



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS



NANOFIBRAS POLIMÉRICAS COM CORANTES NATURAIS COMO INDICADORES
COLORIMÉTRICOS DE pH

Eng^a Ana Luiza Machado Terra

Prof^a. Dr^a. Michele Greque de Moraes
Orientadora

Dr^a. Juliana Botelho Moreira
Coorientadora

Rio Grande, RS

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

NANOFIBRAS POLIMÉRICAS COM CORANTES NATURAIS COMO INDICADORES
COLORIMÉTRICOS DE pH

Eng^a Ana Luiza Machado Terra

Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para obtenção
do título de mestre em Engenharia
e Ciências de alimentos

Prof^a. Dr^a. Michele Greque de Moraes
Orientadora

Dr^a. Juliana Botelho Moreira
Coorientadora

Rio Grande, RS

2020

Ficha Catalográfica

T323n Terra, Ana Luiza Machado.

Nanofibras poliméricas com corantes naturais como indicadores colorimétricos de pH / Ana Luiza Machado Terra. – 2020.
109 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2020.

Orientadora: Dra. Michele Greque de Moraes.

Coorientadora: Dra. Juliana Botelho Moreira.

1. Curcumina 2. *Electrospinning* 3. Ficocianina 4. Indicador
5. Nanofibras Colorimétricas 6. Poliprolactona 7. Poli (óxido de etileno) 8. Quercetina 9. Tempo-pH I. Moraes, Michele Greque de II. Moreira, Juliana Botelho III. Título.

CDU 338.45

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Ana Luiza Machado Terra e aprovada em 21 de maio de 2020, pela Comissão Examinadora constituída pelos membros:



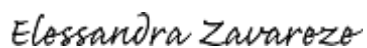
Profa. Dra. Michele Greque Moraes - FURG



Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa - FURG



Profa. Dra. Susan Hartwig Duarte – FURG



Profa. Dra. Elessandra da Rosa Zavareze – FURG

Dedico este trabalho a minha família
por todo amor, compreensão, apoio e presença constante
em todos os caminhos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado o dom da vida, por ter acolhido a minha alma tantas vezes e por permitir realizar mais um sonho.

Aos meus pais Luiz Carlos Terra e Jaqueline Machado por terem me dado não somente a vida, como também as suas vidas. Obrigada por todo amor, ensinamentos, zelo e respeito. Amo muito vocês.

Aos meus irmãos Matheus Terra, Angelo Terra e Maria Auxília Terra por estarem sempre presentes na minha vida e me presentearam com os meus sobrinhos/filhos que eu amo tanto.

À minha família, tios, primos, cunhados e sobrinhos, que sempre estiveram ao meu lado me dando amor incondicional.

Às minhas irmãs de alma Carolina Sá, Daiane Schmatz, Juliana Zilli e Lucia Rivero obrigada por acreditarem em mim, apoiarem as minhas decisões e estarem ao meu lado em todos os momentos da vida.

Aos grandes amigos que fiz no mestrado, minha cúpula do PPGECA, Bruna Moura, Mayke Ochner, Pedro Garcia, Francisco Leal e Nathieli Souza que me deram tanta força para continuar. Obrigada pelas conversas, pela paciência, conselhos e carinho.

Ao meu namorado Leonardo Nunes Mendonça obrigada pela paciência, companheirismo, por todo amor e respeito.

Aos técnicos Adriano Arruda e Roque Zílio por me auxiliarem na realização deste trabalho.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica do Sul (CEME-SUL), Centro Integrado de Análises (CIA) e Laboratório de Tecnologia Industrial (LTI) que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho através de equipamentos e profissionais capacitados.

Aos colegas do Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB), principalmente Luiza Moraes e Gabriel da Rosa que sempre foram prestativos e incansáveis em me ajudar.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica (MiBi), Adriano Arruda, Allana Comitre, Bruna Vaz, Bruna Vargas, Cleber Klasener, Juliana Moreira, Roberta Kosinski e Suelen Kuntzler obrigada pelo incentivo, conversas, risadas, churrascos e por serem muito mais que colegas, serem família. E família quer dizer nunca abandonar ou esquecer.

Aos meus queridos iniciantes científicos Raphael Cruz e Sabrina Borba obrigada por amizade, prestatividade e por sempre me auxiliarem com muito profissionalismo e dedicação.

Aos amigos e colegas Igor Gonçalves, Vagner Braga, Vanessa Coelho, Juliana Botelho Moreira e Lenon Bauer com quem tive o prazer de dividir a bancada e a vida.

À minha querida Coorientadora Juliana Botelho Moreira, obrigada por toda a dedicação e carinho comigo e com a realização deste trabalho. Obrigada por ser a minha ouvinte, confidente, minha amiga e irmã que tanto me auxiliou nessa caminhada da vida.

Aos meus queridos orientadores Michele Greque de Moraes e Jorge Alberto Vieira Costa, obrigada por fazerem parte da minha vida profissional e pessoal. Obrigada pela amizade, por todo aprendizado que me proporcionaram, pelas conversas, conselhos e incentivo. Mas acima de tudo, obrigada por me apoiarem e acreditarem no meu potencial.

À CAPES, CNPq e MCTIC pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal do Rio Grande - FURG, por proporcionar infraestrutura para o desenvolvimento deste trabalho, pelo ensino gratuito e de qualidade. Estendo o meu agradecimento à todos professores e funcionários com os quais convivi.

E gostaria de agradecer a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, para a minha formação como profissional e ser humano, a minha eterna gratidão.

*“Não espere por oportunidades extraordinárias.
Agarre ocasiões comuns e as faça grandes. Homens
fracos esperam por oportunidades; homens fortes as
criam.”*

Orison Swett Marden

NOMENCLATURA

Cc – curcumina

Fc – ficocianina

PCL – poliprolactona

PEO – poli (óxido de etileno)

Qc – quercetina

RFID – Identificação por rádio frequência

ITT – Indicador de tempo-temperatura

T_{id} – Temperatura inicial de degradação

T_f – Temperatura de fusão

ΔE – Variação total de cor

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1 - CINÉTICA DE VARIAÇÃO DE COR DE INDICADORES DE pH DESENVOLVIDOS A PARTIR DE NANOFIBRAS CONTENDO CORANTES NATURAIS

Tabela 1 - Temperatura inicial de degradação (T_{id}), temperatura final de degradação (T_{fd}), temperatura máxima de degradação (T_m), temperatura de fusão (T_f) e viscosidade (ν) das nanofibras poliméricas com curcumina (Cc), ficocianina (Fc) e quercetina (Qc) 63

Tabela 2 - Mudança de cor (ΔE) das membranas poliméricas de PCL/PEO adicionadas de 2% ($m\ v^{-1}$) de curcumina + 0,5% ($m\ v^{-1}$) de ficocianina e 2% ($m\ v^{-1}$) de ficocianina em diferentes pHs 66

ARTIGO 2 - POTENCIAL DE IRREVERSIBILIDADE DE COR DOS INDICADORES COLORIMÉTRICOS DE NANOFIBRAS CONTENDO FICOCIANINA

Tabela 1 - Temperatura inicial (T_i), final (T_f) e máxima (T_m) de degradação, temperatura de fusão (T_{fs}) dos polímeros, ficocianina (Fc) e das nanofibras de PCL/PEO com ficocianina 83

Tabela 2 - Mudança de cor (ΔE) das membranas poliméricas de PCL/PEO adicionadas de ficocianina em diferentes pHs 86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama esquemático da interação da embalagem inteligente com o consumido.	33
Figura 2 - Estrutura química da curcumina.	43
Figura 3 - Estrutura química da ficocianina.	44
Figura 4 - Estrutura química da quercetina.	45
Figura 5 - Estrutura química do policaprolactona – PCL.	46
Figura 6 - Estrutura química do Óxido de polietileno – PEO.	47
Figura 7 - Representação esquemática da técnica de <i>electrospinning</i> .	48

ARTIGO 1 - CINÉTICA DE VARIAÇÃO DE COR DE INDICADORES DE pH DESENVOLVIDOS A PARTIR DE NANOFIBRAS CONTENDO CORANTES NATURAIS

Figura 1 – Coloração das amostras de soluções de (a) 1% ficocianina; (b) 2% ficocianina; (c) 2% curcumina; (d) 2% curcumina + 0,5% ficocianina; (e) 2% curcumina + 1% ficocianina; (f) 2% quercetina; (g) 2% quercetina + 0,5% ficocianina e; (h) 2% quercetina + 1% ficocianina expostas a pH de 1 a 10	60
Figura 2 – Nanofibras de PCL/PEO (m v^{-1}) (a) sem biocompostos; e com (b) 1% ficocianina; (c) 2% ficocianina; (d) 2% curcumina; (e) 2% curcumina + 0,5% ficocianina; (f) 2% curcumina + 1% ficocianina; (g) 2% quercetina; (h) 2% quercetina + 0,5% ficocianina e; (i) 2% quercetina + 1% ficocianina	61
Figura 3 – Imagem da gota formada na análise de ângulo de contato sobre a superfície das nanofibras de PCL/PEO (a) sem biocompostos; e com (b) 1,0% ficocianina; (c) 2,0% ficocianina; (d) 2% curcumina; (e) 2% curcumina + 0,5% ficocianina; (f) 2% curcumina + 1,0% ficocianina	65
Figura 4 – Cinética de variação de cor para as condições de nanofibra de PCL/PEO com (m v^{-1}) (●) 2% ficocianina e (□) 2% curcumina + 0,5% ficocianina em diferentes soluções de pH (a) 2; (b) 3; (c) 4; (d) 5; (e) 6 e (f) 7	69

ARTIGO 2 - POTENCIAL DE IRREVERSIBILIDADE DE COR DOS INDICADORES COLORIMÉTRICOS DE NANOFIBRAS CONTENDO FICOCIANINA

Figura 1 – Nanofibras desenvolvidas em diferentes concentrações poliméricas para testes preliminares com 1% (m v^{-1}) de ficocianina e (a) 13% PEO; (b) 13% PCL; (c) 13% PCL / 3% PEO e; (d) 13% PCL / 6% PEO	80
Figura 2 – Morfologia das nanofibras de 13% PCL/6% PEO desenvolvidas com (a) 0%; (b) 0,5%; (c) 1% e (d) 2% (m v^{-1}) de ficocianina	81
Figura 3 - Ângulo de contato e imagem da gota formada sobre a superfície das nanofibras de PCL/PEO com adição de ficocianina em (a) 0%; (b) 0,5%; (c) 1% e (d) 2%	84
Figura 4 – Teste de irreversibilidade de cor (ΔE) das membranas de PCL/PEO nas adições de (□) 1 e (■) 2% (m v^{-1}) de ficocianina nos pHs 3 à 6	89

SUMÁRIO

NOMENCLATURA	13
LISTA DE TABELAS.....	15
LISTA DE FIGURAS.....	17
 CAPÍTULO I	 22
RESUMO GERAL	23
ABSTRACT	25
1 INTRODUÇÃO GERAL	27
2 OBJETIVOS.....	29
2.1 OBJETIVO GERAL	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
 CAPÍTULO II.....	 30
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
3.1 EMBALAGEM CONVENCIONAL DE ALIMENTOS x EMBALAGEM INTELIGENTE	31
3.2 NANOTECNOLOGIA.....	33
3.3 SEGURANÇA ALIMENTAR x NANOTECNOLOGIA	34
3.4 INDICADORES E DISPOSITIVOS PARA MONITORAMENTO EM ALIMENTOS.....	36
3.4.1 Indicador de Tempo-Temperatura (ITT)	36
3.4.2 Indicadores de Tempo-pH	37
3.4.3 Dispositivos de Identificação por Rádio Frequência (RFID)	37
3.4.4 Dispositivos sensores e biossensores.....	38
3.5 ESTUDO DE POTENCIAIS INDICADORES E DISPOSITIVOS INTELIGENTES	39
3.6 PRODUÇÃO DE EMBALAGENS INTELIGENTES COMERCIAIS NANOTECNOLÓGICAS.....	41
3.7 CORANTES NATURAIS: CARACTERÍSTICAS E ESTABILIDADE.....	42
3.7.1 Curcumina	42
3.7.2 Ficocianina	43
3.7.3 Quercetina.....	44
3.8 POLÍMEROS	45
3.9 DESENVOLVIMENTO DE NANOFIBRAS POR ELECTROSPINNING	47
3.9.1 Parâmetros do processo	48
3.9.2 Propriedades da solução polimérica	49
3.9.3 Condições ambientais	50
3.10 HISTÓRICO DE PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS	50
 CAPÍTULO III	 52
4 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO.....	53
 ARTIGO 1 - CINÉTICA DE VARIAÇÃO DE COR DE INDICADORES DE pH DESENVOLVIDOS A PARTIR DE NANOFIBRAS CONTENDO CORANTES NATURAIS	 54
 RESUMO.....	 55
1 INTRODUÇÃO.....	55
2 MATERIAL E MÉTODOS	57
2.1 MATERIAL	57

2.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES POLIMÉRICAS E <i>ELECTROSPINNING</i>	57
2.3 MORFOLOGIA E DIÂMETRO	57
2.4 ANÁLISES TÉRMICAS.....	58
2.5 HIDROFILICIDADE DAS NANOFIBRAS.....	58
2.6 PREPARO DOS PROTÓTIPOS DOS INDICADORES DE TEMPO-pH.....	58
2.7 PARÂMETROS DE COR DAS NANOFIBRAS	58
2.8 CINÉTICA DE VARIAÇÃO DE COR DAS NANOFIBRAS	59
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
3.1 PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS DE PCL/PEO CONTENDO CORANTES NATURAIS	59
3.2 PROPRIEDADES TÉRMICAS E HIDROFILICIDADE DAS NANOFIBRAS	62
3.3 PARÂMETROS DE COR DAS NANOFIBRAS	65
3.4 CINÉTICA DE VARIAÇÃO DE COR DAS NANOFIBRAS	68
4 CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	71
 ARTIGO 2 - POTENCIAL DE IRREVERSIBILIDADE DE COR DOS INDICADORES COLORIMÉTRICOS DE NANOFIBRAS CONTENDO FICOCIANINA	 74
RESUMO	75
1 INTRODUÇÃO	75
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	76
2.1 MATERIAL.....	76
2.2 SOLUÇÕES POLIMÉRICAS E PARÂMETROS DO <i>ELECTROSPINNING</i>	76
2.3 MORFOLOGIA E DIÂMETRO MÉDIO.....	77
2.4 ANÁLISES TÉRMICAS.....	77
2.5 MOLHABILIDADE DAS NANOFIBRAS	78
2.6 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DA FICOCIANINA NAS NANOFIBRAS ..	78
2.7 PARÂMETROS DE COR DAS NANOFIBRAS	78
2.8 AVALIAÇÃO DA IRREVERSIBILIDADE DE COR DAS NANOFIBRAS	79
3 RESULTADO E DISCUSSÃO	79
3.1 DEFINIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO POLIMÉRICA DAS SOLUÇÕES.....	79
3.2 MORFOLOGIA, DIÂMETRO, VISCOSIDADE E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO (EE).....	80
3.3 PROPRIEDADES TÉRMICAS E MOLHABILIDADE DAS NANOFIBRAS.....	82
3.4 PARÂMETROS DE COR DAS NANOFIBRAS	85
3.5 AVALIAÇÃO DA IRREVERSIBILIDADE DE COR DAS NANOFIBRAS	87
4 CONCLUSÃO	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
 CAPITULO IV	 92
5 CONCLUSÃO GERAL.....	93
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	94
 CAPITULO V.....	 96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
APÊNDICE.....	109

CAPÍTULO I

RESUMO GERAL

As pesquisas para desenvolvimento e aplicação da nanotecnologia na ciência de alimentos vem avançando a fim de assegurar a qualidade dos produtos alimentícios. A nanotecnologia pode ser aplicada à indústria de alimentos para produção, processamento, armazenamento e controle de qualidade dos alimentos. Os nanomateriais têm sido utilizados para produção de embalagem inteligente na detecção de alterações que comprometem a qualidade dos alimentos. Nanoindicadores e nanodispositivos são sistemas inteligentes de embalagem que permitem sinalizar possível contaminação microbiológica e variações nos parâmetros físico-químicos de alimentos de forma dinâmica e sensível. Esses nanomateriais podem ser produzidos a partir de nanofibras as quais vão monitorar a qualidade físico-química do produto, garantindo alimentos seguros e livres de contaminações, aumentando assim a aceitabilidade do alimento pelo consumidor. Neste contexto, este trabalho descreve o desenvolvimento e avaliação de nanofibras poliméricas adicionadas de corantes naturais como curcumina, quercetina e ficocianina com potencial aplicação como indicadores de tempo-pH, para monitoramento da qualidade de alimentos. As nanofibras foram desenvolvidas a partir da técnica de *electrospinning* com soluções poliméricas de 13% (m v⁻¹) de poliprolactona (PCL) e 6% (m v⁻¹) de poli (óxido de etileno) (PEO) em clorofórmio e água destilada (8:2). Os corantes naturais adicionados foram curcumina, quercetina ou ficocianina nas concentrações de 2, 3 e 4% (m v⁻¹). Soluções com 2% (m v⁻¹) de curcumina com adição de 0,5, 1 e 2% (m v⁻¹) de ficocianina e, 2% (m v⁻¹) de quercetina com adição de 0,5, 1 e 2% (m v⁻¹) de ficocianina também foram preparadas. As nanofibras foram avaliadas quanto aos parâmetros físico-químicos das nanofibras obtidas, como diâmetro médio, viscosidade, transições endo e exotérmicas e molhabilidade. Também foram avaliados o potencial de irreversibilidade da coloração, eficiência de cor e cinética de variação de cor (ΔE) que foi realizada por 24 h, utilizando soluções tampão (pH 2 ao 7). O diâmetro médio das nanofibras foram de $691,2 \pm 122,6$ nm, sendo que o menor foi obtido na condição com 2% (m v⁻¹) de curcumina, 550 ± 117 nm. A análise de molhabilidade mostrou que a nanofibra com 2% (m v⁻¹) de ficocianina apresentou caráter hidrofóbico, $95,4 \pm 0,2^\circ$, o que pode ter influenciado na obtenção dos melhores resultados de eficiência de cor onde, pois após 20 h de análise a coloração manteve-se estável. O indicador com 2% (m v⁻¹) de ficocianina também apresentou resultados superiores de variação de cor, entre 15,5 a 21,4, nas faixas de pH 3 ao 6 quando comparado aos valores obtidos com o indicador de curcumina com 0,5% (m v⁻¹) de ficocianina. Em testes de irreversibilidade da cor essa condição não retrocedeu para a coloração inicial, após aproximadamente 10 min de análise, confirmando que os indicadores não podem sofrer adulterações. Com estes resultados, as nanofibras de 13% de PCL e 6% de PEO contendo 2% (m v⁻¹) de ficocianina mostrou ser alternativa promissora para aplicação como indicadores de tempo-pH, em embalagens para o monitoramento da viabilidade de alimentos perecíveis.

Palavras-chave: Curcumina. *Electrospinning*. Ficocianina. Indicador. Nanofibras colorimétricas. Poliprolactona. Poli (óxido de etileno). Quercetina. Tempo-pH.

POLYMERIC NANOFIBERS WITH CURCUMIN, PHYCOCYANINE AND KERCITINE AS pH COLORIMETRIC INDICATORS

ABSTRACT

Research for the development and application of nanotechnology in food science has been advancing in order to ensure the quality of food products. Nanotechnology can be applied to the food industry for the production, processing, storage and quality control of food. Nanomaterials have been used to produce smart packaging to detect changes that compromise food quality. Nanoindicators and nanodevices are intelligent packaging systems that allow to signal possible microbiological contamination and variations in the physical-chemical parameters of food in a dynamic and sensitive way. These nanomaterials can be produced from nanofibers which will monitor the physical-chemical quality of the product, guaranteeing safe and contamination-free food, thus increasing the acceptability of the food by the consumer. In this context, this work describes the development and evaluation of polymeric nanofibers added with natural dyes such as curcumin, quercetin and phycocyanin with potential application as time-pH indicators, for monitoring food quality. The nanofibers were developed using the electrospinning technique with polymeric solutions of 13% (m v⁻¹) polyprolactone (PCL) and 6% (m v⁻¹) poly (ethylene oxide) (PEO) in chloroform and distilled water (8:2). The natural dyes added were curcumin, quercetin or phycocyanin in concentrations of 2, 3 and 4% (m v⁻¹). Solutions with 2% (m v⁻¹) of curcumin with addition of 0.5, 1 and 2% (m v⁻¹) of phycocyanin and, 2% (m v⁻¹) of quercetin with addition of 0.5, 1 and 2 % (m v⁻¹) of phycocyanin were also prepared. The nanofibers were evaluated for the physical-chemical parameters of the obtained nanofibers, such as average diameter, viscosity, endo and exothermic transitions and wettability. The potential for color irreversibility, color efficiency and color variation kinetics (ΔE) were also evaluated for 24 h, using buffer solutions (pH 2 to 7). The average diameter of the nanofibers was 691.2 ± 122.6 nm, the smallest being obtained in the condition with 2% (m v⁻¹) of curcumin, 550 ± 117 nm. The wettability analysis showed that the nanofiber with 2% (m v⁻¹) of phycocyanin had a hydrophobic character, $95.4 \pm 0.2^\circ$, which may have influenced the achievement of the best color efficiency results where, after 20 h analysis the color remained stable. The indicator with 2% (m v⁻¹) of phycocyanin also showed superior results of color variation, between 15.5 to 21.4, in the pH ranges 3 to 6 when compared to the values obtained with the curcumin indicator with 0, 5% (m v⁻¹) of phycocyanin. In color irreversibility tests, this condition did not return to the initial color, after approximately 10 min of analysis, confirming that the indicators cannot be tampered with. With these results, the nanofibers of 13% PCL and 6% PEO containing 2% (m v⁻¹) of phycocyanin showed to be a promising alternative for application as time-pH indicators, in packages for monitoring the viability of perishable foods.

Keywords: Curcumin. Electrospinning. Phycocyanin. Indicator. Quercetin. Colorimetric nanofibers. Polyprolactone. Poly (ethylene oxide). Time-pH.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A embalagem convencional de alimentos tem por função a preservação da qualidade dos produtos durante o processamento e distribuição até o consumidor. No entanto, a perda da qualidade do alimento ocorre, principalmente, na distribuição e no seu armazenamento. Isso ocorre por meio da degradação biológica, química e física ocasionados pelo acondicionamento inadequado dos produtos alimentícios (HAN, 2013). Assim, embalagens com funções adicionais, como monitoramento da viabilidade do alimento, estão sendo desenvolvidas a partir da ciência e tecnologia. Embalagens definidas como inteligentes possuem função de monitorar as mudanças nos ambientes interno e externo e, assim, evidenciar as condições do produto alimentício embalado, afim de facilitar a tomada de decisão pelo consumidor sobre a qualidade do alimento adquirido (YAM, 2012).

A nanotecnologia torna-se alternativa promissora no desenvolvimento de embalagens inteligentes, podendo fornecer produtos com melhores características e novas funcionalidades, devido à maior área de contato, auxiliando na melhoria da qualidade e segurança dos alimentos (NEETHIRAJAN; JAYAS, 2011). Sistemas indicadores e dispositivos transmitem ao consumidor informações sobre a presença de certas substâncias, o pH do meio, histórico de temperatura e presença de gases. Na maioria das vezes, essas informações são evidenciadas através de alterações visuais imediatas, por exemplo, diferentes intensidades de cor ou a difusão do corante ao longo da geometria do indicador. Uma característica distinta desses sistemas é o tipo de informação fornecida que pode ser tanto de natureza qualitativa (indicadores) quanto semiquantitativa (dispositivos) (O'GRADY; KERRY, 2008).

Diversos processos podem ser utilizados para produção de nanomateriais, como separação por fases (ZHAO et al., 2013), automontagem (*self-assembly*) (KOGA, 2011), síntese de modelos (HUANG; LI; WANG, 2013), desenho (*drawing*) (SUZUKI; ARINO, 2012). Entretanto, estes métodos possuem design mais complexo o que pode afetar na reprodutibilidade dos resultados no aumento de escala, dificultando assim a aplicação industrial. A técnica de *electrospinning* permite a formação de nanofibras poliméricas com elevada repetibilidade, facilidade na ampliação de escala do processo e produção de nanofibras longas e uniformes. Além disso, a técnica de *electrospinning* permite produzir nanofibras com propriedades e funções desejadas, que dependem das condições experimentais utilizadas, como morfologia, alta área superficial, estrutura porosa controlável e capacidade de encapsulação de compostos. Além disso, possui alta capacidade em formar nanofibras

semipermeáveis, o que desperta interesse no desenvolvimento de embalagens inteligentes quando deseja-se aplicar em alimentos líquidos ou semissólidos (AZEREDO, 2012).

As nanofibras resultantes do processo de *electrospinning* podem ser obtidas com a utilização de diferentes polímeros. Os polímeros podem ser sintéticos, porém necessitam ser atóxicos ao meio ambiente como também a células e tecidos humanos e de animais. Neste contexto, destaca-se o polímero policaprolactona (PCL), oriundo do petróleo, que é poliéster alifático biodegradável devido possuir cadeias carbônicas hidrolisáveis, propriedades mecânicas e cinéticas de degradação adequadas quando descartado ao meio ambiente. Além disso, este polímero é aprovado pelo FDA para aplicação em embalagem de alimentos, pois apresenta biocompatibilidade e baixa toxicidade a células e tecidos. Para otimizar a aplicação das nanofibras de PCL e melhorar as propriedades mecânicas do indicador, este polímero pode formar blenda com outros polímeros como o poli (óxido de etileno) (PEO), podendo gerar nanofibras com caráter hidrofílico (HONARBAKHS; POURDEYHIMI, 2011). O PEO é um homopolímero, também oriundo do petróleo, e pode ser rapidamente degradável quando descartado ao ambiente devido sua cadeia carbônica ser facilmente hidrolisável.

Os sistemas indicadores são constituídos por corantes integrados à matriz polimérica, sendo esses suficientemente sensíveis às variações a que são destinados, como por exemplo de pH. A escolha do tipo de corante para o desenvolvimento de indicadores de pH é etapa crucial para o desenvolvimento de indicadores colorimétricos, pois necessitam ser sensíveis suficientemente as variações de pH do meio e, serem atóxicos ao ambiente e as células e tecidos. Corantes sintéticos comumente utilizados para este fim, estão sendo relacionados a efeitos tóxicos, devido ao efeito de acúmulo no organismo humano. Com isso, optou-se pela aplicação de corantes naturais que são facilmente degradados no ambiente e ainda são atóxicos a células e tecidos.

Corantes naturais tanto obtidos de fontes hortícolas (frutos, hortaliças, árvores, arbustos e flores) como curcumina e quercetina, como também de fontes microbianas, como da microalga *Spirulina* sp. onde pode ser extraído o pigmento de ficocianina, os quais podem ser empregados em tais indicadores. Esses corantes naturais podem ser utilizados como embalagens inteligentes em alimentos, pois não apresentam toxicidade a células e tecidos humanos e de animais. Além disso, as instabilidades das moléculas de curcumina, ficocianina e quercetina frente as variações de pH do meio, pode ser importante propriedade para aplicação na produção de indicadores tempo-pH (KUSWANDI et al., 2014; JANJARASSKUL; SUPPAKUL, 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver nanofibras contendo corantes naturais como curcumina, quercetina e ficocianina para aplicação como indicadores de tempo-pH com potencial aplicação no monitoramento da qualidade de alimentos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar o desenvolvimento de nanofibras com os corantes naturais e determinar a blenda com potencial diferenciação de cor.
- Avaliar a cinética quanto a eficiência e amplitude de coloração do indicador em diferentes condições de pH por 24 h.
- Estimar o potencial de irreversibilidade de cor dos indicadores colorimétricos.

CAPÍTULO II

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 EMBALAGEM CONVENCIONAL DE ALIMENTOS x EMBALAGEM INTELIGENTE

As embalagens tradicionais de alimentos possuem a finalidade de preservar as características e aumentar a segurança dos produtos. As embalagens atuam como barreira inerte entre o alimento e o ambiente (luz, umidade e oxigênio), evitando contaminações microbiológicas e alterações químicas e físicas, permitindo ampla distribuição (BIJI et al., 2015). Além de proteger e conservar os alimentos, as embalagens desempenham funções de comunicação com o consumidor através do *marketing*, informações nutricionais e dados de fabricação. Desta forma, as embalagens tradicionais passaram a conservar, expor os produtos e por fim atrair o consumidor por meio de seus aspectos visuais e comunicativos (KOEIJER; LANGE; WEVER, 2017; MCMILLIN, 2017).

As embalagens tradicionais podem ser classificadas de acordo com a funcionalidade ou a produção. De acordo com a funcionalidade, as embalagens são classificadas em primárias, secundárias ou terciárias. As embalagens primárias entram em contato direto com o alimento. As secundárias facilitam a manipulação e a apresentação do produto, podendo exercer também a função de proteger a embalagem primária, em seu interior, evitando choques e vibrações excessivas. As embalagens terciárias protegem o produto durante as fases do transporte e armazenamento (GRUNDEY, 2010). Embalagens classificadas de acordo com a produção podem ser do tipo laminadas, cartonadas ou multicamadas. As laminadas são formadas pela sobreposição de materiais, como filmes plásticos, metalizado e/ou papéis. Contudo, quando uma das camadas é constituída por papel cartão, estas são denominadas de cartonadas. Quando a embalagem possui mais de duas camadas, são chamadas de multicamadas. Esta variedade de materiais utilizados para compor a embalagem, visa ampliar a gama de produtos que podem ser embalados (BUCCI; TAVARES; SELL, 2005). Contudo, o aumento da demanda de alimentos seguros pelos consumidores implica em produção de embalagens com funções adicionais, como monitoramento da viabilidade, estão sendo desenvolvidas a partir da ciência e tecnologia.

Assim, sistemas inteligentes tornam-se extensão da função tradicional da embalagem, pois são desenvolvidos com a finalidade de estabelecer estratégias de redução, ou ainda, eliminação da ocorrência de alimentos inapropriados para o consumo. Embalagens inteligentes atuam como adjunto na promoção da qualidade e reforçando a segurança alimentar (SHIVAKUMAR; MADHUSUDAN; DANIEL, 2018). A utilização desses sistemas

pode beneficiar a expansão do mercado no contexto da globalização, pois auxilia no monitoramento de regulamentações nacionais e internacionais rigorosas de segurança alimentar (SCHAEFER; CHEUNG, 2018). Portanto, a aplicação de embalagens inteligentes em produtos alimentícios pode representar avanços afim de evitar desperdícios e adulterações dos mesmos, melhorando a logística e a rastreabilidade dos produtos (MÜLLER; SCHMID, 2019).

Segundo a Comissão de Regulamentação Europeia (EC/450/2009), as embalagens inteligentes são definidas como sistemas indicadores, internos ou externos, capazes de detectar traços ou sinais acompanhando constantemente a vida útil dos alimentos (parâmetros físico-químicos e bioquímicos). Além disso, esses sistemas monitoram o ambiente (temperatura) e/ou da integridade da embalagem (oxigênio, dióxido de carbono e umidade) durante o processamento, transporte e armazenamento dos alimentos (WANG et al., 2018).

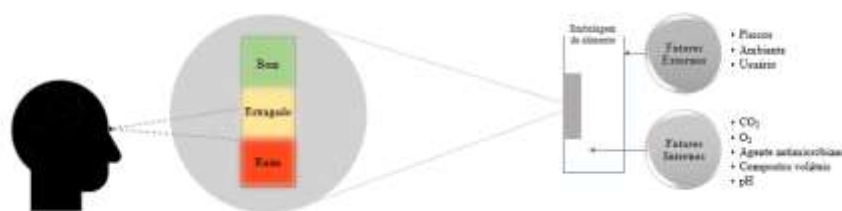
Os sistemas indicadores das embalagens inteligentes são compostos por componentes ativos, que podem ser produzidos a partir da nanotecnologia. Esses compostos interagem com fatores internos à embalagem (componentes de alimentos, CO₂, O₂, agentes antimicrobianos, compostos voláteis) e/ou fatores ambientais externos (físicos, do ambiente e do usuário) (YILDIRIM et al., 2017; SHARMA et al., 2017). Como resultado da interação entre esses fatores com o indicador, ocorrerá alteração visual do mesmo frente às condições que a embalagem sofrerá (Figura 1). Isso contribuirá para o melhoramento dos sistemas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), funcionalidade de anti-falsificação dos produtos, análise de qualidade e controle crítico. Além disso, as embalagens inteligentes asseguram a efetividade da segurança alimentar e melhoram a conveniência e a satisfação do consumidor (FANG et al., 2017).

Os sistemas inteligentes são classificados de acordo com o parâmetro monitorado, podendo ser indicadores de tempo-temperatura, tempo-pH, detectores de gás, indicadores de tempo-pH e/ou amadurecimento e sistemas de identificação por rádio frequência. Os dispositivos e indicadores informam sobre mudanças detectada no produto ou em seu ambiente, por exemplo, mudança na temperatura ou no pH (SOHAIL; SUN; ZHU, 2018). Sistemas indicadores demandam que o consumidor interprete a medição para que, a partir dessa resposta, possa tomar a decisão de compra ou não do produto (MAJID et al., 2016). Os dispositivos detectam e transformam uma variável física ou química, de interesse, em um formato passível de medição por instrumentação (MOMIN; JOSHI, 2015).

As funcionalidades adicionais das embalagens inteligentes nos produtos alimentícios referem-se a (a) reter a integridade da embalagem, evitando a perda ou

adulteração do produto; (b) melhorar os atributos do produto (como aparência, sabor, aroma, viscosidade e textura); (c) mensurar na embalagem às possíveis variações no ambiente (fatores internos e externos) do produto; (d) comunicar informações e histórico do produto ou condição aos consumidores; e (e) assegurar a autenticidade ou falsificação dos produtos (PAL; DEVRANI; HADUSH, 2019; MÜLLER; SCHMID, 2019).

Figura 1 - Diagrama esquemático da interação da embalagem inteligente com o consumidor.



3.2 NANOTECNOLOGIA

A nanotecnologia foi definida pelo pesquisador Norio Taniguchi, da Universidade de Ciência de Tóquio (Japão), como a tecnologia capaz de produzir materiais através da manipulação em níveis atômico, molecular ou macromolecular (TANIGUCHI, 1974). Com o avanço da nanotecnologia, estão sendo desenvolvidos estruturas e materiais com novas características e funções, tais como nanotubos (WANG et al., 2019), nanocapacitores (BHATTACHARYA; SARKAR, 2016), nanoporos (YANG et al., 2017), nanoplacas (SHENDAGE et al., 2017), nanofibras (MOREIRA et al., 2018), nanocápsulas (QIU et al., 2020) e nanoesferas (DONG et al., 2017).

As dimensões em nanômetros proporcionam a estes materiais maior superfície de contato e maior reatividade, quando comparados a materiais na escala macrométrica. Isso possibilita propriedades diferenciadas aos nanomateriais, como melhor resistência mecânica, estabilidade térmica e condutividade elétrica (FORTINA et al., 2005). Assim, maior número de biomoléculas pode ser imobilizadas e, conseqüentemente, aumenta-se o número de sítios reacionais disponíveis para interação com uma espécie alvo. Os nanomateriais tornam-se adequados para o desenvolvimento de nanosensores que auxiliam na detecção de mudanças físico-químicas dos alimentos que ocorrem dentro da embalagem (BATOOL et al., 2019).

A aplicação do nanomaterial como indicadores e dispositivos de monitoramento torna-se promissora, uma vez que esta matriz possui alta sensibilidade, melhores tempos de resposta e maior confiabilidade para a detecção da viabilidade de alimentos processados e/ou

embalados (KING; OSMOND-MCLE; DUFFY, 2018). Devido a estas habilidades e a tendência global pela produção de alimentos seguros, o setor de desenvolvimento de sistemas avançados de embalagens inteligentes está em constante evolução. Estas técnicas nanotecnológicas podem atender às necessidades dos consumidores, devido a fornecer *feedback* mais dinâmico e interativo sobre a qualidade do produto em tempo real (NURA, 2018; THIRUVENGADAM; RAJAKUMAR; CHUNG, 2018).

Técnicas de produção de nanomateriais, como *electrospinning* e *electrospraying*, têm sido estudadas por apresentarem possibilidade de produção em escala industrial. Além disso, não é necessária a utilização de elevada temperatura o que mantém as características funcionais do composto incorporado às nanofibras (FIGUEIRA et al., 2016). As técnicas consistem na aplicação de alto potencial elétrico na solução polimérica, podendo serem ejetadas (*electrospinning*) ou ainda pulverizadas (*electrospraying*), através do capilar para o coletor produzindo nanofibras ou nanopartículas, respectivamente. O mesmo equipamento, denominado *electrospinning*, pode ser aplicado em ambas as técnicas, porém necessita de diferentes condições de processo como concentração e viscosidade da solução, taxa de alimentação, potencial elétrico, diâmetro de capilar e umidade do ambiente, para produção de nanofibras ou nanopartículas (JAWOREK, SOBCZYK, 2008; JAWOREK et al., 2009).

Outros métodos para desenvolvimento de nanomaterias - como nanofibras, nanopartículas e nanoesferas - podem ser separação por fases (ZHAO et al., 2013), auto-montagem (*self-assembly*) (KOGA, 2011), síntese de modelos (HUANG; LI; WANG, 2013) e desenho (*drawing*) (SUZUKI; ARINO, 2012). Entretanto, estes métodos possuem *design* mais complexo o que pode afetar a reprodutibilidade dos resultados no aumento de escala, dificultando assim a aplicação industrial.

3.3 SEGURANÇA ALIMENTAR x NANOTECNOLOGIA

De acordo com o *Institute of Food Science and Technology* (2009), a vida-útil do alimento é o tempo durante o qual esse é seguro, mantendo as características sensoriais, químicas, físicas, microbiológicas e cumprindo a alegação nutricional, que figure na respectiva rotulagem, quando armazenado nas condições recomendadas. O *Codex Alimentarius* (1999), define a vida-útil do alimento como sendo o período durante o qual ele conserva a segurança microbiológica, a dada temperatura de armazenamento. Entretanto, a segurança alimentar pode não ser mantida devido a processos de produção em larga escala e a redes de distribuição cada vez mais longas. Variações na temperatura nos alimentos

influenciam na cinética de deterioração física e química acelerando o crescimento de micro-organismos deteriorantes e patogênicos. Isso leva a perdas econômicas e problemas de qualidade e segurança alimentar (CHISTI, 2018).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2015), alimentos impróprios para o consumo podem causar desde indisposição intestinal até câncer. Levantamento realizado pela OMS (2019) estima que o número de óbitos causados por alimentos não seguros é de aproximadamente 420 mil pessoas por ano. Sendo que nas Américas, avalia-se que 77 milhões de pessoas sofram um episódio de doenças transmitidas por alimentos a cada ano, metade delas crianças com menos de 5 anos de idade. Os dados disponíveis indicam que as doenças transmitidas por alimentos geram de US\$ 700 mil a US\$ 19 milhões em custos anuais de saúde nos países do Caribe e mais de US\$ 77 milhões nos Estados Unidos. Além disso, a insegurança alimentar afeta a imagem das empresas e segmentos alimentícios, com consequentes perdas econômicas nacionais (CHISTI, 2018). Monitorar e controlar a cadeia de produção e distribuição até o consumidor final é essencial para a produção de alimentos seguros (SIDDH et al., 2018). Os nanomateriais contribuem não apenas na qualidade e segurança dos alimentos, mas também nos benefícios à saúde que os produtos proporcionam (DASGUPTA et al., 2015).

Industrialmente, os nanomateriais desenvolvidos podem ser incorporados às formulações dos produtos alimentícios, na forma de nanopartículas e nanofibras, que tem por finalidade modificar as propriedades ópticas, reológicas ou de fluxo e, ainda, aumenta o requerimento nutricional de alimentos com baixo teor nutricional. As aplicações dessa tecnologia no setor alimentício podem ser na forma de materiais nanoestruturados ou nanossensíveis. Os materiais nanoestruturados abrangem ampla área de aplicação, como no processamento até a embalagem de alimentos. No processamento dos produtos, essas nanoestruturas podem ser utilizadas como aditivos alimentares, transportadores para entrega inteligente de nutrientes, agentes antiaglomerantes, agentes antimicrobianos, melhoramento da resistência mecânica e a durabilidade do material de embalagem. Enquanto a nanossensibilidade alimentar pode ser aplicada para alcançar a qualidade e segurança dos alimentos na forma de dispositivos e indicadores que monitoram a viabilidade dos produtos (SINGH et al., 2017). Esses dispositivos e indicadores evidenciam mudanças bioquímicas, fornecendo *feedback* dinâmico e interativo ao consumidor (SHARMA et al., 2017; SHARMA; GHOSHAL, 2018).

3.4 INDICADORES E DISPOSITIVOS PARA MONITORAMENTO EM ALIMENTOS

Os nanomateriais incorporados nas embalagens convencionais, tanto interna como externamente, podem monitorar as condições dos alimentos por meio de indicadores ou dispositivos nanotecnológicos que alteram a cor quando ocorre variações físico-químicas e bioquímicas. Assim, podem fornecer de forma detalhada a qualidade dos alimentos e promover a integridade dos produtos através dos indicadores de tempo-temperatura e tempo pH, e dispositivos de identificação por radiofrequência, sensores e biossensores,

3.4.1 Indicador de Tempo-Temperatura (ITT)

O indicador de tempo-temperatura (ITT) pode ser anexado à embalagens de alimentos na forma de etiqueta e informam, através de alterações físicas, mudanças que são dependentes da variação do tempo e da temperatura em que o produto é submetido. A resposta é fornecida ao consumidor de forma visível através de deformação mecânica, variação gradativa da cor ou desenvolvimento de cor da etiqueta resultante do histórico de temperatura. A resposta gerada pode ser obtida em três diferentes tipos de sistema de monitoramento, como indicadores críticos, indicadores de histórico parcial ou ainda indicadores de histórico completo de temperatura (BRIZIO; PRENTICE, 2015). Os indicadores críticos de temperatura evidenciam se os produtos foram aquecidos acima ou resfriados abaixo da temperatura permitida pelo fabricante. Os indicadores de histórico parcial mostram se o produto foi submetido a temperaturas que podem causar alterações na qualidade final do alimento embalado (ZABALA; CASTÁN; MARTÍNEZ, 2015). E os indicadores de histórico completo registram o perfil completo de temperatura ao longo da cadeia de suprimento alimentar, englobando tanto a produção quanto distribuição e armazenamento (GHAANI et al., 2016).

O princípio de funcionamento das etiquetas ITTs pode ser dado através de alterações mecânicas, químicas, eletroquímicas, enzimáticas ou microbiológicas. Sendo essas mudanças no indicador reações irreversíveis. As respostas químicas ou físicas podem ser baseadas em reações ácido-base, fusão ou polimerização, em relação ao tempo e temperatura. As respostas microbiológicas e enzimáticas são baseadas em mudanças do comportamento da atividade biológica, como micro-organismos, esporos ou enzimas (MANJUNATH, 2018).

3.4.2 Indicadores de Tempo-pH

Os indicadores de Tempo-pH supervisionam a qualidade dos produtos alimentícios mensurando respostas referentes ao crescimento microbiológico ou alterações químicas apresentadas pelos produtos (MÜLLER; SCHMID, 2019). Para isso, este indicador necessita ser inserido na embalagem em contato direto com o alimento (BARSKA; WYRW, 2017). O indicador de frescor possui princípio de funcionamento com base em alterações no pH, à medida que os processos de deterioração avançam nos alimentos, dentro do *headspace* da embalagem. Assim, os compostos químicos e biológicos, que podem compor os indicadores de pH, alteram sua coloração conforme os níveis de acidez ou basicidade do meio (KUSWANDI; NURFAWAIDI, 2017).

A informação referente ao frescor pode ser detectada por diferentes métodos, dependendo do metabólito indicador de qualidade utilizado ou ainda por sensores químicos de baixo custo que serão inseridos em uma matriz polimérica. Os metabólitos indicadores de qualidade podem ser glicose, ácidos orgânicos, etanol, compostos nitrogenados voláteis, aminas biogênicas, dióxido de carbono, produtos de degradação de ATP e compostos sulfúricos. Os compostos químicos que podem ser utilizados são corantes sensíveis ao pH, como por exemplo verde de bromocresol, que responde através de alterações de cor visíveis aos compostos voláteis de deterioração (MUSTAFA; ANDREESCU, 2018).

3.4.3 Dispositivos de Identificação por Rádio Frequência (RFID)

A identificação por radiofrequência (RFID) fornece monitoramento dos fatores internos e externos dos alimentos embalados por meio de dispositivos que podem ser *tags*, leitores e sistemas de computador auxiliando em operações de fabricação de alimentos. A aplicação de RFID na indústria de alimentos é ampla e tende a auxiliar na rastreabilidade de matérias-primas e alimentos processados, podendo aumentar a velocidade e a eficiência da distribuição das cadeias de suprimentos (PING et al., 2018). Esses dispositivos podem contribuir para a autenticação e anti-falsificação dos produtos e agir contra roubo de cargas. As cadeias de suprimento modernas é fator crucial para assegurar a qualidade e segurança alimentar, onde nessas é integrada tecnologias e recursos que simplifiquem e ampliem os processos e os tornem mais econômicos. Com isso, é possível tornar o processo de importação e exportação mais eficientes e com segurança alimentar (FERNÁNDEZ-CARAMÉS et al., 2017).

Os dispositivos RFID podem coletar, armazenar e transmitir informações em tempo real e, para sistemas de informação, possuem capacidade de armazenamento de dados de até 1 MB. Estes sistemas consistem em dois módulos, sendo que um módulo processa e armazena as informações, enquanto o outro (antena) transmite e recebe informações. Um segundo dispositivo, o leitor, é utilizado para obter informações da *tag* e, dependendo da frequência de rádio aplicada, pode estar localizado a metros de distância. As etiquetas RFID no setor de embalagens são passivas, pois não possuem fonte de energia associada e ganham energia para transmitir informações das ondas de rádio recebidas do leitor (FERNÁNDEZ-CARAMÉS et al., 2018).

3.4.4 Dispositivos sensores e biossensores

Os sensores podem ser definidos como dispositivos utilizados para detectar variações físico-químicas do alimento ou ainda fatores externos da embalagem. Esses fatores podendo ser a localização (produção, transporte e armazenamento) do produto e/ou ainda quantificação do sinal de energia, como por exemplo térmico, que o alimento emite. Estes dispositivos podem fornecer respostas de diferentes parâmetros, por exemplo, sensores de gás (CO_2 , H_2S ou O_2), sensores de contaminação microbiológica em alimentos e bebidas, sensores que monitoram substâncias resultantes da decomposição de alimentos e, sensores de monitoração de aspectos ambientais (MÜLLER; SCHMID, 2019; MENG et al., 2014). Os sensores são produzidos a partir de materiais atóxicos para células e tecidos, que podem ser colocados diretamente sobre alimentos para monitorar as condições da embalagem e produto (GHAANI et al., 2016).

Os sensores podem ser dispositivos infravermelhos não dispersivos bem como tecnologias químicas, eletroquímicas, ultra-sônicas e a laser. O princípio de funcionamento básico desses dispositivos consiste de um receptor químico, microbateria, microprocessador e transmissor. Os dados do parâmetro monitorado pelo sensor são transmitidos para um computador externo. Esses dispositivos podem ainda apresentar como resposta a alteração física do sensor, que é alterado quantitativamente à presença do parâmetro analisado (KOSSE et al., 2018). Outro tipo de sensores são os biossensores. Em comparação com sensores químicos, esses biodispositivos possuem receptores produzidos a partir de materiais biológicos como, por exemplo, enzimas, antígenos, hormônios ou ácidos nucleicos. Dependendo dos parâmetros de medição, o transdutor pode ser eletroquímico, óptico, acústico, entre outros (KOZITSINA et al., 2018).

3.5 ESTUDO DE POTENCIAIS INDICADORES E DISPOSITIVOS INTELIGENTES

A necessidade por desenvolvimento de embalagens inovadoras tem sido impulsionada para preservação de alimentos visando, principalmente, o aumento da vida útil do produto. Assim, nanopartículas metálicas são amplamente utilizadas como sensores para indicação de temperatura no tempo. Lanza, Perez-Taborda e Avila (2019) demonstraram que a dispersão de nanopartículas de prata (AgNPs) à temperatura ambiente (22 °C) apresentaram alterações significativas de cor. As AgNPs foram preparadas por via química em suspensão de água milli-q. Durante as 5 h de análise foi verificada a redução do tamanho à medida que as nanopartículas absorviam calor, apresentando inicialmente diâmetro de 164 ± 8 nm e reduzindo ao final para 44 ± 3 nm. As amostras apresentaram inicialmente coloração amarelada, em 1 h verde e em 4h coloração acinzentada. Essas mudanças no tamanho das nanopartículas produzem diferenças nas interações plasmônicas e, conseqüentemente, diferenças nas propriedades ópticas das amostras em diferentes intervalos evidenciando que a dispersão de AgNPs pode ser usada na fabricação de ITTs.

Em outro estudo realizado por Liu et al. (2015), desenvolveram nanofibras à base de quitosana com nanopartículas de prata (AgNPs) e evidenciaram pronunciada atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. De acordo com Xiu et al. (2012), AgNPs leva à morte da célula bacteriana por interação com as proteínas que contém enxofre na membrana e liberar Ag^+ para atacar a cadeia respiratória.

Indicadores de pH estão sendo estudados para aplicação em diversas áreas da indústria de alimentos, desde o monitoramento da viabilidade de matérias-primas até a produção, distribuição e armazenamento de alimentos perecíveis como bebidas e produtos cárneos (TASSANAWAT et al., 2007). Esses indicadores normalmente são produzidos a partir de um composto químico halocrômico, aderido à matriz polimérica, que faz com que a cor da solução altere de acordo com o valor de pH do meio. Silva et al. (2019) desenvolveram nanofibras poliméricas de PCL/PEO adicionadas de 3% (m v^{-1}) de antocianina extraídas do extrato de açaí, a partir da técnica de *electrospinning*. As nanofibras apresentaram coloração vermelha em pH ácido, rosada em pH neutro e cinza em pH alcalino. Ainda foi possível observar que a utilização da blenda polimérica, aliada a técnica de *electrospinning*, permitiu a produção de nanofibras com melhores propriedades de controle da liberação dos compostos. Assim, foi possível reduzir a tendência do nanomaterial em absorver soluções, melhorando a estabilidade do pigmento na matriz polimérica a longo prazo e aumentando o número de sítios reativos na superfície da nanofibra.

Moradi et al. (2019) propôs o indicador inteligente de pH desenvolvido com nanocelulose bacteriana e antocianinas obtidas de cenouras negras *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef, para posterior aplicação no monitorar do frescor / deterioração de carnes de pescados durante o armazenamento a 4 °C. O indicador apresentou diferença de coloração perceptível ao olho humano, como de vermelho a cinza quando aplicados nas faixas de pH de 2 a 11. O indicador evidenciou alterações de cor durante os estágios de armazenamento da carne de peixe quando fresco, cor carmim profunda, e quando deteriorado as cores azul e marrom amarelado. Os resultados deste trabalho demonstraram eficiente monitoramento da vida útil dos peixes pelas alterações de cor do indicador de pH desenvolvido com nanocelulose.

Kuntzler et al. (2020) desenvolveram indicador colorimétrico de pH utilizando nanofibras de 9% (m v⁻¹) poli (ácido lático) (PLA) e 3% (m v⁻¹) óxido de polietileno (PEO) adicionadas de 2% (m v⁻¹) de biomassa da microalga *Spirulina* sp. LEB 18. O estudo constatou que o indicador desenvolvido apresentou potencial aplicação no monitoramento da qualidade de alimentos, pois apresentou alteração de cor visível variando do marrom ao verde quando aplicada em soluções tampão de pHs 5 à 7. Essa faixa de valores de pH abrange uma variedade de alimentos perecíveis.

Schueren et al. (2010) mostraram que os indicadores de pH não afetam a formação de fibras a partir de *electrospinning* e o comportamento halocrômico de corantes não é alterado nesse processo. No entanto, Agarwal et al. (2012) evidenciam que cada corante é útil apenas para uma gama limitada de valores de pH. Portanto, é importante identificar o corante ou escolher uma combinação correta, a fim de que possam apresentar a mudança de cor para o intervalo de pH desejado. Chowdhary et al. (2008) utilizaram detectores de gás para monitorar a presença de gases produzidos pela ação de micro-organismos. Os sensores envolvem o uso de nanopartículas de SnO₂, nanocompósitos de ZnO-TiO₂.

Moreira et al. (2018) produziram nanofibras de 9% (m v⁻¹) de PLA/3% (m v⁻¹) de PEO contendo 3% (m v⁻¹) de ficocianina como pigmento indicador, para produção de embalagens inteligentes. A condição estudada obteve nanofibras com morfologia e diâmetro uniforme, 921 nm, e apresentou respostas positivas quanto a percepção de mudança, variando do azul claro em pHs ácidos, azul intenso em pHs neutros e branco acinzentado em pHs alcalinos. Os autores também observaram que a mudança de cor mais perceptível foi obtida com as nanofibras de maior espessura. Desta forma, foi concluído que as nanofibras de PLA/PEO contendo ficocianina na concentração 3% (m v⁻¹) e espessura de 69,2 µm foi alternativa promissora para aplicação na área de embalagem inteligentes. Este trabalho é

continuação da tese de doutorado descrito anteriormente, tendo a inovação de ser realizado pela primeira vez testes de irreversibilidade de cor dos indicadores e cinéticas de variação de cor. Além disso, foram realizados estudos de melhoramento da eficiência de encapsulamento da ficocianina na matriz polimérica.

3.6 PRODUÇÃO DE EMBALAGENS INTELIGENTES COMERCIAIS NANOTECNOLÓGICAS

Para atender à crescente demanda dos consumidores, o setor de preservação e processamento de alimentos vem expandindo rapidamente. A fim de garantir a segurança dos alimentos deve-se melhorar a qualidade e reduzir a utilização de conservantes dos produtos. Assim, a nanotecnologia torna-se alternativa promissora, com a utilização de indicadores e dispositivos nanotecnológicos que monitoram o histórico de temperatura, pH, frescor e microbiológico. De acordo com Vance et al. (2015), aproximadamente 1827 produtos desenvolvidos com nanotecnologia são disponíveis no mercado, onde são produzidos por 622 empresas localizadas em 32 países.

Os nanoprodutos aplicados em alimentos e bebidas representam cerca de 6,5% do total dos produtos nanotecnológicos comercializados. Nestes produtos são adicionados nanoencápsulas ou ainda nanopartículas de prata, predominantemente para a fabricação de embalagens e recipientes para alimentos, principalmente em países como Coréia do Sul, China, EUA e Japão (BUMBUDSANPHAROK; KO, 2015). A tendência é que a maioria dos produtos nanotecnológicos que serão implementados no mercado, sejam destinados ao melhoramento dos revestimentos de embalagens e no desenvolvimento de embalagens inteligentes aplicados a alimentos, a fim de promoverem saúde e qualidade do produto ao consumidor (HUANG et al., 2015). Para isso, estão sendo estudados e desenvolvidos indicadores e dispositivos com potencial aplicação no monitoramento da vida útil de alimentos.

Empresas incubadas por universidades estão produzindo indicadores e dispositivos para aplicação no monitoramento de alimentos, como ocorre na empresa Georgia Tech, localizada nos Estados Unidos. Essa empresa atua no desenvolvimento de biossensores a partir de nanotubos de carbono com paredes múltiplas, capaz de detectar microrganismos, proteínas tóxicas ou deterioração de alimentos e algumas bebidas. As instituições University of Southampton (Reino Unido) juntamente com a Deutsches Kunststoff-Institut (Alemanha) produzem filmes de *Opal* incorporando nanopartículas de 50 nm de carbono negro, afim de

alterar de cor em resposta à deterioração de alimentos. A empresa incubada na University of Strathclyde, Escócia, desenvolve tinta ativada por luz ultra-violeta, à base de nano-titânio-dióxido, para aplicação como sensor de oxigênio (PURSIANEN et al., 2007).

Contudo, empresas particulares também estão desenvolvendo embalagens inteligentes para atender o mercado consumidor de alimentos, como a empresa australiana MiniFAB. A MiniFAB desenvolve biossensores baseados em nanotecnologia para detecção de contaminação microbiológica (INVEST AUSTRALIA, 2007). A tecnologia da empresa OnVu é para a produção de indicadores de tempo-temperatura, onde são adicionados nanopigmentos que mudam de cor ao longo do tempo e com as alterações de temperaturas em que o produto é exposto. A empresa nanotecnológica pSiNutria desenvolve tecnologia de rastreamento com biosilicone comestível, que pode ser adicionado em alimentos para fins de monitoramento e detecção de patógenos (MOMIN; JAYAKUMAR; PRAJAPATI, 2013).

3.7 CORANTES NATURAIS: CARACTERÍSTICAS E ESTABILIDADE

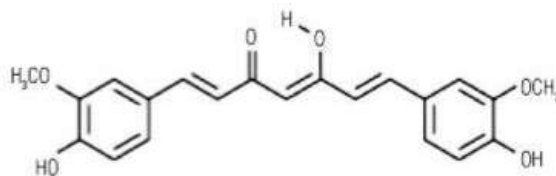
3.7.1 Curcumina

Curcumina é um polifenol de massa molar $368,38 \text{ g mol}^{-1}$ com ponto de fusão em 183°C que consiste em uma molécula de dibenzoil-metano (1,7-bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona) e dois grupos metoxila (OCH_3) (Figura 2). Este pigmento é insolúvel em água e éter, mas solúvel em etanol e acetona. (GOEL; KUNNUMAKKARA; AGGARWAL, 2008). O espectro de absorção da curcumina, segundo Donsi et al., (2010), apresentaram pico de absorção máximo em 425 nm. Essa intensa absorção na região do espectro visível permite a utilização deste composto como corante alimentício. O pigmento de curcumina é naturalmente obtido do rizoma da *Curcuma longa*, conhecido como açafrão e possui coloração amarelo-laranja. Este pigmento possui certificado GRAS (*Generally Recognized as Safe*), deliberando a sua utilização como alimento sem apresentar risco à saúde (BASNET; SKALKO-BASNET, 2011).

A curcumina possui equilíbrio eletrônico na faixa de pH 3 ao 7 e nos demais pHs este biocomposto é facilmente degradado e, como consequência deste processo, ocorre as maiores alterações de coloração. Porém, estudos evidenciam que a molécula de curcumina altera a cor em função da polaridade do meio em que é exposta. Em solução com metanol, pKa 15,5, obtém coloração avermelhada e em diclorometano, pH 7, atinge coloração fortemente amarela (JASIM; ALI, 1989). Isso ocorre, pois a molécula da curcumina possui três hidrogênios ácidos (pKa 8,38) que podem reagir em função do pH do meio, aumentando

assim a densidade eletrônica com decorrente alteração da posição da banda espectral no espectro de absorção visível da molécula (PRIYADARSINI, 2009).

Figura 2 - Estrutura química da curcumina.



Fonte: BASTOS; ROGERO; ARÊAS (2009).

A curcumina também tem sido estudada com relação aos seus mecanismos de ação associada a diferentes atividades biológicas, como as propriedades antioxidante (BRAHAMS et al., 2019), anti-inflamatórias (FARHOOD et al., 2018) e antitumorais (NAEINI et al., 2019). Araujo e Leon (2001) estudaram que a ação anti-inflamatória é devido à presença de grupos fenólicos na molécula de curcumina e, de acordo com Kunchandy e Rao (1990) a ação antioxidante da curcumina impede a peroxidação lipídica, atuando, portanto na proteção de biomoléculas, incluindo também o DNA, em relação a danos oxidativos.

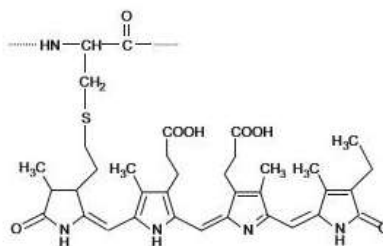
3.7.2 Ficocianina

A ficocianina é pigmento extraído principalmente a partir da microalga *Spirulina*, onde é encontrado até 14% no conteúdo proteico da biomassa microalgal, que é localizado no sistema de tilacóide ou lamelas fotossintéticas na membrana citoplasmática (MARTELLI et al., 2014; DUANGSEE; PHOOPAT; NINGSANOND, 2009). Esse pigmento pode também ser encontrado em porções menores em outras microalgas tais como *Calothrix* sp. (SANTIAGO-SANTOS et al., 2004), *Oscillatoria quadripunctulata* (SONI et al., 2006) e *Phormidium fragile* (SONI; TRIVEDI; MADAMWAR, 2008). A ficocianina é composta por uma apoproteína e um componente não proteico, conhecido como ficocianobilina (Figura 3) que é cromóforo. A ficocianobilina é um tetrapirrólico de cadeia aberta responsável pela coloração azul da ficocianina. A apoproteína é ligada a uma ficocianobilina por ligação tioéter e a porção de proteína é constituída por subunidades α e β de pesos moleculares na faixa de 18 e 20 kDa (MACCOLL, 1998).

A ficocianina é caracterizada pela sua intensa coloração azul, caracterizada por suas propriedades hidrossolúveis e atóxicas (certificado GRAS pela FDA) e possui ponto

isoeletrico entre 4,1 e 6,4 (CHEN; WONG, 2008; MACCOLL, 1998). Esse pigmento ainda possui conhecidas propriedades antioxidante (RENUGADEVI et al., 2018), anti-inflamatórias (FERNANDEZ-ROJAS; HERNANDEZ-JUAREZ, 2014) e antitumoral (SILVA et al., 2018).

Figura 3 - Estrutura química da ficocianina.



Fonte: HOSEINI; KHOSRAVI-DARANI; MOZAFARI (2013).

A degradação da ficocianina, com consequência alteração de cor, ocorre de acordo com o estado de agregação da proteína quando exposta a diferentes fatores ambientais, principalmente temperatura e pH (THANGAM et al., 2013). Segundo Chaiklahan, Chirasuwan e Bunnag (2012), a estabilidade máxima do pigmento de ficocianina foi obtido na faixa de pH 5,5 a 6 quando aplicados à temperatura ambiente. Duangsee, Phoopat e Ningsanond (2009) verificaram que a variação de temperatura afeta a estabilidade da molécula de ficocianina, com consequência alteração na cor para variações da tonalidade azul. A perda da estabilidade molecular ocorreu principalmente em soluções em pH > 5 e pH < 3 com aquecimento de aproximadamente 10 °C, podendo ter sido ocasionado pelo desdobramento parcial ou total da proteína. Como o pigmento é sensível a variações de pH com decorrente alteração na cor, esta torna-se importante propriedade sensorial quando deseja-se aplicar como embalagens inteligentes para a produção de indicadores colorimétricos (THANGAM et al., 2013).

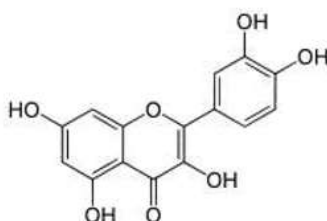
3.7.3 Quercetina

A quercetina é corante natural de coloração amarelada pertencente ao grupo dos flavonoides e pode ser obtida a partir de fontes hortícolas, como em cebola, couve, maçã (PISKULA; MUROTA; TERAQ, 2012), casca de carvalho e castanhas (MEENA; PATNI, 2008). O pigmento possui massa molar de 302,24 g mol⁻¹ na forma anidra e 338,27 g mol⁻¹ para a forma diidratada. A quercetina possui forte caráter hidrofóbico e sua solubilidade em solução aquosa varia de 0,00215 g L⁻¹ a 25 °C à 0,655 g L⁻¹ a 140 °C, porém possui alta

solubilidade em solventes orgânicos, como etanol, dimetilsulfóxido e dimetil formamida. Em 2010 a *Food and Drug Administration* (FDA, EUA) concedeu ao biocomposto com pureza de 99,5% (QU995TM) o status de *generally recognized as safe* (GRAS), não possuindo efeitos colaterais em humanos ou animais, o que despertou interesse na aplicação da curcumina como aditivo em produtos alimentícios (SRINIVAS et al., 2010).

Este flavonoide possui três grupos hidroxil nas posições 3, 3' e 4' (Figura 4), fazendo com que a molécula de quercetina apresente comportamento anfifílico. Isso devido à presença de elevada porção hidrofóbica, formada pelos anéis fenólicos, e da porção polar, constituída pelos grupos hidroxil (CODORNIU-HERNANDEZ et al., 2003).

Figura 4 - Estrutura química da quercetina.



Fonte: SCOTTI et al. (2007).

Em virtude de sua estrutura química, este composto possui pouca estabilidade química em pH superior a 8, ocorrendo auto-oxidação e com alterações de cor como decorrência deste processo. Em pHs inferiores a 5 a quercetina encontra-se na forma neutra ou com carga elétrica positiva (MOMIC' et al., 2007). A quercetina possui conhecidas propriedades medicinais que são principalmente atribuídas a capacidade antioxidante, a remoção de radicais livres (CIPAK et al., 2003), modulação da expressão gênica (IKEGAWA et al., 2002) e interação com as vias de sinalização celulares (SOOBRAATTEE et al., 2005).

3.8 POLÍMEROS

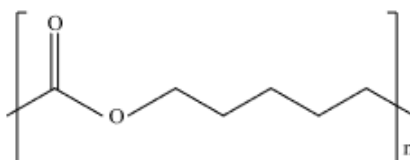
No setor de produção de alimentos o polímero utilizado deve ser facilmente degradável e atóxico. Polímeros facilmente degradáveis são amplamente utilizados e representam uma das classes de materiais versáteis, apresentando inúmeras aplicações, entre as quais no setor de embalagens e revestimentos de alimentos. Estes polímeros são materiais

cuja degradação é resultante da ação de micro-organismos, como fungos, bactérias e algas (LIM, 2015).

Assim, diferentes compósitos, blendas e nanocompósitos têm sido estudados com intuito de melhorar as propriedades de embalagens como processabilidade, resistência térmica, propriedades mecânicas, permeabilidade a gases e taxa de degradação (BALAKRISHNAN et al., 2010; FECHINE, 2010). Polímeros sintéticos, como ésteres alifáticos, podem ser facilmente degradáveis, pois possuem cadeias carbônicas hidrolizáveis. Se a biodegradação ocorrer por meio da ação de enzimas, a cadeia polimérica deve se ajustar nos sítios ativos das enzimas e, isto é favorecido pela flexibilidade das cadeias poliméricas alifáticas, o que não ocorre com os poliésteres aromáticos (BRITO et al., 2011).

A policaprolactona (PCL) (Figura 5) é oriunda do petróleo e é poliéster alifático biodegradável com massa molar de 80.000g mol^{-1} . Possui cadeias carbônicas hidrolisáveis, propriedades mecânicas e cinéticas de degradação adequadas quando descartadas no meio ambiente. Além disso, este polímero apresenta biocompatibilidade (ISO 10993) e baixa toxicidade a células e tecidos, podendo ser aplicado em seres humanos e animais como dispositivos reabsorvíveis de uso seguro na biomedicina como em embalagem de alimentos, aprovados pela FDA.

Figura 5 - Estrutura química do policaprolactona – PCL.



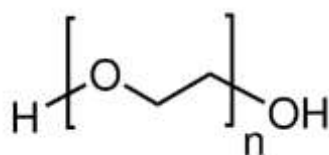
Fonte: FRANCHETTI; MARCONATO (2006)

O PCL possui a propriedade de ser miscível em outros polímeros, como poli (cloreto de vinila), poli (estireno-acrilonitrila), poli (acrilonitrila-butadieno-estireno), poli (bisfenil-A), policarbonatos, nitrocelulose e celulose-butirato. O PCL também possui a propriedade de ser mecanicamente compatível com outros polímeros, como: polietileno, polipropileno, borracha natural, poli (acetato de vinila) e poli (etileno-propileno). Os filmes produzidos por esse poliéster apresentam boa capacidade de estiramento e caráter hidrofóbico. Portanto, o PCL oferece alta proteção contra umidade em alimentos com alta atividade de água (ALBUQUERQUE et al., 2014). A facilidade na processabilidade do PCL ocorre por

causa da capacidade de solubilização em diversos solventes orgânicos, como tetracloreto de carbono, clorofórmio, tolueno, benzeno, ciclohexano e 2-nitropropano em temperatura ambiente (TROVATTI et al., 2016).

O polímero PEO é um homopolímero (Figura 6) não iônico de óxido de etileno, que são poliéteres neutros, solúveis em água e na maioria dos solventes orgânicos a temperatura ambiente (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010).

Figura 6 - Estrutura química do Óxido de polietileno – PEO.



Fonte: WYPYCH (2012).

O PEO com baixa massa molar, menor que 1.000 g mol^{-1} , são encontrados na forma de líquidos viscosos e incolores. PEO com alta massa molar são obtidos na forma de sólidos brancos com pontos de fusão proporcional à massa molar, com limite superior de 67°C . Este polímero não apresenta toxicidade e foi aprovado pela FDA para o uso como excipiente ou como transportador em diferentes formulações farmacêuticas, cosméticas e de alimentos (HAMMOUDA; HO; KLINE, 2004; BAJPAI et al., 2008).

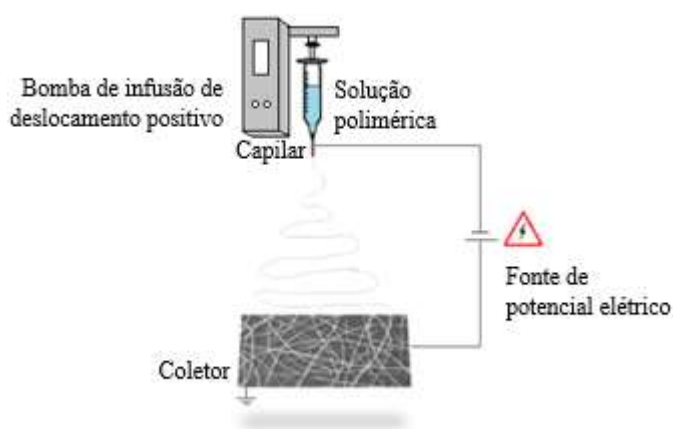
3.9 DESENVOLVIMENTO DE NANOFIBRAS POR *ELECTROSPINNING*

A técnica de *electrospinning* é conhecida desde a década de 1930. Esta técnica foi aperfeiçoada devido as novas aplicações da nanotecnologia para formação de fibras poliméricas na escala nanométrica. O *electrospinning* permite produzir nanofibras com propriedades e funções desejadas, que dependem das condições experimentais utilizadas, como morfologia, alta área superficial, estrutura porosa controlável e capacidade de encapsulação de compostos. Além disso, possui alta capacidade em formar nanofibras semipermeáveis, o que desperta interesse no desenvolvimento de embalagens inteligentes quando deseja-se aplicar em alimentos com alto teor de umidade (AZEREDO, 2012).

O fundamento da técnica de *electrospinning* baseia-se na teoria de que cargas elétricas aplicadas na gota de líquido que sai do capilar, são capazes de deformar a interface da gota. Estas cargas geram forças eletrostáticas no interior da gotícula, conhecidas como a

força de Coulomb, que competem com a tensão superficial da gota, formando o cone de Taylor (COSTA et al., 2012). O cone de Taylor ao ser sujeito a alto potencial elétrico provoca um estiramento na solução que tende ao formato cônico. O eficiente desempenho da técnica de *electrospinning* depende do controle apropriado dos parâmetros que contribuem para a formação das nanofibras (COSTA et al., 2012; RENEKER et al., 2000). Os componentes principais do equipamento de *electrospinning* (Figura 7) são a fonte de alto potencial elétrico, bomba de descolamento positivo, capilar e placa coletora aterrada (estática ou rotativa).

Figura 7 - Representação esquemática da técnica de *electrospinning*.



Contudo, existem diversos fatores que afetam o processo de *electrospinning* e as propriedades morfológicas das nanofibras (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

3.9.1 Parâmetros do processo

A faixa ideal de potencial elétrico aplicada (ou intensidade de campo elétrico) para determinado sistema polímero-solvente, implica na força de repulsão eletrostática na solução, o que favorece o alongamento do jato da solução polimérica (SHI et al., 2015; SILL; VON RECUM, 2008). A taxa de alimentação da solução de polímero influencia diretamente na evaporação do solvente. Assim, deve haver a taxa de fluxo ideal para que o solvente seja evaporado ao mesmo tempo que ocorra alongamento do jato da solução, formando nanofibras uniformes, sem gotas e sem a secagem da solução no capilar (HAIDER; HAIDER; KANG, 2018).

A distância entre a ponta do capilar e o coletor também afeta na morfologia da nanofibra. Portanto, uma distância crítica precisa ser mantida para produzir nanofibras uniformes. Esta distância pode variar de acordo com o sistema de polímero utilizado, pois

influencia diretamente no tempo do jato no ar e na taxa de evaporação do solvente. Caso esta distância seja reduzida, o jato terá curta distância para percorrer no ar antes de alcançar o coletor, não tendo tempo suficiente para que ocorra a evaporação do solvente nas nanofibras, o que é indesejado quando aplicado em alimentos (MATABOLA; MOUTLOALI, 2013; BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

3.9.2 Propriedades da solução polimérica

As propriedades da solução como viscosidade, condutividade elétrica e tensão superficial influenciam diretamente na morfologia das nanofibras. Estes parâmetros estão relacionados com as propriedades físico-químicas dos polímeros, dos solventes e com as interações do tipo polímero-solvente (COSTA et al., 2012). Para obtenção de nanofibras uniformes é necessário que se tenha satisfatório grau de emaranhamento das cadeias na solução polimérica, a qual corresponde a um valor mínimo de concentração polimérica. Durante o alongamento da solução de polímero, é o emaranhamento das cadeias de moléculas que impede que o jato eletricamente dirigido se separe, mantendo um jato de solução contínuo (HAIDER; HAIDER; KANG, 2018).

Quando a concentração polimérica não é satisfatória na solução, há instabilidade no jato podendo formar nanopartículas ou obstruir o capilar (KWANKHAO, 2013; HAIDER et al., 2013). O aumento da concentração da solução polimérica ocasiona aumento na viscosidade, o que pode contribuir para o emaranhamento entre as cadeias de polímero (HAIDER et al., 2013). A viscosidade da solução de polímero afeta significativamente o diâmetro da nanofibra. Nanopartículas como estruturas com gotas são menos propensas a se formar durante o *electrospinning* se a viscosidade for mais alta. Se a viscosidade for muito baixa, o jato a partir do cone de Taylor será transformado em gotas, resultando em estrutura com grânulos (KHAN et al., 2013).

A tensão superficial está diretamente relacionada com a formação do cone de Taylor, pois este fenômeno ocorre quando a potencial elétrico aplicado é suficientemente alto para fazer com que as forças eletrostáticas superem a tensão superficial da gota. A partir desse potencial elétrico, chamado de valor crítico, inicia-se o processo de *electrospinning* (COSTA et al., 2012).

A condutividade da solução é determinada principalmente pelo tipo de polímero e solvente utilizado e disponibilidade de sais ionizáveis. A técnica de *electrospinning* envolve alongamento da gota, causada pela repulsão das cargas na superfície. Assim, se a

condutividade da solução for aumentada, mais cargas podem ser transportadas pelo jato eletrostático acarretando no alongamento da gota (RAMAKRISHNA et al., 2005). A condutividade da solução não afeta apenas a formação do cone de Taylor, mas também o diâmetro das nanofibras. Em solução com menor condutividade, a superfície da gota não terá carga suficiente para formar o cone de Taylor, e o processo de *electrospinning* não ocorrerá. Elevar a condutividade da solução para um valor crítico aumenta a carga na superfície da gota para formar o cone de Taylor como também causa a redução no diâmetro da nanofibra (SUN et al., 2014).

3.9.3 Condições ambientais

Os parâmetros ambientais estão relacionados a propriedades locais, onde a técnica de *electrospinning* ocorre. Estes parâmetros também podem influenciar na formação e na morfologia das nanofibras. O aumento da temperatura local faz com que ocorra evaporação mais rápida do solvente, por isso opta-se por solventes que tenham taxa de evaporação mais baixa (CHEN et al., 2010). Em relação à umidade, se esta for baixa pode ocorrer a secagem do solvente quando a taxa de evaporação do solvente for mais rápida (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Por outro lado, se a umidade for alta poderá ser formado nanofibras com diâmetros maiores devido a cargas no jato que podem ser neutralizadas e a força de alongamento que se torna pequena (LI; WANG, 2013).

3.10 HISTÓRICO DE PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS

O estudo de nanofibras foi iniciado em 2007 no doutorado da Professora Michele Greque de Moraes, que contou com a parceria da Universidade Federal de Rio Grande com a Philipps University – Marburg (Alemanha). Na FURG a linha de pesquisa em engenharia de nanofibras foi iniciada em 2010 no Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB), com a implementação do equipamento de *electrospinning*.

Em 2014, com a criação do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica (MIBI), a linha de pesquisa de desenvolvimento de nanofibras a partir de diferentes polímeros com a incorporação de compostos ativos, tendo principal aplicação na área de alimentos, teve continuidade. Desde 2010 foram 5 patentes depositadas, 29 artigos publicados e 3 capítulos de livros na área de nanotecnologia utilizando a técnica de *electrospinning* para aplicação como embalagens inteligente e ativas em alimentos e na mitigação de CO₂. No total, foram

defendidas 4 dissertações de mestrado, 2 de doutorado e 4 TCCs (trabalho de conclusão de curso) do curso de Engenharia Bioquímica tendo seus estudos relacionados a área de nanofibras e nanopartículas.

No período de 2013 a 2015 o projeto intitulado como “Extração de biopeptídeos de origem microalgal e aplicação no desenvolvimento de nanofibras bioativas” teve por objetivo o desenvolvimento de embalagens ativas primárias com potencial aplicação na conservação de produtos alimentícios (GONÇALVES, 2015). E no período de 2015 a 2017 o projeto intitulado como “incorporação de nanopartículas com ficocianina em nanofibras poliméricas por *electrospinning* e *electrospraying*” tendo por finalidade o desenvolvimento de embalagens ativas (SCHMATZ, 2017). No mesmo período, outro projeto intitulado como “nanofibras antimicrobianas para aplicação em alimentos” utilizou blenda polimérica de quitosana/PEO e PHB adicionados de compostos fenólicos microalgais com potencial atividade antimicrobiana para aplicação como embalagem inteligente (KUNTZLER, 2017).

Em 2018, a tese defendida pela Doutora Juliana Botelho Moreira, foi o primeiro trabalho realizado no Laboratório na área de indicadores colorimétricos. Este projeto teve por objetivo o desenvolvimento de nanofibras poliméricas de 9% (m v⁻¹) de PLA e 3% (m v⁻¹) de PEO com adição de diferentes concentrações de ficocianina, como biocorante. Neste estudo foi obtido nanofibras uniformes com diâmetro de 921 nm, tendo 76% dos resultados de ΔE acima de 12 quando testadas em soluções tampão de pH 1 ao 10, indicando mudança absoluta de cor. Desta forma, o trabalho evidenciou a potencialidade das nanofibras poliméricas incorporadas de ficocianina como indicadores de pH, para o monitoramento da viabilidade de alimentos.

Atualmente o MIBI conta com outras linhas de pesquisa em nanofibras com corantes naturais com potencial aplicação como indicadores colorimétricos para monitoramento do pH em alimentos. Nestes estudos são utilizadas blendas poliméricas adicionadas extrato de açaí (SILVA et al., 2019) e biomassa microalgal (KUNTZLER et al., 2020).

CAPÍTULO III

4 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

O trabalho foi realizado em três etapas, em que a partir de cada uma foi gerado um artigo que será submetido para publicação em periódico qualificado de circulação internacional, de acordo com o QUALIS. Na primeira etapa deste trabalho (Artigo 1) foram realizados testes preliminares com os compostos naturais curcumina, ficocianina e quercitina em soluções de tampões pH (1 ao 10). Neste artigo foram desenvolvidas ainda as nanofibras poliméricas de poliprolactona (PCL) e poli (óxido de etileno) (PEO) em diferentes concentrações dos compostos, com posterior análises físico-química e avaliação da cinética de variação de cor (ΔE) em 24 h. Na segunda etapa (Artigo 2) foi estabelecido o composto em que apresentou as melhores respostas das análises da etapa anterior. A partir disso, foram estudadas três concentrações de ficocianina diferentes nas soluções poliméricas com posterior análise físico-química e avaliação do potencial de irreversibilidade de cor.

Diante do exposto, os artigos desenvolvidos na dissertação de mestrado foram:

ARTIGO 1 - CINÉTICA DE VARIAÇÃO DE COR DE INDICADORES DE pH DESENVOLVIDOS A PARTIR DE NANOFIBRAS CONTENDO CORANTES NATURAIS

ARTIGO 2 - POTENCIAL DE IRREVERSIBILIDADE DE COR DOS INDICADORES COLORIMÉTRICOS DE NANOFIBRAS CONTENDO FICOCIANINA

ARTIGO 1

**CINÉTICA DE VARIAÇÃO DE COR DE INDICADORES DE pH DESENVOLVIDOS
A PARTIR DE NANOFIBRAS CONTENDO CORANTES NATURAIS**

RESUMO

Indicadores colorimétricos produzidos com nanofibras apresentam vantagem de encapsular corantes naturais e também elevar a área superficial de contato. Isso aumenta os sítios reacionais disponíveis na nanofibra, possibilitando maiores interações com o meio externo. Neste contexto, o trabalho teve por objetivo desenvolver nanofibras indicadoras de pH a partir de corantes naturais e avaliar a cinética de variação de cor. As nanofibras foram produzidas a partir da técnica de *electrospinning* com potencial elétrico de 15 kV e taxa de alimentação de 600 $\mu\text{L h}^{-1}$. As soluções poliméricas foram preparadas com 13% (m v⁻¹) de poliprolactona e 6% (m v⁻¹) de poli (óxido de etileno) contendo água destilada e clorofórmio como solventes. Os corantes naturais adicionados foram curcumina e quercetina (2%, m v⁻¹) com adição de 0,5 ou 1% (m v⁻¹) de ficocianina. Soluções somente com curcumina, quercetina e ficocianina (2% m v⁻¹) também foram estudadas. A cinética de alteração de cor foi realizada durante 24 h, com acompanhamento a cada 1h, utilizando soluções tampão (pH 2 ao 7). A análise de molhabilidade mostrou que a nanofibra com 2% (m v⁻¹) de ficocianina apresentou caráter hidrofóbico, $95,4 \pm 0,2^\circ$, o que influenciou na obtenção dos melhores resultados de eficiência de cor. Esta condição apresentou variação de cor ($\Delta \geq 5$) perceptível ao olho humano nas faixas de pH 3 ao 6 em 5 h de análise. Assim, o indicador colorimétrico desenvolvido com nanofibras de PCL/PEO e 2% (m v⁻¹) de ficocianina torna-se alternativa promissora no monitoramento da qualidade de alimentos perecíveis, pois é capaz de estimar visualmente mudanças de pH com o tempo.

Palavras-chave: Curcumina. *Electrospinning*. Ficocianina. Quercetina.

1 INTRODUÇÃO

A redução do prazo de validade dos alimentos causado pela contaminação microbiana tem como consequência o aumento de doenças transmitidas pelos produtos. A qualidade dos alimentos depende de condições higiênico-sanitárias das matérias-primas durante a seleção, produção, armazenamento e distribuição (HOFFMANN et al., 2017). Neste contexto, as embalagens inteligentes são capazes de detectar alterações químicas, físicas e/ou biológicas que ocorram no ambiente externo ou no produto alimentício (KONGLIANG et al., 2014). Indicadores inteligentes podem ser inseridos na forma de etiquetas internamente ou externamente a embalagem convencional, apresentando resposta rápida referente a qualidade do alimento através de alterações de cor (YAM, 2012). Além disso, a cinética de reação de mudança de cor do sistema indicador deve ser desenvolvida para corresponder à cinética de deterioração que ocorre no alimento. Para isso, deve ocorrer estudos sobre a cinética dos indicadores em diferentes pHs, afim de verificar a potencial afinidade dos sistemas com determinados grupos alimentícios.

Os sistemas indicadores são constituídos por corantes integrados à matriz polimérica, sendo suficientemente sensíveis às variações a que são destinados, como por

exemplo o intervalo de pH desejado. O uso de corantes químicos deve ser controlado em indústria de alimentos, pois pode afetar negativamente o consumidor a longo prazo devido ao bioacúmulo no corpo. Assim, a utilização de corantes naturais torna-se alternativa promissora em sistemas de indicadores colorimétricos, pois são atóxicos e apresentam biocompatibilidade com células e tecidos humanos. Como exemplos de pigmentos naturais pode-se destacar a curcumina e quercetina obtidos a partir de plantas hortícolas, e a ficocianina extraída principalmente da microalga *Spirulina* (THANGAM et al., 2013).

A curcumina é um polifenol de cor amarelo-laranja, que possui estabilidade molecular na faixa de pH 3 a 7 (WANG et al., 1997). A ficocianina é pigmento fotossintético caracterizado pela sua intensa coloração azul. A degradação da ficocianina depende do estado de agregação da proteína quando exposta a variações de temperatura e pH, apresentando ponto isoelétrico entre 4,1 e 6,4 (THANGAM et al., 2013). A quercetina é um flavonoide de coloração amarelada com estabilidade molecular na faixa de pH 1 à 6. A auto-oxidação, com alterações de cor como decorrência deste processo, ocorre quando a quercetina é exposta nos pHs 7 ao 10 (MOMIĆ et al., 2007). Esses corantes naturais possuem características colorimétricas que são importantes propriedades sensoriais em embalagens inteligentes, uma vez que a estabilidade e, conseqüentemente, a coloração é alterada dependendo do pH (THANGAM et al., 2013).

Os corantes naturais necessitam estarem aderidos há matriz polimérica para serem utilizados como potencial indicadores colorimétricos de pH. Por isso, estuda-se a produção de nanofibras poliméricas através da técnica de *electrospinning*, pois permite a incorporação de compostos às matrizes poliméricas. Além disso, a utilização de nanofibras apresenta vantagem devido ao seu diâmetro reduzido, o que proporciona elevada área de contato da superfície das nanofibras com o alimento. Desta forma, as nanofibras detectam rapidamente os estágios iniciais das alterações dos alimentos em seus sítios ativos e transmitem visualmente ao consumidor através da alteração da cor (POTYRAILO et al., 2012; HEISING et al., 2014).

Assim, o trabalho desenvolvido apresenta inovação na área científica, uma vez que há poucos estudos que abordem o monitoramento da variação e estabilidade de cor de indicadores a partir de nanofibras em diferentes pHs para aplicação em embalagem de alimentos. Neste contexto, este trabalho teve por objetivo desenvolver nanofibras indicadoras de tempo-pH a partir de pigmentos naturais e avaliar a cinética de variação de cor dos nanomateriais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Os polímeros utilizados foram policaprolactona (PCL) (massa molar 80.000 g mol⁻¹) e poli(óxido de etileno) (PEO) (massa molar 600 g mol⁻¹) da empresa Sigma-Aldrich® (Estados Unidos). Os corantes estudados foram curcumina (SigmaAldrich®, Estados Unidos), ficocianina (Zhejiang Binmei Biotechnology, China) e quercetina (SigmaAldrich®, Estados Unidos). Os solventes utilizados foram clorofórmio e água destilada.

2.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES POLIMÉRICAS E *ELECTROSPINNING*

As soluções poliméricas foram preparadas com 13% (m v⁻¹) PCL e 6% (m v⁻¹) PEO em clorofórmio e água destilada na proporção de 8:2, respectivamente. Os corantes naturais adicionados foram curcumina, quercetina e ficocianina nas concentrações de 1, 2, 3 e 4% (m v⁻¹). Soluções com 2% (m v⁻¹) de curcumina com adição de 0,5, 1 e 2% (m v⁻¹) de ficocianina e, 2% (m v⁻¹) de quercetina com adição de 0,5, 1 e 2% (m v⁻¹) de ficocianina também foram preparadas. As soluções foram agitadas em agitador magnético (Fisatom, Brasil) por 24 h a temperatura ambiente (19 ± 1 °C). A viscosidade das soluções poliméricas foi determinada através de reômetro (Brookfield DV-III Ultra Programmable Rheometer, Estados Unidos) a partir de amostras de 0,5 mL de cada solução, com taxa de cisalhamento de 0,23 s⁻¹.

A técnica de *electrospinning* foi aplicada para produção das nanofibras, utilizando potencial elétrico de 15 kV, taxa de alimentação da solução de 600 µL h⁻¹, capilar com diâmetro 0,45 mm, distância do coletor rotatório ao capilar de 15 cm e rotações do coletor de 180 rpm (MOREIRA et al, 2018). O processo foi conduzido à 19 ± 1 °C e umidade relativa de $49 \pm 2\%$.

2.3 MORFOLOGIA E DIÂMETRO

A morfologia e diâmetro médio dos nanomateriais foram avaliados utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Jeol, JSM-6610 LV, Japão). Para isso, as amostras foram fixadas em suporte metálico e recobertas com ouro, utilizando o metalizador *diiodespattering* (ASTM E986-04, 2010). A partir da imagem obtida pelo MEV, o diâmetro médio das nanofibras foi analisado por *software* de processamento de imagem e determinado considerando a medida direta de 30 pontos (Image J, NIH, Bethesda, MD, EUA).

2.4 ANÁLISES TÉRMICAS

A estabilidade térmica dos polímeros, corantes naturais, nanofibras produzidas e conteúdo de solvente residual foi realizada em analisador termogravimétrico (Shimadzu, DTG-60, Japão) de acordo com a metodologia ASTM D3850-12 (2013). As análises foram conduzidas de 30 °C a 500 °C, em atmosfera inerte de nitrogênio com fluxo 30 mL min⁻¹ e taxa de aquecimento constante de 10 °C min⁻¹.

A análise de calorimetria diferencial de varredura (Shimadzu DSC-60, Japão) (DSC) foi realizada de acordo com ASTM (American Society for Testing and Materials), sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL min⁻¹, aquecimento de 30 °C até 180 °C com razão de 10 °C min⁻¹. A temperatura de fusão das amostras foram determinadas a partir do pico máximo apresentado na curva de DSC obtida com o software TA-60WS (ASTM D7426-08, 2013).

2.5 HIDROFILICIDADE DAS NANOFIBRAS

A hidrofiliabilidade das nanofibras foi analisada a partir do ângulo de contato. Para isso, microscópio digital Blue (x60) foi utilizado para determinar o ângulo de contato formado entre uma gota de água destilada e a superfície da camada das nanofibras. O ângulo de contato foi obtido através do *software* Surftens v. 3.0, pela análise das imagens e determinou-se a média entre cinco repetições da medida do ângulo de cada amostra. Os resultados foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) seguida de teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

2.6 PREPARO DOS PROTÓTIPOS DOS INDICADORES DE TEMPO-pH

Inicialmente as nanofibras poliméricas contendo os corantes naturais foram removidas, do coletor rotatório, com auxílio de bisturi e pinça. Posteriormente, as nanofibras foram cortadas em dimensões de 2 x 2 cm.

2.7 PARÂMETROS DE COR DAS NANOFIBRAS

As nanofibras foram cortadas em dimensões de 2 x 2 cm e imersas em aproximadamente 20 mL de soluções tampão (pH 1 a 10) à temperatura ambiente (20 ± 1 °C). A mudança de cor foi monitorada por 1 h, comparando com a leitura no tempo inicial,

utilizando colorímetro (Minolta, CR400, Japão). Os dados obtidos foram: L^* que indica a leveza da amostra e varia de 0 (preto) a 100 (branco); e coordenadas de croma a^* variando de verde (-) a vermelho (+) e, croma b^* variando azul (-) para amarelo (+). Os resultados de L^* , a^* e b^* foram utilizados para o cálculo da mudança de cor (ΔE) de acordo com a Equação 1 (PRIETTO et al., 2017), em que $\Delta L^* = L - L_0$; $\Delta a^* = a - a_0$; $\Delta b^* = b - b_0$.

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

2.8 CINÉTICA DE VARIAÇÃO DE COR DAS NANOFIBRAS

Para a realização da análise de cinética as nanofibras (2 x 2cm) foram submersas em solução tampão do pH 2 ao 7, ocorrendo monitoramento por 24 h com acompanhamento realizado a cada 1 h, utilizando colorímetro para obtenção dos parâmetros L^* , a^* e b^* para posterior aplicação na Equação 1.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

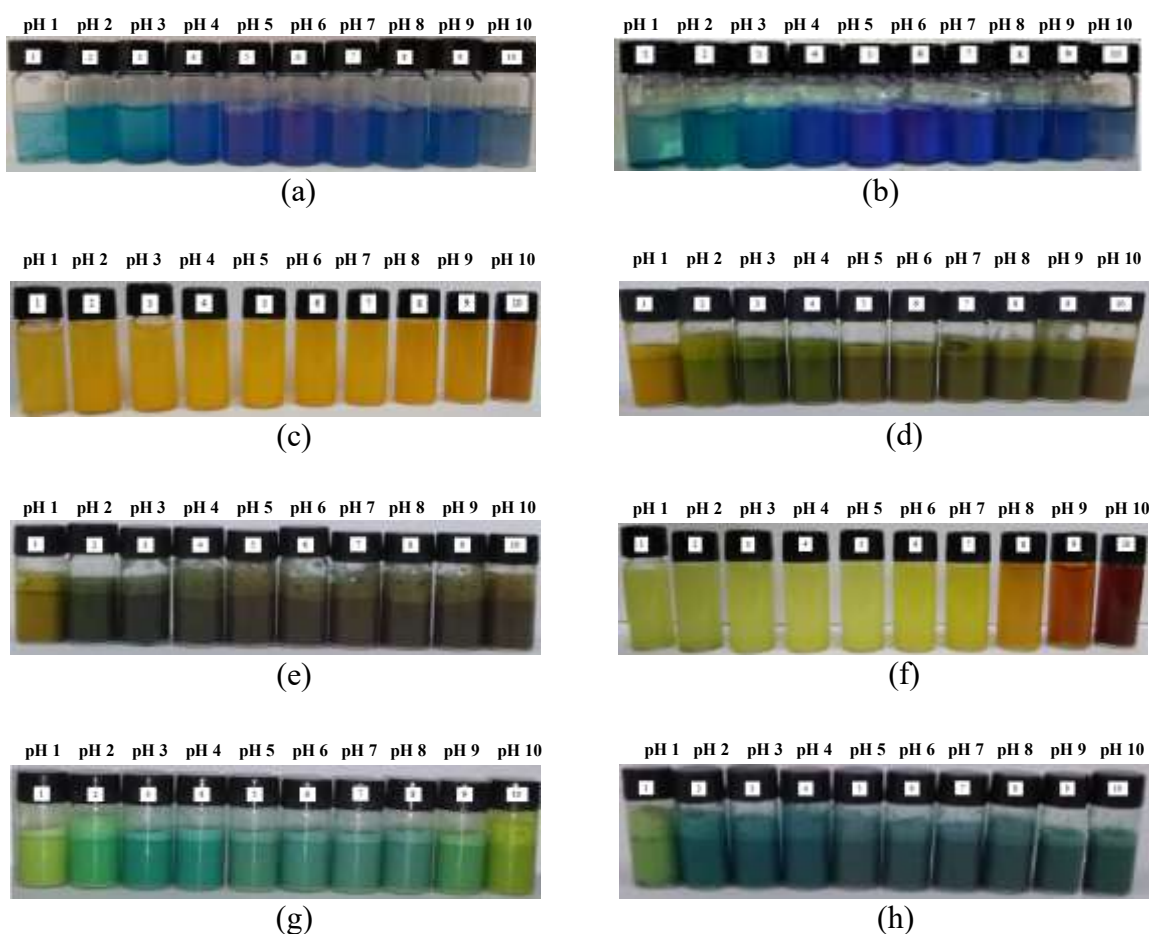
3.1 PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS DE PCL/PEO CONTENDO CORANTES NATURAIS

Em concentrações superiores a 2% ($m v^{-1}$), não foi possível solubilizar os corantes ficocianina, curcumina e quercetina na solução polimérica. Assim, menores concentrações foram analisadas para verificar o potencial dos pigmentos quanto a alteração na coloração frente a mudanças no pH (Figura 1). Quando utilizadas as concentrações de 1 e 2% ($m v^{-1}$) de ficocianina observou-se mudança de cor satisfatória do pH 1 ao 4 e do pH 9 ao 10. Quando utilizado 2% ($m v^{-1}$) de curcumina ou quercetina, observou-se satisfatória variação de cor entre os pHs 9 ao 10 e dos pHs 7 ao 10, respectivamente. Porém, afim de aumentar o espectro de variação de cor realizou-se também o estudo de blendas com os corantes naturais de 2% ($m v^{-1}$) de curcumina ou quercetina adicionados de 0,5 ou 1% ($m v^{-1}$) de ficocianina, e verificou-se satisfatórias variações de cor também em pHs ácidos.

A partir das análises realizadas da Figura 1, foi definida a concentração de 2% ($m v^{-1}$) dos compostos curcumina, ficocianina e quercetina a serem adicionadas às matrizes poliméricas para o desenvolvimento de nanofibras devido a satisfatória solubilização e variação de cor. Desta forma, verificou-se que esses corantes naturais apresentam potencial de alteração na coloração em função da exposição em diferentes pHs. Assim, iniciou-se os testes

de desenvolvimento das nanofibras, a fim de verificar se ocorreria a alteração na coloração com os pigmentos encapsulados.

Figura 1 – Coloração das amostras de soluções de (a) 1% ficocianina; (b) 2% ficocianina; (c) 2% curcumina; (d) 2% curcumina + 0,5% ficocianina; (e) 2% curcumina + 1% ficocianina; (f) 2% quercetina; (g) 2% quercetina + 0,5% ficocianina e; (h) 2% quercetina + 1% ficocianina expostas a pH de 1 a 10.

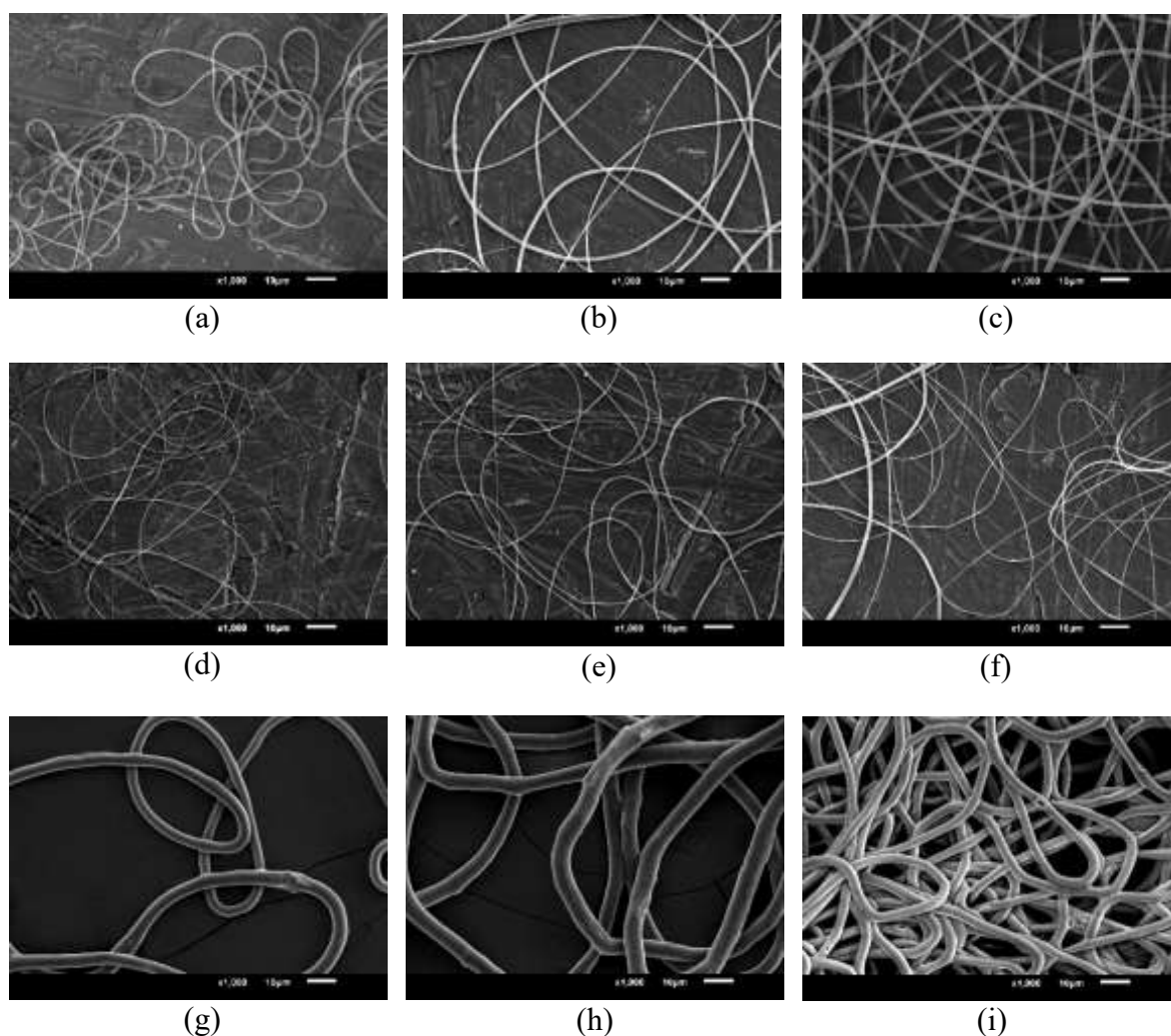


As nanofibras de PCL/PEO desenvolvidas sem a presença dos compostos apresentaram morfologia uniforme, com diâmetro médio de 316 ± 27 nm. A adição dos corantes naturais nas soluções poliméricas influenciou na morfologia e no diâmetro das nanofibras obtidas (Figura 2).

O diâmetro médio obtido para as nanofibras de PCL/PEO com 1% (m v^{-1}) de ficocianina e PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de ficocianina foram 899 ± 145 nm, 850 ± 123 nm, respectivamente. Para as nanofibras de PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de curcumina o diâmetro médio encontrado foi 550 ± 117 nm. Quando utilizado 2% (m v^{-1}) de curcumina com

ficocianina (0,5 e 1%, m v^{-1}) as nanofibras apresentaram diâmetros de $570 \pm 127 \text{ nm}$ e $587 \pm 101 \text{ nm}$, respectivamente.

Figura 2 – Nanofibras de PCL/PEO (m v^{-1}) (a) sem corantes naturais; e com (b) 1% ficocianina; (c) 2% ficocianina; (d) 2% curcumina; (e) 2% curcumina + 0,5% ficocianina; (f) 2% curcumina + 1% ficocianina; (g) 2% quercetina; (h) 2% quercetina + 0,5% ficocianina e; (i) 2% quercetina + 1% ficocianina.



O aumento no diâmetro pode ser relacionado com o incremento da concentração dos constituintes da solução por favorecer as interações intermoleculares (FENG; KHULBE; MATSUURA, 2010) e, por conseguinte, da viscosidade (Tabela 1). A viscosidade da solução de PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de curcumina foi inferior à da solução de PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de ficocianina. De acordo com Wei (2012), a massa molar da ficocianina ($19.000 \text{ g mol}^{-1}$)

é maior que da curcumina ($368,38 \text{ g mol}^{-1}$) e isso pode causar instabilidades do fluido elevando o diâmetro das nanofibras.

As nanofibras de PCL/PEO com quercetina apresentaram diâmetros superiores às demais condições analisadas. A partir da solução polimérica de PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de quercetina foi possível a formação de nanofibras com diâmetro médio de $1543 \pm 790 \text{ nm}$. As nanofibras desenvolvidas com PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de quercetina na adição de 0,5 ou 1% (m v^{-1}) de ficocianina obtiveram $2029 \pm 856 \text{ nm}$ e $2268 \pm 895 \text{ nm}$, respectivamente. As soluções de PCL/PEO com quercetina apresentaram, também, os maiores valores de viscosidade quando comparadas as demais condições. O aumento do diâmetro das nanofibras e da viscosidade da solução quanto utilizado a quercetina pode ser justificado pela baixa afinidade com a água, a qual foi utilizada no preparo das soluções. Apesar de a solução polimérica preparada ser constituída, em maior percentual, por solvente ser orgânico (clorofórmio), a qual a molécula de quercetina possui alta afinidade, a solubilidade desse biocomposto em água a temperatura ambiente é $0,00215 \text{ g L}^{-1}$. A baixa solubilidade pode ter influenciado na homogeneização da solução, interferindo nas interações moleculares de forma a prejudicar o alongamento das fibras (SRINIVAS et al., 2010).

3.2 PROPRIEDADES TÉRMICAS E HIDROFILICIDADE DAS NANOFIBRAS

A adição de 1% (m v^{-1}) de ficocianina nas matrizes poliméricas de PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de curcumina e PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) quercetina apresentou maior influência na estabilidade térmica desses compostos ao serem utilizados no desenvolvimento de nanofibras. Nestas condições, a temperatura inicial de degradação (T_{id}) dos corantes naturais encapsulados nos nanomateriais foi elevada em $97,7 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $111,8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ quando comparada a T_{id} dos corantes naturais puros quercetina e curcumina, respectivamente (Tabela 1). Tendo em vista os diferentes processos térmicos de conservação de alimentos, onde utilizam elevadas temperaturas como é o caso daqueles que são pasteurizados, os dados obtidos neste trabalho de T_{id} estarem próximos a $400 \text{ }^{\circ}\text{C}$ garante que processos tradicionais utilizados na indústria de alimentos sejam possíveis de serem empregados na presença destes indicadores. Processos tradicionais como branqueamento, utiliza intervalos curtos de aquecimento a temperatura de $100 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tabela 1 - Temperatura inicial de degradação (T_{id}), temperatura final de degradação (T_{fd}), temperatura máxima de degradação (T_m), temperatura de fusão (T_f) e viscosidade (v) das nanofibras poliméricas com curcumina (Cc), ficocianina (Fc) e quercetina (Qc).

Amostra	T_{id} (°C)	T_{fd} (°C)	T_m (°C)	T_f (°C)	v (Pa s)
Composto Puro					
PCL	379,7	426,2	404,8	59,0	-
PEO	342,0	407,4	376,7	69,3	-
Fc	237,7	352,8	290,8	59,0	-
Cc	286,5	400,0	352,9	174,9	-
Qc	300,0	383,5	351,6	100,5	-
Nanofibras					
PCL:PEO (% , m v⁻¹)					
13:6	401,9	379,4	425,2	58,7	0,98 ± 0,02
PCL:PEO:Fc (% , m v⁻¹)					
13:6:1	377,1	418,8	398,3	57,2	0,88 ± 0,03
13:6:2	399,3	412,8	392,7	56,4	1,21 ± 0,02
PCL:PEO:Cc:Fc (% , m v⁻¹)					
13:6:2:0	391,1	446,9	420,8	57,9	0,98 ± 0,01
13:6:2:0,5	390,7	449,1	419,6	58,3	1,10 ± 0,01
13:6:2:1	398,3	447,4	420,4	57,9	1,09 ± 0,02
PCL:PEO:Qc:Fc (% , m v⁻¹)					
13:6:2:0	398,0	452,2	424,1	57,8	1,15 ± 0,04
13:6:2:0,5	395,4	435,7	413,7	59,2	1,28 ± 0,05
13:6:2:1	397,7	436,7	417,7	58,5	1,25 ± 0,02

A pasteurização pode utilizar diferentes temperaturas de aquecimento, sendo a mínima de 72 °C por 15 min ou a temperatura máxima de 135 °C por 1 segundo. Desta forma, os corantes não são desnaturados mantendo a estrutura molecular estável, podendo ser aplicados como indicadores colorimétricos. Além disso, os dados de T_{id} confirmam a possibilidade de utilização da técnica de *electrospinning*, pois essa técnica não utiliza elevadas temperaturas na produção das nanofibras (SAFEFOOD, 2014).

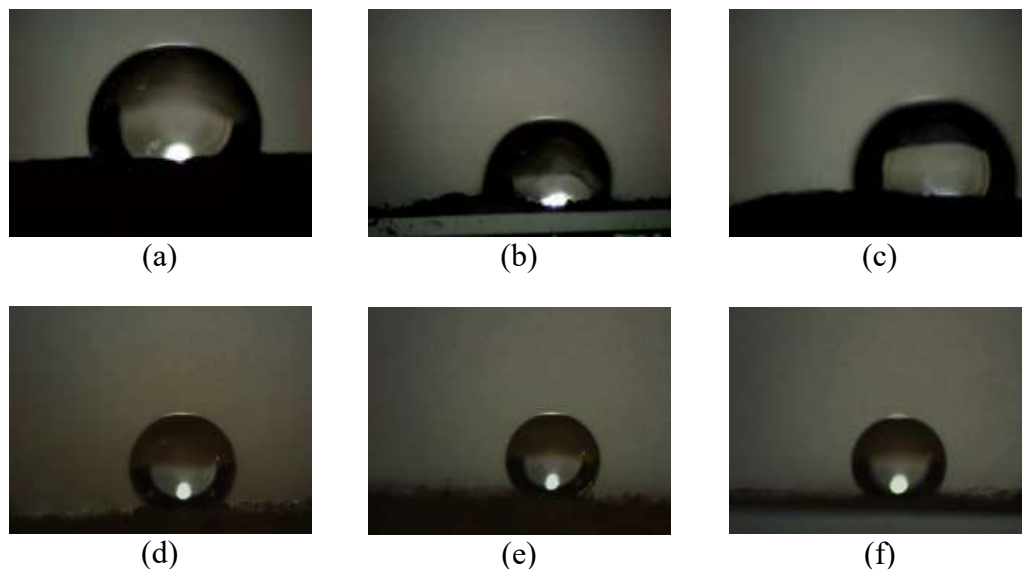
A T_f apresentou redução quando maior foi o incremento de ficocianina nas nanofibras. Este fato pode estar associado à presença de fragmentos de proteínas (T_f de 59 °C) que possuem degradação abaixo da T_f do PEO (≈ 70 °C). Como as respostas de T_f das nanofibras nas diferentes concentrações de corantes naturais não excedem as temperaturas limites de mudança de estado dos compostos poliméricos puros, os nanomateriais obtidos podem ser aplicados em alimentos no monitoramento a temperatura ambiente. Além disso, a remoção do solvente residual foi observada pela ausência de sobreposição de curvas endotérmicas, em DSC, e pela ausência de pico de degradação na faixa de 61,2 °C, observada em análise termogravimétrica, que é a temperatura de ebulição do clorofórmio.

Com relação à hidrofobicidade e hidrofiliabilidade dos materiais, o ângulo de contato encontrado para as nanofibras de PCL/PEO ($108,3 \pm 0,8^\circ$), PCL/PEO com 2% (m v⁻¹) de curcumina ($120,2 \pm 2,7^\circ$), PCL/PEO com 2% (m v⁻¹) de curcumina com 0,5% (m v⁻¹) de ficocianina ($116,1 \pm 5,8^\circ$) e PCL/PEO com 2% (m v⁻¹) de curcumina com 1% (m v⁻¹) de ficocianina ($127,4 \pm 2,1^\circ$) evidenciaram forte caráter hidrofóbico (Figura 3). De acordo com Yuan e Lee (2013), materiais com ângulos de contato maiores que 90° são considerados hidrofóbicos. Isso desfavorece a molhabilidade da superfície das nanofibras, formando uma gota de líquido compacta.

A característica de hidrofobicidade conferida as nanofibras pode ter ocorrido devido à blenda polimérica de PCL/PEO com a curcumina, com ou sem ficocianina, não apresentarem suficiente interação entre si. Assim, não foi possível a formação de ligações de hidrogênio na camada limite, entre a interface da superfície das nanofibras com a água, devido à alta densidade das soluções. Isso pode ter influenciado no desempenho da permeabilidade à água das membranas (LIU et al., 2011; MOHD ZAHARI et al., 2015). Além disso, a adição de 0,5 e 1,0% (m v⁻¹) de ficocianina não contribuiu para melhorar a hidrofiliabilidade das nanofibras de curcumina. Desta forma, as concentrações adicionadas do pigmento não foram suficientes para modificar essa característica dos nanomateriais.

Contudo, as fibras de PCL/PEO com 2% (m v⁻¹) de quercetina tanto na adição de 0,5 como 1% (m v⁻¹) de ficocianina apresentaram elevado caráter hidrofílico, representado pela ausência de gota na superfície da membrana. Isso pode ter ocorrido devido a este flavonóide possuir comportamento anfifílico, pois apresenta em sua estrutura molecular cinco grupos hidroxil, porção polar, e três anéis fenólicos, porção apolar (CODORNIU-HERNANDEZ et al., 2003). Com isso, pode ter sido possível a criação de ligações de hidrogênio entre o PEO e a quercetina o que contribuiu para redução do caráter hidrofóbico das nanofibras.

Figura 3 – Imagem da gota formada na análise de ângulo de contato sobre a superfície das nanofibras de PCL/PEO em m v^{-1} (a) sem corantes naturais; e com (b) 1,0% ficocianina; (c) 2,0% ficocianina; (d) 2% curcumina; (e) 2% curcumina + 0,5% ficocianina; (f) 2% curcumina + 1,0% ficocianina.



As nanofibras com 1% (m v^{-1}) de ficocianina apresentaram caráter hidrofílico, $84,8 \pm 0,3^\circ$ e com 2% (m v^{-1}) de ficocianina ($95,4 \pm 0,2^\circ$) obteve caráter levemente hidrofóbico. Segundo Wenzel (1936), o ângulo de contato formado da gota de água com a superfície da nanofibra tende a ser menor com o aumento da rugosidade da superfície, quando essa é composta de substâncias hidrofílicas, como o PEO e a ficocianina. O caráter levemente hidrofóbico é indicado quando deseja aplicar o material como indicador de tempo-pH em alimentos líquidos ou semissólidos. Assim, é possível que o indicador entre em contato com o produto e ocorra alteração de cor, dependendo do pH do meio, sem que ocorra a liberação do corante para o alimento.

3.3 PARÂMETROS DE COR DAS NANOFIBRAS

A partir da análise de diferença de coloração (ΔE), foi possível observar que em todas as fibras com quercetina os compostos ficaram adsorvidos na matriz polimérica, resultando na liberação do pigmento para o meio tampão (1 ao 10). A liberação pode ter ocorrido devido à quercetina não ter sido totalmente solubilizada na solução de clorofórmio e água, devido ao caráter hidrofóbico da molécula. Assim, devido ao elevado diâmetro e liberação do corante essa condição foi desconsiderada para a análise de cinética.

Contudo, as deteriorações em alimentos perecíveis, como suco de frutas e produtos cárneos ocorrem nas faixas de pH 2 ao 7. A faixa de pH ótima característica de sucos de frutas cítricas varia entre 3,6 a 4,0. Entretanto, se houver contaminação pelas bactérias *Lactobacillus* e/ou *Leuconostoc* o produto da degradação é o diacetil, que induz odor forte e sabor desagradável ao suco, o CO₂ e ácido lático, ocorrendo diminuição do pH do meio (VEGARA et al., 2014). Segundo Kuswandi e Nurfawaidi (2014), a deterioração de carnes ocorre entre pH 5,6 a 6,2.

Neste contexto, quando analisado as nanofibras de PCL/PEO com 2% (m v⁻¹) de curcumina as respostas de ΔE ficaram entre 1,5 a 5,8. Para as nanofibras poliméricas com 2% (m v⁻¹) de curcumina com 1% (m v⁻¹) de ficocianina, foram encontrados ΔE entre 6,4 à 37. Quando comparado com os resultados individuais de cada parâmetro de interação de pH, as nanofibras desenvolvidas com PCL/PEO adicionadas de 2% de curcumina e 0,5% (m v⁻¹) de ficocianina obtiveram até 66,7% dos resultados de ΔE superiores que as demais condições com 2% (m v⁻¹) de curcumina, com (1%, m v⁻¹) e sem adição de ficocianina. Esta observação evidencia que as nanofibras de PCL/PEO produzidas com 2% de curcumina adicionadas de 0,5% (m v⁻¹) de ficocianina, são alternativas promissoras para aplicação como sistemas indicadores de variação de cor. O mesmo ocorreu com as nanofibras de PCL/PEO desenvolvidas com 2% (m v⁻¹) de ficocianina, que obtiveram 60% dos resultados de ΔE superiores a condição de nanofibras produzidas com 1% (m v⁻¹) do pigmento microalgal.

Segundo Mokrzycki e Tatol (2011), valores de ΔE menores que 1 o observador não detecta diferença de cor. Em valores entre 1 e 2, apenas observadores treinados podem detectar a diferença. Para resposta de ΔE entre 2 e 3,5, observadores inexperientes percebem pequena diferença de cor e, entre 3,5 e 5 a diferença de cor tona-se perceptível. De acordo com Tassanawat et al. (2007), valores de ΔE superiores a 12 indicam diferença absoluta de cor pelo olho humano. A maioria (80%) dos valores de $\Delta E \geq 12,1$ foram encontradas para as nanofibras de PCL/PEO adicionadas de 2% de curcumina com 0,5% (m v⁻¹) de ficocianina, sendo a maioria dos valores totalmente perceptíveis ao observador (Tabela 2). Para as nanofibras poliméricas adicionadas com 2% (m v⁻¹) de ficocianina os valores de $\Delta E \geq 12$ foi de 33,3%, porém valores entre $3,5 \leq \Delta E \leq 11,4$ foi 66,7% dos resultados obtidos, sendo que nesta faixa observadores percebem a diferenciação de cor.

É possível observar na Tabela 2 que a coloração das nanofibras PCL/PEO adicionadas de 2% de curcumina com 0,5% (m v⁻¹) de ficocianina, a mudança de coloração foi mais perceptível nos pHs 1, 2, 7, 8, 9 e 10. Essa observação pode estar relacionada a estabilidade da molécula de curcumina, que nesta condição é a maior porção de pigmento na

solução polimérica, ser entre os pHs 3 a 7 sendo que nos demais pHs o biocomposto é facilmente degradado (WANG et al., 1997).

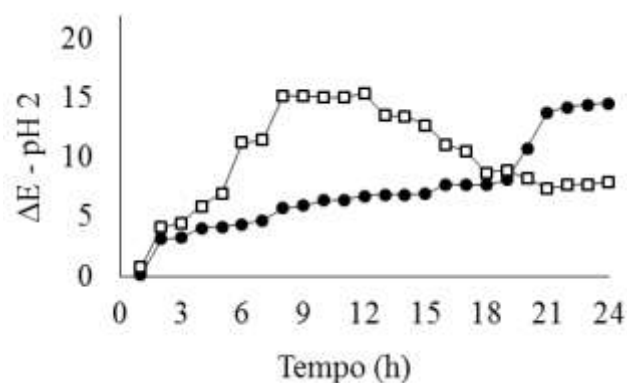
As nanofibras de PCL/PEO contendo 2% (m v^{-1}) de ficocianina apresentaram melhores resultados de diferenciação de cor (Figura Tabela 2) nas faixas de pH analisadas, quando comparada as demais nanofibras desenvolvidas. Pois, segundo Chaiklahan, Chirasuwan e Bunnag (2012), a estabilidade máxima da ficocianina a temperatura ambiente é na faixa de pH 5,5-6,0. Desta forma, para uso como corante natural na aplicação como indicadores colorimétricos, a instabilidade da ficocianina frente a amplo intervalo de pH é vantajosa, já que a degradação da molécula é responsável pela variação da cor. Assim, com base nestes resultados, os indicadores desenvolvidos com nanofibras de PCL/PEO contendo 2% (m v^{-1}) de ficocianina e nanofibras de PCL/PEO contendo 2% (m v^{-1}) de curcumina com 0,5% (m v^{-1}) de ficocianina, foram escolhidos para avaliação quanto a estabilidade e amplitude da cor através das análises de cinética.

3.4 CINÉTICA DE VARIAÇÃO DE COR DAS NANOFIBRAS

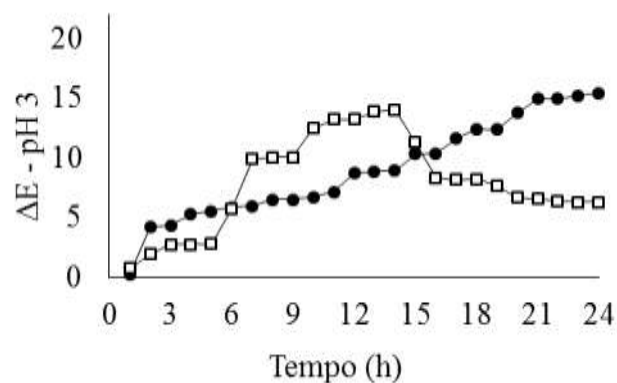
O indicador obtido com nanofibras de PCL/PEO adicionado com 2% (m v^{-1}) de curcumina e 0,5% (m v^{-1}) de ficocianina apresentou declínio da curva, após aproximadamente 15 h de exposição nas soluções tampão (2 ao 7). Essa observação representa a perda da eficiência de cor, que é caracterizado pela liberação do pigmento da nanofibra para o meio externo (Figura 4). Isso pode ter ocorrido, devido ao grau de correlação entre o índice de polaridade das soluções tampão com a capacidade de solubilização dos pigmentos. O indicador colorimétrico produzido a partir de nanofibras de PCL/PEO adicionados de 2% (m v^{-1}) de ficocianina, apresentou perfil colorimétrico crescente por, aproximadamente, 20 h de análise onde após a coloração manteve-se estável. Esse resultado é promissor quando desejar-se aplicar o nanomaterial como embalagem inteligente, pois a nanofibra desenvolvida com 2% (m v^{-1}) de ficocianina não perdeu o potencial colorimétrico, bem como o pigmento microalgal não permeou pelos poros da matriz polimérica nas 24 h em que esteve exposto no meio tampão. Além disso, o aumento do perfil colorimétrico, com posterior estabilização, aumenta a percepção da cor (ΔE) pelo consumidor (KUNTZLER et al., 2020).

Outro ponto importante na avaliação de sistema indicadores é a máxima amplitude dos resultados de ΔE , entre os diferentes pHs. Observou-se durante análise de cinética que os indicadores de PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de ficocianina obtiveram respostas de amplitude de ΔE entre $0,22 \pm 0,1$ a $17,26 \pm 3,4$, nas faixas de pH 2 ao 7.

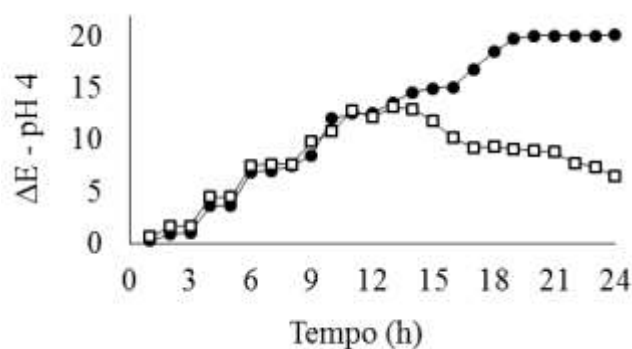
Figura 4 – Cinética de variação de cor para as condições de nanofibra de PCL/PEO com (m v^{-1}) (●) 2% ficocianina e (□) 2% curcumina + 0,5% ficocianina em diferentes soluções de pH (a) 2; (b) 3; (c) 4; (d) 5; (e) 6 e (f) 7.



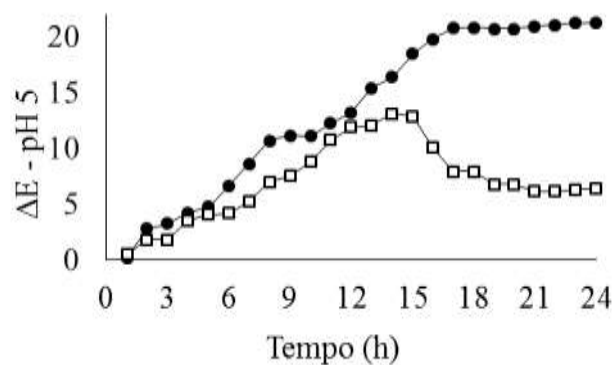
(a)



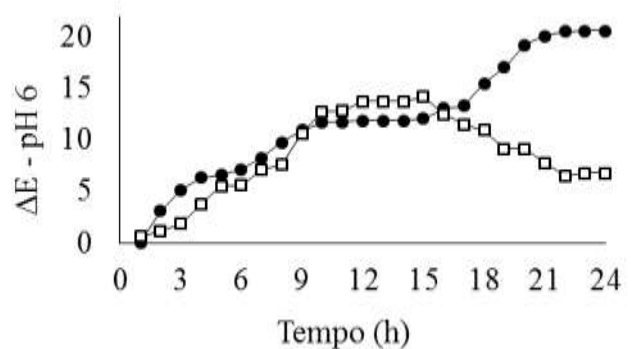
(b)



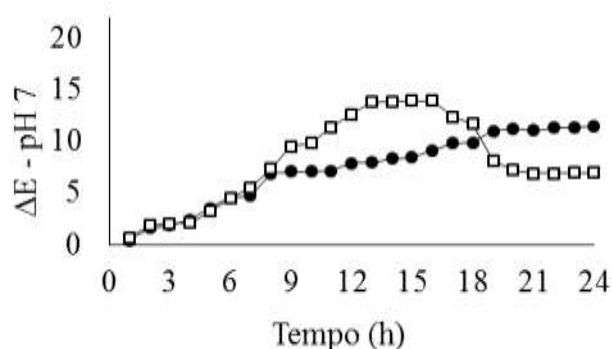
(c)



(d)



(e)



(f)

Estes resultados quando comparados aos valores obtidos com o indicador desenvolvido com 2% de curcumina e 0,5% (m v^{-1}) de ficocianina, amplitude da ΔE $0,65 \pm$

0,06 a $12,74 \pm 1,6$, foram superiores. Essa observação evidencia que as nanofibras com 2% (m v^{-1}) de ficocianina apresentam maior espectro de variação de cor nas faixas de pH 2 ao 7, permitindo que consumidores inexperientes diferencie com facilidade a coloração do indicador. É possível observar que nas nanofibras de PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de ficocianina apresentaram valores de $\Delta E \geq 5$ em, aproximadamente, 5 h de exposição nas soluções tampão. As nanofibras poliméricas com 2% de curcumina e 0,5% (m v^{-1}) de ficocianina essa condição foi obtida após, aproximadamente, 6 h de exposição das nanofibras nas soluções tampão.

Essas observações evidenciam que os indicadores desenvolvidos são capazes de evidenciar alterações físico-químicas que podem ocorrer em alimentos perecíveis. Que são decorrentes das atividades de degradação que acontecem em menos de 24h, quando os alimentos são armazenados fora das condições ótimas. A carne bovina possui pH ideal de aproximadamente 5,5 e carne de frango aproximadamente 5,7. Contudo, fora das condições ideais de armazenamento os processos microbiológicos são acelerados, fazendo com que o valor de pH da carne deteriorada atinja aproximadamente 7,2 (HOPKINS et al., 2014; SANFELICE et al., 2010). Em carne de pescado mantidas em condições ideais de armazenamento o pH ótimo é de aproximadamente 5,8 e a deterioração, quando exposto à temperatura ambiente, ocorre em apenas 22 h elevando o pH para 6,9 (KUSWANDI et al., 2012). Frutas cítricas, como por exemplo amoras, em condições ótimas de armazenamento possui prazo de validade de 5 a 15 dias. No entanto, a vida útil dessa fruta pode ser de 1 dia quando mantida a temperaturas superiores a 10°C (NUNES et al., 2014).

Assim, o indicador colorimétrico desenvolvido a partir de nanofibras de PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de ficocianina torna-se alternativa promissora no monitoramento da qualidade de alimentos perecíveis, pois é capaz de estimar visualmente as mudanças de pH ao longo tempo sem perder a eficiência de coloração.

4 CONCLUSÃO

Indicadores colorimétricos a partir de nanofibras de PCL/PEO contendo 2% (m v^{-1}) de ficocianina foram desenvolvidos, apresentando diâmetro médio de 899 nm. Esses nanomateriais apresentaram perfil colorimétrico crescente em 20 h de exposição às soluções tampão (pH 2 ao 7), com posterior estabilidade da cor, apresentando máxima amplitude de ΔE , entre $0,22 \pm 0,1$ a $17,26 \pm 3,4$.

Também foi possível observar que nas nanofibras de PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de ficocianina apresentaram valores de $\Delta E \geq 5$ em, aproximadamente, 5 h de exposição nas

soluções tampão. Estes valores evidenciam que os sistemas indicadores desenvolvidos são capazes de monitorar a vida útil de alimentos perecíveis, pois o tempo no qual alimentos perecíveis, fora das condições ideais de armazenamento, começam a degradar-se é de menos 24 h. Além disso, a variação de cor das nanofibras com 2% (m v^{-1}) de ficocianina foram ≥ 12 , apresentando mudança de cor absolutamente perceptível à olho nu. Assim, as nanofibras desenvolvidas com 13% de PCL e 6% (m v^{-1}) de PEO com adição de 2% (m v^{-1}) de ficocianina, tornam-se alternativa promissora quando deseja-se desenvolver embalagens inteligentes com rápida resposta às variações físico-químicas dos alimentos, através do pigmento microalgal que é atóxico ao alimento, meio ambiente e consumidor.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- CHAIKLAHAN R.; CHIRASUWAN, N.; BUNNAG, B. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: Influence of temperature, pH and preservatives. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 659-664, 2012.
- CODORNIU-HERNÁNDEZ, E.; MESA-IBIRICO, A.; MONTERO-CABRERA, L. A.; MARTÍNEZ-LUZARDO, F.; BORRMANN, T.; STOHRER, W.-D. Theoretical study of flavonoids and proline interactions. Aqueous and gas phases. **Journal Of Molecular Structure: Theochem**, v. 623, p. 63–73, 2003.
- FENG, C.; KHULBE, K.; MATSUURA, T. Recent progress in the preparation, characterization, and applications of nanofibers and nanofiber membranes via electrospinning/interfacial polymerization. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 115, p. 756-776, 2010
- HEISING, J. K.; DEKKER, M.; BARTELS, P. V.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. Monitoring the quality of perishable foods: opportunities for intelligent packaging, Critical Reviews. **Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 5, p. 645–654, 2014.
- HOPKINS, D. L.; PONNAMPALAM, E. N.; VAN DE VEN, R. J.; WARNER, R. D. The effect of pH decline rate on the meat and eating quality of beef carcasses. **Animal Production Science**, V. 54, P. 407–413, 2014.
- KONGLIANG, X.; AINQIN, G.; CHUNLEI, L.; MIN, L. Highly Water-Soluble And Ph-Sensitive Colorimetric Sensors Based On A D-Pi-A Heterocyclic Azo Chromosphere. **Sensor And Actuators B: Chemical**, v. 204, p. 167-174, 2014.
- KUNTZLER, S. G.; COSTA, J. A. V.; BRIZIO, A. P. D. R.; DE MORAIS, M. G. Development of a colorimetric pH indicator using nanofibers containing *Spirulina* sp. LEB 18. **Food Chemistry**, p. 126768, 2020.
- KUSWANDI, B.; JAYUS, A. R.; ABDULLAH, A.; HENG, L. Y.; AHMAD, M. A novel colorimetric food package label for fish spoilage based on polyaniline film. **Food Control**, v. 25, p. 184-189, 2012.

LIU, F.; HASHIM, N. A.; LIU, Y.; ABED, M. R. M.; LI, K. Progress in the Production and Modification of PVDF Membranes. *Journal of Membrane Science*, v. 375, p. 1-27, 2011.

MOHD ZAHARI, A.; MOHD YUSOFF, A. R.; BUANG, N. A.; SATISHKUMAR, P.; JASNI, M. J. F.; YUSOP, Z. Fabrication And Characterization Of Polyvinylidene Fluoride Composite Nanofiber Membrane For Water Flux Property. **Jurnal Teknologi**, v. 74, n. 11, 2015.

MOKRZYCKI, W. S.; TATOL, M. Color Difference Delta E – A Survey. **Machine Graphics and Vision**, v. 20, n. 4, p. 383–411, 2011.

MOMIĆ T.; SAVIC, J.; CERNIGOJ, U.; TREBSE, P.; VASIC, V. Protolytic Equilibria and Photodegradation of Quercetin in Aqueous Solution. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v. 72, n. 11, p. 1447-1460, 2007.

MOREIRA, J. B.; TERRA, A. L. M.; COSTA, J. A. V.; DE MORAIS, M. G. Development of pH indicator from PLA/PEO ultrafine fibers containing pigment of microalgae origin. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 1855-1862, 2018.

NUNES, M. C.; NICOMETO, M.; EMOND, J. P.; MELIS, R. B.; UYSAL, I. Improvement in fresh fruit and vegetable logistics quality: Berry logistics field studies. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, n. 20130307, 2014.

POTYRAILO, R. A.; NAGRAJ, N.; TANG, Z.; MONDELLO, F. J.; SURMAN, C.; MORRIS, W. Battery-free radio frequency identification (RFID) sensors for food quality and safety. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 35, p. 8535–8543, 2012.

PRIETTO, L.; PINTO, V. Z.; HALAL, S. L. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V.; LIM, L. T.; DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E. D. R. Ultrafine Fibers Of Zein And Anthocyanins As Natural pH Indicator. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, v. 1, p. 1-9, 2017.

Safefood 360° is the provider of food safety management software for industry leading businesses. WHITEPAPER - Thermal Processing of Food safefood, 2014. Disponível em: <<http://www.tiselab.com/pdf/Thermal-Processing-of-Food.pdf>>. Acessado em: 17 de julho de 2019.

SANFELICE, C.; MENDES, A. A.; KOMIYAMA, C. M.; CAÑIZARES, M. C.; RODRIGUES, L.; CAÑIZARES, G. I.; ROÇA, R. O.; ALMEIDA, I. C. L. P.; BALOG, A.; MILBRADT, E. L.; CARDOSO, K. F. G. Evaluation and characterization of breast quality of broiler breeder hen in the end of productive cycle. **Food Technology and Science**, v. 30, p. 166-170, 2010.

SRINIVAS, K.; KING, J. W.; HOWARD, L. R.; MONRAD, J. K. Solubility and solution thermodynamic properties of quercetin and quercetin dihydrate in subcritical water. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 208–218, 2010.

TASSANAWAT, S.; PHANDEE, A.; MAGARAPHAN, R.; NITHITANAKUL, M.; MANUSPIYA, H. **pH-Sensitive Pp/Clay Nanocomposites for Beverage Smart Packaging**. In Proceedings of the 2nd Ieee International, Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, Bangkok, THA, 2007.

THANGAM, R.; SURESH, V.; ASENATH, P. W.; RAJKUMAR, M.; SENTHILKUMAR, N.; GUNASEKARAN, P.; RENGASAMY, R.; ANBAZHAGAN, C.; KAVERI, K.; KANNAN, S. C-Phycocyanin from *Oscillatoria tenuis* exhibited na antioxidant and in vitro antiproliferative activity through induction of apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest. **Food Chemistry**, v. 140, p. 262-272, 2013.

VEGARA, S.; MARTI, N.; LORENTE, J.; COLL, L.; STREITENBERGER, S.; VALERO, M.; SAURA, D. Chemical guide parameters for *Punica granatum* cv. 'Mollar' fruit juices processed at industrial scale. **Food Chemistry**, v. 147, p. 203–208, 2014.

WANG, Y. J.; PAN, M. H.; CHENG, A. L.; LIN, L. I.; HO, Y. S.; HSIEH, C. Y.; LIN, J. K. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, n. 12, p. 1867-76, 1997.

WENZEL, R. N. Resistance Of Solid Surfaces To Wetting By Water. **Industrial & Engineering Chemistry**, v. 28, n. 8, p. 988–994, 1936.

YAM, K. L. Intelligent packaging to enhance food safety and quality. In YAM, K. L., LEE, D. S. (Eds.), *Emerging Food Packaging Technologies: Principles and Practice*, Philadelphia: Woohhead Publishing Limited, p.840 139, 2012.

YUAN, Y.; LEE, T. R. **Contact Angle And Wetting Properties**. (1th ed.). Berlin: Surface Science Techniques, 2013.

ARTIGO 2

POTENCIAL DE IRREVERSIBILIDADE DE COR DOS INDICADORES COLORIMÉTRICOS DE NANOFIBRAS CONTENDO FICOCIANINA

RESUMO

O desenvolvimento de indicadores colorimétricos utilizando nanofibras permite resposta rápida, frente as alterações físico-químicas do alimento. Isso ocorre devido à grande área superficial destes nanomateriais e a possibilidade em adicionar corantes naturais, como a ficocianina, que altera a coloração de acordo com a variação de pH. Assim, o objetivo do estudo foi desenvolver membranas indicadoras de pH a partir de nanofibras poliméricas com ficocianina, avaliando a irreversibilidade do sistema. As soluções poliméricas foram preparadas com 13% (m v⁻¹) policaprolactona (PCL), 6% (m v⁻¹) de poli (oxietileno) (PEO), variando as concentrações de ficocianina em 0,5, 1 e 2% (m v⁻¹) de ficocianina, tendo como solvente clorofórmio e água destilada (8:2). A técnica de *electrospinning* foi utilizada para formação das nanofibras poliméricas. As nanofibras de 13% de PCL e 6% de PEO com 2% (m v⁻¹) de ficocianina quando testadas em tampões de pH na faixa de 3-4 e 5-6 apresentaram valores de variação de cor $\geq 8,5$. Assim, as nanofibras de PCL/PEO contendo 2% (m v⁻¹) de ficocianina tornam-se alternativa promissora para aplicação dos indicadores em embalagens para o monitoramento da viabilidade de alimentos.

Palavras-chave: *electrospinning*; embalagem inteligente; mudança de cor; pigmento microalgal

1 INTRODUÇÃO

A motivação das indústrias em desenvolver sistemas inovadores para garantir a qualidade dos alimentos é resultante da combinação de fatores como alterações físico-químicas e bioquímicas na matéria-prima durante o processamento e armazenamento, adulterações nos processos, efeitos na saúde e medidas ineficientes de controles antifraude (KASZA et al., 2018). Sistemas inteligentes possuem papel fundamental na comunicação e *marketing*, fornecendo *feedback* dinâmico ao consumidor sobre a qualidade do produto (MOHEBI; MARQUEZ, 2015; MCMILLIN, 2017), garantindo alimentos seguros, nutritivos e livres de atividades fraudulentas.

Os sistemas indicadores devem fornecer informações sem ser necessário empregar análises complexas ou equipamentos. A resposta pode ser obtida através de alterações de cor em função das variações físico-químicas e bioquímicas dos alimentos. Para isso, os indicadores devem apresentar confiabilidade por meio de reações indicadoras irreversíveis, a fim de evitar resultados falso-negativos causados por embalagens ou alimentos que sofreram adulterações (MOHEBI; MARQUEZ, 2015; MCMILLIN, 2017).

As embalagens inteligentes contendo indicadores podem ser produzidas através de processos nanotecnológicos. O *electrospinning* é uma técnica que permite obter nanofibras semipermeáveis. Uma das principais vantagens do uso desses nanomateriais para aplicação

como indicadores é devido à sua elevada área superficial. Assim, biomoléculas são imobilizadas, aumentando o número de sítios reacionais disponíveis para interação com a espécie alvo. Logo, as nanofibras tornam-se adequadas para o desenvolvimento de indicadores que auxiliam na detecção de mudanças físico-químicas que ocorrem nos alimentos (BATOOL et al., 2019).

Para desenvolver sistemas indicadores a partir de nanofibras é necessário que os componentes como polímeros e corantes sejam atóxicos e compatíveis com os alimentos. Assim, biomoléculas com propriedade fluorescente como a ficocianina podem ser incorporadas nesses materiais. Este pigmento orgânico natural hidrossolúvel extraído da microalga *Spirulina* pode ter a sua coloração alterada de acordo com a temperatura e pH em que é exposta (KUSWANDI et al., 2014; JANJARASSKUL e SUPPAKUL, 2017).

Neste contexto, o trabalho desenvolvido apresenta inovação na pesquisa científica, uma vez que há poucos estudos que referenciem o potencial de nanofibras para aplicação em alimentos. Além disso, os estudos não avaliam se os indicadores de pH desenvolvidos garantem a detecção de fraudes alimentares nas indústrias. Assim, o objetivo do estudo foi desenvolver membranas indicadoras de pH a partir de nanofibras poliméricas com ficocianina, avaliando a irreversibilidade do sistema.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Os polímeros utilizados foram poli (óxido de etileno) (PEO) (massa molar 600 g mol⁻¹) e policaprolactona (PCL) (massa molar 80.000 g mol⁻¹) obtidos da empresa Sigma-Aldrich® (Estados Unidos) e ficocianina comercial (Zhejiang Binmei Biotechnology, China). Os solventes utilizados foram clorofórmio e água destilada.

2.2 SOLUÇÕES POLIMÉRICAS E PARÂMETROS DO *ELECTROSPINNING*

Experimentos preliminares foram realizados com 1% (m v⁻¹) de ficocianina em diferentes concentrações poliméricas, como 13% PCL com 3 e 6% (m v⁻¹) de PEO, e soluções somente com 13% (m v⁻¹) de PCL e PEO também foram preparadas. Para o preparo dessas soluções foi utilizado clorofórmio:água destilada (8:2), e posteriormente, foram homogeneizadas em agitador magnético (Fisatom, Brasil) por 24 h a temperatura ambiente (19 ± 1 °C). Após definir a formulação da matriz polimérica, a concentração de ficocianina foi

avaliada em 0,5, e 2%. As soluções foram preparadas em clorofórmio: água destilada (8:2), com homogeneização em agitador magnético por 24 h a temperatura ambiente (19 ± 1 °C).

Os parâmetros utilizados no processo de *electrospinning* foram o potencial elétrico de 15 kV, taxa de alimentação da solução de $600 \mu\text{L h}^{-1}$, capilar com diâmetro 0,45 mm, distância do coletor rotatório ao capilar de 15 cm e rotações de 180 rpm (MOREIRA et al, 2018). O processo foi conduzido à 19 ± 1 °C e umidade relativa de $49 \pm 2\%$.

Para avaliar a viscosidade das soluções poliméricas foi utilizado reômetro (Brookfield DV-III Ultra Programmable Rheometer, Estados Unidos), a partir de 0,5 mL de cada solução de blenda polimérica com ficocianina.

2.3 MORFOLOGIA E DIÂMETRO MÉDIO

A morfologia das nanofibras foi analisada utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) (JEOL, JSM-6610 LV, Japão) com tensão de aceleração de 10 kV. As amostras foram recobertas com ouro (20 nm) utilizando o metalizador *diiode sputtering* (ASTM E986-04, 2010). O diâmetro médio das nanofibras foi determinado através da medida de 30 pontos diferentes na imagem obtida pelo MEV e analisada pelo software de processamento de imagem (Image J, NIH, Bethesda, MD, EUA).

2.4 ANÁLISES TÉRMICAS

A medida da estabilidade térmica das nanofibras, polímeros e ficocianina, assim como avaliação do conteúdo de solvente residual foram realizados em analisador termogravimétrico (Shimadzu DTG-60, Japão) de acordo com a metodologia ASTM D3850-12 (2013). As análises foram conduzidas a 30°C até alcançar 500°C, em atmosfera inerte de nitrogênio, com fluxo de 30 mL min^{-1} e taxa de aquecimento constante de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, utilizando 2 a 6 mg de amostra.

Para determinação da temperatura de fusão da ficocianina, polímeros e nanofibras foi utilizado calorímetro diferencial de varredura (Shimadzu DSC-60, Japão). Cerca de 4 mg de cada amostra foram colocadas em cápsulas de alumínio com tampa, sob atmosfera de nitrogênio e fluxo de 50 mL min^{-1} . As análises foram conduzidas a 30°C até alcançarem 180 °C, com razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, de acordo com ASTM (American Society for Testing and Materials).

2.5 MOLHABILIDADE DAS NANOFIBRAS

A hidrofiliicidade e hidrofobicidade das nanofibras foram avaliadas pela análise do ângulo de contato utilizando microscópio digital Blue (x60), no qual uma gota de água destilada foi colocada sobre a superfície das nanofibras. A partir do software Surftens 3.0, cinco medições de ângulo de cada imagem foram realizadas utilizando cinco pontos de medição dispostos ao redor da gota (FOMBUENA et al., 2013). Os resultados foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) seguida de teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

2.6 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DA FICOCIANINA NAS NANOFIBRAS

Para avaliar a eficiência de encapsulação (EE) da ficocianina em nanofibras com morfologia uniforme, 10 mg de nanofibras com adição de ficocianina foram solubilizadas em 4 mL de água destilada. A fim de liberar a ficocianina encapsulada no meio aquoso, as membranas foram agitadas em vórtex por 15 min. A absorbância foi obtida em espectrofotômetro (Q898DRM, Quimis, Brasil) a 615 nm (A_{615}) e 652 nm (A_{652}), e a concentração de ficocianina (FC, mg mL⁻¹) foi determinada de acordo com a Equação 1 (BENNET e BOGORAD, 1971).

$$F_c = \frac{(A_{615} - 0,474 \times A_{652})}{5,34} \quad (1)$$

A EE (% w w⁻¹) foi calculada pela razão de massa de ficocianina encapsulada em 1 mL da solução de polímero e a massa total de ficocianina adicionada na solução de polímero no início do processo de *electrospinning* (ZHU et al., 2015).

2.7 PARÂMETROS DE COR DAS NANOFIBRAS

As nanofibras com ficocianina foram cortadas nas dimensões de 2 x 2 cm e imersas em aproximadamente 20 mL de soluções tampão (pH 1 a 10) a 20 °C ± 1 °C, por aproximadamente 2 min. A cor foi avaliada utilizando colorímetro (Minolta, CR400, Japão). Os dados obtidos foram: L* que indica a luminosidade da amostra e varia de 0 (preto) a 100 (branco); coordenadas de croma a* variando de verde (-) a vermelho (+); e croma b* variando

azul (-) para amarelo (+). Os resultados de L^* , a^* e b^* foram utilizados para o cálculo da mudança de cor (ΔE) de acordo com a Equação 2 (PRIETTO et al., 2017).

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

2.8 AVALIAÇÃO DA IRREVERSIBILIDADE DE COR DAS NANOFIBRAS

As nanofibras foram imersas em aproximadamente 20 mL de soluções tampão (pH 3 ao 6), por aproximadamente 2 min a $20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Para avaliar a irreversibilidade do sistema referente a interação pH 3 com 4, a membrana de nanofibras foi imergida em pH 3, posteriormente retirada da solução tampão e mergulhada em pH 4, seguido de imersão novamente em pH 3. Após cada imersão, as membranas foram avaliadas quanto à variação de cor (ΔE) (Equação 2). Também foram avaliadas as variações de coloração com as interações entre os pH 4 com 5 e pH 5 com 6.

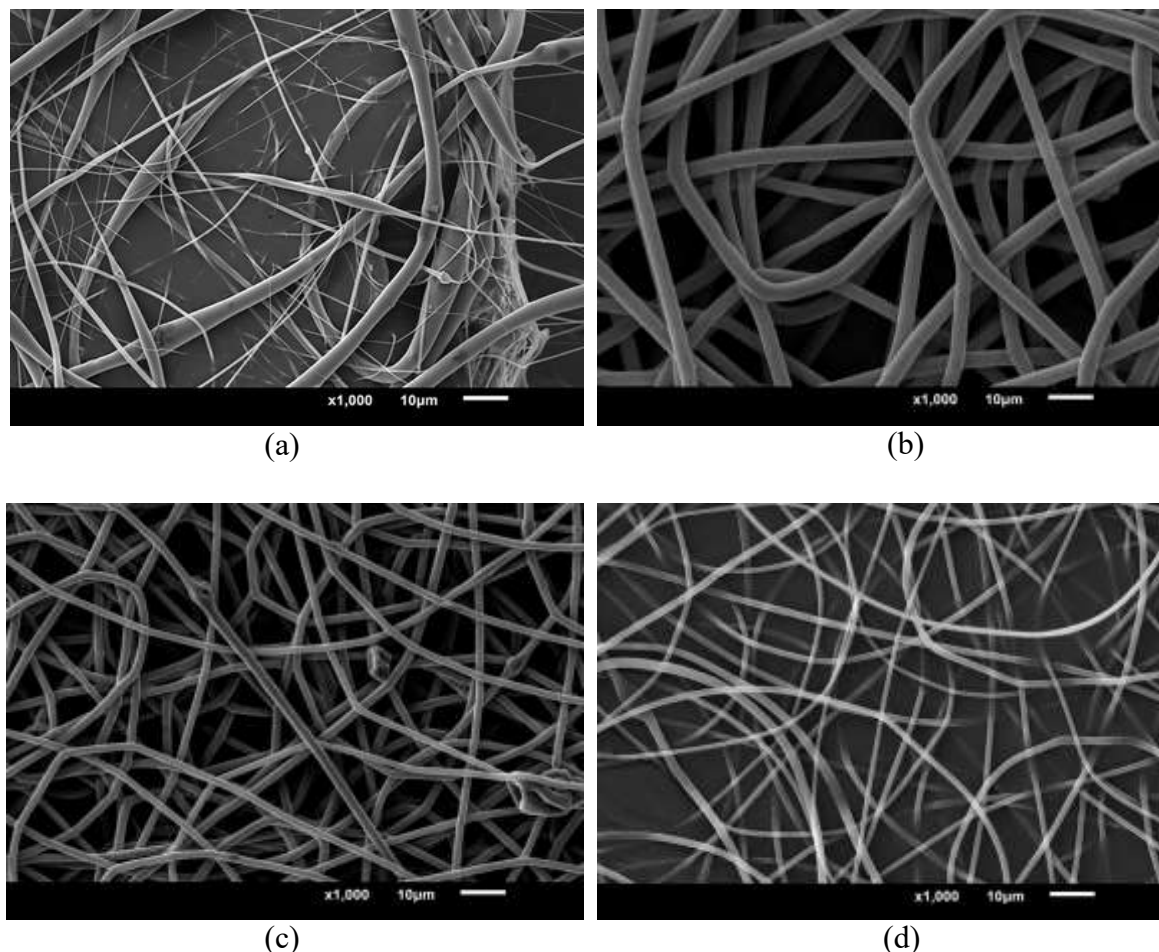
3 RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 DEFINIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO POLIMÉRICA DAS SOLUÇÕES

Testes preliminares foram realizados para definição da concentração da solução polimérica para obtenção de matrizes uniformes. Assim, ao utilizar 13% (m v⁻¹) PEO no preparo da solução polimérica, nanofibras desuniformes foram formadas (Figura 1a). A formação desses nanomateriais pode estar associada à concentração do polímero em solução, onde não foi possível obter adequado de emaranhamento entre as cadeias poliméricas, possivelmente pela baixa carga elétrica da solução. Assim, a gota na ponta do capilar não apresentou força de repulsão suficiente para superar sua tensão superficial para formação do jato de fibra (WEI, 2012).

Nanofibras foram desenvolvidas com 13% PCL (Figura 1b), 13% PCL/3% PEO (Figura 1c) e 13% PCL/6% PEO (Figura 1d). A melhor condição testada que obteve nanofibras uniformes foi de 13% PCL/6% PEO, a qual apresentou diâmetro médio de $909 \pm 103 \text{ nm}$. Isso pode ter ocorrido devido a viscosidade da solução, que contribuiu para que não ocorresse rompimento do jato em gotículas.

Figura 1 – Nanofibras desenvolvidas em diferentes concentrações poliméricas para testes preliminares com 1% (m v^{-1}) de ficocianina e (a) 13% PEO; (b) 13% PCL; (c) 13% PCL / 3% PEO e; (d) 13% PCL / 6% PEO.

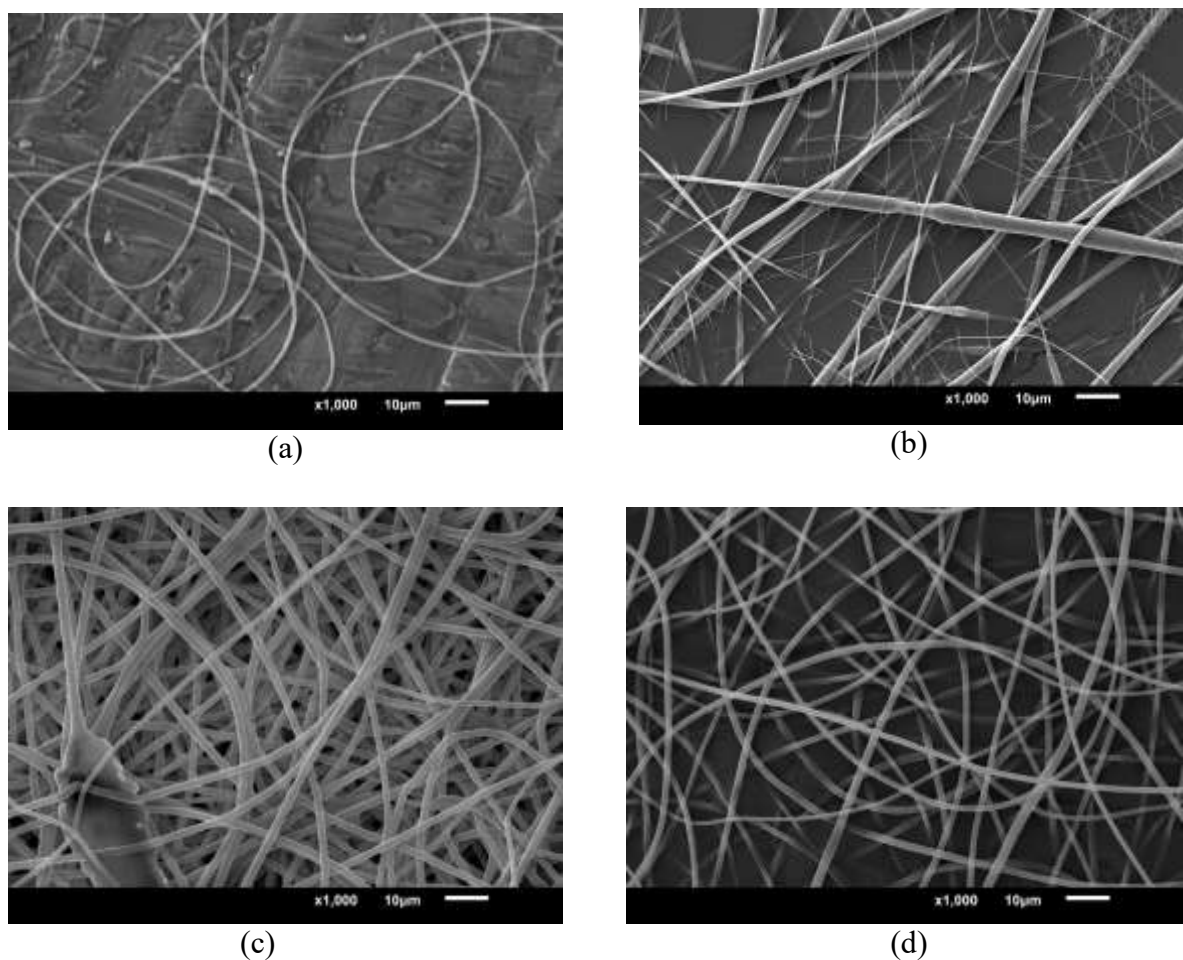


3.2 MORFOLOGIA, DIÂMETRO, VISCOSIDADE E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO (EE)

As nanofibras desenvolvidas com 13%PCL / 6%PEO sem ficocianina apresentaram morfologia uniforme, com diâmetro médio de 363 ± 33 nm (Figura 2a). Quando adicionado ficocianina à blenda polimérica de PCL/PEO, foi possível observar redução do diâmetro médio das nanofibras. Quanto maior a adição do biocomposto (2%, m v^{-1}), menor foi o diâmetro da nanofibra (875 ± 103 nm) (Figura 2d). No incremento de 2% (m v^{-1}) de ficocianina nanofibras longas e uniformes sem a formação de gotas foram obtidas, quando comparada as demais condições (0,5 e 1% m v^{-1} de ficocianina), com diâmetro médio de 3307 ± 277 e 909 ± 103 nm respectivamente. A redução no diâmetro das fibras poliméricas com maiores adições de ficocianina também foi observada por Moreira et al. (2018). Essa redução

provavelmente ocorreu devido ao aumento do peso do jato de polímero, à medida que ele foi expulso da ponta do capilar. Como resultado, a solução polimérica foi submetida a maior alongamento, produzindo fibras mais finas do que as preparadas nas menores concentrações de ficocianina (WU, 1987).

Figura 2 – Morfologia das nanofibras de 13% PCL/6% PEO desenvolvidas com (a) 0%; (b) 0,5%; (c) 1% e (d) 2% (m v^{-1}) de ficocianina.



A adição de PEO é comumente utilizada a fim de superar a dificuldade de emalhamento das cadeias de soluções com proteína para formação de nanofibras (WANG et al., 2013). O PCL é um polímero hidrofóbico e a sua interação com PEO e ficocianina contribui para produzir nanofibras com propriedade menos hidrofóbica, quando comparado a nanomateriais desenvolvidos somente com PCL. Estas características torna a utilização de nanofibras de PCL/PEO com adição de ficocianina alternativa promissora para utilização em embalagens de alimentos, pois permite controlada atividade de água dos nanomateriais.

O aumento na viscosidade da solução, devido à maior concentração de ficocianina observada neste estudo, que foi de $1,21 \pm 0,02$ e $0,22 \pm 0,03$ Pa s para soluções de PCL / PEO com 2% e 1% (m v^{-1}) de ficocianina, respectivamente. O mesmo foi verificado por Moreira et al. (2019), que evidenciaram aumento da viscosidade ao incrementar a concentração de proteína na solução polimérica. De acordo com Felice et al. (2015), viscosidades mais elevadas contribuem para o emaranhamento da cadeia polimérica, o que dificulta a quebra do jato em partículas ou a formação de gotas devido ao aumento da tensão superficial da solução. Além disso, a ficocianina permite alta interação com as cadeias poliméricas, o que minimiza as instabilidades do fluido na ponta do capilar para formar nanofibras (WANG et al., 2013).

A blenda polimérica é formada por ligações de hidrogênio, o que contribui para melhor eficiência de encapsulamento da ficocianina. A eficiência de encapsulamento (EE) da ficocianina nas nanofibras de PCL/PEO com 0,5, 1 e 2% (m v^{-1}) do biocomposto foi 97,7; 97,8 e 91,7%, respectivamente. Este resultado superou valores obtidos por Moreira et al. (2018), que produziram nanofibras de PLA/PEO com 2 e 3% (m v^{-1}) de ficocianina e encontraram EE de 80,7 e 71,4%, respectivamente. Em outro estudo, Khodir et al. (2018) produziram nanofibras com PCL e colágeno adicionando 3% (m v^{-1}) de sulfato de gentamicina e alcançaram EE de 81,1% na matriz polimérica. Assim, é possível evidenciar que a técnica de *electrospinning* utilizada para a produção das nanofibras mostrou-se eficiente no encapsulamento da ficocianina na matriz polimérica.

Além disso, a técnica de *electrospinning* apresenta vantagens quando comparada com outras técnicas tradicionais de encapsulamento, tais como *spraydrying*, coacervação ou gelificação iônica. O *electrospinning* não utiliza altas temperaturas durante o processo, o que contribui para a estabilidade dos compostos ativos. Desta forma, a ficocianina não é desnaturada e fica protegida da luz, preservando a atividade para aplicação em embalagens ativas e/ou inteligentes. O processo também permite a obtenção de materiais com elevada área superficial, diâmetros na escala nanométrica, com alta eficiência de encapsulação (ACEITUNO-MEDINA et al., 2015).

3.3 PROPRIEDADES TÉRMICAS E MOLHABILIDADE DAS NANOFIBRAS

Na análise termogravimétrica observou-se que a partir de 100 °C as amostras estabilizaram-se, devido a evaporação total do clorofórmio, água livre e água ligada. Para as amostras de nanofibras com adição de ficocianina, as maiores perdas de peso foram observadas na faixa de 412 a 421 °C. Nanofibras com 2% (m v^{-1}) de ficocianina apresentaram

temperatura inicial de degradação maior, quando comparados ao PEO, PCL e ficocianina puros (Tabela 1).

Tabela 1 - Temperatura inicial (Ti), final (Tf) e máxima (Tm) de degradação, temperatura de fusão (Tfs) dos polímeros, ficocianina (Fc) e das nanofibras de PCL/PEO com ficocianina.

Amostra	Ti (°C)	Tf (°C)	Tm (°C)	Tfs (°C)
PCL	379,7	426,2	404,8	59,0
PEO	342,0	407,4	376,7	69,3
Fc	237,7	352,8	290,8	59,0
Nanofibras de PCL/PEO	401,9	379,4	425,2	58,7
Nanofibras de PCL/PEO com 0,5% Fc	379,5	421,1	400,2	57,1
Nanofibras de PCL/PEO com 1% Fc	377,1	418,8	398,3	57,2
Nanofibras de PCL/PEO com 2% Fc	399,3	412,8	392,7	56,4

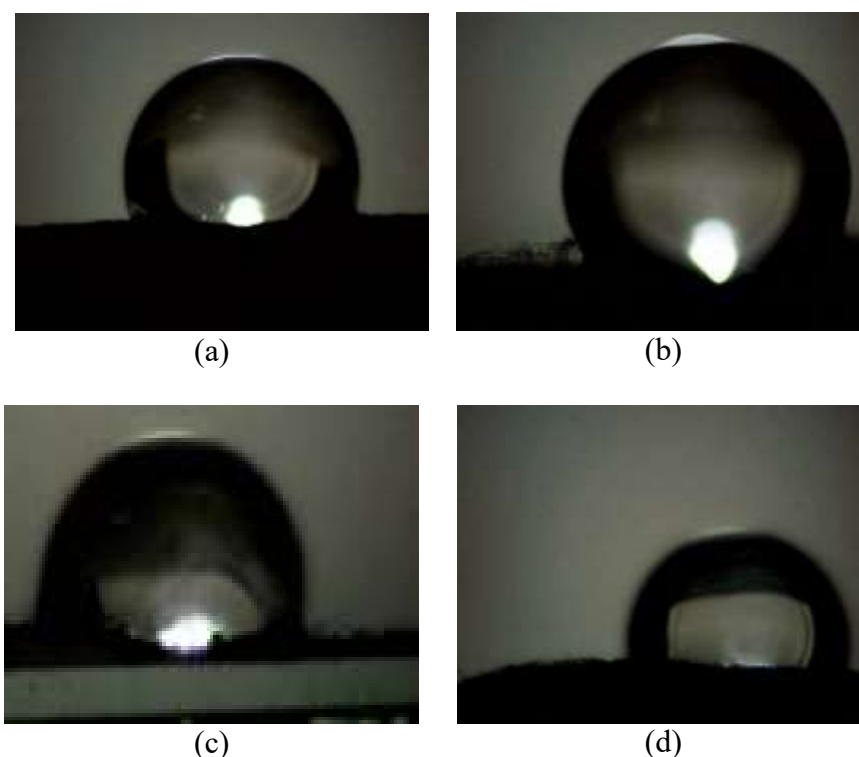
O encapsulamento da ficocianina em nanofibras de PCL/PEO contribuiu para a estabilidade térmica do pigmento. Além disso, observou-se que a maior concentração de ficocianina (2%, m v⁻¹) na solução polimérica apresentou maior estabilidade térmica, quando comparada as demais adições nas nanofibras. Isto pode ser atribuído devido às interações do PEO e ficocianina com a água constituída na solução. Segundo Figueira et al. (2016), as naturezas hidrofílicas dos materiais ocasionam mudança estrutural nas moléculas de água na interface polímero- ficocianina -meio aquoso, aumentando a estabilidade térmica do corante natural.

Para as nanofibras de PCL/PEO desenvolvidas com adição de 0,5 e 1% (m v⁻¹) de ficocianina, observou-se decomposição secundária mais acentuada entre 377 °C à 400 °C. Essa afirmação pode ser associada a degradação proteica e a redução na estabilidade térmica, causada pela ruptura das ligações intermoleculares de baixa energia que mantém a conformação da proteína. Todas as nanofibras desenvolvidas com ficocianina apresentaram temperaturas de degradação superiores às do PEO, demonstrando que a hidratação do polímero com ficocianina para o desenvolvimento de nanofibras torna a estrutura do polímero mais estável. Isto pode ser explicado devido ao encapsulamento, que permite melhor adesão da ficocianina e da matriz polimérica e à difusão de produtos de decomposição voláteis, resultando na incorporação homogênea da ficocianina na nanofibra (ABDOLMOHAMMADI et al., 2012).

A entalpia está relacionada à quantidade de energia liberada pelas amostras para que ocorra mudança de estado. Essa alteração pode ser observada no resfriamento, onde as nanofibras de PCL/PEO com 0,5, 1 e 2% (m v⁻¹) de ficocianina apresentaram liberação de calor de cristalização e entalpia de 10,4 °C e -3,5 J g⁻¹, 13,4 °C e -66 J g⁻¹, 15,0 °C e -88 J g⁻¹, respectivamente. De acordo com os dados da análise de DSC, apenas um pico expressivo de transição foi apresentado para as amostras de PCL, PEO e ficocianina puros e das nanofibras obtidas. Além disso, eventos associados a eliminação de voláteis (~ 60 e 100 °C) foram observados. Também foi possível observar que a temperatura de fusão apresentou redução quando maior foi o incremento de ficocianina. Este fato pode estar associado à presença de fragmentos de proteínas que possuem degradação abaixo da T_{fs} de PCL (~ 59 °C), consequência de processos de baixa energia como ruptura de ligações, decomposição e volatilização dos solventes presentes nas amostras (GONÇALVES et al., 2017).

A molhabilidade é a capacidade do líquido de manter contato com a superfície sólida, resultante de interações intermoleculares quando os dois são aproximados. Assim, foi possível afirmar que não houve influência da concentração de ficocianina adicionada às nanofibras de PCL/PEO para este parâmetro (Figura 3).

Figura 3 - Ângulo de contato e imagem da gota formada sobre a superfície das nanofibras de PCL/PEO com adição de ficocianina em (a) 0%; (b) 0,5%; (c) 1% e (d) 2%.



O aumento da molhabilidade pode ser útil para aplicações em indicadores de embalagem de alimentos para facilitar a difusão de H^+ ou OH^- na membrana, permitindo que esses íons interajam com a ficocianina, gerando resposta de cor rápida como função do pH (PRIETTO et al., 2017). Segundo Yuan e Lee (2013), materiais que apresentam ângulos de contato acima de 90° são considerados hidrofóbicos, desfavorecendo o umedecimento da superfície e formando uma gota de líquido compacta. Este comportamento foi observado mais expressivamente nas nanofibras sem e com adição de 0,5% de ficocianina, $104,2 \pm 4,08^\circ$ e $110,9 \pm 7,45^\circ$ respectivamente. Essas respostas foram obtidas possivelmente devido à amostra ser constituída, em maior parte, pelo polímero PCL, que possui caráter naturalmente hidrofóbico e esta característica foi mantida nas nanofibras.

O ângulo de contato para as nanofibras poliméricas adicionadas de 1 e 2% (m v⁻¹) evidenciou caráter hidrofóbico, $90,0 \pm 5,22^\circ$ e $93,9 \pm 1,62^\circ$, respectivamente. No entanto, com as maiores concentrações do pigmento houve diminuição no ângulo de contato de ambas nanofibras (Figura 3c e 3d), quando comparada com o nanomaterial desenvolvido sem (Figura 3a) e com 0,5% (Figura 3b) de ficocianina. As ligações de hidrogênio entre o PEO e a ficocianina contribuíram para a redução do caráter hidrofóbico da nanofibra. Segundo Wenzel (1936), o ângulo de contato formado entre a gota de água com a superfície da nanofibra tende a ser menor quando colocado em superfícies com elevada rugosidade e quando é composto de substâncias hidrofílicas, como PEO e ficocianina.

3.4 PARÂMETROS DE COR DAS NANOFIBRAS

As nanofibras de PCL/PEO com adição de 0,5, 1 e 2% (m v⁻¹) de ficocianina apresentaram respostas positivas quanto a percepção de mudança de cor (ΔE) (Tabela 2). De acordo com Tassanawat et al. (2007), valores de ΔE superiores a 5 indicam mudanças perceptíveis na coloração pelo olho humano, sendo que valores maiores que 12 indicam diferença absoluta de cor. A maioria (71,1%) dos valores de $\Delta E \geq 5$ foram encontradas para as nanofibras adicionadas de 1% (m v⁻¹) e (75,6%) 2% (m v⁻¹) de ficocianina. O incremento de 0,5% (m v⁻¹) de ficocianina nas soluções de blendas poliméricas não apresentaram resultados promissores nas variações de cor que sejam perceptíveis, quando comparada as outras duas condições. A variação de cor das nanofibras com 0,5% (m v⁻¹) de ficocianina ficaram entre 1,1 e 6,3, não sendo promissoras para aplicação como indicadores colorimétricos.

Tabela 2 - Mudança de cor (ΔE) das membranas poliméricas de PCL/PEO adicionadas de ficocianina em diferentes pHs.

pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cor correspondente										
1% (m v⁻¹) de ficocianina										
1	-	5,2	3,5	4,9	7,2	7,9	10,5	5,0	10,1	9,6
2			6,0	5,9	7,2	10,0	6,1	9,3	10,5	7,8
3				3,0	4,6	5,3	9,5	6,6	8,9	7,6
4					3,8	4,1	8,1	4,7	6,3	5,2
5						0,8	11,2	8,9	8,9	7,0
6							11,1	2,3	8,6	6,7
7								10,1	4,4	5,4
8									7,2	5,1
9										2,5
pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cor correspondente										
2% (m v⁻¹) de ficocianina										
1	-	5,1	10,6	6,8	7,9	10,8	10,8	4,5	10,6	11,5
2			6,1	7,2	7,9	7,6	8,7	10,3	10,6	12,4
3				8,9	11,4	4,4	6,3	9,3	11,8	12,7
4					2,7	6,5	5,2	3,6	4,3	5,2
5						8,5	7,1	3,6	3,6	3,8
6							2,9	5,6	8,6	9,0
7								3,5	6,1	6,9
8									3,2	3,5
9										2,0

Os valores de $\Delta E \geq 10$ foram mais evidenciados nas nanofibras com adição de 2% (m v⁻¹) de ficocianina (24,4%), em comparação com a adição de 1% (m v⁻¹) (15,6%). Essa resposta é confirmada, pois quanto maior concentração de ficocianina e/ou maior espessura das nanofibras os resultados de ΔE tendem a ser melhores (MOREIRA et al., 2018). O valor de ΔE obtido para o intervalo de pH 6→7 foi de 11,1 quando adicionado 1% (m v⁻¹) de

ficocianina. Para adição de 2% (m v^{-1}) de ficocianina o ΔE para pH 3 $\rightarrow$ 4 foi de 8,9, pH 3 $\rightarrow$ 5 foi de 11,4 e para pH 5 $\rightarrow$ 6 foi de 8,5. O aumento da acidez em sucos armazenados, devido principalmente à formação de ácido acético ou láctico, é indicador de contaminação microbiana por leveduras e/ou bactérias. Assim, a faixa de pH característica de frutas cítricas varia entre 3,6 à 4,0 (VEGARA et al., 2014). Segundo Kuswandi e Nurfawaidi (2014), a deterioração de carnes ocorre entre os pHs 5,6 à 6,2. Neste contexto, as nanofibras desenvolvidas neste estudo são promissoras para atuarem como indicadores de pH para averiguação da viabilidade em alimentos, como em frutas, sucos cítricos e carnes, uma vez que há perceptível mudança de coloração com a alteração deste parâmetro na faixa de pH de 3-4, 3-5 e 5-6.

3.5 AVALIAÇÃO DA IRREVERSIBILIDADE DE COR DAS NANOFIBRAS

Na transição entre o pH 3 $\rightarrow$ 4 as membranas poliméricas apresentaram variação de cor para as adições de 1 e 2% (m v^{-1}) de ficocianina (Figura 4). As respostas obtidas foram promissoras, pois apresentaram diferenciação absoluta de cor pelo olho humano. Segundo Mokrzycki e Tatol (2011), para valores de ΔE abaixo de 1, o observador não detecta diferença de cor. Para valores entre 1 e 2, apenas observadores treinados podem detectar a diferença. Para resposta de ΔE entre 2 e 3,5, observadores inexperientes também percebem a diferença de cor, mas entre 3,5 e 5 a diferença de cor tonam-se perceptível. De acordo com Tassanawat et al. (2007), valores de ΔE superiores a 12 indicam diferença absoluta de cor pelo olho humano.

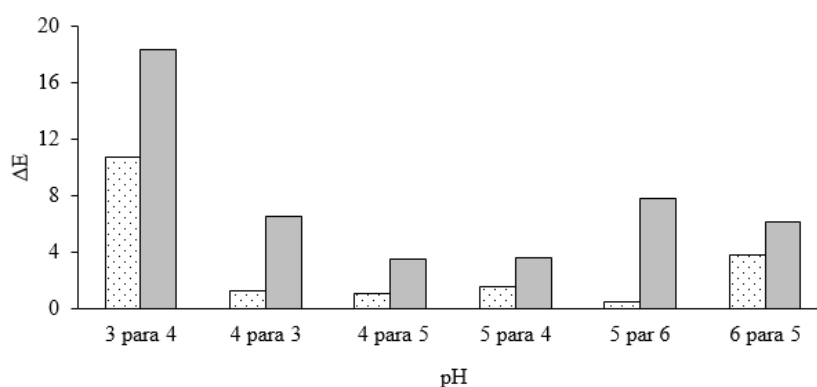
Quando avaliado a irreversibilidade (pH 4 $\rightarrow$ 3) das nanofibras com 1 e 2% (m v^{-1}) do pigmento, foi possível observar que essas membranas não retrocederam para a coloração inicial do pH 3. Além disso, com a adição de 1% (m v^{-1}) a variação de cor foi imperceptível pelo observador, a menos que este seja treinado. Essas respostas foram favoráveis para aplicação em indicadores colorimétricos, uma vez que os indicadores nessas faixas não podem ser adulterados.

Para a transição do pH 4 para o 5, verificou-se que para adição de 1% (m v^{-1}) de ficocianina, os ΔE foi inferior a 2, o que significa que a variação de cor não é perceptível ao observador sem treinamento. Entretanto, para adição de 2% (m v^{-1}) de ficocianina o ΔE foi $\geq 3,5$, evidenciando diferença de cor, perceptível para observadores inexperientes. A variação de cor nesta faixa de pH não foi elevada, pois a ficocianina é composta por uma apoproteína ligada a uma ficocianobilina (cromóforo), por uma ligação tioéter, e apresenta ponto

isoeletrico (pI) entre 4,6 e 5,2. Assim, nessa faixa em que a ficocianina é estável não ocorre alteração de cor (ABALDE et al., 1998; SANTIAGO-SANTOS et al., 2004).

Na transição do pH 5 para o 6, a adição de 2% (m v^{-1}) de ficocianina às nanofibras acarretou em perceptível mudança de coloração ($\Delta E = 7,75$). No entanto, quando aplicado teste de irreversibilidade o ΔE foi de 6,13. Apesar de não ter retrocedido ao valor de ΔE inicial, a mudança de cor é perceptível ao olho humano e próximo ao valor obtido na transição do pH 5 para o 6.

Figura 4 – Teste de irreversibilidade de cor (ΔE) das membranas de PCL/PEO nas adições de ($\square$) 1 e ($\blacksquare$) 2% (m v^{-1}) de ficocianina nos pHs 3 à 6.



As respostas obtidas podem ser explicadas pela estrutura da ficocianina que inclui uma parte proteica, e, conseqüentemente, a carga líquida de superfície da biomolécula pode variar de acordo com o valor do pH do meio. Quando acima do seu pI a biomolécula é carregada negativamente. Por outro lado, quando o pH é inferior ao pI da biomolécula esta apresentará carga líquida positiva. Portanto, quando a ficocianina entra em contato com o tampão, a ligação formada é mais fraca do que a ligação entre ficocianina-matriz polimérica. Entretanto, quanto maior for o valor de pH, maior é a carga negativa líquida na biomolécula até o momento que comece a desnaturação (FIGUEIRA et al., 2016). Estudos realizados por Silveira et al. (2009) comprovaram que a ficocianina começou a degradar-se em valores de pH superiores a 7,5 à temperatura ambiente, e verificaram perda de atividade biológica da biomolécula.

4 CONCLUSÃO

A blenda polimérica de 13%PCL/6%PEO com 1 e 2% (m v^{-1}) de ficocianina formaram nanofibras uniformes (diâmetro de 909 e 875 nm respectivamente), apresentando

diferença perceptível na mudança de cor (ΔE). As nanofibras com adição de 1 e 2% (m v⁻¹) de ficocianina, tiveram 75 e 71% dos valores de ΔE superiores a 5, respectivamente. As mudanças mais significativas de cor nos pHs 3→4, 3→5, 5→6 ($\Delta E \geq 8,5$) foram obtidas quando adicionado 2% (m v⁻¹) de ficocianina. A faixa de transição de pH que obteve resultados promissores foi de 3 para 4, apresentando ΔE de 10,65 e 18,34 para as nanofibras com adição de 1 e 2% (m v⁻¹) de ficocianina, respectivamente. Em testes de irreversibilidade da cor, ambas as membranas com as diferentes adições de ficocianina não retrocederam para a coloração inicial, confirmando que os indicadores não podem ser adulterados. Assim, as nanofibras de 13% (m v⁻¹) de PCL e 6% (m v⁻¹) de PEO contendo 2% (m v⁻¹) de ficocianina tornam-se alternativa promissora para aplicação dos indicadores em embalagens para o monitoramento da viabilidade de alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABALDE, J.; BETANCOURT, L.; TORRES, E.; CID, A.; BARWELL, C. Purification And Characterization Of Phycocyanin From The Marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. Io9201. **Plant Science**, v. 136, n. 1, p. 109-120, 1998.
- ACEITUNO-MEDINA, M.; MENDOZA, S.; LAGARON, J. M.; LOPEZ-RUBIO, A. Aphotoprotection Of Folic Acid Upon Encapsulation In Food-Grade Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) Protein Isolate E Pullulan Electrospun Fibers. **Lwt - Food Science And Technology**, v. 62, n. 2, p. 970-975, 2015.
- ASTM E986 – 04. American Society For Testing And Materials. **Standard Practice For Scanning Electron Microscope Beam Size Characterization**. West Conshohocken, 2010.
- ASTM D3850 – 12. American Society For Testing And Materials. **Standard Test Method For Rapid Thermal Degradation Of Solid Electrical Insulating Materials By Thermogravimetric Method**. West Conshohocken, 2013.
- ASTM D7426 – 08. American Society For Testing And Materials. **Standard Test Method For Assignment Of The Dsc Procedure For Determining Tg Of A Polymer Or An Elastomeric Compound**. West Conshohocken, 2014.
- BATOOL, R.; RHOUATI, A.; NAWAZ, M. H.; HAYAT, A.; MARTY, J. L. A Review Of The Construction Of Nano-Hybrids For Electrochemical Biosensing Of Glucose. **Biosensors**, v. 9, n. 1, p. 46, 2019.
- BENNETT, A.; BOGORAD, L. Properties of Subunits and Aggregates of Blue-Green Algal Biliproteins. **Biochemistry**, v. 10, n. 19, p. 3625-34, 1971.
- FELICE, B.; PRABHAKARAN, M. P.; ZAMANI, M.; RODRÍGUEZ, A. P.; RAMAKRISHNA, S. Electrospayed Poly (Vynyl Alcohol) Particles: Preparation and Evaluation of Their Drug Release Profile. **Polymer International**, v. 64, p. 1722-1732, 2015.

- FIGUEIRA, F. S.; GETTENS, J. G.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G.; MORAES, C. C.; KALIL, S. J. Production of Nanofibers Containing the Bioactive Compound C-Phycocyanin. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 16, p. 944-949, 2016.
- FOMBUENA, V.; BALART, J.; BORONAT, T.; NÁCHER, L. S.; SANOGUERA, D. G. Improving Mechanical Performance of Thermoplastic Adhesion Joints by Atmospheric Plasma. **Materials and Design**, v. 47, p. 49–56, 2013.
- GONÇALVES, C. F.; SCHMATZ, D. A.; UEBEL, L. S.; KUNTZLER, S. G.; COSTA, J. A. V.; ZIMMER, K. R.; MORAIS, M. G. Microalgae Biopeptides Applied in Nanofibers for the Development of Active Packaging. **Polímeros**, v. 27, p. 290-297, 2017.
- JANJARASSKUL, T.; SUPPAKUL, P. Active and Intelligent Packaging: the Indication of Quality and Safety. **Critical Reviews Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 5, p. 808-831, 2018.
- KASZA, G.; SZABÓ-BÓDI, B.; LAKNER, Z.; IZSÓ, T. Balancing the Desire to Decrease Food Waste With Requirements of Food Safety. **Trends In Food Science & Technology**, v. 84, p. 74-76, 2018.
- KHODIR, W. K. W. A.; RAZAK, A. H. A.; NG, M. H.; GUARINO, V.; SUSANTI, D. Encapsulation and Characterization of Gentamicin Sulfate in the Collagen Added Electrospun Nanofibers for Skin Regeneration. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 9, n. 3, p. 36, 2018.
- KUSWANDI, B.; JAYUS, O. R.; ABDULLAH, A.; HENG, L. Y. A Novel On-Package Sticker Sensor Based on Methyl Red for Real-Time Monitoring of Broiler Chicken Cut Freshness. **Packaging Technology and Science**, v. 27, n. 1, p. 69–81, 2014.
- MCMILLIN, K. W. Advancements In Meat Packaging. **Meat Science**, v. 132, p. 153-162, 2017.
- MOHEBI, E.; MARQUEZ, L. Intelligent Packaging in Meat Industry: an Overview of Existing Solutions. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 7, p. 3947–3964, 2015.
- MOKRZYCKI, W. S.; TATOL, M. Color Difference Delta E – A Survey. **Machine Graphics and Vision**, v. 20, n. 4, p. 383–411, 2011.
- MOREIRA, J. B.; TERRA, A. L. M.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Development of Ph Indicator from PLA/PEO Ultrafine Fibers Containing Pigment of Microalgae Origin. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 1855–1862, 2018.
- MOREIRA, J. B.; LIM, L.-T.; ZAVAREZE, E. R.; DIAS, A. R. G.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Antioxidant Ultrafine Fibers Developed With Microalga Compounds Using a Free Surface Electrospinning. **Food Hydrocolloids**, v. 93, p. 131-136, 2019.
- PRIETTO, L.; PINTO, V. Z.; HALAL, S. L. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V.; LIM, L. T.; DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E. D. R. Ultrafine Fibers Of Zein And Anthocyanins As Natural pH Indicator. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, v. 1, p. 1-9, 2017.
- SANTIAGO-SANTOS, M. C.; PONCE-NOYOLA, T.; OLVERA-RAMÍREZ, R.; ORTEGALÓPEZ, J.; CAÑIZARES-VILLANUEVA, R. O. Extraction and Purification of Phycocyanin from *Calothrix* sp. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 2047-2052, 2004.

- SILVEIRA, S. T.; BURKERT, J. F. M.; COSTA, J. A. V.; BURKERT, C. A. A.; KALIL, S. J. Optimization of Phycocyanin Extraction From *Spirulina platensis* Using Factorial Design. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1629-1634, 2007.
- TASSANAWAT, S.; PHANDEE, A.; MAGARAPHAN, R.; NITHITANAKUL, M.; MANUSPIYA, H. **pH-Sensitive Pp/Clay Nanocomposites for Beverage Smart Packaging**. In Proceedings of the 2nd Ieee International, Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, Bangkok, THA, 2007.
- TOPUZ, F.; UYAR, T. Antioxidant, antibacterial and antifungal electrospun nanofibers for food packaging applications. **Food Research International**, v. 130, p. 108927, 2020.
- VEGARA, S.; MARTI, N.; LORENTE, J.; COLL, L.; STREITENBERGER, S.; VALERO, M.; SAURA, D. Chemical Guide Parameters for Punica granatum cv. ‘Mollar’ Fruit Juices Processed At Industrial Scale. **Food Chemistry**, v. 147, p. 203-208, 2014.
- WANG, S.; MARCONE, M. F.; BARBUT, S.; LIM, L.-T. Electrospun Soy Protein Isolatebased Fiber Fortified With Anthocyanin-Rich Red Raspberry (*Rubus strigosus*) Extracts. **Food Research International**, v. 52, p. 467–472, 2013.
- WANG, Y. C.; MOHAN, C.O.; GUAN, J.; RAVISHANKAR, C.N.; GUNASEKARAN, S. Chitosan and Gold Nanoparticles-Based Thermal History Indicators and Frozen Indicators for Perishable and Temperature-Sensitive Products. **Food Control**, v. 85, p. 186-193, 2018.
- WENZEL, R. N. Resistance of Solid Surfaces to Wetting by Water. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 28, p. 988–994, 1936.
- WU, S. Entanglement, Friction, and Free Volume Between Dissimilar Chains in Compatible Polymer Blends. **Journal Of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, v. 25, p. 2511–2529, 1987.
- YUAN, Y.; LEE, T. R. **Contact Angle And Wetting Properties**. (1th ed.). Berlin: Surface Science Techniques, 2013.
- ZHU, W.; MASOOD, F.; O’BRIEN, J.; ZHANG, L. G. Highly Aligned Nanocomposite Scaffolds by Electrospinning and Electrospraying for Neural Tissue Regeneration. **Regenerative Nanomedicine**, v. 11, p. 693-704, 2015.

CAPITULO IV

5 CONCLUSÃO GERAL

Os indicadores colorimétricos desenvolvidos com nanofibras 13% PCL e 6% PEO adicionadas de 2% (m v^{-1}) de ficocianina apresentaram diâmetro médio de 875 nm. Essa condição apresentou caráter hidrofóbico, $95,4 \pm 0,2^\circ$, o que permitiu interação das soluções tampão (pH 2 ao 7) com as nanofibras, tendo crescente perfil colorimétrico em 20 h apresentando máxima amplitude de ΔE , entre $0,22 \pm 0,1$ à $17,26 \pm 3,4$. Também foi possível observar que nas nanofibras poliméricas adicionadas de 2% (m v^{-1}) de ficocianina apresentaram valores de variação de cor perceptíveis ao consumidor ($\Delta E \geq 5$) em 5 h de exposição nas soluções tampão (pH 2 ao 7). Além disso, nas nanofibras de PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de ficocianina a $\Delta E \geq 12$ em aproximadamente 15 h, apresentando mudança de cor absolutamente perceptível à olho nu.

As mudanças mais significativas de cor nos pHs $3 \rightarrow 4$, $3 \rightarrow 5$, $5 \rightarrow 6$ ($\Delta E \geq 8,5$) foram obtidas quando adicionado 2% (m v^{-1}) de ficocianina. A faixa de transição de pH que obteve resultados promissores foi de 3 para 4, apresentando ΔE de 18,34 para as nanofibras com adição de 2% (m v^{-1}) de ficocianina. Em testes de irreversibilidade da cor, ambas as membranas com as diferentes adições de ficocianina não retrocederam para a coloração inicial, confirmando que os indicadores não podem ser adulterados.

Assim, os resultados de nanofibras desenvolvidas com PCL/PEO com 2% (m v^{-1}) de ficocianina demonstraram serem resultados promissores quando deseja-se aplicar como embalagens inteligentes para o monitoramento da qualidade de alimentos perecíveis.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a mudança de cor dos indicadores com ficocianina na variação de pH em função de diferentes temperaturas e intensidades luminosas;
- Aplicar os indicadores de nanofibras desenvolvidos com ficocianina em alimentos;
- Análise sensorial dos indicadores colorimétricos com observadores inexperientes para verificação do potencial diferenciação de cor dos indicadores colorimétricos;
- Avaliar a aceitação e intenção de compra dos indicadores colorimétricos aplicados em alimentos.

CAPITULO V

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, A.; RAHEJA, A.; NATARAJAN, T. S.; CHANDRA, T. S. Development of universal pH sensing electrospun nanofibers. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 161, p. 1097–1101, 2012.
- ALBUQUERQUE, M. C. C.; RIBEIRO, C. M. S.; RABELO, C. R. K.; SIQUEIRA, B. G.; MARINHA, A. B. A.S.; CASTRO, A. M. Applications of enzymes in synthesis and modification of polymers. **Quím. Nova**, v. 37, n. 4, 2014.
- ARAÚJO, C. A. C.; LEON, L. L. **Biological activities of Curcuma longa** L. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.
- AZEREDO, H. M. C.; FURTADO, R. F.; ROSA, M. F.; MATTOSO, L. H. C. Aplicação da nanotecnologia em embalagens de alimentos. In: AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. 2. ed. Brasília: rev. e ampl. Embrapa, 2012. cap. 9.
- BAJPAI, A. K.; SHUKLA, S. K.; BHANU, S.; KANKANE, S. Responsive polymers in controlled drug delivery. **Progress in Polymer Science**, v. 33, n. 11, p. 1088-1118, 2008.
- BALAKRISHNAN, H.; HASSAN, A.; WAHIT, M. U.; YUSSUF, A. A.; RAZAK, S. B. A. Novel toughened polylactic acid nanocomposite: Mechanical, thermal and morphological properties. **Materials & Design**, v. 31, n. 7, 2010.
- BARSKA, A.; WYRW, J. Innovations in the Food Packaging Market – Intelligent Packaging – a Review. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 35, n. 1, p. 1–6, 2017.
- BASNET, P.; SKALKO-BASNET, N. Curcumin: An Anti-Inflammatory Molecule from a Curry Spice on the Path to Cancer Treatment. **Molecules**, v. 16, n. 6, p. 4567-4598, 2011.
- BASTOS, D. H.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, 2009.
- BATOOL, R.; RHOUATI, A.; NAWAZ, M. H.; HAYAT, A.; MARTY, J. L. A Review of the Construction of Nano-Hybrids for Electrochemical Biosensing of Glucose. **Biosensors**, v. 9, n. 1, p. 46, 2019.
- BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 3, p. 325-347, 2010.
- BHATTACHARYA, B.; SARKAR, U. Graphyne-graphene (nitride) heterostructure as nanocapacitor. **Chemical Physics**, v. 478, p. 73-80, 2016.
- BIJI, K. B.; RAVISHANKAR, C. N.; MOHAN, C. O.; GOPAL, T. K. S. Smart packaging systems for food applications: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 10, p. 6125–6135, 2015.
- BRAHAMS, S. A.; HAYLETT, W. L.; SJOHNSON, G.; CARR, J. A.; BARDIEN, S. Antioxidant effects of curcumin in models of neurodegeneration, aging, oxidative and nitrosative stress: A review. **Neuroscience**, v. 406, p. 1-21, 2019.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. M. ; MÉLO, T. J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, n. 2, p. 127-139, 2011.

BRIZIO, A. P.; PRENTICE, C. Development of Aa New Time Temperature Indicator for Enzymatic Validation of Pasteurization of Meat Products. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 6, p. M1271-6, 2015.

BUCCI, D. Z.; TAVARES, L. B. B.; SELL, I. Packaging for the storage of food products. **Polymer Testing**, v. 24, n. 5, p. 564-571, 2005.

BUMBUDSANPHAROK, N.; KO, S. Nano-Food Packaging: An Overview of Market, Migration Research, and Safety Regulations. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 5, 2015.

CHAIKLAHAN R.; CHIRASUWAN, N.; BUNNAG, B. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: Influence of temperature, pH and preservatives. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 659-664, 2012.

CHEN, T.; WONG, Y-S. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p. 4352–4358, 2008.

CHEN, T.; WONG, Y-S. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p. 4352–4358, 2008.

CHISTI, Y. Producing safe processed foods. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 5, p. 1555, 2018.

CHOWDHARY, Q.; SCOTTER, M.; BLACKBURN, J.; ROSS, B.; BOXALL, A.; CASTLE, L.; AITKEN, R.; WARKINS, R. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. **Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Asses**, v. 25, n. 3, p. 241-258, 2008.

CIPAK, L.; RAUKO, P.; MIADOKOVA, E.; CIPAKOVA, I.; NOVOTNY, L. Effects of flavonoids on cisplatin-induced apoptosis of HL-60 and L1210 leukemia cells. **Leukemia Research**, v. 27, n. 1, p. 65-72, 2003.

CODEX ALIMENTARIUS. **Code of Hygienic Practice for Refrigerated Packaged Foods With Extended Shelf Life**. CAC/RCP 46, 1999.

CODORNIU-HERNANDEZ, E.; MESA-IBIRICO, A.; MONTERO-CABRERA, L. A.; MARTINEZLUZAARDO, F.; BORRMANN, T.; STOHRER, W. D. Theoretical study of flavonoids and proline interactions, aqueous and gas phases. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 623, p. 63–73, 2003.

Commission Regulation (EC) No. 450/2009. **On active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food**. União europeia, 2009. Disponível em: <<https://www.ecolex.org/details/legislation/commission-regulation-ec-no-4502009-on-active-and-intelligent-materials-and-articles-intended-to-come-into-contact-with-food-lex-faoc087878/>>. Acessado em: 18 de abril de 2018.

Commonwealth of Australia, Canberra. Disponível em: <<http://www.investaustralia.gov.au/media/NANOREPORT07.pdf>>. Acessado em 5 de maio de 2018.

COSTA, R. G. F.; OLIVEIRA, J. E.; PAULA, G. F.; PICCIANI, P. H. S.; MEDEIROS, E. S.; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H. C. Eletrofiação de Polímeros em Solução. Parte I: Fundamentação Teórica. **Revista Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012.

DASGUPTA, N.; RANJAN, S.; MUNDEKKAD, D.; RAMALINGAM, C.; SHANKER, R.; KUMAR, A. Nanotechnology in Agro-food: From Field to Plate. **Food Research International**, v. 69, p. 381-400, 2015.

DONG, Y.-X.; CAO, J.-T.; LIU, Y.-M.; MA, S.-H. A novel immunosensing platform for highly sensitive prostate specific antigen detection based on dual-quenching of photocurrent from CdSe sensitized TiO₂ electrode by gold nanoparticles decorated polydopamine nanospheres. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 91, p. 246-252, 2017.

DONSÌ, F.; WANG, Y.; LI, J.; HUANG, Q. Preparation of Curcumin Sub-micrometer Dispersions by High-Pressure Homogenization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 2848–2853, 2010.

DUANGSEE, R.; PHOOPAT. N.; NINGSANOND, S. Phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* and extract stability under various pH and temperature. **Asian Journal of Food and Agro-Industry**, v. 2, p. 819-826, 2009.

DUANGSEE, R.; PHOOPAT. N.; NINGSANOND, S. Phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* and extract stability under various pH and temperature. **Asian Journal of Food and Agro-Industry**, v. 2, p. 819-826, 2009.

FANG, Y.-H.; ZHANG, X.; NIU, G.-Y.; ZENG, W.; ZHU, J.; ZHANG, T. Study of the Spatiotemporal Characteristics of Meltwater Contribution to the Total Runoff in the Upper Changjiang River Basin. **Water**, v. 9, n. 3, p. 165-186, 2017.

FARHOOD, B.; MORTEZAEI, K.; GORADEL, N. H.; KHANLARKHANI, N.; SALEHI, E.; NASHTAEI, M. S.; NAJAFI, M.; SAHEBKAR, A. Curcumin as an anti-inflammatory agent: Implications to radiotherapy and chemotherapy. **Journal of Cellular Physiology**, p. 1-13, 2018.

FECHINE, G. J. M. A Era dos Polímeros Biodegradáveis. **Plástico Moderno**, n. 423, 2010. FERNÁNDEZ-CARAMÉS, T. M.; FRAGA-LAMAS, P.; SUÁREZ-ALBELA, M.; CASTEDO, L. Reverse Engineering and Security Evaluation of Commercial Tags for RFID-Based IoT Applications. **Sensors**, v. 17, n. 1, p. 28, 2017.

FERNÁNDEZ-CARAMÉS, T. M.; FRAGA-LAMAS, P.; SUÁREZ-ALBELA, M.; DÍAZ-BOUZA, M. A. A Fog Computing Based Cyber-Physical System for the Automation of Pipe-Related Tasks in the Industry 4.0 Shipyard. **Settings Open Access Sensors**, v. 18, n. 6, p. 1961, 2018.

FERNÁNDEZ-ROJAS, B.; HERNÁNDEZ-JUÁREZ, H.; PEDRAZA-CHAVERR, J. Nutraceutical properties of phycocyanin. **Journal of Functional Foods**, v. 1, p. 375-392, 2014.

FIGUEIRA, F. S.; GETTENS, J. G.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G.; MORAES, C. C.; KALIL, S. J. Production of Nanofibers Containing the Bioactive Compound C-Phycocyanin. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 16, p. 944-949, 2016.

FORTINA, P.; KRICKA, L. J.; SURREY, S.; GRODZINSKI, P. Nanobiotechnology: the promise and reality of new approaches to molecular recognition. **Trends in Biotechnology**, v. 23, p. 168-173, 2005.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Biodegradable polymers – a partial way for decreasing the amount of plastic waste. **Quím. Nova**, v. 29, n. 4, 2006.

GEORGIA TECH. Disponível em: < <https://www.gatech.edu/> >. Acessado em: 05 de maio de 2018.

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

GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; AGGARWAL, B. B. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. **Biochemical Pharmacology**, v. 75, n. 4, p. 787-809, 2007.

GONÇALVES, C. F. **Extração De Biopeptídeos De Origem Microalgal E Aplicação No Desenvolvimento De Nanofibras Bioativas**. 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Univesidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2015.

GRUNDEY, D. Functionality of Product Packaging: Surveying Consumers' Attitude Towards Selected Cosmetic Brands. **Economics & Sociology**, v. 3, n. 1, p. 87-103, 2010.

HAIDER, A.; HAIDER, S.; KANG, I. K. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology – Review. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, n. 8, p. 1165-1188, 2018.

HAIDER, A.; MAHMOOD, W.; AL-MASRY, M.; IMRAN, M.; AIJAZ, M. Highly aligned narrow diameter chitosan electrospun nanofibers. **Journal of Polymer Research**, v. 20, n. 4, p. 1-11, 2013.

HAMMOUDA, B.; HO, D. L.; KLINE, S. Insight into clustering in Poly(ethylene oxide) solutions. **Macromolecules**, v. 37, p. 6932-6937, 2004.

HOSSEINI, S. M.; KHOSRAVI-DARANI, K.; MOZAFARI, M. R. Nutritional and medical applications of spirulina microalgae. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 1231–1237, 2013.

HUANG, B.; LI, C.; WANG, J. A. Template synthesis and magnetic properties of highly aligned barium hexaferrite ($\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$) nanofibers. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 335, p. 28-31, 2013.

HUANG, J.-Y.; LI, X.; ZHOU, W. Safety assessment of nanocomposite for food packaging application. **Trends in Food Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 187–199, 2015.

IKEGAWA, T.; OHTANI, H.; KOYABU, N.; JUICHI, M.; IWASE, Y.; ITO, C.; FURUKAWA, H.; NAITO, M.; TSURUO, T.; SAWADA, Y. Inhibition of P-glycoprotein by flavonoid derivatives in adriamycin-resistant human myelogenous leukemia (K562/ADM) cells. **Cancer Letters**, v. 177, n. 1, p. 89-93, 2002.

INVEST AUSTRALIA. Nanotechnology: Australian Capability Report, Third Edition. Commonwealth of Australia, Canberra. Disponível em: <<http://www.investaustralia.gov.au/media/NANOREPORT07.pdf>>. Acessado em 5 de maio de 2018.

JASIM, F.; ALI, F. Measurements of some spectrophotometric parameters of curcumin in 12 polar and nonpolar organic solvents. **Microchemical Journal**, v. 39, n. 2, p. 156-159, 1989.

JAWOREK, A. Micro- and nano particle production by electrospraying. **Powder Technology**, v. 176, p. 18-35, 2007.

JAWOREK, A.; SOBCZYK, A. Electrospraying route to nanotechnology: an overview. **Journal of Electrostatics**, v. 66, p. 197-219, 2008.

KASZA, G.; SZABÓ-BÓDI, B.; LAKNER, Z.; IZSÓ, T. Balancing the Desire to Decrease Food Waste With Requirements of Food Safety. **Trends In Food Science & Technology**, v. 84, p. 74-76, 2018.

KHAN, W. S.; ASMATULU, R.; CEYLAN, M.; JABBARNIA, A. Recent progress on conventional and non-conventional electrospinning processes. **Fibers and Polymers**, v. 14, n. 8, p. 1235–1247, 2013.

KING, T.; OSMOND-MCLEOD, M. J.; DUFFY, L. L. Review - Nanotechnology in the food sector and potential applications for the poultry industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 72, p. 62-73, 2019.

KOEIJER, B.; J. LANGE; R. WEVER. Desired, perceived, and achieved sustainability: Trade-offs in strategic and operational packaging development. **Sustainability**, v. 9, n. 10, p. 1923, 2017.

KOGA, T.; MATSUI, H.; MATSUMOTO, T.; HIGASHI, N. Shape-specific nanofibers via self-assembly of three-branched peptide. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 358, n. 1, p. 81-85, 2011.

KOSSE, P.; KLEEBERG, T.; LÜBKEN, M.; MATSCHULLAT, J.; WICHERN, M. Quantifying direct carbon dioxide emissions from wastewater treatment units by nondispersive infrared sensor (NDIR) - A pilot study. **Science of the Total Environment**, v. 633, p. 140-144, 2018.

KOZITSINA, A. N.; SVALOVA, T. S.; MALYSHEVA, N. N.; OKHOKHONIN, A. V.; VIDREVICH, M. B.; BRAININA, K. Z. Review: Sensors Based on Bio and Biomimetic Receptors in Medical Diagnostic, Environment, and Food Analysis. **Biosensors**, v. 8, n. 2, p. 35, 2018.

KUNCHANDY, E.; RAO, M. N. A. Oxygen radical scavenging activity of curcumin. **Journal of Pharmacology**, v. 58, p. 237-40, 1990.

KUNTZLER, S. G. **Nanofibras antimicrobianas para aplicação em alimentos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Univesidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2017.

KUNTZLER, S. G.; COSTA, J. A. V.; BRIZIO, A. P. D. R.; DE MORAIS, M G. Development of a colorimetric pH indicator using nanofibers containing *Spirulina* sp. LEB 18. **Food Chemistry**, p. 126768, 2020.

KUSWANDI, B.; JAYUS, A. R.; ABDULLAH, A.; HENG, L. Y.; AHMAD, M. A novel colorimetric food package label for fish spoilage based on polyaniline film. **Food Control**, v. 25, p. 184-189, 2012.

KWANKHAO, B. **Microfiltration membranes via electrospinning of polyethersulfone solutions**. Thesis. Department of Chemistry of University of Duisburg – Essen, 2013.

LANZA, G. A.; PEREZ-TABORDA, J. A.; AVILA, A. **Time temperature indicators (TTIs) based on silver nanoparticles for monitoring of perishables products**. In 6th National Conference on Engineering Physics and the 1st International Conference on Applied Physics Engineering & Innovation, v. 1247, p. 22-26, Bucaramanga: Colômbia, 2018.

LI, Z.; WANG, C. Effects of Working Parameters on Electrospinning. **One-Dimensional Nanostructures**, p. 15–28, 2013.

LIANOU, A.; PANAGOU, E. Z.; NYCHAS, G.-J. E. Microbiological Spoilage of Foods and Beverages. In KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. *The Stability and Shelf Life of Food*. **Woodhead Publishing**, p. 3-42, 2016.

LIM, L. T. **Nanotechnology and Functional Foods: Effective Delivery of Bioactive Ingredients**. 1st ed. United Kingdom. John Wiley & Sons, 2015.

LIU, Y.; LIU, Y.; LIAO, N.; CUI, F.; PARK, M.; KIM, H.-Y. Fabrication and durable antibacterial properties of electrospun chitosan nanofibers with silver nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 638-643, 2015.

MACCOLL, R. Cyanobacterial phycobilisomes. **Journal of Structural Biology**, v. 124, n. 23, p. 311-334, 1998.

MAJID, I.; NAYIK, G. A.; DAR, M. S.; NANDA, V. Novel food packaging technologies: innovations and future prospective. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, n. 4, p. 454-462, 2016.

MANJUNATH, S. J. Time temperature indicators for monitoring environment parameters during transport and storage of perishables: A Review. **Environment Conservation Journal**, v. 19, n. 3, p. 101-106, 2018.

MARTELLI, G.; FOLLI, C.; VISAI, L.; DAGLIA, M.; FERRARI, D. Thermal stability improvement of blue colorant C-Phycocyanin from *Spirulina platensis* for food industry applications. **Process Biochemistry**, v. 49, p. 154-159, 2014.

MATABOLA, K.P.; MOUTLOALI, R.M. The influence of electrospinning parameters on the morphology and diameter of poly(vinylidene fluoride) nanofibers-effect of sodium chloride. **Journal of Materials Science**, v. 48, n. 16, p. 5475, 2013.

MCCLEMENTS, D. J.; XIAO, H. Is nano safe in foods? Establishing the factors impacting the gastrointestinal fate and toxicity of organic and inorganic food-grade nanoparticles. **npj Science of Food**, v. 1, n. 6, 2017.

MCMILLIN, K. W. Advancements In Meat Packaging. **Meat Science**, v. 132, p. 153-162, 2017.

MEENA, M. C.; PATNI, V. Isolation and Identification of Flavonoid "Quercetin" from *Citrullus colocynthis* (Linn.) **Schrad, Asian J. Exp. sci.**, v. 22, n. 1, p. 137-142, 2008.

MENG, X.; KIM, S.; PULIGUNDLA, P.; KO, S. Carbon dioxide and oxygen gas sensors-possible application for monitoring quality, freshness, and safety of agricultural and food products with emphasis on importance of analytical signals and their transformation. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 57, p. 723–733, 2014.

MOMIĆ T.; SAVIC, J.; CERNIGOJ, U.; TREBSE, P. ; VASIC, V. Protolytic Equilibria and Photodegradation of Quercetin in Aqueous Solution. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v. 72, n. 11, p. 1447-1460, 2007.

MOMIN, J. K.; JAYAKUMAR, C.; PRAJAPATI, J. B. Potential of nanotechnology in functional food. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 1, p. 10-19, 2013.

MOMIN, J. K.; JOSHI, B. H. **Nanotechnology in foods**. In RAI, M.; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L.; DURAN, N. *Nanotechnologies in Food and Agriculture*. Switzerland: Springer International Publishing, p. 2-24, 2015.

MORADI, M.; TAJIK, H.; ALMASI H.; FOROUGH, M.; EZATI, P. A novel pH-sensing indicator based on bacterial cellulose nanofibers and black carrot anthocyanins for monitoring fish freshness. **Carbohydrate Polymers**, v. 222, p. 115030, 2019.

MORAIS, M. G. **Bioengenharia microalgal na utilização de gás de combustão e extração de biopolímeros para desenvolvimento de nanofibras**. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Univesidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2008.

- MOREIRA, J. B. **Desenvolvimento De Nanofibras Utilizando Biocompostos Microalgais Com Ação Antioxidante E Indicadores De pH**. 2018. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2018.
- MOREIRA, J. B.; TERRA, A. L. M.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Development of pH indicator from PLA/PEO ultrafine fibers containing pigment of microalgae origin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 1855–1862, 2018.
- MÜLLER, P.; SCHMID, M. Intelligent Packaging in the Food Sector: A Brief Overview. **Foods**, v. 8, n. 1, p. 16, 2019.
- MUSTAFA, F.; ANDREESCU, S. Review - Chemical and Biological Sensors for Food-Quality Monitoring and Smart Packaging. **Foods**, v. 7, n. 10, p. 168, 2018.
- NAEINI, M. B.; MOMTAZI, A. A.; JAAFARI, M. R.; JOHNSTON, T. P.; BARRETO, G.; BANACH, M.; SAHEBKAR, A. Antitumor effects of curcumin: A lipid perspective. **Journal of Cellular Physiology**, p. 1-16, 2019.
- NURA, A.. Advances in food packaging technology-A review. **Journal of Postharvest Technology**, v. 6, n. 4, p. 55-64, 2018.
- PAL, M.; DEVRANI, M.; HADUSH, A. Recent developments in foodpackaging technologies. **Beverage & Food World**, v. 46, n. 1, 2019.
- PING, H.; WANG, J.; MA, Z.; DU, Y. Mini-review of application of IoT technology in monitoring agricultural products quality and safety. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 11, n. 5, 2018.
- PISKULA, M. K.; MUROTA, K.; TERAOKA, J. Bioavailability of flavonols and flavones. In A., Crozier (Ed.) **Flavonoids and related compounds: bioavailability and function**. CRC Press: Boca Raton, p 93-107, 2012.
- PRIYADARSINI, K. I. Photophysics, photochemistry and photobiology of curcumin: Studies from organic solutions, bio-mimetics and living cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 81-95, 2009.
- PURSIAINEN, O. L.; BAUMBERG, J. J.; WINKLER, H.; VIEL, B.; SPAHN, P.; RUHL, T. Nanoparticle-tuned structural color from polymer opals. **Optics Exp**, v. 15, n. 15, p. 9553-9561, 2007.
- Organização Mundial da Saúde - Organização Pan-Americana da Saúde. Segurança dos alimentos é responsabilidade de todos, Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5960:seguranca-dos-alimentos-e-responsabilidade-de-todos&Itemid=875>. Acessado em: 10 de junho de 2020.
- QIU, C.; CLEMENTS, D. J. M.; JIN, Z.; QIN, Y.; HU, Y.; XU, X.; WANG, J. Resveratrol-loaded core-shell nanostructured delivery systems: Cyclodextrin-based metal-organic nanocapsules prepared by ionic gelation. **Food Chemistry**, v. 317, p. 126328, 2020.

RAMAKRISHNA, S.; FUJIHARA, K.; TEO, W. E.; LIM, T. C.; MA, Z. **Electrospinning and nanofibres** (11th ed.). Singapore: World Scientific. (Chapter 2), 2005.

RENEKER, D. H.; YARIN, A. L.; FONG, H.; KOOMBHONGSE, S. Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning. **Journal of Applied Physics**, v. 87, n. 9, p. 4531-4547, 2000.

RENUGADEVI, K.; VALLI NACHIYAR, C.; P.SOWMIYA; SWETHASUNKAR. Antioxidant activity of phycocyanin pigment extracted from marine filamentous cyanobacteria *Geitlerinema* sp TRV57. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 16, p. 237-242, 2018.

SANTIAGO-SANTOS M. C.; PONCE-NOYOLA, T.; OLVERA-RAMÍREZ, R.; ORTEGALÓPEZ, J.; CAÑIZARES-VILLANUEVA, R. O. Extraction and purification of phycocyanin from *Calothrix* sp. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 2047-2052, 2004.

SCHAEFER, D.; CHEUNG, W. M. Smart Packaging: Opportunities and Challenges. **Procedia CIRP**, v. 72, p. 1022-1027, 2018.

SCHMATZ, D. A. **Incorporação De Nanopartículas Com Ficocianina Em Nanofibras Poliméricas Por Electrospinning E Electro spraying**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Univesidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2017.

SCHUEREN, L.V.; MOLLET, T.; ÖZGÜR, C.; CLERCK, K. D. The development of polyamide 6.6 nanofibers with a pH-sensitive function by electrospinning. **European Polymer Journal**, v. 46, p. 2229-2239, 2010.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T.; CARDOSO, C.; PAULETT, P.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. S.; VELASCO, M. V. R.; MENEZES, C. M. S.; FERREIRA E. I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.2, 2007.

SHARMA, C.; DHIMAN, R.; ROKANA, N.; PANWAR, H. Nanotechnology: An Untapped Resource for Food Packaging. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1735, 2017.

SHARMA, C.; DHIMAN, R.; ROKANA, N.; PANWAR, H. Nanotechnology: An Untapped Resource for Food Packaging. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1735, 2017.

SHARMA, C.; DHIMAN, R.; ROKANA, N.; PANWAR, H. Nanotechnology: An Untapped Resource for Food Packaging. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1735, 2017.

SHARMA, R.; GHOSHAL, G. Emerging trends in food packaging. **Nutrition & Food Science**, v. 48, n. 8, 2018.

SHENDAGE, S.; PATIL, V. L.; VANALAKAR, S. A.; PATIL, S. Sensitive and selective NO₂ gas sensor based on WO₃ nanoplates. **Sensors and Actuators B Chemical**, v. 240, p. 426-433, 2017.

- SHI, X.; ZHOU, W.; MA, D.; MA, Q.; BRIDGES, D.; MA, Y.; HU, A. Electrospinning of Nanofibers and Their Applications for Energy Devices - Review Article. **Journal of Nanomaterials**, v. 2015, p. 20, 2015.
- SHIVAKUMAR, N.; MADHUSUDAN, P.; DANIEL, S. K. **Nanomaterials for Smart Food Packaging**. In Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications. Newark: Elsevier, 2018.
- SIDDH, M. M.; SONI, G.; JAIN, R.; SHARMA, M. K. Structural model of perishable food supply chain quality (PFSCQ) to improve sustainable organizational performance". **Benchmarking: An International Journal**, v. 25, n. 7, p. 2272-2317, 2018.
- SILL, T. J.; RECUM H. A. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering – Review. **Biomaterials**, v. 29, n. 13, p. 1989-2006, 2008.
- SILVA, C. K.; MASTRANTONIO, D. J. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Innovative pH sensors developed from ultrafine fibers containing açaí (Euterpe oleracea) extract. **Food Chemistry**, v. 294, p. 397–404, 2019.
- SILVA, E. F.; FIGUEIRA, F. S.; LETTNIN, A. P.; CARRETT-DIAS, M.; FILGUEIRA, D. M. V. B.; KALIL, S.; TRINDADE, G. S.; VOTTO, A. P. S. C-Phycocyanin: Cellular targets, mechanisms of action and multi drug resistance in cancer. **Pharmacological Reports**, v. 70, n. 1, p. 75-80, 2018.
- SINGH, T.; SHUKLA, S.; KUMAR, P.; WAHLA, V.; BAJPAI, V. K.; RATHER, I. A. Application of Nanotechnology in Food Science: Perception and Overview. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 1501, 2017.
- SOHAIL, M.; SUN, D. W.; ZHU, Z. Recent Developments in Intelligent Packaging for Enhancing Food Quality and Safety. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 1, p. 1-41, 2018.
- SONI, B.; KALAVADIA, B.; TRIVEDI, U.; MADAMWAR, D. Extraction, purification and characterization of phycocyanin from *Oscillatoria quadripunctulata* – Isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat, India. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 2017-2023, 2006.
- SONI, B.; TRIVEDI, U.; MADAMWAR, D. A novel method of single step hydrophobic interaction chromatography for the purification of phycocyanin from *Phormidium fragile* and its characterization for antioxidant property. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 188-194, 2008.
- SOOBRAATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O. I.; BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. **Mutation Research**, v. 579, n. 1-2, p. 200-213, 2005.
- SOZER, N.; KOKINI, J. L. Nanotechnology and its applications in the food sector. **Trends in Biotechnology**, v. 27, p. 82–89, 2009.
- SRINIVAS, K.; KING, J. W.; HOWARD, L. R.; MONRAD, J. K. Solubility and solution thermodynamic properties of quercetin and quercetin dihydrate in subcritical water. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 208–218, 2010.

SUN, B.; LONG, Y. Z.; ZHANG, H. D.; LI, M. M.; DUVAIL, J. L.; JIANG, X. Y.; YIN, H. L. Advances in three-dimensional nanofibrous macrostructures via electrospinning. **Progress in Polymer Science**, v. 39, n. 5, p. 862-890, 2014.

SUZUKI, A.; ARINO, K. Polypropylene nanofiber sheets prepared by CO₂ laser supersonic multi-drawing. **European Polymer Journal**, v. 48, n. 7, p. 1169-1176, 2012.

TANIGUCHI, N. **On the Basic Concept of 'Nano-Technology**. In Proceedings of the International Conference on Production Engineering, Tokyo, 1974, Part II. Japan Society of Precision Engineering, 1974.

TASSANAWAT, S.; PHANDEE, A.; MAGARAPHAN, R.; NITHITANAKUL, M.; MANUSPIYA, H. **pH-Sensitive Pp/Clay Nanocomposites for Beverage Smart Packaging**. In Proceedings of the 2nd Ieee International, Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, Bangkok, THA, 2007.

THANGAM, R.; SURESH, V.; ASENATH, P. W.; RAJKUMAR, M.; SENTHILKUMAR, N.; GUNASEKARAN, P.; RENGASAMY, R.; ANBAZHAGAN, C.; KAVERI, K.; KANNAN, S. C-Phycocyanin from *Oscillatoria tenuis* exhibited na antioxidant and in vitro antiproliferative activity through induction of apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest. **Food Chemistry**, v. 140, p. 262-272, 2013.

THIRUVENGADAM, M.; RAJAKUMAR, G.; CHUNG, I. Nanotechnology: current uses and future applications in the food industry. **3 Biotech**, v. 8, n. 74, 2018.

TROVATTI, E.; SANTOS, A. M.; AMARAL, A. C.; MENEGUIN, A. B.; MATOS, B. D. M.; PACHECO, G.; CARVALHO, R. A.; LAZARINI, S. C.; CARDOSO, V. M. O.; LUSTRI, W. R.; BARUD, H. S. Biopolímeros: aplicações farmacêutica e biomédica. **Eclética Química Journal**, v. 41, p. 1-31, 2016.

VANCE, M. E.; KUIKEN, T.; VEJERANO, E. P.; MCGINNIS, S. P.; HOHELLA JR., M. F.; REJESKI, D.; HULL, M. S. Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. **Beilstein J Nanotechnol**, v. 6, p. 1769–1780, 2015.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Pharmaceutical applications of polymers. **Polímeros**, v. 20, n. 1, 2010.

WANG, X.; LIU, W.; FU, H.; YI, X.-H.; WANG, p.; ZHAO, C.; WANG, C.-C.; ZHENG, W. Simultaneous Cr(VI) reduction and Cr(III) removal of bifunctional MOF/Titanate nanotube composites. **Environmental Pollution**, v. 249, p. 502-511, 2019.

WANG, X.; YU, J.; LI, J.; KANG, Q.; SHEN, D.; CHEN, L. Quantum dots based imprinting fluorescent nanosensor for the selective and sensitive detection of phycocyanin: A general imprinting strategy toward proteins. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 255, n. 1, p. 268-274, 2018.

WYPYCH, G. **Handbook of Polymers**. 2nd Ed., Chemtec Publishing, 2012.

XIU, Z-M.; ZHANG, Q-B.; PUPPALA, H. L.; COLVIN, V. L.; ALVAREZ, P. J. J. Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. **Nanotechnology Letters**, v. 12, p. 4271-4275, 2012.

YANG, C.; CHU, J.; WARREN, R, L.; BIROL, I. NanoSim: nanopore sequence read simulator based on statistical characterization. **GigaScience**, v. 6, n. 4, 2017.

YILDIRIM, S.; RÖCKER, B.; PETTERSEN, M. K.; NILSEN-NYGAARD, J.; AYHAN, Z.; RUTKAITE, R.; RADUSIN, T.; SUMINSKA, P.; MARCOS, B.; COMA, V. Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 1, 2017.

ZABALA, S.; CASTÁN, J.; MARTÍNEZ, C. Development of a time-temperature indicator (TTI) label by rotary printing technologies. **Food control**, v. 50, p. 57-64, 2015.

ZHAO, J.; HAN, W.; TANG, M.; TU, M.; ZENG, R.; LIANG, Z.; ZHOU, C. Structure, morphology and cell affinity of poly(L-lactide) films surface-functionalized with chitosan nanofibers via solid-liquid phase separation technique. **Materials Science and Engineering: C**, v. 22, n. 3, p. 1546-1553, 2013.

