

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO
Processos em Tecnologia Química – ACPTQ

**SISTEMAS INTELIGENTES E BIODEGRADÁVEIS: INCORPORAÇÃO DE
INDICADORES DE TEMPERATURA**

Autor: Vinicius Borges Vieira Maciel

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Telma Teixeira Franco

Co-Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Cristiana Maria Pedroso Yoshida

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Campinas - São Paulo
Abril, 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

M187s Maciel, Vinicius Borges Vieira
 Sistemas inteligentes e biodegradáveis: incorporação
 de indicadores de temperatura / Vinicius Borges Vieira
 Maciel. --Campinas, SP: [s.n.], 2011.

 Orientadores: Telma Teixeira Franco, Cristiana Maria
 Pedroso Yoshida.

 Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de
 Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

 1. Embalagem. 2. Quitosana. 3. Clorofila. 4.
 Antocianina. 5. Papel. I. Franco, Telma Teixeira. II.
 Yoshida, Cristiana Maria Pedroso. III. Universidade
 Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia
 Química. IV. Título.

Título em Inglês: Intelligent and biodegradable systems: temperature indicator

Palavras-chave em Inglês: Packaging, Chitosan, Chlorophyll, Anthocyanin,
Paper

Área de concentração: Processos em Tecnologia Química

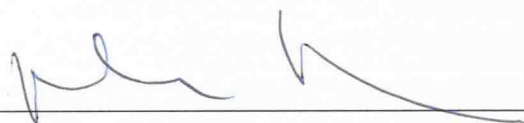
Titulação: Mestre em Engenharia Química

Banca examinadora: Carlos Raimundo Ferreira Grosso, Rosemary Aparecida de
Carvalho

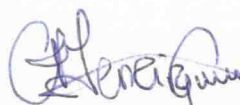
Data da defesa: 08/04/2011

Programa de Pós Graduação: Engenharia Química

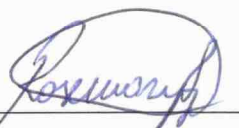
Dissertação de Mestrado defendida por Vinicius Borges Vieira Maciel e aprovada em 08 de abril de 2011 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Prof.ª. Dr.ª. Telma Teixeira Franco
(Orientadora – FEQ/UNICAMP)



Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso
(Titular – FEA/UNICAMP)



Prof.ª. Dr.ª. Rosemary Aparecida de Carvalho
(Titular – FZEA/USP)

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia Química.

A handwritten signature in black ink, consisting of a series of loops and a long horizontal stroke, positioned above a horizontal line.

Prof.ª. Dr.ª. Telma Teixeira Franco

Dedico aos meus pais Djalma Ney e Neurene, responsáveis por eu estar aqui hoje. Pessoas amigas, sinceras e muito merecedoras da minha admiração, respeito e amizade, sendo meu referencial de coragem e caráter. Esta minha conquista também é de vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus, que é bondade e amor, carinho e sabedoria, pela oportunidade de poder realizar este sonho, me encorajando e dando a força para seguir sempre em frente.

Aos meus pais, que mesmo a distância estiveram me auxiliando, me encorajando, acreditando em mim e me ensinando a andar com as próprias pernas para chegar a estes momentos de imensa alegria. Essa conquista não é só minha, divido esta felicidade com eles, que sempre acreditaram nesta vitória...o meu muito obrigado. Sem vocês este logro não teria o mesmo sentido e valor!

Agradeço à minha querida orientadora, professora Telma, pela confiança, compreensão, paciência e acima de tudo, orientação ao longo destes anos de estudos. O suporte que a senhora me deu foi de grandiosa importância para o meu êxito. “Mestre não é quem sempre ensina, mas quem de repente aprende.” (Guimarães Rosa)

À Kity, minha amável co-orientadora, que nestes anos de convivência demonstrou seu entusiasmo pela pesquisa e desenvolvimento deste trabalho me fazendo despertar e ter a certeza do caminho que desejo seguir profissionalmente. Pela co-orientação sempre presente, pela palavra amiga e encorajadora nos momentos de dúvida e desapontamento. Pela paciência no momento de explicar, por tantos e tantos momentos de correções de artigos, relatórios, defesa.....imagino que sem você minha trajetória seria mais difícil. Agradeço imensamente a ti por tudo!

Aos dois primeiros professores que me apresentaram a pesquisa: professores Ana Flávia e Aroldo, muito obrigado pelos primeiros ensinamentos. Vocês também fazem parte dessa conquista.

Muito obrigado à querida e amável professora Bel, que com sua generosidade, carinho, amor pelo trabalho, compartilhou seus conhecimentos que me foram muito úteis.

À UNICAMP e FEQ pela oportunidade em poder fazer meu sonho virar realidade.

Aos meus amigos Michelle e Jaiver pela oportunidade de conviver estes anos ao lado de vocês. Muitos momentos felizes e mesmo de tristezas passaram por nós, mas vocês sempre me demonstraram companheirismo, carinho, atenção, paciência e coragem, me fazendo acreditar que independente do problema que tenhamos pela frente, somos capazes de vencer os obstáculos e seguir em frente. Obrigado, especialmente, à você Jaiver, pelos tantos e tantos momentos de

esclarecimentos e explicações. Sei, que sem você, está conquista não teria o mesmo valor. À você Michelle, que foi a pessoa responsável por me apresentar a FEQ e incentivar minha ida para Campinas. A vocês, pessoas muitíssimo queridas para mim, muito obrigado por fazerem parte dessa história! “A amizade é um amor que nunca morre.” (Mário Quintana)

Aos outros amigos, que também são de igual importância: Astrid, Guillermo, Erika, Bianca, Sérgio, Annamaria, Tony, Giselle, Edison e Marcele entre tantos outros, obrigado pelos momentos de descontração e alegria que vivenciamos juntos!

A todos do LEBBPOR, que de uma maneira ou de outra estiveram me auxiliando, tirando dúvidas e tornando o meu dia a dia mais feliz....muito obrigado.

À minha amiga Kallyana, que mesmo distante foi capaz de me fortalecer, sempre com suas palavras amigas e carinhosas...obrigado por tudo.

Aos meus irmãos que sempre me apoiaram e me incentivaram, agradeço pelo carinho.

É impossível agradecer nominalmente a todos aqueles que foram responsáveis por eu estar aqui hoje. Muitos amigos contribuíram de alguma forma para esta conquista. Peço à cada um de vocês, que independente de citar o nome aqui ou não, são de igual importância para mim. O meu MUITO OBRIGADO a todos que me ajudaram a alcançar esta vitória e estes momentos de alegria!

*“A satisfação está no esforço feito para
alcançar o objetivo,
e não em tê-lo alcançado.”*
Gandhi

*“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer
um novo começo, qualquer um pode
começar agora e fazer um novo fim.”*
Chico Xavier

SUMÁRIO

RESUMO.....	xvii
ABSTRACT	xix
ÍNDICE DE FIGURAS	xxi
ÍNDICE DE TABELAS	xxvii
NOMENCLATURA	xxix
<i>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO.....</i>	31
<i>CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</i>	37
2.1 – Quitosana.....	39
2.1.1 – Filmes de Quitosana	40
2.2 – Embalagens Inteligentes	40
2.2.1 – Indicadores de Temperatura	41
2.3 – Pigmentos Naturais como Indicador de Temperatura.....	43
2.3.1 – Clorofilas	44
2.3.1.2 – Estabilidade das Clorofilas	46
2.3.2 – Antocianinas	47
2.3.2.1 – Fontes e Funções das Antocianinas	48
2.3.2.2 – Estabilidade das Antocianinas	49
2.4 – Revestimento de Papel Cartão com Filmes de Quitosana	52
<i>CAPÍTULO 3 – OBJETIVOS</i>	57
3.1 – Objetivo Geral	59
3.2 – Objetivos Específicos	59
<i>CAPÍTULO 4 – MATERIAIS E MÉTODOS</i>	61
4.1 – Materiais.....	63
4.2 – Métodos	63
4.2.1 – Calibração da Intensidade de Luz e Temperatura	63

4.2.2 – Obtenção dos Filmes de Quitosana Contendo Pigmento Natural.....	64
4.2.3 – Concentração de Pigmento nos Filmes de Quitosana.....	65
4.2.3.1 – Eficiência da Resposta de Cor para Concentração do Pigmento.....	65
4.2.4 – Planejamento Experimental – Estudo do Efeito da Temperatura e Intensidade Luminosa (IL).....	66
4.2.5 – Avaliação da Alteração de Cor do Pigmento.....	68
4.2.6 – Efeitos da Temperatura e Intensidade Luminosa: Planejamento Experimental Para os Filmes de Quitosana Contendo CLO (F-CLO) e Para os Filmes de Quitosana Contendo ATH (F-ATH)	68
4.2.6.1 – Parâmetros de Cor	68
4.2.6.2 – Propriedades Mecânicas	69
4.2.7 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Para os Filmes.....	69
4.2.8 – Sistema Filme-Papel Cartão (FP)	70
4.2.9 – Propriedades do Sistema FP	70
4.2.9.1 – Avaliação da Cor	70
4.2.9.2 – Análise Sensorial	71
4.2.9.3 – Absorção de água – Teste Cobb	72
4.2.9.4 – Rigidez Taber	72
4.2.9.5 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Para os Sistemas FP-ATH e FP-CLO	73
4.2.9.6 – Teste de Estabilidade do Sistema FP-ATH	73
4.3 – Análise Estatística.....	73
<i>CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO</i>	<i>75</i>
5.1 – Calibração da Intensidade de Luz e Temperatura.....	77
1	77
5.2 – Obtenção dos Filmes de Quitosana Contendo Pigmento Natural.....	78
5.3 – Filmes de Quitosana contendo Antocianina (F-ATH).....	79
5.3.1 –Concentração de ATH nos Filmes de Quitosana.....	79
5.3.2 – Avaliação da Alteração de Cor dos Filmes F-ATH.....	82

5.3.2.1 – Parâmetro L^*	83
5.3.2.2 – Parâmetro a^*	84
5.3.2.3 – Parâmetro b^*	86
5.3.3 – Efeitos da Temperatura e Intensidade Luminosa: Planejamento Experimental	
Filmes F-ATH	88
5.3.3.1 – Parâmetros de Cor e Propriedades Mecânicas.....	88
5.3.4 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) – Filmes F-ATH.....	93
5.3.5 – Sistema Filme-Papel Cartão Contendo ATH (FP-ATH).....	94
5.3.5.1 – Avaliação da alteração de Cor do Sistema FP-ATH	95
5.3.5.2 – Análise Sensorial para o Sistema FP-ATH	103
5.3.5.3 – Propriedades do Sistema FP-ATH.....	104
5.3.5.4 – Microestrutura dos revestimentos FP-ATH.....	107
5.3.5.5 – Teste de Estabilidade do Sistema FP-ATH	109
5.4 – Clorofila (CLO)	113
5.4.1 – Concentração de CLO nos Filmes de Quitosana.....	113
5.4.2 – Avaliação da Alteração de Cor dos Filmes F-CLO.....	115
5.4.2.1 – Parâmetro L^*	116
5.4.2.2 – Parâmetro a^*	117
5.4.2.3 – Parâmetro b^*	118
5.4.3 – Efeitos da Temperatura e Intensidade Luminosa: Planejamento Experimental -	
Filmes F-CLO.....	120
5.4.3.1 – Parâmetros de Cor e Propriedades Mecânicas.....	120
5.4.4 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para Filmes F-CLO.....	125
5.4.5 – Sistema Filme-Papel Cartão Contendo CLO (FP-CLO)	126
<i>CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES.....</i>	129
<i>CAPÍTULO 7 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</i>	135
<i>CAPÍTULO 8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	139
<i>ANEXOS</i>	153

RESUMO

Embalagem inteligente é uma tecnologia inovadora que permite a comunicação de informações relacionadas à qualidade e segurança do produto envolvendo a incorporação de sensores ou indicadores que produzem um sinal como resposta a qualquer alteração das condições iniciais. No setor de alimentos e fármacos, uma embalagem com barreiras efetivas a gases, umidade e luz não garante a total qualidade do produto, se as condições de temperatura durante o transporte e armazenamento não forem rigorosamente cumpridas. Desta forma, o monitoramento da temperatura, que apresenta efeito significativo nas reações de deterioração, é um fator importante para garantir qualidade e segurança do produto até o consumidor. O objetivo deste projeto foi o desenvolvimento de sistemas indicadores colorimétricos obtidos a partir de filmes de quitosana contendo pigmentos naturais termossensíveis, com potencial para aplicação como material para formação de embalagens inteligentes que comunicam a variação de temperatura. A quitosana é um polímero biodegradável, proveniente de fontes renováveis, capaz de formar filmes flexíveis e resistentes, com barreira efetiva ao oxigênio. Os pigmentos naturais estudados neste trabalho foram clorofila (CLO) e antocianina (ATH), escolhidos por serem de baixa toxicidade, termossensíveis e apresentarem diferentes faixas de estabilidade de temperatura. Pigmento natural na concentração de 0,25% (m/m) foi incorporado à suspensão de quitosana (2,0%, m/m). Os efeitos da temperatura (10° a 50°C) e IL (0 a 1000 Lux) foram estudados utilizando um planejamento experimental de duas variáveis, avaliando os parâmetros de cor L*, a* e b* e propriedades mecânicas dos filmes. As suspensões de quitosana contendo os pigmentos foram aplicadas como revestimento em superfície de papel cartão formando o sistema filme-papel cartão (FP). A alteração de cor para os filmes e sistema FP foi avaliada após exposição a diferentes temperaturas e IL. Os filmes caracterizaram-se pela homogeneidade, flexibilidade, transparência e fácil manuseabilidade. A variação de cor foi visualmente observada no sistema FP contendo CLO, mudando de verde para amarelo quando submetido a temperaturas acima de 50°C independente da IL e de roxo tendendo ao amarelo no sistema FP contendo ATH, para temperaturas acima de 40°C, sendo a alteração de cor intensificada na presença de IL.

Palavras-chave: embalagem inteligente, filme de quitosana, indicadores de temperatura, clorofila, antocianina, sistema filme-papel cartão.

ABSTRACT

Intelligent packaging is a technology that brings information related to the quality and safety of products. The system involves sensors or indicators incorporation that produce a signal as a response to any initial change conditions. In food and drug sectors, a packaging with effective barriers to gases, moisture and light no ensure the total product quality if the temperature conditions during transport and storage are not controlled. Temperature monitoring, that shows significant effect on deterioration reactions, is an important factor to guarantee the product integrity. The objective of this work was develop a colorimetric indicator system obtained from chitosan films containing thermal sensitive natural pigments. The potential application is as intelligent material packaging that communicates temperature changes. Chitosan is a biodegradable polymer, obtained from renewable source and has the ability to form flexible and resistant films with an efficient oxygen barrier. Natural pigments chlorophyll (CLO) and anthocyanin (ATH) were chosen due to their low toxicity, thermal sensitivity and stability in different range of temperatures. Pigment (0.25%, w/w) was incorporated to chitosan suspensions (2.0%, w/w). The temperature (10 to 50°C) and luminosity (0 to 1000 Lux) effects were studied using an experimental design with two variables, analyzing the colour parameters L^* , a^* , b^* and mechanicals properties of chitosan films. The chitosan suspensions containing the pigments were applied as coating on card paper surface forming a card paper-film (FP) system. The colour changes of intelligent systems were evaluated after different temperature and luminosities exposition. The films were characterized by homogeneity, flexibility, transparency and handling. The colour change was irreversible and visually observed in the FP system containing CLO from green to yellow when submitted to temperature above 50°C despite the luminosity. For FP system containing ATH the colour change from purple to yellow for temperatures exposition above 40°C, where the colour change was intensified on luminosity presence.

Key-words: intelligent packaging, chitosan film, temperature indicator, chlorophyll, anthocyanin, card paper- film system.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reação de desacetilação da quitina, transformando-se em quitosana. (Adaptado de BATTISTI; CAMPANA-FILHO, 2008).....	39
Figura 2. Estrutura química da clorofila (STREIT <i>et al.</i> , 2005).....	45
Figura 3. Reações de transformação da clorofila (BOBBIO; BOBBIO, 2003).	45
2.3.1.1 – Fontes e Funções das Clorofilas	46
Figura 4. Estrutura química fundamental das antocianinas (FRANCIS, 1989).	48
Figura 5. Formas estruturais de antocianinas em equilíbrio em solução aquosa (FRANCIS, 1989).....	50
Figura 6. Esquema ilustrativo do equipamento utilizado para determinar a intensidade de luz na incubadora.....	63
Figura 7. Pontos na planta inferior da incubadora onde foram realizados os testes para determinação da intensidade de luz.	64
Figura 8. Esquema utilizado para avaliar a alteração de cor dos pigmentos nos filmes inteligentes de quitosana.....	66
Figura 9. Sistema de coordenadas dos parâmetros de cor pelos padrões L*, a*, b* e L*, C*, H* (h _{ab}) (WESTLAND, 2001).	69
Figura 10. Modelo de questionário aplicado no teste triangular (Adaptado de ABNT, NBR 12995, 1993).....	71
Figura 11. Filmes de quitosana: (a) Ausência de pigmento natural; (b) Com clorofila e (c) Com antocianina.	79
Figura 12. Valores do parâmetro L* medidos nos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de ATH em função do tempo de exposição à 2225 Lux e 25 ± 2°C.	80
Figura 13. Valores do parâmetro a* medidos nos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de ATH em função do tempo de exposição à 2225 Lux e 25 ± 2°C.	81

Figura 14. Valores do parâmetro b^* medidos nos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de ATH em função do tempo de exposição à 2225 Lux e $25 \pm 2^\circ\text{C}$	81
Figura 15. Alteração do parâmetro de cor L^* nos filmes F-ATH, durante 72 horas de exposição em diferentes condições de temperatura e IL.	83
Figura 16. Alteração do parâmetro de cor a^* nos filmes F-ATH, durante 72 horas de exposição em diferentes condições de temperatura e IL.	84
Figura 17. Cor dos filmes F-ATH: (a) início do processo (0 h); (b) após 72 horas de exposição à $10^\circ\text{C}/1000$ Lux.....	85
Figura 18. Cor dos filmes F-ATH: (a) início do processo (0 h); (b) após 72 horas de exposição à $50^\circ\text{C}/0$ Lux.....	85
Figura 19. Cor dos filmes F-ATH: (a) início do processo (0 h); (b) após 72 horas de exposição à $50^\circ\text{C}/1000$ Lux.....	86
Figura 20. Alteração do parâmetro de cor b^* nos filmes F-ATH, durante 72 horas de exposição a diferentes condições de temperatura e IL.	86
Figura 21. Efeitos das variáveis temperatura e IL no parâmetro L^* dos filmes F-ATH.	89
Figura 22. Superfície de resposta para o parâmetro L^* dos filmes F-ATH em função da temperatura e IL.....	90
Figura 23. Efeitos das variáveis temperatura e IL no parâmetro de cor h_{ab} dos filmes F-ATH.	91
Figura 24. Superfície de resposta para o parâmetro h_{ab} dos filmes F-ATH em função da temperatura e IL.....	92
Figura 25. Efeitos das variáveis temperatura e IL no E dos filmes F-ATH.	92
Figura 26. Micrografias da superfície de: (a) Filme de quitosana; (b) Filme F-ATH.....	93
Figura 27. Micrografias da secção transversal de (a) Filme de quitosana; (b) Filme F-ATH..	94
Figura 28. Variação de cor no sistema FP-ATH revestido com a formulação F-A (2% QT/0,25% ATH), exposto a diferentes temperaturas e IL.....	95
Figura 29. Variação de cor no sistema FP-ATH revestido com suspensão de formulação F-C (4% QT/0,50% ATH), exposto a diferentes temperaturas e IL.	96

Figura 30. Variação do parâmetro de cor L^* do sistema FP-ATH exposto a diferentes temperaturas e 1000 Lux.	97
Figura 31. Variação do parâmetro de cor a^* do sistema FP-ATH exposto a diferentes temperaturas e IL: (a) 0 Lux e (b) 1000 Lux.	98
Figura 32. Variação do parâmetro de cor b^* do sistema FP-ATH exposto em diferentes temperaturas e IL: (a) 0 Lux e (b) 1000 Lux.	99
Figura 33. Alteração de cor visual e do parâmetro b^* para o sistema FP-ATH revestido com 2% QT/0,50% ATH exposto por 72 horas em diferentes temperaturas e ausência de luz (0 Lux).	100
Figura 34. Relação da alteração de cor visual e do parâmetro b^* para o sistema FP-ATH revestido com 2% QT/0,50% ATH exposto por 72 horas em diferentes temperaturas e 1000 Lux.	101
Figura 35. Mecanismo de transformação da estrutura química da antocianina em função da exposição às temperaturas elevadas, com formação das chalconas (MARKAKIS, 1982). ...	102
Figura 36. Esquema utilizado para apresentar as amostras de FP-ATH aos consumidores. ...	103
Figura 37. Avaliação sensorial para o sistema FP-ATH revestido com 2% QT/0,50% ATH, submetido 60°C e diferentes IL: (a) 0 Lux e (b) 1000 Lux.	104
Figura 38. Micrografias da região superficial do: (a) papel cartão sem revestimento; e revestido com (b) F-A; (c) F-B; (d) F-C.	107
Figura 39. Micrografias da secção transversal do: (a) papel cartão sem revestimento; e revestido com (b) F-A; (c) F-B; (d) F-C.	108
Figura 40. Valores do parâmetro de cor b^* do sistema FP-ATH armazenados por 108 dias em diferentes temperaturas e IL.	109
Figura 41. Alteração de cor visual para o sistema FP-ATH durante o teste de estabilidade realizado por 108 dias sob diferentes condições de temperatura e IL.	110

Figura 42. Alteração do parâmetro b^* do sistema FP-ATH quando submetido durante 72 horas à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux logo após o revestimento e ao final de 108 dias de armazenamento à 25°C e ausência de IL.....	111
Figura 43. Eficiência colorimétrica do sistema FP-ATH quando submetido durante 72 horas à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux logo após o processamento (0 dia) e ao final de 108 dias de armazenamento à 25°C e ausência de IL.....	112
Figura 44. Filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de CLO: (a) 0,15%; (b) 0,25%; (c) 0,50%; (d) 1,00%.....	113
Figura 45. Valores do parâmetro L^* dos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de CLO em função do tempo de exposição à 2225 Lux e 25°C.....	113
Figura 46. Valores do parâmetro a^* dos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de CLO em função do tempo de exposição à 2225 Lux e 25°C.....	114
Figura 47. Valores do parâmetro b^* dos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de CLO em função do tempo de exposição à 2225 Lux e 25°C.....	115
Figura 48. Parâmetro de cor L^* dos filmes F-CLO durante 72 horas de exposição em diferentes condições de temperatura e IL.....	116
Figura 49. Parâmetro de cor a^* dos filmes F-CLO durante 72 horas de exposição a diferentes condições de temperatura e IL.....	117
Figura 50. Esquema de representação da substituição do magnésio pelo íon de cobre: (a) estrutura básica das clorofilas e (b) parte estrutural das clorofilinas cúpricas.	118
Figura 51. Parâmetro de cor b^* dos filmes F-CLO durante 72 horas de exposição a diferentes condições de temperatura e IL.....	119
Figura 52. Superfície de resposta para o parâmetro L^* dos filmes F-CLO em função da temperatura e IL.....	122
Figura 53. Efeitos das variáveis temperatura, IL e a interação entre as duas na Tr dos filmes F-CLO.	124
Figura 54. Micrografias da região superficial de: (a) Filme de quitosana e (b) Filme F-CLO.	125

Figura 55. Micrografias da secção transversal de: (a) Filme de quitosana e (b) Filme F-CLO.125

Figura 56. Micrografias da secção transversal do sistema FP-CLO para: (a) papel sem revestimento; (b) revestido com 2% QT/0,25% CLO. 126

Figura 57. Variação de cor dos sistemas FP-CLO após 72 horas expostos a: (a) Controle – 25°C/0 Lux; (b) 50°C/1000 Lux; (c) 60°C/0 Lux e (d) 75°C/0 Lux. 127

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Antocianinas comumente encontradas em alimentos e suas fontes.....	49
Tabela 2. Matriz do planejamento experimental fatorial de duas variáveis empregada para determinar as variações ocorridas nos filmes inteligentes de quitosana.	67
Tabela 3. Faixa de valores utilizados no planejamento fatorial de duas variáveis.	67
Tabela 4. Concentrações de quitosana e pigmento das suspensões aplicadas como revestimento em superfícies de papel cartão.	70
Tabela 5. Análise estatística da intensidade de luz obtida em incubadora com circulação forçada de ar para as condições de 500 Lux e 1000 Lux.....	77
Tabela 6. Análise estatística da temperatura obtida em estufa com circulação forçada de ar para as condições de 10°, 30° e 50°C.....	78
Tabela 7. Condições de temperatura e IL utilizadas na avaliação da cor dos filmes F-ATH...	82
Tabela 8. Parâmetros de cor e propriedades mecânicas dos filmes F-ATH após exposição às condições do planejamento experimental.	88
Tabela 9. ANOVA para o parâmetro de cor L* dos filmes F-ATH.	90
Tabela 10. ANOVA para o parâmetro de cor h _{ab} dos filmes F-ATH.	91
Tabela 11. ANOVA para o E dos filmes F-ATH.	93
Tabela 12. Concentrações de quitosana (QT) e ATH aplicadas como revestimento para formação do sistema FP-ATH.	95
Tabela 13. Valores de L* para o sistema FP-ATH submetido a diferentes temperaturas e ausência de IL.....	96
Tabela 14. Gramatura, absorção de água e rigidez Taber do papel e do sistema FP-ATH. ...	105
Tabela 15. Condições de temperatura e IL utilizadas para construção da curva de alteração de cor dos filmes F-CLO.	116

Tabela 16. Matriz do planejamento experimental para duas variáveis, utilizando-se filmes F-CLO e a resposta em parâmetros de cor e propriedades mecânicas.	120
Tabela 17. Efeito estimado, erro padrão e grau de significância estatística para o parâmetro de cor L^* dos filmes F-CLO.....	121
Tabela 18. ANOVA para o parâmetro de luminosidade L^* dos filmes F-CLO.....	121
Tabela 19. Efeito estimado, erro padrão e grau de significância para o parâmetro h_{ab} dos filmes F-CLO.....	122
Tabela 20. ANOVA para o parâmetro de cor h_{ab} dos filmes de quitosana contendo CLO.	123
Tabela 21. ANOVA para a Tr dos filmes de quitosana contendo CLO.	124
Tabela 22. Avaliação dos parâmetros de cor do sistema FP-CLO.	128

NOMENCLATURA

Abs – absorção de água

ATH – antocianina

CLO – clorofila

E – módulo de rigidez ou módulo de Young (GPa)

F_A – fração molar

F-ATH – filme de quitosana contendo antocianina

F_{cal} – F calculado

F-CLO – filme de quitosana contendo clorofila

FP – filme-papel cartão

FP-ATH – filme-papel cartão contendo antocianina

FP-CLO – filme-papel cartão contendo clorofila

F_{tab} – F tabelado

IL – intensidade luminosa (Lux)

m_f – massa final da amostra (g)

m_i – massa inicial da amostra (g)

QT – quitosana

Temp – temperatura (°C)

Tr – tensão na ruptura (MPa)

TTI – indicadores tempo-temperatura

ε – alongamento na ruptura ou deformação (%)

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1 – INTRODUÇÃO

A rastreabilidade dos produtos permite resgatar a origem e a história dos mesmos em todas as etapas do processo produtivo adotado, desde a produção até o consumo. Este sistema deve estar contido nos programas que procuram obter um produto final seguro destinado. Desta forma, o potencial de aplicação de novos sistemas de acondicionamento vem aumentando devido às exigências do consumidor e preocupação sobre a procedência e condições de transporte e armazenamento de produtos (DAINELLI *et al.*, 2008).

A indústria de embalagem busca novos métodos objetivos, realizáveis e de custo efetivo, que além de manter a integridade do produto, garantam a qualidade, segurança (OUATTARA *et al.*, 2000) e confiança do consumidor (AIDER, 2010).

Dentre estes novos métodos encontram-se as embalagens inteligentes, sistemas que possibilitam a comunicação com o consumidor sobre informações relacionadas à qualidade e segurança do produto através da embalagem. Estas envolvem a incorporação de sensores ou indicadores que respondem por sinais (elétrico, colorimétrico, etc.) às alterações das condições iniciais (BRODY; STRUPINSKY; KLINE, 2001).

Além destes novos sistemas, as indústrias de embalagens buscam também a sustentabilidade como outra opção de diferenciação para este setor, sendo definida como a tendência do ecossistema para balancear o consumo de matéria-prima e energia. De acordo com van Bellen (2007) a sustentabilidade pode ser entendida como um tipo de desenvolvimento que garanta qualidade de vida para as gerações atuais e futuras sem a destruição do meio ambiente. Uma das definições mais aceitas e conhecidas para o conceito de sustentabilidade é a do Relatório Brundtland, que afirma que o desenvolvimento sustentável é o que atende às necessidades das gerações presentes sem comprometer a possibilidade das gerações futuras atenderem suas próprias necessidades (WCED, 1987). Munasinghe e McNeely (1995) resumem a sustentabilidade à obtenção de um grupo de indicadores que sejam referentes ao bem estar e que possam ser mantidos ou que cresçam com o tempo. Um dos fatores da sustentabilidade no desenvolvimento de embalagens envolve a maximização do uso de materiais renováveis ou

recicláveis. Agregar o conceito de preservação do meio ambiente às embalagens dos produtos pode ser uma maneira de satisfazer a indústria e consumidores.

A utilização de polímeros naturais na formação de embalagens flexíveis como forma de garantir a sustentabilidade das mesmas, vem sendo intensamente estudada em âmbito mundial, visando substituição parcial dos polímeros sintéticos, principalmente devido ao problema ambiental de acúmulo de lixo de difícil degradação (AIDER, 2010). Dentre os polímeros naturais, a quitosana tem despertado interesse, pois é biodegradável, provém de fontes renováveis, é capaz de formar filmes flexíveis e resistentes, com barreira eficiente a oxigênio, além de atividade antimicrobiana (JO *et al.*, 2001; CHEN *et al.*, 2002; QUINTAVALLA; VICINI, 2002; YOSHIDA; OLIVEIRA-JUNIOR.; FRANCO, 2009).

Nesta última década, inúmeros estudos foram desenvolvidos visando a produção e caracterização de filmes biodegradáveis à base de macromoléculas naturais, como proteínas de soro de leite (YOSHIDA; ANTUNES, 2009; ZINOVIADOU; KOUTSOUMANIS; BILIADERIS, 2010), gelatina (CARVALHO; GROSSO, 2006; WANG; AUTY; KERRY, 2010), zeína (SHI; KOKINI; HUANG, 2009; TIHMINLIOGLU; ATIK; ÖZEN, 2010; HAN *et al.*, 2010), quitosana (VÁSCONEZ *et al.*, 2009; YOSHIDA; OLIVEIRA-JUNIOR; FRANCO, 2009; YOSHIDA; BASTOS; FRANCO, 2010; SOUZA *et al.*, 2010), amido (TORRES *et al.*, 2011; VEIGA-SANTOS; DITCHFIELD; TADINI, 2011) e outros, entretanto a abordagem de aplicação destes materiais para sensores de embalagens inteligentes, ainda é escassa na literatura especializada.

Entre os sensores utilizados em embalagens de alimentos, encontram-se aqueles que informam variações na temperatura. Esta é uma das variáveis mais importantes que influencia a qualidade e segurança de produtos alimentícios e fármacos durante a distribuição e estocagem. Uma embalagem adequada promove barreira efetiva contra gases e umidade, mas a temperatura depende de condições de distribuição e estocagem. Monitorar a temperatura pode favorecer o estudo mais preciso de vida de prateleira dos produtos corrigindo o período de validade, aumentando o controle de qualidade e reduzindo o desperdício dos produtos (SHIMONI; ANDERSON; LABUZA, 2001). A grande extensão territorial brasileira associada ao transporte

de cargas predominantemente rodoviário promove situações adversas prejudiciais à manutenção da segurança e qualidade dos produtos. Assim, um dispositivo informando variações de temperatura seria importante. Indicadores tempo-temperatura são definidos como dispositivos simples, de custo efetivo e útil utilizados como sistemas de embalagens inteligentes para monitorar, registrar e indicar qualquer alteração de temperatura a que produtos possam ter sido expostos desde a fabricação até o transporte e armazenamento (GIANNAKOUROU *et al.*, 2005; WANIHSUKSOMBAT; HONGTRAKUL; SUPPAKUL, 2010). Exemplos destes tipos de dispositivos podem ser encontrados em embalagens de carnes (VAIKOUSI; BILIADERIS; KOUTSOUMANIS, 2009; WANIHSUKSOMBAT; HONGTRAKUL; SUPPAKUL, 2010), peixes (GIANNAKOUROU *et al.*, 2005, NUIN *et al.*, 2008), sobremesas (NOPWINYUWONG; TREVANICH; SUPPAKUL, 2010), produtos alimentícios frescos (GALAGAN; SU, 2008), entre outros.

Alguns pigmentos naturais são termossensíveis, ou seja, alteram sua estrutura e cor quando expostos ao calor, podendo tornar-se componentes eficientes na elaboração de sistemas para embalagens inteligentes. Exemplos desses tipos de pigmentos são: antocianinas, betalaínas, carmim de cochonilha, clorofilas, curcumina, pigmento de *Monascus*, urucum. Todos estes são permitidos pela legislação brasileira conforme resolução nº 44 da Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA, 1977) para embalagens em contato direto com o alimento ou produto farmacêutico.

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um sistema indicador de variações de temperatura, biodegradável, obtido a partir de filmes de quitosana contendo pigmentos naturais termossensíveis como revestimento em papel cartão, com potencial de aplicação como material de embalagens inteligentes. A eficiência desse sistema foi avaliada pela alteração dos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* e propriedades mecânicas após exposição sob diferentes condições de temperatura e intensidade luminosa.

CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Quitosana

A quitosana é obtida por desacetilação da quitina, uma fibra natural abundante na natureza, sendo o principal componente estrutural do exoesqueleto de invertebrados (camarões, caranguejos, crustáceos e lagostas) e da parede celular de fungos (SHAHIDI; ARACHCHI; JEAN, 1999; KIM *et al.*, 2011). A quitina é constituída por uma sequência linear de açúcares monoméricos β -(1,4)-2-acetoamido-2-deoxi-D-glicose (N-acetilglucosamina) e glucosamina, cuja desacetilação resulta em um polímero com menor fração de acetilação denominado quitosana (Figura 1). Para diferenciar os dois polímeros, costuma-se definir como quitosana o polímero com F_A (fração molar de N-acetilglucosamina) abaixo de 0,4. Compreende-se que a quitina é um polímero pertencente a um grupo de GlcNAc (glucosamina acetilada), porém com F_A maior que o da quitosana (PETER, 2002). Uma das importâncias da quitosana é decorrente à capacidade de formar filmes ou coberturas (BÉGIN; CALSTEREN, 1999; SIMI; ABRAHAM, 2010; SOUZA *et al.*, 2010).

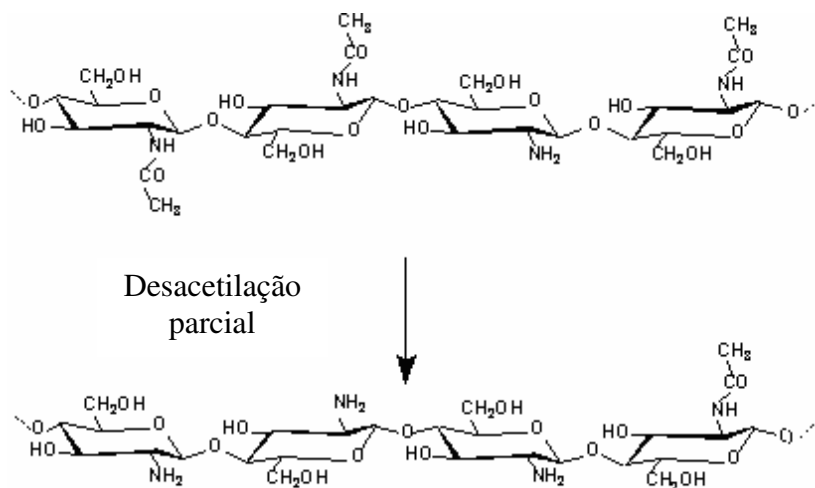


Figura 1. Reação de desacetilação da quitina, transformando-se em quitosana. (Adaptado de BATTISTI; CAMPANA-FILHO, 2008)

2.1.1 – Filmes de Quitosana

A quitosana forma filme biodegradável (MARSH; BUGUSU, 2007) quando diluída em solução aquosa ácida e posterior processo de secagem, podendo ser usada para revestimento de superfície (MUZZARELLI; VINCENZI, 1997). Filmes de quitosana são transparentes, flexíveis e com eficiente barreira ao oxigênio (YOSHIDA; BASTOS; FRANCO, 2010).

Os filmes de quitosana são caracterizados pela elasticidade, flexibilidade e elevada resistência, além de formar uma matriz coesa (ausência de poros ou falhas) e coloração levemente amarelada (BUTLER, 2006; YOSHIDA; OLIVEIRA-JUNIOR; FRANCO, 2009; SIRIPATRAWAN; HARTE, 2010; KIM *et al.*, 2011). Filmes de quitosana também são classificados como antimicrobianos (CHEN; YEH; CHIANG, 1996; QUINTAVALLA; VICINI, 2002; FAN *et al.*, 2009; DUTTA *et al.*, 2009), sendo embalagens ativas que protegem a superfície do produto, formando uma cobertura semipermeável que modifica a atmosfera interna decrescendo a taxa de respiração em produtos alimentícios. Em comparação com filmes poliméricos comerciais, o filme de quitosana apresenta uma eficiente barreira de permeação a gases (PINOTTI *et al.*, 2007).

2.2 – Embalagens Inteligentes

De maneira geral, as principais funções associadas às embalagens são: retardar a deterioração, estender a vida de prateleira e manter qualidade e segurança dos produtos embalados (ROBERTSON, 2006). Ou seja, são usada para proteger o produto contra efeitos deteriorativos do meio-ambiente externo (MARSH; BUGUSU, 2007) tais como calor, luz, presença/ausência de gases, pressão, enzimas, microorganismos, insetos, etc (RESTUCCIA *et al.*, 2010), comunicar o consumidor atuando como uma ferramenta de marketing, facilitar o uso e conveniência (YAM; TAKHISTOV; MILTZ, 2005). Ainda há outras funções associadas às embalagens como: conter, comunicar, ser conveniente e *marketing*. A contenção garante que o produto não será intencionalmente derramado ou disperso. A embalagem pode atuar como um meio de comunicação entre consumidor e fabricante, onde são necessárias

informações obrigatórias exigidas pela legislação tais como peso, ingredientes e valor nutricional. A conveniência está relacionada à facilidade no uso das embalagens (RESTUCCIA *et al.*, 2010).

Novas tecnologias para o setor de embalagens vêm sendo estudadas pelas indústrias e centros de pesquisas com o objetivo de obtenção de sistemas inteligentes, os quais possuem funções além das destacadas anteriormente (ROBERTSON, 2006).

Embalagem inteligente é um conceito que permite a comunicação de informações do produto, pela incorporação de sensores ou indicadores que produzem um sinal (elétrico, colorimétrico, etc.), como resposta a qualquer alteração das condições iniciais (KRUIJF *et al.*, 2002; KERRY; O'GRADY; HOGAN, 2006; BRODY *et al.*, 2008). De acordo com Brody, Strupinsky e Kline (2001), embalagens inteligentes são sistemas que detectam e comunicam aos consumidores efeitos adversos ocorridos durante transporte e armazenamento. Este tipo de sistema de acondicionamento possui uma capacidade lógica incluída como um sistema que monitora as condições para fornecer informações sobre os produtos durante o transporte e estocagem (CLARKE, 2001; RIJK, 2002; AHVENAINEN, 2003).

Dentro do conceito de embalagens inteligentes, há sistemas indicadores de temperaturas (NUIN *et al.*, 2008), tempo-temperatura (VAIKOUSI; BILIADERIS; KOUTSOUMANIS, 2009; WANIHSUKSOMBAT; HONGTRAKUL; SUPPAKUL, 2010), crescimento microbiano (SANTOS PIRES *et al.*, 2011; NOPWINYUWONG; TREVANICH; SUPPAKUL, 2010), integridade da embalagem, concentração de gás, danos físicos (HAN; HO; RODRIGUES, 2005) entre outros. Em cada um desses sistemas, o objetivo é fornecer informações sobre os diferentes produtos, tais como alimentos, bebidas, fármacos, entre outros.

2.2.1 – Indicadores de Temperatura

Indicadores informam a presença de alguma substância ou o grau de reação (enzimática, corrosão, polimerização e difusão química) entre duas ou mais substâncias por variações nas características, especialmente colorimétricas (KRUIJF *et al.*, 2002). Indicadores visuais são compostos que alteram a cor dependendo das características físico-químicas do fluido em questão

dispersos, em função de fatores como pH, potencial elétrico, complexação com íons metálicos e adsorção em sólidos (TAOUKIS; FU; LABUZA, 1991).

A temperatura é, geralmente, um dos fatores ambientais mais importantes que influencia as cinéticas de deterioração física e química, assim como as contagens de microrganismos em alimentos (WANIHSUKSOMBAT; HONGTRAKUL; SUPPAKUL, 2010).

Indicadores tempo-temperatura (TTI) podem ser normalmente encontrados como pequenas fitas adesivas, também conhecidas como *smart labels* incorporadas ou mesmo impressas nos materiais de embalagens possibilitando o controle da qualidade dos produtos (HENDRICKX *et al.*, 1995; GALAGAN; SU, 2008). Através desses indicadores pode-se obter o histórico de temperatura total ou parcial dos produtos, sendo o princípio de funcionamento baseado em alterações mecânicas, químicas, enzimáticas, microbiológicas irreversíveis, geralmente expressas como uma resposta visível, por exemplo, por meio de mudança da cor. A taxa de variação da cor é maior conforme exposição dos produtos à elevadas temperaturas. Este aumento está relacionado diretamente às reações de deterioração responsáveis pela perda de qualidade do produto (TAOUKIS, 2008). Alguns TTI consistem basicamente em fitas de papel fino, com dimensões de um selo postal, contendo tintas chamadas termocromáticas, ou seja, alteram sua cor quando expostas à variações de temperatura. Estas fitas atuam como indicadores visuais importantes, por informarem possíveis alterações ocorridas na temperatura durante a distribuição e estocagem de produtos farmacêuticos e alimentícios (HAN; HO; RODRIGUES, 2005). Também podem ser usadas como indicadores de frescor, estimando a vida de prateleira de produtos perecíveis (SINGH; WELLS, 2000).

As tecnologias TTI estão disponíveis atualmente e apresentam diferentes princípios de funcionamento, permitindo aplicação em diversos produtos. Giannakourou *et al.* (2005) aplicaram um TTI comercial (VITSAB, AB, Suécia) baseado na alteração de cor pela diminuição de pH através da hidrólise enzimática controlada de um substrato lipídico, para avaliar o frescor de peixes durante a cadeia do frio e encontraram que o sistema estudado avaliou eficientemente a qualidade do peixe do início ao final da comercialização, havendo variação da temperatura de 0 a 20°C, informando, assim, as reais condições do produto para o consumidor final. Yan *et al.*

(2008) estudaram um indicador a partir da reação entre amilase de *Bacillus subtilis* e solução de amido e iodo, variando a cor de azul escuro para amarelo, quando submetido à variação de temperatura de 4° a 37° C.

Tsironi *et al.* (2008) estudaram a eficácia de um indicador tempo-temperatura em embalagens de atum congelado por um sistema biológico que avaliou o crescimento de bactéria ácido láctica nos produtos, após armazenamento em diferentes temperaturas. Vaikousi, Biliaderis e Koutsoumanis (2009) desenvolveram um protótipo de TTI microbiológico baseado no crescimento e atividade metabólica de *Lactobacillus sakei*. À medida que o pH diminuía (devido ao crescimento e atividade metabólica do microrganismo), um indicador colorimétrico sintético, alterava sua cor, avaliando, assim, a qualidade de carnes embaladas em atmosfera modificada armazenadas a 0, 5, 10 e 15°C. Os autores concluíram que o sistema estudado foi uma ferramenta eficiente para avaliar a qualidade da carne. Nopwinyuwong, Trevanich e Suppakul (2010) avaliaram a qualidade microbiológica de sobremesas armazenadas a diferentes temperaturas, a partir da alteração de cor. Wanihsuksombat, Hongtrakul e Suppakul (2010) produziram um indicador tempo-temperatura baseado na quantidade de ácido láctico presente em produtos alimentícios quando expostos temperaturas de 4-45°C.

2.3 – Pigmentos Naturais como Indicador de Temperatura

Pigmentos naturais podem ser derivados de vegetais, animais e microrganismos apresentando as diferentes cores e propriedades funcionais (HASLER, 2000). O uso dos mesmos pelas indústrias vem aumentando gradativamente em relação aos corantes sintéticos, podendo ser justificado porque estes últimos estão gradativamente mais restritos em muitos países e devido à tendência mundial de consumo de produtos mais naturais. As indústrias, sobretudo a de alimentos e de fármacos, utilizam pigmentos, principalmente, para restituir a aparência original (afetada durante as etapas de processamento, de estocagem, de embalagem ou de distribuição), para tornar o alimento visualmente mais atraente (ajudando a identificar o aroma normalmente associado à determinados produtos), para conferir cor aos desprovidos de cor e para reforçar as cores presentes nos alimentos (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002; DUFOSSÉ, 2006).

Dentre os pigmentos naturais que mais se destacam para aplicação industrial estão as antocianinas, urucum, carmin de cochonilha, curcumina, betalaínas e clorofilas. Alguns pigmentos naturais apresentam uma característica que para grande parte das aplicações não é vantajosa, ou seja, são termossensíveis. Com esta propriedade, estes pigmentos alteram sua cor quando expostos a temperaturas fora de sua faixa de estabilidade (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002).

A estabilidade térmica dos pigmentos naturais está relacionada à sua composição e estrutura química. As condições de exposição tais como temperatura, luminosidade, pH, presença/ausência de oxigênio, atividade de água, dentre outros, também podem provocar alterações de cor destes pigmentos (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000).

2.3.1 – Clorofilas

A clorofila, quimicamente compreende uma família de substâncias semelhantes entre si, designadas de clorofila a, b, c e d. As clorofilas são porfirinas que apresentam estrutura tetrapirrólica cíclica disposta em um anel planar simétrico, no qual os quatro anéis pirrólicos são ligados por pontes metilênicas ($-C=$) e os quatro átomos de nitrogênio são coordenados com um átomo de magnésio no centro (Figura 2) (WISSGOTT; BORTLIK, 1996). As clorofilas ainda possuem um quinto anel isocíclico (ciclopentanona) e contém uma cadeia longa de fitil ($C_{20}H_{39}$), esterificada ao ácido propiônico, que lhe confere caráter hidrofóbico, sendo, portanto, insolúvel em água. A hidrólise do fitil resulta em derivados da clorofila denominados clorofilídeos e a concomitante remoção do íon Mg^{2+} resulta em feoforbídeos, ambos derivados hidrofílicos da clorofila (VOLP; RENHE; STRINGUETTA, 2009).

Um corante natural, obtido da clorofila e comercializado para aplicações em alimentos, produtos farmacêuticos e suplementos é chamado de clorofilina cúprica (GOLDBERG, 2001). Esta é obtida a partir de um tratamento ácido-alcálico e substituição do íon Mg^{2+} por Cu^{2+} na estrutura da clorofila, produzindo a clorofilina cúprica, a qual é solúvel em água. Com essas

alterações o composto obtido apresenta maior estabilidade à luz e temperatura (STREIT *et al.*, 2005; VOLP; RENHE; STRINGUETTA, 2009).

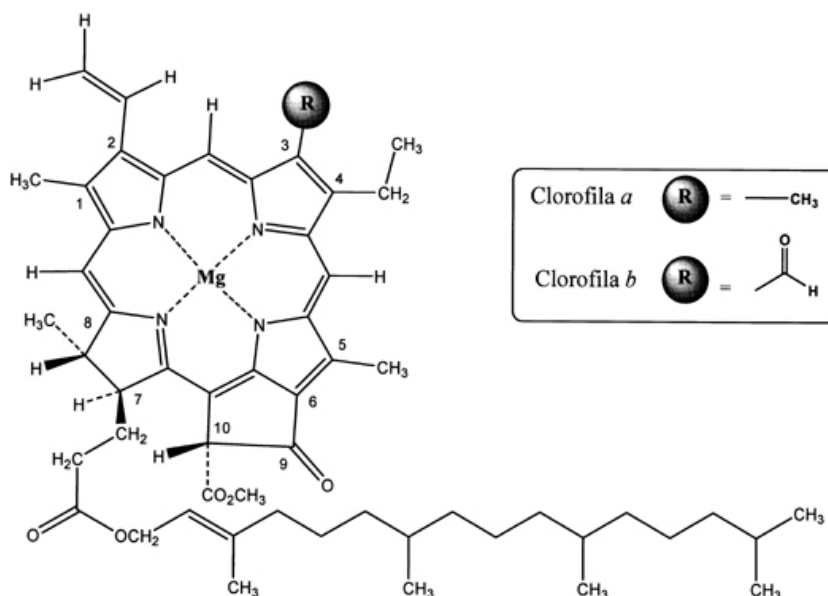


Figura 2. Estrutura química da clorofila (STREIT *et al.*, 2005).

Na Figura 3 apresenta-se um esquema das possíveis reações que podem ocorrer com a clorofila provocando alterações de cor (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

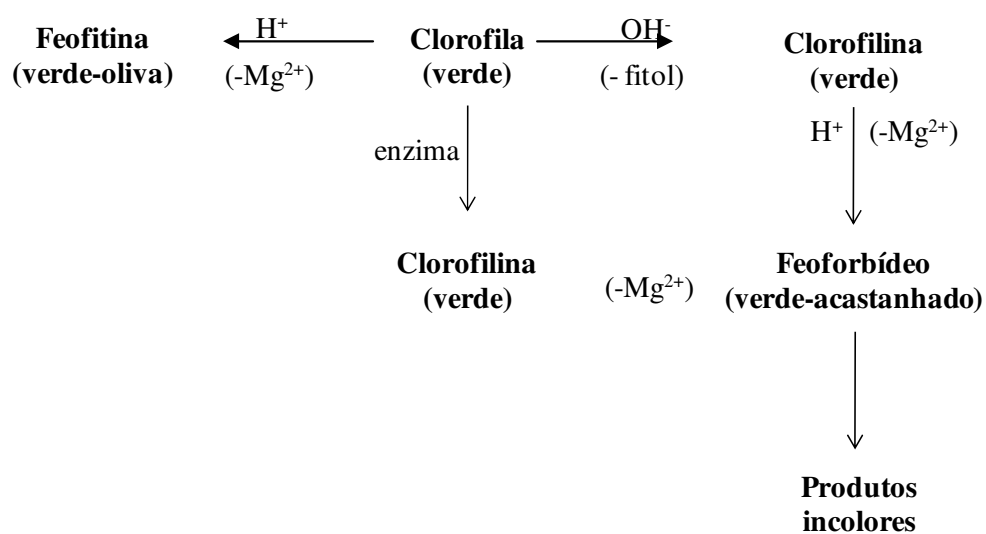


Figura 3. Reações de transformação da clorofila (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

2.3.1.1 – Fontes e Funções das Clorofilas

As clorofilas são os pigmentos verdes mais abundantes, presentes nas plantas e são localizadas nas folhas em pequenas organelas sub-celulares conhecidas como cloroplastos e em outros tecidos vegetais fotossintéticos (VOLP; RENHE; STRINGUETTA, 2009). Apresenta coloração verde oliva, sendo o único corante natural verde permitido pela legislação brasileira em alimentos e fármacos. As diferenças aparentes na cor dos vegetais são devido à presença e distribuição variável de outros pigmentos associados, como os carotenóides, os quais sempre acompanham as clorofilas (VON ELBE, 2000).

Nos vegetais, as clorofilas são os pigmentos responsáveis por converter a energia solar em energia química pelo processo conhecido como fotossíntese. Na presença de luz, carboidratos e outros compostos orgânicos são produzidos a partir de dióxido de carbono (CO₂) e água, com liberação de oxigênio molecular (GROSS, 1987). A fotossíntese é responsável por produzir virtualmente todo o O₂ da atmosfera e por fixar cerca de 10¹¹ toneladas de carbono a partir de CO₂ anualmente (BOWYER; LEEGOOD, 1997). Nos alimentos, a principal função das clorofilas é atuar como corante, restaurando ou intensificando a cor de produtos alimentícios (STREIT *et al.*, 2005).

2.3.1.2 – Estabilidade das Clorofilas

A termossensibilidade da clorofila é dependente do sistema em que se avaliam as alterações de cor do produto. A clorofila é sensível ao pH, enzimas, temperatura, luz e oxigênio, os quais influenciam na sua degradação de acordo com a atividade de água do meio. Desta forma, diversos autores afirmam não ser possível estabelecer uma faixa de temperatura que indique a estabilidade da clorofila (LAJOLO; TANNENBAUM; LABUZA, 1971; WEEMAES *et al.*, 1999; AHMED; SHIVHARE; DEBNATH, 2002; BOHN; WALCZYK, 2004). Em produtos naturais como sucos de frutas, doces, entre outros, a termossensibilidade da clorofila é inferior aos produtos que possuem clorofila adicionada durante o processo (STREIT *et al.*, 2005). Policarpo *et al.* (2007) observaram a oxidação de clorofilas a 33° e 43° C presentes em doces de massa de umbu armazenados por um período de 90 dias. Até 45 dias de armazenamento, a cinética da

perda de cor foi acelerada, tendendo ao esbranquiçamento do produto. Em períodos de tempo maiores que 45 dias, a velocidade de reação da perda de cor diminuiu consideravelmente. Xavier (1999) afirmou que as clorofilas são mais facilmente oxidadas em função da temperatura presença/ausência de luz. Streit *et al.* (2005) afirmaram que a clorofila apresentou-se mais estável ao calor quando exposta em pH básico (9,0) quando comparada em pH ácido (3,0).

Especificamente quanto à temperatura, a primeira alteração, quando a molécula de clorofila é exposta ao calor mediano (25-35°C) é a isomerização formada pela inversão do grupo carbometoxilo do carbono C-13², do anel isocíclico (SCHWARTZ; LORENZO, 1990). A degradação da clorofila durante o aquecimento é sequencial, onde a clorofila é transformada em feofitina e em seguida em pirofeofitina. Estudos têm demonstrado que a clorofila b é mais termoestável que a clorofila a (FENNEMA, 2000) e que temperaturas mais elevadas podem acelerar o processo de degradação das clorofilas (NETZ; ORTEGA, 2002). Quanto ao efeito da luminosidade, a fotodegradação da clorofila tem como resultado a oxidação e consequente abertura do anel tetrapirrólico e a sua fragmentação em compostos de peso molecular mais baixo, entre eles monorirróis, os quais são incolores e na sua maioria hidrofílicos (SUZUKI; TANABE; SHIOI, 1999).

2.3.2 – Antocianinas

As antocianinas (do grego *anthos*, flor e *kianos*, azul) são pigmentos vegetais de baixa toxicidade, responsáveis pela maioria das cores azul, roxa e tonalidades de vermelho encontradas em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas como ameixa, amora, batata roxa, berinjela, cereja, framboesa, jabolão, maçã, morangos, pêssego, rabanete, repolho roxo, sementes de cereais, tamarindo, uvas, vagem, etc (MARKAKIS, 1982). Fazem parte do grupo dos flavonóides, compostos fenólicos caracterizados pelo núcleo básico flavílio (cátion 2-fenilbenzopirílio) que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensados por um oxigênio. A molécula de antocianina (Figura 4) é constituída por duas ou três porções, uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, freqüentemente, um grupo de ácidos orgânicos (FRANCIS, 1989). Assim, as antocianinas diferem entre si pelo número de hidroxilas e pelo grau de metilação, natureza e número de açúcares e de ácidos ligados aos

açúcares (HARBORNE, 1993). As cores diferem dependendo do pH do meio, sendo utilizadas como indicadores naturais colorimétricos (TERCI; ROSSI, 2002). As antocianinas são caracterizadas pela solubilidade em água, estabilidade na faixa de pH entre 2 e 4 e altamente instáveis em temperaturas elevadas, acima de até 60°C (SHAHIDI; NACZK, 1995).

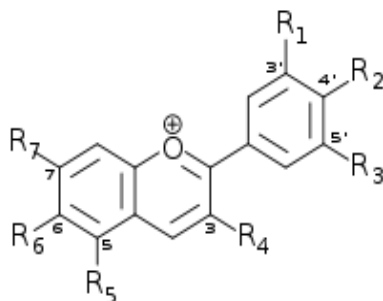


Figura 4. Estrutura química fundamental das antocianinas (FRANCIS, 1989).

As antocianinas, de acordo com Okumura, Soares e Cavalheiro (2002), são encontradas na natureza associadas a moléculas de açúcares; quando livres destes açúcares são denominadas antocianidinas (agliconas). As antocianidinas livres são raramente encontradas em plantas, ocorrendo comumente glicosiladas com açúcares que estabilizam a molécula (FRANCIS, 2000). A glicosilação pode ocorrer em várias posições, sendo observada com maior frequência na posição 3. O segundo açúcar quando presente na molécula encontra-se na posição 5, porém podem ocorrer glicosilações nas posições 7, 3', 4' e 5' (BROUILLARD, 1982) (Figura 4). Glicose, ramnose, xilose, galactose, arabinose e frutose são os açúcares mais comumente ligados às antocianidinas, ocorrendo como monoglicosídeos, diglicosídeos e triglicosídeos glicosilados diretamente na aglicona (FRANCIS, 1989). Os radicais R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ e R₇ são átomos de hidrogênio (H), hidroxilas (OH) e metoxilas (OCH₃) que podem estar ligados à molécula de antocianina promovendo entre outras características, as diferentes cores encontradas nestes pigmentos.

2.3.2.1 – Fontes e Funções das Antocianinas

Existem aproximadamente 400 tipos de antocianinas (KONG *et al.*, 2003) que encontram-se distribuídas em numerosas famílias de plantas (JACKMAN; SMITH, 1996). Na Tabela 1, encontram-se alguns exemplos de diferentes antocianinas e suas fontes.

Além de contribuir para a cor de flores e frutas, as antocianinas atuam como filtro das radiações ultravioletas nas folhas. Em certas espécies de plantas estão associadas com a resistência aos patógenos e atuam melhorando e regulando a fotossíntese (MAZZA; MINIATI, 1993). As antocianinas também apresentam propriedades farmacológicas, sendo utilizadas como antioxidantes (WANG *et al.*, 2000), antiinflamatórios (TALL *et al.*, 2004), anticarcinogênicos (HAGIWARA *et al.*, 2001), antivirais (KAPADIA *et al.*, 1997) e antibacterianos (BAYDAR; ÖZKAN; SAGDIC, 2004).

Tabela 1. Antocianinas comumente encontradas em alimentos e suas fontes.

Antocianinas	Fonte
Cianidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, cereja, jambolão, morango, amora, maçã, azeitona
Cianidina-3,5-diglicosídeo	Uva, vinho, cereja, figo, marmelo
Peonidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, cereja, jabuticaba
Malvidina-3-glicosídeo	Uva, vinho
Malvidina-3,5-diglicosídeo	Uva, vinho, feijão, inhame
Cianidina-3-galactosídeo	Maçã, cacau
Cianidina-3-p-cumarilsoforosídeo-5-glicosídeo	Repolho roxo
Pelargonidina-3-soforosídeo-5-glicosídeo	Rabanete
Pelargonidina-3-glicosídeo	Morango, tamarindo
Delfinidina-3,5-diglicosídeo	Berinjela, feijão, uva, romã
Delfinidina-3-cafeoilglicosídeo-5-glicosídeo	Berinjela
Petunidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, feijão, mirtilo, laranja

Fonte: Malacrida e Motta, 2006.

2.3.2.2 – Estabilidade das Antocianinas

A aplicação comercial das antocianinas é limitada devido à sua baixa estabilidade relacionada à estrutura química, concentração, composição do meio (pH, formas monoméricas/poliméricas, presença de flavonóides, ácido ascórbico, metais e radicais livres), e condições ambientais como temperatura, oxigênio e luz (ROSSO, 2006). Estes pigmentos são susceptíveis à degradação da cor durante o processamento e estocagem (TSAI *et al.*, 2002).

O grau de hidroxilação exerce importante efeito na estabilidade das antocianinas, sendo que aquelas que contêm maior número de grupos hidroxilas em sua estrutura são menos estáveis.

Inversamente, alto grau de metoxilação aumenta a estabilidade das antocianinas (FRANCIS, 1989). O aumento no número de hidroxilas fenólicas muda a coloração das antocianinas de rosa para azul, sendo que a presença de grupos metoxila no lugar de hidroxilas reverte a tendência anterior (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000).

O pH exerce profunda influência na cor das antocianinas, assim como na sua estabilidade. As antocianinas são mais estáveis em soluções ácidas do que em neutras e alcalinas (MARKAKIS, 1982). Em solução aquosa, segundo Brouillard e Dubois (1977) podem existir quatro formas estruturais de antocianinas em equilíbrio (Figura 5): o cátion flavílio (AH^+), a base quinoidal (A), a pseudobase ou carbinol (B) e a chalcona (C). Em condições ácidas (pH inferior a 2), a antocianina existe primariamente na forma de cátion flavílio (AH^+) de cor vermelha. Com o aumento do pH ocorre a rápida perda do próton para produzir as formas quinoidais (A), azuis ou violetas. Em paralelo ocorre a hidratação do cátion flavílio (AH^+), gerando a pseudobase incolor ou carbinol (B) que atinge o equilíbrio lentamente com a chalcona incolor (C). As quantidades relativas de cátion (AH^+), formas quinoidais (A), pseudobase (B) e chalcona (C) na condição de equilíbrio variam conforme o pH e a estrutura da antocianina (IACOBUCCI; SWEENY, 1983).

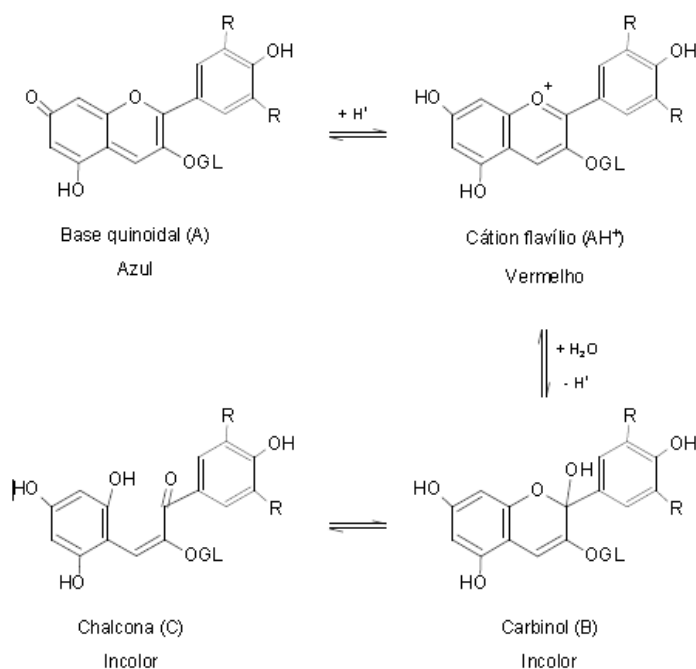


Figura 5. Formas estruturais de antocianinas em equilíbrio em solução aquosa (FRANCIS, 1989).

As antocianinas são rapidamente destruídas pelo aquecimento durante o processamento e estocagem de alimentos. Relativamente, pouco se sabe sobre o mecanismo de degradação térmica das antocianinas, mas a estrutura química e a presença de outros ácidos orgânicos exercem forte influência (PATRAS *et al.*, 2009). Adams (1973) mostrou que para valores de pH entre 2,0 e 4,0, o aquecimento das antocianinas provoca primeiramente a hidrólise da ligação glicosídica com posterior formação da chalcona. Além disso, existem evidências de que a hidrólise glicosídica das antocianinas seja a principal causa da perda de cor, uma vez que a velocidade da liberação do açúcar é proporcional à velocidade da perda da cor vermelha (PATRAS *et al.*, 2009).

As antocianinas são geralmente instáveis quando expostas à luz ultravioleta e visível, ou outras fontes de radiação ionizante. As antocianinas substituídas no grupo hidroxílico do C-5 são mais susceptíveis a decomposição fotoquímica do que as não substituídas nessa posição (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2003).

O efeito do oxigênio na degradação das antocianinas foi descoberto por pesquisadores que observaram que a mudança da cor roxa para marrom em sucos de uva engarrafados podia ser prevenida simplesmente enchendo-se completamente as garrafas, ou seja, eliminando o oxigênio do seu interior. O oxigênio pode causar degradação das antocianinas por mecanismos de oxidação direta ou indireta, quando constituintes oxidados do meio reagem com as antocianinas (JACKMAN; SMITH, 1996), causando a descoloração das antocianinas.

O anidrido sulfuroso e os sulfitos utilizados na conservação de alimentos a base de frutas produzem efeito descolorante sobre as antocianinas. Isto se deve a adição desses compostos nas posições 2 ou 4 com a formação de estruturas sulfônicas que são incolores. A reação é reversível, podendo a cor ser regenerada por acidificação ou aquecimento do produto. Entretanto, altas concentrações de sulfito, maiores que 10 g/kg, provocam destruição irreversível das antocianinas (ARAÚJO, 1995; DERGAL, 2006).

Diferentes íons metálicos polivalentes interagem com antocianinas que contêm hidroxilas na posição orto, produzindo alteração na cor do pigmento para azul (MARKAKIS, 1982). Os

metais atuam quelando as antocianinas numa estrutura quinoidal estável quando o pH se encontra na faixa de 3,0 a 6,0, valores comuns em sucos de frutas (STARR; FRANCIS, 1973).

As antocianinas também podem ser degradadas por enzimas endógenas presentes nos tecidos das plantas, tais como glicosidases, polifenoloxidasas e peroxidases. As glicosidases, também denominadas antocianases, hidrolisam as ligações glicosídicas com a liberação do açúcar e da aglicona. Essa última é instável e degrada-se espontaneamente formando a chalcona, composto que é incolor. As polifenoloxidasas atuam pelo mecanismo de oxidação, usando como substratos *o*-dihidroxifenóis. As *o*-quinonas resultantes podem reagir entre si ou com outros compostos, inclusive antocianinas, e formar polímeros escuros. As fenolases podem reagir diretamente com as antocianinas embora a reação seja mais favorecida quando outros fenólicos (que são melhores substratos para essas enzimas) estão presentes (FRANCIS, 1989).

2.4 – Revestimento de Papel Cartão com Filmes de Quitosana

O papel é formado por fibras celulósicas que se entrelaçam umas com as outras por meio de pontes de hidrogênio, garantindo a sua resistência e influenciando nas propriedades físicas e químicas (KONDO *et al.*, 2008). A principal matéria-prima para a obtenção industrial dessas fibras é a madeira, proveniente do tronco das árvores. Além das fibras da madeira, também podem ser utilizadas as fibras de bambu, bagaço de cana, algodão, linho e sisal.

A madeira é formada por vários tipos de células, sendo suas paredes constituídas essencialmente, por celulose. A celulose é um polissacarídeo formado pela ligação de milhares de monômeros de glicose. As células da madeira são unidas por uma substância chamada lignina, que atua dando-lhe rigidez e resistência (MARSH; BUGUSU, 2007).

Papel e papelão são aplicados de diversas maneiras tais como livros, jornais, revistas, fotografias, dinheiro, impressões em geral, embalagens de alimentos, fármacos, produtos agrícolas, entre outros. Estatisticamente, mais de 50% de toda a produção de papel e papelão é destinada para aplicações em embalagens (KIRWAN, 2005). Assim, a utilização de papel e papelão pelas indústrias é crescente, o que de certa forma reflete suas preocupações com o meio

ambiente. Essa preocupação relacionada a um aumento na consciência ambiental do consumidor vem fazendo com que as indústrias busquem gradativamente a substituição de embalagens sintéticas por materiais recicláveis e biodegradáveis. Diferentes materiais recicláveis vêm sendo estudados, mas poucos estão sendo comercializados. As embalagens recicláveis mais utilizadas são as obtidas a partir da celulose, incluindo papelão, papel e cartões (GÄLLSTED; HENDENQVIST, 2006).

As primeiras informações sobre a utilização do papel como material de embalagem foram encontradas no início do século XVII e se intensificou na segunda metade do século XIX (MARSH; BUGUSU, 2007). Devido ao grande desenvolvimento no processo de fabricação do papel, além do aumento da demanda e produção de diferentes matérias-primas de celulose, atualmente são encontradas embalagens de papel nos mais diferentes produtos como cereais, pães, cafés, chás, produtos congelados, leites e bebidas, chocolates, *fast foods*, produtos frescos, cosméticos, perfumes, fármacos, entre outros (KIRWAN, 2005).

De acordo com Santos *et al.* (2001), os diferentes tipos de papel existentes estão relacionados às características da fibra, onde, resumidamente, devido ao tipo(s), quantidades, forma de processamento e tratamento das fibras usadas, serão originados diferentes tipos de papel: papéis para impressão (acetinado, *couché*, bíblia, *bouffant*, imprensa, jornal, monolúcido, *offset*); papéis para escrever; papéis para embalagem; papéis para fins sanitários (higiênico, toalha, guardanapo, lenço); cartões e cartolinas; papéis especiais (base para carbono, cigarros e afins, crespado, para desenho, heliográfico, absorventes e filtrantes) e, também, papéis não classificados (*Kraft* especial para cabos elétricos, fios telefônicos e condensadores).

As embalagens de papel apresentam características muito importantes e custo-benefício que facilita sua aplicação em diferentes áreas. Estas embalagens podem ser facilmente imprimíveis, conter vernizes para melhorarem suas características e estar em conjunto com outros materiais formando embalagens laminadas como as embalagens longa vida. Uma de suas maiores vantagens é poder estar em contato direto com muitos alimentos, no entanto, embalagens contendo apenas papel são permeáveis ao vapor de água, soluções aquosas e emulsões, solventes orgânicos, substâncias gordurosas, gases como oxigênio, dióxido de carbono e nitrogênio, aromas

e vapores voláteis. Mas, para que as embalagens de papel possam ser eficientes quanto à proteção, melhores propriedades mecânicas, barreira à absorção de água, dentre outros, elas necessitam de revestimentos com diferentes tipos de adesivos, a grande maioria sintéticos (KIRWAN, 2005).

Diversas pesquisas estão sendo desenvolvidas para avaliar a aplicação de filmes de quitosana na superfície ou mesmo durante o processo de fabricação do papel. Estas pesquisas têm como objetivos melhorar as propriedades físico-mecânicas e de barreira, e diminuir a quantidade de aditivos químicos em embalagens e sistemas de embalagens à base de papel. Ham-Pichavant *et al.* (2005) pesquisando o uso de quitosana como revestimento em folhas de papel *Kraft*, encontraram boa barreira a gordura. Ao adicionar alginato à uma suspensão de quitosana, o sistema formado melhorou esta barreira e diminuiu os custos de fabricação do processo quando comparado ao uso de resinas fluoretadas. Kuusipalo *et al.* (2005) estudando os efeitos de filmes de quitosana aplicados como revestimento em folhas de papel (90 g/m^2), encontraram ligeira melhora das propriedades mecânicas e redução da absorção de água. Também constataram boa adesão da quitosana à celulose. Chi *et al.* (2007) investigaram a adição de um derivado de quitosana para a retenção e drenagem de peróxido de hidrogênio durante o branqueamento na fabricação do papel *Kraft* observando um aumento da retenção do peróxido com a adição da quitosana. Bordenave *et al.* (2007) avaliaram sistemas de embalagens de papel com diferentes gramaturas (40 g/m^2 e 320 g/m^2) contendo quitosana como revestimento e observaram que a quitosana quando aplicada como revestimento promoveu melhora das propriedades de barreira a gases, mas não o suficiente para aplicação em embalagens de alimentos. Para os testes de absorção de água, o revestimento de quitosana não proporcionou melhora significativa. Andersson (2008) fez uma revisão sobre diferentes polímeros biodegradáveis avaliando quais as vantagens quando aplicados como revestimentos em papelão e concluiu que são necessários mais estudos no desenvolvimento de novas tecnologias, como, por exemplo, a aplicação de revestimento em multicamadas, para tornar viável economicamente a melhora das propriedades mecânicas e de barreira. Fernandes *et al.* (2009) avaliaram a adição de diferentes camadas de quitosana em folhas de papel convencional formando um revestimento homogêneo, uniforme e que a partir da terceira camada de quitosana, não houve melhora da qualidade do papel, mas apenas um aumento da espessura do mesmo. Ma *et al.* (2010) avaliaram a adição de nano

partículas de quitosana em dois sistemas: na polpa e no revestimento em folhas de papel antibacteriano. À medida que aumentaram a concentração de quitosana (1, 2, 5 e 10 mg/mL), observaram um aumento da atividade antibacteriana do papel nos dois sistemas avaliados, sendo maior no sistema de revestimento em folhas de papel. Fernandes *et al.* (2010) estudaram o comportamento de quitosana e de um derivado seu solúvel em água após revestimentos em sucessivas camadas sobre papel *Kraft* branqueado e observaram que as propriedades óticas e de impressão melhoraram significativamente proporcionalmente com a quantidade de camadas de quitosana depositadas sobre a superfície do papel. Bordenave, Grelier e Coma (2010) avaliaram a atividade antimicrobiana da quitosana e de um composto formado por quitosana e ácido palmítico quando revestidos em papel (40 g/m² e 320 g/m²) e observaram elevada inibição de *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes* nos dois sistemas estudados. Reis *et al.* (2011) aplicaram diferentes revestimentos de quitosana contendo ou não ácido palmítico ou esteárico em folhas de papel *Kraft* e observaram uma redução de até 35% na absorção de água do papel.

Outras macromoléculas também estão sendo estudadas como revestimento em papel como amido de mandioca (MATSUI *et al.*, 2004; LAROTONDA *et al.*, 2005), soro de leite (HAN; KROCHTA, 2001; HAN *et al.*, 2010), amido de batata (JONHED; ANDERSSON; JÄRNSTRÖM, 2008; ASHORI *et al.*, 2008), proteína de trigo (GASTALDI *et al.*, 2007; GUILLAUME *et al.*, 2010).

CAPÍTULO 3 – OBJETIVOS

3.1 – Objetivo Geral

Estudar a formação, caracterização e estabilidade de filmes de quitosana incorporados com pigmentos naturais, e sua aplicação como revestimento em papel cartão para monitorar variações de temperatura e seu potencial como material de embalagem inteligente.

3.2 – Objetivos Específicos

- Selecionar pigmentos naturais termossensíveis para atuarem como indicadores colorimétricos de temperatura compatíveis às formulações de filmes.
- Determinar a melhor formulação de filmes inteligentes de quitosana contendo indicadores de temperatura.
- Estudar a estabilidade de cor e propriedades mecânicas dos filmes inteligentes como resposta às variações de temperatura e intensidade luminosa.
- Obtenção de papel cartão revestido com filmes de quitosana contendo cada um dos pigmentos.
- Avaliação da eficiência da resposta de cor no sistema filme papel cartão.
- Avaliação sensorial visual do sistema filme papel cartão que obteve maior alteração de cor.

CAPÍTULO 4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Materiais

Quitosana (Primex, grau de acetilação 18% e massa molecular $2,38 \times 10^5$ g/mol, Islândia), ácido acético (Synth, Brasil), antocianina (Christian Hansen, AC-12r-WSP, Brasil), clorofila (Christian Hansen, C-10000-WS-P, Brasil) e folhas de papel cartão triplex TP 250 (250 g/m², Suzano Papel e Celulose Ltd., Brasil).

4.2 – Métodos

4.2.1 – Calibração da Intensidade de Luz e Temperatura

Intensidade de Luz

As condições de intensidade luminosa utilizadas neste projeto foram obtidas por uma lâmpada fria com diferentes potências (10 ou 20 W) necessária para obter 500 Lux ou 1000 Lux, respectivamente, acoplada dentro de uma incubadora BOD (Tecnal, Brasil) com dimensões internas: 0,33 x 0,50 x 1,13 m (Figura 6). A região A em destaque, representa o local onde a intensidade de luz requerida foi atingida.



Figura 6. Esquema ilustrativo do equipamento utilizado para determinar a intensidade de luz na incubadora.

A avaliação da intensidade de luz na área interna (A) da incubadora foi efetuada para garantir constante luminosidade nas condições estabelecidas. As medidas da intensidade de luz foram feitas em cinco pontos da área A, utilizando-se luxímetro digital Minipa, modelo MLM-1010 (Minipa, São Paulo) (Figura 7). A leitura foi feita após 60 segundos de estabilização. O resultado representa a média das análises realizadas em triplicata.

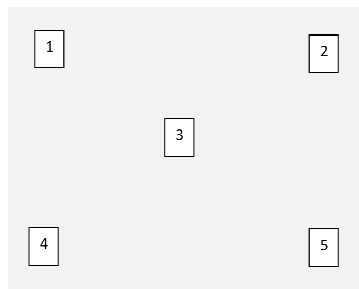


Figura 7. Pontos na planta inferior da incubadora onde foram realizados os testes para determinação da intensidade de luz.

Temperatura

A estabilidade da temperatura (10°, 30° e 50°C) dentro do equipamento foi avaliada utilizando um termômetro digital, colocado nas mesmas posições acima descritas, fazendo as leituras após 3 minutos. O resultado apresentado foi a partir da média das análises realizadas em triplicata.

4.2.2 – Obtenção dos Filmes de Quitosana Contendo Pigmento Natural

A metodologia de produção dos filmes de quitosana contendo pigmento natural foi adaptada de Yoshida, Oliveira-Junior e Franco (2009). Os filmes foram produzidos por via úmida, solubilizando 2,0% (m/m) de quitosana em solução ácida contendo o indicador colorimétrico aquoso (antocianina ou clorofila). A escolha da concentração do pigmento foi definida em testes preliminares descritos no item 4.2.3. Ácido acético foi adicionado estequiometricamente, de acordo com o grau de acetilação e massa da quitosana, para promover a protonação dos grupos NH_2 , sem adição em excesso (NOTIN *et al.*, 2006). A suspensão foi

mantida sob agitação contínua, em agitador magnético, por 45 minutos, até solubilização total. Em seguida, 9 mL da suspensão foram dispersos em suporte plano (placas de Petri), sendo a espessura dos filmes mantida constante controlando-se a relação massa/área (g/m^2) aplicada no suporte plano. A fase seguinte correspondeu à secagem dos filmes, realizada em duas etapas: secagem à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) por 36 horas e posteriormente em incubadora com circulação forçada de ar a $28 \pm 0,3^\circ\text{C}$ por 24 horas. A secagem foi realizada em duas etapas visando manter a primeira lenta e gradativa, garantindo a formação de uma matriz uniforme e homogênea, e a segunda com aumento na velocidade de evaporação do solvente. Filmes de quitosana sem pigmento natural foram estudados como controle.

4.2.3 – Concentração de Pigmento nos Filmes de Quitosana

Testes preliminares foram realizados para determinação da concentração de clorofila (CLO) e antocianina (ATH) na obtenção de filmes de quitosana contendo pigmento natural. A concentração de quitosana foi fixada em 2,0% (m/m) de suspensão filmogênica e para os pigmentos foram avaliadas as concentrações de 0,15, 0,25, 0,50 e 1,00% (m/m).

4.2.3.1 – Eficiência da Resposta de Cor para Concentração do Pigmento

Os filmes foram expostos à intensidade luminosa (IL) excessiva (2225 Lux) e temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e os parâmetros de cor foram analisados periodicamente nos tempos 0, 24, 48, 72 e 96 horas. A escolha da concentração de pigmento a ser incorporada nos filmes de quitosana foi baseada na maior variação dos parâmetros de cor: luminosidade L^* (preto-branco), a^* (vermelho-verde) e b^* (amarelo-azul) medidos em colorímetro digital Chroma Meter CR 400 (Konica Minolta – Japão), previamente calibrado em placa branca. A variação dos parâmetros de cor foi calculada pela *Equação 1*.

$$\Delta_{Cor} = \text{Parâmetro}_{inicial} - \text{Parâmetro}_{final} \quad \text{Eq. 1}$$

A Figura 8 apresenta o esquema utilizado para realizar os testes de cor para determinação da concentração de pigmento. O sistema foi composto por uma lâmpada fluorescente branca, com 20 W de potência, disposta a uma distância de 15 cm dos filmes.

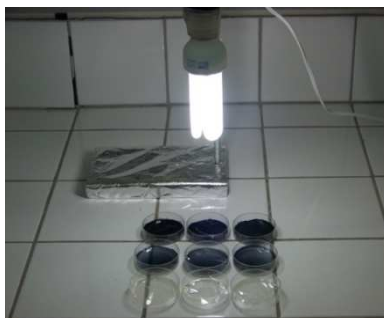


Figura 8. Esquema utilizado para avaliar a alteração de cor dos pigmentos nos filmes inteligentes de quitosana.

4.2.4 – Planejamento Experimental – Estudo do Efeito da Temperatura e Intensidade Luminosa (IL)

A partir de uma concentração fixa de pigmento adicionada à formulação dos filmes de quitosana, o efeito da temperatura e intensidade luminosa foi estudado em função do tempo de armazenamento. Um planejamento experimental fatorial de dois níveis foi utilizado para estudar os efeitos individuais e combinados das variáveis independentes (temperatura e intensidade luminosa) (BOX; HUNTER; HUNTER, 1978). A execução do planejamento consistiu em realizar ensaios em todas as possíveis combinações destes níveis e registrar as respostas observadas. A concentração de oxigênio foi mantida constante como quantidade presente no ar ambiente. A matriz do planejamento experimental está apresentada na Tabela 2.

A matriz representa um planejamento experimental fatorial de 2 níveis e 2 variáveis independentes (temperatura e intensidade luminosa), possibilitando a avaliação de ajuste do modelo matemático. A matriz consta de 7 ensaios, onde 4 correspondem ao planejamento fatorial e 3 são repetições no ponto central.

Tabela 2. Matriz do planejamento experimental fatorial de duas variáveis empregada para determinar as variações ocorridas nos filmes inteligentes de quitosana.

Ensaio	T (°C)	IL (Lux)
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

As variáveis decodificadas do planejamento experimental utilizadas estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Faixa de valores utilizados no planejamento fatorial de duas variáveis.

Variáveis	-1	0	+1
Temperatura (°C)	10	30	50
IL (Lux)	0	500	1000

A faixa escolhida de IL foi baseada na condição de ausência de luz (0 Lux); em valores padronizados de iluminação geral para área de trabalho (500 Lux); simulação da exposição em supermercado (1000 Lux), baseada nos padrões da norma NBR 5413 (ABNT, 1992). A temperatura foi controlada utilizando incubadora BOD (Tecnal, Brasil) com circulação forçada de ar. Amostras foram retiradas periodicamente, nos tempos 0, 12, 24, 48 e 72 horas. As respostas analisadas foram os parâmetros de cor e as propriedades mecânicas dos filmes.

Tempo Estabelecido para Avaliação das Respostas de Cor e Propriedades Mecânicas

Para avaliar os efeitos das variáveis temperatura e intensidade luminosa do planejamento experimental, os resultados do tempo final do experimento (72 h) foram utilizados.

4.2.5 – Avaliação da Alteração de Cor do Pigmento

A partir dos resultados obtidos para os tempos 0, 12, 24, 48 e 72 horas, foi construído gráfico representando as alterações de cor dos filmes de quitosana contendo o pigmento, utilizando-se os parâmetros de cor L^* , a^* , b^* .

4.2.6 – Efeitos da Temperatura e Intensidade Luminosa: Planejamento Experimental Para os Filmes de Quitosana Contendo CLO (F-CLO) e Para os Filmes de Quitosana Contendo ATH (F-ATH)

4.2.6.1 – Parâmetros de Cor

Os parâmetros de cor L^* (preto-branco), a^* (vermelho-verde) e b^* (amarelo-azul) foram determinados utilizando-se colorímetro digital Chroma Meter CR 400 (Konica Minolta – Japão), calibrado com placa branca. O resultado obtido foi a média dos testes realizados em triplicata. De acordo com Wyszecki e Stiles (2000), Choubert e Baccaunaud (2006) e Gonçalves *et al.* (2009) os parâmetros de cor a^* e b^* não devem ser analisados de forma independente para efeitos de planejamento experimental, devido à relação de interação que há entre eles. Os valores obtidos de a^* e b^* foram transformados em h_{ab} , conforme a *Equação 2* (MCLELLAN; LIND; KIME, 1995).

$$h_{ab} = \tan^{-1} \left\{ \frac{b^*}{a^*} \right\} \quad Eq. 2$$

Os valores de h_{ab} indicam a tonalidade da cor formada entre os parâmetros (eixos) a^* e b^* , (Figura 9).

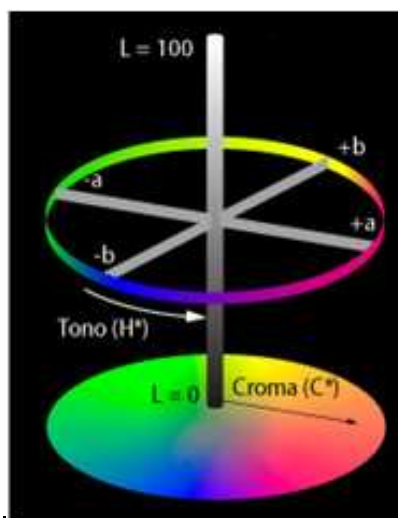


Figura 9. Sistema de coordenadas dos parâmetros de cor pelos padrões L^* , a^* , b^* e L^* , C^* , H^* (h_{ab}) (WESTLAND, 2001).

4.2.6.2 – Propriedades Mecânicas

A espessura média dos filmes foi determinada a partir de 5 medidas aleatórias utilizando um micrômetro Modelo MDC-25M (Mitutoyo, Japão). As propriedades mecânicas foram avaliadas pelo teste de tração de acordo com o método ASTM D882 (ASTM, 1995) utilizando-se texturômetro TA.XT2 (TA Instruments, Inglaterra), fixando a distância inicial de separação em 50 mm e a velocidade de realização do teste em 1,0 mm/s (YOSHIDA; OLIVEIRA-JUNIOR; FRANCO, 2009). A tensão na ruptura (T_r), o alongamento na ruptura ou deformação (ϵ) e o módulo de rigidez ou módulo de Young (E) foram calculados. Para a realização destes testes, dezoito filmes foram pré-acondicionados à temperatura ambiente em dessecador com umidade relativa controlada de 50% (solução saturada de Nitrato de Magnésio – $MgNO_3$) por 48 horas.

4.2.7 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Para os Filmes

A microestrutura dos filmes de quitosana contendo ou não o pigmento natural foi avaliada por análise de microscopia eletrônica de varredura, utilizando-se microscópio Leica (Inglaterra) modelo LEO440i. Os filmes foram pré-acondicionados em dessecador contendo sílica gel durante sete dias e posteriormente congelados em nitrogênio líquido por 60 segundos. Em seguida, foi

efetuada a fratura criogênica dos filmes em dimensões de aproximadamente 1 cm² e fixados em suportes (*stubs*) de alumínio para a metalização em ouro. A metalização foi realizada em equipamento VG Microtech (Inglaterra) modelo SC7620 *sputter coater* durante 180 segundos a 4 mA (YOSHIDA; BASTOS; FRANCO, 2010). As imagens foram analisadas na superfície e seção transversal dos filmes. O aumento para todas as imagens foi de até 3000 vezes.

4.2.8 – Sistema Filme-Papel Cartão (FP)

Folhas de papel cartão (0,211 x 0,298 m) foram revestidas com filmes de quitosana contendo CLO ou ATH (Tabela 4), usando barra para revestimento de 80 µm (TKB Erichsen, Brasil). Diferentes concentrações de quitosana e pigmento foram utilizados. O sistema FP foi seco em estufa adaptada, modelo 315 SE (Fanem, Brasil), à temperatura de 150°C durante 90 segundos.

Tabela 4. Concentrações de quitosana e pigmento das suspensões aplicadas como revestimento em superfícies de papel cartão.

Testes	Quitosana (%)	Pigmento (%)	Sólidos Totais (g/m ²)
1	2,0	0,25	0,081
2	2,0	0,50	0,090
3	4,0	0,50	0,162

4.2.9 – Propriedades do Sistema FP

4.2.9.1 – Avaliação da Cor

A alteração de cor do sistema FP contendo CLO (FP-CLO) foi avaliada após 72 horas de exposição a diferentes temperaturas (25, 50, 60 e 75°C) e IL (0 e 1000 Lux) utilizando-se colorímetro digital Chroma Meter CR 400 (Konica Minolta – Japão). Para o sistema FP contendo ATH (FP-ATH), a alteração de cor foi obtida a partir dos resultados dos parâmetros de cor (L*, a*, b*) utilizando-se colorímetro digital Chroma Meter CR 400 (Konica Minolta – Japão), nos tempos 0, 24, 48 e 72 horas, em incubadora BOD (Tecnal, Brasil) com temperatura variando de 10 a 70°C e IL (0 e 1000 Lux).

4.2.9.2 – Análise Sensorial

A avaliação sensorial do sistema FP-ATH foi realizada em local fresco e arejado, com temperatura controlada em $23 \pm 1^\circ\text{C}$ e iluminação branca adequada para este tipo de análise.

O sistema filme-papel cartão foi avaliado sensorialmente quanto à alteração de cor aplicando-se teste triangular, com 54 provadores não treinados. O teste triangular detecta pequenas diferenças entre amostras. Três amostras codificadas foram apresentadas simultaneamente, sendo duas iguais e uma diferente. As fichas foram entregues aos provadores, para indicarem a amostra que julgavam diferente. O modelo de questionário utilizado para a aplicação do teste triangular está representado na Figura 10.

Campinas, ____ de setembro de 2010.		
Nome: _____.		
Você está recebendo três amostras de papel colorido. Avalie as amostras da esquerda para a direita. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Identifique com um círculo a amostra diferente.		
397	528	730
Comentários: _____		

Figura 10. Modelo de questionário aplicado no teste triangular (Adaptado de ABNT, NBR 12995, 1993).

A interpretação dos resultados foi baseada no número total de julgamentos versus o número de julgamentos corretos, onde, de acordo com a NBR 12995 (ABNT, 1993), foi

estabelecido se houve diferença significativa entre as amostras para o nível de probabilidade desejado. No caso desse trabalho, os resultados foram avaliados com nível de probabilidade igual a 0,5%.

4.2.9.3 – Absorção de água – Teste Cobb

O papel cartão com e sem revestimento de suspensões de quitosana contendo ATH ou CLO foram cortados em dimensões de 125,0 x 125,0 mm com molde (Regmed, Brasil), pré-acondicionados em dessecador a 50% de umidade relativa e $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas. A capacidade de absorção de água foi determinada de acordo com o método ASTM D3285 (ASTM, 1999). O ganho de peso foi medido em balança analítica (AND modelo HR-200, Japão) e os resultados expressos em g/m^2 . Este teste foi realizado com quinze amostras, utilizando-se a média como resultado final, calculados da *Equação 3*:

$$Abs = (m_f - m_i) \times 100 \quad Eq. 3$$

Onde:

Abs = absorção de água (g/m^2)

m_f = massa final da amostra

m_i = massa inicial da amostra

4.2.9.4 – Rigidez Taber

A rigidez Taber foi determinada de acordo com o método ASTM D5342 (ASTM, 2002). Papel cartão sem e com revestimento de suspensões de quitosana foram cortados em dimensões de 38,1 x 70,0 mm nas direções transversal e longitudinal, usando guilhotina (Regmed, Brasil). As amostras foram pré-acondicionadas em dessecador a 50% de umidade relativa e 25°C por 48 horas. A rigidez foi medida em ângulo de 15° usando equipamento de rigidez Taber (RI modelo 5000, Regmed, Brasil), sendo os resultados expressos em mNm. Este teste foi realizado com quinze amostras, utilizando-se a média como resultado final.

4.2.9.5 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Para os Sistemas FP-ATH e FP-CLO

A microestrutura dos sistemas FP-CLO e FP-ATH foi avaliada por análise de microscopia eletrônica de varredura, utilizando-se microscópio Leica (Inglaterra) modelo LEO440i. As amostras foram previamente acondicionadas por 48 horas à 25°C em dessecador contendo sílica gel para posteriormente serem fixadas em suportes (*stubs*) de alumínio para a metalização em ouro. A metalização foi realizada em equipamento VG Microtech (Inglaterra) modelo SC7620 *sputter coater* durante 180 segundos a 4 mA. As imagens foram analisadas na superfície e seção lateral dos sistemas. O aumento para todas as imagens foi de até 3000 vezes.

4.2.9.6 – Teste de Estabilidade do Sistema FP-ATH

Teste de estabilidade para avaliação da alteração de cor do sistema FP-ATH foi realizado durante aproximadamente quatro meses (108 dias). Os parâmetros de cor L*, a*, b* foram medidos utilizando colorímetro digital Chroma Meter CR 400 (Konica Minolta – Japão).

4.3 – Análise Estatística

Os efeitos das duas variáveis (temperatura e IL) utilizadas no planejamento experimental foram estudados utilizando nível de significância $p \leq 0,1$. Análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey foram utilizados para avaliar a diferença entre as médias, com nível de significância $p \leq 0,05$. O programa empregado foi o Statistica versão 7.0 (Statistica, EUA).

CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – Calibração da Intensidade de Luz e Temperatura

O equipamento utilizado como sistema de intensidade de luz e temperatura foi adaptado a partir de uma incubadora com circulação forçada. Para garantir que o sistema representasse as condições pré-definidas no estudo, uma avaliação foi realizada para tornar o sistema mais exato e eficiente possível. A intensidade de luz foi avaliada para as condições de 500 Lux e 1000 Lux (Tabela 5).

Tabela 5. Análise estatística da intensidade de luz obtida em incubadora com circulação forçada de ar para as condições de 500 Lux e 1000 Lux.

Região	Intensidade de Luz	
	500 Lux	1000 Lux
1	491,67 ± 5,51 ^a	988,33 ± 9,07 ^a
2	489,67 ± 8,50 ^a	988,67 ± 8,08 ^a
3	519,00 ± 7,55 ^b	1019,33 ± 3,79 ^{bc}
4	490,33 ± 5,69 ^a	1003,33 ± 4,16 ^{ab}
5	493,67 ± 6,66 ^a	1022,33 ± 6,43 ^c
Média	496,87 ± 2,80 ^a	1004,40 ± 3,29 ^{ab}

a, b, c – diferenças significativas entre as médias na mesma coluna ($p < 0,05$) calculadas pelo Teste de Tukey através do software Statistic versão 7.0

A análise demonstrou que para a condição de 500 Lux apenas o ponto 3 (ponto central da Figura 7) apresentava diferença estatística significativa em relação aos demais pontos. Isto pode estar relacionado ao fato da lâmpada utilizada estar localizada na região central superior da incubadora. Como a luz é propagada através de ondas, a região do ponto 3 é a que recebe maior intensidade de luz.

Para a condição de 1000 Lux foram encontrados valores com diferenças estatísticas significativas entre algumas regiões estudadas. Apesar da diferença observada ($p \geq 0,05\%$), quando se trata de intensidade luminosa a 500 Lux e 100 Lux, os valores obtidos foram aceitos, considerando que a diferença entre os valores mínimos (988,3 Lux) e máximos (1022,3 Lux) foi de 3,44%.

A avaliação da temperatura foi realizada nas condições de 10°C, 30°C e 50°C (Tabela 6).

Tabela 6. Análise estatística da temperatura obtida em estufa com circulação forçada de ar para as condições de 10°, 30° e 50°C.

Região	Temperatura		
	10°C	30°C	50°C
1	10,07 ± 0,06 ^a	29,93 ± 0,06 ^a	49,97 ± 0,12 ^a
2	9,93 ± 0,06 ^a	29,90 ± 0,00 ^a	49,97 ± 0,06 ^a
3	10,03 ± 0,06 ^a	30,03 ± 0,06 ^a	49,93 ± 0,06 ^a
4	10,00 ± 0,10 ^a	29,93 ± 0,06 ^a	50,03 ± 0,06 ^a
5	9,97 ± 0,06 ^a	30,03 ± 0,06 ^a	50,00 ± 0,10 ^a
Média	10,00 ± 0,05 ^a	29,97 ± 0,03 ^a	49,98 ± 0,03 ^a

a – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Independente da temperatura empregada não houve diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) entre os pontos estudados, indicando uniformidade da temperatura na região avaliada.

As condições de intensidade de luz e temperatura foram consideradas constantes nas diferentes posições dentro do sistema adaptado, apesar de encontradas pequenas variações estatísticas na intensidade de luz.

5.2 – Obtenção dos Filmes de Quitosana Contendo Pigmento Natural

Os filmes de quitosana contendo os pigmentos naturais caracterizaram-se pela homogeneidade, flexibilidade, transparência, fácil manuseabilidade. F-CLO apresentaram coloração verde e F-ATH cor violeta/roxo, diferentemente das amostras contendo somente quitosana que obtiveram coloração levemente amarelada.

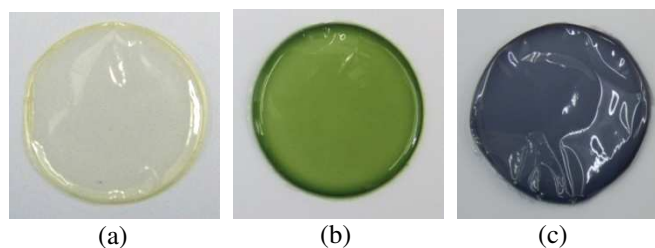


Figura 11. Filmes de quitosana: (a) Ausência de pigmento natural; (b) Com clorofila e (c) Com antocianina.

Após as etapas de secagem, os filmes foram facilmente retirados das placas. O período total de secagem foi de 60 horas (duas etapas), garantindo uma secagem lenta para melhor formação da matriz tridimensional com a incorporação dos pigmentos. Testes realizados acelerando esta etapa resultaram em filmes não homogêneos e quebradiços, associado à formação da matriz ao acaso. Outro ponto negativo observado foi que a falta de uniformidade dos filmes altera diretamente a manuseabilidade e propriedades mecânicas.

5.3 – Filmes de Quitosana contendo Antocianina (F-ATH)

5.3.1 –Concentração de ATH nos Filmes de Quitosana

Foram avaliados os filmes de quitosana contendo quatro concentrações de ATH quanto à alteração dos parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) durante exposição à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e intensidade luminosa excessiva (2225 Lux). As Figuras 12, 13 e 14 apresentam as variações encontradas nos parâmetros L^* , a^* , b^* , respectivamente, em função do tempo de exposição (0, 24, 48, 72 e 96 horas). O mesmo ensaio foi realizado para os filmes contendo somente quitosana (controle), visando verificar a influência da matriz na variação de cor. As tabelas com os resultados numéricos e análise estatística para os parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , estão apresentadas no Anexo I.1, item I.1 deste trabalho.

O parâmetro L^* , que informa a luminosidade da amostra, ou seja, quanto ela se tornou mais clara ou escura (Figura 12), não apresentou alteração estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) nos filmes controle, 0,15%, 0,25% e 1,00% de ATH, indicando que este parâmetro não

influenciou na alteração de cor durante o período avaliado. Apenas os filmes contendo 0,50% de ATH apresentaram diferença estatística significativa a partir de 48 horas de exposição. Os valores numéricos bem como as análises estatísticas para este parâmetro podem ser consultados no Anexo I, item I.1 deste trabalho.

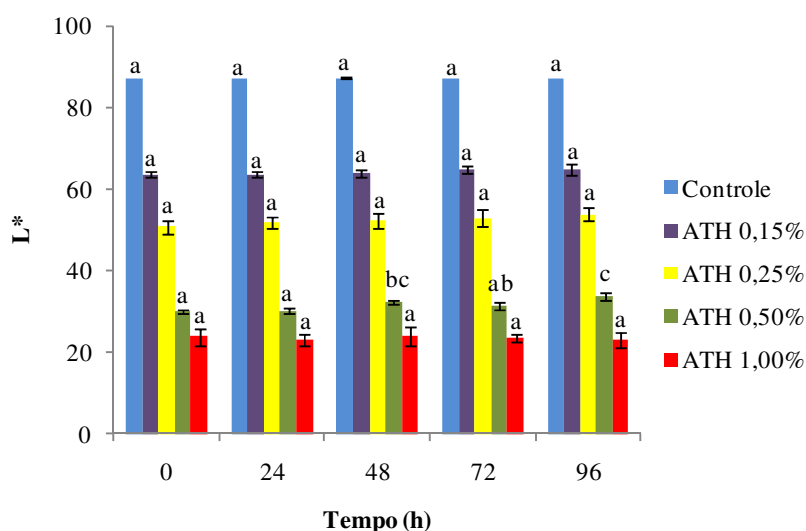


Figura 12. Valores do parâmetro L^* medidos nos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de ATH em função do tempo de exposição à 2225 Lux e $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

a, b, c – barras de mesma cor com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

A Figura 13 apresenta as alterações ocorridas no parâmetro a^* dos filmes F-ATH expostos durante 96 horas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e 2225 Lux. Os valores numéricos e as análises estatísticas deste parâmetro podem ser consultados no Anexo I, item I.1 deste trabalho.

Nas concentrações de ATH estudadas (0,15%, 0,25% e 0,50%) o parâmetro a^* apresentou variações significativas, com maior alteração de cor para a formulação de 0,25% de ATH. No entanto, esta alteração não foi observada visualmente. Não foi observada alteração significativa ($p \leq 0,05$) nos filmes contendo 1,00% de ATH, durante o período de avaliação (96 h).

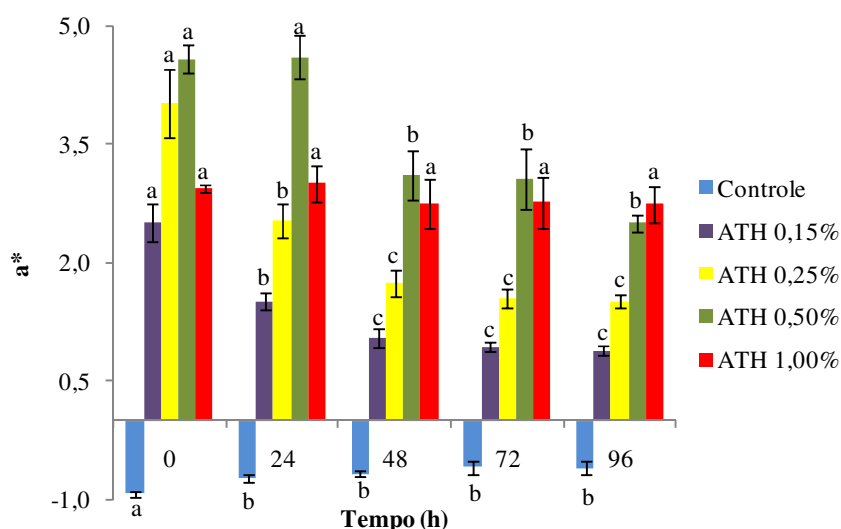


Figura 13. Valores do parâmetro a^* medidos nos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de ATH em função do tempo de exposição à 2225 Lux e $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

a, b, c – barras de mesma cor com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

A Figura 14 apresenta os valores obtidos para o parâmetro b^* dos filmes F-ATH expostos durante 96 horas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e intensidade luminosa de 2225 Lux. Os valores numéricos e as análises estatísticas do parâmetro b^* podem ser consultados no Anexo I, item I.1 deste trabalho.

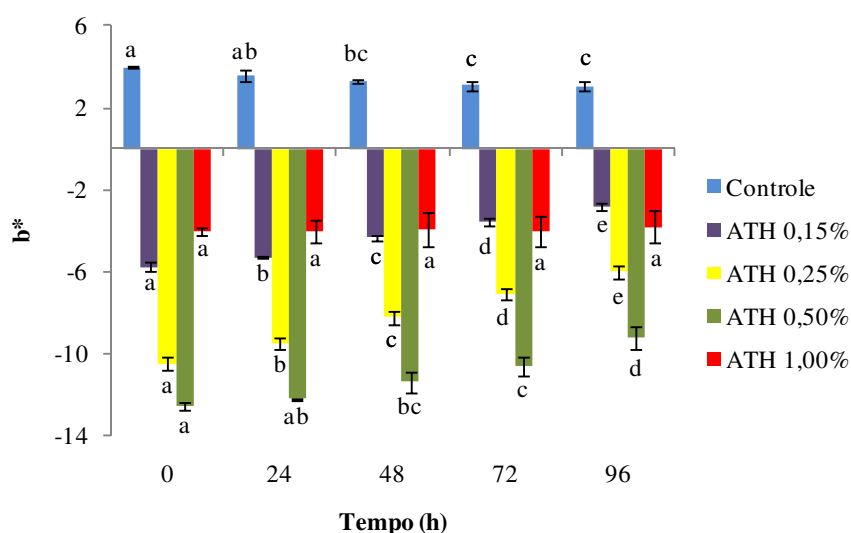


Figura 14. Valores do parâmetro b^* medidos nos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de ATH em função do tempo de exposição à 2225 Lux e $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

a, b, c, d, e – barras de mesma cor com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Não foram observadas alterações significativas ($p \leq 0,05$) no parâmetro b^* , que indica alterações de cor em uma escala azul-amarelo, para os filmes contendo 1,00% de ATH. Nos filmes contendo 1,00% de ATH, a coloração violeta é intensa, e possivelmente as condições de IL e temperatura não foram suficientes para alterar sua cor, permanecendo estatisticamente constante no período estudado. Nas demais concentrações de ATH estudadas (0,15%, 0,25% e 0,50%) e filmes controle, ocorreram alterações significativas no parâmetro b^* , sendo mais perceptível e de maior intensidade nos filmes contendo 0,25% de ATH.

A concentração de ATH escolhida para as demais análises foi de 0,25% (m/m), para uma concentração de quitosana de 2,00% (m/m), baseado nas maiores alterações dos parâmetros de cor avaliados durante 96 horas.

5.3.2 – Avaliação da Alteração de Cor dos Filmes F-ATH

A alteração de cor dos filmes F-ATH foi realizada com o objetivo de estudar o comportamento dos mesmos durante todo o período de avaliação (72 horas). Esta análise foi realizada seguindo as mesmas condições do planejamento experimental.

A curva de alteração de cor dos filmes F-ATH foi construída em função do tempo de exposição (0, 12, 24, 48 e 72 horas) após exposição em diferentes temperaturas e IL (Tabela 7). A cada tempo, foram realizadas as análises dos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* .

Tabela 7. Condições de temperatura e IL utilizadas na avaliação da cor dos filmes F-ATH.

Condições	Temperatura (°C)	IL (Lux)
1	10	0
2	50	0
3	10	1000
4	50	1000
5	30	500

Os resultados numéricos bem como as análises estatísticas para os parâmetros de cor L^* , a^* , b^* podem ser observados nas tabelas apresentadas no Anexo I, item I.2 deste trabalho.

5.3.2.1 – Parâmetro L^*

O parâmetro L^* caracteriza-se por avaliar a luminosidade de uma amostra em uma escala de 0 a 100 (preto a branco). Na Figura 15 pode-se verificar o efeito do tempo de acondicionamento na alteração do parâmetro de cor L^* dos filmes F-ATH. Após 72 horas de exposição, o parâmetro L^* dos filmes F-ATH manteve-se similar em relação ao início (tempo zero) na mesma condição de temperatura e IL.

Não foram observadas alterações significativas nos valores de L^* dos filmes F-ATH em nenhuma das condições estudadas. A IL também não promoveu efeito significativo sobre este parâmetro. As pequenas variações obtidas entre os ensaios podem ser atribuídas às amostras serem escolhidas aleatoriamente em diferentes processos de revestimento.

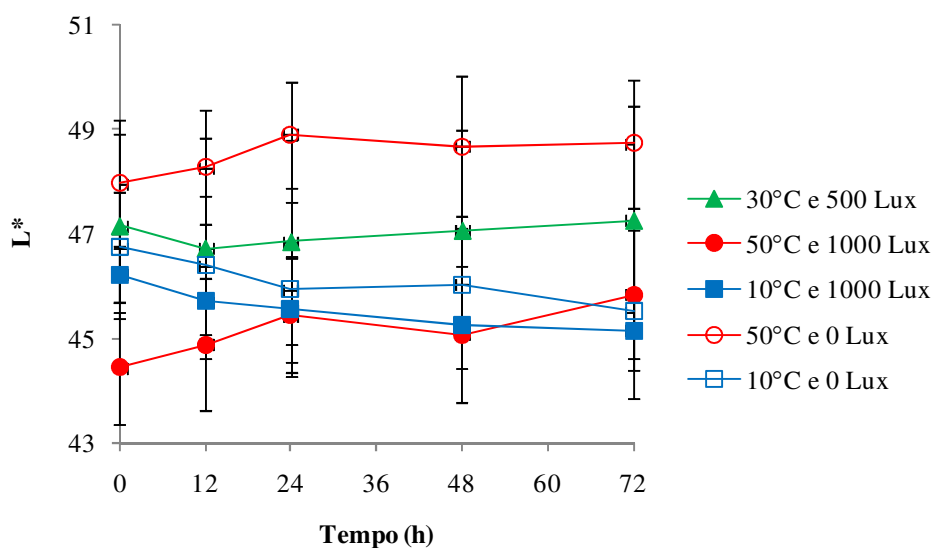


Figura 15. Alteração do parâmetro de cor L^* nos filmes F-ATH, durante 72 horas de exposição em diferentes condições de temperatura e IL.

Não houve alteração significativa do parâmetro de cor L^* para uma mesma condição de temperatura e IL durante o período de avaliação (72 h), indicando que este parâmetro não influenciou na alteração de cor dos filmes F-ATH.

5.3.2.2 – Parâmetro a^*

O comportamento do parâmetro a^* durante o período de 72 horas de exposição a diferentes condições de temperatura e IL é demonstrado na Figura 16. A alteração de cor foi significativa para o parâmetro a^* .

A exposição dos filmes a 50°C apresentaram comportamentos opostos em função da IL, principalmente nas primeiras 24 horas, onde os filmes expostos à luz (1000 Lux) aumentaram os valores de a^* em 56,4%, enquanto os submetidos na ausência de luz (0 Lux) tiveram o parâmetro a^* minimizado em 47,5%, indicando que a IL é uma variável significativa para a alteração deste parâmetro de cor. Em 10°C, dependendo da IL (0 ou 1000 Lux), a tendência foi diferente, observando uma diminuição nos valores de a^* em 69,7%, somente quando expostos a 0 Lux.

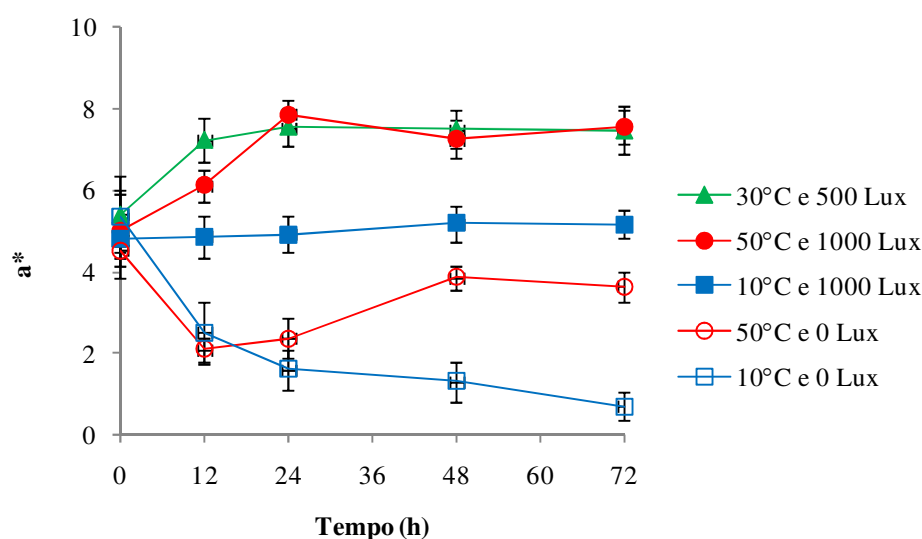


Figura 16. Alteração do parâmetro de cor a^* nos filmes F-ATH, durante 72 horas de exposição em diferentes condições de temperatura e IL.

Outro fator a ser destacado foi que o aumento da temperatura de 10°C para 50°C, mantendo a IL em 0 ou 1000 Lux, os filmes F-ATH tenderam a coloração vermelha. Um aumento na IL de 0 para 1000 Lux independente da temperatura provocou alteração de cor nos filmes F-ATH, tendendo a coloração vermelha. Na condição intermediária de 30°C/500 Lux, os filmes apresentaram aumento nos valores de a^* . Janna, Khairul e Maziah (2007) estudando a

estabilidade de antocianina em diferentes temperaturas, encontraram que o pigmento é mais estável quando submetido em temperatura de até 25°C. Porém, a 31°C, observaram que a degradação do pigmento foi 7-20% maior se comparada com a degradação do pigmento a 25°C.

Apesar da alteração de cor ter sido estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$) para o parâmetro a^* , não foi possível verificar variação visualmente. Pela Figura 17, observa-se que nos filmes F-ATH submetidos a 10°C/1000 Lux, foi difícil constatar alteração visual de cor.

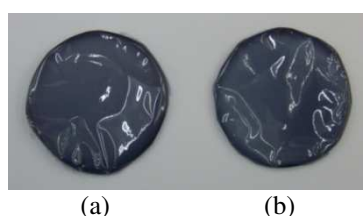


Figura 17. Cor dos filmes F-ATH: (a) início do processo (0 h); (b) após 72 horas de exposição à 10°C/1000 Lux.

Uma pequena diferença visual de cor foi observada nos filmes de quitosana contendo ATH (Figuras 18 e 19). A cor inicialmente roxa converteu-se em coloração mais escura, tendendo ao preto. Resultados semelhantes de alteração de cor foram encontrados por Patras *et al.* (2009), estudando os efeitos de altas pressões e temperaturas na cor de antocianinas obtidas de morangos. Para estes autores, em temperatura acima de 70°C, constatou-se o chamado *redness* – perda significativa da coloração vermelha intensa natural das antocianinas.



Figura 18. Cor dos filmes F-ATH: (a) início do processo (0 h); (b) após 72 horas de exposição à 50°C/0 Lux.



Figura 19. Cor dos filmes F-ATH: (a) início do processo (0 h); (b) após 72 horas de exposição à 50°C/1000 Lux.

5.3.2.3 – Parâmetro b^*

Este parâmetro é caracterizado por avaliar a alteração de cor em uma escala de azul (-60) ao amarelo (+60). A Figura 20 apresenta o comportamento do parâmetro de cor b^* durante o período de 72 horas de exposição em diferentes condições de temperatura e IL. Os valores numéricos e as análises estatísticas deste parâmetro podem ser consultados no Anexo I, item I.2 deste trabalho.

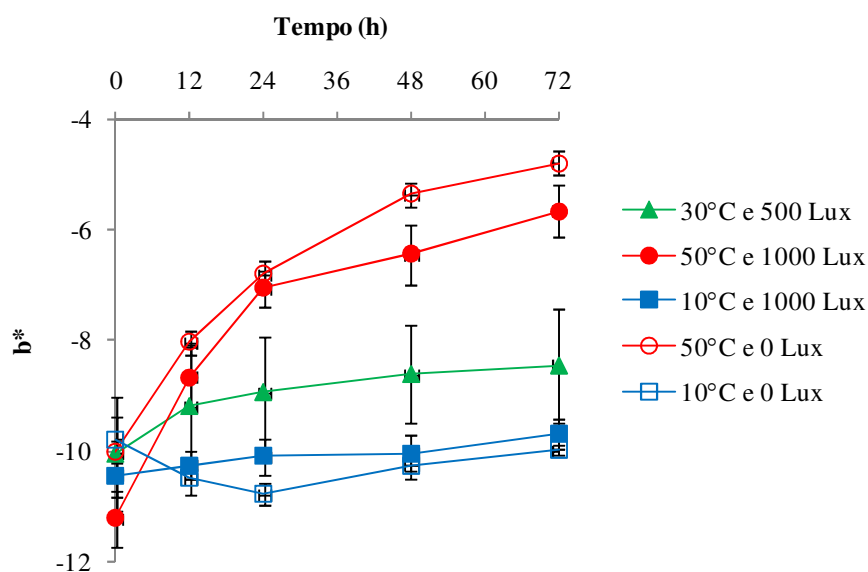


Figura 20. Alteração do parâmetro de cor b^* nos filmes F-ATH, durante 72 horas de exposição a diferentes condições de temperatura e IL.

O aumento na temperatura de 10° para 50°C, independente da IL provocou alterações significativas no parâmetro de cor b^* dos filmes F-ATH. Quanto maior a temperatura de

exposição, maior a variação deste parâmetro, ou seja, os filmes perdem a coloração azulada. Após exposição a 10°C independente da IL, os filmes F-ATH apresentaram coloração similar, indicando que para o parâmetro b^* , a IL não alterou significativamente a cor dos filmes de quitosana contendo ATH.

Shaked-Sachray *et al.* (2002) e Bolivar e Cisveros-Zevallos (2004) estudando a degradação na cor das antocianinas afirmaram que temperaturas elevadas provocam maior degradação e alteração de cor nestes pigmentos. Alterações significativas nos valores de b^* foram encontradas por Alighourchi e Barzegar (2009), onde estudando a estabilidade da cor de antocianinas em suco de romã pasteurizado e armazenado a 4°C, 20°C e 37°C durante 210 dias, encontraram que durante a estocagem e conforme o aumento da temperatura, os valores de L^* , a^* e b^* diminuíram, sendo mais significativa a alteração de cor nos parâmetros L^* e b^* dos sucos armazenados a 20°C e 37°C. Essa alteração foi atribuída à degradação das antocianinas ou a polimerização das mesmas quando submetidas a temperaturas elevadas.

Kirca, Özkan e Cemeroglu (2006) estudaram a estabilidade da antocianina obtida de cenoura roxa adicionadas em sucos (maçã, laranja, uva, tangerina e limão) e néctares (damasco, pêssgo e abacaxi), durante aquecimento a 70-90°C e estocagem a 4-37°C. Os resultados demonstraram grande efeito da temperatura de estocagem na estabilidade das antocianinas em todos os sucos e néctares, ocorrendo degradação muito mais rápida durante estocagem a 37°C. As antocianinas apresentaram menor estabilidade durante aquecimento e estocagem no suco de laranja. Com relação ao aquecimento, as antocianinas nos sucos de maçã e uva e nos néctares de damasco e pêssgo revelaram maior estabilidade a 70 e 80°C.

As alterações de cor encontradas nos filmes F-ATH pode estar associada ao fato das antocianinas serem influenciadas por fatores como temperatura, luminosidade, estrutura química e concentração de antocianina presente, oxigênio, pH, açúcares, presença de enzimas, proteínas e íons metálicos (PATRAS *et al.*, 2010; REIN, 2005; RHIM, 2002; MAZZA; MINIATI, 1993), produzindo polímeros de degradação que diminuem a estabilidade do pigmento.

5.3.3 – Efeitos da Temperatura e Intensidade Luminosa: Planejamento Experimental Filmes F-ATH

O objetivo dessa etapa foi verificar os efeitos da temperatura e IL na variação de cor dos filmes F-ATH, após 72 horas de exposição. O tempo de 72 horas foi adotado para as análises por ser observado em testes preliminares, onde a condição de IL foi excessiva (2225 Lux) para os filmes F-ATH, valores constantes dessa medida em tempos superiores.

5.3.3.1 – Parâmetros de Cor e Propriedades Mecânicas

As respostas obtidas para os parâmetros de cor L^* e h_{ab} e propriedades mecânicas [deformação (ϵ), tensão na ruptura (Tr) e módulo de rigidez (E)] para os filmes F-ATH nas diferentes condições propostas pelo planejamento experimental estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8. Parâmetros de cor e propriedades mecânicas dos filmes F-ATH após exposição às condições do planejamento experimental.

Ensaio	Variáveis Independentes		Respostas				
	Temperatura (°C)	IL (Lux)	L^*	h_{ab} (°)	ϵ (%)	Tr (MPa)	E (GPa)
1	-1 (10)	-1 (0)	45,52	274,13	3,21	60,71	3,12
2	+1 (50)	-1 (0)	48,73	307,29	2,91	66,51	3,15
3	-1 (10)	+1 (1000)	45,16	298,08	3,61	60,62	2,50
4	+1 (50)	+1 (1000)	45,85	323,19	3,38	50,04	2,71
5	0 (30)	0 (500)	45,77	312,29	2,56	67,64	3,14
6	0 (30)	0 (500)	45,70	311,45	2,53	67,67	3,14
7	0 (30)	0 (500)	46,09	312,01	2,56	67,63	3,14

Os efeitos que as variáveis temperatura, IL e a interação entre as duas exerceram sobre o parâmetro de luminosidade L^* nos filmes F-ATH, estão apresentados na Figura 21.

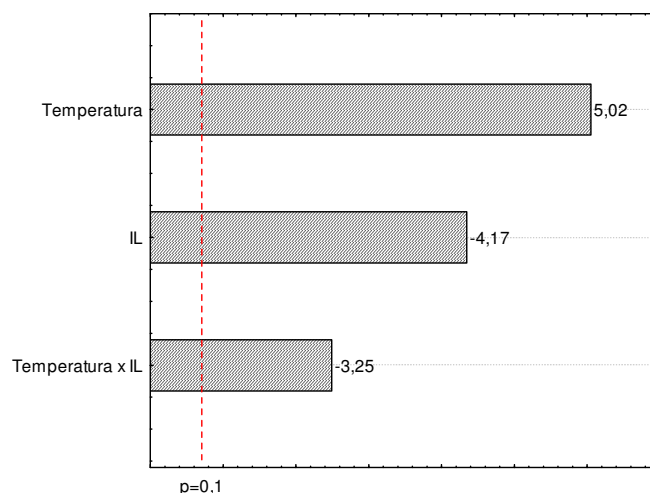


Figura 21. Efeitos das variáveis temperatura e IL no parâmetro L* dos filmes F-ATH.

Para um nível de confiança de 90% ($p \leq 0,1$) foi observado que a temperatura, IL e a interação entre as duas apresentaram efeito significativo sobre o parâmetro L*, possibilitando a construção do modelo matemático, apresentado na *Equação 4*.

$$L^* = 46,1 + 0,97 * Temp - 0,81 * IL - 0,63 * Temp * IL \quad \text{Eq. 4}$$

Onde: Temp = temperatura e IL = intensidade luminosa.

O aumento da temperatura de 10° para 50°C provocou o escurecimento do F-ATH na ordem de 5,02. A IL provocou o efeito contrário, ou seja, um aumento de 0 Lux para 1000 Lux promoveu uma descoloração dos filmes F-ATH, tornando-os mais claros, em média, na ordem de 4,14. A interação entre as duas variáveis (temperatura e IL) reduziu o valor de L* na ordem de 3,2.

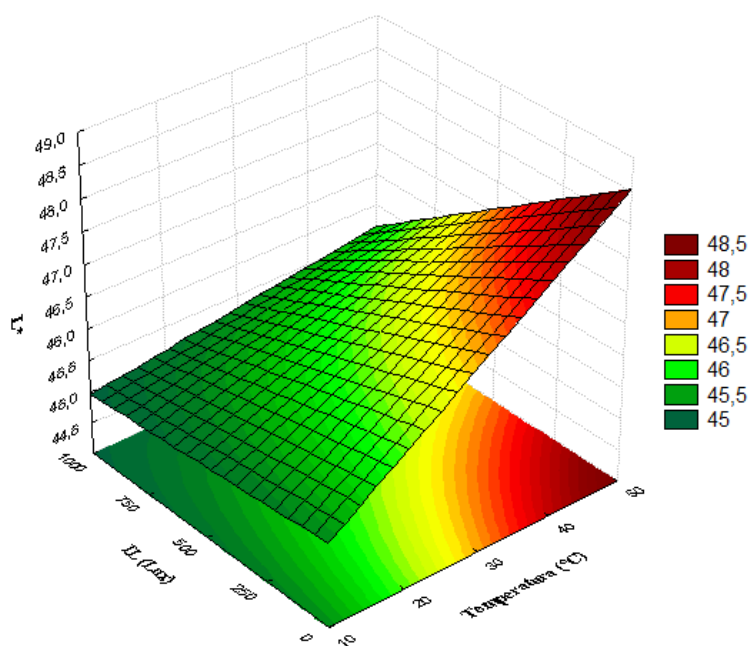
A análise de variância (ANOVA) para o parâmetro de luminosidade L* dos filmes F-ATH apresentada na Tabela 9, obteve-se R^2 de 0,946, valor considerado ótimo para este processo. O modelo matemático obtido foi significativo e preditivo, visto que o F calculado (F_{cal}) de 17,7 foi maior que o F tabelado (F_{tab}) de 5,39, podendo gerar a superfície (Figura 22).

Tabela 9. ANOVA para o parâmetro de luminosidade L^* dos filmes F-ATH.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{cal}
Regressão	8,0145	3	2,6715	17,7
Resíduos	0,4518	3	0,1506	
Total	8,4663	6		

% variação explicada (R^2) = 94,6; $F_{3; 3; 0,1} = 5,39$

Em temperaturas elevadas (50°C) e IL menores (0 Lux), maiores valores de L^* foram obtidos, ou seja, filmes F-ATH mais claros. Esta alteração de cor é positiva para o sistema de embalagem proposto, visto que a eficiência desse sistema está diretamente relacionada às alterações de cor.

**Figura 22.** Superfície de resposta para o parâmetro L^* dos filmes F-ATH em função da temperatura e IL.

A variável que apresentou efeito significativo sobre a resposta h_{ab} foi a temperatura, indicando que o aumento da temperatura (10°C para 50°C) e da IL (0 para 1000 Lux), aumentaram os valores de h_{ab} na ordem de 3,40 e 2,32, respectivamente, alterando a coloração dos filmes F-ATH (Figura 23).

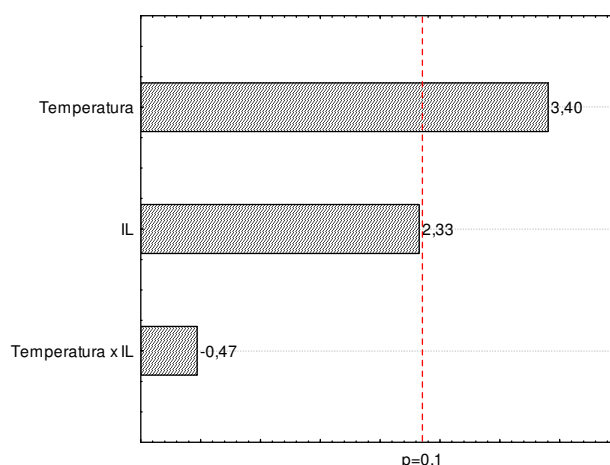


Figura 23. Efeitos das variáveis temperatura e IL no parâmetro de cor h_{ab} dos filmes F-ATH.

De acordo com a Tabela 10, o R^2 obtido para esta resposta foi de 0,85. Como o F_{cal} (5,74) foi maior que o F_{tab} (5,39), foi possível construir a superfície (Figura 24).

Tabela 10. ANOVA para o parâmetro de cor h_{ab} dos filmes F-ATH.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{cal}
Regressão	1262,054	3	420,68	5,74
Resíduos	219,859	3	73,28	
Total	1481,913	6		

% variação explicada (R^2) = 85,0; $F_{3; 3; 0,1} = 5,39$

Os maiores valores de h_{ab} foram obtidos nos filmes F-ATH expostos a 50°C e 1000 Lux, ou seja, após 72 horas nestas condições a coloração dos filmes tendeu ao vermelho. Esta alteração de cor foi positiva para o sistema de embalagem inteligente proposto, visto que qualquer alteração de cor observada, melhora na eficiência do dispositivo.

Para as respostas ε e Tr , as variáveis temperatura e IL não influenciaram significativamente ($p \leq 0,1$) dentro da faixa estudada. Segundo Rodrigues e Iema (2005) quando nenhuma das variáveis é significativa, não é necessário gerar a tabela ANOVA. A significância de cada uma das variáveis pode ser analisada nas Figuras 1 e 2 do Anexo I (item I.3) deste trabalho.

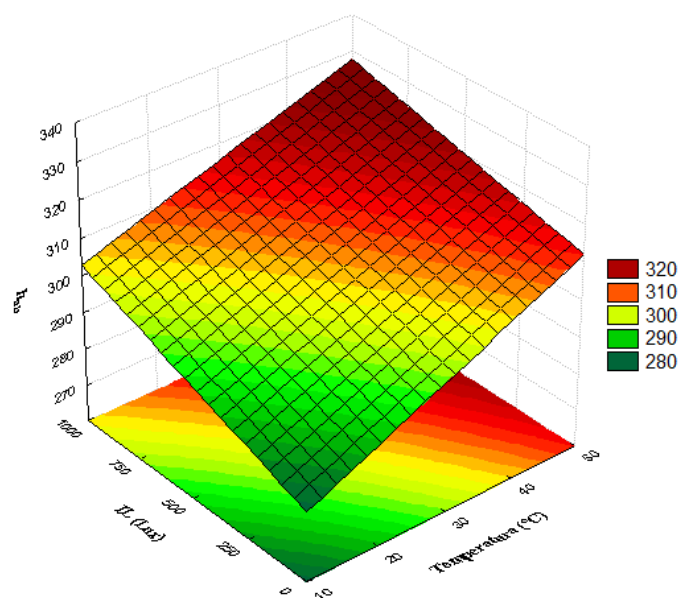


Figura 24. Superfície de resposta para o parâmetro h_{ab} dos filmes F-ATH em função da temperatura e IL.

Para o módulo de rigidez (E) dos filmes F-ATH, apenas a IL teve efeito significativo ($p \leq 0,1$), dentro do intervalo estudado (Figura 25). Aumentando de 0 para 1000 Lux, E diminuiu na ordem de 19,9% e 14,0% quando submetido a 10° e 50°C, respectivamente. A flexibilidade e a resistência dos filmes F-ATH foram mantidas semelhantes à condição inicial. Isto é um fator importante se o material for utilizado como material de embalagem, pois é possível garantir que o sistema manterá suas características após serem submetidos a variações de temperatura e IL durante o período de distribuição e armazenamento.

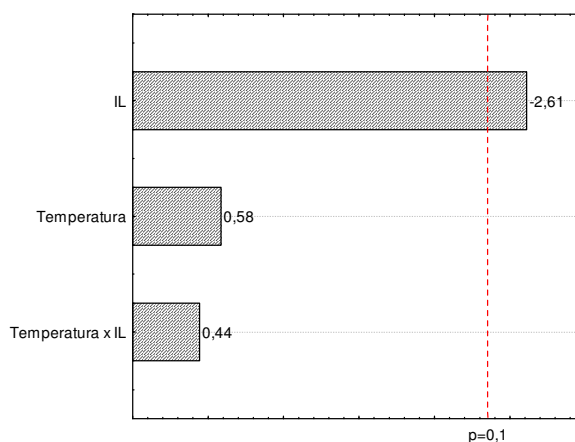


Figura 25. Efeitos das variáveis temperatura e IL no E dos filmes F-ATH.

O modelo matemático obtido para o comportamento do E dos filmes F-ATH foi construído considerando apenas a variável significativa, ou seja, a IL (Equação 5):

$$E = 2,99 - 0,27 * IL \quad Eq. 5$$

Onde: IL = intensidade luminosa.

Pela Tabela 11, que apresenta a ANOVA para o E, pode-se verificar que o R^2 foi de 0,71, valor que para este processo foi considerado baixo, indicando que o modelo não pode ser considerado significativo e preditivo. Além disso, o F_{cal} de 2,50 foi menor que o F_{tab} de 5,39, inviabilizando a construção da superfície.

Tabela 11. ANOVA para o E dos filmes F-ATH.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{cal}
Regressão	0,3060	3	0,10	2,50
Resíduos	0,1248	3	0,04	
Total	0,4308	6		

% variação explicada (R^2) = 71,0; $F_{3; 3; 0,1} = 5,39$

5.3.4 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) – Filmes F-ATH

A microestrutura dos filmes de quitosana contendo ou não ATH foi avaliada, visando verificar a compatibilidade entre os componentes. As imagens obtidas da região superficial dos filmes de quitosana contendo ou não ATH estão apresentadas na Figura 26.

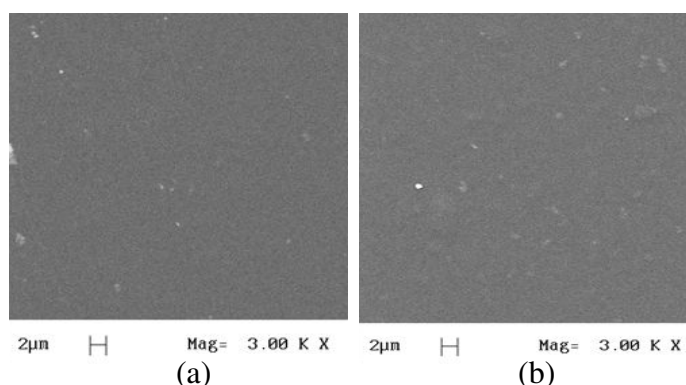


Figura 26. Micrografias da superfície de: (a) Filme de quitosana; (b) Filme F-ATH.

Pelas imagens da região superficial e secção transversal, foi observada a homogeneidade dos filmes, indicando que houve miscibilidade do pigmento na matriz do filme de quitosana (Figura 27). As amostras com e sem pigmento (ATH) apresentaram-se similares, com estruturas uniformes, coesas e compactas. Não foi observado poros ou falhas na estrutura, o que é vantajoso, tendo em vista que influenciam diretamente nas propriedades mecânicas dos filmes. Resultados semelhantes foram encontrados por Yoshida, Oliveira-Junior e Franco (2009) para filmes de quitosana emulsionados ou não com ácido palmítico.

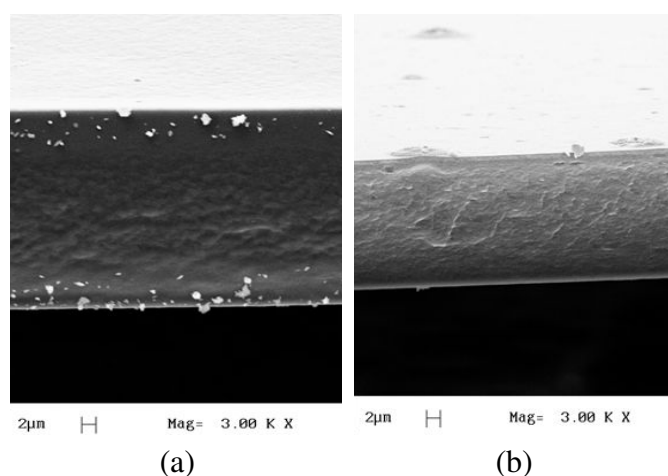


Figura 27. Micrografias da secção transversal de (a) Filme de quitosana; (b) Filme F-ATH.

5.3.5 – Sistema Filme-Papel Cartão Contendo ATH (FP-ATH)

Suspensões de quitosana contendo ATH foram aplicadas como revestimento em superfícies de papel cartão formando o sistema FP-ATH. O processo de secagem desse sistema correspondeu à 90 segundos. A etapa de secagem para este sistema foi muito menor se comparado ao tempo gasto na obtenção dos filmes (60 horas). Isso pode ser uma grande vantagem comercial, o que facilita e viabiliza a produção em escala industrial.

Nas diferentes concentrações de quitosana e ATH aplicadas, os revestimentos caracterizaram-se por homogeneidade, com ausência de falhas e poros visíveis. Para melhor visualização dos ensaios realizados, a Tabela 12 resume as concentrações de quitosana e ATH aplicadas nos revestimentos e as condições em que os sistemas FP-ATH foram expostos.

Tabela 12. Concentrações de quitosana (QT) e ATH aplicadas como revestimento para formação do sistema FP-ATH.

Nomenclatura	Concentração de quitosana (% p/p)	Concentração de ATH (% p/p)	Temperatura (°C)	IL (Lux)	Tempo (h)
F-A	2	0,25			
F-B	2	0,50	10 – 70	0 – 1000	72
F-C	4	0,50			

5.3.5.1 – Avaliação da alteração de Cor do Sistema FP-ATH

Em todos os sistemas FP-ATH, a alteração de cor foi visualmente perceptível após 72 horas de exposição nas diferentes temperaturas e IL, sendo esta alteração irreversível. Após 72 horas de exposição no intervalo de temperatura de 10 a 70°C e ausência de luz (0 Lux), o sistema FP-ATH revestido com a formulação F-A (2% QT/0,25% ATH) apresentaram alteração de cor gradativamente mais escura com o aumento da temperatura (Figuras 28). Comportamento oposto foi observado no mesmo sistema exposto à 1000 Lux, onde a IL acelerou o processo de descoloração, tendendo a cores mais claras em temperaturas acima de 40°C.

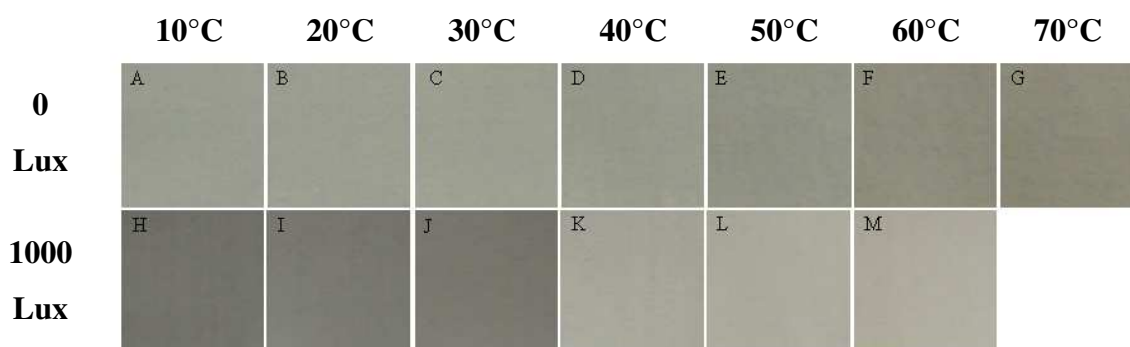


Figura 28. Variação de cor no sistema FP-ATH revestido com a formulação F-A (2% QT/0,25% ATH), exposto a diferentes temperaturas e IL.

A Figura 29 apresenta a alteração de cor do sistema FP-ATH revestido com a formulação F-C (4% QT/0,50% ATH). Assim como no sistema revestido com a formulação F-A, a IL acelerou o processo de alteração de cor, tendendo o sistema à descoloração. Rein (2005)

estudando a estabilidade da cor das antocianinas em cerejas encontrou que a exposição a elevadas temperaturas aceleraram o processo de descoloração das ATH.

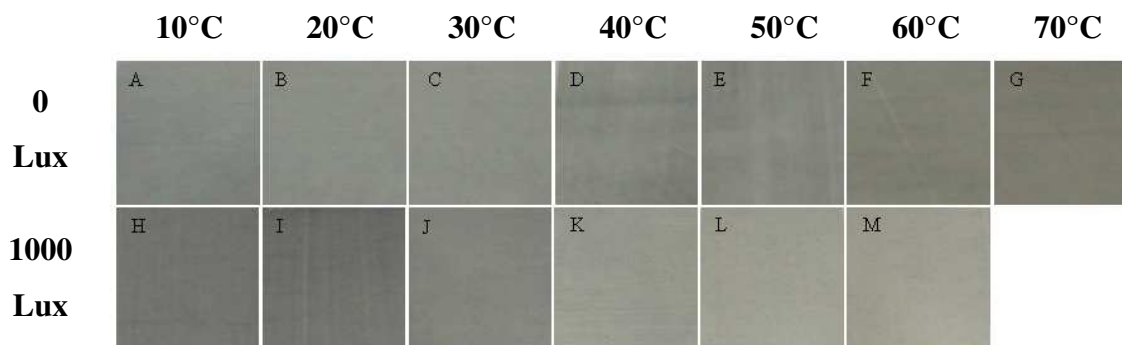


Figura 29. Variação de cor no sistema FP-ATH revestido com suspensão de formulação F-C (4% QT/0,50% ATH), exposto a diferentes temperaturas e IL.

Os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) dos sistemas FP-ATH foram medidos durante 72 horas com e sem IL. Não foi observado alteração estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) no parâmetro L^* dos sistemas FP-ATH expostos a 0 Lux em todas as formulações (Tabela 13). Os valores numéricos dos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* obtidos durante todo o período de avaliação (0, 24, 48 e 72 horas) para os sistemas FP-ATH expostos sob diferentes temperaturas e ausência de IL estão apresentados no Anexo I, item I.4.

Tabela 13. Valores de L^* para o sistema FP-ATH submetido a diferentes temperaturas e ausência de IL.

Formu- lação	L^*	Temperatura (°C)						
		10	20	30	40	50	60	70
F-A	0 h	82,11±0,66 ^a	82,45±0,34 ^a	82,55±0,17 ^a	82,32±0,07 ^a	82,55±0,28 ^a	82,67±0,18 ^a	82,59±0,16 ^a
	72 h	82,16±0,49 ^a	82,41±0,16 ^a	82,35±0,37 ^a	82,36±0,21 ^a	82,68±0,24 ^a	82,50±0,24 ^a	82,81±0,23 ^a
F-B	0 h	77,30±0,24 ^a	77,57±0,35 ^a	76,05±0,29 ^a	76,51±0,29 ^a	77,67±0,17 ^a	76,28±0,48 ^a	78,54±0,24 ^a
	72 h	77,36±0,03 ^a	77,73±0,11 ^a	76,48±0,16 ^a	76,93±0,36 ^a	78,05±0,33 ^a	76,28±0,45 ^a	78,66±0,45 ^a
F-C	0 h	76,44±0,37 ^a	76,25±1,00 ^a	77,01±1,15 ^a	77,46±0,56 ^a	76,30±0,57 ^a	77,43±0,91 ^a	76,69±0,79 ^a
	72 h	76,46±0,50 ^a	76,46±0,54 ^a	76,84±1,60 ^a	77,62±0,22 ^a	76,67±0,54 ^a	77,80±0,48 ^a	77,09±0,97 ^a

a – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Para os sistemas expostos a 1000 Lux e temperaturas no intervalo de 10 à 20°C, o ΔL^* permaneceu praticamente constante, não promovendo alteração de cor do sistema FP-ATH (Figura 30). Acima de 20°C, independente da concentração de quitosana e ATH, os valores de ΔL^* aumentaram gradativamente com o incremento de temperatura, tendendo ao escurecimento. A formulação F-B (2% QT/0,50% ATH) foi a que apresentou maior variação neste parâmetro. Sistemas FP-ATH contendo maior concentração de ATH apresentaram menor variação de ΔL^* . A concentração de quitosana não apresentou variação estatisticamente significativa na alteração de cor.

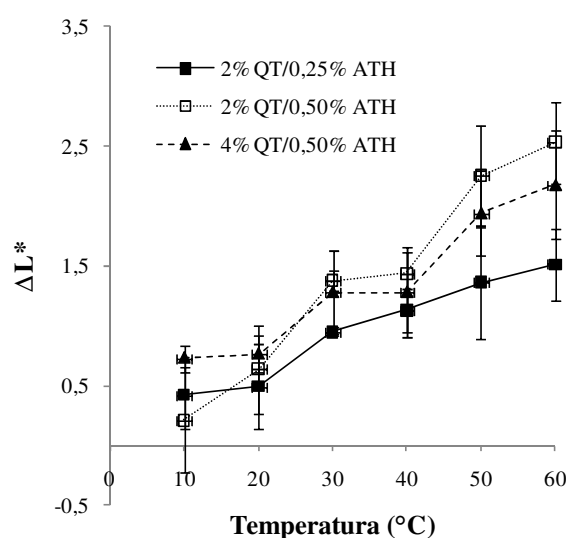


Figura 30. Variação do parâmetro de cor L^* do sistema FP-ATH exposto a diferentes temperaturas e 1000 Lux.

O comportamento apresentado pelo Δa^* dos sistemas FP-ATH apresentou tendência semelhante para todas as formulações considerando a mesma condição de IL. Na Figura 31a, observou-se que entre 10° e 20°C, os valores de Δa^* diminuíram, porém esta variação não foi perceptível visualmente. Acima de 30°C, todas as formulações estudadas apresentaram tendência em aumentar os valores de Δa^* , tendendo à coloração vermelha.

A Figura 31b representa o Δa^* dos sistemas expostos em diferentes temperaturas e 1000 Lux. Na faixa de 10-20° C, não foi observada alteração de cor nos revestimentos. Na faixa de 20-30°C, houve uma redução significativa dos valores de Δa^* tendendo à coloração verde, e a partir de 30°C, o Δa^* começou a aumentar gradativamente, tendendo à coloração vermelha. Na

temperatura de 60°C, a variação do parâmetro não foi significativa em relação ao valor inicial, o que não era o esperado, visto que em temperaturas elevadas o sistema tenderia a alterar mais sua cor. Apesar destas alterações no Δa^* , não foi observada visualmente alteração de cor nos sistemas, conforme as tendências descritas.

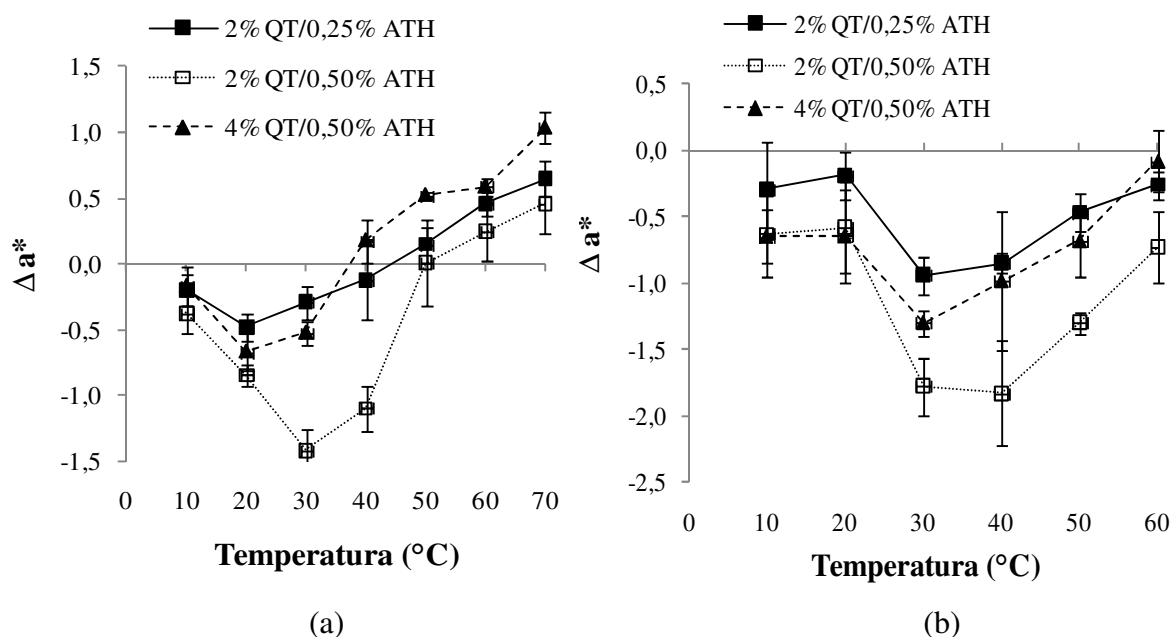


Figura 31. Variação do parâmetro de cor a^* do sistema FP-ATH exposto a diferentes temperaturas e IL: (a) 0 Lux e (b) 1000 Lux.

Uma provável explicação por não ser observada alteração visual nos valores de Δa^* é que este parâmetro avalia a cor em uma escala que varia do verde ao vermelho e o sistema FP-ATH não apresenta diretamente essas cores, o que pode dificultar a visualização. No entanto, diversos autores afirmaram que há uma relação de interação entre os parâmetros a^* e b^* , significando que as alterações de um ou de outro parâmetro está diretamente relacionado à cor do produto objeto de estudo (WYSZECKI; STILES, 2000; CHOUBERT; BACCAUNAUD, 2006; GONÇALVES *et al.*, 2009).

A Figura 32 apresenta a variação de cor do parâmetro b^* do sistema FP-ATH submetido a diferentes temperaturas e IL.

A variação no parâmetro b^* dos sistemas FP-ATH não foi observada quando expostos a 10°C , sendo que a cor permaneceu semelhante com ou sem IL. Em baixas temperaturas ou condições de refrigeração, a estrutura da ATH é estável.

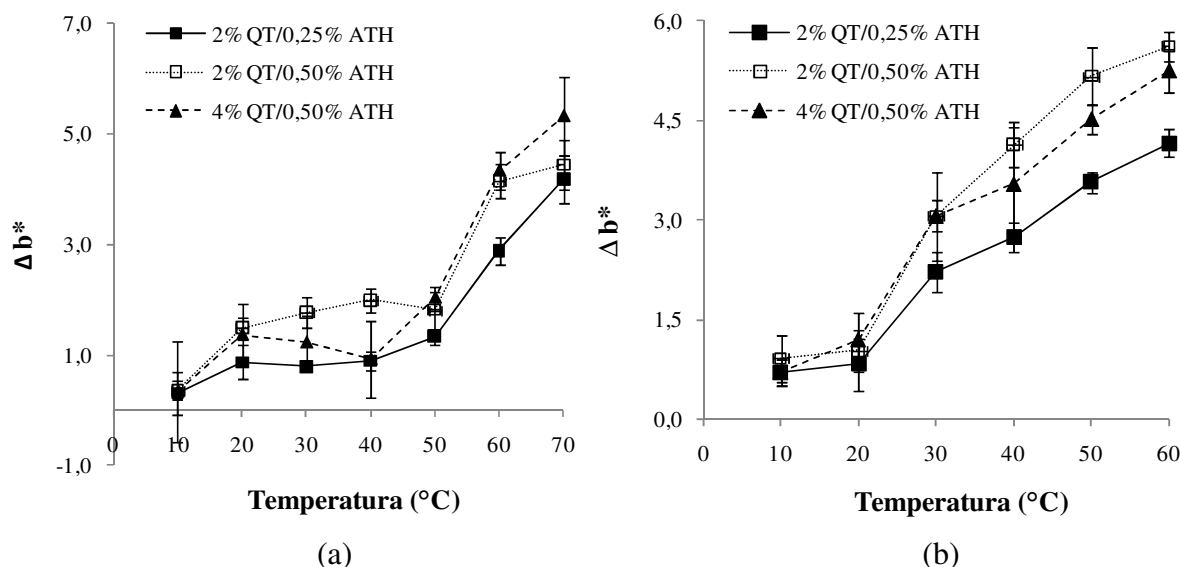


Figura 32. Variação do parâmetro de cor b^* do sistema FP-ATH exposto em diferentes temperaturas e IL: (a) 0 Lux e (b) 1000 Lux.

Na ausência de luz (0 Lux), no intervalo de temperatura entre 20 - 50°C independente da concentração de QT e ATH, os valores de Δb^* são praticamente estáveis, entretanto, para temperaturas superiores à 50°C houve um aumento exponencial de Δb^* , com alteração visual de cor a partir desta, tendendo à coloração amarelada. A alteração de cor foi mais pronunciada no revestimento com as maiores concentrações de QT (4,0%) e ATH (0,50%) (Figura 32a).

No sistema FP-ATH exposto a 1000 Lux, nas temperaturas de 10 e 20°C , os valores de Δb^* foram muito similares, indicando que a IL não influenciou a alteração de cor do sistema. Para o intervalo de temperatura entre 20 - 30°C , houve um aumento exponencial em todas as condições de revestimentos aplicados no papel. A partir de 40°C , foi possível visualizar a alteração de cor em todas as formulações (Figura 32b). A concentração de QT não alterou o parâmetro b^* significativamente.

A IL acelerou a alteração de cor nos indicadores de temperatura FP-ATH, pois nos sistemas expostos a 0 Lux, os valores de Δb^* aumentaram a partir de 50°C, enquanto que a 1000 Lux, a mesma alteração foi iniciada em temperaturas acima dos 20°C.

O parâmetro b^* indicou melhor as alterações de cor em todas as formulações aplicadas no papel cartão (sistema FP-ATH), sendo o revestimento F-B (2% QT/0,50% ATH) o que apresentou melhor visualização na mudança de cor.

A relação entre o parâmetro b^* e o aspecto visual final do sistema FP-ATH revestido com a formulação F-B, após 72 horas de exposição em diferentes temperaturas a 0 Lux pode ser avaliada na Figura 33 e a 1000 Lux na Figura 34.

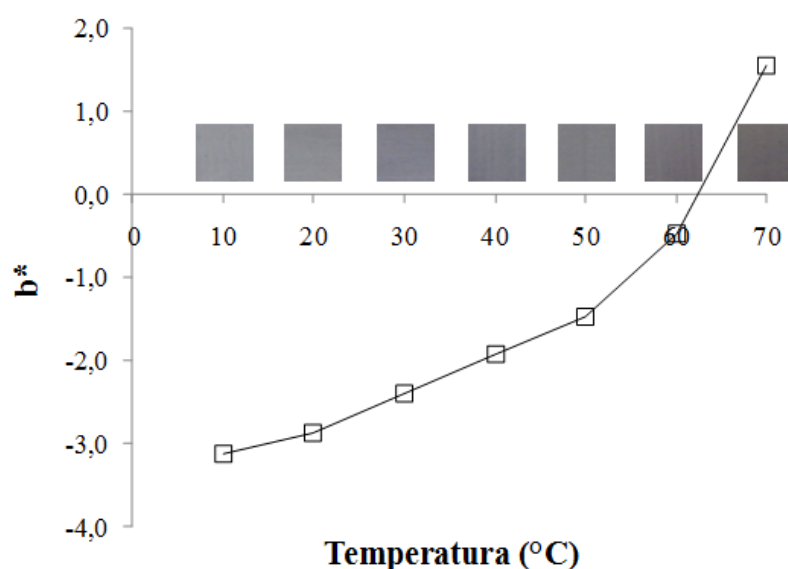


Figura 33. Alteração de cor visual e do parâmetro b^* para o sistema FP-ATH revestido com 2% QT/0,50% ATH exposto por 72 horas em diferentes temperaturas e ausência de luz (0 Lux).

Na ausência de luz, os valores de b^* aumentaram em função do aumento da temperatura. A 10°C o sistema FP-ATH apresentou uma descoloração se comparada ao aspecto final nas outras condições de temperatura. O comportamento foi contrário, ao aumentar a temperatura, observando um aumento gradativo da cor. A 70°C foi possível verificar que o sistema apresentou coloração mais intensa quando comparado às temperaturas menores (10-30°C), indicando

visivelmente as alterações de cor, sendo a condição de 20°C a que mais se aproximou da condição controle (25°C e 0 Lux).

A alteração de cor dos sistemas FP-ATH foi acelerada na presença de IL (1000 Lux), apresentando uma descoloração em função do aumento da temperatura (Figura 34). A 70°C, o sistema apresentava coloração cinza-amarelada.

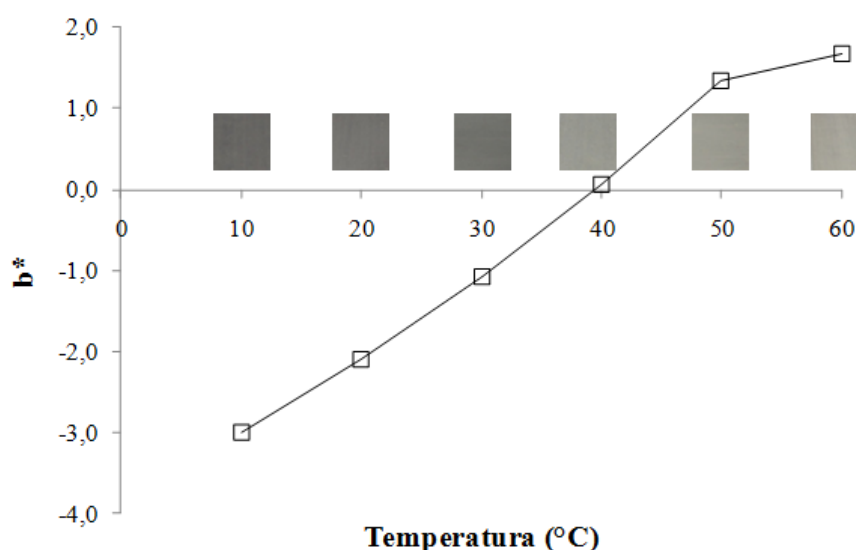


Figura 34. Relação da alteração de cor visual e do parâmetro b^* para o sistema FP-ATH revestido com 2% QT/0,50% ATH exposto por 72 horas em diferentes temperaturas e 1000 Lux.

Um fato importante e que confirma a interação que existe entre os parâmetros, pode ser observado nas Figuras 33 e 34 com relação às cores. Note que ocorreu o inverso entre o sistema exposto à IL e na ausência de luz, mesmo sendo os valores de b^* semelhantes, iniciando em -3 e terminando em valores próximos de 2. Isso provou que há uma interação entre os parâmetros e que apesar de serem parecidos numericamente, os outros parâmetros (L^* e a^*) juntamente com a IL influenciaram nas alterações de cor observadas.

Os resultados obtidos para o parâmetro b^* do sistema FP-ATH podem estar associados aos valores obtidos para os filmes F-ATH, havendo, para ambos, tendência de amarelarem com o aumento do tempo de exposição. Ao avaliar o efeito da IL (1000 Lux) sobre este parâmetro, foi observado que menores quantidades de sólidos totais encontrados no sistema FP-ATH

produziram resposta mais eficiente quanto à alteração de cor, visto que nos filmes F-ATH, não foi observada diferença de cor entre as condições submetidas à 1000 Lux. Quanto à temperatura, comportamento semelhante pode ser observado no sistema FP-ATH e filmes F-ATH, havendo tendência em alterar a cor à medida que a temperatura foi aumentada.

A alteração de cor do sistema FP-ATH pode estar associada à mudança da estrutura química da ATH. A degradação térmica das antocianinas pode resultar em uma variedade de outros compostos, dependendo da intensidade e da natureza do aquecimento. O mecanismo de degradação da cor das antocianinas ainda não está totalmente elucidado, no entanto a estrutura química e a presença de ácidos orgânicos têm influência significativa nestas alterações (PATRAS *et al.*, 2010). Markakis (1982) sugeriu como primeiro estágio de degradação da antocianina a abertura do anel *pirilium* da estrutura química das antocianinas e formação das chalconas. Chalconas são compostos derivados de três acetatos e de um derivado do ácido cinâmico, que apresentam coloração incolor-amarela e são precursoras da biosíntese dos flavonóides (Figura 35). Adams (1973) propôs que o aquecimento das antocianinas provoca primeiramente a hidrólise da ligação glicosídica com posterior formação das chalconas. Além disso, existem evidências de que a hidrólise glicosídica das antocianinas seja a principal causa da perda de cor, uma vez que a velocidade da liberação do açúcar é proporcional à velocidade da perda da cor vermelha.

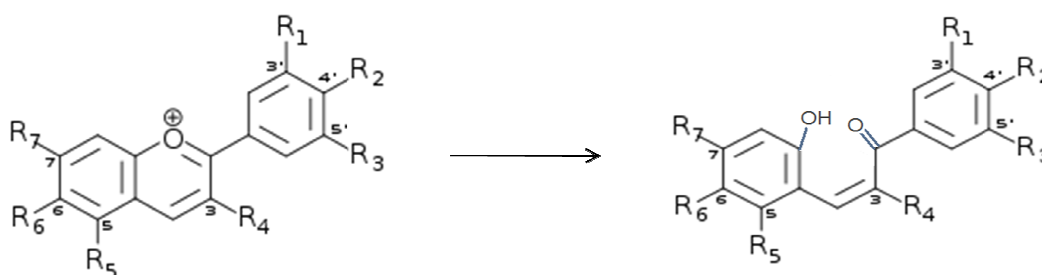


Figura 35. Mecanismo de transformação da estrutura química da antocianina em função da exposição às temperaturas elevadas, com formação das chalconas (MARKAKIS, 1982).

A perda de cor de ATH também foi observada em flores azuis (SHAKED-SACHRAY *et al.*, 2002), extrato de vegetais (BOLIVAR e CISVEROS-ZEVALLOS, 2004), suco de romã (ALIGHOURCHI; BARZEGAR, 2009), geléias de frutas (PATRAS *et al.*, 2009) após exposição

a temperaturas acima de 30°C. MARKAKIS (1982) afirmaram que o processo de descoloração das ATH foi acelerado na presença de IL.

5.3.5.2 – Análise Sensorial para o Sistema FP-ATH

Um estudo sensorial foi aplicado em provadores escolhidos ao acaso (não treinados), para verificar se a alteração de cor no sistema FP-ATH era perceptível e assim seria possível estimar a reação do consumidor, de forma direta, diante do sistema proposto.

A análise foi feita a partir da aplicação do teste triangular, que consistiu em apresentar aos provadores duas amostras iguais e uma diferente, sendo solicitada a identificação da amostra que julgavam ser diferente.

Nesta análise, o revestimento de 2% QT/0,50% ATH foi escolhido por apresentar os melhores resultados quanto às alterações de cor. O sistema FP-ATH foi exposto durante 72 horas em duas condições: 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux.

O teste foi realizado em ambiente fresco, arejado, com temperatura controlada ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) e iluminação adequada. Um esquema ilustrativo indicando como as amostras foram apresentadas aos consumidores pode ser observado na Figura 36.



Figura 36. Esquema utilizado para apresentar as amostras de FP-ATH aos consumidores.

Para o sistema FP-ATH exposto a 60°C/0 Lux (Figura 37a), 28 provadores identificaram a amostra diferente de um total de 54 provadores. Para o sistema FP-ATH exposto a 60°C/1000 Lux (Figura 37b), o número de acertos foi superior a 96% (52 provadores), concluindo que foi mais fácil visualizar a alteração de cor nos sistemas expostos à IL. No entanto, apesar dessa

diferença, pode-se afirmar que, considerando o nível de probabilidade em 0,1%, houve diferença significativa para as amostras avaliadas de FP-ATH nas duas condições estudadas, indicando que este sistema possui grande potencial de aplicação como sistema de embalagem inteligente para indicações de variação de temperatura nesta faixa estudada.

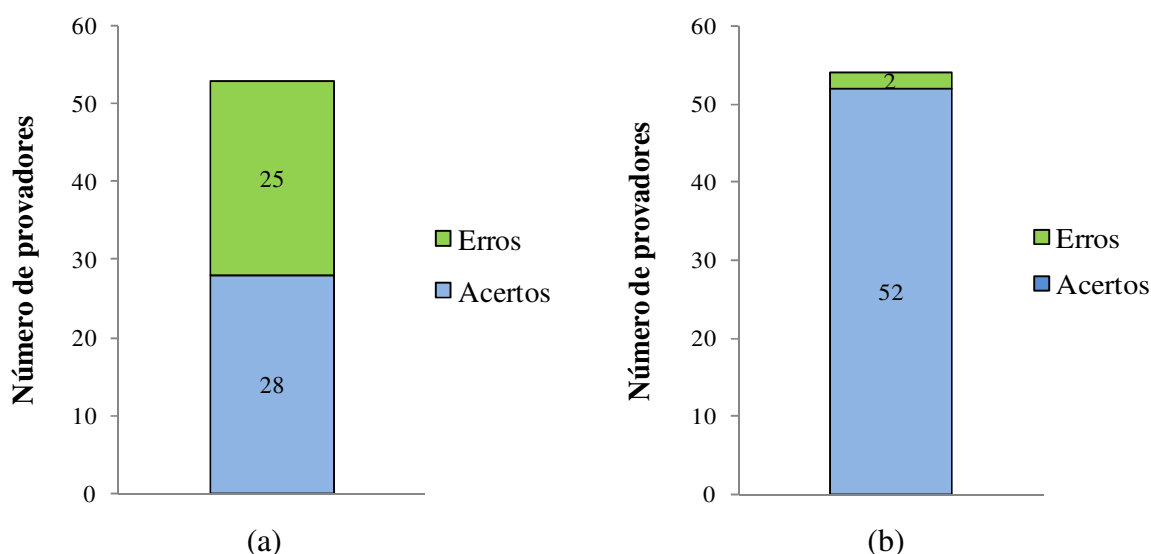


Figura 37. Avaliação sensorial para o sistema FP-ATH revestido com 2% QT/0,50% ATH, submetido 60°C e diferentes IL: (a) 0 Lux e (b) 1000 Lux.

É importante ressaltar que os provadores não foram previamente treinados e que na comercialização de um produto com indicador de temperatura, uma escala de cores deveria ser impressa para auxiliar o consumidor na verificação de cor.

5.3.5.3 – Propriedades do Sistema FP-ATH

Papel cartão com e sem revestimento foi avaliado quanto à gramatura, absorção de água (Teste Cobb) e rigidez Taber (Tabela 14). Os revestimentos contendo 2,0% de QT não alteraram significativamente a gramatura do papel, mas ao aumentar a concentração de QT para 4,0%, a gramatura aumentou significativamente na ordem de 1,01%. A gramatura é uma medida importante para a comercialização.

A resistência à água é uma propriedade desejada que avalia o comportamento do papel cartão em aplicações incluindo embalagens de alimentos e produtos farmacêuticos. Os maiores valores de absorção de água foram encontrados no papel sem revestimento bem como os revestidos com maior quantidade de quitosana (4,0%). No primeiro caso, a absorção de água pode estar relacionada à exposição das fibras de celulose quando em contato direto com a água. A absorção de água do sistema FP-ATH (2% de QT) diminuiu significativamente na ordem de 22-27% variando a concentração de ATH. De acordo com Aider (2010), filmes de quitosana, entre outras características, reduzem a perda de umidade ou absorção de água, podendo atuar como camada de proteção a produtos frescos, estendendo assim a vida de prateleira. Entretanto, no presente trabalho, o aumento da concentração de QT para 4%, promoveu maior absorção de água. Bordenave *et al.* (2007) estudaram embalagens de alimentos bioativas com revestimento de QT em papéis *Ahlstrom*, e revelaram que os filmes de QT aumentaram a absorção de água do papel apesar da baixa concentração de sólidos totais, atribuindo a isso a hidrofilicidade da quitosana. Bordenave, Grelier e Coma (2010) estudando filmes de quitosana como revestimento em diferentes papéis (*Ahlstrom* 40g/m² e *Stora Enso* 320g/m²) afirmaram que a hidrofilicidade dos papéis pode ser diminuída com a adição de componentes como ácido palmítico e derivados de quitosana com grupos hidrofóbicos como *O,O'-dipalmitoyl chitosan* nos filmes de quitosana, encontrando ótimos resultados na diminuição de absorção de água nos filmes contendo quitosana e ácido palmítico. Yoshida, Oliveira-Junior e Franco (2009) afirmaram que a incorporação de lipídeos à matriz filmogênica de quitosana, formando filmes emulsionados, é uma alternativa para aumentar a hidrofobicidade da superfície.

Tabela 14. Gramatura, absorção de água e rigidez Taber do papel e do sistema FP-ATH.

Amostras	Gramatura (g/m ²)	Absorção de água (g/m ²)	Rigidez Taber (mNm)	
			Transversal	Longitudinal
Papel sem revestimento	252,81±1,88 ^a	45,48±1,76 ^a	5,60±0,16 ^a	12,97±0,21 ^a
2% QT/0,25% ATH	252,52±1,56 ^a	33,25±1,61 ^b	6,44±0,28 ^b	13,89±0,31 ^b
2% QT/0,50% ATH	253,17±1,71 ^a	35,41±1,66 ^b	6,43±0,17 ^b	14,15±0,09 ^b
4% QT/0,50% ATH	256,39±1,40 ^b	42,14±1,91 ^c	6,29±0,16 ^b	13,98±0,35 ^b

a, b, c – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

A incorporação de QT como aditivo industrial na produção de papel e papelão ou como revestimento de superfície, tem sido investigada (BORDENAVE *et al.*, 2007; KUUSIPALO *et*

al., 2005; KJELLGREN *et al.*, 2006; FERNANDES *et al.*, 2009). Diferentes concentrações de QT foram aplicadas como aditivo de revestimento em papel e papelão e os pesquisadores observaram que aumentando a concentração de QT de 0,1 para 0,75% (p/p), houve uma redução significativa da absorção de água (KUUSIPALO *et al.*, 2005). Papel vegetal revestido com filmes de QT não promoveu barreira extra contra absorção de água (KJELLGREN *et al.*, 2006). Reis *et al.* (2011) aplicando diferentes revestimentos de quitosana contendo ou não ácido palmítico ou esteárico em folhas de papel *Kraft* observaram uma redução de até 35% na absorção de água do papel. Matsui *et al.* (2004) obtiveram bons resultados quando aplicaram acetato de amido de milho sobre folhas de papel *Kraft* reciclado, melhorando 4 vezes a capacidade de absorção de água do papel. Os resultados encontrados em nossa pesquisa estão de acordo com outros trabalhos (KUUSIPALO *et al.*, 2005; REIS *et al.*, 2011), indicando que a adição de quitosana reduziu significativamente a capacidade de absorção de água do papel.

No setor de embalagens, a rigidez de papéis e cartões é uma característica essencial, uma vez que influencia diretamente na resistência estrutural e na maquinabilidade. Esta característica é usada no controle de qualidade de embalagens e também na pesquisa e desenvolvimento de novas embalagens.

Maiores valores de rigidez Taber foram obtidos aplicando diferentes revestimentos de QT e ATH em superfícies de papel cartão quando comparado ao papel sem revestimento (Tabela 14). O sistema FP-ATH não promoveu o mesmo efeito de reforço para a direção longitudinal comparado com a direção transversal. A resistência das fibras e a rigidez foram sempre maiores na direção longitudinal do que na direção transversal, confirmando resultados encontrados na literatura (KIRWAN, 2005). A resistência e flexibilidade do sistema FP-ATH reforçou as ligações entre as fibras de celulose. Filmes de quitosana promoveram um impacto positivo nas propriedades mecânicas quando utilizados como revestimento em papel (FERNANDES *et al.*, 2010). Reis *et al.* (2011) encontraram resultados semelhantes aos obtidos por este trabalho, ao pesquisarem diferentes revestimentos de quitosana aplicados sobre papel *Kraft*, observando aumento dos valores de rigidez nas direções longitudinal e transversal, sendo estes valores superiores na direção longitudinal.

5.3.5.4 – Microestrutura dos revestimentos FP-ATH

A microestrutura dos sistemas FP-ATH foi observada em imagens obtidas a partir de MEV nas vistas superficial e transversal, em comparação com o papel cartão sem revestimento. A análise de MEV oferece vantagens nas investigações tanto de superfícies ásperas quanto lisas, desde vistas planas à fraturas particulares.

O efeito do revestimento dos filmes F-ATH em papel cartão foi claramente observado por MEV. Nos sistemas FP-ATH, foi observado compatibilidade com a celulose, apresentando adesão na superfície do papel cartão. Após o constante manuseio (dobras, cortes, etc), as folhas revestidas mantiveram-se homogêneas e coesas, não apresentando pontos de delaminação e ruptura entre filme e papel. As imagens mostraram que o filme F-ATH foi depositado sobre a superfície da folha do papel cartão, preenchendo espaços interfibrilares da celulose (Figura 38). Rhim, Lee e Hong (2007) aplicando ácido polilático na superfície de papelão, observaram a superfície mais lisa e homogênea que a inicial, o que foi associado ao maior preenchimento dos poros das estruturas fibrosas do papelão. Han e Krochta (2001) também demonstraram usando MEV que o revestimento a partir de filmes de proteína do soro de leite tornou a superfície do papel mais lisa e homogênea.

O entrelaçamento das fibras celulósicas do papel cartão sem revestimento é nítido nas imagens, e à medida que se revestiu, os filmes F-ATH aderiram às fibras de celulose ocupando espaços interfibrilares, formando um filme fino.

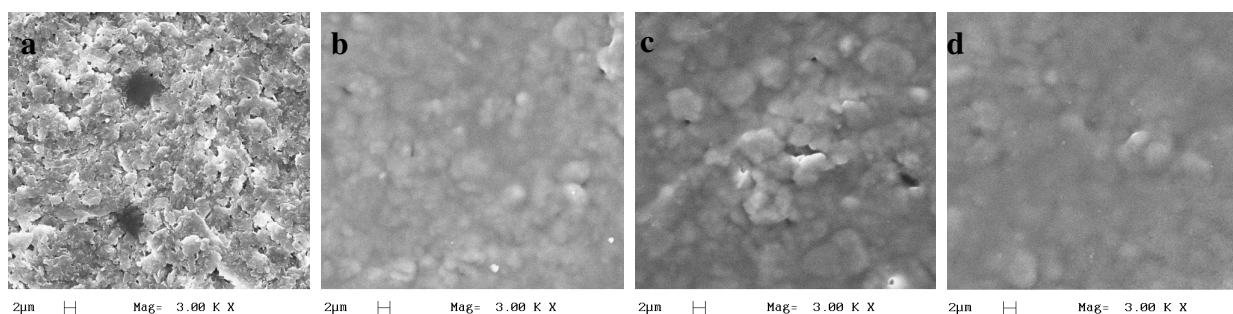


Figura 38. Micrografias da região superficial do: (a) papel cartão sem revestimento; e revestido com (b) F-A; (c) F-B; (d) F-C.

Não foi possível visualizar a formação de uma fina camada do filme F-ATH na secção transversal do sistema (Figura 39), o que pode estar associado à pequena quantidade de sólidos depositados na superfície, que foram na ordem de 0,081, 0,090 e 0,162 g/m² para as formulações F-A, F-B e F-C, respectivamente. Gastaldi *et al.* (2007) estudaram o revestimento de papel com proteína de trigo, caseinato de cálcio e amido de milho e observaram que a impregnação das fibras do papel variou de 4,8 para 63,3% dependendo do polímero utilizado como revestimento. Fernandes *et al.* (2010) observaram que a penetração de quitosana em folhas de papel ocorreu progressivamente apresentando saturação após a aplicação da terceira camada de suspensão do polímero.

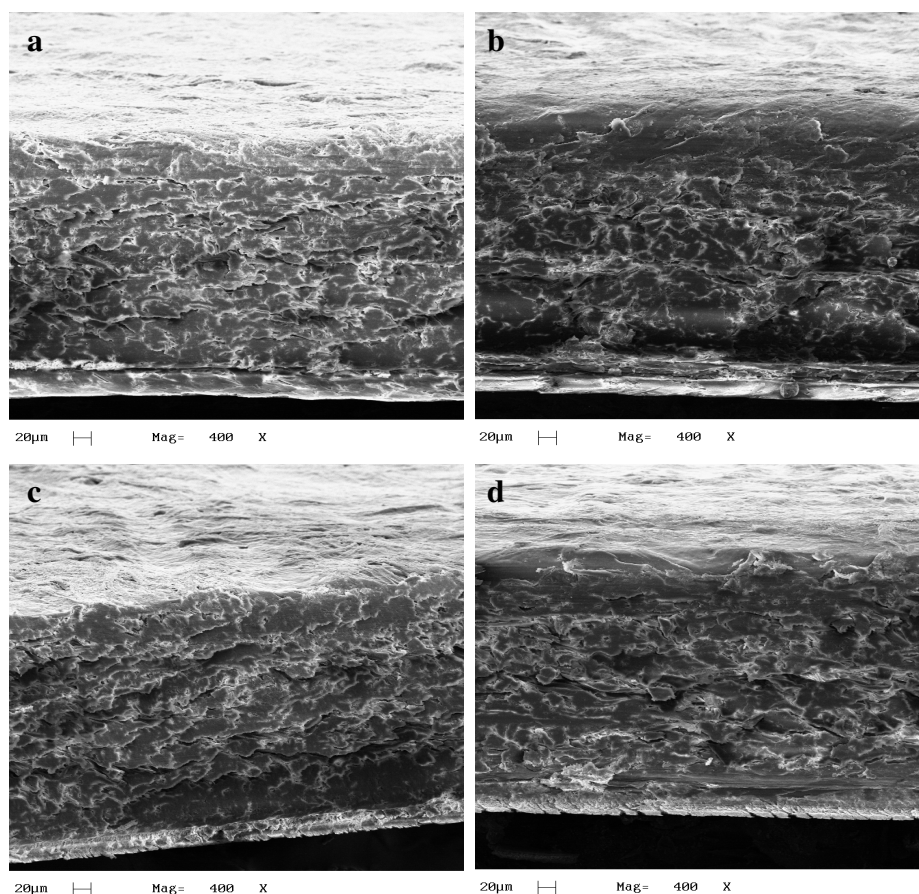


Figura 39. Micrografias da secção transversal do: (a) papel cartão sem revestimento; e revestido com (b) F-A; (c) F-B; (d) F-C.

5.3.5.5 – Teste de Estabilidade do Sistema FP-ATH

A estabilidade do sistema FP-ATH foi avaliada pela permanência da alteração de cor durante 108 dias sob diferentes condições de temperatura e IL. O estudo foi feito pela medida dos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* quando submetido ao longo período de armazenamento (0 à 108 dias). A condição controle foi definida mantendo o sistema à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e ausência de IL (0 Lux), para determinar se haveria alteração significativa dos parâmetros de cor durante o mesmo período de armazenamento.

É relevante ressaltar que este teste também indicou uma estimativa máxima do tempo de vida útil do sistema para garantir sua eficiência.

Amostras foram periodicamente examinadas para medidas dos parâmetros de cor. As condições estudadas foram: controle ($25^\circ\text{C}/0\text{ Lux}$), $60^\circ\text{C}/0\text{ Lux}$ e $60^\circ\text{C}/1000\text{ Lux}$. O parâmetro b^* foi o que apresentou maior diferenciação durante o tempo de armazenamento estudado (Figura 40). Os valores dos parâmetros L^* , a^* , b^* de cada uma das condições estão apresentados no Anexo I, item I.5.

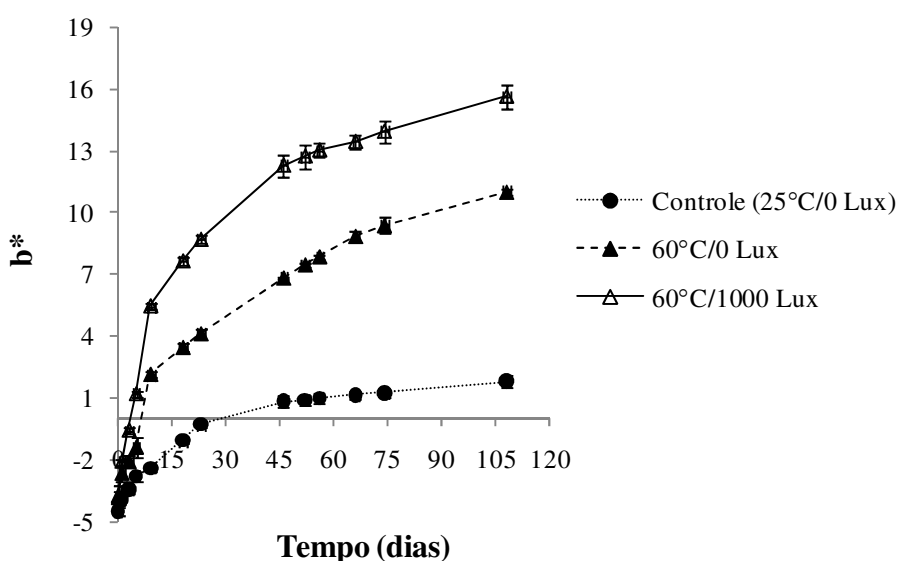


Figura 40. Valores do parâmetro de cor b^* do sistema FP-ATH armazenados por 108 dias em diferentes temperaturas e IL.

O parâmetro b^* aumentou exponencialmente, tendendo à coloração amarela, sendo a menor alteração observada na amostra exposta na condição controle. Porém, esta variação não foi constatada visualmente durante o período avaliado (108 dias) (Figura 41).

A exposição à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux promoveu alteração visível da cor do sistema FP-ATH, sendo esta alteração intensificada após 108 dias de exposição, indicando que temperaturas elevadas degradaram a cor inicial do sistema (Figura 41), tendendo à coloração amarela. Além disso, o efeito da IL sobre o sistema FP-ATH pôde ser observado com nitidez nos primeiros dias de armazenamento, indicando que a IL acelerou o processo de perda de cor do sistema FP-ATH.

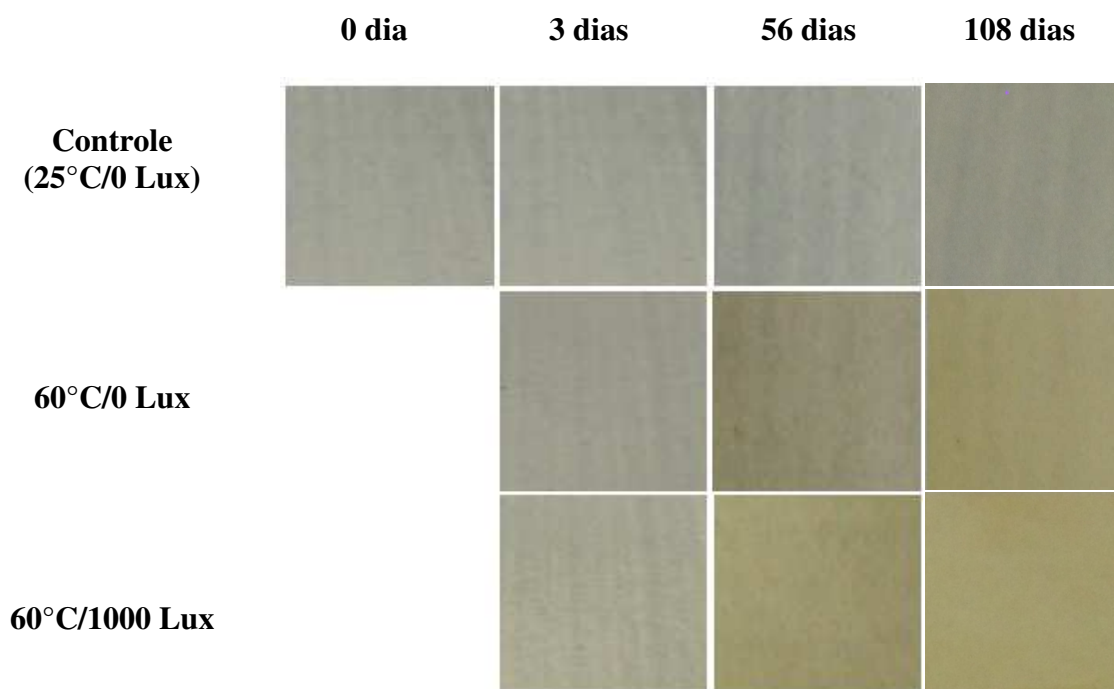


Figura 41. Alteração de cor visual para o sistema FP-ATH durante o teste de estabilidade realizado por 108 dias sob diferentes condições de temperatura e IL.

Outro aspecto estudado quanto à estabilidade do sistema FP-ATH foi a avaliação da eficiência de resposta colorimétrica das amostras revestidas e armazenadas à 25°C ausência de IL por 108 dias. Estas amostras foram expostas à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux durante 72 horas (Figura 42).

A título de comparação, os valores do parâmetro b^* para o sistema FP-ATH recém revestido e submetido à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux durante 72 horas está apresentado na Figura 42. Os valores numéricos de L^* , a^* , b^* para as condições estudadas no tempo zero e após 108 dias de armazenamento podem ser consultados no Anexo I, item I.4.

Houve alteração significativa do parâmetro b^* durante o período de armazenamento, sendo observada mudança visual de cor, provocada pelo aumento nos valores de b^* na ordem de 60%. O sistema FP-ATH avaliado logo após o revestimento promoveu melhor resposta quanto à alteração de cor do sistema quando comparado ao sistema armazenado durante 108 dias, obtendo-se valores de Δb^* , 56% maiores na condição de 60°C/1000 Lux (Figura 42). No entanto, apesar de o armazenamento ter promovido alteração no parâmetro b^* , o sistema se mostrou eficiente após 108 dias de armazenamento (Figura 43).

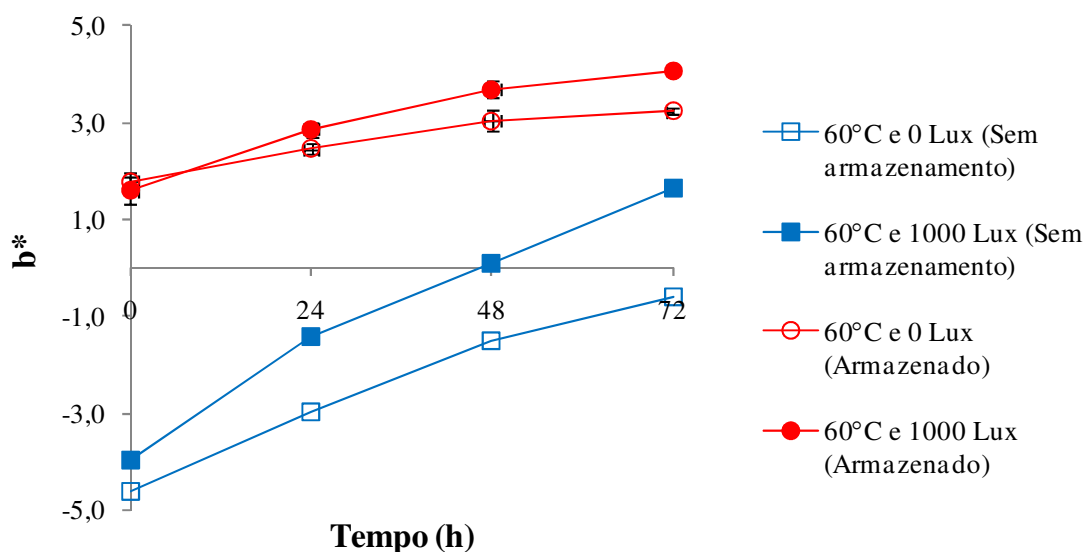


Figura 42. Alteração do parâmetro b^* do sistema FP-ATH quando submetido durante 72 horas à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux logo após o revestimento e ao final de 108 dias de armazenamento à 25°C e ausência de IL.

A Figura 43 apresenta um comparativo entre o aspecto visual do sistema FP-ATH exposto logo após o revestimento e o armazenado por 108 dias à temperatura de 25°C e ausência de IL com consequente exposição durante 72 horas nas condições de 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux.

As amostras de FP-ATH submetidas às condições de 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux logo após terem sido revestidas apresentaram variação significativa da cor, tendendo em ambas as condições à descoloração do sistema, sendo esta alteração mais intensa na presença de IL. Após o armazenamento das amostras de FP-ATH por 108 dias em temperatura e IL controlada (25°C e 0 Lux), foi observado alteração da cor, porém, em menor proporção quando comparada às alterações do início do armazenamento, tendendo o sistema FP-ATH neste período à coloração amarela. Ao analisar comparativamente as cores do sistema ao início e no período de 108 dias de armazenamento, foi verificado um processo de descoloração.

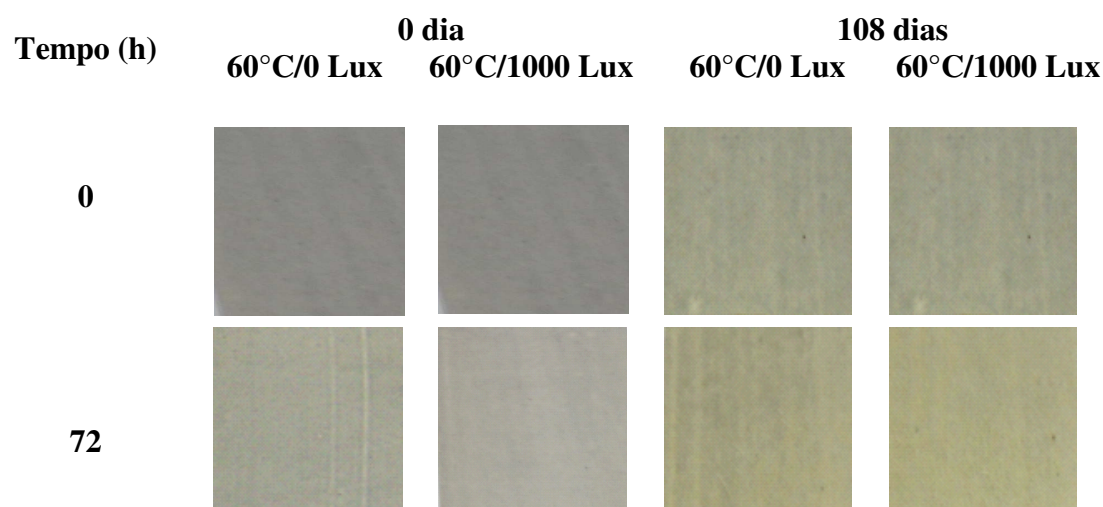


Figura 43. Eficiência colorimétrica do sistema FP-ATH quando submetido durante 72 horas à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux logo após o processamento (0 dia) e ao final de 108 dias de armazenamento à 25°C e ausência de IL.

Assim, o estudo de vida de prateleira deste sistema indicador de variação de temperatura permitiu avaliar, pela resposta colorimétrica, o tempo máximo de armazenamento para o dispositivo atuar eficientemente.

5.4 – Clorofila (CLO)

5.4.1 – Concentração de CLO nos Filmes de Quitosana

A concentração de CLO nos filmes de quitosana foi determinada a partir da alteração nos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* . Os filmes contendo diferentes concentrações de CLO (0,15%, 0,25%, 0,50% e 1,00%, m/m) foram expostos à IL excessiva (2225 Lux) e $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Os filmes contendo 1,00% de CLO apresentaram coloração escura, reduzindo proporcionalmente com a concentração de CLO (Figura 44).

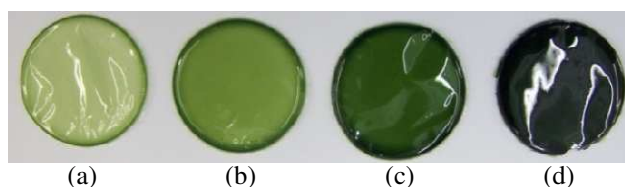


Figura 44. Filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de CLO: (a) 0,15%; (b) 0,25%; (c) 0,50%; (d) 1,00%.

As variações nos parâmetros de cor L^* (Figura 45), a^* (Figura 46), b^* (Figura 47) foram analisadas em função do tempo de exposição (0, 24, 48, 72 e 96 horas).

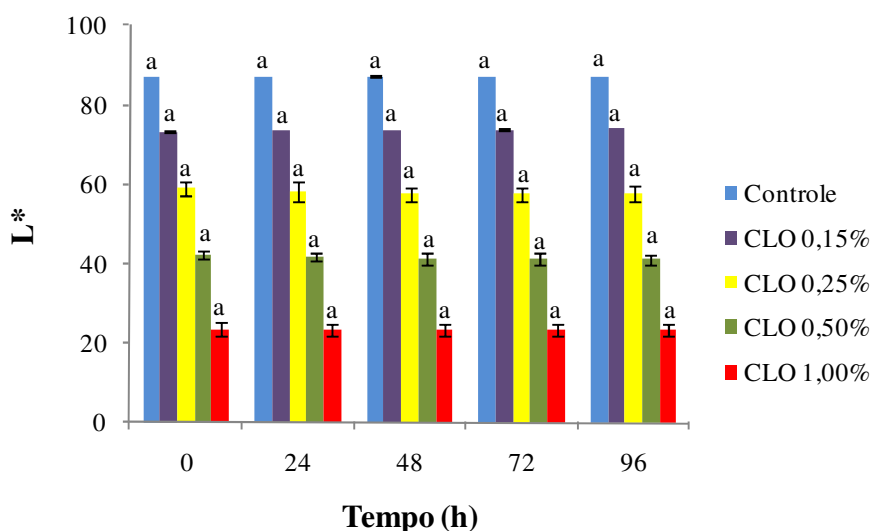


Figura 45. Valores do parâmetro L^* dos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de CLO em função do tempo de exposição à 2225 Lux e 25°C .

No parâmetro L^* , não houve variação significativa para os filmes controle e nas concentrações 0,50% e 1,00% de CLO, indicando que este parâmetro não influenciou na alteração de cor dos mesmos. Apesar da alteração significativa ($p \leq 0,05$) nas concentrações de 0,15% e 0,25% de CLO, não foi possível visualizar variação de cor. Os valores numéricos dos parâmetros L^* , a^* , b^* para cada uma das concentrações estudadas de CLO estão apresentados no Anexo II., item II.1.

Não ocorreram alterações significativas no parâmetro a^* dos filmes controle durante o período de avaliação (96 h) (Figura 46). As variações foram significativas para F-CLO, com maior alteração de cor na concentração de 0,25%. No entanto, estas mudanças, não foram observadas visualmente.

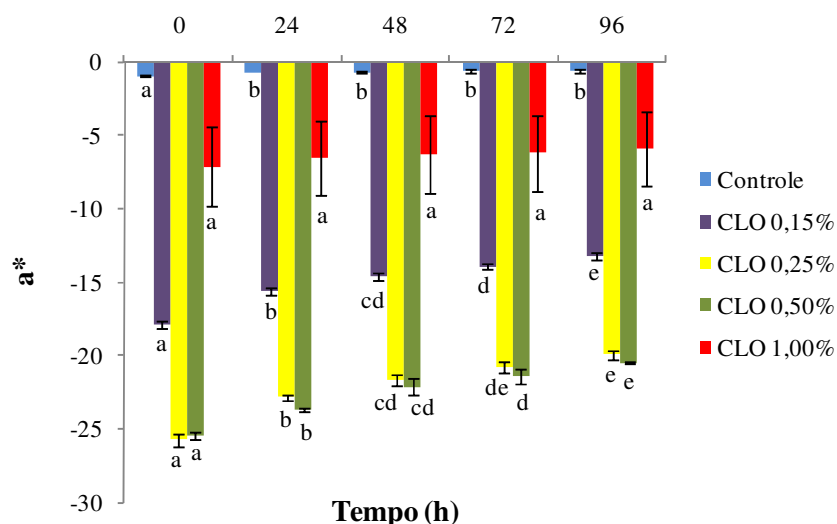


Figura 46. Valores do parâmetro a^* dos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de CLO em função do tempo de exposição à 2225 Lux e 25°C.

Não houve alteração significativa no parâmetro b^* dos filmes controle (Figura 47). Isso pode ser explicado para os filmes controle, por serem caracterizados pela transparência, o que dificulta a alteração de cor nessa escala, permanecendo praticamente a mesma durante o período de avaliação. Nos filmes contendo 1,00% de CLO, por apresentarem coloração intensa, as condições de temperatura e IL não foram suficientes para alterar sua cor, permanecendo estatisticamente ($p \leq 0,05$) constante no período estudado. Houve variação significativa no

parâmetro b^* dos filmes contendo 0,25% e 0,50% de CLO, sendo de maior intensidade nos filmes contendo 0,25% de CLO.

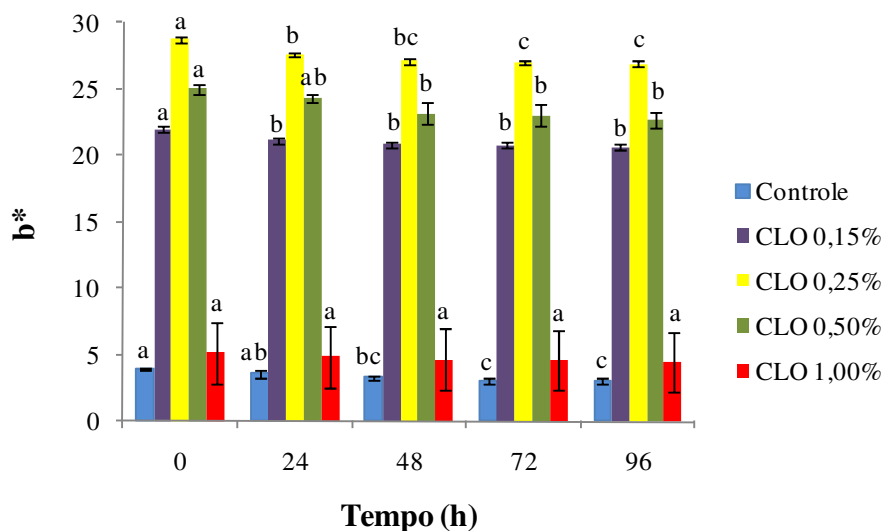


Figura 47. Valores do parâmetro b^* dos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de CLO em função do tempo de exposição à 2225 Lux e 25°C.

A concentração de CLO escolhida para as demais análises foi de 0,25% (m/m), para uma concentração de quitosana de 2,00% (m/m), baseado nas maiores alterações dos parâmetros de cor avaliados durante 96 horas.

5.4.2 – Avaliação da Alteração de Cor dos Filmes F-CLO

A curva de alteração de cor dos filmes F-CLO foi construída em função do tempo de exposição (0, 12, 24, 48 e 72 horas), após exposição em diferentes temperaturas e IL (Tabela 15).

A cada tempo, foram realizadas as análises dos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* . Após 72 horas de exposição nas diferentes condições de temperatura e IL foi observada uma constância nestes parâmetros. Os valores numéricos e as análises estatísticas para cada um dos parâmetros podem ser observados no Anexo II, item II.2 deste trabalho.

Tabela 15. Condições de temperatura e IL utilizadas para construção da curva de alteração de cor dos filmes F-CLO.

Condições	Temperatura (°C)	IL (Lux)
1	10	0
2	50	0
3	10	1000
4	50	1000
5	30	500

5.4.2.1 – Parâmetro L*

O parâmetro L* não influenciou significativamente ($p \leq 0,05$) na alteração de cor dos filmes F-CLO (Figura 48), não sendo possível observar mudança visual na cor.

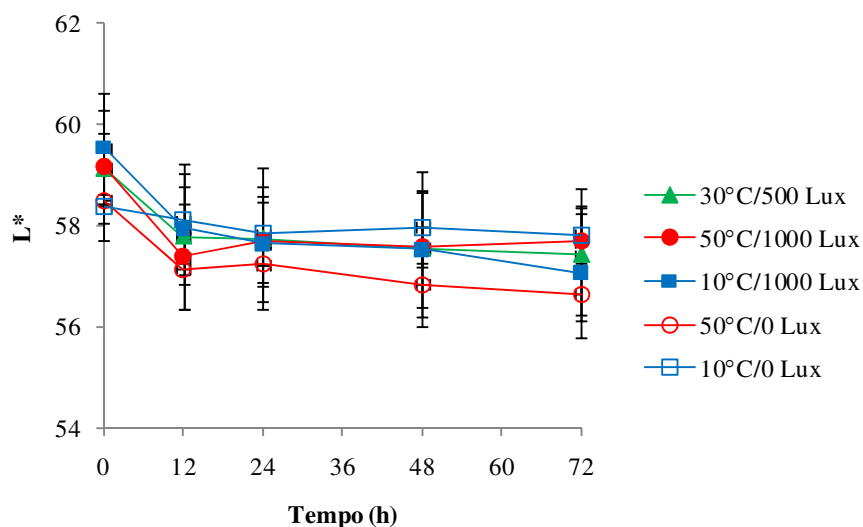


Figura 48. Parâmetro de cor L* dos filmes F-CLO durante 72 horas de exposição em diferentes condições de temperatura e IL.

Olarte *et al.* (2009) estudando os efeitos da IL durante a estocagem de brócolis e couve encontraram que o valor de luminosidade L* tende a diminuir em função do tempo de armazenamento sob efeito da IL. Outros pesquisadores também verificaram que a brócolis quando exposto a diferentes IL (1300 Lux e 3500 Lux) por longos períodos (21 dias) tendem a amarelar, perdendo sua cor original verde brilhante (KASIM; KASIM, 2007).

5.4.2.2 – Parâmetro a^*

Foi observada variação significativa no parâmetro a^* dos filmes F-CLO após 12 horas de exposição em diferentes temperaturas e IL, com aumento na faixa de 8 a 11% para os ensaios realizados na presença de IL (500 ou 1000 Lux), caracterizado pela tendência de alteração da cor de verde para vermelho.

A alteração do parâmetro de cor a^* dos filmes F-CLO foi mais facilmente observada quando expostos nas condições de 10°C/1000 Lux, 30°C/500 Lux e 50°C/1000 Lux, variando os valores entre a condição inicial (0 h) e final (72 h) em 2,09, 2,27 e 2,85, respectivamente (Figura 49).

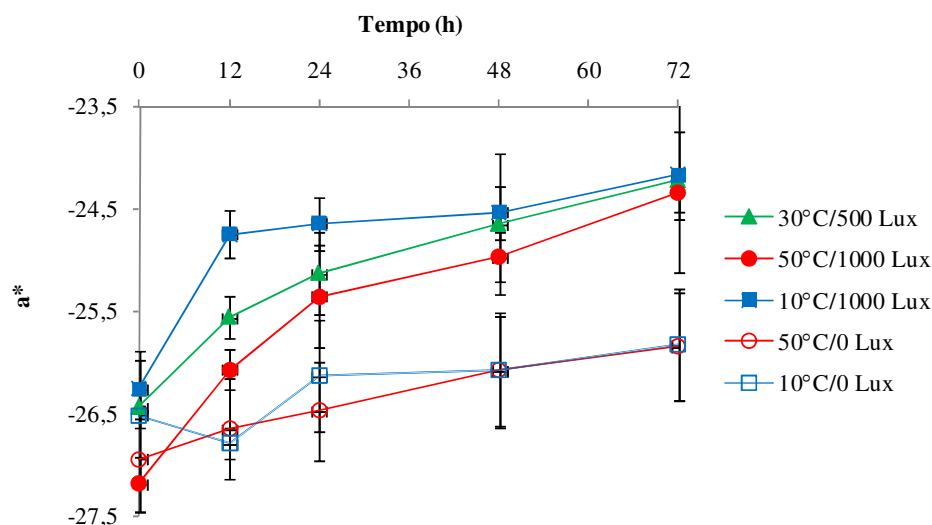


Figura 49. Parâmetro de cor a^* dos filmes F-CLO durante 72 horas de exposição a diferentes condições de temperatura e IL.

Na ausência de luz (0 Lux), o aumento da temperatura de 10°C para 50°C não provocou alteração do parâmetro de cor a^* dos filmes F-CLO. No entanto, mantendo a IL em 1000 Lux, o aumento de temperatura (10°C para 50°C) promoveu redução da coloração verde dos filmes, com valores de a^* mais negativos ao início do processo. Aumentando a IL de 0 para 1000 Lux, independente da temperatura, houve descoloração dos filmes. Apesar de serem encontradas alterações significativas no parâmetro de cor a^* após 72 horas de exposição a diferentes

condições de temperatura e IL, visualmente não foi observado, contrariando os resultados esperados.

A CLO utilizada neste estudo consistia em um produto comercial, utilizado na indústria de alimentos como corante verde. Verificou-se que neste produto a estrutura da CLO foi modificada quimicamente, formando a clorofilina cúprica, visando maior estabilidade térmica da molécula. Segundo Streit *et al.* (2005) e Volp, Renhe e Stringuetta (2009) quando a CLO é transformada em clorofilina cúprica (uma espécie de CLO solúvel em água) tem seu átomo de magnésio central substituído pelo íon Cu^{2+} (Figura 50). Esta substituição aliada à hidrólise do composto fitil da estrutura da CLO, promove maior estabilidade à clorofilina, dificultando a perda de cor na presença de luminosidade e variações de temperatura.

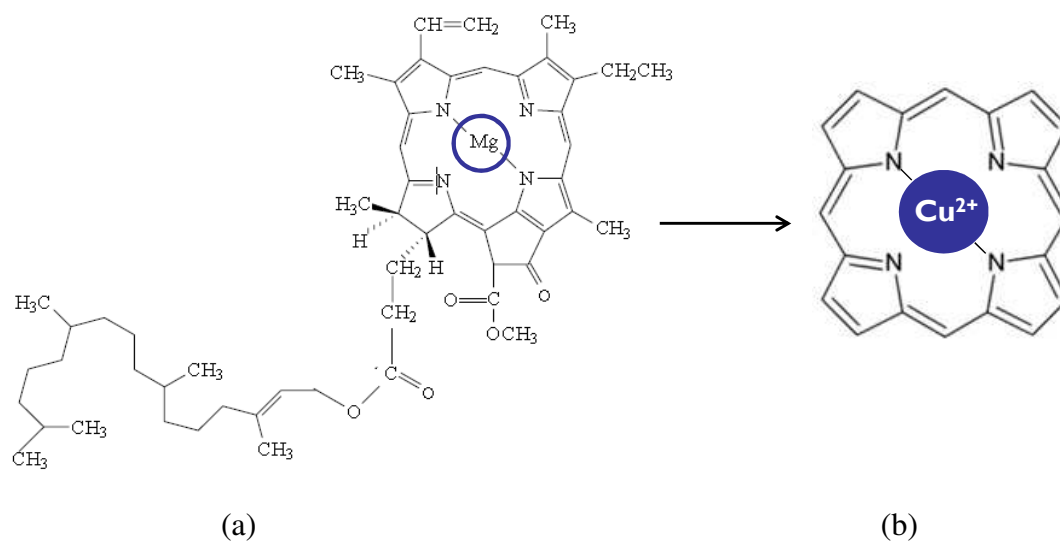


Figura 50. Esquema de representação da substituição do magnésio pelo íon de cobre: (a) estrutura básica das clorofilas e (b) parte estrutural das clorofilinas cúpricas.

5.4.2.3 – Parâmetro b*

O parâmetro b* diminuiu significativamente ($p \leq 0,05$) quando se manteve a temperatura em 10°C e aumentou a IL de 0 para 1000 Lux (Figura 51). Os filmes F-CLO expostos à 50°C e ausência de luz (0 Lux) apresentaram alteração significativa, tendendo os filmes à coloração azul. A condição de 50°C/1000 Lux não alterou significativamente, indicando que a IL não promoveu

mudança de cor nos filmes F-CLO à esta temperatura. Diante desses resultados, pode-se concluir que a IL interferiu na alteração de cor dos filmes somente quando estudado a temperatura de 10°C e que o aumento da temperatura apresentou tendência em tornarem os filmes mais azuis. Visualmente estas alterações não foram perceptíveis. Esse comportamento foi prejudicial para obtenção do sistema de embalagem inteligente proposto.

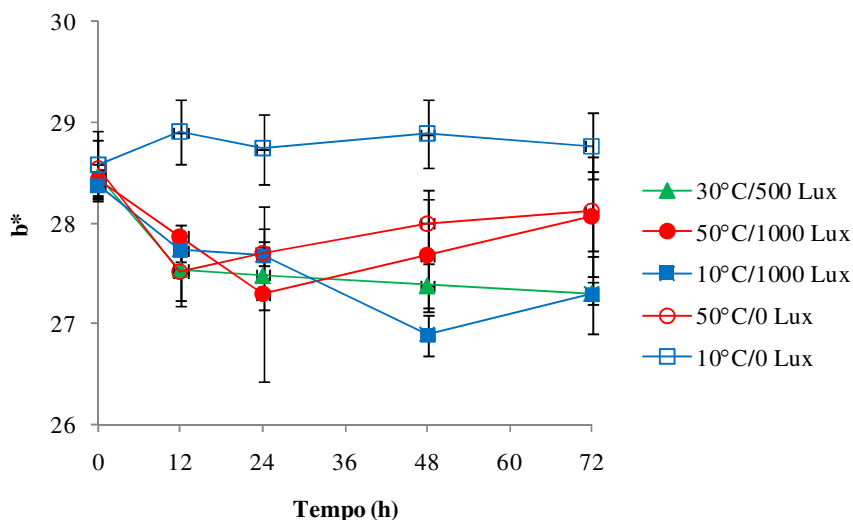


Figura 51. Parâmetro de cor b^* dos filmes F-CLO durante 72 horas de exposição a diferentes condições de temperatura e IL.

Resultados semelhantes foram encontrados por Gonçalves *et al.* (2009) que pesquisando a cinética de degradação de brócolis antes e após o branqueamento (70-90°C) verificaram que apesar das pequenas alterações nos parâmetros de cor, o vegetal continuou com sua cor verde brilhante, não como a inicial, mas sem mudanças visuais significativas. Esta alteração de cor observada, não perceptível visualmente, foi explicada pela conversão da clorofila em feofitinas, que ocorre quando a clorofila perde seu átomo de magnésio e ganha um hidrogênio, apresentando coloração verde-oliva (TIJSKENS; SCHIJVENS; BIEKMAN, 2001).

Assim, após a análise dos três parâmetros de cor L^* , a^* , b^* dos filmes F-CLO foi observado que apesar das alterações encontradas pelo colorímetro, visualmente não houveram modificações, indicando que no intervalo escolhido para estudar a temperatura (10-50°C) e a IL (0-1000 Lux), a coloração dos filmes não foi alterada.

5.4.3 – Efeitos da Temperatura e Intensidade Luminosa: Planejamento Experimental - Filmes F-CLO

O objetivo dessa etapa foi verificar os efeitos que a temperatura e IL ocasionaram nos filmes F-CLO após 72 horas de exposição, avaliando como respostas os parâmetros de cor e propriedades mecânicas. O tempo de 72 horas foi escolhido, pois após este período foram observados valores semelhantes, sem variações significativas.

5.4.3.1 – Parâmetros de Cor e Propriedades Mecânicas

Os parâmetros de cor L^* , h_{ab} e as propriedades mecânicas dos filmes F-CLO foram avaliados após 72 horas de exposição em diferentes condições de temperatura e IL (Tabela 16).

Tabela 16. Matriz do planejamento experimental para duas variáveis, utilizando-se filmes F-CLO e a resposta em parâmetros de cor e propriedades mecânicas.

Ensaio	Variáveis Independentes		Respostas				
	Temperatura (°C)	IL (Lux)	L^*	h_{ab} (°)	ε (%)	Tr (MPa)	E (GPa)
1	-1 (10)	-1 (0)	58,49	131,92	3,73	57,79	3,15
2	+1 (50)	-1 (0)	54,64	132,58	4,09	64,98	3,11
3	-1 (10)	+1 (1000)	57,07	131,53	4,22	56,07	3,08
4	+1 (50)	+1 (1000)	57,68	130,93	4,13	64,07	3,15
5	0 (30)	0 (500)	56,51	131,60	2,49	64,60	3,24
6	0 (30)	0 (500)	56,86	131,43	2,46	64,06	3,25
7	0 (30)	0 (500)	57,07	131,09	2,46	64,45	3,27

Os efeitos que as duas variáveis estudadas (temperatura e IL) exerceram sobre o parâmetro de luminosidade L^* nos filmes F-CLO são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17. Efeito estimado, erro padrão e grau de significância estatística para o parâmetro de cor L* dos filmes F-CLO.

Fatores	Efeitos	Erro padrão	p-valor
Média	56,90	0,10	<0,0001
Temperatura*	-1,62	0,26	0,008
IL*	0,81	0,26	0,052
Temperatura x IL*	2,23	0,26	0,003

*Fatores estatisticamente significativos ($p < 0,1$).

Para um nível de confiança de 90% ($p \leq 0,1$), a temperatura, IL e a interação entre as duas exerceram efeito significativo no parâmetro L*. A *Equação 6* apresenta o modelo matemático construído considerando a significância das variáveis.

$$L^* = 56,90 - 0,81 * Temp + 0,40 * IL + 1,11 * Temp * IL \quad Eq. 6$$

Onde: Temp = temperatura e IL = intensidade luminosa.

O aumento da temperatura de 10°C para 50°C provocou uma redução no parâmetro de luminosidade L* dos filmes F-CLO na ordem de 1,62, tendendo ao escurecimento. A interação entre temperatura e IL provocou descoloração dos filmes, pela alteração positiva do parâmetro L* na ordem de 2,23.

A ANOVA para o parâmetro de luminosidade L* dos filmes F-CLO apresentou valores de $R^2 = 0,97$ e $F_{cal} = 40,8$ (Tabela 18). Como o F_{cal} obteve valor maior que o F_{tab} (5,39), foi possível obter a superfície (Figura 52), sendo, portanto, o modelo gerado significativo e preditivo.

Tabela 18. ANOVA para o parâmetro de luminosidade L* dos filmes F-CLO.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{cal}
Regressão	8,2533	3	2,7511	40,8
Resíduos	0,2022	3	0,0674	
Total	8,4555	6	1,4092	

% variação explicada (R^2) = 97,61; $F_{3; 3; 0,1} = 5,39$

Em temperatura e IL mais baixa (10°C e 0 Lux), maiores valores de L^* foram obtidos, ou seja, os filmes F-CLO tenderam a ser mais claros.

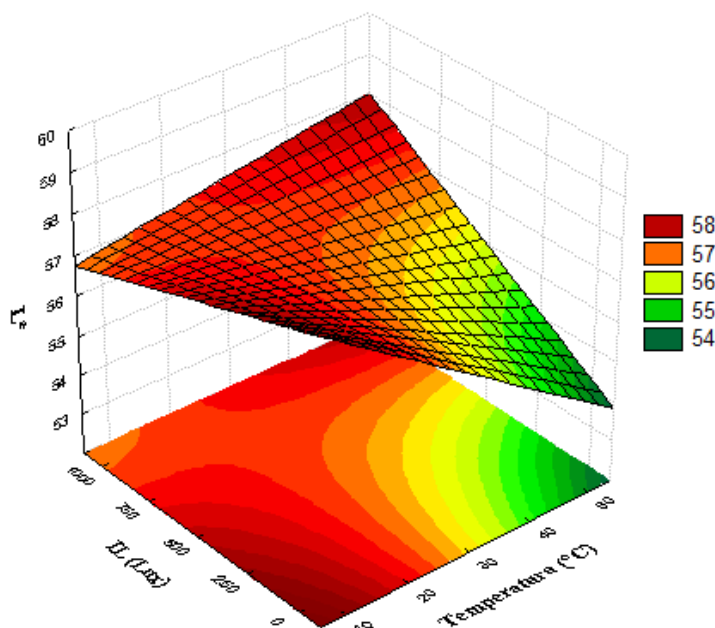


Figura 52. Superfície de resposta para o parâmetro L^* dos filmes F-CLO em função da temperatura e IL.

Apenas a IL promoveu efeito significativo no parâmetro h_{ab} , observando que o aumento de 0 para 1000 Lux, reduziu os valores na ordem de 1,02, tendendo a coloração mais amarela dos filmes F-CLO (Tabela 19).

Tabela 19. Efeito estimado, erro padrão e grau de significância para o parâmetro h_{ab} dos filmes F-CLO.

Fatores	Efeitos	Erro padrão	p-valor
Média	131,58	0,13	<0,0001
Temperatura	0,03	0,35	0,937
IL*	-1,02	0,35	0,061
Temperatura x IL	-0,63	0,35	0,169

*Fatores estatisticamente significativos ($p < 0,1$).

As alterações medidas pelo colorímetro não foram observadas visualmente, o que não é favorável, indicando que o sistema não foi capaz de evidenciar variações de temperatura.

O R^2 obtido para a resposta h_{ab} foi de 0,80, considerado baixo para este processo, tornando o modelo não significativo e preditivo. Além disso, a superfície ainda não pôde ser gerada porque o F_{cal} (3,94) foi menor que o F_{tab} (5,39) (Tabela 20).

Tabela 20. ANOVA para o parâmetro de cor h_{ab} dos filmes de quitosana contendo CLO.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{cal}
Regressão	1,4382	3	0,4794	3,94
Resíduos	0,3654	3	0,1218	
Total	1,8035	6		

% variação explicada (R^2) = 80,0; $F_{3; 3; 0,1} = 5,39$

Apesar da variação numérica dos parâmetros de cor, não foi possível visualizar a mudança colorimétrica dos filmes F-CLO. Este fenômeno foi associado à alta concentração de sólidos totais nos mesmos e também ao uso de clorofilina ao invés da clorofila, que por motivos já relatados anteriormente, trata-se de um composto mais estável, dificultando a perda de cor na presença de IL e variações de temperatura (STREIT *et al.*, 2005; VOLP; RENHE; STRINGUETTA, 2009).

As propriedades mecânicas, deformação (ϵ), tensão na ruptura (Tr) e módulo de rigidez (E) dos filmes F-CLO, foram avaliadas após exposição em diferentes temperaturas e IL.

Para as respostas ϵ e E, a temperatura, IL e interação entre elas, não influenciaram significativamente ($p \leq 0,1$), no intervalo estudado. Segundo Rodrigues e Iema (2005) quando nenhuma das variáveis é significativa, não é necessário gerar a tabela ANOVA. A influência de cada uma das variáveis pode ser analisada nas Figuras 1 e 2 do Anexo II, item II.3 deste trabalho.

Apenas a temperatura apresentou efeito significativo ($p \leq 0,1$) para a Tr dos filmes F- CLO, dentro da faixa estudada (Figura 53).

A Tr diminuiu na ordem de 2,74 MPa ao diminuir a temperatura de 50°C para 10°C, independente da IL utilizada. Essa diminuição indica que o filme perde a sua resistência inicial após exposição em temperaturas mais altas.

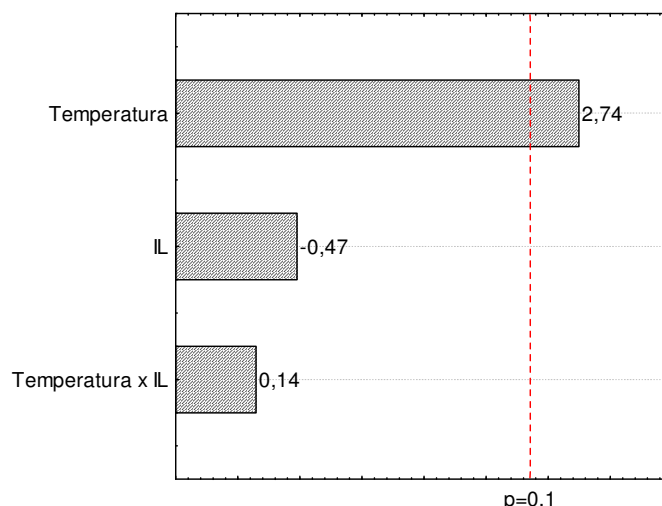


Figura 53. Efeitos das variáveis temperatura, IL e a interação entre as duas na Tr dos filmes F-CLO.

Pela Tabela 21, que apresenta a ANOVA para a Tr, pode-se verificar que o R^2 foi de 0,72 e que o F_{cal} de 2,60 foi menor que o F_{tab} de 5,39. Com estas condições, o modelo matemático obtido não foi significativo e preditivo, o que não permitiu gerar a superfície.

Tabela 21. ANOVA para a Tr dos filmes de quitosana contendo CLO.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{cal}
Regressão	59,5360	3	19,84	2,60
Resíduos	22,9264	3	7,64	
Total	82,4624	6		

% variação explicada (R^2) = 72,2; $F_{3; 3; 0,1}$ = 5,39

A influência da temperatura sobre a Tr, pode estar associada à evaporação do solvente da matriz dos filmes com o aumento da temperatura. A água atua como um agente plastificante na matriz filmogênica de polímeros naturais e, sua eliminação, pode influenciar nas propriedades mecânicas finais, reduzindo a flexibilidade e aumentando a resistência (FENNEMA, 2000).

5.4.4 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para Filmes F-CLO

A microestrutura dos filmes de quitosana contendo ou não CLO foi avaliada para verificar a compatibilidade entre os componentes. Foi possível observar a uniformidade e homogeneidade entre a quitosana e a CLO. A superfície das amostras apresentou-se homogênea, indicando que houve miscibilidade da CLO na matriz do filme de quitosana (Figura 54).

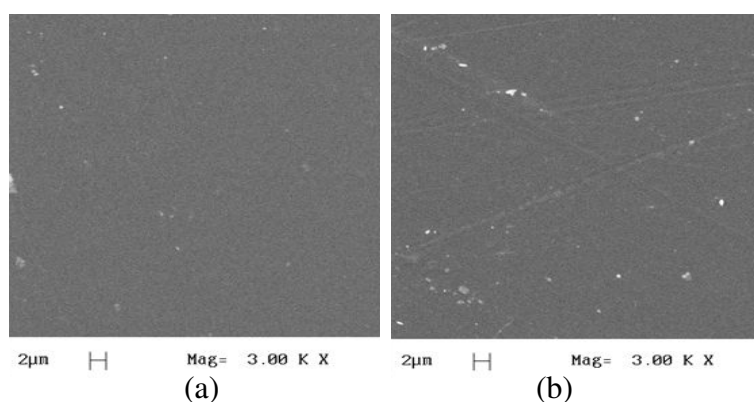


Figura 54. Micrografias da região superficial de: (a) Filme de quitosana e (b) Filme F-CLO.

As micrografias obtidas na seção transversal dos filmes de quitosana contendo ou não CLO estão apresentadas na Figura 55.

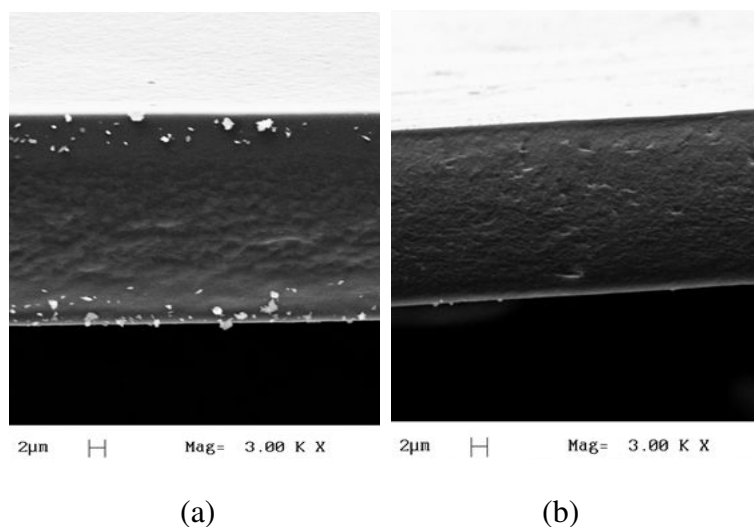


Figura 55. Micrografias da secção transversal de: (a) Filme de quitosana e (b) Filme F-CLO.

As amostras contendo ou não CLO apresentaram-se similares, uniformes, coesas e compactas. Isto indicou que a CLO foi solubilizada e distribuída uniformemente na matriz. Não foi observado poros ou falhas na estrutura, o que é vantajoso, tendo em vista que isto influencia diretamente nas propriedades mecânicas dos filmes.

5.4.5 – Sistema Filme-Papel Cartão Contendo CLO (FP-CLO)

Suspensões de quitosana contendo CLO foram aplicadas como revestimento em superfícies de papel cartão formando o sistema FP-CLO. Esta etapa visou reduzir o tempo de secagem de 60 horas (filmes de quitosana contendo CLO) para 90 segundos, facilitando a produção e comercialização em grande escala deste dispositivo e verificar se seria possível visualizar a alteração de cor, reduzindo a quantidade de sólidos totais depositados no papel.

Os revestimentos apresentaram boa aderência à superfície do papel cartão, não sendo observada a formação de poros ou defeitos, obtendo-se um sistema de coloração esverdeada e homogêneo (Figura 56).

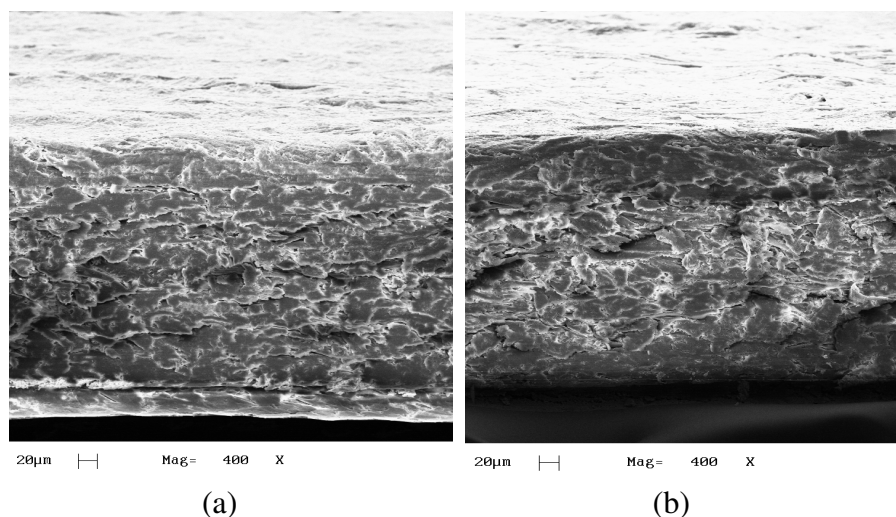


Figura 56. Micrografias da secção transversal do sistema FP-CLO para: (a) papel sem revestimento; (b) revestido com 2% QT/0,25% CLO.

As imagens da secção transversal do sistema FP-CLO não apresentaram diferença para as imagens do papel sem revestimento, indicando que a quantidade de sólidos totais na superfície foi absorvida pelas fibras de celulose.

O sistema FP-CLO foi exposto na presença (1000 Lux) e ausência (0 Lux) de IL onde foi observado alteração irreversível de cor após exposição a 50°C/1000 Lux e 75°C/0 Lux. As medidas foram feitas após 72 horas, com alteração da cor inicialmente verde para amarelo proporcionalmente com o aumento da temperatura (Figura 57).

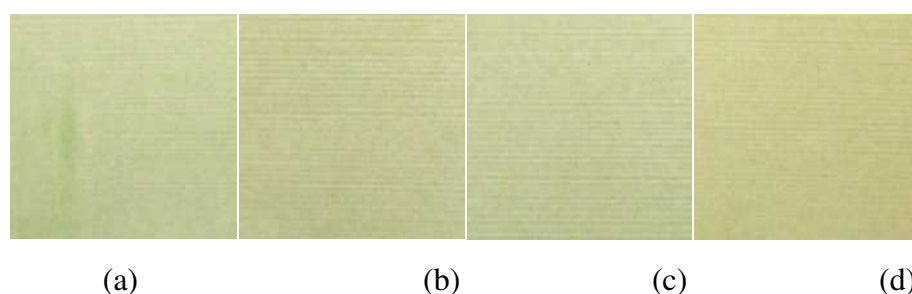


Figura 57. Variação de cor dos sistemas FP-CLO após 72 horas expostos a: (a) Controle – 25°C/0 Lux; (b) 50°C/1000 Lux; (c) 60°C/0 Lux e (d) 75°C/0 Lux.

Na condição controle (Figura 57a), o sistema manteve sua cor inicial, não sendo observada alteração entre o início e o final do processo. Na condição de 50°C/1000 Lux a alteração de cor foi mais visível, onde o sistema FP-CLO começou a apresentar coloração amarelada (Figura 57b). Na condição de 60°C/0 Lux (Figura 57c), o sistema tendeu à descoloração quando comparado à condição controle. A condição de 75°C/0 Lux (Figura 57d) alterou significativamente a cor do sistema FP-CLO para amarelo.

As alterações de cor do sistema FP-CLO observadas visualmente foram confirmadas pelas medidas realizadas no colorímetro (Tabela 22).

O sistema FP-CLO manteve sua cor inicial após exposição de 72 horas a 25°C/0 Lux, sem alteração significativa dos parâmetros L^* , a^* , b^* . Ao submeter o sistema FP-CLO à 50°C/1000 Lux houve alteração estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) nos parâmetros a^* e b^* , tendendo o

sistema a perder coloração verde e adquirir tons de amarelo. Para a condição de 60°C/0 Lux, o sistema não apresentou alteração estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) quando comparada à condição controle. A condição de 75°C/0 Lux obteve alteração significativa no parâmetro b^* , tendendo à coloração amarela.

Tabela 22. Avaliação dos parâmetros de cor do sistema FP-CLO.

Condições	L^*	a^*	b^*
25°C/0 Lux (Controle)	84,59±0,26 ^a	-3,42±0,26 ^a	9,65±0,28 ^a
50°C/1000 Lux	84,86±0,21 ^a	-2,51±0,07 ^b	10,24±0,22 ^b
60°C/0 Lux	84,53±0,13 ^a	-3,19±0,07 ^{ac}	9,79±0,11 ^{ab}
75°C/0 Lux	84,23±0,04 ^a	-2,96±0,11 ^c	11,79±0,15 ^c

Ao contrário do observado nos filmes F-CLO, no sistema FP-CLO foi possível visualizar alterações de cor. Isto foi associado à maior exposição da CLO incorporada à matriz do filme de quitosana, visto que a quantidade de sólidos totais no sistema FP-CLO (0,157 g/m²) foi menor ao ser comparado à dos filmes F-CLO (28,2 g/m²). Estes resultados indicaram que o sistema FP-CLO apresenta potencial de aplicação como indicadores de variação de temperatura.

CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES

Filmes F-ATH

- Filmes de quitosana (2%, m/m) contendo 0,25% (m/m) de ATH alteraram significativamente de roxo para ligeiramente preto após exposição a 10°C/0 Lux e 50°C/1000 Lux.
- A temperatura influenciou significativamente os parâmetros de cor L^* e h_{ab} , enquanto que a IL teve efeito significativo sobre o parâmetro L^* e propriedade mecânica de módulo de Young (E).
- As micrografias indicaram miscibilidade da ATH na matriz dos filmes de quitosana.

Sistema FP-ATH

- O sistema FP-ATH representa uma alternativa ecologicamente correta para indicar variações de temperatura, por sinal colorimétrico. Quando o produto é exposto ao intervalo de temperatura de 40-70°C, ocorre alteração irreversível da cor roxo para amarelo.
- Quanto às propriedades do papel, a gramatura foi alterada na ordem de 1,01% aplicando 4% QT/0,50% ATH. Para a absorção de água, houve diminuição na ordem de 22-27% aplicando 2% de QT e variando a concentração de ATH. A rigidez (longitudinal e transversal) foi maior quando se aplicou os diferentes revestimentos comparando-se com o papel sem revestimento.
- A análise sensorial demonstrou que o sistema FP-ATH exposto à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux apresentou alteração estatisticamente significativa (0,1%) da cor para as duas condições estudadas.

- Os testes de estabilidade indicaram que apesar da tendência do sistema FP-ATH em alterar sua cor durante o armazenamento, este apresentou mudança significativa da cor quando avaliada sua eficiência após 108 dias de estocagem.

Filmes F-CLO

- Os filmes F-CLO formaram um indicador de temperatura, porém não foi verificada alteração visual de cor.
- A temperatura influenciou significativamente os parâmetros de cor L^* e h_{ab} , enquanto que a IL teve efeito significativo sobre o parâmetro L^* e propriedade mecânica de tensão na ruptura (Tr).
- As micrografias indicaram miscibilidade da ATH na matriz dos filmes de quitosana.

Sistema FP-CLO

- O sistema FP-CLO atuou como indicador colorimétrico de temperatura específico para o intervalo de 50° a 75°C, observando alteração irreversível de verde para amarelo quando exposto nesta faixa de temperatura.
- As micrografias indicaram compatibilidade entre o papel e a suspensão de quitosana contendo CLO, formando um sistema homogêneo, sem poros ou defeitos.

Materiais alternativos de embalagens com capacidade de variação de cor irreversível em intervalos específicos de temperatura foram obtidos a partir de filmes de quitosana contendo pigmentos naturais aplicados como revestimento em papel cartão. As vantagens destes sistemas são a biodegradabilidade, simples fabricação e serem constituído por materiais naturais e seguros para uso em contato com alimentos.

O potencial de aplicação destes sistemas está em diferentes áreas como indústrias de alimentos, fármacos, biológicos entre outras, onde a qualidade e segurança dependem do controle das condições de temperatura durante transporte e estocagem.

CAPÍTULO 7 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

7 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar outros pigmentos naturais termossensíveis, com diferentes temperaturas de estabilidade.
- Estudar novos intervalos de temperatura para o sistema de embalagem FP-ATH.
- Estudar diferentes concentrações de clorofila como indicador de variação de temperatura para filmes de quitosana e para o sistema filme-papel cartão.
- Realizar um estudo sobre a vida de prateleira do sistema filme-papel cartão contendo antocianina.

CAPÍTULO 8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **NBR 5413**: Iluminância de interiores, 1992.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução CNNPA nº 44, de 1977 – D.O.U. de 01/02/1978.

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **NBR 12995**: Teste triangular em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1993.

ADAMS, J. B. Thermal degradation of anthocyanins with particular reference to the 3-glycosides of cyaniding. I. In acidified aqueous solution at 100°C. *Journal of Science and Food Agriculture*, v. 24, p. 747-750, 1973.

AHMED, J.; SHIVHARE, U. S.; DEBNATH, S. Colour degradation and rheology of green chilli puree during thermal processing. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 37, p. 57-63, 2002.

AHVENAINEN, R. Active and Intelligent Packaging: an Introduction. In: R. AHVENAINEN (Ed.). *Novel Food Packaging Techniques*. Finland: CRC Press, 2003. p. 5-21.

AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry. *Food Science and Technology*, v. 43, p. 837-842, 2010.

ALIGHOURCHI, H.; BARZEGAR, M. Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal of Food Engineering*, v. 90, p. 179-185, 2009.

ANDERSSON, C. New ways to enhance the functionality of paperboard by surface treatment – a review. *Packaging Technology and Science*, v. 21, p. 1-35, 2008.

ARAÚJO, J. M. A. *Química de alimentos: teoria e prática*. Viçosa: UFV, 1995. 596 p.

ASHORI, A.; RAVERTY, W. D.; VANDERHOEK, N.; WARD, J. V. Surface topography of kenaf (*Hibiscus cannabinus*) sized papers. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 404-410, 2008.

ASTM. *Tensile properties of thin plastic sheeting*. Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, D882, 1995.

ASTM. Water Absorptiveness of nonbibulous paper and paperboard (Cobb Test). *American Society for Testing and Materials*, Philadelphia, D3285 (1999).

ASTM. Resistance to Bending of Paper and Paperboard (Taber- Type Tester in Basic Configuration). Annual Book of ASTM Standards. *American Society for Testing and Materials*, Atlanta, D5342 (2002).

- BATTISTI, M. V.; CAMPANA-FILHO, S. Preparation and characterization of α -chitin and chitosan from the shells of *Macrobrachium rosenbergii*. *Química Nova*, v. 31, p. 2014-2019, 2008.
- BAYDAR, N. G.; ÖZKAN, G.; SAGDIC, O. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape *Vitis vinifera* L. extracts. *Food Control*, v. 15, p. 335-339, 2004.
- BÉGIN A.; CALSTEREN, M-R. V. Antimicrobial films produced from chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 26, p. 63-67, 1999.
- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. *Introdução à química de alimentos*. São Paulo: Varela, 2003. 223 p.
- BOHN, T.; WALCZYK, T. Determination of chlorophyll in plant samples by liquid chromatography using zinc-phthalocyanine as an internal standard. *Journal of Chromatography A*, v. 1024, p. 123-128, 2004.
- BOLIVAR, A. C. C.; CISVEROS-ZEVALLOS, L. Stability of anthocyanin-based aqueous extract of andean purple corn and red-flushed sweet potato compared to synthetic and natural colourants. *Food Chemistry*, v. 86, p. 66-97, 2004
- BORDENAVE, N.; GRELIER, S.; PICHAVANT, F.; COMA, V. Water and Moisture Susceptibility of Chitosan and Paper-Based Materials: Structure–Property Relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 9479-9488, 2007.
- BORDENAVE, N.; GRELIER, S.; COMA, V. Hydrophobization and Antimicrobial Activity of Chitosan and Paper-Based Packaging Material. *Biomacromolecules*, v. 11, p. 88-96, 2010.
- BOX, G. E.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. *Statistics for experiments: an introduction to design, data analysis and model building*. New York: Wiley, 1978. 653 p.
- BOWYER, J. R.; LEEGOOD, R. C. Photosynthesis. In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B (Eds.). *Plant biochemistry*. London: Academic Press, 1997. p. 49-110.
- BRODY, A. L.; STRUPINSKY, E. R.; KLINE, L. R. *Active packaging for food applications*. Lancaster: Technomic Publishing, 2001. 236 p.
- BRODY, A. L.; BUGUSU, B.; HAN, J. H.; SAND, C. K.; MCHUGH, T. H. Innovative Food Packaging Solutions. *Journal of Food Science*, v. 73, p. R107-R116, 2008.
- BROUILLARD, R.; DUBOIS, J. E. Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in aqueous media. *Journal of American Chemistry Society*, v. 99, p. 1359-1363, 1977.
- BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.). *Anthocyanins as food colors*. New York: Academic Press, 1982. p. 1-39.

- BUTLER, P. The whole package. *Materials Today*, v. 9, p. 64, 2006.
- CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Properties of chemically modified gelatin films. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 23, p. 45-53, 2006.
- CHEN, X. G.; ZHENG, L.; WANG, Z.; LEE, C. Y.; PARK, H. J. Molecular affinity and permeability of different molecular weight chitosan membranes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 5915–5918, 2002.
- CHEN, M-C.; YEH, G. H-C.; CHIANG, B-H. Antimicrobial and physicochemical properties of methyl cellulose and chitosan films containing a preservative. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 20, p. 379-390, 1996.
- CHI, H.; LI, H.; LIU, W.; ZHAN, H. The retention- and drainage-aid behavior of quaternary chitosan in papermaking system. *Colloids and Surfaces A: Physicochemistry Engineering Aspects*, v. 297, p. 147-153, 2007.
- CHOUBERT, G.; BACCAUNAUD, M. Colour changes of fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) fed astaxanthin or canthaxanthin during storage under controlled or modified atmosphere. *Food Science and Technology*, v. 39, p. 1203-1213, 2006.
- CLARKE, R. Radio frequency identification: smart or intelligent packaging. *Journal Packaging Science Technology*, v. 10, p. 233-47, 2001.
- CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes alimentícios. *Boletim CEPPA*, v. 20, p. 203-220, 2002
- DAINELLI, D.; GONTARD, N.; SPYROPOULOS, D.; ZONDERVAN-VAN DEN BEUKEN, E.; TOBBACK, P. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. *Trends in Food Science & Technology*, v. 19, p. S103–S112, 2008.
- DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains: Characteristics, Biosynthesis, Processing and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 40, p. 173–289, 2000.
- DERGAL, S. B. *Química de los alimentos*. 4 ed. Nancalpon de Juárez: Longman de México, 2006. 736 p.
- DUFOSSÉ, L. Microbial Production of Food Grade Pigments. *Food Technology and Biotechnology*, v. 44, p. 313-321, 2006.
- DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, v. 114, p. 1173-1182, 2009.
- FAN, W.; SUN, J.; CHEN, Y.; QIU, J.; ZHANG, Y.; CHI, Y. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, v. 115, p. 66-70, 2009.

- FENNEMA, O. R. *Química de los Alimentos*. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 2000. 1280 p.
- FERNANDES, S. C. M.; FREIRE, C. S. R.; SILVESTRE, A. J. D.; NETO, C. P.; GANDINI, A.; DESBRIÈRES, J.; BLANC, S.; FERREIRA, R. A. S.; CARLOS, L. D. A study of the distribution of chitosan onto and within a paper sheet using a fluorescent chitosan derivative. *Carbohydrate Polymers*, v. 78, p. 760-766, 2009.
- FERNANDES, S. C. M.; FREIRE, C. S. R.; SILVESTRE, A. J. D.; DESBRIÈRES, J.; GANDINI, A.; NETO, C. P. Production of Coated Papers with Improved Properties by Using a Water-Soluble Chitosan Derivative. *Industry and Engineering Chemistry Research*, v. 49, p. 6432-6438, 2010.
- FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. *Critical Review of Food Science and Nutrition*, v. 28, p. 273-314, 1989.
- FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. *Cereal Foods World*, v. 45, p. 208-213, 2000.
- GALAGAN, Y.; SU, W-F. Fadable ink for time-temperature control of food freshness: Novel new time-temperature indicator. *Food Research International*, v. 41, p. 653-657, 2008.
- GÄLLSTEDT, M.; HEDENQVIST, M. S. Packaging-related mechanical and barrier properties of pulp-fiber-chitosan sheets. *Carbohydrate Polymers*, v. 63, p. 46-53, 2006.
- GASTALDI, E.; CHALIER, P.; GUILLEMIN, A.; GONTARD, N. Microstructure of protein-coated paper as affected by physico-chemical properties of coating solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemistry Engineering Aspects*, v. 301, p. 301-310, 2007.
- GIANNAKOUROU, M. C.; KOUTSOUMANIS, K.; NYCHAS, G. J. E.; TAOUKIS, P. S. Field evaluation of the application of time temperature integrators for monitoring fish quality in the chill chain. *International Journal of Food Microbiology*, v. 102, p. 323- 336, 2005.
- GOLDBERG, I. *Functional foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals*. New York: Chapman & Hall, 2001. 542 p.
- GONÇALVES, E. M.; PINHEIRO, J.; ALEGRIA, C.; ABREU, M.; BRANDA, T. R. S.; SILVA, C. L. M. Degradation Kinetics of Peroxidase Enzyme, Phenolic Content, and Physical and Sensorial Characteristics in Broccoli (*Brassica oleracea* L. ssp. *Italica*) during Blanching. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 5370-5375, 2009.
- GROSS, J. *Pigments in fruits: chlorophylls and carotenoids*. London: Academic, 1987. 303 p.
- GUILLAUME, C.; PINTE, J.; GONTARD, N.; GASTALDI, E. Wheat gluten-coated papers for bio-based food packaging: Structure, surface and transfer properties. *Food Research International*, v. 43, p. 1395-1401, 2010.

- HAGIWARA, A.; MIYASHITA, K.; NAKANISHI, T.; SANO, M.; TAMANO, S.; KADOTA, T. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn colour, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Letters*, v. 171, p.17-25, 2001
- HAM-PICHAVANT, F.; SÈBE, G.; PARDON, P.; COMA, V. Fat resistance properties of chitosan-based paper packaging for food applications. *Carbohydrate Polymers*, v. 61, p. 259-265, 2005.
- HAN, J. H.; KROCHTA, J. M. Physical Properties and Oil Absorption of Whey-Protein-Coated Paper. *Food of Food Science*, v. 66, p. 294-299, 2001.
- HAN, J. H.; HO, C. H. L.; RODRIGUES, E. T. Intelligent Packaging. *Innovations in Food Packaging*, p. 138-155, 2005.
- HAN, J.; SALMIERI, S.; TIEN, C.; LACROIX, M. Improvement of Water Barrier Property of Paperboard by Coating Application with Biodegradable Polymer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, p. 3125-3131, 2010.
- HARBORNE, J. B. *The flavonoids, advances in research since 1986*. London: Chapman & Hall, 1993. 676 p.
- HASLER, C. M. The changing face of functional foods. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 19, p. 499S-506S, 2000.
- HENDRICKX, M.; MAESMANS, G.; DE CORDT, S.; NORONHA, J.; DE LOEY, J.; TOBBACK, P. Evaluation of the integrated time-dependent effect in thermal processing of foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 35, p. 231-262, 1995.
- IACOBUCCI, G. A.; SWEENEY, J. G. The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins, and related flavilium salts. *Tetrahedron Letters*, v. 39, p. 3005-3012, 1983.
- JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. (Eds.). *Natural Food Colorants*. 2 ed. London: Chapman & Hall, 1996. p. 245-309.
- JANNA, O. A.; KHAIRUL, A. K.; MAZIAH, M. Anthocyanin stability studies in *Tibouchina semidecandra* L. *Food Chemistry*, v. 101, p. 1640-1646, 2007.
- JO, C.; LEE, J. W.; LEE, K. H.; BYUN, M. W. Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. *Meat Science*, v. 59, p. 369-375, 2001.
- JONHED, A.; ANDERSSON, C.; JÄRNSTRÖM, L. Effects of Film Forming and Hydrophobic Properties of Starches on Surface Sized Packaging Paper. *Packaging Technology and Science*, v. 21, p. 123-135, 2008.

- KAPADIA, H.; HASHIMOTO, Y.; KOIDE, T.; KOJIMA, T.; KASEGAWA, M. Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced Epstein vírus early antigen activation by natural colorants. *Cancer Letters*, v. 115, p. 173-178, 1997.
- KASIM, R.; KASIM, M. U. Inhibition of yellowing in Brussels sprouts (*B. oleracea* var. *gemmifera*) and broccoli (*B. oleracea* var. *italica*) using light during storage. *Journal of Food Agriculture and Environment*, v. 5, p. 126-130, 2007.
- KERRY, J. P.; O'GRADY, M. N.; HOGAN, S. A. Past, current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: a review. *Meat Science*, v. 74, p. 113-30, 2006.
- KIM, K. W.; MIN, B. J.; KIM, Y-T; KIMMEL, R. M.; COOKSEY, K.; PARK, S. I. Antimicrobial activity against foodborne pathogens of chitosan biopolymer films of different molecular weights. *Food Science and Technology*, v. 44, p. 565-569, 2011.
- KIRCA, A.; ÖZKAN, M.; CEMEROGLU, B. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. *Food Chemistry*, v. 97, p. 598-605, 2006.
- KIRWAN, M. J. *Paper and paperboard packaging technology*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2005. 434 p.
- KONDO, T.; KOSCHELLA, A.; HEUBLEIN, B.; KLEMM, D.; HEINZE, T. Hydrogen bond formation in regioselectively functionalized 3-mono-O-methyl cellulose. *Carbohydrate Research*, v. 343, p. 2600-2604, 2008.
- KONG, J-M.; CHIA, L-S.; GOH, N-K.; CHIA, T-F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, v. 64, p. 923-933, 2003.
- KRUIJF, N.; VAN BEEST, M.; RIJK, R.; SIPILÄINEN-MALM, T.; PASEIRO LOSADA, P.; MEULENAER, B. Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. *Food Additives and Contaminants*, v. 19, p. 144-162, 2002.
- KUUSIPALO, J.; KAUNISTO, M.; LAINE, A.; KELLOMÄKI, M. Chitosan as a coating additive in paper and paperboard. *Tappi Journal*, v. 4, p. 17-21, 2005.
- KJELLGREN, H.; GÄLLSTEDT, M.; ENGSTRÖM, G.; JÄRNSTRÖM, L. Barrier and surface properties of chitosan-coated greaseproof paper. *Carbohydrate Polymers*, v. 65, p. 453-460, 2006.
- LAJOLO, F. M.; TANNENBAUM, S. R.; LABUZA, T. P. Reaction at limited water concentration. 2. Chlorophyll degradation. *Journal of Food Science*, v. 36, p. 850-853, 1971.
- LAROTONDA, F. D. S.; MATSUI, K. N.; SOBRAL, P. J. A.; LAURINDO, J. B. Hygroscopicity and water vapor permeability of Kraft paper impregnated with starch acetate. *Journal of Food Engineering*, v. 71, p. 394-402, 2005.

- MA, Y.; LIU, P.; SI, C.; LIU, Z. Chitosan Nanoparticles: Preparation and Application in Antibacterial Paper. *Journal of Macromolecular Science*, v. 49, p. 994-1001, 2010.
- MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. *Boletim CEPPA*, v. 24, p. 59-82, 2006.
- MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. (Ed.). *Anthocyanins as food colors*. New York: Academic Press, 1982. p. 163-180.
- MARSH, K.; BUGUSU, B. Food packaging: Roles, materials, and environmental issues. *Journal of Food Science*, v. 72, p. 39-55, 2007.
- MATSUI, K. N.; LAROTONDA, F. D. S.; PAES, S. S.; LUIZ, D. B.; PIRES, A. T. N.; LAURINDO, J. B. Cassava bagasse-Kraft paper composites: analysis of influence of impregnation with starch acetate on tensile strength and water absorption properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 55, p. 237-243, 2004.
- MAZZA, G.; MINIATI, E. *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*. Boca Raton: CRC Press, 1993. 362 p.
- MCLELLAN, M. R.; LIND, L. R.; KIME, R. W. Hue Angle Determinations and Statistical Analysis for Multiquadrant Hunter L,a,b Data. *Journal of Food Quality*, v. 18, p. 235-240, 1995.
- MUNASINGHE, M.; MCNEELY, J. Keys concepts and terminology of sustainable development. In: MUNASINGHE, M.; SHEARER, W. (Eds.). *Defining and measuring sustainability: the biogeophysical foundations*. Washington: The United Nations University & The World Bank, 1995.
- MUZZARELLI, R. A. A.; VINCENZI, M. Chitosans as dietary food additives. In: GOOSEN, M. F. A. (Ed.). *Applications of chitin and chitosan*. Maryland: Technomic Publishing Company, 1997, p. 1128-1152.
- NETZ, P. A.; ORTEGA, G. G. *Fundamentos de Físico-química*. São Paulo: Artmed, 2002. 300 p.
- NOPWINYUWONG, A.; TREVANICH, S.; SUPPAKUL, P. Development of a novel colorimetric indicator label for monitoring freshness of intermediate-moisture dessert spoilage. *Talanta*, v. 81, p. 1126-1132, 2010.
- NOTIN, L.; VITON, C.; DAVID, L.; ALCOUFFE, P.; ROCHAS, C.; DOMARD, A. Morphology and mechanical properties of chitosan fibers obtained by gel-spinning: Influence of the dry-jet-stretching step and ageing. *Acta Biomaterialia*, v. 2, p. 387-402, 2006.
- NUIN, M.; ALFARO, B.; CRUZ, Z.; ARGARATE, N.; GEORGE, S.; LE MARC, Y.; OLLEY, J.; PIN, C. Modelling spoilage of fresh turbot and evaluation of a time-temperature integrator (TTI) label under fluctuating temperature. *International Journal of Food Microbiology*, v. 127, p. 193-199, 2008.

- OKUMURA, F.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Identificação de pigmentos naturais de espécies vegetais utilizando-se cromatografia em papel. *Química Nova*, v. 25, p. 680-683, 2002.
- OLARTE, C.; SANZ, S.; ECHÁVARRI, J. F.; AYALA, F. Effect of plastic permeability and exposure to light during storage on the quality of minimally processed broccoli and cauliflower. *Food Science and Technology*, v. 42, p. 402-411, 2009.
- OUATTARA, B.; SIMARD, R. E.; PIETTE, G.; BEGIN, A.; HOLLEY, R. A. Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films. *Journal of Food Science*, v. 65, p. 768-773, 2000.
- PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; DA PIEVE, S.; BUTLER, F. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 10, p. 308-313, 2009.
- PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B.K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*, v. 21, p. 3-11, 2010.
- PETER, M. G. *Chitin and chitosan in fungi chitin and chitosan from animal sources*. v. 6. University of Potsdam, Weinheim:Wiley-UCH, 2002.
- PINOTTI, A.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Study on microstructure and physical properties of composite films based on chitosan and methylcellulose. *Food Hydrocolloids*, v.21, p. 66-72, 2007.
- POLICARPO, V. M. N.; BORGES, S. V.; ENDO, E.; CASTRO, F. T.; DAMICO, A. A.; CAVALCANTI, N. B. Estabilidade da cor de doces em massa de polpa de umbu (*spondias tuberosa* arr. Cam.) no estágio de maturação verde. *Ciência Agrotécnica*, v. 31, p. 1102-1107, 2007.
- QUINTAVALLA, S.; VICINI, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, v. 62, p. 373-380, 2002.
- REIN, M. *Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins*. Helsinki: University of Helsinki, 2005. p. 10-14.
- REIS, A. B.; YOSHIDA, C. M. P.; REIS, A. P. C.; FRANCO, T. T. Emulsion chitosan application as coating on Kraft paper. *Polymer International*, DOI: 10.1002/pi.3023, 2011.
- RESTUCCIA, D.; SPIZZIRRI, U. G.; PARISI, O. I.; CIRILLO, G.; CURCIO, M.; IEMMA, F.; PUOCI, F.; VINCI, G.; PICCI, N. New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. *Food Control*, v. 21, p. 1425-1435, 2010.

- RHIM, J. W. Kinetics of thermal degradation of anthocyanin pigment solutions driven from red flower cabbage. *Food Science and Biotechnology*, v. 11, p. 361-364, 2002.
- RHIM, J. W.; LEE, J. H.; HONG, S. I. Increase in water resistance of paperboard by coating with poly(lactide). *Packaging Technology and Science*, v. 20, p. 393-402, 2007.
- RIJK, R. *Proceedings of a Conference on active and intelligent packaging development*. 19th International Conference: Plastics & Polymers in Contact with Foodstuffs. Edinburgh, Scotland: Pira Intl, 2002.
- ROBERTSON, G. L. *Food packaging: principles and practice*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 568 p.
- RODRIGUES, M. I.; IEMA, F. A. *Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos*. Campinas: Casa do Pão Editora, 2005. 326 p.
- ROSSO, VERIDIANA VERA *Composição de carotenóides e antocianinas em acerola. Estabilidade e atividade antioxidante em sistemas-modelo de extratos antociânicos de acerola e açaí*. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2006. 154 p. Tese (Doutorado).
- SANTOS, C. P.; REIS, I. N.; MOREIRA, J. E. B.; BRASILEIRO, L. B. Papel: como se fabrica? *Química Nova na Sociedade*, n. 14, p. 3-7, 2001.
- SANTOS PIRES, A. C.; SOARES, N. F. F.; SILVA, L. H. M.; SILVA, M. C. H.; ALMEIDA, M. V.; LEHYARIC, M.; ANDRADE, N. J.; SOARES, R. F.; MAGESTE, A. B.; REIS, S. G. A colorimetric biosensor for the detection of foodborne bactéria. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 153, p. 17-23, 2011.
- SCHWARTZ, S. J.; LORENZO, T. V. Chlorophylls in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 13, p. 1-17, 1990.
- SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V.; JEAN, Y. J. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology*, v. 10, p. 37-51, 1999.
- SHAHIDI, F.; NACZK, M. *Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications*. Lancaster: Technomic, 1995. 331 p.
- SHAKED-SACHRAY, L.; WEISS, D.; REUVERIN, M.; NISSIM-LEVI, A.; OREN-SHAMIR, M. Increased anthocyanin accumulation in aster flowers at elevated temperature due to magnesium treatment. *Journal of Plant Physiology*, v. 114, p. 559-565, 2002.
- SHI, K.; KOKINI, J.; HUANG, Q. Engineering Zein Films with Controlled Surface Morphology and Hydrophilicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 2186-2192, 2009.

- SHIMONI, E.; ANDERSON, E. M.; LABUZA, T. P. Reliability of time temperature indicators under temperature abuse. *Journal of Food Science*, v. 66, p. 1337-13340, 2001.
- SIMI, C. K.; ABRAHAM, T. E. Biodegradable biocompatible xyloglucan films for various applications. *Colloid and Polymer Science*. v. 288, p. 297-306, 2010.
- SINGH, R. P.; WELLS, J. H. Scientific principles of shelf-life evaluation. In: MAN, D.; JONES, A. (Eds.). *Shelf-life evaluation of food*. 2 ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000. p. 3-22.
- SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B. R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, v. 24, p. 770-775, 2010.
- SOUZA, B. W. S.; CERQUEIRA, M. A.; MARTINS, J. T.; CASARIEGO, A.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Influence of electric fields on the structure of chitosan edible coatings. *Food Hydrocolloids*, v. 24, p. 330-335, 2010.
- STARR, M. S.; FRANCIS, F. J. Effect of metallic ions on color and pigment content of cranberry juice cocktail. *Journal of Food Science*, v. 38, p. 1043-1046, 1973.
- STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. *Ciência Rural*, v. 35, p. 748-755, 2005.
- SUZUKI, Y.; TANABE, K.; SHIOI, Y. Determination of chemical oxidation products of chlorophyll and porphyrin by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 839, p.85-91, 1999.
- TALL, J. M.; SEERAM, N. P.; ZHAO, C.; NAIR, M. G.; MEYER, R. A.; RAJA, S. T. Tart cherry anthocyanins suppress inflammation-induced pain behavior in rat. *Behavior Brain Research*, v. 153, p. 181-188, 2004.
- TAOUKIS, P. S.; FU, B.; LABUZA, T. P. Time-temperature indicators. *Food Technology*, v. 45, p. 70-82, 1991.
- TAOUKIS, P. S. Application of Time–Temperature Integrators for Monitoring and Management of Perishable Product Quality in the Cold Chain. In: KERRY, J.; BUTLER, P. (Eds.). *Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods*. London: John Wiley & Sons Ltd, 2008. p. 61-74
- TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? *Química Nova*, v. 25, p. 684-688, 2002.
- TIHMINLIOGLU, F.; ATIK, I. D.; ÖZEN, B. Water vapor and oxygen-barrier performance of corn–zein coated polypropylene films. *Journal of Food Engineering*, v. 96, p. 342-347, 2010.

- TIJSKENS, L. M. M.; SCHIJVENS, E. P. H. M.; BIEKMAN, E. S. A. Modelling the change in color of broccoli and green beans during blanching. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, v. 2, p. 303-313, 2001.
- TORRES, F. G.; TRONCOSO, O. P.; TORRES, C.; DÍAZ, D. A.; AMAYA, E. Biodegradability and mechanical properties of starch films from Andean crops. *International Journal of Biological Macromolecules*, DOI:10.1016/j.ijbiomac.2011.01.026, 2011.
- TSAI, P.; McINTOSH, J.; PEARCE, P.; CARDEM, B.; JORDAN, B. R. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food Research International*, v. 35, p. 351-356, 2002.
- TSIRONI, T.; GOGOU, E.; VELLIOU, E.; TAOUKIS, P. S. Application and validation of the TTI based chill chain management system SMAS (Safety Monitoring and Assurance System) on shelf life optimization of vacuum packed chilled tuna. *International Journal of Food Microbiology*, v. 128, p. 108-115, 2008.
- VAN BELLEN, H. M. *Indicadores de sustentabilidade: uma análise comparativa*. Rio de Janeiro: Editora FGV, 2007. 256 p.
- VAIKOUSI, H.; BILIADERIS, C. G.; KOUTSOUMANIS, K. P. Applicability of a microbial Time Temperature Indicator (TTI) for monitoring spoilage of modified atmosphere packed minced meat. *International Journal of Food Microbiology*, v. 133, p. 272-278, 2009.
- VÁSCONEZ, M. B.; FLORES, S. K.; CAMPOS, C. A.; ALVARADO, J.; GERSCHENSON, L. N. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, v. 42, p. 762-769, 2009.
- VEIGA-SANTOS, P.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Development and Evaluation of a Novel pH Indicator Biodegradable Film Based on Cassava Starch. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 120, p. 1069-1079, 2011.
- VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETTA, P. C. Pigmentos Naturais Bioativos. *Alimento e Nutrição*, v. 20, p. 157-166, 2009.
- VON ELBE J. H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W. *Química de los alimentos*. 2 ed. Zaragoza: Wisconsin – Madison, 2000. p. 782-799.
- WANG, C. J.; WANG, J. M.; WEA, L. L.; CHIA, Y. C.; CHOU, F. P.; TSENG, T. H. Protective effect of hibiscus anthocyanins against tertbutyl hidroperoxide-included hepatic toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, v. 38, p. 411-416, 2000.
- WANG, L.; AUTY, M. A. E; KERRY, J. P. Physical assessment of composite biodegradable films manufactured using whey protein isolate, gelatin and sodium alginate. *Journal of Food Engineering*, v. 96, p. 199-207, 2010.

- WANIHSUKSOMBAT, C.; HONGTRAKUL, V.; SUPPAKUL, P. Development and characterization of a prototype of a lactic acid-based time-temperature indicator for monitoring food product quality. *Journal of Food Engineering*, v. 100, p. 427-434, 2010.
- WEEMAES, C. A.; OOMS, V.; VAN LOEY, A. M.; HENDRICKX, M. E. Kinetics of chlorophyll degradation and color loss in heated broccoli juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 47, p. 2404-2409, 1999.
- WESTLAND, S. Qué es el espacio de color CIE L*a*b*. Consultado em 16 de fevereiro de 2011 e disponível em http://www.gusgsm.com/espacio_color_cie_lab, 2001.
- WISSGOTT, U.; BORTLIK, K. Prospects for new natural food colorants. *Trends Food Science and Technology*, v. 7, p. 298-302, 1996.
- WORLD COMISSION ON ENVIRONMENTAL AND DEVELOPMENT. *Our Common Future*. Oxford: University Press, 1987.
- WYSZECKI, G.; STILES, W. S. *Color science: concepts and methods quantitative data and formulae*. 2 ed. Nova Iorque: J. Wiley & Sons, Inc., 2000. 951 p.
- YAM, K. L.; TAKHISTOV, P. T.; MILTZ, J. Intelligent packaging: concepts and applications. *Journal of Food Science*, v. 70, p. R1-R10, 2005.
- YAN, S.; HUAWEL, C.; LIMIN, Z.; FAZHENG, R.; LUDA, Z.; HENGTAO, Z. Development and characterization of a new amylase type time-temperature indicator. *Food Control*, v. 19, p. 315-319, 2008.
- YOSHIDA, C. M. P.; ANTUNES, A. J. Application of whey protein films. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, p. 420-430, 2009.
- YOSHIDA, C. M. P.; OLIVEIRA-JUNIOR, E. N.; FRANCO, T. T. Chitosan Films: additives effects on barrier and mechanical properties. *Packaging Science and Technology*, v. 22, p. 161-170, 2009.
- YOSHIDA, C. M. P.; BASTOS, C. E. N.; FRANCO, T. T. Modeling of potassium sorbate diffusion through chitosan films. *Food Science and Technology*, v. 43, p. 584-589, 2010.
- XAVIER, A. N. *Caracterização química e vida-de-prateleira do doce em massa de umbu*. 1999. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 1999.
- ZINOVIADOU, K. G.; KOUTSOUMANIS, K. P.; BILIADERIS, C. G. Physical and thermo-mechanical properties of whey protein isolate films containing antimicrobials, and their effect against spoilage flora of fresh beef. *Food Hydrocolloids*, v. 24, p. 49-59, 2010.

ANEXOS

I – FILMES F-ATH

I.1 – Determinação da Concentração de ATH nos Filmes de Quitosana

As Tabelas 1, 2 e 3, apresentam os resultados nos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* das concentrações 0 (controle), 0,15%, 0,25%, 0,50% e 1,00% de ATH nos filmes de quitosana.

Tabela 1. Variação dos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* para as condições controle e 0,15% de ATH nos filmes de quitosana, durante 96 horas expostos a 2225 Lux e $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Tempo (h)	Sem ATH (controle)			0,15% ATH		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
0	87,03±0,14 ^a	-0,92±0,04 ^a	3,99±0,06 ^a	63,58±0,63 ^a	2,51±0,24 ^a	-5,75±0,25 ^a
24	86,98±0,08 ^a	-0,72±0,04 ^b	3,60±0,24 ^{ab}	63,64±0,59 ^a	1,51±0,10 ^b	-5,27±0,07 ^b
48	87,26±0,19 ^a	-0,67±0,03 ^b	3,31±0,11 ^{bc}	63,85±0,98 ^a	1,04±0,12 ^c	-4,33±0,12 ^c
72	87,16±0,08 ^a	-0,59±0,04 ^b	3,10±0,22 ^c	64,61±0,94 ^a	0,93±0,06 ^c	-3,59±0,18 ^d
96	87,18±0,02 ^a	-0,60±0,08 ^b	3,07±0,21 ^c	64,90±1,31 ^a	0,89±0,06 ^c	-2,80±0,19 ^e

a, b, c, d, e – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 2. Variação dos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* para as condições 0,25% e 0,50% de ATH nos filmes de quitosana, durante 96 horas expostos a 2225 Lux e 27°C .

Tempo (h)	0,25% ATH			0,50% ATH		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
0	50,71±1,74 ^a	4,02±0,42 ^a	-10,49±0,31 ^a	30,17±0,50 ^a	4,57±0,18 ^a	-12,53±0,18 ^a
24	51,83±1,25 ^a	2,54±0,22 ^b	-9,51±0,27 ^b	30,24±0,82 ^a	4,61±0,29 ^a	-12,22±0,06 ^{ab}
48	52,42±1,78 ^a	1,74±0,17 ^c	-8,23±0,28 ^c	32,54±0,54 ^{bc}	3,11±0,30 ^b	-11,38±0,55 ^{bc}
72	53,00±2,01 ^a	1,54±0,12 ^c	-7,10±0,29 ^d	31,49±0,99 ^{ab}	3,06±0,38 ^b	-10,57±0,46 ^c
96	53,92±1,64 ^a	1,51±0,08 ^c	-5,98±0,34 ^e	33,90±0,99 ^c	2,50±0,10 ^b	-9,21±0,52 ^d

a, b, c, d, e – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 3. Variação dos parâmetros de cor L*, a*, b* para a condição de 1,00% de ATH nos filmes de quitosana, durante 96 horas expostos a 2225 Lux e 27°C.

Tempo (h)	1,00% ATH		
	L*	a*	b*
0	23,83±2,18 ^a	2,94±0,06 ^a	-4,01±0,20 ^a
24	23,29±1,40 ^a	3,01±0,23 ^a	-4,00±0,56 ^a
48	24,05±2,09 ^a	2,74±0,31 ^a	-3,93±0,84 ^a
72	23,52±0,88 ^a	2,76±0,32 ^a	-4,03±0,76 ^a
96	23,07±1,93 ^a	2,74±0,23 ^a	-3,81±0,80 ^a

a – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

I.2 – Alteração dos Parâmetros de Cor dos Filmes F-ATH em Função do Tempo de Exposição a Diferentes Temperaturas e IL

As Tabelas 4, 5 e 6, apresentam os resultados dos parâmetros de cor L*, a*, b*, respectivamente, dos filmes de quitosana contendo ATH expostos a diferentes temperaturas e IL.

Tabela 4. Variação do parâmetro de luminosidade L* dos filmes F-ATH exposto a diferentes temperaturas e IL.

Tempo (h)	Parâmetro L*				
	30°C/500 Lux	50°C/1000 Lux	10°C/1000 Lux	50°C/0 Lux	10°C/0 Lux
0	47,16±1,77 ^a	44,46±1,08 ^a	46,23±0,53 ^a	47,98±1,22 ^a	46,75±1,05 ^a
12	46,73±2,11 ^a	44,90±1,27 ^a	45,72±0,69 ^a	48,28±1,09 ^a	46,41±1,31 ^a
24	46,86±1,94 ^a	45,45±1,09 ^a	45,57±1,00 ^a	48,91±1,02 ^a	45,95±1,66 ^a
48	47,08±1,91 ^a	45,08±1,30 ^a	45,26±0,80 ^a	48,69±1,34 ^a	46,05±1,08 ^a
72	47,27±2,20 ^a	45,85±1,22 ^a	45,16±0,77 ^a	48,73±1,21 ^a	45,52±1,64 ^a

a – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 5. Variação do parâmetro de cor a* dos filmes F-ATH exposto a diferentes temperaturas e IL.

Tempo (h)	Parâmetro a*				
	30°C/500 Lux	50°C/1000 Lux	10°C/1000 Lux	50°C/0 Lux	10°C/0 Lux
0	5,41±0,94 ^a	5,02±0,88 ^a	4,81±0,47 ^a	4,53±0,67 ^a	5,34±0,67 ^a
12	7,24±0,53 ^a	6,12±0,38 ^{ab}	4,88±0,52 ^a	2,11±0,30 ^b	2,51±0,76 ^b
24	7,56±0,45 ^a	7,85±0,38 ^c	4,92±0,44 ^a	2,38±0,48 ^b	1,62±0,49 ^{bc}
48	7,50±0,48 ^a	7,24±0,46 ^{bc}	5,19±0,45 ^a	3,86±0,29 ^a	1,31±0,47 ^{bc}
72	7,47±0,59 ^a	7,55±0,41 ^{bc}	5,17±0,34 ^a	3,64±0,38 ^a	0,72±0,32 ^c

a, b, c – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 6. Variação do parâmetro de cor b^* dos filmes F-ATH exposto a diferentes temperaturas e IL.

Tempo (h)	Parâmetro b^*				
	30°C/500 Lux	50°C/1000 Lux	10°C/1000 Lux	50°C/0 Lux	10°C/0 Lux
0	-10,04±1,03 ^a	-11,22±0,51 ^a	-10,43±0,40 ^a	-10,02±0,20 ^a	-9,79±0,40 ^a
12	-9,18±1,06 ^a	-8,66±0,57 ^b	-10,26±0,26 ^a	-8,03±0,21 ^b	-10,50±0,3 ^{ab}
24	-8,93±1,02 ^a	-7,06±0,33 ^{cd}	-10,10±0,33 ^a	-6,79±0,26 ^c	-10,78±0,19 ^b
48	-8,61±0,88 ^a	-6,44±0,54 ^{de}	-10,04±0,33 ^a	-5,34±0,22 ^{de}	-10,26±0,26 ^{ab}
72	-8,45±1,04 ^a	-5,65±0,48 ^e	-9,69±0,27 ^a	-4,78±0,21 ^e	-9,98±0,10 ^a

a, b, c, d, e – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

I.3 – Avaliação dos Efeitos nas Propriedades Mecânicas dos Filmes F-ATH

As Figuras 1 e 2, apresentam os efeitos calculados para as variáveis ϵ e Tr dos filmes F-ATH.

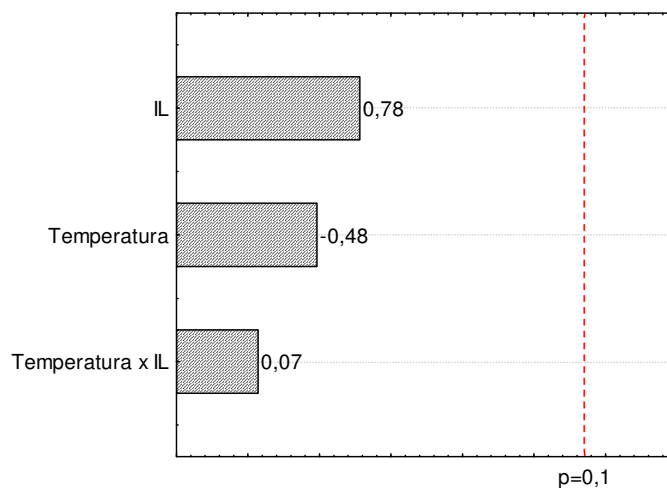


Figura 1. Efeitos das variáveis temperatura, IL e a interação entre as duas na ϵ dos filmes F-ATH.

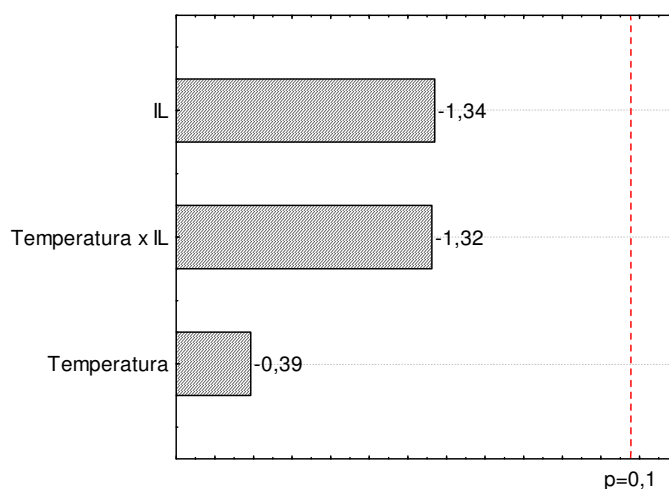


Figura 2. Efeitos das variáveis temperatura, IL e a interação entre as duas na Tr dos filmes F-ATH.

I.4 – Parâmetro L* para diferentes concentrações de quitosana e ATH do sistema FP-ATH

As Tabelas 7, 8 e 9 apresentam os resultados do parâmetro de luminosidade L* para o sistema FP-ATH revestido com 2% QT/0,25% ATH, 2% QT/0,50% ATH e 4% QT/0,50% ATH, respectivamente, quando submetido a diferentes temperaturas e ausência de IL.

Tabela 7. Valores de L* do sistema FP-ATH revestido com 2% QT/0,25% ATH exposto a diferentes temperaturas e 0 Lux.

Temperatura (°C)	Valores de L* para 2% QT/0,25% ATH			
	0 h	24 h	48 h	72 h
10	82,11±0,66	82,14±0,53	82,17±0,50	82,16±0,49
20	82,45±0,34	82,46±0,35	82,33±0,24	82,41±0,16
30	82,55±0,17	82,56±0,21	82,35±0,13	82,35±0,37
40	82,32±0,07	82,36±0,17	82,36±0,13	82,36±0,21
50	82,55±0,28	82,52±0,22	82,57±0,32	82,68±0,24
60	82,67±0,18	82,32±0,09	82,36±0,13	82,50±0,24
70	82,59±0,16	82,28±0,29	82,57±0,18	82,81±0,23

Tabela 8. Valores de L* do sistema FP-ATH revestido com 2% QT/0,50% ATH exposto a diferentes temperaturas e 0 Lux.

Temperatura (°C)	Valores de L* para 2% QT/0,50% ATH			
	0 h	24 h	48 h	72 h
10	77,30±0,24	77,32±0,34	77,31±0,13	77,36±0,03
20	77,57±0,35	77,50±0,14	77,60±0,17	77,73±0,11
30	76,05±0,29	76,11±0,60	76,43±0,30	76,48±0,16
40	76,51±0,29	76,43±0,08	76,81±0,23	76,93±0,36
50	77,67±0,17	78,04±0,46	77,81±0,43	78,05±0,33
60	76,28±0,48	75,93±0,59	76,27±0,31	76,28±0,45
70	78,54±0,24	78,15±0,22	78,63±0,34	78,66±0,45

Tabela 9. Valores de L* do sistema FP-ATH revestido com 4% QT/0,50% ATH exposto a diferentes temperaturas e 0 Lux.

Temperatura (°C)	Valores de L* para 4% QT/0,50% ATH			
	0 h	24 h	48 h	72 h
10	76,44±0,37	76,46±0,30	76,84±0,28	76,54±0,50
20	76,25±1,00	76,54±0,43	76,54±0,43	76,46±0,54
30	77,01±1,15	77,13±1,25	77,00±1,27	76,84±1,60
40	77,46±0,56	77,90±1,10	78,02±0,86	77,62±0,22
50	76,30±0,57	76,31±0,42	76,74±0,22	76,67±0,54
60	77,43±0,91	77,05±0,71	77,24±0,93	77,80±0,48
70	76,69±0,79	76,52±0,47	77,06±0,85	77,09±0,97

I.5 – Alteração dos Parâmetros de Cor do Sistema FP-ATH em Função do Tempo de Exposição à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux – Teste de Estabilidade

As Tabelas 10, 11 e 12, apresentam os resultados dos parâmetros de cor L*, a*, b* para o teste de estabilidade do sistema FP-ATH expostos a 25°C/0 Lux (controle), 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux, respectivamente.

Tabela 10. Variação dos parâmetros de cor L*, a*, b* para o teste de estabilidade do sistema FP-ATH 25°C/0 Lux (controle).

Tempo (dias)	Parâmetros		
	L*	a*	b*
0	76,48±0,50	2,30±0,43	-4,47±0,24
1	76,60±0,17	1,94±0,19	-3,89±0,13
3	76,83±0,18	1,83±0,27	-3,44±0,15
5	77,14±0,10	1,67±0,31	-2,78±0,23
9	77,24±0,05	1,51±0,26	-2,39±0,14
18	77,35±0,07	1,15±0,17	-1,06±0,11
23	77,42±0,08	0,88±0,09	-0,27±0,13
46	77,87±0,55	0,50±0,13	0,83±0,28
52	77,82±0,60	0,52±0,10	0,91±0,26
56	77,85±0,64	0,56±0,14	1,01±0,23
66	77,95±0,64	0,58±0,06	1,15±0,22
74	78,02±0,65	0,59±0,04	1,25±0,19
108	78,23±0,38	0,61±0,16	1,81±0,31

Tabela 11. Variação dos parâmetros de cor L*, a*, b* para o teste de estabilidade do sistema FP-ATH expostos 60°C/0 Lux.

Tempo (dias)	Parâmetros		
	L*	a*	b*
0	77,05±0,60	2,22±0,34	-3,82±0,26
1	77,23±0,36	1,93±0,27	-2,64±0,38
3	77,30±0,45	1,92±0,27	-2,07±0,30
5	77,55±0,40	1,80±0,43	-1,37±0,47
9	77,62±0,44	1,51±0,06	2,17±0,12
18	78,31±0,42	1,48±0,18	3,47±0,21
23	78,39±0,75	1,46±0,05	4,14±0,23
46	79,42±0,75	1,44±0,19	6,85±0,05
52	79,68±0,74	1,39±0,06	7,49±0,09
56	79,79±0,89	1,35±0,17	7,89±0,09
66	80,10±0,87	1,28±0,13	8,88±0,21
74	80,43±0,86	1,24±0,10	9,40±0,36
108	81,03±0,62	1,16±0,17	11,02±0,15

Tabela 12. Variação dos parâmetros de cor L*, a*, b* para o teste de estabilidade do sistema FP-ATH expostos 60°C/1000 Lux.

Tempo (dias)	Parâmetros		
	L*	a*	b*
0	76,79±0,74	2,55±0,10	-3,76±0,50
1	77,50±0,30	2,24±0,30	-2,09±0,17
3	78,47±0,23	1,80±0,19	-0,58±0,16
5	79,57±0,27	1,48±0,14	1,20±0,12
9	81,83±0,33	1,11±0,10	5,47±0,15
18	83,11±0,14	1,16±0,09	7,65±0,18
23	83,66±0,24	1,10±0,11	8,70±0,20
46	85,29±0,18	0,62±0,08	12,31±0,54
52	85,61±0,25	0,56±0,09	12,76±0,58
56	85,51±0,51	0,52±0,10	13,05±0,34
66	85,92±0,39	0,48±0,09	13,46±0,37
74	86,16±0,41	0,29±0,09	13,95±0,54
108	86,50±0,31	0,15±0,09	15,66±0,59

As Tabelas 13 e 14 apresentam os resultados obtidos para os parâmetros de cor L*, a*, b* quando expostos às 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux no tempo zero e após 108 dias de armazenamento à 25°C e ausência de IL.

Tabela 13. Parâmetros de cor L*, a*, b* para o sistema FP-ATH exposto à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux durante 72 horas no tempo zero de armazenamento.

Tempo (h)	60°C/0 Lux			60°C/1000 Lux		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	76,52±0,13	2,31±0,21	-3,95±0,09	76,25±0,04	2,73±0,21	-4,61±0,25
24	77,39±0,32	1,87±0,10	-1,43±0,23	76,57±0,03	2,80±0,13	-2,99±0,27
48	78,36±0,33	1,85±0,23	0,08±0,14	76,96±0,04	2,79±0,28	-1,50±0,17
72	79,22±0,20	1,59±0,16	1,67±0,21	77,14±0,06	2,98±0,06	-0,59±0,08

Tabela 14. Parâmetros L*, a*, b* para o sistema FP-ATH exposto à 60°C/0 Lux e 60°C/1000 Lux durante 72 horas após 108 dias de armazenamento.

Tempo (h)	60°C/0 Lux			60°C/1000 Lux		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	77,81±0,37	0,55±0,12	1,78±0,18	77,76±0,29	0,51±0,05	1,59±0,27
24	78,11±0,15	1,21±0,13	2,45±0,11	78,75±0,05	1,38±0,06	2,87±0,15
48	78,51±0,16	1,39±0,05	3,04±0,21	79,28±0,19	1,47±0,11	3,69±0,17
72	78,92±0,33	1,53±0,11	3,23±0,07	80,10±0,28	1,63±0,08	4,07±0,06

II – FILMES F-CLO

II.1 – Determinação da Concentração de CLO nos Filmes de Quitosana

As Tabelas 1, 2 e 3, apresentam os resultados nos parâmetros de cor L*, a*, b* das concentrações 0 (controle), 0,15%, 0,25%, 0,50% e 1,00% de CLO nos filmes de quitosana.

Tabela 1. Variação dos parâmetros de cor L*, a*, b* para as condições sem CLO (controle) e 0,15% de CLO nos filmes de quitosana, durante 96 horas expostos a 2225 Lux e 27°C.

Tempo (h)	Sem CLO (controle)			0,15% CLO		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	87,03±0,14 ^a	-0,92±0,04 ^a	3,99±0,06 ^a	73,35±0,12 ^a	-17,87±0,28 ^a	21,97±0,23 ^a
24	86,98±0,08 ^a	-0,72±0,04 ^b	3,60±0,24 ^{ab}	73,58±0,12 ^a	-15,60±0,22 ^b	21,13±0,20 ^b
48	87,26±0,19 ^a	-0,67±0,03 ^b	3,31±0,11 ^{bc}	73,56±0,06 ^a	-14,61±0,28 ^{cd}	20,85±0,26 ^b
72	87,16±0,08 ^a	-0,59±0,09 ^b	3,10±0,22 ^c	73,84±0,14 ^a	-13,93±0,22 ^d	20,79±0,18 ^b
96	87,18±0,02 ^a	-0,60±0,08 ^b	3,07±0,21 ^c	74,09±0,18 ^a	-13,17±0,26 ^e	20,65±0,25 ^b

a, b, c, d, e – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 2. Variação dos parâmetros de cor L*, a*, b* para as condições 0,25% e 0,50% de CLO nos filmes de quitosana, durante 96 horas expostos a 2225 Lux e 27°C.

Tempo (h)	0,25% CLO			0,50% CLO		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	59,11±1,72 ^a	-25,74±0,41 ^a	28,77±0,25 ^a	42,44±1,05 ^a	-25,37±0,26 ^a	25,01±0,40 ^a
24	58,23±2,30 ^a	-22,84±0,15 ^b	27,64±0,14 ^b	41,96±0,99 ^a	-23,69±0,10 ^b	24,31±0,33 ^{ab}
48	57,59±1,84 ^a	-21,61±0,40 ^{cd}	27,09±0,27 ^{bc}	41,31±1,50 ^a	-22,10±0,53 ^{cd}	23,20±0,89 ^b
72	57,56±1,77 ^a	-20,82±0,37 ^{de}	27,03±0,18 ^c	41,27±1,48 ^a	-21,39±0,46 ^d	23,02±0,84 ^b
96	57,64±1,89 ^a	-19,92±0,35 ^e	26,91±0,20 ^c	41,12±1,30 ^a	-20,45±0,11 ^e	22,64±0,57 ^b

a, b, c, d, e – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 3. Variação dos parâmetros de cor L*, a*, b* para a condição 1,00% de CLO nos filmes de quitosana, durante 96 horas expostos a 2225 Lux e 27°C.

Tempo (h)	1,00% CLO		
	L*	a*	b*
0	23,63±1,68 ^a	-7,10±2,73 ^a	5,18±2,34 ^a
24	23,44±1,65 ^a	-6,50±2,48 ^a	4,88±2,34 ^a
48	23,43±1,63 ^a	-6,26±2,62 ^a	4,64±2,32 ^a
72	23,38±1,64 ^a	-6,19±2,55 ^a	4,63±2,27 ^a
96	23,36±1,58 ^a	-5,91±2,51 ^a	4,46±2,26 ^a

a, b, c, d, e – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

II.2 – Alteração dos Parâmetros de Cor dos Filmes F-CLO em Função do Tempo de Exposição a Diferentes Temperaturas e IL

As Tabelas 4, 5 e 6, apresentam os resultados dos parâmetros de cor L*, a*, b*, respectivamente, dos filmes de quitosana contendo CLO expostos a diferentes temperaturas e IL.

Tabela 4. Variação do parâmetro de luminosidade L* dos filmes F-CLO exposto a diferentes temperaturas e IL.

Tempo	Parâmetro L*				
	30°C/500 Lux	50°C/1000 Lux	10°C/1000 Lux	50°C/0 Lux	10°C/0 Lux
0	59,12±0,70 ^a	59,16±1,10 ^a	59,54±1,09 ^a	56,51±0,11 ^a	58,38±0,66 ^a
12	57,78±1,43 ^a	57,39±1,05 ^a	57,95±1,10 ^a	55,14±0,12 ^b	58,11±0,65 ^a
24	57,74±1,40 ^a	57,69±0,89 ^a	57,64±1,12 ^a	55,23±0,35 ^b	57,84±0,62 ^a
48	57,55±1,53 ^a	57,58±0,39 ^a	57,54±1,16 ^a	55,17±0,62 ^b	57,97±0,69 ^a
72	57,42±1,30 ^a	57,68±0,56 ^a	57,07±1,28 ^a	54,64±0,41 ^b	57,82±0,57 ^a

a, b – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 5. Variação do parâmetro de cor a^* dos filmes F-CLO exposto a diferentes temperaturas e IL.

Parâmetro a^*					
Tempo	30°C e 500 Lux	50°C e 1000 Lux	10°C e 1000 Lux	50°C e 0 Lux	10°C e 0 Lux
0	-26,45±0,20 ^a	-27,19±0,27 ^a	-26,26±0,28 ^a	-26,94±0,51 ^a	-26,52±0,63 ^a
12	-25,64±0,20 ^{ab}	-26,07±0,20 ^b	-24,75±0,23 ^b	-26,65±0,48 ^{ab}	-26,79±0,15 ^a
24	-25,19±0,40 ^{ab}	-25,35±0,50 ^{bc}	-24,64±0,26 ^b	-26,48±0,48 ^{ab}	-26,13±0,55 ^a
48	-24,69±0,69 ^b	-24,97±0,24 ^{cd}	-24,54±0,26 ^b	-26,08±0,54 ^b	-26,08±0,56 ^a
72	-24,17±0,90 ^b	-24,34±0,20 ^d	-24,17±0,43 ^b	-25,84±0,53 ^b	-25,83±0,55 ^a

a, b, c, d – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 6. Variação do parâmetro de cor b^* dos filmes F-CLO exposto a diferentes temperaturas e IL.

Parâmetro b^*					
Tempo	30°C e 500 Lux	50°C e 1000 Lux	10°C e 1000 Lux	50°C e 0 Lux	10°C e 0 Lux
0	28,47±0,03 ^a	28,43±0,15 ^a	28,38±0,15 ^a	28,53±0,30 ^a	28,58±0,33 ^a
12	27,54±0,36 ^b	27,87±0,12 ^a	27,73±0,12 ^b	27,52±0,28 ^b	28,91±0,31 ^a
24	27,48±0,33 ^b	27,30±0,87 ^a	27,68±0,10 ^b	27,70±0,24 ^{ab}	28,74±0,35 ^a
48	27,39±0,22 ^b	27,68±0,55 ^a	26,89±0,20 ^c	28,00±0,34 ^{ab}	28,89±0,34 ^a
72	27,31±0,11 ^b	28,07±0,59 ^a	27,29±0,38 ^{bc}	28,12±0,40 ^{ab}	28,77±0,33 ^a

a, b, c – Médias na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

II.3 – Avaliação dos Efeitos nas Propriedades Mecânicas dos Filmes F-CLO

As Figuras 1 e 2, apresentam os efeitos calculados para as variáveis ϵ e E dos filmes F-CLO.

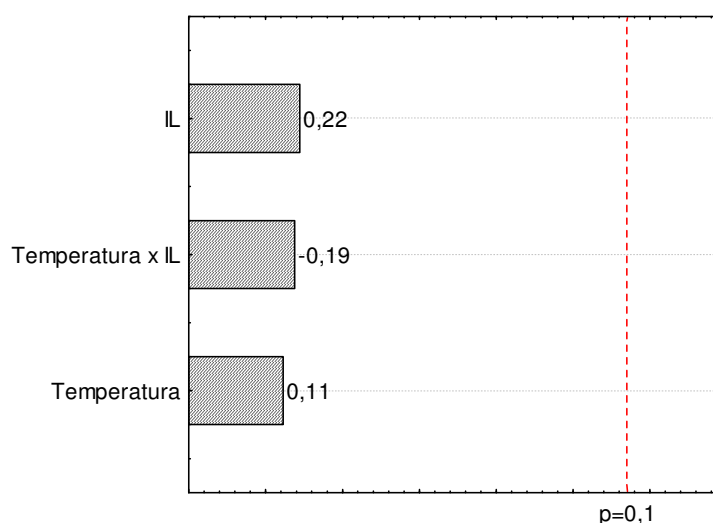


Figura 1. Efeitos da temperatura, IL e a interação entre elas na ϵ dos filmes F-CLO.

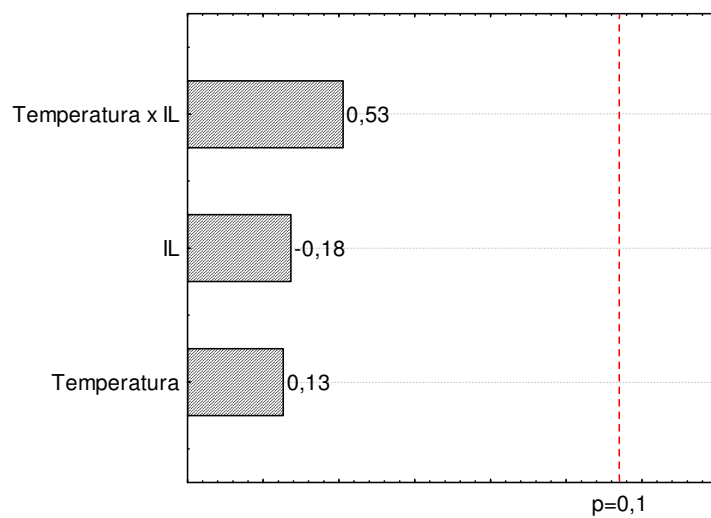


Figura 2. Efeitos da temperatura, IL e a interação entre elas na E dos filmes F-CLO.