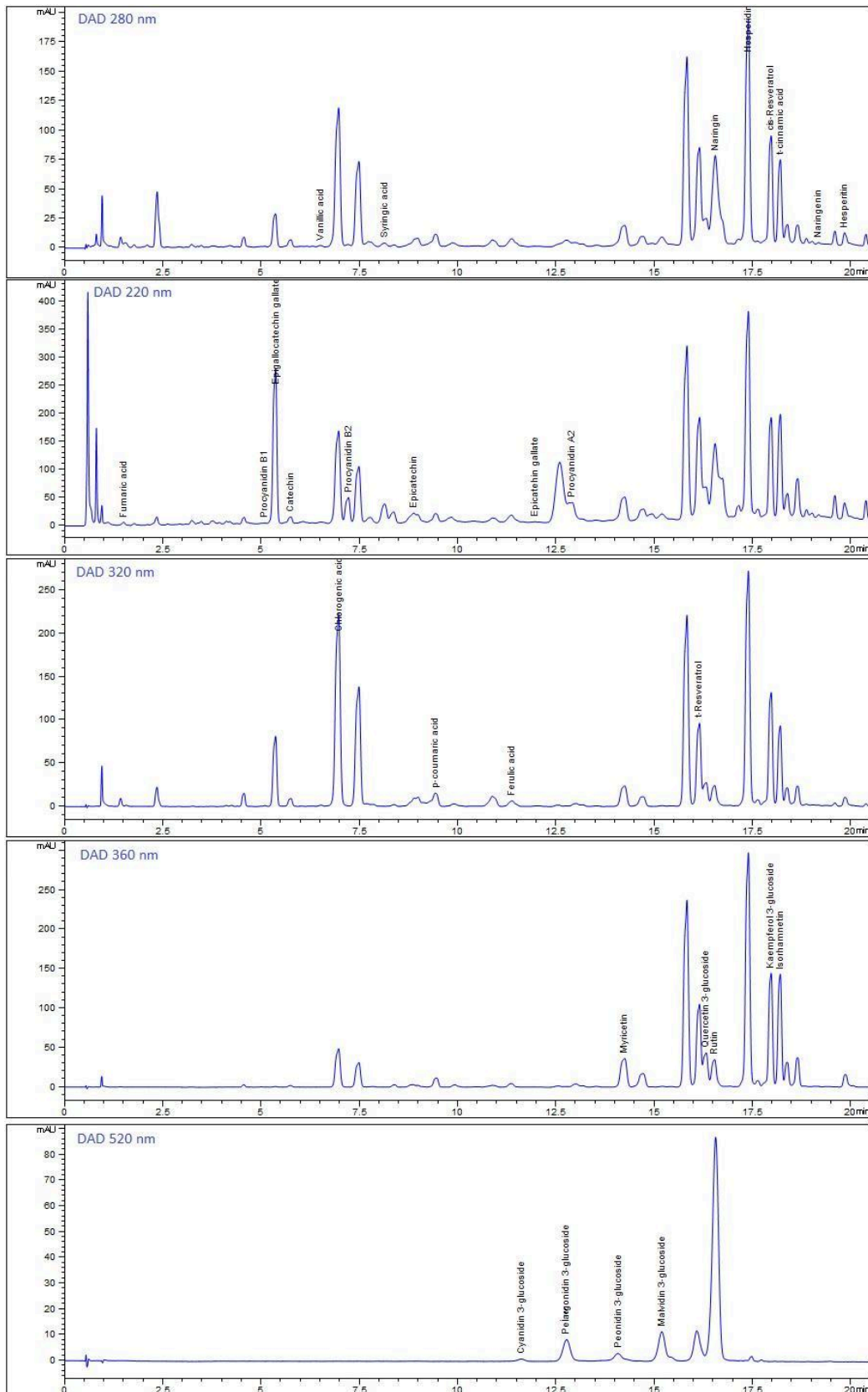
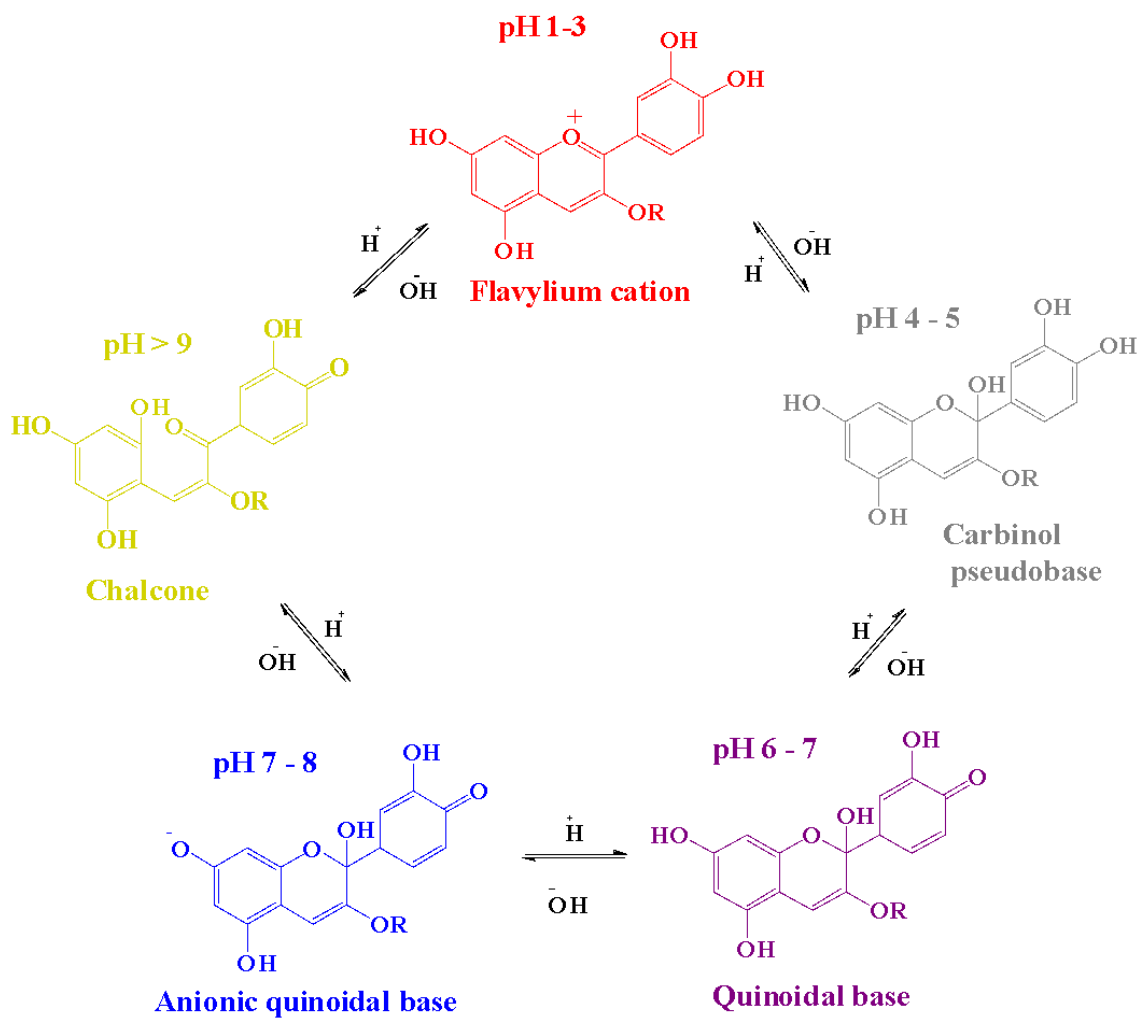


Figure S2. Change mechanism of anthocyanins from *Catharanthus roseus*.



5.2 ARTIGO 2

O estudo teve como objetivo desenvolver e avaliar filmes inteligentes à base de colágeno e pectina incorporados com extrato de antocianinas, visando o monitoramento do frescor de filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado. Além disso, buscou-se integrar a resposta colorimétrica dos filmes a um sistema de inteligência artificial com smartphone para classificação do frescor em tempo real.

Os resultados demonstraram que durante o armazenamento dos filés de tilápia, foram observadas alterações típicas de deterioração, como aumento do pH e dos compostos nitrogenados voláteis, redução da firmeza e mudanças no perfil de compostos voláteis, com substituição de substâncias associadas ao frescor por compostos relacionados à degradação. Essas modificações também foram acompanhadas por perda da aceitabilidade sensorial.

A resposta colorimétrica do filme apresentou forte correlação com os parâmetros de deterioração do pescado, permitindo o uso dessas informações na construção de um banco de dados para treinamento de um modelo de inteligência artificial. O sistema desenvolvido foi capaz de classificar o frescor em diferentes níveis com alta acurácia, demonstrando eficiência na interpretação dos dados colorimétricos.

Do ponto de vista crítico, o estudo apresenta uma abordagem inovadora ao integrar materiais inteligentes com inteligência artificial, ampliando as possibilidades de monitoramento em tempo real. No entanto, limitações podem estar relacionadas à necessidade de validação em condições reais de comercialização e à avaliação da estabilidade dos filmes em diferentes condições ambientais.

Conclui-se que os filmes inteligentes desenvolvidos são promissores para aplicação no monitoramento do frescor de peixes, apresentando sensibilidade, praticidade e potencial para uso associado a tecnologias digitais. A integração com inteligência artificial reforça a aplicabilidade do sistema como uma ferramenta confiável, rápida e com potencial de uso na cadeia produtiva de peixes.

Smartfish App: a biodegradable smart film based on anthocyanins from *Catharanthus roseus* integrated with artificial intelligence for monitoring the freshness of refrigerated fish fillets

Gabrielle Ingrid Bizerra Florentino 1, Cristiani Viegas Brandão Grisi 2*, Arthur Ruan Bizerra Florentino 3, Marta Suely Madruga 1, Mercia de Sousa Galvão 1, Katharina Kardinele Barros Sassi 1, Rita de Cassia Andrade da Silva 2, Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro 4, Valquíria Cardoso da Silva Ferreira 3, Marianna Vieira Sobral 5, Mariana Moraes Dantas 5, Fábio Anderson Pereira da Silva 1*

1 Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Alimentos Engenharia, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

2 Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química, Centro de Exatas e Ciências Naturais, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

3 Departamento de Engenharia de Computação, Centro de Informática, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

4 Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar, Centro de Estudos Humanos, Sociais e Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras, Paraíba, Brasil.

5 Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

*Autor correspondente: fabio.silva@academico.ufpb.br (F. A. P. Silva);

crisgrisi.gere@gmail.com (C.V.B. Grisi)

Resumo: O monitoramento do frescor de pescado permanece um desafio devido à rápida deterioração desses produtos. Neste estudo, foi desenvolvido um sistema inteligente integrado baseado em um filme biodegradável sensível ao pH incorporado com antocianinas extraídas de *Catharanthus roseus* associado a análises instrumentais, sensoriais e a um aplicativo móvel com inteligência artificial, para o monitoramento em tempo real da deterioração de filés de peixe tilápia (*Oreochromis niloticus*). As alterações de qualidade foram avaliadas ao longo de oito dias por meio de análises de pH, TVB-N, TBARS, contagem microbiana total, propriedades de textura, perfil de compostos voláteis e avaliação sensorial. Os resultados indicaram aumento progressivo de pH e TVB-N, redução significativa da dureza e mastigabilidade e substituição de compostos associados ao frescor por aminas e compostos sulfurados nos estágios finais de armazenamento, corroborados pela perda da aceitabilidade sensorial. A resposta colorimétrica do filme apresentou forte correlação com os parâmetros de deterioração e foi utilizada uma aprendizagem de máquina integrada ao aplicativo "Smartfish", que classificou o frescor em três níveis com acurácia de 93%. O sistema desenvolvido é uma abordagem confiável e de baixo custo para o monitoramento do frescor de pescado.

Palavras-chave: Extrato de antocianina; Flor Boa-noite; Sensor colorimétrico; Filme biodegradável; Filé de peixe; Inteligência artificial.

1. INTRODUÇÃO

A avaliação do frescor de alimentos utilizando filmes colorimétricos à base de antocianinas ainda depende majoritariamente da inspeção visual das mudanças de cor, um método subjetivo e suscetível à variabilidade humana. Para reduzir essas limitações e

aumentar a precisão do monitoramento, técnicas de aprendizado de máquina têm sido incorporadas a sistemas colorimétricos, permitindo a extração matemática de parâmetros cromáticos e a classificação automática de estados de deterioração. Dogan et al. (2024) demonstraram essa abordagem ao integrar filmes inteligentes de extrato de antocianina de repolho roxo a um aplicativo para smartphone capaz de monitorar em tempo real a deterioração de peixe. De forma semelhante, Kilic et al. (2022) desenvolveram filmes colorimétricos associados ao aplicativo, utilizando vapor de amônia como marcador químico para avaliar a cinética de mudança de cor em amostras de carne de frango. Esses avanços evidenciam o potencial da combinação entre sensores colorimétricos naturais e algoritmos para avaliações mais robustas e objetivas da qualidade de alimentos perecíveis.

O uso de antocianinas extraídas de flores ainda é limitado, embora elas representem uma fonte abundante, sustentável e economicamente viável. A espécie *Catharanthus roseus* (L.) Don., amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais, apresenta elevada concentração de flavonoides e antocianinas em suas pétalas, além de reconhecida atividade antioxidante. Essas características a tornam um recurso natural subexplorado com potencial significativo para aplicações em embalagens inteligentes e smart (Florentino et al., 2025).

Diante da necessidade de sistemas mais sustentáveis e eficientes para monitoramento da qualidade, embalagens smart podem ser solução promissora. Esses sistemas incorporam sensores, compostos funcionais ou indicadores capazes de responder a mudanças químicas decorrentes da deterioração dos alimentos. Entre as alternativas estudadas, pigmentos naturais de origem vegetal, especialmente antocianinas, têm recebido destaque devido às suas propriedades antioxidantes, coloração marcante e comportamento halocrômico sensível ao pH, tornando-os excelentes candidatos para o desenvolvimento de indicadores colorimétricos (Chen et al., 2023).

Entretanto, o aumento da produção e do consumo de pescado intensifica a necessidade de monitoramento da qualidade e do frescor, uma vez que a deterioração ocorre rapidamente após a morte do animal. Esse processo envolve mecanismos autolíticos e microbiológicos que resultam na formação de compostos nitrogenados voláteis, como amônia, dimetilamina e trimetilamina, os quais constituem o nitrogênio básico volátil total (TVB-N). Esse parâmetro é amplamente utilizado como indicador químico de frescor, pois apresenta correlação direta com a degradação proteica e o aumento do pH da carne durante o armazenamento (Chaithra et al., 2024).

Entre os alimentos altamente perecíveis, o pescado destaca-se pela elevada suscetibilidade à deterioração microbiana e enzimática. Ao mesmo tempo, desempenha papel fundamental na segurança nutricional global, contribuindo de forma significativa para o aporte de proteínas de alto valor biológico, minerais, lipídios essenciais e micronutrientes para diversas populações. O consumo per capita de alimentos de origem aquática aumentou de 9,1 kg em 1961 para 20,7 kg em 2022, e a indústria pesqueira fornece aproximadamente 15% da proteína animal consumida globalmente, podendo ultrapassar 50% em alguns países da Ásia e da África (FAO, 2024). Nesse contexto, a tilápia (*Oreochromis spp.*) destaca-se como uma das principais espécies aquícolas, representando 7,9% (4,5 milhões de toneladas) da produção global de peixes cultivados (FAO, 2022).

Considerando esse contexto, o presente estudo propõe uma abordagem inovadora. O objetivo era aplicar filmes biodegradáveis à base de colágeno e pectina incorporados com antocianinas extraídas de *Catharanthus roseus* em filês de tilápia sob refrigeração, estabelecendo correlações entre parâmetros de qualidade do peixe e as alterações colorimétricas do filme. Além disso, desenvolver um sistema colorimétrico baseado em aprendizagem de máquina utilizando como ferramenta o smartphone para a avaliação da

deterioração do pescado, permitindo o fornecimento de feedback rápido e em tempo real sobre o frescor do filé.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

As flores de *Catharanthus roseus* foram coletadas manualmente na Universidade Federal da Paraíba, Brasil, entre março e setembro de 2025, no estágio máximo de floração e coloração lilás, sendo transportadas em caixas térmicas para o laboratório, logo após foram maceradas. Os reagentes utilizados, incluindo glicerol, pectina cítrica, ácido cítrico e álcool etílico, foram de grau analítico, adquiridos da empresa Dinâmica. O colágeno hidrolisado tipo I de origem bovina foi fornecido pela empresa RBR Brasil.

2.2 Extração de Antocianina da flor *Catharanthus roseus* (CAE)

Pétalas de flores frescas de *Catharanthus roseus* foram maceradas em solução de etanol 75% (1:5, massa/volume) e mantidas em repouso por 24 h a 5 °C, em ambiente escuro. Após a extração, a solução foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo (TECNAL, modelo TE-213) a 50 °C/ 30 rpm, até a remoção completa do etanol (Florentino, et al., 2025). O extrato resultante foi armazenado em recipiente de vidro opaco envolto com papel alumínio, a 5 °C.

2.3 Desenvolvimento dos filmes

Os filmes foram preparados pela técnica de espalhamento (casting), conforme a metodologia adaptada de Costa et al. (2021), utilizando-se 2% de pectina, 2% de colágeno e 1% de glicerol (m/m). A pectina foi dispersa em água destilada, homogeneizada e deixada em

repouso por 24 h para hidratação. O colágeno foi disperso em água com o pH ajustado para a faixa de 3 a 4 usando ácido cítrico a 30%. A solução de colágeno foi aquecida a 83 °C em forno micro-ondas (SHARP - 342, Osaka, Japão), com monitoramento contínuo da temperatura utilizando termômetro digital (Ecotools - ET1415, Brasil). Após o aquecimento, a solução de pectina hidratada foi incorporada à de colágeno, seguida de homogeneização e aquecimento a 50 °C em forno micro-ondas por 3 min. A mistura foi resfriada até 40 °C, e o extrato de antocianina foi adicionado na concentração 30% m/m e homogeneizado manualmente por 5 min. A solução filmogênica contendo o extrato de antocianina foi vertida em placas de petri estéreis (140 x 15 mm) e seca em estufa a 50 °C por cerca de 15 h. Após a secagem, os filmes foram retirados das placas e submetidos a análises sob condições ambientais de 25 °C e umidade relativa de 60-70%.

2.4 Cor instrumental

A cor instrumental do filme foi medida utilizando um colorímetro digital Konica Minolta (CR-300), registrando os parâmetros L^* , a^* e b^* , com calibração feita com uma placa de calibração branca padrão, conforme as especificações da CIE (2007). As medições foram realizadas com os filmes posicionados sobre papel branco padrão (papel de ofício).

2.5 Sensibilidade do filme ao vapor de amônia

A sensibilidade dos filmes para detectar vapores de amônia foi testada conforme Ezati et al. (2020). Amostras de filmes com 3,5 cm de diâmetro foram expostas a frascos contendo 10 mL de soluções de hidróxido de amônio em diferentes concentrações (0-controle, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000 e 8000 ppm). As imagens e os dados colorimétricos dos filmes foram capturados após 6 min de reação. A diferença total de cor (ΔE) foi calculada pela Equação 1, com base na diferença entre os parâmetros ΔL^* , Δa^* e

Δb^* do controle e das variações.

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (\text{Eq.1})$$

2.6 Aplicação dos filmes na detecção de frescor de filés de tilápia

Tilápias frescas foram adquiridas em um mercado local da cidade de João Pessoa. Os peixes foram eviscerados, descabeçados e tiveram a pele removida para a obtenção dos filés. Para o experimento, 100 g de amostra foi acondicionada em embalagem de isopor lacrada e armazenada sob condições controladas de temperatura (4 °C) e umidade relativa (UR = 50%). Um rótulo inteligente, previamente preparado com dimensões de 1 cm × 1 cm, foi fixado no espaço livre da embalagem, posicionado a uma distância de 3 cm acima da amostra. Durante o armazenamento a 4 °C, imagens da coloração do rótulo foram capturadas utilizando um smartphone Apple, modelo iPhone 15, nos intervalos de 24 h por 8 dias, a fim de monitorar possíveis alterações visuais indicativas da deterioração do peixe. Simultaneamente, foi estabelecido um controle em branco para avaliar a estabilidade do rótulo inteligente na ausência da amostra. As amostras foram analisadas por 8 dias, em triplicata, quanto à parâmetros colorimétricos ($L^*a^*b^*$) e TVB-N, para compor o banco de dados.

2.7 Caracterização do filé de peixe ao longo do armazenamento

2.7.1 Determinação de nitrogênio de bases voláteis totais (TVB-N)

O conteúdo de TVB-N nas amostras foi medido de acordo com o método de Contreras-Guzmán (1988) com algumas modificações. Aproximadamente 10 g de filé de tilápia triturado foram misturados com 60 mL de ácido tricloroacético a 10% e homogeneizados por 5 min. Em seguida, a amostra foi deixada em repouso por 30 minutos e a

mistura foi filtrada. Uma alíquota de 20 mL do filtrado foi transferida para um tubo Kjeldahl contendo 3 mL de hidróxido de sódio (NaOH) a 20%. A mistura do tubo foi destilada e coletada em solução de ácido bórico a 3%. Após a titulação, a concentração de TVB-N foi calculada e expressa em mg de N/100g de amostra.

2.7.2 Compostos voláteis

Os filés de tilápia foram triturados, pesados 5g, transferidos para frascos e homogeneizados com solução saturada de NaCl na proporção de 1:2 (m/v) (Pawliszyn, Zhang & Gorecki, 1995).

Depois de atingir a temperatura de equilíbrio (50 ± 2 °C), uma fibra de 75 µm de Carboxen /Polidimetilsiloxano SPME (DVB/PDMS, Supelco, Co., Bellefonte, PA, EUA) foi exposta aos voláteis presentes no espaço da cabeça para adsorção por 40 minutos. Foi posteriormente inserido no injetor GC-MS para dessorção dos voláteis.

Os compostos foram separados em um Cromatógrafo de Gás 7890B acoplado a um Espectrômetro de Massa Agilent Technologies 5977B (Little Falls, DE, EUA), operando sob uma tensão de ionização de 70 eV no modo de varredura (35 a 500 m/z).

Uma coluna capilar de sílica fundida VF-5MS (30 m × 0. Coluna 25 mm x 0,25 µm, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) foi usada para separar os voláteis. Inicialmente, a temperatura da coluna foi mantida a 35 °C por 1 minutos e depois aumentada para 200 °C a 10 °C/min, para 280 °C a 20 °C/min e mantida por 5 minutos. O hélio foi o gás de arraste liberado a uma taxa de fluxo de 1,0 mL/min. A temperatura do injetor foi mantida a 250 °C, e a fibra foi exposta por 5 minutos para dessorção de calor dos voláteis. A injeção foi feita no modo splitless, e a temperatura da interface foi mantida a 260 °C.

Os compostos foram identificados analisando os padrões de fragmentação mostrados nos espectros de massa e confirmados comparando seus espectros de massa com os do banco

de dados fornecido pelo equipamento do NIST (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, EUA) e comparando seus índices de retenção com os de compostos conhecidos. Para permitir a quantificação dos compostos voláteis, 3 µL do padrão interno 1,2-diclorobenzeno (50 µg/mL, Sigma Aldrich, Darmstadt, Alemanha) foram adicionados ao frasco de cada amostra antes do início do processo de extração do composto volátil.

2.7.3 Valor de atividade relativa do odor (ROAV)

A contribuição de cada composto volátil foi descrita pelo ROAV. O ROAV do composto que mais contribuiu para o odor foi assumido como 100 (Fang et al., 2022). O ROAV foi calculado usando a seguinte Equação 3:

$$\text{ROAV} = 100 \times \text{Cri/Crs} \times \text{Ts/Ti} \quad (\text{Eq.2})$$

Onde: Crs e Cri referem-se aos conteúdos relativos do composto que mais contribui e de cada composto volátil, respectivamente; Ts e Ti são os valores limite do composto que mais contribui e de cada composto volátil, respectivamente.

2.7.4 Determinação do pH e Contagem Total de Microrganismos Viáveis

O pH foi quantificado seguindo as recomendações do método 977.20, descrito pela AOAC (2012). A contagem total de bactérias foi determinada pelo método de contagem padrão em placas, conforme descrito pela APHA (2015). Amostras de 25 g de filé de tilápia foram homogeneizadas em 225 mL de água peptonada estéril (0,1%), obtendo-se a diluição inicial de 10^{-1} , seguida de diluições seriadas decimais. Aliquotas apropriadas foram plaqueadas em Plate Count Agar (PCA) pelo método de plaqueamento em profundidade e incubadas a 35 ± 1 °C por 48 h, para posterior contagem de colônias. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama de amostra (UFC/g).

2.7.5 Substância 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.

2.7.6 Determinação das propriedades de textura

A dureza, a elasticidade e a mastigabilidade das amostras foram examinadas neste estudo. Filés de tilápia foram divididas em pedaços de 15 mm × 15 mm × 15 mm, e as propriedades de textura foram avaliadas em triplicata por meio de um analisador de textura (TA.XTplus, Stable Microsystems), equipado com uma sonda P/3. As condições de medição foram as seguintes: velocidade de teste de 1 mm/s, intervalo de compressão de 5 s, porcentagem de compressão de 50% e tempo de relaxamento de 5 s (Bian et al., 2022).

2.7.7 Análise sensorial

A análise sensorial descritiva quantitativa (ADQ) foi realizada por 10 painelistas treinados, seguindo a metodologia descrita por Bahram et al. (2016). O treinamento sensorial foi conduzido antes dos experimentos de acordo com dois padrões: “Diretrizes para avaliação

sensorial de produtos aquáticos - GB/T 37062 2018” e “Análise sensorial, introdução à metodologia e treinamento para avaliadores sensoriais - GB/T 15549 2022”. Durante o treinamento, filés de peixe com diferentes níveis de frescor foram apresentados aos julgadores como amostras de referência, visando à padronização da avaliação de cor, odor e textura. A avaliação sensorial foi baseada em uma escala de dez pontos para determinar: odor (10, desejável; 1, inaceitável); cor (10, sem descoloração; 1, descoloração); textura (10, firme; 1, suave); e aceitabilidade geral (uma pontuação menor abaixo de 7 correspondia a uma qualidade mais inaceitável).

O painel sensorial foi composto predominantemente por jovens adultos (41,7% entre 18–25 anos, 41,7% entre 25–35 anos e 16,6% entre 35–50 anos), com distribuição relativamente equilibrada entre os sexos (58,3% masculino e 41,7% feminino) e majoritariamente com nível superior completo ou em andamento (66,7%), refletindo adequada capacidade de discriminação sensorial. Ademais, os avaliadores relataram consumo regular de pescado, incluindo outros peixes e tilápia, e elevada intenção de compra, com 75% manifestando desejo de aumentar o consumo de tilápia e mais de 90% indicando intenção de ampliar o consumo de pescado em geral, assegurando que as avaliações obtidas sejam representativas, consistentes e relevantes do ponto de vista do consumidor final.

2.8 Desenvolvimento de aplicação para smartphones

2.8.1 Classificação via Random Forest e Integração On-device

A seleção do algoritmo Random Forest para a classificação do estado de frescor da Tilápia fundamenta-se em sua robustez frente a dados e sua capacidade de mitigar o *overfitting*, quando o modelo aprende demais os dados de treino e perde capacidade de generalização, através do *ensemble*, combinação de vários modelos, de múltiplas árvores de

decisão. No contexto da colorimetria onde as condições de iluminação podem introduzir variâncias nas coordenadas (L^* , a^* , b^*), a natureza não linear e a capacidade de generalização do modelo garantem uma fronteira de decisão mais estável e precisa para a categorização dos níveis de frescor.

A parametrização do modelo foi conduzida para assegurar a reprodutibilidade dos experimentos e a estabilidade das fronteiras de decisão. Para tanto, definiu-se um estado de aleatoriedade fixo de 42, a arquitetura do *ensemble* foi configurada com 10 estimadores (árvores de decisão) e uma profundidade máxima limitada a 5 níveis por árvore. Esta configuração estratégica visa otimizar a eficiência computacional para a execução em tempo real em dispositivos móveis (Dogan et al., 2024).

Visando a aplicabilidade prática, o modelo treinado foi convertido e integrado ao ecossistema iOS através do Core ML, viabilizando a execução da inteligência artificial diretamente no dispositivo (*on-device inference*), o que confere ao sistema baixa latência, privacidade e segurança, além do pleno funcionamento offline.

2.8.2 Desenvolvimento da aplicação “Smartfish”

O presente estudo desenvolveu uma aplicação nativa para o sistema operacional iOS denominada “Smartfish”, utilizando a linguagem de programação *Swift* e o framework *SwiftUI*. A escolha desta arquitetura permitiu uma integração profunda com o hardware de captura óptica, garantindo alta eficiência no processamento de sinais em tempo real, além de permitir a integração direta do modelo preditivo à arquitetura da aplicação.

O algoritmo de extração baseou-se no método de Média Espacial de Área, técnica de pré-processamento essencial para a estabilização do sinal. Durante o fluxo de captura, o aplicativo isola uma região de interesse (ROI - Region of Interest) centralizada na imagem, definida por um quadrante de dimensões controladas. Diferente de métodos de segmentação

tradicionais que podem ser influenciados por pixels isolados, o filtro de média de área integra todos os sinais cromáticos dentro da ROI, mitigando ruídos ópticos e variações de textura do filme inteligente (Yüzer et al., 2022).

Portanto, ao digitalizar uma etiqueta utilizando o sensor óptico do dispositivo, a aplicação faz a conversão dos valores RGB para o sistema de cores CIELAB (L^* , a^* , b^*). Esta etapa de pré-processamento é crucial para garantir a estabilidade colorimétrica, independentemente de flutuações na iluminação ambiente. Uma vez padronizadas, essas coordenadas são submetidas como variáveis de entrada ao modelo preditivo interno, que executa a classificação por meio do algoritmo Random Forest, exibindo o estágio de frescor estimado para o usuário.

2.8.3 Teste de estabilidade

A robustez e a repetibilidade da aplicação foram validadas por meio de ensaios de estabilidade, utilizando quatro dispositivos com diferentes especificações ópticas (iPhone 14, iPhone 14 Pro Max, iPhone 15 e iPhone 15 Pro). O experimento consistiu no monitoramento do frescor de amostras armazenadas sob condições controladas de refrigeração (4 °C) durante um período de 8 dias.

2.9 Análise estatística

Os dados obtidos em todas as análises foram tratados e submetidos à ANOVA ($p < 0,05$). Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP). Quando houve uma diferença significativa entre os tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste Tukey, considerando um intervalo de confiança de 95%, utilizando o software estatístico IBM - SPSS, versão 23.0. Os gráficos foram gerados usando o software Microsoft Excel 2023 ou

OriginPro, versão 8.5 (OriginLab Corporation, Northampton, MA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do filme

A cor constitui um atributo crítico em sistemas de embalagem inteligente, pois influencia diretamente a interpretação visual do estado de conservação dos alimentos e o desempenho de métodos colorimétricos de monitoramento (Song et al., 2024). Com o objetivo de aprimorar as propriedades ópticas observadas em formulações previamente reportadas, a base do filme desenvolvido neste estudo foi produzida utilizando colágeno hidrolisado comercial, estratégia adotada para maximizar a luminosidade (L^*) e, assim, ampliar o contraste cromático associado à exposição a compostos voláteis nitrogenados liberados durante a deterioração.

O filme inteligente incorporado com extrato de *Catharanthus roseus* apresentou parâmetros de cor instrumental caracterizados por elevada luminosidade ($L^* = 81,09 \pm 0,51$), valores positivos no eixo vermelho-verde ($a^* = 4,55 \pm 0,20$) e predominância do componente amarelo ($b^* = 15,64 \pm 0,81$). Em comparação com estudos anteriores de Florentino et al. (2025), utilizando filmes à base de colágeno extraído da pele de tilápia, observou-se menor luminosidade ($L^* = 74,45 \pm 0,15$) e maior intensidade do componente b^* ($20,96 \pm 0,38$), enquanto os valores de a^* permaneceram semelhantes ($4,54 \pm 0,45$). Esses resultados indicam que a incorporação do extrato vegetal promoveu aumento da luminosidade e redução da tonalidade amarela do material. Essa diferença pode estar associada à presença de impurezas e cromóforos residuais provenientes do processo de extração do colágeno da pele do peixe, que reduzem sua transparência e impactam o perfil óptico da matriz polimérica. Assim, o colágeno comercial conferiu maior pureza óptica ao material, resultando em filmes com

luminosidade superior, menor interferência espectral e uma resposta colorimétrica mais nítida, sensível e facilmente detectável ao longo do armazenamento do pescado.

A aplicação de sensores colorimétricos para o frescor de peixes exige que o material seja capaz de adsorver e responder de forma mensurável a diferentes níveis de amins voláteis, especialmente amônia, o principal composto nitrogenado associado à deterioração de peixes e carnes. De acordo com a literatura, a interação da amônia com a umidade presente na matriz polimérica resulta na formação de NH_4OH , seguida de dissociação em NH_4^+ e OH^- , processo que promove um aumento local do pH e desencadeia transições estruturais das antocianinas. Essas alterações conformacionais, altamente dependentes do pH, modificam o sistema cromóforo das moléculas, produzindo mudanças espectrais distintas e facilmente detectáveis (Meng, 2021).

Esse mecanismo é relevante para pesqueiros, nos quais a deterioração gera acúmulo de compostos nitrogenados voláteis. No presente estudo, os rótulos incorporados de extrato de *Catharanthus roseus* exibiram variações cromáticas graduais quando expostos a concentrações crescentes de amônia, conforme demonstrado na Figura 1-A e B. A análise quantitativa revelou um aumento nos valores de ΔE^* em função da concentração de amônia, indicando forte correlação positiva entre a resposta colorimétrica e o teor de amins voláteis.

Valores de $\Delta E^* > 2$, reconhecidamente perceptíveis ao olho humano, foram detectados já na concentração de 3000 ppm, evidenciando a sensibilidade do sistema colorimétrico desenvolvido. Alterações ainda mais expressivas, com $\Delta E^* > 5$, classificadas como facilmente distinguíveis por inspeção visual direta, foram observadas a partir de 7000 ppm (Khanjanzadeh et al. 2022) e com maior sensibilidade de detecção quando comparada ao estudo de Chen et al. (2023).

Entre os parâmetros colorimétricos, a^* apresentou a maior variação, deslocando-se de valores positivos para negativos, indicando tendência marcante para tonalidades esverdeadas.

Comportamento semelhante foi registrado por Zhao et al. (2022) em filmes inteligentes produzidos com extrato de casca de batata-doce roxa, nos quais a exposição à amônia provocou uma transição de cor rosa para verde-azulado. Tais alterações são atribuídas a modificações estruturais das antocianinas induzidas pelo aumento da alcalinidade, nas quais ocorre a conversão do cátion flavílio para formas quinonoidais ou estruturas do tipo chalcona, resultando na formação de colorações esverdeadas (Zheng et al., 2022).

3.2 Elaboração de banco dados

A determinação do frescor dos filés de tilápia armazenados sob refrigeração foi realizada por meio da integração entre a resposta colorimétrica do rótulo inteligente e os valores de aminas voláteis básicas totais (TVB-N), estratégia que permite correlacionar alterações químicas do pescado com sinais visuais facilmente interpretáveis. O TVB-N constitui um dos indicadores químicos empregados para a avaliação da qualidade e do frescor de pescado, sendo composto principalmente por aminas primárias, secundárias e terciárias, como trimetilamina (TMA) e dimetilamina (DMA), além de amônia, formadas em decorrência da ação combinada de enzimas endógenas e da atividade microbiana durante o processo de deterioração (Rasul et al., 2018).

Apesar da robustez do TVB-N como ferramenta analítica para a determinação do frescor do pescado, a aplicação rotineira no momento pré-consumo é limitada por fatores como custo, tempo de análise e necessidade de infraestrutura laboratorial. Nesse contexto, ao longo de oito dias de armazenamento refrigerado, os dados instrumentais de cor do filme inteligente (parâmetros L^* , a^* e b^*) foram integrados aos valores de TVB-N dos filés de tilápia para compor um banco de dados (Tabela S.1), utilizado no desenvolvimento de um aplicativo baseado em inteligência artificial, capaz de fornecer uma avaliação rápida, objetiva e segura do frescor do pescado.

Os resultados demonstraram que, do dia 0 ao dia 3 sob refrigeração (4 °C), os filés apresentaram valores de TVB-N inferiores a 4 mg N/100 g (Figura 2-A), caracterizando um elevado estado de frescor. A partir do quarto dia, observou-se um aumento mais acentuado desse parâmetro 8,79 mg N/100 g, atingindo 13,01 mg N/100 g no quinto dia de estocagem. No sexto e sétimo dias de armazenamento, os valores de TVB-N dos filés ultrapassaram 15 mg N/100 g, aproximando-se do limite aceitabilidade sensorial, enquanto no oitavo dia alcançaram 32,28 mg N/100 g, enquadrando o produto na faixa de deterioração avançada e, portanto, inadequado para consumo.

A classificação da qualidade do pescado foi realizada com base em referências técnicas nacionais e internacionais (Brasil, 2008; Huss, 1995; Connell, 1995; Howgate, 2004; China NHFPC, 2015), segundo as quais valores de TVB-N inferiores a 15 mg N/100 g indicam pescado fresco, valores entre 15 e 25 mg N/100 g correspondem a uma condição intermediária de qualidade, e valores superiores a 25 mg N/100 g são indicativos de deterioração do produto.

A evolução dos valores de TVB-N apresentou correspondência direta com as mudanças de cor observadas no rótulo inteligente, evidenciando a elevada sensibilidade do sistema proposto para o monitoramento do frescor da tilápia em tempo real. Visualmente, a progressão da deterioração foi acompanhada por uma transição gradual da tonalidade do rótulo, de marrom para verde ao longo do armazenamento (Figura 2-B). Essa mudança foi confirmada pela análise colorimétrica do filme inteligente, na qual o parâmetro a^* apresentou a maior variação, deslocando-se de valores positivos para negativos, indicando uma tendência marcante para tonalidades esverdeadas (Tabela S.1).

A forte correlação entre os valores de TVB-N e a resposta colorimétrica do rótulo inteligente confirma o elevado potencial dessa tecnologia como uma ferramenta prática, não invasiva e de fácil interpretação para a inferência do frescor do pescado. Além disso, a

integração do sistema colorimétrico com plataformas digitais baseadas em inteligência artificial amplia a aplicabilidade tanto para a indústria quanto para o consumidor final, oferecendo suporte à tomada de decisão ao longo da cadeia produtiva e contribuindo para a melhoria da segurança alimentar e da gestão da vida útil do produto.

3.3 Análise de qualidade do peixe

3.3.1 Compostos voláteis ao longo do armazenamento

Considerando que o processo de deterioração do pescado envolve uma sucessão complexa de reações, refletidas diretamente na formação de compostos voláteis específicos em diferentes estágios de frescor, a análise do perfil volátil dos filés de tilápia armazenados sob refrigeração foi conduzida como ferramenta complementar aos dados de TVB-N para a determinação do grau de deterioração do produto. O cromatograma está apresentado na Figura S.1. No total, 50 compostos voláteis ao longo do período de armazenamento foram identificados, permitindo uma caracterização abrangente e detalhada da fração aromática do pescado (Tabela 1). Esses compostos foram classificados em 11 grupos funcionais, incluindo 9 álcoois, 7 aldeídos, 6 alcanos, 2 ésteres, 7 hidrocarbonetos, 11 cetonas, 2 sulfetos e outros compostos minoritários, refletindo a multiplicidade de vias metabólicas envolvidas na deterioração do peixe.

Com isso, a evolução temporal do perfil de compostos voláteis evidenciou alterações qualitativas e quantitativas bem definidas ao longo do armazenamento refrigerado, permitindo a distinção clara entre os estágios de frescor, transição e deterioração do filé de tilápia (Figura 3). Nos estágios iniciais (T0–T2), o perfil volátil foi predominantemente caracterizado por aldeídos de cadeia linear, com destaque para o hexanal, além do álcool insaturado 1-octen-3-ol e do álcool ramificado 1-hexanol, 2-ethyl-, bem como pela presença de

hidrocarbonetos aromáticos e alifáticos, como tolueno e alcanos ramificados (pentano, 2,4-dimetil-, e butano, 2,2,3-trimetil-).

Considerando a presença de hexanal no início do armazenamento, os resultados deste estudo são consistentes, uma vez que esse composto é uma das principais fontes do aroma característico de peixe em filés de tilápia no início do processo de refrigeração (Xu et al., 2022), apresentando de frescor em concentrações adequadas. O hexanal é gerado principalmente pela clivagem do 13-hidroperóxido do ácido linoleico (Liu et al., 2024).

Em particular, os álcoois insaturados contribuem de forma significativa para a formação de fragrâncias leves e notas oleosas suaves, compatíveis com elevada qualidade sensorial. De modo complementar, o 1-octen-3-ol, originado da clivagem de hidroperóxidos lipídicos, confere aroma de cogumelo e vegetal cru, sendo também frequentemente reportado como um dos principais compostos voláteis associados ao frescor do pescado (Zhu et al., 2020).

Adicionalmente, a presença de hidrocarbonetos alifáticos, particularmente alcanos ramificados, embora caracterizados por elevados limiares de odor e, portanto, limitada contribuição sensorial direta, é frequentemente reportada em produtos pesqueiros. Evidências da literatura sugerem que esses hidrocarbonetos podem participar indiretamente da evolução do perfil volátil, atuando como indicadores de transformações químicas que favorecem a formação de compostos de maior relevância sensorial ao longo do armazenamento (Li et al., 2023).

Com a progressão do armazenamento para os estágios intermediários (T4–T6), observou-se uma redução gradual na contribuição relativa dos aldeídos de cadeia curta, concomitante ao aumento expressivo de cetonas e álcoois superiores. Cetonas como 2-pentanona e 2-heptanona passaram a exercer maior influência no perfil aromático, estando associadas a percepções sensoriais como frutado artificial, amanteigado e solvente, os quais já

indicam perda perceptível de qualidade sensorial, embora ainda possam situar-se dentro de um intervalo intermediário de aceitabilidade. Paralelamente, a intensificação de álcoois ramificados, como 3-metil-1-butanol, sugere a degradação de aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina) (Scully & Orlygsson, 2020).

Nos estágios finais de armazenamento (T8), conforme evidenciado na Figura 5, o perfil volátil sofreu alterações acentuadas. Observou-se aumento expressivo de aldeídos ramificados, como 2-metilbutanal e 3-metilbutanal, os quais são produtos típicos da degradação de aminoácidos de cadeia ramificada e estão fortemente associados a odores pungentes, fermentativos e desagradáveis (Smit et al., 2009). Além disso, de forma indicativa da deterioração, destacou-se a presença de compostos sulfurados, como o dimetil dissulfeto e dimetil trissulfeto. Esses voláteis, oriundos da degradação de aminoácidos sulfurados como metionina e cisteína, são reconhecidos como marcadores de deterioração de pescado, em função de seus baixíssimos limiares de percepção olfativa e da associação direta com odores intensos descritos como enxofre, repolho e cebola (Mohammadi et al., 2021). Achados semelhantes foram encontrados por Cheng et al. (2023), ao identificar compostos sulfurados em filés de tilápia ao longo do armazenamento.

Além disso, o aumento de trimetilamina ao longo do armazenamento reforça o avanço da deterioração, uma vez que este composto resulta da redução do óxido de trimetilamina e está diretamente relacionado ao odor clássico de peixe deteriorado. A coexistência de trimetilamina com compostos sulfurados e aldeídos ramificados sugere que a degradação proteica é a principal via geradora de voláteis no estágio final do armazenamento (Howgate, et al., 2010).

3.3.1.1 Análise de componentes principais

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi aplicada para elucidar a evolução do perfil de compostos voláteis em filés de tilápia ao longo do período de armazenamento (T0–T8), pode-se observar na Figura 4-A e B. O *biplot* resultante demonstra alta eficiência do modelo, explicando 77,63% da variância total, com o primeiro componente principal (PC1) representando 60,26% e o segundo (PC2) 17,37%. A distribuição espacial das amostras revelou uma trajetória temporal clara, delineando três estágios metabólicos distintos associados à perda de qualidade.

De acordo com os resultados, as amostras correspondentes aos tempos iniciais (T0 e T2) agrupam-se em uma mesma região do gráfico de scores, refletindo elevada similaridade composicional. Entretanto, observou-se um deslocamento ao longo do eixo positivo do PC2 para os tempos de armazenamento intermediários (T4 e T6). Este grupo correlacionou-se com cetonas, ésteres, alcanos, alcenos e fenóis. Tais compostos são frequentemente relacionados como indicadores inicial da perda de frescor em peixes, contribuindo para notas frutadas ou levemente rançosas.

Em contrapartida, o tempo final de armazenamento (T8) exibiu uma segregação distinta ao longo do eixo positivo do PC1. Esse componente está associado principalmente ao gradiente de deterioração, com a presença de aldeídos, álcoois, aminas, sulfetos, hidrocarbonetos e terpenos. A proximidade entre aldeídos e álcoois indica forte correlação e origem comum, enquanto a associação de aminas e sulfetos reforça seu papel como marcadores de deterioração.

3.3.1.2 Valor de atividade relativa do odor

A percepção sensorial de compostos voláteis varia em função das características químicas e estruturais, bem como da afinidade específica entre esses compostos e os receptores olfativos humanos. A menor concentração na qual um composto volátil pode ser

percebido é definida como limiar de odor. Assim, para concentrações equivalentes, compostos com limiares de odor mais baixos tendem a exercer maior impacto sensorial (Cheng et al., 2023).

Com base nesses princípios, o valor de ROAV foi aplicado para selecionar os principais compostos voláteis responsáveis pelo aroma global dos filés de tilápia. Um total de oito compostos voláteis com $ROAV > 0,1$ foram selecionados nos tempos de armazenamento de 0 dias (T0) e 8 dias (T8) (Tabela 2).

No início do armazenamento (T0), o hexanal foi identificado como o principal composto volátil chave ($1 \leq ROAV \leq 100$), sendo caracterizado por notas frescas, consistentes com o odor típico de filés de tilápia recém-processados. Além disso, o 1-octen-3-ol, o 3-metilbutanal e o 2-metilbutanal foram identificados como modificadores da contribuição odorífera. Dentre esses, o 1-octen-3-ol contribuiu com notas vegetais e de cogumelo, características de tecidos musculares frescos.

Em contraste, após oito dias de armazenamento refrigerado (T8), observou-se uma alteração significativa no perfil volátil, com predominância de compostos sulfurados. O dimetil trissulfeto foi identificado como o principal composto volátil chave ($1 \leq ROAV \leq 100$), seguido pelo 3-metilbutanal e pelo dimetil dissulfeto. Estes compostos forneceram odor negativo intenso com alta concentração, como odor sulfuroso e fétido, indicando um estágio de deterioração. Adicionalmente, a contribuição expressiva da trimetilamina e do 3-metil-1-butanol reforça o desenvolvimento de odores desagradáveis associados ao final da vida de prateleira do produto (Wu et al., 2022). Por outro lado, compostos tradicionalmente associados ao frescor, como o hexanal e o 1-octen-3-ol, apresentaram valores de ROAV inferiores a 1 em T8, indicando contribuição sensorial reduzida nos estágios finais de armazenamento.

De modo geral, os resultados de ROAV demonstram que, ao final do armazenamento, o odor global dos filés de tilápia é dominado por compostos sulfurados e aldeídos ramificados, com destaque para o dimetil trissulfeto, reconhecido como um marcador de deterioração do pescado devido ao seu baixíssimo limiar de percepção e às intensas notas sulfúricas (Wu et al., 2022). A predominância desses compostos no *headspace* fornece uma explicação mecanística para a elevação do pH e para a resposta cromática observada no filme indicador à base de antocianinas, corroborando a eficácia do sistema proposto para o monitoramento do frescor do pescado (Florentino et al., 2025).

3.3.2 pH

O pH constitui um importante indicador das alterações bioquímicas que ocorrem no filé de tilápia durante o armazenamento refrigerado, refletindo diretamente mudanças na concentração iônica do tecido muscular. Conforme apresentado na Figura 5-A, o pH inicial do filé fresco foi de aproximadamente 5,95, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos demais dias de armazenamento. Esse valor de pH nos estágios iniciais está associado, principalmente, à degradação do glicogênio pós-morte, com consequente formação de ácidos orgânicos, como o ácido láctico, bem como ao consumo de fosfocreatina, processos característicos do metabolismo anaeróbio inicial do músculo, ocasionando diminuição do pH (Wang et al., 2022). Ao longo do armazenamento refrigerado, observou-se um aumento progressivo do pH em relação ao tempo inicial, sem diferença significativa entre os tratamentos T2 e T4, que apresentaram valores próximos de 6,78 e 6,79, respectivamente, indicando um produto ainda em condições aceitáveis de frescor. A partir do sexto dia de armazenamento, verificou-se um aumento mais acentuado do pH com valor de 7,64 e 7,60 no oitavo dia, o que indica a intensificação dos processos de deterioração. Esse comportamento é consistente com o padrão descrito na literatura para filés de tilápia armazenados sob

refrigeração, nos quais o pH tende a aumentar gradualmente com o avanço do tempo de estocagem, conforme relatado por Shahrier et al. (2023) e Liu et al. (2024).

O aumento do pH está associado à intensificação dos processos de deterioração autolítica, nos quais proteínas e compostos nitrogenados não protéicos são degradados sob a ação de enzimas endógenas. Esse processo resulta na formação de compostos voláteis básicos, como amônia, dimetilamina e trimetilamina, que promovem a elevação do pH do tecido muscular (Yang et al., 2022). A detecção de trimetilamina na análise de compostos voláteis reforça essa interpretação, evidenciando a correlação entre a degradação proteica, a formação de aminas voláteis e o aumento do pH durante o armazenamento refrigerado do filé de tilápia.

3.3.3 Contagem total de microrganismos viáveis (TVC)

A TVC é amplamente reconhecida como um importante indicador da qualidade microbiológica de alimentos perecíveis (Kilic et al., 2022). Nesse contexto, os filés de tilápia foram avaliados quanto aos níveis de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas ao longo do armazenamento refrigerado. Conforme mostrado na Figura 5-B, os valores de TVC durante o período de armazenamento permaneceram em torno de 10^5 UFC/g. Esse resultado foi comparável ao estudo de Ameri et al. (2024), que também observaram o valor de $2,1 \times 10^6$ UFC/g em filés de pangasius durante 8 dias de armazenamento refrigerado.

Ressalta-se que os valores de TVC permaneceram inferiores ao limite microbiológico de 10^7 UFC/g recomendado pela International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), indicando que os filés de tilápia ainda se encontravam dentro dos padrões de aceitabilidade microbiológica após 8 dias de armazenamento refrigerado (Zheng et al., 2024). Apesar da estabilidade microbiológica observada, esses resultados corroboram a elevada sensibilidade do filme indicador de frescor desenvolvido neste estudo, uma vez que mudanças perceptíveis no sistema indicador foram observadas mesmo quando a carga

microbiana não ultrapassou o limite microbiológico regulamentar, demonstrando o potencial para detecção precoce de alterações de frescor em níveis microbiológicos ainda considerados seguros para consumo.

3.3.4 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

O valor das TBARS é utilizado como um índice confiável para a avaliação da oxidação lipídica em produtos de pescado. Durante o processo oxidativo, os ácidos graxos poli-insaturados sofrem oxidação primária com formação de hidroperóxidos lipídicos, os quais são termodinamicamente instáveis e se decompõem em produtos secundários de menor peso molecular. Entre esses compostos, o malonaldeído (MDA) é um dos principais marcadores, sendo quantificado indiretamente pelo ensaio de TBARS (Aubourg, 1993).

No presente estudo, de acordo com a Figura 5-C, os valores de TBARS dos filés de peixe aumentaram gradualmente ao longo do armazenamento refrigerado, atingindo 0,36 mg MDA/kg após 8 dias. Em todos os períodos avaliados, os teores de MDA foram significativamente superiores aos observados no peixe fresco ($P < 0,05$), indicando que os hidroperóxidos lipídicos formados nas etapas iniciais da oxidação foram continuamente degradados em produtos secundários ao longo do armazenamento.

Apesar desse aumento progressivo, os valores de TBARS permaneceram abaixo do limite geralmente associado ao desenvolvimento de rancidez sensorial perceptível. De acordo com a literatura, sabores rançosos desagradáveis tendem a ser detectados quando os valores de TBARS excedem 1,0 mg MDA/kg (Farajzadeh et al., 2016). Resultados semelhantes foram reportados por Cao et al. (2019), que observaram um aumento gradual dos valores de TBARS em filés de carpa-capim durante o armazenamento refrigerado, alcançando aproximadamente 0,7 mg MDA/kg no oitavo dia. Esses achados corroboram que, embora a oxidação lipídica

progrida durante a estocagem refrigerada, os níveis de MDA observados no presente estudo ainda se encontram dentro de uma faixa considerada aceitável do ponto de vista sensorial.

3.3.5 Análise perfil de textura

As alterações nas propriedades de textura estão diretamente relacionadas à integridade estrutural e à estabilidade do tecido muscular do peixe, exercendo influência significativa sobre a aceitação sensorial pelo consumidor. Nesse contexto, os parâmetros instrumentais de dureza, elasticidade e mastigabilidade foram selecionados para avaliar as modificações nas propriedades texturais dos filés de tilápia ao longo do armazenamento refrigerado.

Conforme apresentado na Figura 5-D, os parâmetros de dureza e mastigabilidade dos filés de tilápia apresentaram redução significativa ao longo do armazenamento refrigerado ($p < 0,05$). Em relação à dureza, observou-se uma queda acentuada já no segundo dia de armazenamento, quando comparado ao tempo inicial (T0), com redução superior à metade do valor inicial, indicando rápida perda de firmeza nos estágios iniciais de armazenamento. Nos tratamentos subsequentes (T4, T6 e T8), a dureza continuou a diminuir, porém de forma mais gradual.

Para a mastigabilidade, verificou-se uma redução significativa em todos os tratamentos ao longo do armazenamento, evidenciando um enfraquecimento da resistência do músculo, embora sem grandes oscilações entre os tempos intermediários. Esse comportamento sugere que a mastigabilidade acompanha a perda de integridade do tecido muscular de forma contínua durante a estocagem refrigerada.

Em contraste, o parâmetro elasticidade não apresentou diferenças significativas entre o início e o final do período de armazenamento refrigerado ($p > 0,05$), indicando que a capacidade de recuperação elástica da estrutura muscular foi relativamente preservada. Esse resultado sugere que os mecanismos iniciais de degradação afetaram de maneira mais

pronunciada a firmeza e a resistência à mastigação do que a elasticidade do músculo, a qual tende a ser menos sensível às alterações estruturais nos estágios iniciais da deterioração (Yang et al., 2024).

De modo geral, a resistência do tecido conjuntivo e a integridade das proteínas miofibrilares são os principais fatores determinantes das propriedades texturais do músculo de peixes. A diminuição progressiva da dureza observada neste estudo indica o amolecimento do tecido muscular, característico do processo de deterioração durante a estocagem refrigerada. A degradação das propriedades de textura pode ser atribuída, principalmente, à proteólise das proteínas estruturais, associada à ação de enzimas endógenas, tais como colagenases, catepsinas, proteases dependentes de Ca^{2+} e proteases alcalinas. A atividade dessas enzimas promove a desorganização da matriz miofibrilar e do tecido conjuntivo, resultando em perda de firmeza e comprometimento da qualidade do produto (Wang et al., 2022).

Resultados semelhantes foram reportados por Cheng et al. (2023), que observaram redução significativa da dureza e da mastigabilidade em filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado, corroborando os achados do presente estudo e confirmando que a perda de firmeza é um dos principais indicadores da deterioração textural em pescado armazenado sob refrigeração.

3.3.6 Análise sensorial

A análise sensorial foi empregada como ferramenta integrativa para a avaliação da qualidade e da vida de prateleira dos filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado, uma vez que reflete de forma direta a percepção do consumidor frente às alterações físico-químicas, microbiológicas e estruturais do produto (Cheng et al., 2023). Os atributos cor, textura, aroma e aceitabilidade global foram avaliados com base em critérios descritivos

previamente estabelecidos, ancorados em uma escala estruturada de 0 a 10, permitindo a identificação de diferentes estágios de frescor e deterioração.

Conforme ilustrado na Figura 5-E, no tempo inicial (T0) todos os atributos sensoriais apresentaram pontuações elevadas, situadas na faixa 8–10, correspondendo aos critérios de cor uniforme e brilhante, músculo firme e íntegro, aroma fresco e característico e ótima aceitabilidade global com elevado potencial de consumo. Esses resultados confirmam o estado de frescor ideal dos filés no início do armazenamento e estão diretamente associados aos baixos valores iniciais de pH, TBARS, TVB-N e contagem microbiana, bem como à predominância de compostos voláteis típicos de pescado fresco, identificados pela análise de ROAV. A elevada dureza instrumental observada em T0 reforça a integridade do músculo do peixe fresco.

Nos estágios intermediários de armazenamento (T4 e T6), observou-se uma redução moderada das pontuações sensoriais, com os atributos passando gradualmente da faixa 8–10 para a faixa 4–7, especialmente para odor e aceitabilidade global. De acordo com os critérios adotados, essa faixa intermediária está associada a aroma enfraquecido ou com leve odor estranho, cor ainda aceitável, porém menos uniforme ou com brilho reduzido, e músculo levemente solto, com textura menos definida. A contração progressiva da área do gráfico radar indica que, embora os filés ainda sejam considerados aceitáveis do ponto de vista sensorial, o peixe não é tão fresco. Esse comportamento coincide com o aumento gradual do pH e com o surgimento de compostos voláteis de maior impacto odorífero, que passam a atuar como modificadores do aroma, enquanto a oxidação lipídica e a contagem microbiana se mantêm em níveis relativamente baixos.

A partir de T6, torna-se evidente uma mudança mais pronunciada no padrão sensorial, particularmente na aceitabilidade global, que passa a declinar de forma mais acentuada em relação aos atributos individuais. Esse resultado indica que, mesmo quando cor, textura ou

aroma ainda se enquadram na faixa 4–7 de forma isolada, o efeito combinado dessas alterações resulta em uma percepção global de produto aceitável com ressalvas. Esse comportamento reflete um efeito sinérgico, amplamente descrito na literatura, no qual pequenas alterações simultâneas em diferentes atributos levam a uma queda mais expressiva da aceitação global do produto (Pinto et al., 2024).

No estágio final de armazenamento, a deterioração sensorial tornou-se evidente em T8, quando as pontuações dos atributos sensoriais se concentraram predominantemente na faixa 0–3, em contraste com os demais tratamentos. Esse comportamento caracteriza um produto sensorialmente inaceitável, marcado por odor intenso e desagradável, cor opaca, amarelada ou manchada e músculo frouxo com textura pegajosa. A queda mais pronunciada foi observada para o atributo odor, seguida da aceitabilidade global, refletindo a dominância de compostos voláteis associados à deterioração, especialmente aminas e compostos sulfurados, identificados como compostos chave por meio da análise de ROAV. Esses compostos apresentam limiares de percepção baixos, o que explica a contribuição decisiva para a rejeição sensorial do pescado nos estágios finais de armazenamento.

De forma relevante, a perda progressiva da aceitabilidade sensorial apresentou concordância com a resposta cromática do filme inteligente à base de antocianinas, cuja mudança de cor acompanhou claramente os diferentes estágios de frescor do pescado. O filme indicou amostras frescas nos tempos iniciais (T0 e T2), condição intermediária ou de frescor reduzido em T4 e T6, e estado de deterioração em T8. Esse comportamento corroborou de maneira consistente os resultados da análise sensorial, bem como das demais análises de qualidade, evidenciando a sensibilidade do filme às alterações químicas ocorridas durante o armazenamento. Dessa forma, o filme inteligente do presente estudo permite a tradução objetiva de alterações químicas complexas em uma resposta visual simples, rápida e facilmente interpretável pelo consumidor.

3.4 Detecção do frescor do peixe através do App "Smartfish"

De forma inovadora, este estudo apresenta o desenvolvimento, pela primeira vez, de uma aplicação chamada de "Smartfish" baseado em smartphones capaz de substituir instrumentos convencionais, como colorímetros e métodos laboratoriais de controle de qualidade, para a avaliação do frescor de filés de tilápia a partir da resposta cromática de um filme inteligente biodegradável incorporado com antocianinas extraídas da flor *Catharanthus roseus*. O sistema utiliza a câmera do smartphone para a captura de imagens do filme indicador e a extração objetiva de parâmetros de cor, possibilitando a identificação confiável dos diferentes níveis de frescor do pescado.

As informações cromáticas obtidas dos filmes inteligentes de antocianina em distintos estágios de frescor da tilápia constituíram um banco de dados de referência (S.1), utilizado como entrada para o algoritmo de classificação. O conjunto total de dados foi dividido aleatoriamente em 80% para treinamento e 20% para teste.

Para lidar com possíveis desequilíbrios entre as categorias, foi aplicado o parâmetro de pesos de classe balanceados. O classificador foi treinado para prever três categorias de frescor estabelecidas com base nos níveis de TVB-N: fresco (< 15 mg N/100 g), menos fresco (15–25 mg N/100 g) e deteriorado (> 25 mg N/100 g).

As análises convencionais de qualidade do pescado, incluindo pH, TBARS, propriedades texturais, contagem total de microrganismos e avaliação sensorial, confirmaram a forte correlação entre a cor do rótulo inteligente e os níveis de TVB-N, reforçando a confiabilidade do sistema proposto para o monitoramento do frescor. Com o objetivo de automatizar e simplificar o processo de reconhecimento, o algoritmo de aprendizado de máquina foi integrado a um aplicativo móvel, que incorpora funções de captura de imagem, processamento local e exibição dos resultados em tempo real. Nesse sistema, o usuário precisa

apenas capturar a imagem do rótulo colorimétrico presente na embalagem, sendo o nível de frescor estimado e exibido instantaneamente na tela do dispositivo.

O aplicativo oferece uma interface intuitiva e orientada ao usuário, empregando ícones visuais para comunicar o estado do alimento (Figura 6). Quando o produto é classificado como próprio para consumo, o aplicativo exibe o rótulo “Fresco”, acompanhado de um ícone visual positivo. Para amostras enquadradas na condição limítrofe de frescor (“não tão fresco”), é apresentado um ícone de atenção, sinalizando ao usuário um estado intermediário de qualidade e a necessidade de consumo cauteloso. Por outro lado, quando o alimento é identificado como deteriorado, o sistema apresenta o aviso “Deteriorado”, associado a um ícone negativo, facilitando a interpretação dos resultados pelo consumidor final.

O desempenho do modelo, validado pelo conjunto de teste independente, revelou uma acurácia de 93%, acompanhada de uma sensibilidade (recall) de 87% e um F1-score de 88%. Esses índices demonstram que a correlação entre os dados colorimétricos instrumentais (L^* , a^* , b^*) e o estado de conservação do pescado é robusta e altamente preditiva. Dessa forma, a metodologia proposta consolida-se como uma ferramenta de avaliação rápida, confiável e não destrutiva, com elevado potencial para a integração tecnológica em sistemas inteligentes de monitoramento de qualidade na cadeia do pescado.

Embora estudos anteriores tenham explorado abordagens de análise colorimétrica para avaliação do frescor de alimentos (Chen et al., 2023; Li et al., 2022; Fang et al., 2022; Kilic et al., 2022), a maioria dessas estratégias não emprega bancos de dados personalizados integrados a análises de qualidade e modelos de aprendizado de máquina, além de frequentemente depender de processamento em nuvem ou servidores remotos, o que resulta em tempos de resposta da ordem de minutos. Em contraste, o aplicativo desenvolvido neste estudo realiza o processamento de forma local no smartphone, sem a necessidade de conexão à internet. Ao processar as coordenadas cromáticas CIELAB diretamente pelo modelo interno,

a inferência é virtualmente instantânea, com um tempo de resposta aproximado de 0,01 s. Essa arquitetura de processamento em tempo real não apenas reduz custos operacionais, mas amplia significativamente a aplicabilidade prática do sistema em reais de consumo, como a logística de distribuição e a comercialização de pescado.

O programa Smartfish apresentou desempenho consistente na avaliação do frescor de filés de tilápia e demonstrou elevada estabilidade, mesmo quando testado em quatro modelos distintos de smartphones, indicando que variações entre dispositivos não influenciaram os resultados obtidos. Em conjunto, os resultados demonstram que o sistema proposto constitui uma ferramenta inovadora, precisa e altamente aplicável para o monitoramento do frescor de filés de tilápia, alinhando-se às demandas contemporâneas por soluções inteligentes, acessíveis e centradas no consumidor no contexto da segurança alimentar e das embalagens inteligentes.

4 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que o filme inteligente biodegradável incorporado com antocianinas de *Catharanthus roseus* apresentou sensibilidade às alterações químicas do *headspace*, promovendo mudanças cromáticas claras, graduais e reprodutíveis correspondentes a três níveis distintos de frescor do pescado. Essas variações cromáticas refletiram diretamente as transformações ocorridas nos filés de tilápia ao longo do armazenamento refrigerado. No estágio final (T8), os filés apresentaram valores elevados de nitrogênio de bases voláteis totais (TVB-N), aumento significativo do pH, redução da dureza e mastigabilidade e rejeição sensorial, caracterizando um produto inadequado para consumo.

A análise do perfil de compostos voláteis revelou que, nos estágios iniciais, o aroma foi predominantemente influenciado por compostos associados ao frescor. Com o avanço do armazenamento, observou-se a substituição desses voláteis por aldeídos ramificados,

trimetilamina e, sobretudo, compostos sulfurados de baixíssimo limiar odorífero, os quais exerceram papel determinante na rejeição sensorial do produto. Esses compostos foram fundamentais para a classificação objetiva do pescado em três categorias de frescor (fresco, menos fresco e deteriorado).

A integração entre a resposta cromática do filme inteligente, os dados instrumentais de qualidade e a análise aprofundada dos compostos voláteis possibilitou o desenvolvimento de um sistema inteligente baseado em aprendizado de máquina, capaz de traduzir alterações químicas complexas em uma classificação rápida, objetiva e acessível do frescor do pescado. Essa tecnologia destaca-se como uma ferramenta promissora para embalagens smart orientadas ao consumidor, contribuindo para a segurança alimentar, redução do desperdício e modernização dos sistemas de controle de qualidade na cadeia produtiva do pescado.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e pelas bolsas concedidas ao primeiro autor (G. I. B. Florentino).

Declaração de interesses

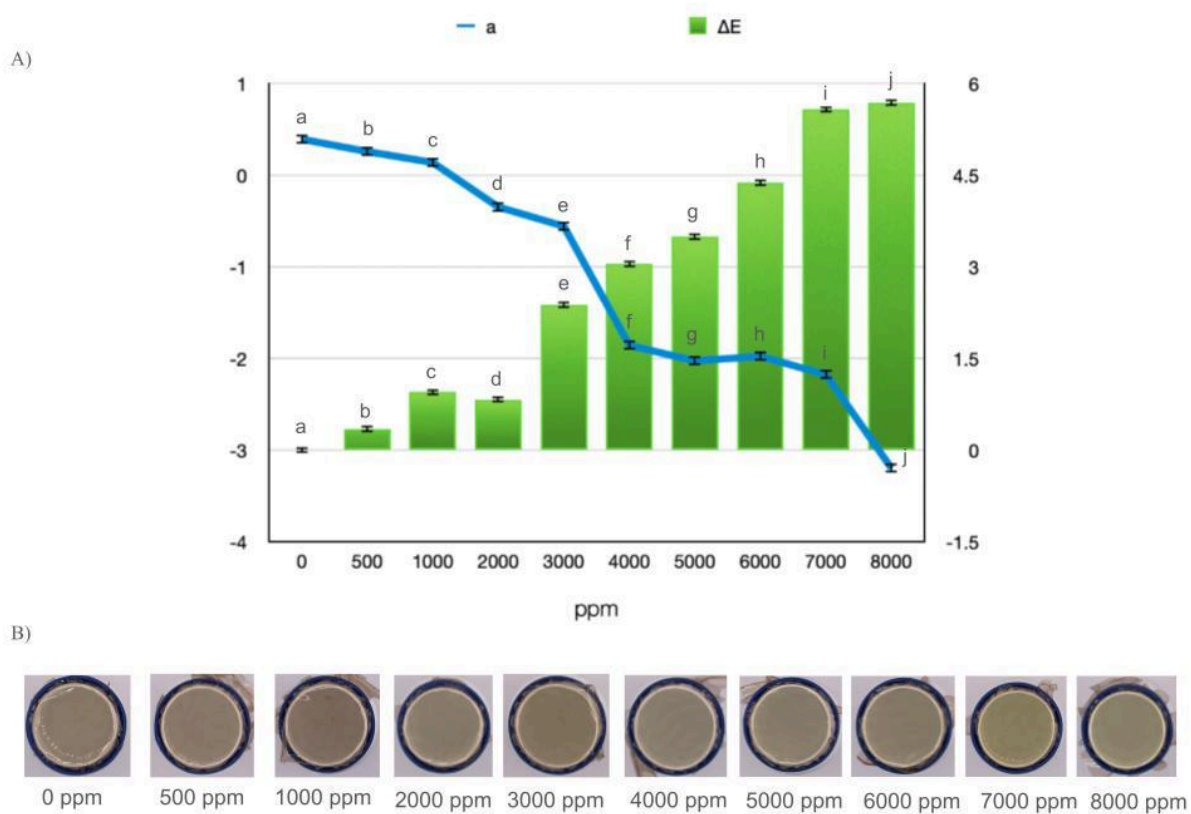
Os autores declaram não haver conflitos de interesse financeiros ou pessoais que possam ter influenciado o trabalho apresentado neste artigo.

Disponibilidade de dados

Os dados e materiais estão disponíveis mediante contato com os autores.

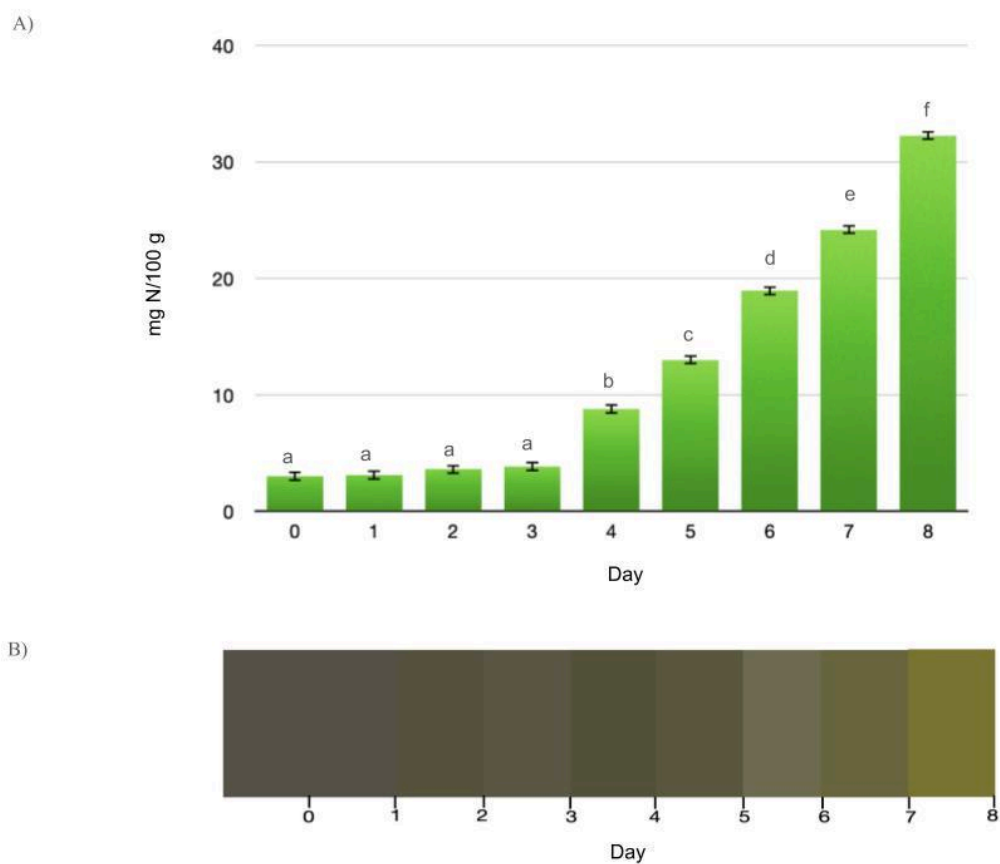
FIGURAS

Figura 1 – (A) Relação entre os valores de a^* e a diferença total de cor (ΔE) dos filmes inteligentes. (B) Alterações de cor do filme inteligente em resposta ao aumento da concentração de amônia.



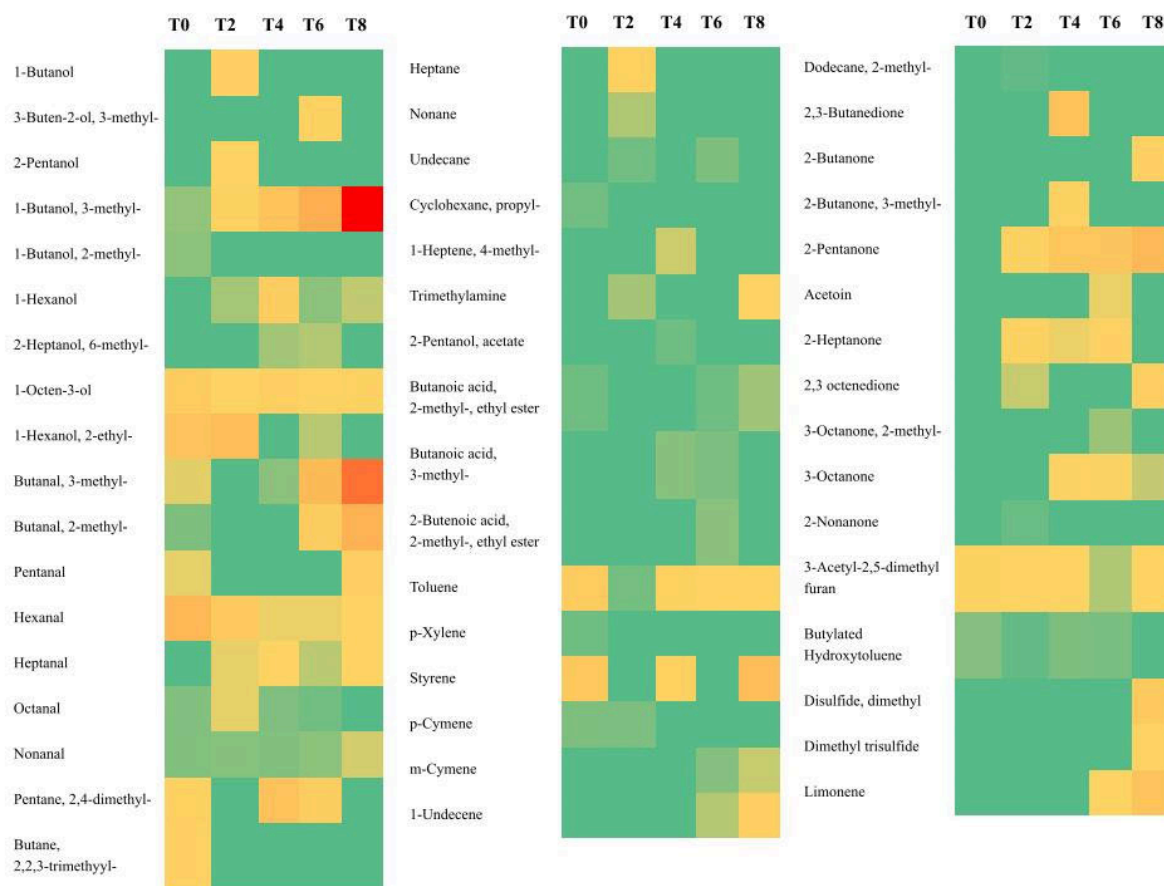
Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

Figura 2 – (A) Alterações no nitrogênio básico volátil total (TVB-N) de filés de tilápia armazenados a 4 °C por 8 dias. (B) Alterações de cor do filme inteligente durante o armazenamento refrigerado de filés de tilápia.



T0–T8 representam os tempos de armazenamento do dia 0 ao dia 8, respectivamente. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

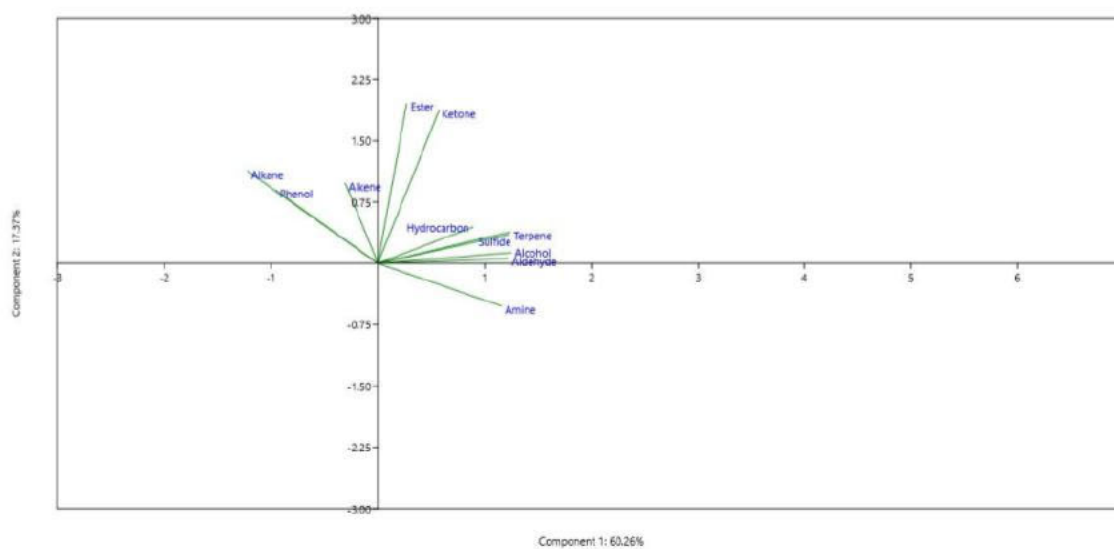
Figura 3 – Mapa de calor dos compostos voláteis identificados em filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado.



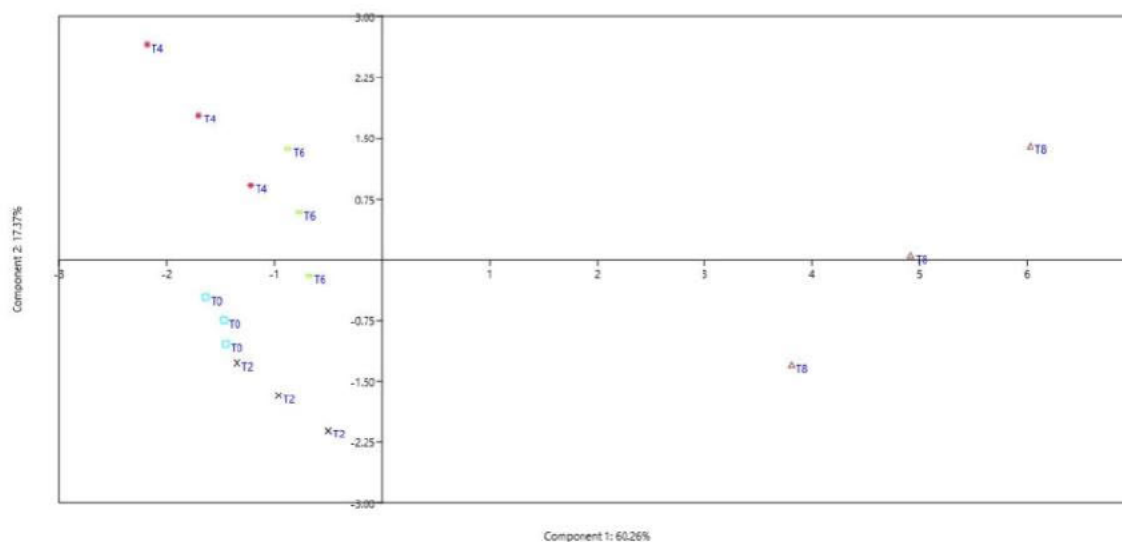
T0–T8 representam os tempos de armazenamento do dia 0 ao dia 8, respectivamente. A intensidade da cor aumenta do verde (baixa concentração) para o vermelho (alta concentração).

Figura 4 – Análise de componentes principais (PCA) de compostos voláteis identificados em filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado. (A) Gráfico de escores. (B) Gráfico de cargas.

A)



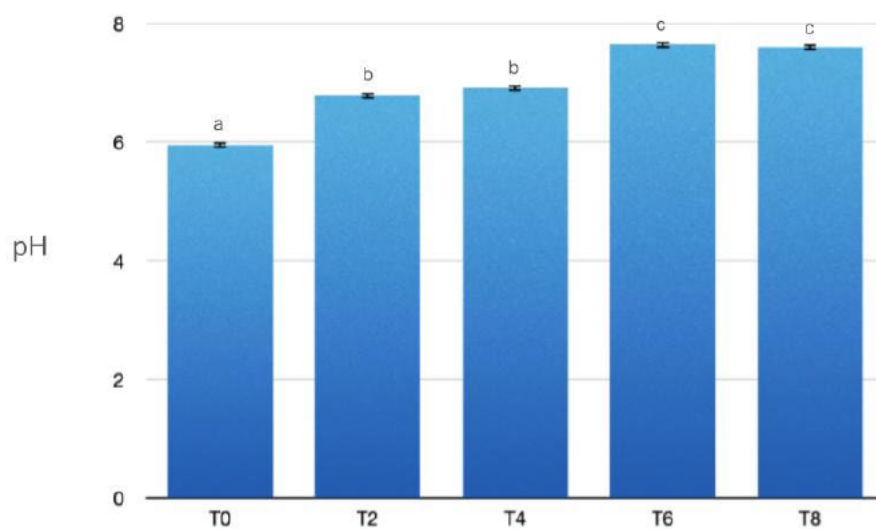
B)



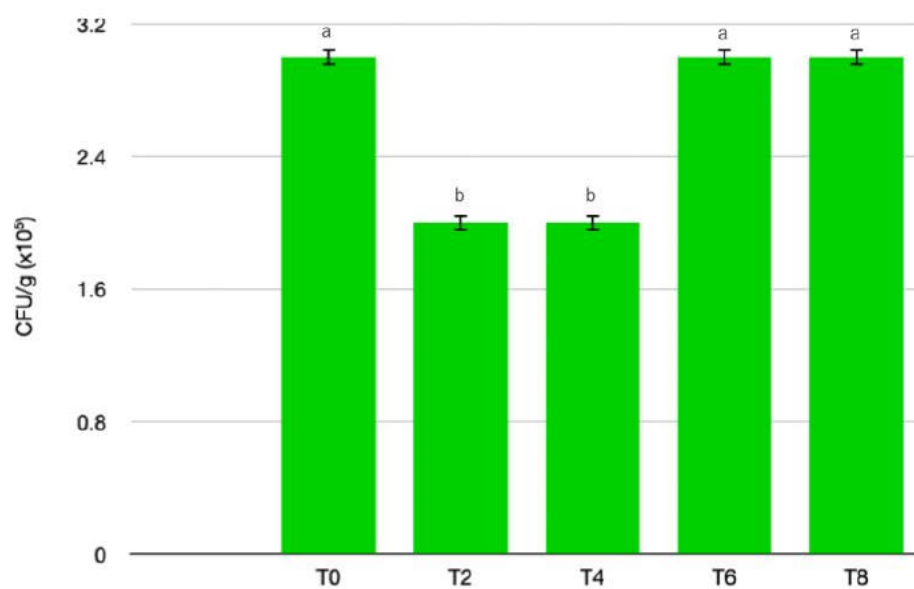
T0, T2, T4, T6 e T8 correspondem a 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento, respectivamente.

Figura 5 – Alterações nos parâmetros de qualidade dos filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado: (A) pH; (B) contagem total de bactérias viáveis (TVC); (C) substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); (D) análise do perfil de textura (dureza, elasticidade e mastigabilidade); (E) avaliação sensorial.

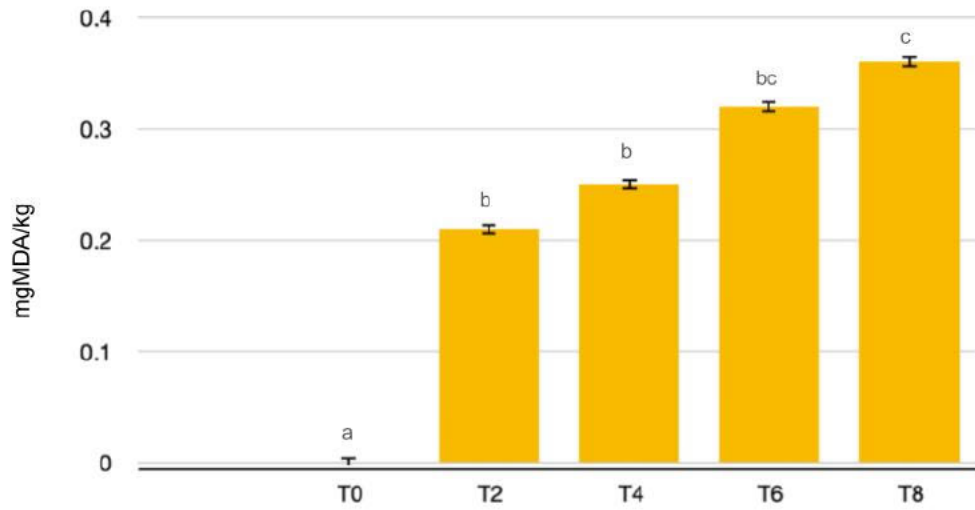
A)



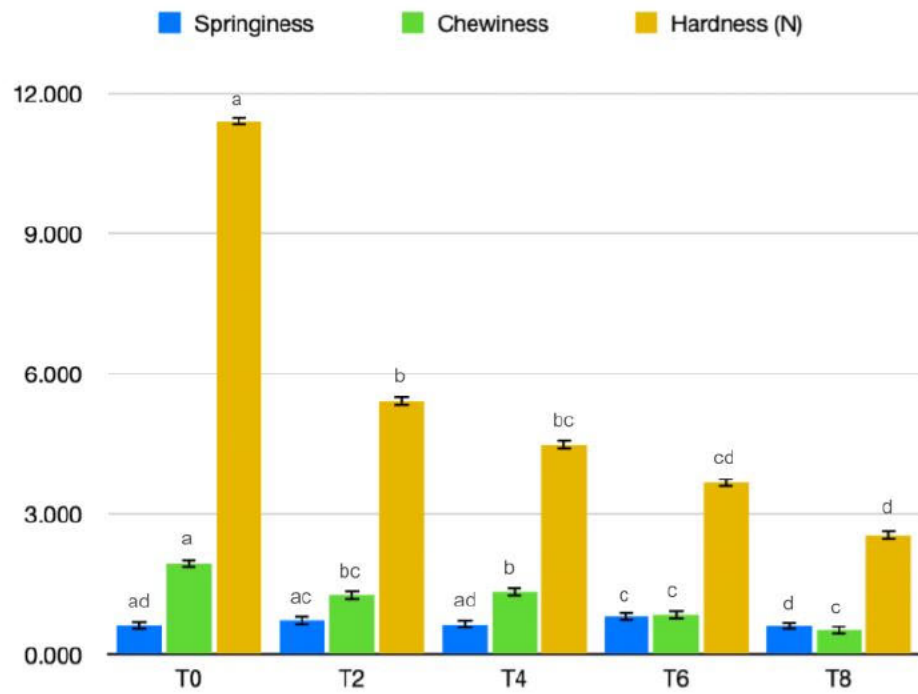
B)



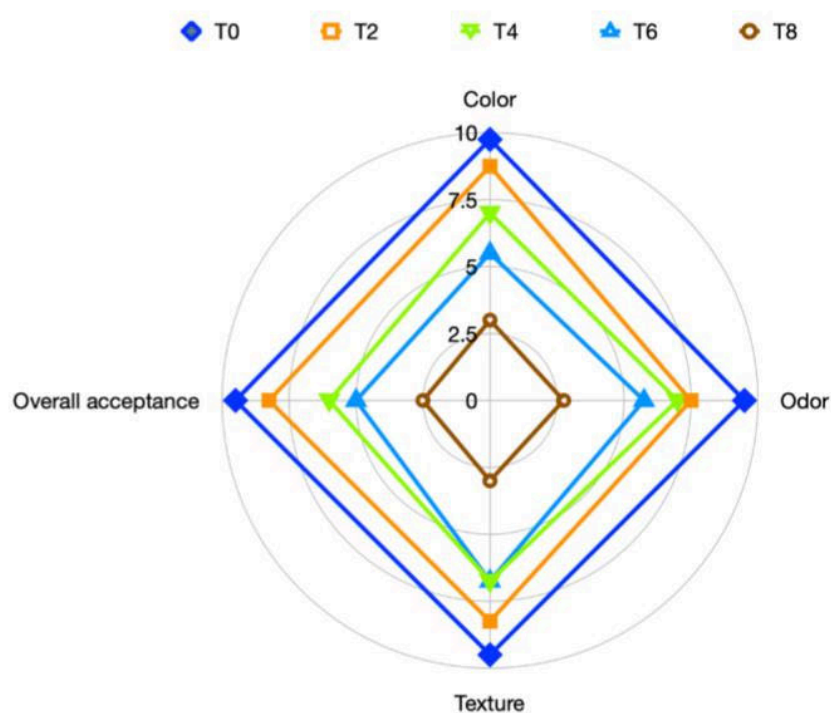
C)



D)

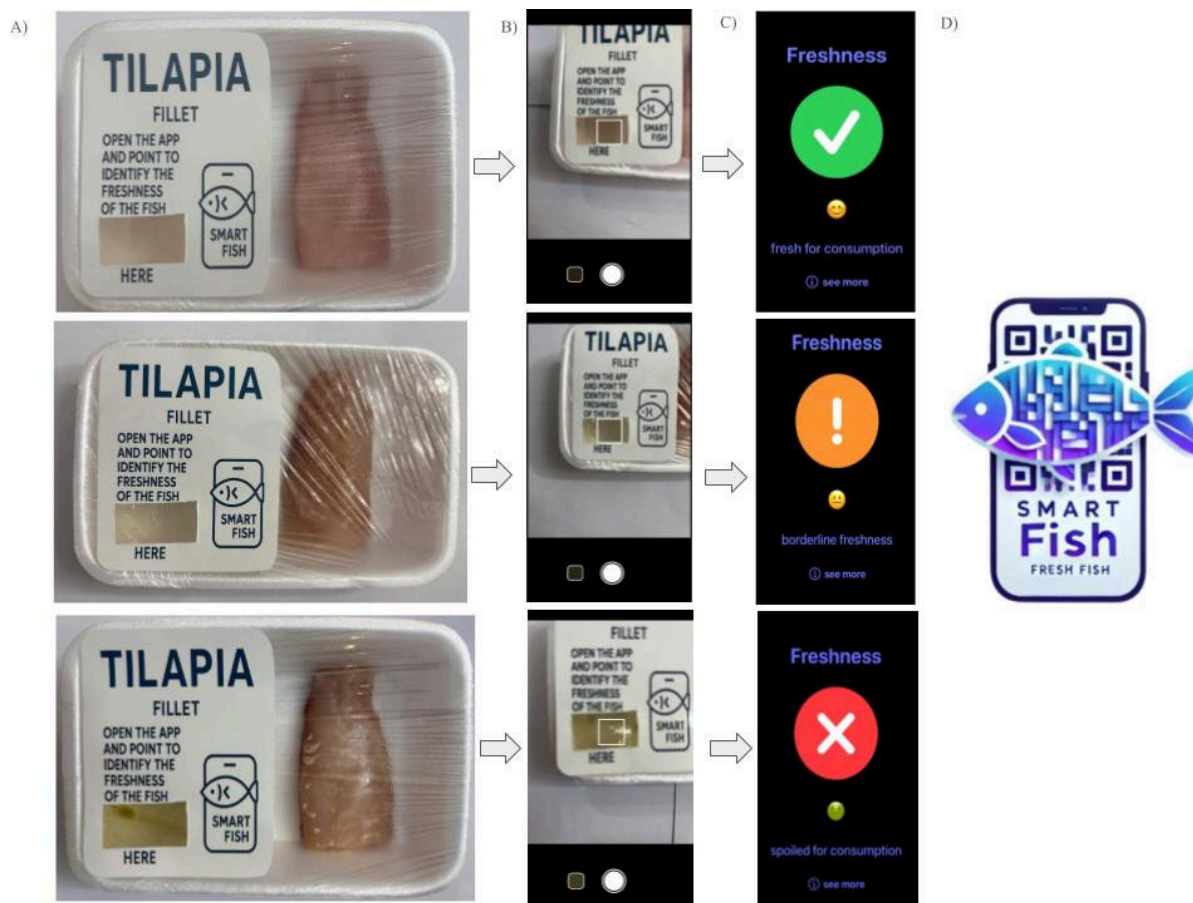


E)

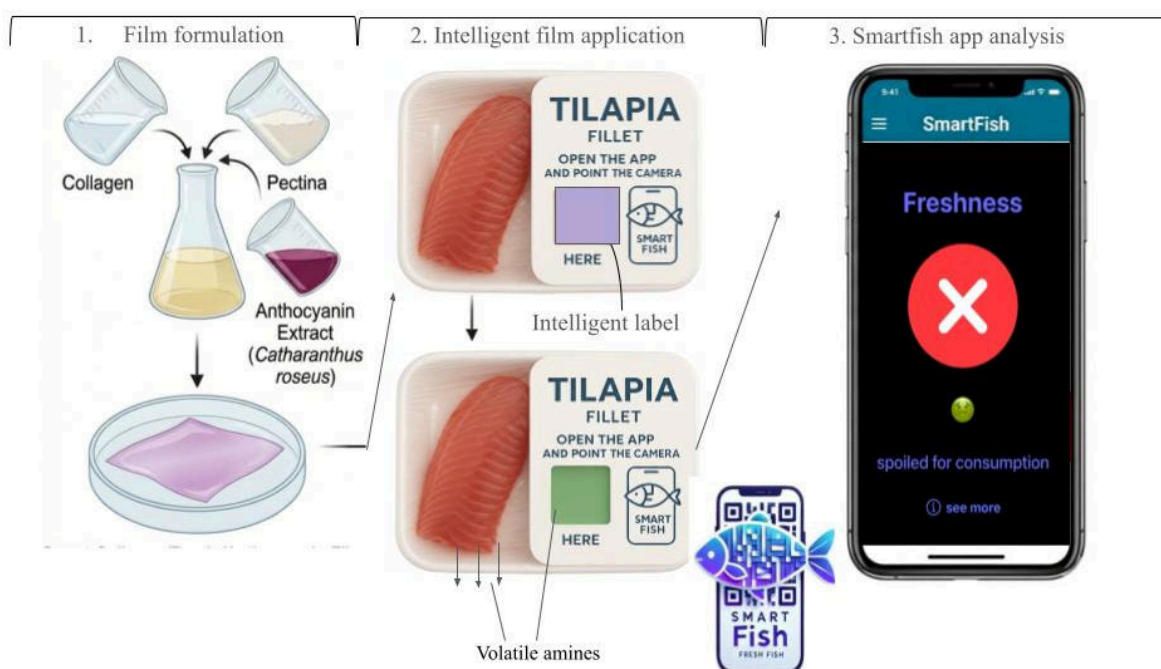


T0, T2, T4, T6 e T8 correspondem a 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento, respectivamente. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

Figura 6 – Aplicação do sistema Smartfish na embalagem de filés de tilápia. (A) Filés de tilápia em diferentes níveis de frescor; (B) aquisição de imagem do rótulo do espaço livre usando o aplicativo Smartfish; (C) classificação de frescor exibida pelo aplicativo; (D) interface gráfica do usuário do aplicativo Smartfish.



Abstract graphic



TABELAS

Tabela 1 – Perfil de compostos voláteis em filé de tilápia durante o armazenamento a 5°C.

Compounds	T0 (µg/g)	T2 (µg/g)	T4 (µg/g)	T6 (µg/g)	T8 (µg/g)	IRL lit	IRL cal	Characteristic odor
<i>Alcohol</i>								
1-Butanol		9.68 ± 2.67				659	<800	fusel, oily, sweet, balsamic, whiskey
3-Buten-2-ol, 3-methyl-				7.97 ± 1.61		737	<800	herbal, earthy, oily
2-Pentanol		7.35 ± 1.91				703	<800	green fusel oily fermented
1-Butanol, 3-methyl-	1.89 ± 0.83 ^a	8.65 ± 0.95 ^b	26.23 ± 5.00 ^c	53.94 ± 7.88 ^d	274.92 ± 11.36 ^e	736	<800	fusel, alcoholic, whiskey, fruity, banana
1-Butanol, 2-methyl-	1.68 ± 0.13					739	<800	ethereal, fusel, alcoholic, fatty, greasy, winey, whiskey, leathery, cocoa
1-Hexanol		2.44 ± 0.33 ^a	14.95 ± 2.59 ^b	1.69 ± 0.68 ^a	3.20 ± 4.05 ^a	868	870	ethereal, fusel, oily, fruity, alcoholic, sweet, green
2-Heptanol, 6-methyl-			2.31 ± 0.23 ^a	2.79 ± 0.40 ^a		956	952	
1-Octen-3-ol	16.32 ± 2.14 ^a	6.53 ± 0.48 ^{ab}	13.59 ± 3.98 ^b	6.55 ± 2.07 ^b	8.26 ± 3.10 ^b	980	976	mushroom, earthy, green, oily, fungal, raw, chicken
1-Hexanol, 2-ethyl-	25.38 ± 4.57 ^a	34.59 ± 5.51 ^a		3.00 ± 1.78 ^b		1030	1030	citrus, fresh, floral, oily, sweet
Total	45.27 ± 5.12	69.24 ± 6.51	57.08 ± 6.90	75.94 ± 8.53	286.38 ± 12.45			
<i>Aldehyde</i>								
Butanal, 3-methyl-	4.22 ± 0.81 ^a		1.63 ± 1.66 ^a	37.59 ± 10.45 ^b	129.61 ± 16.99 ^c	652	<800	sweet, fruity, pungent, brown, nutty, almond, cherry
Butanal, 2-methyl-	1.23 ± 0.09 ^a			15.76 ± 2.54 ^b	48.18 ± 12.16 ^c	662	<800	musty, cocoa, phenolic, coffee, nutty, malty, fermented, fatty, alcoholic
Pentanal	4.34 ± 1.38 ^a				13.73 ± 5.90 ^b	699	<800	fermented, bready, fruity, nutty, berry
Hexanal	42.19 ± 7.92 ^a	18.52 ± 3.69 ^b	4.47 ± 0.66 ^c	4.54 ± 1.90 ^c	6.63 ± 2.26 ^c	800	800	fresh, green, fatty, aldehydic, grassy, leafy, fruity, sweaty
Heptanal		4.37 ± 0.24 ^{ab}	6.10 ± 0.52 ^b	3.05 ± 1.60 ^a	6.52 ± 2.11 ^b	901	902	fresh, aldehydic, fatty, green, herbs, cognac, ozone

Octanal	1.38 ± 0.13^a	4.34 ± 0.18^b	1.28 ± 0.82^a	0.89 ± 0.24^a		1003	1004	waxy, aldehyde, citrus, green orange, peel, herbs, fresh, greasy
Nonanal	1.36 ± 0.33^a	1.50 ± 0.12^a	1.31 ± 0.66^a	1.67 ± 1.27^a	3.78 ± 1.43^a	1104	1106	waxy, aldehyde, rose, fresh, lily, orange, peel, greasy, peeling
Total <i>Alkane</i>	54.72 ± 8.09	28.73 ± 3.70	14.79 ± 2.14	63.50 ± 11.11	208.45 ± 21.98			
Pentane, 2,4-dimethyl-	11.8 ± 3.07^a		27.89 ± 11.83^b	14.98 ± 4.97^{ab}		630	<800	
Butane, 2,2,3-trimethyl-	9.46 ± 2.79					640	<800	pungent cocoa, musty, green, malty, bready
Heptane		10.78 ± 2.67				700	<800	sweet ethereal
Nonane		2.69 ± 0.12				900	900	
Undecane		0.85 ± 0.59^a		1.23 ± 1.61^a		1100	1103	
Cyclohexane, propyl-	0.88 ± 0.24					931	931	
Total <i>Alkene</i>	22.14 ± 4.15	14.32 ± 2.74	27.89 ± 11.83	16.21 ± 5.22				
1-Heptene, 4-methyl-			3.57 ± 2.64			748	<800	
Total <i>Amine</i>			3.57 ± 2.64					
Trimethylamine		2.36 ± 3.07^a			7.46 ± 0.17^b	502	<800	fishy, oily, rancid, sweaty, fruity
Total <i>Ester</i>		2.36 ± 3.07			7.46 ± 0.17			
2-Pentanol, acetate			0.80 ± 0.42			849	850	herbal, weedy, musty, green, vegetable, nut, skin, beany, ketonic, animal
Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0.80 ± 0.06^a			0.80 ± 0.06^a	2.26 ± 2.14^b	849	852	fresh, fruity, apple, peach
Butanoic acid, 3-methyl-			1.52 ± 0.89^a	1.18 ± 1.40^a		863	860	fruity, sweet, apple, pineapple, tutti frutti
2-Butenoic acid, 2-methyl-, ethyl ester				1.65 ± 0.31		937	942	

Total <i>Hydrocarbon</i>	0.80 ± 0.06		2.32 ± 0.98	3.63 ± 1.44	2.26 ± 2.14			
Toluene	16.37 ± 0.17 ^a	0.95 ± 2.44 ^b	10.72 ± 1.99 ^c	6.46 ± 1.66 ^d	6.03 ± 1.38 ^d	763	<800	
p-Xylene	0.79 ± 1.66					865	863	
Styrene	20.05 ± 5.75 ^a		10.86 ± 1.89 ^b		33.92 ± 4.56 ^c	893	893	sweet, balsamic, floral, plastic
p-Cymene	1.24 ± 0.44 ^a	1.20 ± 0.11 ^a				1025	1028	fresh, citrus, terpene, woody, peppery
m-Cymene				1.43 ± 0.33 ^a	3.41 ± 2.83 ^b	1023	1028	
1-Undecene				2.85 ± 0.82 ^a	13.05 ± 3.23 ^b	1091	1092	
Dodecane, 2-methyl-		0.39 ± 0.07				1264	1265	
Total <i>Ketone</i>	38.45 ± 6.00	2.54 ± 2.44	21.58 ± 2.74	10.74 ± 1.88	56.41 ± 6.41			
2,3-Butanedione			27.89 ± 7.44			595	<800	buttery sweet creamy pungent caramellic
2-Butanone					9.20 ± 2.47	598	<800	acetone, ethereal, fruity, camphorated
2-Butanone, 3-methyl-			8.31 ± 1.00			657	<800	acetone, ethereal, fruity, camphorated
2-Pentanone		8.51 ± 1.85 ^a	23.58 ± 5.82 ^b	24.03 ± 1.11 ^b	39.57 ± 16.70 ^c	685	<800	sweet, fruity, ethereal, winey, banana, woody
Acetoin				4.44 ± 0.88		713	<800	sweet, buttery, creamy, dairy, milky, fatty
2-Heptanone		8.54 ± 0.97 ^a	4.53 ± 0.62 ^b	9.10 ± 1.60 ^a		891	892	fruity, spicy, sweet, herbal, coconut, woody
2,3 octenedione		3.41 ± 0.38 ^a			13.18 ± 5.67 ^b	984	984	
3-Octanone, 2-methyl-				2.11 ± 0.90		985	985	
3-Octanone			7.59 ± 0.91 ^a	4.92 ± 0.54 ^b	3.30 ± 0.96 ^b	986	988	fresh, herbs, sweet, lavender, mushroom
2-Nonanone		0.60 ± 0.01				1092	1094	fresh, sweet, green, weedy, earthy, herbal

3-Acetyl-2,5-dimethyl furan	8.66 ± 0.10 ^a	6.87 ± 1.75 ^{ac}	5.89 ± 1.62 ^c	2.73 ± 0.22 ^d	5.51 ± 1.64 ^c	1099	1117	sweet, musty, nutty, earthy, cocoa, corn, leathery
Total <i>Phenol</i>	8.66 ± 0.10	27.93 ± 2.75	77.79 ± 9.70	47.33 ± 2.39	70.76 ± 17.91			
Butylated Hydroxytoluene	1.48 ± 0.18 ^a	0.46 ± 0.2 ^{7b}	1.23 ± 0.79 ^a	1.14 ± 0.11 ^a		1513	1521	camphorated phenolic
Total <i>Sulfides</i>	1.48 ± 0.18	0.46 ± 0.27	1.23 ± 0.79	1.14 ± 0.11				
Disulfide, dimethyl					18.05 ± 9.06	746	<800	sulfurous, vegetable, cabbage, onion
Dimethyl trisulfide					5.26 ± 3.81	970	974	sulfurous, onion, cooked, onion, savory, meaty
Total <i>Terpenes</i>					23.31 ± 9.83			
Limonene				6.07 ± 1.49 ^a	25.69 ± 8.10 ^b	1030	1032	citrus, herbs, terpenic, camphorated
Total				6.07 ± 1.49	25.69 ± 8.10			

T0 (dia 0 armazenamento), T2 (dia 2 armazenamento), T4 (dia 4 armazenamento), T6 (dia 6 armazenamento), T8 (dia 8 armazenamento). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

Tabela 2 – ROAV dos principais compostos voláteis no filé de tilápia no dia 0 (T0) e no dia 8 (T8).

Compound	OT (µg/kg)	OAV T0 (µg/g)	ROAV T0 (%)	OAV T8 (µg/g)	ROAV T8 (%)	Sensory Descriptor
Hexanal	4.5	42.19	100.0	6.63	0.3	Green, fresh
1-Octen-3-ol	1.0	16.32	17.4	8.26	1.6	Mushroom, vegetable
3-Methylbutanal	1.0	4.22	4.5	129.61	24.6	Fermented, malt
2-Methylbutanal	1.0	1.23	1.3	48.18	9.1	Malt, nuts
Trimethylamine	0.3	ND	-	7.46	4.7	Spoiled fish
Dimethyl disulfide	0.2	ND	-	18.05	17.2	Sulfur, cabbage
Dimethyl trisulfide	0.01	ND	-	5.26	100.0	Sulfur, onion
3-Methyl-1-butanol	30	1.89	0.2	274.92	6.9	Alcoholic, fusel

ROAV (Valor relativo da atividade odorífera). OT (Limiar de odor). OAV (Valor da atividade odorífera). T0 (dia 0 armazenamento), T8 (dia 8 armazenamento). ND = não detectado ou OAV < 1

REFERÊNCIAS

- Amaregouda, Y., Kamanna, K., & Kamath, A. (2023). Multifunctional bionanocomposite films based on chitosan/polyvinyl alcohol with ZnO NPs and Carissa carandas extract anthocyanin for smart packaging materials. *ACS Food Science & Technology*, 3(9), 1411–1422. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.3c00065>
- Ameri, M., Ajji, A., & Kessler, S. (2024). Enhancing seafood freshness monitoring: Integrating color change of a food-safe on-package colorimetric sensor with mathematical models, microbiological, and chemical analyses. *Current Research in Food Science*, 9, 100934. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100934>
- American Public Health Association (APHA). (2015). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (5th ed.). Washington, DC: APHA.
- AOAC. (2012). *Official Methods of Analysis: Hydroxyproline in meat and meat products (Method 977.20)* (17th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC International.
- Aubourg, S.P. (1993). Interaction of malondialdehyde with biological molecules—New trends about reactivity and significance. *International Journal of Food Science & Technology*, 28, 323–325. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb01278.x>
- Bahram, S., Rezaie, M., Soltani, M., Kamali, A., Abdollahi, M., Ahmadabad, M.K., & Nemati, M. (2016). Effect of whey protein concentrate coating cinamon oil on quality and shelf life of refrigerated beluga sturegeon (*Huso huso*). *Journal of Food Quality*, 39(6), 743–749. <https://doi.org/10.1111/jfq.12227>
- Bhowmik, S., Agyei, D., & Ali, A. (2025). Antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic properties of chitosan–PVA films functionalised with chitooligosaccharide and gallic acid for shelf-life extension of perishable foods. *Sustainable Food Technology*. <https://doi.org/10.1039/D5FB00775E>
- Bian, C., Cheng, H., Yu, H., Mei, J., & Xie, J. (2022). Effect of multi-frequency ultrasound assisted thawing on the quality of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 82, 105907. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105907>
- Brasil. (2008). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)*. Decreto nº 6.013, de 29 de março de 2008. Brasília.
- Cao, Q., Du, H., Huang, Y., Hu, Y., You, J., Liu, R., & Manyande, A. (2019). The inhibitory effect of chlorogenic acid on lipid oxidation of grass carp during chilled storage. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 2050–2061. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02365-0>
- Chaithra, K.P., Benjamin, S.T., & Vinod, T.P. (2024). pH-indicator based on delignified jute fiber and red cabbage anthocyanins for monitoring fish spoilage using a smartphone

application. *Microchemical Journal*, 204, 111068.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.111068>

Chen, J., Zheng, Y., Kong, Q., Sun, Z., & Liu, X. (2023). A smartphone-based mini program to indicate seafood freshness using curcumin films. *Food Control*, 145, 109520.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109520>

Cheng, H., Mei, J., & Xie, J. (2023). Analysis of volatile compounds and quality properties of tilapia fillets during cold storage. *LWT - Food Science and Technology*, 184, 115051.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115051>

China National Health and Family Planning Commission (NHFPC). (2015). GB 2733-2015: *National Food Safety Standard—Fresh and Frozen Animal Aquatic Products*. Beijing: Standards Press of China.

CIE. (2007). *Colorimetry: Understanding the system CIE*. Colorimetria, 25–78.

Connell, J.J. (1995). *Control of Fish Quality* (4th ed.). Fishing News Books, Oxford.

Contreras-Guzmán, E.S. (1988). Métodos químicos para análise de pescado. In: Kai, M., & Ruivo, U.E. (Eds.), *Controle de qualidade de pescado*. Santos: Loyola.

Costa, G.F., Grisi, C.V.B., Meireles, B.R.L.A., Sousa, S., & Cordeiro, A.M.T.M. (2022). Collagen films, cassava starch, and their blends: Physical–chemical, thermal and microstructure properties. *Packaging Technology and Science*, 35(3), 229–240.
<https://doi.org/10.1002/pts.2621>

Doğan, V., Evliya, M., Kahyaoglu, L.N., & Kılıç, V. (2024). On-site colorimetric food spoilage monitoring with smartphone-embedded machine learning. *Talanta*, 266, 125021.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125021>

Ezati, P., & Rhim, J.W. (2020). pH-responsive chitosan-based film incorporated with alizarin for intelligent packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 102, 105629.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105629>

Fang, S., Guan, Z., Su, C., Zhang, W., Zhu, J., Zheng, Y., & Liu, X. (2022). Accurate fish freshness prediction using anthocyanins. *Food Control*, 138, 109018.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109018>

Farajzadeh, F., Motamedzadegan, A., Shahidi, S.A., & Hamzeh, S. (2016). Effect of chitosan–gelatin coating on shrimp quality. *Food Control*, 67, 163–170.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.02.040>

Florentino, G.I.B., Grisi, C.V.B., Lima, M.S., Silva, R.D.C.A., Ferreira, V.C.S., Cordeiro, Â.M.T.M., & Silva, F.A.P. (2025). Intelligent film based on collagen and anthocyanins from *Catharanthus roseus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147124.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.147124>

Food and Agriculture Organization (FAO). (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022: Towards Blue Transformation*. Rome: FAO.
<https://doi.org/10.4060/cc0461en>

Food and Agriculture Organization (FAO). (2024). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2024*. Rome: FAO.

Howgate, P. (2004). Review of total volatile bases test. *Fisheries Research*, 68, 99–109.
<https://doi.org/10.1016/j.fishres.2004.02.001>

Howgate, P. (2010). Total volatile bases and trimethylamine as freshness indices. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 9, 1–10.

Huss, H.H. (1995). *Quality and Quality Changes in Fresh Fish*. Rome: FAO.

Jeyaraj, E.J., Lim, Y.Y., & Choo, W.S. (2022). Antioxidant, cytotoxic, and antibacterial activities of *Clitoria ternatea* flower extracts and anthocyanin-rich fraction. *Scientific Reports*, 12, 14890. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19146-z>

Khanjanzadeh, H., Park, B.D., & Pirayesh, H. (2022). Intelligent pH- and ammonia-sensitive films based on nanocellulose and chitosan for food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 296, 119910. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119910>

Kilic, B., Dogan, V., Kilic, V., & Kahyaoglu, L.N. (2022). Colorimetric spoilage monitoring with fish gelatin films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 209, 1562–1572.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.04.119>

Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P.D. (2018). Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(6), pdb.prot095505.
<https://doi.org/10.1101/pdb.prot095505>

Li, S., Jiang, Y., Zhou, Y., Li, R., Hossen, M.A., & Liu, Y. (2022). Anthocyanin/chitosan films for freshness evaluation. *Food Chemistry*, 370, 131082.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131082>

Liu, C., Wang, J., Su, W., Chen, G., & Zhang, J. (2024). Effects of plant extracts on tilapia fillets. *Food Quality and Safety*, 8, fyae001. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyae001>

Liu, J., Han, G., Wang, Y., et al. (2024). Effect of rosemary extract on volatile flavor profile of skipjack tuna. *Food Bioscience*, 62, 105241. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105241>

Meng, Z., & Mirica, K.A. (2021). Covalent organic frameworks as multifunctional materials for chemical detection. *Chemical Society Reviews*, 50(24), 13498–13558.
<https://doi.org/10.1039/D1CS00600B>

- Mohammadi, M., Mirza Alizadeh, A., & Mollakhalili Meybodi, N. (2021). Off-flavors in fish. *Journal of Human, Environment, and Health Promotion*, 7, 120–128. <https://doi.org/10.52547/JHEHP.7.3.120>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Pawliszyn, J., Zhang, Z., & Gorecki, T. (1995). *Theory and Practice of Solid Phase Microextraction*. United States: Federation of Analytical Chemistry.
- Pinto, J.O., Vieira, I., Barroso, B.C., Peixoto, M., Pontes, D., Peixoto, B., ... & Barbosa, F. (2024). Inventory of sensory, emotional, and cognitive reserve (SECri): Proposal of a new instrument and preliminary data. *Applied Neuropsychology: Adult*, 1-13. <https://doi.org/10.1080/23279095.2024.2407462>
- Rasul, M.G., Majumdar, B.C., Afrin, F., & Shah, A.K.M.A. (2018). Properties of dried silver carp. *Fishes*, 3, 25. <https://doi.org/10.3390/fishes3030025>
- Rosmini, M.R., Perlo, F., Pérez-Alvarez, J.A., Pagán-Moreno, M.J., Gago-Gago, A., López-Santoveña, F., & Aranda-Catalá, V. (1996). TBA test by an extractive method applied to 'paté'. *Meat Science*, 42(1), 103-110. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(95\)00010-0](https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)00010-0)
- Scully, S.M., & Orlygsson, J. (2020). Amino acid catabolism and flavor formation. *Extremophiles*, 24, 121–133. <https://doi.org/10.1007/s00792-019-01140-5>
- Shahrier, J., Rasul, G., Afrin, F., Islam, R., & Shah, A.A. (2023). Extension of shelf life of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using seaweed extracts during refrigerated storage. *Food Science & Nutrition*, 11(11), 7430-7440. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3673>
- Smit, B.A., Engels, W.J., & Smit, G. (2009). Flavor relevance in foods. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81, 987–999. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1758-x>
- Song, W., Wu, N., He, Y., Zhao, H., Xu, J., & Ren, L. (2024). Intelligent color changing packaging film based on esterified starch and black rice anthocyanins. *Food Chemistry: X*, 24, 101930. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101930>
- Srinivasan, B. (2024). Dose–Response Curves and the Determination of IC50 and Related Parameters. *ACS Journal of Medicinal Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.4c02052>
- Wang, G., He, H., Xu, J., Wang, X., Zhang, T., Huang, S., ... & Liu, X. (2022). Preparation of fish freshness colorimetric indicator label based on the dye of BTB grafted on MOF carrier. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 354, 131230. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.131230>
- Wu, T., Wang, M., Wang, P., Tian, H., & Zhan, P. (2022). Undesirable flavors in fish. *Foods*, 11, 2504. <https://doi.org/10.3390/foods11162504>

- Xu, X., Lu, S., Li, X., et al. (2022). Microbial diversity and flavor in sturgeon caviar. *Food Chemistry*, 377, 131969. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131969>
- Yang, F., Teng, J., Liu, J., Yu, D., Gao, P., Yu, P., & Xia, W. (2024). Texture maintenance and degradation mechanism of grass carp. *Food Chemistry*, 432, 137256. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137256>
- Yang, Y., Yu, X., Zhu, Y., Zeng, Y., Fang, C., & Jiang, W. (2022). Colorimetric film based on alginate/CMC. *Food Chemistry*, 393, 133342. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133342>
- Yüzer, E., Doğan, V., Kılıç, V., & Şen, M. (2022). Smartphone embedded deep learning approach for highly accurate and automated colorimetric lactate analysis in sweat. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 371, 132489. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.132489>
- Zhao, M., Nuerjiang, M., Bai, X., Feng, J., Kong, B., & Xia, X. (2022). Monitoring chicken freshness using intelligent films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 216, 361–373. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.06.198>
- Zheng, R., Liao, G., Kang, J., Xiong, S., & Liu, Y. (2024). Intelligent myofibrillar protein film. *Food Research International*, 192, 114777. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114777>
- Zhu, Y., Chen, J., Chen, X., Chen, D., & Deng, S. (2020). Use of relative odor activity value (ROAV) to link aroma profiles to volatile compounds: Application to fresh and dried eel (*Muraenesox cinereus*). *International Journal of Food Properties*, 23(1), 2257-2270. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1856133>
- Ziemba, B. (2025). Advances in Cytotoxicity Testing: From In Vitro Assays to In Silico and Multiparametric Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(22), 11202. <https://doi.org/10.3390/ijms262211202>

Material Suplementar

TABLES

Tabela S1. Dados instrumentais de cor (L^* , a^* e b^*) do filme inteligente e valores correspondentes de nitrogênio básico volátil total (TVB-N) de filés de tilápia durante oito dias de armazenamento refrigerado.

Sample	Sample color			Display of miniprogram
	L	a	b	
T0	33.73	-0.03	6.45	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.14	-0.03	6.23	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.12	-0.03	6.46	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.07	-0.02	6.26	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	33.8	-0.03	6.41	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.14	-0.03	6.25	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.1	-0.03	6.45	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.06	-0.02	6.31	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.05	-0.02	6.3	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.03	-0.03	6.32	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.9	-0.02	6.3	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.07	-0.02	6.36	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	33.73	-0.03	6.46	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.11	-0.03	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.09	-0.03	6.1	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
T1	35.03	-0.03	6.32	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.9	-0.03	6.3	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.07	-0.02	6.32	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.09	-0.03	6.1	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.31	-0.02	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.21	-0.03	6.9	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.52	-0.02	6.8	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.31	-0.03	6.81	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.51	-0.03	6.73	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.31	-0.02	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.38	-0.02	6.41	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.12	-0.03	6.46	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.07	-0.02	6.26	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)

	33.8	-0.03	6.41	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.14	-0.03	6.25	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.09	-0.03	6.1	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
T2	34.31	-0.02	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.21	-0.03	6.9	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.52	-0.02	6.8	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.31	-0.03	6.81	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.51	-0.03	6.73	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.31	-0.02	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.38	-0.02	6.41	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	33.3	-0.02	6.95	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.37	-0.02	6.87	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.51	-0.03	6.61	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	33.31	-0.02	6.93	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	33.34	-0.02	6.93	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.3	-0.03	6.71	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.09	-0.03	6.3	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.37	-0.04	6.39	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
T3	35.09	-0.03	6.1	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.37	-0.04	6.21	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.32	-0.04	6.41	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.36	-0.04	6.24	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.37	-0.02	6.87	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.51	-0.03	6.61	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	33.31	-0.02	6.93	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	33.34	-0.02	6.83	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.3	-0.03	6.51	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.05	-0.03	6.23	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.37	-0.04	6.32	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.09	-0.03	6.21	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.32	-0.04	6.27	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.42	-0.04	6.31	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.36	-0.03	6.25	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
T4	35.09	-0.03	7.1	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	36.18	-0.05	6.01	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.43	-0.03	6.9	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	40.81	-0.05	5.16	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)

	35.09	-0.03	7.1	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.43	-0.03	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	37.06	-0.05	6.9	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	36.46	-0.05	7.17	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.13	-0.05	7.67	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	32.22	-0.05	7.8	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	36.18	-0.05	6.01	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.43	-0.03	6.9	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	40.81	-0.05	5.16	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.09	-0.03	7.1	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.43	-0.03	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
T5	37.06	-0.05	6.9	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	36.42	-0.04	7.03	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	36.13	-0.06	7.46	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.98	-0.06	7.09	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.43	-0.03	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	37.06	-0.05	6.75	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	36.42	-0.04	7.03	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.43	-0.03	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	35.06	-0.05	6.84	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.52	-0.04	6.03	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.43	-0.03	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	37.06	-0.05	6.64	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.42	-0.04	7.23	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.43	-0.03	6.91	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
	34.16	-0.05	6.79	Fish fresh (TVB-N value < 15 mg N/100 g)
T6	36.91	-0.08	6.81	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	35.86	-0.08	6.95	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	36.16	-0.09	7.09	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	36.5	-0.11	7.23	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	34.36	-0.08	7.26	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	34.18	-0.15	7.9	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)

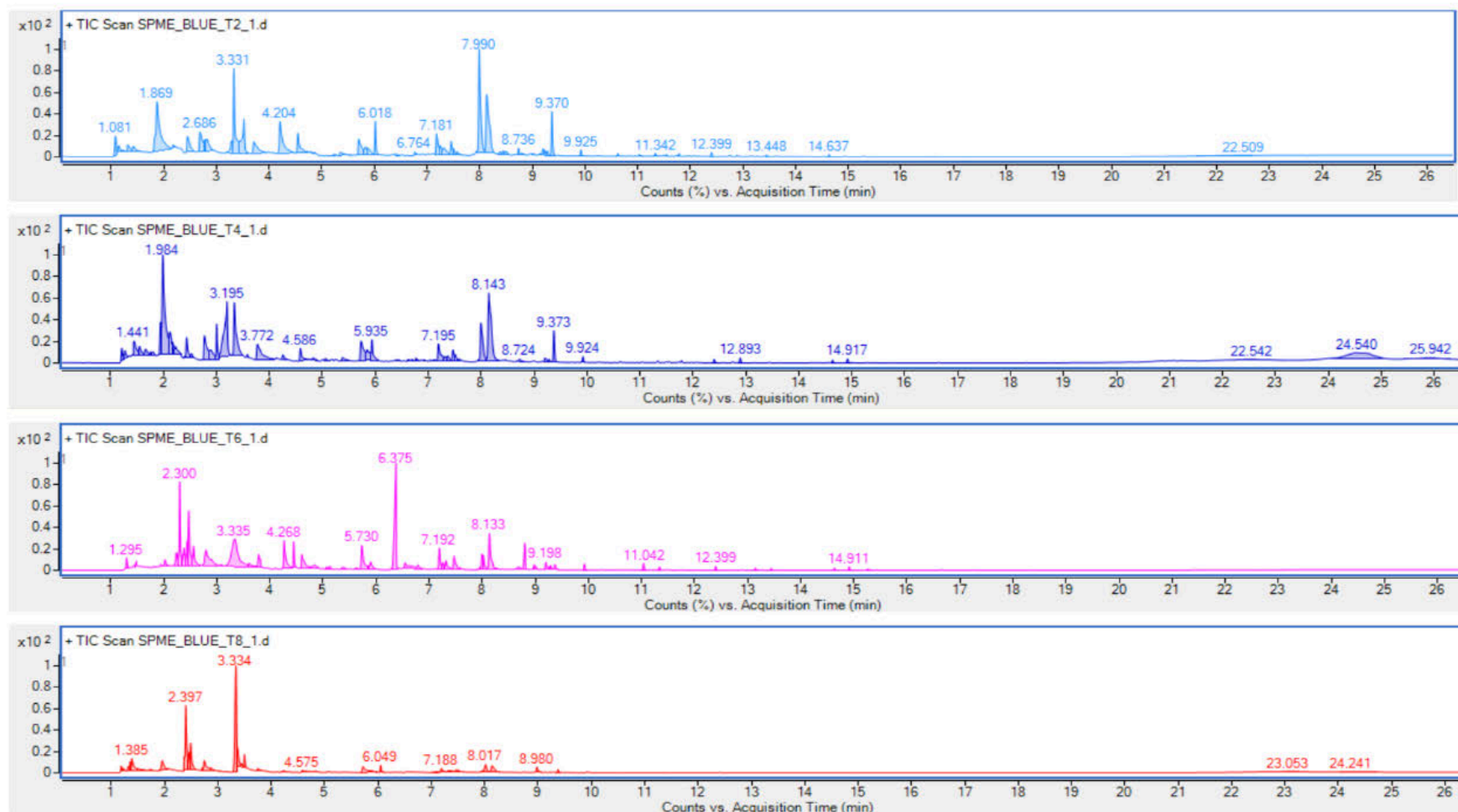
	35.27	-0.1	7.94	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	35.87	-0.1	7.88	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	43.03	-0.07	6.05	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	35.16	-0.09	7.08	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	36.14	-0.09	7.7	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	36.5	-0.11	7.23	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	35.86	-0.08	6.95	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	35.86	-0.09	6.85	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
T7	36.36	-0.23	6.5	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	40.34	-0.2	7.36	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	38.83	-0.21	7.33	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	39.1	-0.21	6.12	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	39.2	-0.42	6.5	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	38.63	-0.35	6.28	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	36.06	-0.4	6.31	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	40.62	-0.42	6.27	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	39.8	-0.39	6.61	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	43.37	-0.34	5.75	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	44.15	-0.39	6.04	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	45.47	-0.35	6.08	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	40.17	-0.31	6.76	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
	39.8	-0.39	6.61	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)

	40.62	-0.42	6.27	Fish Less Fresh (TVB-N value 15–25 mg N/100 g)
T8	44.41	-0.33	6.56	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	44.11	-0.32	6.56	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	44.28	-0.35	6.98	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	42.57	-0.4	6.44	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	43.49	-0.25	6.5	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	43.21	-0.34	6.87	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	42.05	-0.35	6.4	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	43.15	-0.44	6.61	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	40.62	-0.42	6.27	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	39.8	-0.39	6.61	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	43.37	-0.34	5.75	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	44.15	-0.39	6.04	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	45.47	-0.35	6.08	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	40.17	-0.31	6.76	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	44.05	-0.35	6.45	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	49	-3.4	23.7	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	44	-1.3	17.6	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	42	-2.3	24.6	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	45	-4.6	30.4	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	46	-4	24.9	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	53	-4.6	22.4	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)

	59	-5.7	19.3	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	48	-3.5	24.3	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	65	-6.7	31.4	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)
	63	-7	30.9	Spoiled fish (TVB-N value > 25–30 mg N/100 g)

T0–T8 representam os tempos de armazenamento do dia 0 ao dia 8, respectivamente.

FIGURA

Figura S1. Perfis cromatográficos gasosos de compostos voláteis de filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado.

T0, T2, T4, T6 e T8 correspondem a 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento, respectivamente.

1. MATERIAL E MÉTODOS

1.2 Ensaio de Citotoxicidade

Os efeitos citotóxicos do extrato de antocianina obtido das flores de *Catharanthus roseus* (CAE) e do filme inteligente com antocianina incorporada foram avaliados utilizando o ensaio de redução de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio). Este ensaio colorimétrico baseia-se na capacidade das células metabolicamente ativas de reduzir o sal amarelo de tetrazólio (MTT) em cristais insolúveis de formazano púrpura através de enzimas oxidorreduções dependentes de NAD(P)H, localizadas principalmente nas mitocôndrias, servindo assim como um indicador indireto de competência metabólica mitocondrial e viabilidade celular (Mosmann, 1983; Kumar et al., 2018).

Queratinócitos humanos imortalizados (HaCaT) foram obtidos do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ, Brasil) e cultivados em meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB; Gibco, Grand Island, NY, EUA) e 1% de penicilina-estreptomicina (Sigma-Aldrich). As células foram mantidas a 37 °C em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂.

Para o ensaio, as células foram semeadas em placas de 96 poços na densidade de 3×10^5 células/mL e deixadas aderir por 24 h. Posteriormente, as células foram expostas a concentrações crescentes de CAE ou do filme carregado com antocianina (0,78–400 µg/mL) por 72 h. Para corrigir possíveis interações não específicas entre os materiais testados e o reagente MTT, poços de controle sem células contendo soluções de tratamento em meio de cultura foram incluídos, e seus valores de absorbância foram subtraídos das leituras das amostras durante o processamento dos dados.

Após o período de exposição, 110 µL do sobrenadante da cultura foram removidos e 10 µL de solução de MTT (5 mg/mL) foram adicionados a cada poço. As placas foram

incubadas por 4 h para permitir a redução intracelular do MTT e a subsequente formação de cristais de formazan. Os cristais foram então solubilizados pela adição de 100 μ L de dodecil sulfato de sódio a 10% em ácido clorídrico (SDS-HCl), e a densidade óptica foi registrada a 570 nm usando um leitor de microplacas (Synergy HT, BioTek Instruments, Winooski, VT, EUA).

Três experimentos independentes foram realizados, cada um consistindo de quatro réplicas técnicas por condição experimental. A viabilidade celular foi expressa como uma porcentagem relativa às células de controle não tratadas.

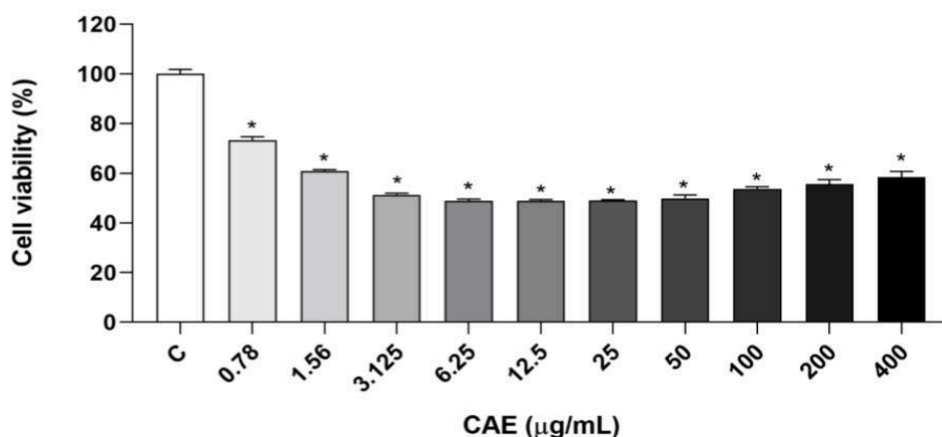
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1 Efeitos citotóxicos do CAE e filme em células HaCaT

Os efeitos do CAE na viabilidade das células HaCaT após 72 h de exposição são apresentados na Figura S2. Embora reduções estatisticamente significativas na viabilidade celular tenham sido observadas em toda a faixa de concentração testada (0,78–400 μ g/mL; $p < 0,05$) em comparação com os controles não tratados, a magnitude da redução não excedeu 50% em nenhuma concentração avaliada.

O perfil de concentração-resposta exibiu um padrão de platô, com redução máxima observada em 6,25 μ g/mL. O aumento das concentrações acima desse valor não resultou em reduções adicionais na viabilidade celular, que permaneceu em aproximadamente 50% mesmo na maior concentração testada (400 μ g/mL). Como uma redução $\geq 50\%$ não foi alcançada, a concentração inibitória de 50% (CI₅₀) não pôde ser determinada.

Figura S1 – Atividade citotóxica do extrato aquoso de antocianinas das flores de *Catharanthus roseus* (CAE) na linhagem celular de queratinócitos humanos HaCaT após 72 horas de tratamento.



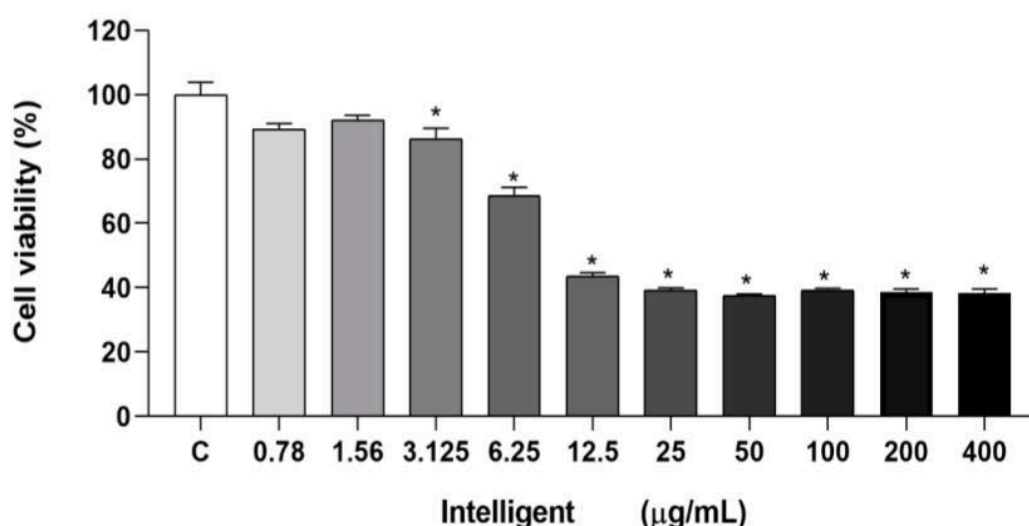
Os dados foram obtidos a partir de três experimentos independentes realizados em quadruplicata e apresentados como a média da porcentagem de viabilidade celular $\pm$ erro padrão da média (EPM). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Tukey. $< 0,05$ em comparação com o grupo controle (C).

Este perfil de resposta indica um efeito citotóxico limitado nas condições experimentais empregadas. O comportamento de platô nas relações concentração-resposta tem sido associado a efeitos biológicos saturáveis ou parciais, nos quais o aumento das concentrações não aumenta proporcionalmente o dano celular (Srinivasan, 2024). Além disso, no caso de extratos botânicos complexos, a presença de múltiplos metabólitos com distintas atividades biológicas, incluindo compostos citotóxicos, citostáticos ou mesmo citoprotetores, pode contribuir para a modulação da resposta citotóxica geral, prevenindo a perda extensa de viabilidade em concentrações mais elevadas (Ziemba et al., 2025).

Comparado com relatos que descrevem extratos ricos em antocianinas de outras fontes botânicas que induzem perda quase completa de viabilidade em concentrações elevadas (Jeyaraj et al., 2022), o extrato de antocianina de células (CAE) exibiu um perfil citotóxico comparativamente mais brando em queratinócitos não tumorais.

O filme inteligente com antocianina incorporada induziu, de forma semelhante, uma redução moderada na viabilidade das células HaCaT (Figura S3). Diminuições significativas foram observadas a partir de 3,125 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,05$ vs. controle), atingindo o efeito máximo em 25 $\mu\text{g/mL}$, sem redução adicional até 400 $\mu\text{g/mL}$, indicando um platô de concentração-resposta comparável ao observado para o CAE.

Figura S3 – Atividade citotóxica do filme inteligente incorporando antocianina na linhagem celular de queratinócitos humanos HaCaT após 72 h de tratamento.



Os dados foram obtidos a partir de três experimentos independentes realizados em quadruplicata e apresentados como a média da porcentagem de viabilidade celular $\pm$ erro padrão da média (EPM). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Tukey. $< 0,05$ em comparação com o grupo controle (C).

É importante ressaltar que a viabilidade celular permaneceu acima de 50% em todas as concentrações testadas, corroborando a ausência de citotoxicidade pronunciada em queratinócitos não tumorais. Esses achados estão de acordo com estudos anteriores que avaliaram filmes biopoliméricos contendo antocianina, os quais relataram viabilidade celular preservada em ensaios MTT e nenhum efeito citotóxico marcante em condições experimentais comparáveis. Em conjunto, esses resultados sugerem que a incorporação de

antocianinas em matrizes biopoliméricas não compromete inerentemente a viabilidade de células não tumorais (Amaregouda et al., 2023; Bhowmik et al., 2025).

Considerando que o filme foi desenvolvido para aplicações de embalagens inteligentes envolvendo contato indireto com alimentos, a preservação observada da viabilidade das células HaCaT sugere um perfil de biocompatibilidade favorável para o uso pretendido.

REFERÊNCIAS

- Amaregouda, Y., Kamanna, K., & Kamath, A. (2023). Multifunctional bionanocomposite films based on chitosan/polyvinyl alcohol with ZnO NPs and Carissa carandas extract anthocyanin for smart packaging materials. *ACS Food Science & Technology*, 3(9), 1411–1422. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.3c00065>
- Bhowmik, S., Agyei, D., & Ali, A. (2025). Antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic properties of chitosan–PVA films functionalised with chitooligosaccharide and gallic acid for shelf-life extension of perishable foods. *Sustainable Food Technology*. <https://doi.org/10.1039/D5FB00775E>
- Jeyaraj, E.J., Lim, Y.Y., & Choo, W.S. (2022). Antioxidant, cytotoxic, and antibacterial activities of *Clitoria ternatea* flower extracts and anthocyanin-rich fraction. *Scientific Reports*, 12, 14890. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19146-z>
- Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P.D. (2018). Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(6), pdb.prot095505. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095505>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Ziemba, B. (2025). Advances in Cytotoxicity Testing: From In Vitro Assays to In Silico and Multiparametric Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(22), 11202. <https://doi.org/10.3390/ijms262211202>

6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo demonstrou o potencial do extrato da flor *Catharanthus roseus* na modificação das propriedades de filmes biodegradáveis à base de colágeno, explorando sua aplicação em embalagens inteligentes para monitoramento da qualidade de peixe. O extrato apresentou elevada concentração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante, além de alta sensibilidade a variações de pH, conferindo aos filmes funcionalidade colorimétrica para detecção da deterioração do alimento. A incorporação das antocianinas aprimorou a resistência à degradação dos bioplásticos, resultando em uma microestrutura mais homogênea e menor cristalinidade, além de reforçar suas propriedades de barreira à luz, sugerindo seu potencial na proteção de produtos perecíveis.

Além dos benefícios funcionais, a utilização do colágeno extraído de resíduos da indústria pesqueira como matriz polimérica para os filmes reforça os princípios da economia circular, promovendo a valorização de subprodutos e contribuindo para a redução dos impactos ambientais associados aos plásticos convencionais.

A aplicação dos filmes inteligentes em filés de tilápia sob refrigeração demonstrou eficiência no monitoramento da qualidade, evidenciada pela correlação entre as mudanças de cor e os parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais. Durante o armazenamento, foram observadas alterações típicas de deterioração, como aumento do pH e de compostos nitrogenados voláteis, redução da dureza e mudanças no perfil de compostos voláteis, refletindo na perda de aceitabilidade sensorial.

A análise dos compostos voláteis indicou que, inicialmente, o aroma foi influenciado por compostos associados ao frescor, sendo posteriormente substituídos por aldeídos ramificados, trimetilamina e compostos sulfurados, determinantes na rejeição do produto. Esses compostos permitiram a classificação objetiva do pescado em diferentes níveis de frescor.

De forma geral, o estudo evidencia uma abordagem inovadora, sustentável e de baixo custo. A integração entre a resposta colorimétrica do filme, os dados instrumentais e a análise de voláteis possibilitou o desenvolvimento de um sistema baseado em aprendizado de máquina, capaz de classificar rapidamente o frescor do peixe, destacando-se como uma ferramenta promissora para embalagens inteligentes e para maior segurança alimentar e redução de desperdícios.

Como perspectivas para futuras pesquisas, destaca-se a otimização da formulação dos filmes, buscando um equilíbrio entre propriedades mecânicas, térmicas e funcionais, de modo

a garantir maior eficiência e aplicabilidade comercial. A investigação da eficácia desses materiais em diferentes categorias de alimentos perecíveis. Além disso, é essencial avaliar a estabilidade das antocianinas e a funcionalidade dos filmes ao longo do tempo, considerando variáveis como umidade, temperatura e exposição à luz, bem como sua estabilidade em diferentes condições de armazenamento e distribuição. Estratégias como o encapsulamento das antocianinas também podem ser exploradas para aumentar sua estabilidade e prolongar a vida útil dos filmes. Recomenda-se ainda a validação do sistema em condições reais de mercado. Sugere-se a otimização do processo de obtenção de colágeno da pele de tilápia, avaliando diferentes temperaturas e condições de extração, visando maior rendimento e qualidade do material. Por fim, o desenvolvimento de bancos de dados mais robustos é fundamental para aprimorar o desempenho dos modelos de inteligência artificial, aumentando a precisão e a confiabilidade do sistema no monitoramento do frescor dos alimentos.

REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, K. N.; GHANY, A. G. A. A.; SABER, R. A.; OSMAN, A.; SITOHy, B.; SITOHy, M. Anthocyanins from pomegranate peel (*Punica granatum*), chili pepper fruit (*Capsicum annuum*), and bougainvillea flowers (*Bougainvillea spectabilis*) with multiple biofunctions: antibacterial, antioxidant, and anticancer. *Heliyon*, v. 10, n. 11, e32222, 2024. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e32222.
- ABEDI-FIROOZJAH, R.; YOUSEFI, S.; HEYDARI, M.; SEYEDFATEHI, F.; JAFARZADEH, S.; MOHAMMADI, R.; ...; GARAVAND, F. Application of anthocyanins from purple cabbage as pH-sensitive pigments in food packaging and smart sensors. *Polymers*, v. 14, n. 8, p. 1629, 2022. DOI: 10.3390/polym14081629.
- ALBERGHINI, L.; FERRI, M.; BIANCHI, F.; CORDIOLI, M.; VERMEULEN, P.; FERRUCCI, F.; MARTINELLI, E. Microplastics in fish and fishery products and risks for human health: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 20, n. 1, p. 789, 2022. <https://doi.org/10.3390/ijerph20010789>.
- ALIZADEH SANI, M.; TAVASSOLI, M.; SALIM, S. A.; AZIZI-LALABADI, M.; MCCLEMENTS, D. J. Development of green halochromic smart and active packaging materials: TiO₂ gelatin/κ-carrageenan films loaded with nanoparticles and anthocyanins. *Food Hydrocolloids*, v. 124, pt. B, p. 107324, 2022. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2021.107324.
- ALIZADEH-SANI, M.; TAVASSOLI, M.; MCCLEMENTS, D. J.; HAMISHEHKAR, H. Multifunctional halochromic packaging materials: Saffron petal anthocyanin loaded-chitosan nanofiber/methyl cellulose matrices. *Food Hydrocolloids*, v. 111, p. 106237, 2021. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106237.
- ALLORGE, L.; PHILLIPSON, P. B.; RAZAKAMALALA, R. *Catharanthus makayensis* L. Allorge, Phillipson & Razakamala. (Apocynaceae), a new species from Madagascar. *Candollea*, v. 70, p. 61–67, 2015. DOI: 10.15553/c2015v701a7.
- ALMASI, H.; FORGHANI, S.; MORADI, M. Recent advances in smart freshness indicators for food; An update on natural colorants and preparation methods. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 32, p. 100839, 2022. DOI: 10.1016/j.fpsl.2022.100839.
- AL-QUTEIMAT, O. M. Vincristine shortage: what other options do we have? *American Journal of Clinical Oncology*, v. 43, p. 146–147, 2020. DOI: 10.1097/COC.0000000000000648.
- ÁLVAREZ, C.; MULLEN, A. M.; POJIĆ, M.; HADNADEV, T. D.; PAPAGEORGIOU, M. Classification and target compounds. In: *Food Waste Recovery*. Academic Press, 2021. p. 21–49. DOI: 10.1016/B978-0-12-820563-1.00024-X.
- ÁLVAREZ, S.; WENG, S.; ÁLVAREZ, C.; MARCET, I.; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. A new procedure to prepare transparent, colourless and low-water-soluble edible films using blood plasma from slaughterhouses. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 28, p. 100639, 2021. DOI: 10.1016/j.fpsl.2021.100639.
- AMAREGOUDA, Y.; KAMANNA, K.; GASTI, T. Fabrication of intelligent/active films based on chitosan/polyvinyl alcohol matrices containing *Jacaranda cuspidifolia* anthocyanin

for real-time monitoring of fish freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 218, p. 799–815, 2022. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.07.174.

AROWOSEGBE, O. B.; BALLALI, C.; KOFI, K. R.; ADESHINA, M. K.; AGBELUSI, J.; ADESHINA, M. A. Combating food waste in the agricultural supply chain: A systematic review of supply chain optimization strategies and their sustainability benefits. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, v. 24, n. 01, p. 122–140, 2024. DOI: 10.30574/wjarr.2024.24.1.3023.

ARSENOVIĆ, D. Population of the World. *Studies of the Central European Professors' Network*, p. 23–46, 2024. DOI: 10.54237/profnet.2024.tbdecce_1.

BAI, C.; WEI, Q.; REN, X. Selective extraction of high purity collagen peptides from cod skins by deep eutectic solvents. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 5, p. 7220–7227, 2017. DOI: 10.1021/acssuschemeng.7b01439.

BARBON, S.; COSTA BARBON, A. P. A. D.; MANTOVANI, R. G.; BARBIN, D. F. Machine learning applied to near-infrared spectra for chicken meat classification. *Journal of Spectroscopy*, v. 2018, n. 8949741, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/8949741>.

BERTACCINI, U. Phytoplasmas: diversity, taxonomy, and epidemiology. *Frontiers in Bioscience*, v. 12, p. 673–689, 2007. DOI: 10.2741/2092.

BIHANI, T. *Plumeria rubra* L. – A review on its ethnopharmacological, morphological, phytochemical, pharmacological, and toxicological studies. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 264, p. 113291, 2021. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113291.

BOSE, S.; BANERJEE, S.; KUMAR, S.; SAHA, A.; NANDY, D.; HAZRA, S. Review of applications of artificial intelligence (AI) methods in crop research. *Journal of Applied Genetics*, v. 65, n. 2, p. 225–240, 2024. DOI: 10.1007/s13353-023-00826-z.

BORKOWSKI, H.; SZYMUSIAK, A.; GLISZCZYŃSKA-SWIGŁO, B.; TYRAKOWSKA, B. Effect of 3-O- β -glucosylation on the structural transformations of anthocyanidins. *Food Research International*, v. 38, n. 8–9, p. 1031–1037, 2005. DOI: 10.1016/j.foodres.2005.02.020.

CHEN, H. Z.; ZHANG, M.; BHANDARI, B.; GUO, Z. Applicability of a colorimetric indicator label for monitoring freshness of fresh-cut green bell pepper. *Postharvest Biology and Technology*, v. 140, p. 85–92, 2018. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2018.01.016.

CHEN, H.; WANG, J.; CHENG, Y.; WANG, C.; LIU, H.; BIAN, H.; PAN, Y.; SUN, J.; HAN, W. Application of protein-based films and coatings for food packaging: A review. *Polymers*, v. 11, n. 12, p. 2019, 2019. DOI: 10.3390/polym11122039.

COM- Comissão Europeia. Fechando o ciclo - Um plano de ação da UE para a economia circular. 614 final, de 2 de dezembro de 2015. Disponível em: [https://ec.europa.eu/transparency/documents-register/detail?ref=COM\(2015\)614&lang=en](https://ec.europa.eu/transparency/documents-register/detail?ref=COM(2015)614&lang=en). Acesso em: 30 dez. 2024.

COPPOLA, D.; OLIVIERO, M.; VITALE, G. A.; LAURITANO, C.; D'AMBRA, I.; IANNACE, S.; DE PASCALE, D. Marine collagen from alternative and sustainable sources: extraction, processing and applications. *Marine Drugs*, v. 18, n. 4, p. 214, 2020. DOI: 10.3390/md18040214.

COSTA, G. F.; GRISI, C. V. B.; MEIRELES, B. R. L. A.; SOUSA, S.; CORDEIRO, A. M. T. M. Collagen films, cassava starch, and their blends: physical–chemical, thermal and microstructure properties. *Packaging Technology and Science*, v. 35, n. 3, p. 229–240, 2022. DOI: 10.1002/pts.2621.

D'ALMEIDA, A. P.; DE ALBUQUERQUE, T. L. Innovations in food packaging: from bio-based materials to smart packaging systems. *Processes*, v. 12, n. 10, p. 2085, 2024. DOI: 10.3390/pr12102085.

DA COSTA, G. F.; GRISI, C. V. B.; DE ALBUQUERQUE MEIRELES, B. R. L.; DE SOUSA, S.; DE MAGALHÃES CORDEIRO, A. M. T. Collagen films, cassava starch, and their blends: Physical-chemical, thermal, and microstructure properties. *Packaging Technology and Science*, v. 35, n. 3, p. 229–240, 2022. DOI: 10.1002/pts.2621.

DAS, A. J.; WAHI, A.; KOTHARI, I.; RASKAR, R. Ultra-portable, wireless smartphone spectrometer for rapid, non-destructive testing of fruit ripeness. *Scientific Reports*, v. 6, p. 32504, 2016. <https://doi.org/10.1038/srep32504>.

DIRPAN, A.; YOLANDA, D. S.; DJALAL, M. Is the use of biosensor in monitoring food quality experiencing an uplift trend over the last 30 years? A bibliometric analysis. *Heliyon*, v. 9, p. e18977, 2023. DOI: 10.1016/J.HELİYON.2023.E18977.

DO NASCIMENTO, I. T. V. D. S.; PEREIRA, N. J.; MARTINS, R. S.; DE MELO, T. A.; SANTOS, D. M. S.; SERRA, I. M. R. D. S. Quality of water from fish farms and histopathological analysis of tilapia (*Oreochromis sp.*) in São José de Ribamar and Paço do Lumiar, state of Maranhão, Brazil. *Aquaculture Research*, v. 52, n. 9, p. 4217–4226, 2021. DOI: 10.1111/are.15260.

DOĞAN, V.; EVLIYA, M.; KAHYAOĞLU, L. N.; KILIÇ, V. On-site colorimetric food spoilage monitoring with smartphone embedded machine learning. *Talanta*, v. 266, 125021, 2024. DOI: 10.1016/j.talanta.2023.125021.

DONG, S.; ZHANG, Y.; LU, D.; GAO, W.; ZHAO, Q.; SHI, X. Multifunctional smart film integrated with purple sweet potato anthocyanins and chitosan nanoparticles loaded with quercetin for monitoring and maintaining shrimp freshness. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 35, p. Artigo 101022, 2023. DOI: 10.1016/j.fpsl.2022.101022.

DRAGO, E.; CAMPARDELLI, R.; PETTINATO, M.; PEREGO, P. Innovations in smart packaging concepts for food: An extensive review. *foods*, 9(11), 1628, 2020. DOI: 10.3390/foods9111628.

DUBEY, A.; IRAQUI, S.; SHUKLA, A.; JAISWAL, A.; BAHADUR, I.; MOHAMMAD, F. Novel cost-effective Hibiscus flower based colorimetric paper sensor containing anthocyanins to monitoring the quality and freshness of raw fish. *Journal of Food Engineering*, 2024. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2024.112061.

EGHBAL, N. et al. Complex coacervation for the development of composite edible films based on LM pectin and sodium caseinate. *Carbohydrate Polymers*, v. 151, p. 947–956, 2016. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.06.052.

EL-BENDARY, N.; EL HARIRI, E.; HASSANIEN, A. E.; BADR, A. Using machine learning techniques for evaluating tomato ripeness. *Expert Systems with Applications*, v. 42, p. 1892–1905, 2015. DOI: 10.1016/j.eswa.2014.09.057.

EUROPEAN BIOPLASTICS. Market data 2024. Disponível em: <https://www.european-bioplastics.org/>. Acesso em: 22 jan. 2025.

FALCÃO, M. A.; SCOPEL, R.; ALMEIDA, R. N.; DO ESPIRITO SANTO, A. T.; FRANCESCHINI, G.; GARCEZ, J. J.; VARGAS, R. M.; CASSEL, E. Supercritical fluid extraction of vinblastine from *Catharanthus roseus*. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 129, p. 9–15, 2017. DOI: 10.1016/j.supflu.2017.03.018.

FAN, W.; CHE, X.; MA, P.; CHEN, M.; HUANG, X. Aroma formation, release, and perception in aquatic products processing: A review. *Foods*, v. 14, n. 15, p. 2651, 2025. DOI:10.3390/foods14152651.

FANG, S.; GUAN, Z.; SU, C.; ZHANG, W.; ZHU, J.; ZHENG, Y.; LIU, X. Accurate fish-freshness prediction label based on red cabbage anthocyanins. *Food Control*, v. 138, 109018, 2022. DOI: 10.1016/j.foodcont.2022.109018.

FAO. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022*. FAO, 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/publications/sofia/en/>. Acesso em: 7 fev. 2025.

FELICIAN, F. F.; XIA, C.; QI, W.; XU, H. Marine biological source collagen and medical applications. *Chemistry and Biodiversity*, v. 15, n. 5, e1700557, 2018. DOI: 10.1002/cbdv.201700557.

FERNANDEZ, C. M.; ALVES, J.; GASPAR, P. D.; LIMA, T. M.; SILVA, P. D. Innovative processes in smart packaging: a systematic review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 103, p. 986–1003, 2022. DOI: 10.1002/jsfa.12501.

FERRIES, C. Plastic in the Ocean Statistics 2024. Disponível em: <https://www.condorferries.co.uk/plastic-in-the-ocean-statistics>. Acesso em: 22 jan. 2025.

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 and Emerging Technologies*, v. 73, p. 102804, 2021. DOI: 10.1016/J.IFSET.2021.102804.

FORSYTH, W. G. C.; SIMMONDS, N. W. *Nature*, v. 180, p. 247, 1957.

GALLO, N.; OLIVEIRA, M. L.; SANNO, A.; SALVATORE, L. An overview of the use of equine collagen as an emerging material for biomedical applications. *Journal of Functional Biomaterials*, v. 11, p. 79, 2020. DOI: 10.3390/jfb11040079.

GAO, Q.; CHEN, J.; ZHOU, G.; XU, X. Diferentes complexos proteína-antocianina projetados por ultrassom e tratamento alcalino: caracterização estrutural e estabilidade de cor. *Food Chemistry*, v. 427, p. 136693, 2023. DOI: 10.1016/j.foodchem.2023.136693.

GE, Y. J.; LI, Y.; BAI, Y.; YUAN, C. H.; WU, C. H.; HU, Y. Q. Intelligent gelatin/nanocomposite films of oxidized chitin nanocrystals containing black rice bran anthocyanins for monitoring fish freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 155, p. 1296–1306, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.101.

GELSE, K.; PÖSCHL, E. Collagens—Structure, function, and biosynthesis. *Advances in Drug Delivery Reviews*, v. 55, p. 1531–1546, 2003. DOI: 10.1016/j.addr.2003.08.002.

GÓMEZ-ESTACA, J.; GAVARA, R.; CATALÁ, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. The potential of proteins for producing food packaging materials: A review. *Packaging Technology and Science*, v. 29, n. 4–5, p. 203–224, 2016. DOI: 10.1002/pts.2198.

GUO, Y.; WEI, X.; GAO, S.; YUE, W.; LI, Y.; SHEN, G. Recent advances in carbon material-based multifunctional sensors and their applications in electronic skin systems. *Advanced Functional Materials*, v. 31, p. 2104288, 2021. <https://doi.org/10.1002/adfm.202104288>.

HACKETT, C.; GRIM, B.; STONAWSKI, M.; SKIRBEKK, V.; POTANČOKOVÁ, M.; ABEL, G. *The Global Religious Landscape*. Washington, DC: Pew Research Center, 2012.

HASANIN, M. S.; HASSAN, Y. R.; EL-SAIED, H.; EL-SAYED, S. M.; YOUSSEF, A. M. Intelligent packaging: challenges and solutions. In: *Intelligent Packaging*. Academic Press, p. 341–364, 2024. DOI: 10.1016/B978-0-443-15388-4.00013-4.

HASSAN, B.; CHATHA, S. A. S.; HUSSAIN, A. I.; ZIA, K. M.; AKHTAR, N. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein-based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 109, p. 1095–1107, 2018. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.11.185.

HO, P.; ZIN, Z.; SMEDLEY, K. L.; MAMAT, H.; RUSLI, N. D.; SCOTT, D. J.; ZAINOL, M. K. Effect of *Antigonon leptopus* extract in corn starch-glycerol based film as colourimetric indicator film for monitoring fish freshness. *Food Research*, v. 8, n. 3, p. 476–486, 2024. DOI: 10.26656/fr.2017.8(3).592.

HUANG, B.; ZHANG, K.; KWADZOKPUI, B. A.; HAN, E.; GUAN, B.; LIN, H. Real-time monitoring and rapid determination of pork freshness using a colorimetric sensor array based on porphyrin and pH indicator ligand combination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 73, n. 18, p. 11327–11339, 2025. DOI: 10.1021/acs.jafc.5c01335.

HUANG, S.; WANG, G.; LIN, H.; XIONG, Y.; LIU, X.; LI, H. Preparation and dynamic response properties of colorimetric indicator films containing pH-sensitive anthocyanins. *Sensors and Actuators Reports*, v. 3, 100049, 2021. DOI: 10.1016/j.snr.2021.100049.

HUSSAIN, S.; AKHTER, R.; MAKTEDAR, S. S. Advancements in sustainable food packaging: from eco-friendly materials to innovative technologies. *Sustainable Food Technology*, v. 2, n. 5, p. 1297–1364, 2024. DOI: 10.1039/D4FB00084F.

JIANG, G. Y.; HOU, X. Y.; ZENG, X. D.; ZHANG, C.; WU, H. J.; SHEN, G. H.; ...; ZHANG, Z. Q. Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) anthocyanins for monitoring fish freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 143, p. 359–372, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.024.

JIANG, G.; HOU, X.; ZENG, X.; ZHANG, C.; WU, H.; SHEN, G.; LI, S.; LUO, Q.; LI, M.; LIU, X.; et al. Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) anthocyanins for monitoring fish freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 143, p. 359–372, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.024.

- KHAIRUDDIN, N.; MUHAMMAD, I.; H., C. Preparation and characterization of starch-based pH indicator films for anthocyanin release. *Food Research*, v. 8, Supplementary 3, p. 110–116, 2024. DOI: 10.26656/fr.2017.8(s3).6.
- KHALID, S.; NAEEM, M.; TALHA, M.; HASSAN, S. A.; ALI, A.; MAAN, A. A.; ... & AADIL, R. M. Development of biodegradable coatings by the incorporation of essential oils derived from food waste: A new sustainable packaging approach. *Packaging Technology and Science*, v. 37, n. 3, p. 167–185, 2024. DOI: 10.1002/pts.2787.
- KHAN, J.; AN, H.; ALAM, S.; KALSOOM, S.; CHEN, S. H.; BEGENO, T. A.; DU, Z. Smart colorimetric indicator films prepared from chitosan and polyvinyl alcohol with high mechanical strength and hydrophobic properties for monitoring shrimp freshness. *Food Chemistry*, v. 445, p. 138784, 2024. DOI: 10.1016/j.foodchem.2024.138784.
- KHEZERLOU, A.; TAVASSOLI, M.; ALIZADEH SANI, M.; EHSANI, A.; McCLEMENTS, D. J. Smart packaging for food spoilage assessment based on *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanin-loaded chitosan films. *Journal of Composites Science*, v. 7, n. 10, p. 404, 2023. DOI: 10.3390/jcs7100404.
- KHOO, S. E.; AZLAN, A.; TANG, S. T.; LIM, S. M. Antocianidinas e antocianinas: pigmentos coloridos como alimentos, ingredientes farmacêuticos e os potenciais benefícios à saúde. *Pesquisa em Alimentos e Nutrição*, v. 61, n. 1, p. 1-21, 2017. DOI: 10.1080/16546628.2017.1361779.
- KIBRIA, M. G.; MASUK, N. I.; SAFAYET, R.; NGUYEN, H. Q.; MOURSHED, M. Plastic waste: challenges and opportunities to mitigate pollution and effective management. *International Journal of Environmental Research*, v. 17, n. 1, p. 20, 2023. DOI: 10.1007/s41742-023-00312-6.
- KILIC, B.; DOGAN, V.; KILIC, V.; KAHYAOGU, L. N. Colorimetric food spoilage monitoring with carbon dot and UV light reinforced fish gelatin films using a smartphone application. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 209, p. 1562-1572, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.02.053>.
- KIM, Y. G.; WOO, E. Consumer acceptance of a quick response (QR) code for the food traceability system: application of an extended technology acceptance model (TAM). *Food Research International*, v. 85, p. 266-272, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.038>.
- KONG, J.; GE, X.; SOL, Y.; MAO, M.; YU, H.; CHU, R. Highly cross-linked zein-based pH-sensitive, active, and intelligent multifunctional packaging for monitoring pork freshness. *Food Chemistry*, v. 404, pt. B, p. 134754, 2023. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.134754.
- KOSHY, J. T.; VASUDEVAN, D.; SANGEETHA, D.; PRABU, A. A. Multifunctional biopolymer-based films loaded with anthocyanin-rich floral extract and ZnO nanoparticles for intelligent packaging and wound healing applications. *Polymers*, v. 15, n. 10, p. 2372, 2023. DOI: 10.3390/polym15102372.
- KULKARNI, P.; MANIYAR, M.; NALAWADE, M.; BHAGWAT, P.; PILLAI, S. Isolation, biochemical characterization, and development of a biodegradable antimicrobial film from *Cirrhinus mrigala* scale collagen. *Environmental Science and Pollution Research*, p. 1-11, 2022. DOI: 10.1007/s11356-021-17108-y.

- KUMAR, Y.; BIST, Y.; THAKUR, D.; NAGAR, M.; SAXENA, D. C. A review on the role of pH-sensitive natural pigments in biopolymers based intelligent food packaging films. *International Journal of Biological Macromolecules*, p. 133869, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.133869.
- LAU, W. N.; NAFCHI, A. M.; ZARGAR, M.; ROZALLI, N. H. M.; EASA, A. M. Development and evaluation of *Bauhinia Kockiana* extract-incorporated sago starch intelligent film strips for real-time freshness monitoring of coconut milk. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 260, p. 129589, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.129589.
- LEE, J. E.; NOH, S. K.; KIM, M. J. Effects of enzymatic- and ultrasound-assisted extraction on physicochemical and antioxidant properties of collagen hydrolysate fractions from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. *Antioxidants*, v. 11, n. 11, p. 2112, 2022. DOI: 10.3390/antiox11112112.
- LÓPEZ-CORONA, A. V.; VALENCIA-ESPINOSA, I.; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, F. A.; SÁNCHEZ-LÓPEZ, A. L.; GARCÍA-AMEZQUITA, L. E.; GARCÍA-VARELA, R. Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of phenolic compound family extracted from raspberries (*Rubus idaeus*): a general review. *Antioxidants*, v. 11, n. 6, p. 1192, 2022. DOI: 10.3390/antiox11061192.
- LÓPEZ-GARCÍA, J.; LEHOCKÝ, M.; HUMPOLOÍČEK, P.; SÁHA, P. HaCaT keratinocytes response on antimicrobial atelocollagen substrates: extent of cytotoxicity, cell viability and proliferation. *Journal of Functional Biomaterials*, v. 5, p. 43–57, 2014. DOI: 10.3390/jfb5020043.
- LI, A.; XIAO, R.; HE, S.; NA, X.; HE, Y.; WANG, C. Research advances of purple sweet potato anthocyanins: extraction, identification, stability, bioactivity, application, and biotransformation. *Molecules*, v. 24, n. 21, p. 3816, 2019.
- LI, C.; YUN, D.; WANG, Z.; XU, F.; TANG, C.; LIU, J. Development of shrimp freshness indicating films by embedding anthocyanins-rich *Rhododendron Simsii* flower extract in locust bean gum/polyvinyl alcohol matrix. *Materials*, v. 15, n. 21, p. 7557, 2022. DOI: 10.3390/ma15217557.
- LIM, Y.-S.; OK, Y.-J.; HWANG, S.-Y.; KWAK, J.-Y.; YOON, S. Marine collagen as a promising biomaterial for biomedical applications. *Marine Drugs*, v. 17, p. 467, 2019. DOI: 10.3390/md17080467.
- LIU, T. et al. Flexible FTIR spectral imaging enhancement for industrial robot infrared vision sensing. *IEEE Transactions on Industrial Informatics*, v. 16, n. 1, p. 544-554, 2019. DOI: 10.1109/TII.2019.2934728.
- LIU, Y. C.; GAO, H. M. Development and applications of mobile farming information system for food traceability in health management. *Applied Computing in Medicine and Health*, v. 244, p. 244-268, 2016. DOI: 10.1007/978-3-319-21612-6_24.
- LOPEZ-RUIZ, N.; CURTO, V. F.; ERENAS, M. M.; BENITO-LOPEZ, F.; DIAMOND, D.; PALMA, A. J.; CAPITAN-VALLVEY, L. F. Smartphone-based simultaneous pH and nitrite colorimetric determination for paper microfluidic devices. *Analytical Chemistry*, v. 86, p. 9554-9562, 2014. DOI: 10.1021/ac502030j.

PEÑARUBIA, O.; TOPPE, J.; AHERN, M.; WARD, A.; GRIFFIN, M. How value addition by utilization of tilapia processing by-products can improve human nutrition and livelihood. *Reviews in Aquaculture*, v. 15, p. 32–40, 2023. DOI: 10.1111/raq.12737.

RAMAKRISHNA, S.; TIAN, L.; WANG, C.; LIAO, S.; TEO, W. E. Safety testing of a new medical device. In: *Medical Devices*. Amsterdã: Elsevier, 2015. p. 137–153. DOI: 10.1016/B978-0-08-100289-6.00006-5.

LOZANO-NAVARRO, J. I.; DÍAZ-ZAVALA, N. P.; VELASCO-SANTOS, C.; MELO-BANDA, J. A.; PÁRAMO-GARCÍA, U.; PARAGUAY-DELGADO, F.; GARCÍA-ALAMILLA, R.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, A. L.; ZAPIÉN-CASTILLO, S. Chitosan-starch films with natural extracts: Physical, chemical, morphological and thermal properties. *Materials*, v. 11, n. 1, p. 120, 2018. DOI: 10.3390/ma11010120.

ŁYSIAK, G. P. Ornamental flowers grown in human surroundings as a source of anthocyanins with high anti-inflammatory properties. *Foods*, v. 11, n. 7, p. 948, 2022. DOI: 10.3390/foods11070948.

MA, D.; JIANG, Y.; AHMED, S.; QIN, W.; LIU, Y. Antilisterial and physical properties of polysaccharide-collagen films embedded with cell-free supernatant of *Lactococcus lactis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 145, p. 1031–1038, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.195.

MARY, S. K.; KOSHY, R. R.; PILLAI, P. K. S.; REGHUNADHAN, A.; POTHEN, L. A. Butterfly Pea Flower Anthocyanin Immobilized pH Sensitive Intelligent Nanocomposite Films of Starch/Chitin with Improved Thermal and Mechanical Properties. *Starch-Stärke*, v. 76, n. 5-6, p. 2200287, 2024. DOI: 10.1002/star.202200287.

MATTIOLI, R.; FRANCIOSO, A.; MOSCA, L.; SILVA, P. Anthocyanins: A comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 25, n. 17, p. 3809, 2020. DOI: 10.3390/molecules25173809.

MEI, L. X.; NAFCHI, A. M.; GHASEMIPOUR, F.; EASA, A. M.; JAFARZADEH, S.; AL-HASSAN, A. A. Characterization of pH sensitive sago starch films enriched with anthocyanin-rich torch ginger extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 164, p. 4603–4612, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.082.

MIHALCA, V.; KEREZSI, A. D.; WEBER, A.; GRUBER-TRAUB, C.; SCHMUCKER, J.; VODNAR, D. C.; DULF, F. V.; SOCACI, S. A.; FĂRCAS, A.; MUREȘAN, C. I. Protein-based films and coatings for food industry applications. *Polymers*, v. 13, n. 5, p. 769, 2021. DOI: 10.3390/polym13050769.

MISHRA, J. N.; VERMA, N. K. A brief study on *Catharanthus roseus*: A review. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 2, n. 2, p. 20–23, 2017. ISSN: 2455-698X.

MOHAMMADALINEJHAD, S.; ALMASI, H.; MORADI, M. Immobilization of *Echium amoenum* anthocyanins into bacterial cellulose film: A novel colorimetric pH indicator for freshness/spoilage monitoring of shrimp. *Food Control*, v. 113, p. 107169, 2020. DOI: 10.1016/j.foodcont.2020.107169.

- MORENO-RICARDO, M. A.; GÓMEZ-CONTRERAS, P.; GONZÁLEZ-DELGADO, Á. D.; HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J.; ORTEGA-TORO, R. Development of films based on chitosan, gelatin, and collagen extracted from bocachico scales (*Prochilodus magdalenae*). *Heliyon*, v. 10, n. 3, 2024. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e25194.
- NEFF, L. S.; BRADSHAW, A. D. Do you cross your heart? Collagen cross-links in heart health and disease. *Cell Signal*, v. 79, p. 109889, 2021. DOI: 10.1016/j.cellsig.2020.109889.
- NGUYEN, K. D.; PHUNG, D.; NGUYEN, T. T. T.; LE, O. T. K.; CAO, T. N. M.; TRUONG, T. T. C.; PHAN, N. T. T.; LE THI, A. P. Colorimetric chitosan/polyvinyl alcohol composite membrane incorporated with anthocyanins as pH indicator for monitoring fish freshness. *Journal of Applied Polymer Science*, 2024. DOI: 10.1002/app.56333.
- NURAINI, L. et al. Anthocyanin regulatory and structural genes associated with violet flower color of *Matthiola incana*. *Planta*, v. 251, p. 1-15, 2020. DOI: 10.1007/s00425-020-03351-z.
- OLIVEIRA, J. M.; OLIVEIRA, C.; GIBERT, L.; RIBOT, F.; OLIVARES, E. G. Paleoproteomics of the 20th century: lessons from the Venta Micena fossils. *Biology*, v. 11, p. 1184, 2022. DOI: 10.3390/biology11081184.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). *Global plastics outlook: policy scenarios to 2060*. Paris: OECD, 2022. DOI: 10.1787/aa1edf33-en.
- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). Transformando Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável. Nova York: Nações Unidas, Departamento de Assuntos Econômicos e Sociais, 2015.
- OSMÓLSKA, E.; STOMA, M.; STAREK-WÓJICKA, A. Application of biosensors, sensors, and tags in intelligent packaging used for food products—a review. *Sensors*, v. 22, n. 49956, 2022. DOI: 10.3390/s22249956.
- PASSOS, H.; OLIVEIRA, M. G.; COUTINHO, J. A. Ionic liquid solutions as extraction solvents for value-added compounds from biomass. *Green Chemistry*, v. 16, p. 4786–4815, 2014. DOI: 10.1039/C4GC00236A.
- PETCHARAT, T.; BENJAKUL, S.; KARNJANAPRATUM, S.; NALINANON, S. Ultrasound-assisted extraction of collagen from clownfish (*Chitala ornata*) skin: Yield and molecular characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 101, p. 648–658, 2021. DOI: 10.1002/jsfa.10677.
- PHUANGSAIJAI, N.; JAKMUNEE, J.; KITTIWACHANA, S. Investigation into the predictive performance of colorimetric sensor strips using RGB, CMYK, HSV, and CIELAB coupled with various data preprocessing methods: a case study on an analysis of water quality parameters. *Journal of Analytical Science and Technology*, v. 12, p. 1-16, 2021. <https://doi.org/10.1186/s40543-021-00143-1>.
- POUNDS, K.; BAO, H.; LUO, Y.; DE, J.; SCHNEIDER, K.; CORRELL, M.; TONG, Z. Real-time and rapid food quality monitoring using smart sensory films with image analysis and machine learning. *ACS Food Science & Technology*, v. 2, n. 7, p. 1123-1134, 2022. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.2c00124>.
- PRABHU, P. M.; RAJESWARAN, R.; SELVINRAJ, I.; VIKESH, K. S. Zerohunger Link-Bridging Food Waste and Hunger Gaps-An Integrated Approach. *International Journal*

of *Advanced Research in Science, Communication and Technology*, p. 565–575, 2024. DOI: 10.48175/ijarsct-17886.

PRECEDENCE RESEARCH. Plastic packaging market size, share and trends from 2024 to 2033. Disponível em: <https://www.precedenceresearch.com/plastic-packaging-market>. Acesso em: 22 jan. 2025.

PUOLANNE, E. Lactic acid in muscle and its effects on meat quality. In: *55th Annual Recip. Meats Conf.*, University of Helsinki, 2002. v. 55, p. 57-62.

QI, Q.; CHU, M.; YU, X.; XIE, Y.; LI, Y.; DU, Y.; YAN, N. Anthocyanins and proanthocyanidins: Chemical structures, food sources, bioactivities, and product development. *Food Reviews International*, v. 39, n. 7, p. 4581-4609, 2022. DOI: 10.1080/87559129.2022.2029479.

RASHID, A.; KHAN, M. S.; LIU, Y.; ZHANG, M.; ZHANG, Z.; YANG, M.; LIU, H. Novel Pullulan-Sodium Alginate Film Incorporated with Anthocyanin-loaded Casein-carboxymethyl Cellulose Nanocomplex for Real-time Fish and Shrimp Freshness Monitoring. *Food Hydrocolloids*, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110356>.

RICARD-BLUM, S. The collagen family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 3, a004978, 2011. DOI: 10.1101/cshperspect.a004978.

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

ROSTAMZAD, H.; PAIGHAMBARI, S. Y.; SHABANPOUR, B.; OJAGH, S. M.; MOUSAVI, S. M. Improvement of fish protein film with nanoclay and transglutaminase for food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 7, p. 1–7, 2016. DOI: 10.1016/j.fpsl.2015.10.001.

SAGAR, P. K.; MEENA, R. P.; AHMAD, M. W.; SAJWAN, K. Useful anticancer and antitumor Asian medicinal plants (*Taxus baccata* L. or *Taxus baccata* Thunb., *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, *Annona muricata* L.). *SIJTCM*, v. 5, p. 1–12, 2020. ISSN 2474-1361.

SAFARI, A.; RAHIMI, M.; SONBOLI, A.; BEHBOUDI, H.; EBRAHIMI, S. N. Optimization of anthocyanin extraction from black hollyhock flower: process efficiency, stability, and cytotoxicity assessment. *Industrial Crops and Products*, v. 222, 119944, 2024. DOI: 10.1016/j.indcrop.2024.119944.

SALACHEEP, S.; KASEMSIRI, P.; PONGSA, U.; OKHAWILAI, M.; CHINDAPRASIRT, P.; HIZIROGLU, S. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and bioactive compounds from butterfly pea petals using Taguchi method and Grey relational analysis. *Journal of Food Science and Technology*, v. 57, p. 3720-3730, 2020. DOI: 10.1007/s13197-020-04404-7.

SANPONPUTE, T.; WATTONG, C. Torque transducer with check standard combination. *Acta IMEKO*, v. 6, p. 59–64, 2017. DOI: 10.21014/ACTA_IMEKO.V6I2.404.

SANTOS, A. F. dos; SILVA, M. J. da; SOUZA, E. C. de; LIMA, J. F. de; OLIVEIRA, C. A. de. Review of three medicinal and ornamental species of the family Apocynaceae Juss.

Research, Society and Development, v. 11, n. 2, p. e1011224876, 2022.
<https://doi.org/10.33448/rsd-v11i2.24876>.

SARANGI, P. K.; PAL, P.; SINGH, A. K.; SAHOO, U. K.; PRUS, P. Food Waste to Food Security: Transition from Bioresources to Sustainability. *Resources*, v. 13, n. 12, p. 164, 2024. DOI: 10.3390/resources13120164.

SCHUDEL, S.; SHOJI, K.; SHRIVASTAVA, C.; ONWUDE, D.; DEFRAEYE, T. Solution roadmap to reduce food loss along your postharvest supply chain from farm to retail. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 36, p. 101057, 2023. DOI: 10.1016/j.fpsl.2023.101057.

SENTANIN, L.; OLIVEIRA FILHO, J. G.; EGEA, M. B.; MATTOSO, L. H. C. Smart and mechanically enhanced zein–gelatin films incorporating cellulose nanocrystals and alizarin for fish spoilage monitoring. *Foods*, v. 14, n. 17, p. 3015, 2025. DOI: 10.3390/foods14173015.

SHAKYA, S.; KHAN, I. M. Charge transfer complexes: emerging and promising colorimetric real-time chemosensors for hazardous materials. *Journal of Hazardous Materials*, v. 403, p. 123537, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123537>.

SHUKLA, A. K.; SHASANY, A. K.; VERMA, R. K.; GUPTA, M. M.; MATHUR, A. K.; KHANUJA, S. P. Influence of cellular differentiation and elicitation on intermediate and late steps of terpenoid indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*. *Protoplasma*, v. 242, p. 35–47, 2010. DOI: 10.1007/s00709-010-0120-1.

SINGH, A. K.; SINGH, S.; SRIVASTAVA, M.; SRIVASTAVA, S. Morphology of seeds and seedlings of a medicinal plant *Catharanthus roseus*. *Indian Forestry*, v. 134, p. 537–541, 2008. DOI: 10.1016/j.spmi.2007.07.014.

SOUSA, R. O. et al. Collagen from Atlantic cod (*Gadus morhua*) skins extracted using CO₂ acidified water with potential application in healthcare. *Journal of Polymer Research*, v. 27, p. 73, 2020. DOI: 10.1007/s10965-020-02048-x.

STOICA, M.; MATEI, F.; ION, A.; POPESCU, C.; STANCIU, D.; LUPU, N.; PAVEL, L. Review of bio-based biodegradable polymers: smart solutions for sustainable food packaging. *Foods*, v. 13, n. 19, p. 3027, 2024. <https://doi.org/10.3390/foods13193027>.

TALEBI, M.; DASHTIAN, K.; ZARE-DORABEI, R.; AMOURIZI, F.; GHAFURI, H.; MAHDAVI, M. Ruthenium-encapsulated porphyrinic organic polymer as a photoresponsive oxidoreductase mimetic nanozyme for colorimetric sensing. *Langmuir*, v. 39, n. 21, p. 7444–7455, 2023. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.3c00688>.

TAVAKOLI, S.; MUBANGO, E.; TIAN, L.; NDRI, Y. B.; TAN, Y.; HONG, H.; LUO, Y. Novel intelligent films containing anthocyanin and phycocyanin for nondestructively tracing fish spoilage. *Food Chemistry*, v. 402, p. 134203, 2023. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.134203.

TAVASSOLI, M.; ALIZADEH SANI, M.; KHEZERLOU, A.; EHSANI, A.; JAHEED-KHANI, G.; McCLEMENTS, D. J. Smart biopolymer-based nanocomposite materials containing pH-sensing colorimetric indicators for food freshness monitoring. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 27, n. 10, p. 3168, 2022. DOI: 10.3390/molecules27103168.

- TONG, C.; KAI, X.; GANG, W. Physicochemical properties and in vitro degradation of a novel collagen scaffold material from Basa fish (*Pangasius hanoi*) skin. *Academic Journal of the Second Military Medical University*, v. 1, p. 41–47, 2017. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2017.01.0041.
- WAHYUNINGSIH, S.; WULANDARI, L.; WARTONO, M. W.; MUNAWAROH, H.; RAMELAN, A. H. The effect of pH and color stability of anthocyanin on food colorant. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, v. 193, p. 012047, 2017.
- WANG, Z.; HU, S.; GAO, Y.; SIM, C.; WANG, H. Effect of collagen-lysozyme coating on the preservation of fresh salmon fillets. *LWT - Food Science and Technology*, v. 75, p. 59–64, 2017. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.08.032.
- WU, L. T.; TSAI, I. L.; HO, Y. C.; HANG, Y. H.; LIN, C.; TSAI, M. L.; MI, F. L. Active and intelligent gellan gum-based packaging films for controlling anthocyanins release and monitoring food freshness. *Carbohydrate Polymers*, v. 254, p. 117410, 2021. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117410.
- WU, L.; PU, H.; SUN, D.-W. Novel techniques for evaluating freshness quality attributes of fish: a review of recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, v. 83, p. 259–273, 2019. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.12.002.
- WU, X.; YAN, X.; ZHANG, J.; WU, X.; ZHANG, Q.; ZHANG, B. Intelligent films based on dual-modified starch and microencapsulated *Aronia melanocarpa* anthocyanins: Functionality, stability and application. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 275, p. 134076, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.134076.
- YAN, W.; ZHOU, J.; SUN, M.; CHEN, J.; HU, G.; SHEN, B. The construction of an amino acid network for understanding protein structure and function. *Amino Acids*, v. 46, n. 6, p. 1419–1439, 2014. DOI: 10.1007/S00726-014-1710-6.
- YONG, H.; LIU, J. Recent advances in the preparation, physical and functional properties, and applications of anthocyanins-based active and intelligent packaging films. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 26, p. 100550, 2020. DOI: 10.1016/j.fpsl.2020.100550.
- YOU, P. Q.; WANG, L.; ZHOU, N.; YANG, Y.; PANG, J. A pH-intelligent response fish packaging film: Konjac glucomannan/carboxymethyl cellulose/blackcurrant anthocyanin antibacterial composite film. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 204, p. 386–396, 2022. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.02.027.
- YÜZER, E.; DOĞAN, V.; KILIÇ, V.; ŞEN, M. Smartphone embedded deep learning approach for highly accurate and automated colorimetric lactate analysis in sweat. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 371, p. 132489, 2022. DOI: 10.1016/j.snb.2022.132489.
- ZANNOU, O.; PASHAZADEH, H.; GHELLAM, M.; IBRAHIM, S. A.; KOCA, I. Extraction of anthocyanins from borage (*Echium amoenum*) flowers using choline chloride and a glycerol-based, deep eutectic solvent: Optimization, antioxidant activity, and in vitro bioavailability. *Molecules*, v. 27, n. 1, p. 134, 2021. DOI: 10.3390/molecules27010134.
- ZHANG, K.; HUANG, T.-S.; YAN, H.; HU, X.; REN, T. Novel pH-sensitive films based on starch/polyvinyl alcohol and food anthocyanins as a visual indicator of shrimp deterioration. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 145, p. 768–776, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.159.

ZHANG, Z.; SUN, Y.; SANG, S.; JIA, L.; OU, C. Emerging approach for fish freshness evaluation: principle, application and challenges. *Foods*, v. 11, n. 13, p. 1897, 2022. DOI: 10.3390/foods11131897.

ZHAO, X.; FENG, P.; DU, X.; CHEN, C.; SUO, L.; LIANG, M.; ZHANG, N.; ZHANG, Y. The prevention and inhibitory effect of anthocyanins on colorectal cancer. *Current Pharmaceutical Design*, v. 25, p. 4919–4927, 2019. DOI: 10.2174/1381612825666191212105145.

ZHU, J.; HE, S.; ZHOU, P.; ZI, J.; LIANG, J.; SONG, L.; YU, R. Eliciting effect of catharanthine on the biosynthesis of vallesiachotamine and isovallesiachotamine in *Catharanthus roseus* cambial meristematic cells. *Natural Products Communications*, v. 13, p. 1934578-1801300508, 2018. DOI: 10.1177/1934578X1801300508.

ZHUANG, Y.; RUAN, S.; YAO, H.; SUN, Y. Physical properties of composite films from tilapia skin collagen with *Pachyrhizus* starch and rambutan peel phenolics. *Marine Drugs*, v. 17, n. 12, p. 120–662, 2019. DOI: 10.3390/md17120662.

7.0 PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES ACADÊMICAS E SOCIAIS

O desenvolvimento deste estudo visa promover avanços significativos nas áreas de polímeros naturais, oferecendo uma alternativa para a substituição de plásticos comerciais, bem como no uso de corantes naturais. Ambas as áreas estão alinhadas com a crescente demanda por soluções sustentáveis, respondendo à tendência do mercado por produtos ecologicamente responsáveis.

Do ponto de vista das políticas públicas voltadas para a redução de resíduos alimentícios, o presente trabalho gera informações sobre o processamento de subprodutos de peixe, incluindo uma análise dos potenciais impactos socioeconômicos, ambientais e técnico-científicos relacionados à utilização desses subprodutos na produção de bioplásticos. O objetivo é fornecer subsídios que permitam às iniciativas públicas fomentar e incentivar o desenvolvimento de novas estratégias voltadas ao reaproveitamento de subprodutos agroindustriais.

Além disso, a integração com sistemas de inteligência artificial acessíveis, como aplicativos móveis, amplia o alcance da tecnologia, possibilitando sua aplicação tanto por indústrias quanto por consumidores.

Ademais, o trabalho demonstrou potencial para publicação e apresentação no CITAG, realizado em Bananeiras-PB, com o título: Extração de Antocianinas da Flor Boa-Noite (*Catharanthus roseus* G. Don): Comparação de Diferentes Métodos. Foi desenvolvido um aplicativo para monitoramento do frescor de peixe, como também a elaboração de dois artigos científicos, publicados em periódicos da área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, classificados em QUALIS A1. Por fim, está prevista a solicitação de registro de patente.

ANEXOS

Figura 1 –Comprovante submissão do projeto ao comitê de ética.

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA - CCS/UFPB									
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP									
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA Título da Pesquisa: FILME INTELIGENTE INCORPORADO COM ANTOCIANINAS DA FLOR DE Catharanthus roseus E SUA APLICABILIDADE NO MONITORAMENTO DO FRESCOR DE PEIXES POR MEIO DE APLICATIVO PARA SMARTPHONE Pesquisador: GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO Área Temática: Versão: 1 CAAE: 91340525.9.0000.5188 Instituição Proponente: Universidade Federal da Paraíba/Centro de Tecnologia Patrocinador Principal: Financiamento Próprio									
DADOS DO PARECER Número do Parecer: 7.864.648 Apresentação do Projeto: O projeto intitulado "FILME INTELIGENTE INCORPORADO COM ANTOCIANINAS DA FLOR DE Catharanthus roseus E SUA APLICABILIDADE NO MONITORAMENTO DO FRESCOR DE PEIXES POR MEIO DE APLICATIVO PARA SMARTPHONE", pertence ao PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, PPGCTA do CT/UFPB.									
Introdução: O desperdício de alimentos representa um problema global crítico, com impactos ecológicos, sociais e econômicos significativos. Estima-se que aproximadamente um terço dos alimentos produzidos para consumo humano seja descartado anualmente, totalizando cerca de 1,3 bilhão de toneladas (Prabhu et al., 2024). Esse desperdício não apenas intensifica as emissões de gases de efeito estufa e agrava a insegurança alimentar, mas também resulta em perdas econômicas superiores a US\$ 1 trilhão por ano, evidenciando ineficiências ao longo da cadeia de suprimentos (Arowosegbe et al., 2024). Projeções indicam que a população mundial crescerá aproximadamente 25% até 2050, atingindo cerca de 10 bilhões de pessoas (Arsenović, 2024). Esse aumento populacional deve intensificar a demanda por alimentos,									
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td colspan="2">Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar</td> </tr> <tr> <td>Bairro: Cidade Universitária</td> <td>CEP: 58.051-900</td> </tr> <tr> <td>UF: PB</td> <td>Município: JOAO PESSOA</td> </tr> <tr> <td>Telefone: (83)3216-7791</td> <td>Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br</td> </tr> </table>		Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar		Bairro: Cidade Universitária	CEP: 58.051-900	UF: PB	Município: JOAO PESSOA	Telefone: (83)3216-7791	Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br
Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar									
Bairro: Cidade Universitária	CEP: 58.051-900								
UF: PB	Município: JOAO PESSOA								
Telefone: (83)3216-7791	Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br								

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 7.864.648

especialmente proteínas altamente perecíveis, o que pode exacerbar ainda mais o desperdício alimentar (Sarangi et al., 2024). Diante desse cenário, garantir a sustentabilidade e a segurança alimentar torna-se uma prioridade global, impulsionando a busca por estratégias inovadoras para mitigar as perdas ao longo da cadeia produtiva. Entre as soluções emergentes, as embalagens inteligentes têm se destacado por sua eficácia, baixo custo e praticidade. Essas embalagens são projetadas para monitorar a qualidade dos produtos e fornecer informações em tempo real tanto para consumidores quanto para fabricantes, facilitando a tomada de decisões durante o armazenamento e transporte (Hasanin et al., 2024). Os métodos convencionais de avaliação do frescor dos alimentos, por sua vez, costumam ser complexos, onerosos e demorados, o que limita sua aplicabilidade em larga escala (Fernandez et al., 2022). Nesse contexto, os filmes indicadores colorimétricos surgem como uma alternativa promissora, pois são capazes de alterar sua coloração em resposta às variações de pH nos alimentos, oferecendo um meio eficiente e acessível de detecção precoce da deterioração. Atualmente, os filmes indicadores colorimétricos disponíveis no mercado utilizam corantes sintéticos sensíveis ao pH, como o azul de bromofenol e o vermelho de clorofenol. No entanto, esses corantes são compostos químicos que podem apresentar efeitos adversos à saúde humana (Khan et al., 2024). Em vista disso, tem-se intensificado a busca por corantes naturais. As antocianinas, pigmentos naturais não tóxicos sensíveis ao pH, surgem como uma alternativa viável para a fabricação de filmes indicadores colorimétricos, tendo sido empregadas em escala laboratorial para essa finalidade (Kumar et al., 2024). Estudos recentes indicam que as antocianinas podem ser eficazes como indicadores de frescor em embalagens alimentícias inteligentes (Wu et al., 2024; Khairuddin et al., 2024; Rashid et al., 2024). Assim, torna-se cada vez mais relevante explorar novas fontes de antocianinas e desenvolver filmes inteligentes altamente responsivos baseados em essas substâncias naturais. Diversas espécies florais têm sido identificadas como fontes potenciais de antocianinas, embora muitos desses recursos ainda sejam pouco explorados. Dentre elas, destacam-se as flores de *Clitoria ternatea* L. (clitória), *Echium amoenum* (borage), *Matthiola incana* (lavanda) e *Hibiscus rosa-sinensis* (hibisco), cujos pigmentos têm mostrado potencial para a produção de filmes indicadores colorimétricos para embalagens alimentícias (Salacheep et al., 2020; Zannou et al., 2021; Nuraini et al., 2020; Maciel et al., 2018). Um exemplo promissor é a flor *Catharanthus roseus* (L.) Don., conhecida popularmente como "boa-noite". Esta planta ornamental, que apresenta flores de tonalidades róseas ou brancas, é rica em compostos fenólicos, incluindo flavonoides, antocianinas, quercetina, malvidina e derivados do ácido cinâmico, tornando-a uma valiosa

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 7.864.648

fonte para a extração de pigmentos naturais (Santos et al., 2022). No que se refere ao monitoramento do frescor dos alimentos, atualmente, o processo é realizado de forma manual, com base na observação das mudanças de cor nas antocianinas, o que pode ser subjetivo. Diante disso, o presente estudo tem como objetivo desenvolver filme biodegradável inteligente, com extratos de antocianinas de *Catharanthus roseus*, para monitorar o frescor de postas de tilápia durante o armazenamento, utilizando um aplicativo de smartphone para detecção em tempo real da qualidade do peixe.

Hipótese: A incorporação de antocianinas da flor *Catharanthus roseus* para o desenvolvimento de filme inteligente permitirá monitorar o frescor das postas de tilápia, um produto perecível, e que um aplicativo de smartphone pode ser utilizado para melhorar a precisão da detecção das mudanças de cor.

Metodologia Proposta: A pesquisa tem caráter descritivo, exploratório e analítico, com foco na avaliação do frescor de filés de tilápia refrigerados, utilizando testes sensoriais, físico-químicos, microbiológicos e instrumentais, além do desenvolvimento de um filme inteligente com antocianina extraída da flor Boa Noite e de um miniprograma para smartphones. A análise sensorial será realizada no LASA/CT-UFPB, com avaliadores voluntários treinados e assinatura do TCLE. A antocianina será extraída por maceração em solução hidroalcoólica (etanol 75%) sob refrigeração ($5\pm^{\circ}\text{C}$), seguida de filtração e concentração em evaporador rotativo. O extrato será incorporado à formulação dos filmes, composta por pectina (2%), colágeno (2%) e glicerol (1%), elaborados via casting e secos a $50\pm^{\circ}\text{C}$. A cor dos filmes será analisada por colorimetria (parâmetros L^* , a^* , b^*) e sua sensibilidade a vapor de amônia avaliada em diferentes concentrações (0 ± 6000 ppm), com cálculo do λE . Filés de tilápia serão porcionados (100 g), embalados com o filme inteligente fixado na tampa ($1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$), e armazenados a $4\pm^{\circ}\text{C}$. As análises de frescor serão conduzidas nos dias 0, 2, 4, 6, 8 e 10, incluindo pH, N-BVT, TBARs, contagem bacteriana, textura, compostos voláteis, ROAV e análise sensorial. O N-BVT será determinado por destilação micro-Kjeldahl após extração com TCA 60 mL, titulado com HCl 0,01 N. A contagem total de bactérias usará diluições em água peptonada e semeadura em ágar padrão (APC). A oxidação lipídica será determinada por TBARs, com extração em TCA a 10% e reação com TBA, leitura a 532 nm. A textura será avaliada em cubos de 15 mm com analisador de textura (sonda P/5). Compostos voláteis serão extraídos por SPME com fibra PDMS/DVB e analisados por GC-MS com coluna HP-5 e detecção por EI. A identificação ocorrerá por comparação com biblioteca NIST e os resultados expressos em área relativa. O ROAV será

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 7.864.648

calculado para estimar a contribuição dos compostos voláteis no odor, utilizando fórmula baseada em concentração relativa e limiar de percepção. O treinamento sensorial será conduzido antes dos experimentos de acordo com dois padrões: 1) Diretrizes para avaliação sensorial de produtos aquáticos - GB/T 37062 2018 e 2) Análise sensorial, introdução à metodologia e treinamento para avaliadores sensoriais - GB/T 15549 2022. Vários padrões representativos referentes à cor, odor e textura das amostras serão coletados, e os avaliadores sensoriais serão solicitados a fazer descrições e avaliações de forma independente. Em seguida, os avaliadores sensoriais irão avaliar as amostras experimentais. As amostras serão avaliadas por 10 painelistas treinados e serão dispostas cruas, não será necessário o consumo por parte dos avaliadores, a avaliação será de forma visual e tátil. A avaliação sensorial será baseada em uma escala de dez pontos para determinar: odor (10, desejável; 1, inaceitável); cor (10, sem descoloração; 1, descoloração); textura (10, firme; 1, suave); e aceitabilidade geral (uma pontuação menor abaixo de 10 correspondia a uma qualidade mais inaceitável) (Bahram et al., 2016). Um miniprograma será desenvolvido para leitura inteligente do rótulo com base em extração de cores RGB via algoritmo de corte mediano. O sistema associará cores a níveis de frescor com base em banco de dados de N-BVT e cor. A estabilidade será testada em quatro smartphones diferentes

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Desenvolver filme biodegradável inteligente, com extratos de antocianinas de *Catharanthus roseus*, para monitorar o frescor de postas de tilápia durante o armazenamento, utilizando um aplicativo de smartphone para detecção em tempo real da qualidade do peixe.

Objetivo Secundário: Obter o extrato de antocianinas da flor *Catharanthus roseus*. Produzir bioplásticos de colágeno e pectina incorporados com extrato de antocianinas isolado das pétalas da flor *Catharanthus roseus*. Analisar a sensibilidade do filme inteligente em diferentes concentrações de amônia. Aplicar os filmes indicadores para monitorar o frescor do filé de tilápia sob refrigeração até sua deterioração. Correlacionar as variações de nitrogênio de bases voláteis totais (N-BVT), pH, oxidação lipídica, textura, compostos voláteis, microbiologia, atividade relativa de odor e análise sensorial com as mudanças de cor do filme. Definir faixa de frescor, sub frescor e deteriorado dos filés com base na cor do rótulo ao longo do

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 7.864.648

armazenamento. Desenvolver um sistema colorimétrico compatível com smartphones para monitorar a deterioração do peixe, fornecendo feedback em tempo real sobre seu frescor.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Esta pesquisa poderá causar riscos apenas aos consumidores que apresentarem alergia a algum dos ingredientes utilizados nos alimentos produzidos por esta pesquisa, contudo, estes serão imediatamente identificados pela ficha de identificação e hábitos do avaliador e através de conversa prévia entre os pesquisadores e os participantes, sendo estes excluídos da análise sensorial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa de natureza descritiva, exploratória e analítica, com abordagem quantitativa, que visa avaliar o frescor e a qualidade de filés de tilápia ao longo do armazenamento refrigerado, por meio de análises físico-químicas, microbiológicas, instrumentais e sensoriais, bem como desenvolver e validar um filme inteligente com corante natural (extraído da flor Boa Noite) para detecção de frescor do peixe, associado a um miniprograma de análise de cor por smartphone.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto em tela encontra-se dentro das Normas exigidas pela Resolução 466/12 e das Normativas Operacionais 001/13 do CEP!

Recomendações:

Recomenda-se aprovar

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado!

Considerações Finais a critério do CEP:

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa. Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar			
Bairro: Cidade Universitária	CEP: 58.051-900		
UF: PB	Município: JOAO PESSOA		
Telefone: (83)3216-7791	Fax: (83)3216-7791	E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br	

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 7.864.648

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2601588.pdf	16/08/2025 15:29:38		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	ANUENCIAsensorial.pdf	16/08/2025 15:28:53	GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartaAnuenciamicro.pdf	16/08/2025 15:24:49	GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoFinal.pdf	16/08/2025 15:13:41	GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	16/08/2025 15:12:44	GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO	Aceito
Orçamento	Orcamentofinal.pdf	16/08/2025 14:59:16	GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	16/08/2025 14:46:45	GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRostoassinado.pdf	16/08/2025 14:39:24	GABRIELLE INGRED BIZERRA FLORENTINO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOAO PESSOA, 26 de Setembro de 2025

Assinado por:
Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador(a))

Endereço: Campus I / Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br