

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO ARAGUAIA**  
**Programa de Pós-graduação em Ciência de Materiais**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE  
INDICADOR DE TEMPO-TEMPERATURA A PARTIR  
DE QUITOSANA, PVA E ANTOCIANINAS PARA  
APLICAÇÕES EM EMBALAGENS INTELIGENTES**

**VALDIR ANICETO PEREIRA JUNIOR**

Engenheiro de Alimentos  
Gestor Ambiental

BARRA DO GARÇAS - MT

2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO ARAGUAIA**  
**Programa de Pós-graduação em Ciência de Materiais**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE  
INDICADOR DE TEMPO-TEMPERATURA A PARTIR  
DE QUITOSANA, PVA E ANTOCIANINAS PARA  
APLICAÇÕES EM EMBALAGENS INTELIGENTES**

**VALDIR ANICETO PEREIRA JUNIOR**

Engenheiro de Alimentos  
Gestor Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Stefani

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Ciência de  
Materiais da Universidade Federal de  
Mato Grosso, para obtenção do título  
de Mestre em Ciência de Materiais.

BARRA DO GARÇAS - MT

2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO ARAGUAIA**  
**Programa de Pós-graduação em Ciência de Materiais**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**Título:** Desenvolvimento e caracterização de Indicador de Tempo-Temperatura a partir de quitosana, PVA e antocianinas para aplicações em embalagens inteligentes.

**Autor:** Valdir Aniceto Pereira Junior

**Orientador:** Prof. Dr. Ricardo Stefani

Aprovada em 24 de Fevereiro de 2014.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Dr. Ricardo Stefani  
(Orientador)

---

Prof. Dr. Gilberto Alexandre Soares Goulart

---

Prof. Dr. Nilton Syogo Arakawa

## **DEDICATÓRIA**

Dedico primeiramente a Deus pela minha vida e por tudo que me proporciona, a minha família que sempre me apoiou nos estudos, a minha namorada pelo carinho e apoio, aos meus verdadeiros amigos, pela força e parceria nas adversidades do cotidiano, e por fim, aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, aos meus pais, Valdir e Marlene e ao meu irmão Marcello, pelo apoio e ajuda que me proporcionaram nesses dois anos que envolveram o Mestrado.

Agradeço a minha namorada Suzanny pelo apoio constante.

Aos meus amigos Genilza Mello, Rogério Oliveira e Iza Natália, pela contribuição neste trabalho, ao meu Orientador de Mestrado Professor Dr. Ricardo Stefani, pela paciência e ajuda constante durante o tempo que compreendeu o Mestrado. Agradeço ao Professor Dr. Adriano Buzutti pela contribuição direta nas análises de TG-DSC, ao Professor Dr. Gilberto Fuzari e aluna Liane Bemme, pela ajuda nos testes mecânicos.

Agradeço a Professora Dra. Éllen de Souza e aos alunos Karina Andrade e Renato Queiroz, pela ajuda nas análises de Colorimetria do ITT. Agradeço também aos demais Professores do PPGMat e aos Professores do Exame de Qualificação: Dra. Nara de Souza, Dr. Gilberto Goulart e Dr. Adriano Buzutti, pelas sugestões que enriqueceram o trabalho.

Por fim agradeço a CAPES pelo suporte financeiro.

## RESUMO

As embalagens que apresentam indicadores de tempo-temperatura são consideradas embalagens inteligentes, pois utilizam um sistema que monitora as condições do alimento em tempo real. Os indicadores ou integradores de tempo e temperatura (ITTs) são definidos como dispositivos simples, eficazes e de fácil manuseio para monitorar, gravar e, de forma acumulativa, indicar a influência global do histórico de temperatura sobre a qualidade do produto alimentício, desde a fabricação até o consumidor final. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar um sensor Indicador de Tempo-Temperatura baseado em uma blenda polimérica de Poli(álcool vinílico-co-acetato de vinila) (PVA) e quitosana dopada com antocianinas para estabelecer as variações de tempo-temperatura de forma indireta, a partir das mudanças de pH de produtos alimentícios, quando submetidos a temperaturas inadequadas de armazenamento. O ITT foi produzido a partir de quitosana, PVA e antocianinas extraídas de *Brassica oleracea* var. Capitata, da família Brassicaceae (repolho-roxo). Para a caracterização do ITT, foram utilizadas as técnicas de TG-DSC, FT-IR, UV-Vis e Índice de Intumescimento (Ii), além da definição da variação total de cor, em escala CIELab, após a ativação em diferentes pH (1,0 a 12,0) e ensaios de tração (tensão/deformação) no intuito de estabelecer as propriedades mecânicas do ITT. Os resultados das curvas de TG-DSC e espectros de Infravermelho indicaram que houve uma interação de ordem física e não química entre o PVA e a quitosana na formação do filme. Visualmente o ITT apresentou translucidez, sendo caracterizada pela cor roxa, proveniente das antocianinas em pH neutro. O valor encontrado para o índice de intumescimento ( $38,02\% \pm 0,03$ ) é decorrente da elevada concentração de PVA na constituição do ITT. Os resultados para o teste de ativação de mudança de cor foram excelentes, considerando que foi estabelecida as mudanças de cor do ITT nos diferentes pH, sendo corroborado pelo teste de aplicação em leite pasteurizado. Em relação aos ensaios mecânicos, os resultados caracterizam o ITT para aplicações em embalagens. Portanto, conclui-se que é possível utilizar o ITT à base de quitosana, PVA e antocianinas como sensor indicador de variações de tempo e temperatura, para compor uma embalagem inteligente de alimentos, considerando que quando os alimentos são mantidos em temperaturas inadequadas de refrigeração, inicia-se o processo de deterioração, que na maioria das vezes, resulta em alterações no pH do meio, sendo esse parâmetro o ponto chave para ativação do ITT.

Palavras-chave: Indicador de Tempo-Temperatura (ITT), quitosana, Poli(álcool vinílico-co-acetato de vinila) (PVA), antocianinas.

## ABSTRACT

Food packages featuring time-temperature indicators are considered intelligent packages, due to the use of a system that monitors the food conditions in real time. Time-Temperature indicators or integrators (TTIs) are defined as simple, effective and easy to use devices for monitoring, recording and cumulatively indicate the overall influence of temperature history on the quality of the food product, from manufacturing to the end consumer. Thus, this study aimed to develop and characterize a Time-Temperature indicator sensor based on a polymer blend of PVA and chitosan doped with anthocyanins to establish the variations of time-temperature indirectly from the changes of pH in food products, when subjected to improper storage temperatures. The TTI are produced from chitosan and PVA, as well as anthocyanins extracted from *Brassica oleracea* var. *capitata*, from the Brassicaceae family (red-cabbage). The TG-DSC, FT-IR, UV-Vis techniques were used to characterize the TTI, as well as swelling index (Si), and definition of the total variation of color through CIELab scale, after activation at different pH (1,0 to 12,0). Tensile (stress/strain) test was made in order to establish the mechanical properties of TTI. The results from TG-DSC curves and IR spectra indicated that there was a physical interaction, not a chemical one, between PVA and chitosan in film formation. Visually, the TTI showed translucency, being characterized by the purple color from anthocyanins in neutral pH. The value found for the swelling index ( $38,02 \pm 0,03\%$ ) is due to the high concentration of PVA in the constitution of TTI. The results for the activation color change test were excellent, considering that changes color in different pH TTI, which was corroborated by the application test in pasteurized milk. In relation to the mechanical tests, the results characterizes the TTI for packaging applications. Therefore, it is concluded that it is possible to use the TTI the basis of chitosan and PVA anthocyanins sensor indicator variations of time and temperature to form an intelligent food packaging, whereas when foods are kept at inappropriate temperatures, cooling starts the process of deterioration, which most often results in changes in pH, being the key to activating the TTI this parameter.

Keywords: Time-Temperature Indicator (TTI), chitosan, Poly(vinyl alcohol-co-vinyl acetate) (PVA), anthocyanins.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>FIGURA 1.</b> Estrutura do monômero de PVA.....                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 17 |
| <b>FIGURA 2.</b> Estrutura química da quitosana.....                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 18 |
| <b>FIGURA 3.</b> Substituições nos carbonos adjacentes do cátion flavílico que determinam a estabilidade das diferentes antocianidinas. a) delfinidina; b) cianidina; c) pelargonidina; d) petunidina; e) peonidina e f) malvidina. Símbolos: hidrogênio (círculo vermelho); oxigênio (círculo roxo) e carbono (círculo verde). ..... | 21 |
| <b>FIGURA 4.</b> Estruturas moleculares encontradas em solução aquosa com diferentes valores de pH. Cátion flavílico (AH <sup>+</sup> ), a) base quinoidal; b) carbinol ou pseudobase; e c) chalcona . .....                                                                                                                          | 23 |
| <b>FIGURA 5.</b> Hidrogel de ITT, produzido a partir dos hidrogeis de quitosana e PVA e extrato de antocianinas.....                                                                                                                                                                                                                  | 27 |
| <b>FIGURA 6.</b> Foto do Espectrofotômetro PerkinElmer, modelo Spectrum 100.....                                                                                                                                                                                                                                                      | 29 |
| <b>FIGURA 7.</b> Foto do Espectrofotômetro PerkinElmer, modelo Lambda 25.....                                                                                                                                                                                                                                                         | 30 |
| <b>FIGURA 8.</b> Foto do TG/DSC-1 da Mettler Toledo.....                                                                                                                                                                                                                                                                              | 33 |
| <b>FIGURA 9.</b> Foto do equipamento de ensaios de tração, modelo WDW-300E da Time Group Inc.....                                                                                                                                                                                                                                     | 34 |
| <b>FIGURA 10.</b> Corte padrão ASTM (Designação: D1708–10a) para análise de propriedades mecânicas das amostras de ITT e filmes de quitosana e PVA. ....                                                                                                                                                                              | 35 |
| <b>FIGURA 11.</b> Representação do sistema CIELab no espaço tridimensional .....                                                                                                                                                                                                                                                      | 36 |
| <b>FIGURA 12.</b> Foto do Espectrofotômetro BrasEq <sup>®</sup> modelo MiniScan EZ Hunterlab. ....                                                                                                                                                                                                                                    | 38 |
| <b>FIGURA 13.</b> Espectros de Infravermelho dos filmes de quitosana, PVA e do Indicador de Tempo-Temperatura.....                                                                                                                                                                                                                    | 41 |
| <b>FIGURA 14.</b> Espectros de Infravermelho do extrato de antocianinas e do Indicador de Tempo-Temperatura (ITT). .....                                                                                                                                                                                                              | 44 |
| <b>FIGURA 15.</b> Espectro de UV-Vis para o extrato de antocianinas em pH 2,0.....                                                                                                                                                                                                                                                    | 45 |
| <b>FIGURA 16.</b> Espectro de UV-Vis do Filme de quitosana e PVA em proporção de 3:7 sem adição de extrato de antocianinas. ....                                                                                                                                                                                                      | 46 |
| <b>FIGURA 17.</b> Espectro de UV-Vis do Indicador de Tempo-Temperatura.....                                                                                                                                                                                                                                                           | 47 |
| <b>FIGURA 18.</b> Curva TG-DSC do filme de quitosana.....                                                                                                                                                                                                                                                                             | 48 |
| <b>FIGURA 19.</b> Curva TG-DSC do filme de PVA.....                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 49 |
| <b>FIGURA 20.</b> Curva TG-DSC do Indicador de Tempo-Temperatura a base de quitosana, PVA e antocianinas. ....                                                                                                                                                                                                                        | 50 |
| <b>FIGURA 21.</b> Cortes do Indicador de Tempo-Temperatura a base de quitosana, PVA e antocianinas para o teste de ativação em solução de ácido láctico e solução aquosa de fosfato de sódio monobásico. ....                                                                                                                         | 51 |
| <b>FIGURA 22.</b> Resposta de cor do ITT, a base de quitosana, PVA e antocianinas, em diferentes condições de pH.....                                                                                                                                                                                                                 | 52 |
| <b>FIGURA 23.</b> Resposta de cor do ITT em contato com leite pasteurizado, mantido em temperatura ambiente (~25°C) em diferentes intervalos de tempo (1 a 4 dias). ....                                                                                                                                                              | 56 |
| <b>FIGURA 24.</b> Curva Tensão x Deformação do filme de PVA puro, obtida pela média estatística. ....                                                                                                                                                                                                                                 | 59 |
| <b>FIGURA 25.</b> Curva Tensão x Deformação do filme de quitosana pura, obtida pela média estatística.....                                                                                                                                                                                                                            | 60 |
| <b>FIGURA 26.</b> Curva Tensão x Deformação do filme do ITT, obtida pela média estatística. ....                                                                                                                                                                                                                                      | 61 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>TABELA 1.</b> Estruturas, nomes e fontes na natureza das principais antocianinas. .                                                                                                                     | 20 |
| <b>TABELA 2.</b> Índice de Intumescimento para o indicador de tempo-temperatura.....                                                                                                                       | 39 |
| <b>TABELA 3.</b> Comprimento de onda e grupos característicos da quitosana e PVA..                                                                                                                         | 42 |
| <b>TABELA 4.</b> Parâmetros de cor, no sistema CIELab do ITT inativado, produzido com extrato de antocianinas em pH 7,0.....                                                                               | 53 |
| <b>TABELA 5.</b> Parâmetros de cor L*, a*, b* e Variação total de cor ( $\Delta E$ ) do ITT a partir da ativação em soluções com diferentes pH.....                                                        | 54 |
| <b>TABELA 6.</b> Parâmetros de cor L*, a*, b* e Variação total de cor ( $\Delta E$ ) do ITT ativado a partir do contato com leite pasteurizado mantido em temperaturas acima da faixa de refrigeração..... | 57 |

## SUMÁRIO

|                                                                                                        |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                                                             | <b>12</b> |
| <b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>                                                                   | <b>14</b> |
| 2.1 – Embalagens para Alimentos .....                                                                  | 14        |
| 2.1.1 – Indicador de Tempo-Temperatura (ITT) .....                                                     | 14        |
| 2.2 – Polímeros.....                                                                                   | 15        |
| 2.3 – Blendas Poliméricas .....                                                                        | 16        |
| 2.3 – PVA .....                                                                                        | 17        |
| 2.3 – Quitosana .....                                                                                  | 17        |
| 2.4 – Indicadores Naturais de pH.....                                                                  | 18        |
| 2.4.1 – Antocianinas.....                                                                              | 19        |
| 2.5 - Decomposição de Alimentos – Variações de pH.....                                                 | 23        |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                                      | <b>25</b> |
| 3.1 – Extração das Antocianinas do Repolho Roxo ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> )..... | 25        |
| 3.2 – Preparação do ITT .....                                                                          | 25        |
| 3.3 – Determinação do Índice de Intumescimento (Ii%) .....                                             | 27        |
| 3.4 – Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho FT-IR .....                                | 27        |
| 3.5 – Espectroscopia na Região do Ultravioleta Visível (UV-Vis) .....                                  | 29        |
| 3.6 – Análise Térmica (TG-DSC) .....                                                                   | 30        |
| 3.6.1 – Termogravimetria (TG).....                                                                     | 31        |
| 3.6.2 – Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....                                              | 32        |
| 3.7 – Propriedades Mecânicas de Filmes .....                                                           | 33        |
| 3.8 – Parâmetros Dinâmicos de Cor do ITT.....                                                          | 35        |
| 3.8.1 – Análise de Cor - Colorimetria.....                                                             | 35        |
| 3.8.2 – Potencial de Aplicação do ITT (Teste de Ativação em Leite) .....                               | 38        |
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                                                  | <b>39</b> |
| 4.1 – Caracterização do ITT .....                                                                      | 39        |
| 4.1.1 – Índice de Intumescimento .....                                                                 | 39        |
| 4.1.2 – Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho – FT-IR .....                            | 40        |
| 4.1.3 – Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível - UV-Vis .....                                | 44        |
| 4.1.4 – Análise Térmica TG-DSC.....                                                                    | 47        |
| 4.2 – Sensibilidade do ITT em ácido láctico e solução aquosa de Fosfato de Sódio Monobásico.....       | 50        |

|                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.2.1 – Determinação dos parâmetros dinâmicos do ITT – Variação total de cor ..... | 53        |
| 4.3 – Potencial de Aplicação do ITT (Teste de Ativação em Leite) .....             | 55        |
| 4.4 – Propriedades Mecânicas.....                                                  | 58        |
| <b>5. CONCLUSÕES .....</b>                                                         | <b>64</b> |
| <b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                          | <b>65</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

As embalagens que apresentam Indicadores de Tempo-Temperatura são consideradas embalagens inteligentes, pois utilizam um sistema que monitora as condições do alimento em tempo real, informando aos consumidores sobre as condições de transporte e armazenamento desses produtos, estabelecendo desta maneira os parâmetros de qualidade e segurança do alimento antes do seu consumo.

Assim, um moderno sistema de segurança, que garanta a qualidade de um produto, pode evitar a contaminação através do monitoramento, fixação e controle de parâmetros críticos, como a temperatura, durante o ciclo de vida de um produto alimentício. Esses sistemas incluem a fase de pós-processamento e se estendem até o período de utilização pelo consumidor (KOUTSOUMANIS et al., 2005).

Por isso, o controle e registro das condições de temperatura durante a distribuição e armazenagem são de extrema importância (TAOUKIS e LABUZA, 2003). Os indicadores ou integradores de tempo e temperatura (ITTs) são definidos como dispositivos simples, eficazes e de fácil manuseio para monitorar, gravar e, de forma acumulativa, indicar a influência global do histórico de temperatura sobre a qualidade do produto alimentício, desde a fabricação até o consumidor final (GIANNAKOURETOS et al., 2005).

Indicadores de Tempo e Temperatura têm sido aplicados principalmente para estabelecer o tempo de exposição à temperatura de produtos alimentícios refrigerados e congelados, tais como produtos de pescado e frutos do mar (MENDOZA et al., 2004), produtos hortícolas (BOBELYN et al., 2006), carnes (VAIKOUSI et al., 2009) e produtos lácteos (FU et al., 1991; ZHANG et al., 2013). Além disso, os ITTs também já foram aplicados para avaliar a eficiência dos processos de pasteurização e esterilização (MEHAUDEN et al., 2007).

Assim, esses indicadores são descritos como materiais que possuem a capacidade de indicar a presença ou ausência de outra substância no alimento em relação às suas condições iniciais, como a

presença de oxigênio, ou o grau de reação entre substâncias da composição química do alimento, resultando em mudanças nas características do indicador, sobretudo a cor. Deste modo, os ITTs devem apresentar uma excelente sensibilidade de ativação, a partir da temperatura, bem como da implicação acumulada do tempo em que o alimento está mantido naquela temperatura, correlacionando a deterioração do produto ao efeito da temperatura, apontado de maneira precisa e irreversível pelo indicador (DE JONG et al., 2005).

Outros tipos de ITTs também foram desenvolvidos, Rani e Abraham (2006) relataram um ITT de baixo custo a partir de reações enzimáticas. Yan et al., (2008) desenvolveram um novo tipo de ITT ativado por amilase, ao passo que Galagan e Su (2008) desenvolveram um novo sensor colorimétrico ITT com base em tinta degradável. Em 2010, Ellouze e Augustin, desenvolveram um ITT biológico (eO)<sup>®</sup>, para indicar a qualidade de carne moída e fatias de frango temperadas, cozidas e embaladas sob atmosfera modificada.

Portanto, considerando que os principais sensores empregados em embalagens de alimentos são aqueles que informam variações na temperatura durante o tempo de prateleira desses produtos, têm-se deste modo, a relevância do presente trabalho, que se refere ao desenvolvimento e caracterização de um sensor indicador de tempo-temperatura para constituir uma embalagem inteligente, sendo este sensor baseado em uma blenda polimérica de PVA e quitosana dopada com antocianinas, com a finalidade de estabelecer as variações de tempo-temperatura de forma indireta, a partir das mudanças de pH de produtos alimentícios, quando mantidos em temperaturas diferentes das recomendadas para o seu armazenamento.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 – Embalagens para Alimentos**

A embalagem tem como funções básicas conter, vender e proteger o alimento contra qualquer ação deteriorativa, sendo ela de ordem química, física ou microbiológica. Desta forma, a função de proteção refere-se na máxima preservação da qualidade do produto, criando condições que minimizem as alterações químicas, bioquímicas e microbiológicas que promovem a degradação do produto desde o processamento até o consumo final. E para tanto, o desenvolvimento de novas tecnologias, que utilizam embalagens que possuam a habilidade de interagir com o alimento, se torna de extrema importância, sendo que essas embalagens ativas, são empregadas essencialmente em produtos frescos refrigerados, devido à sua reduzida vida de prateleira (SOUSA et al., 2012).

Desta maneira as embalagens ativas, além de estabelecerem uma barreira efetiva a agentes externos, promovem correções das limitações presentes nas embalagens passivas. Essas embalagens podem ainda ser descritas como embalagens em que os elementos adicionados, são propositalmente inseridos ao material ou no espaço-livre do volume útil da embalagem, na perspectiva de elevar sua eficiência (TEODORO et al., 2007). No entanto, as embalagens inteligentes se constituem em sistemas onde é possível a comunicação com o consumidor, dando informações referentes à qualidade e segurança do produto através da embalagem. Isto envolve a incorporação de sensores ou indicadores que respondem por sinal (elétrico ou colorimétrico) às modificações das condições iniciais do produto alimentício (DAINIELLI et al., 2008).

#### **2.1.1 – Indicador de Tempo-Temperatura (ITT)**

A temperatura é um dos fatores mais importantes para assegurar a qualidade de um alimento, devido à sua direta influência no crescimento microbiano, como por exemplo, em cadeias de frio da carne fresca e de produtos à base de carne, a refrigeração pode ser considerada como o principal processo empregado, para controlar e minimizar o crescimento de micro-organismos deteriorantes e principalmente os patogênicos, sendo essencial para manutenção da qualidade e segurança desses produtos (JAMES, 1996).

De Jong et al., 2005, descreve que o princípio de funcionamento dos ITTs se estabelece no fato de que a deterioração de alimentos ocorre de maneira mais rápida, quando estão em temperaturas de refrigeração e congelamento diferentes do que as recomendadas para o seu armazenamento. Deste modo, os ITTs descrevem o histórico da vida de prateleira do produto alimentício, bem como a influência global da interação tempo-temperatura na estabilidade do alimento, promovendo uma indicação visual caracterizada por mudanças de cor no sensor (LABUZA e FU, 1995). Selman (1995), propõe que os ITTs podem ser ativados por diferentes princípios físico-químicos, como por exemplo reações de polimerização e enzimáticas, além de processos de corrosão e ponto de fusão do material.

Kruijf et al. (2002) apud Braga e Peres (2010), em uma revisão sobre novas tendências em embalagens para alimentos, apresentaram alguns indicadores de tempo-temperatura empregados comercialmente, como o Vitsab TTI indicator (Vitsab Sweden AB, Suécia) que é ativado pela variação de pH na mistura reacional, decorrente da reação enzimática provocada pela deterioração do alimento; o Tag MonitorMark (3M Packaging Systems Division, EUA) que é ativado a partir do ponto de fusão de compostos, resultando na modificação de sua coloração e o Fresh-Check e Fresh-Scan™ (Life Lines Technology, EUA) que são ativados a partir da variação de temperatura, resultando na reação de polimerização e mudança de coloração do filme indicador.

## **2.2 – Polímeros**

Os polímeros são definidos como toda macromolécula constituída pela junção, através de ligações covalentes, de unidades de repetição chamadas de mero, que é na verdade a unidade básica da cadeia polimérica, sendo que a molécula formada por uma única unidade de mero é estabelecida como monômero. Os polímeros são divididos em três grupos, considerando o tipo de unidade, bem como a quantidade de meros por cadeia polimérica e o tipo de ligação covalente envolvida, sendo então classificados em plásticos, elastômeros e fibras.

Os plásticos se estabelecem como materiais que em determinado momento do seu processamento podem tornar-se fluidos e maleáveis, empregando isoladamente ou em conjunto calor e pressão. Os polímeros podem também ser qualificados considerando a diversificação das unidades de mero na cadeia polimérica, ou seja, os polímeros cujas unidades de mero repetidas são as mesmas, são denominados de homopolímeros, e os que apresentam mais de um tipo de mero (diferentes monômeros) na cadeia, são chamados copolímeros (CALLISTER, 2007).

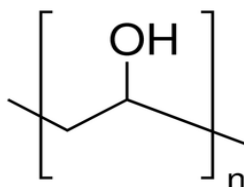
### **2.3 - Blendas Poliméricas**

Apesar de existir o processo de modificação química para a produção de copolímeros, ela não é a única maneira de alterar as propriedades de um polímero. Assim, algumas modificações dessas propriedades podem ocorrer de maneira efetivamente simples, eficiente e com redução de custos, através da mistura física de polímeros, resultando no que é denominado de blenda polimérica.

Desta forma, uma blenda polimérica, é a mistura física de dois ou mais polímeros, podendo ser produzida através da dissolução dos polímeros constituintes em um solvente comum, com posterior evaporação desse solvente, ou da mistura mecânica dos seus constituintes, empregando a fusão e em seguida o resfriamento. Neste tipo de material, a interação molecular predominante entre as cadeias poliméricas é do tipo secundária, como Van der Waals, dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio (JACOB, 2006).

### 2.3 – PVA

O PVA é um polímero sintético, preparado pela polimerização do acetato de vinila seguido da hidrólise de poli(acetato de vinila) em Poli(álcool vinílico-co-acetato de vinila) (PVA) (Figura 1), no qual possui propriedades físicas e químicas dependentes das condições experimentais utilizadas em sua preparação. O hidrogel de PVA apresenta excelente transparência e consistência macia, e formam filmes com ótimo grau de transparência, são mecanicamente resistentes, quando comparados a outros polímeros sintéticos, e apresentam a propriedade de serem biocompatíveis (SUNG et al., 1999; BERGER et al., 2004).



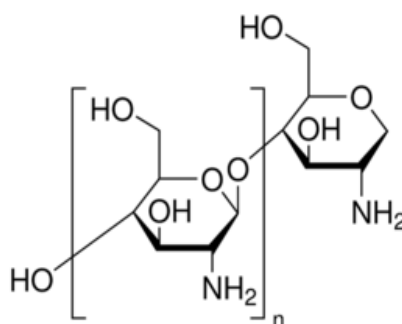
**FIGURA 1.** Estrutura do monômero de PVA.

Assim, o PVA apresenta propriedades específicas que o qualificam como excelente matéria-prima para a produção de embalagens, ou seja, o fato de ser não mutagênico, não citotóxico e principalmente, não apresentar atividade carcinogênica (COSTA JR. e MANSUR, 2008).

### 2.3 – Quitosana

A quitosana (Figura 2) é um polímero obtido da desacetilação alcalina da quitina, sendo que a quitina comercial é normalmente obtida a partir da separação de outros componentes da carapaça de crustáceos através da desmineralização e desproteínização com soluções diluídas de HCl e NaOH, seguida de descoloração com  $\text{KMnO}_4$  e ácido oxálico (MUZZARELLI et al., 2002). A quitina ocorre na natureza na forma de microfibrilas cristalinas, que constituem componentes estruturais nos exoesqueletos de artrópodes e também nas paredes celulares de fungos, como por exemplo o *Aspergillus* e leveduras (QIN et al., 2006).

A quitosana apresenta propriedades de polieletrólitos, como também alta capacidade de absorção de água, biocompatibilidade, biodegradabilidade e não toxicidade, além de possuir eficiência bacteriostática e fungistática, ganhando importância como um polímero constituinte de matrizes, podendo ser empregada no desenvolvimento de filmes em embalagens para alimentos (ISENBERG e WONG, 2006; LI et al., 2009; AZEVEDO et al., 2007).



**FIGURA 2.** Estrutura química da quitosana.

Desta forma, a quitosana é um polímero não ramificado, constituído por unidades de N-acetil-D-glucosaminas, unidas por ligações (1 e 4) em cadeias de centenas de unidades (HOVEN et al., 2007). A quitosana apresenta solubilidade essencialmente em soluções aquosas de ácidos orgânicos como o acético, fórmico e cítrico, bem como em inorgânicos. A estrutura química da quitosana assemelha-se a da celulose, diferenciando-se somente os grupos hidroxila que na celulose são substituídos na posição C-2 pelo grupo acetamida (PILLAI et al., 2009).

## 2.4 – Indicadores Naturais de pH

Na literatura existem diversos trabalhos como os de Cuchinski et al., (2010) que utilizaram o extrato de beterraba (*Beta vulgaris*) como indicador ácido-base, já Terci e Rossi (2002) estudaram os extratos brutos obtidos das frutas de: Amora (*Morus Nigra*), Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), Jambolão (*Syzygium cuminii*) e Uva (*Vitis vinífera*) como potenciais indicadores e medidores de pH. Pinheiro e Lima (1999) estudaram o desempenho do extrato aquoso da casca de barbatimão (*Stryphnodendron barbatimão*), como indicador em titulação ácido-base. Assim, esses estudos

apresentam propostas de utilização de corantes contidos em tecidos vegetais, para determinação colorimétrica de pH, sendo que as mudanças de coloração são atribuídas à presença de antocianinas e outros compostos, a partir das transformações estruturais que ocorrem quando há variação no pH do meio (SABNIS, 2007). Outros extratos vegetais também podem funcionar como indicadores de pH devido a presença de antocianinas, como por exemplo, a solução aquosa do extrato de repolho roxo (*Brassica oleracea var capitata*, Família Brassicaceae) (SABNIS, 2007).

No entanto existem outros indicadores naturais de pH como os extratos de açafrão da terra (*Curcuma longa*, Família das Zingiberaceas), rabanete (*Raphanus sativus*, Família das Brassicaceae) e pimentão (*Apsicum annuum*, Família das Solanaceas), que apresentam mudanças de coloração no extrato a partir das alterações de pH, devido a presença de pigmentos que produzem cor pela ação de um íon cromóforo, como as betalaínas, a capsantina, a capsorubina (pigmentos vermelhos) e o betacaroteno (pigmento amarelo) (ARAÚJO, 1995).

#### **2.4.1 – Antocianinas**

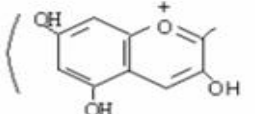
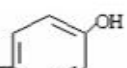
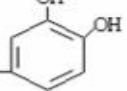
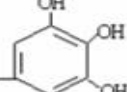
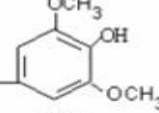
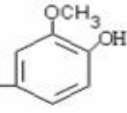
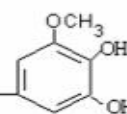
Os flavonoides são os principais responsáveis por diversas tonalidades de cores encontradas em flores, frutas e folhas e englobam um grupo de inúmeros pigmentos fenólicos (BOBBIO e BOBBIO, 1995) e como subgrupo, dentro dos flavonoides se estabelecem as antocianinas (PETERSON e DWYER, 2000) que se caracterizam por serem pigmentos solúveis em água, responsáveis pela coloração vermelha, violeta, azul e púrpura (STRINGHETA, 1991).

As antocianinas são pigmentos glicosídicos, oriundos do núcleo 2-fenilbenzopirílico ou flavílico (JACKMAN e SMITH, 1992). Na natureza, as antocianinas estão presentes na forma heteroglicosídica, contendo uma ou mais moléculas de açúcar e a aglicona (antocianidina) ligados, sendo que os principais açúcares encontrados são: glicose, araminose, xilose, galactose, arabinose e frutose, podendo estar presentes na forma de monoglicosídeos, diglicosídeos e triglicosídeos, substituídos diretamente na aglicona, sendo

que esses açúcares contribuem para a estabilidade e solubilidade a aglicona (KUKOSKI, 2000).

Na Tabela 1, são apresentadas as estruturas químicas das antocianinas e algumas de suas fontes naturais. No que se refere à alimentação a partir de plantas, as antocianinas se encontram difundidas, no mínimo em 27 famílias, 73 gêneros e numa grande variedade de espécies (BRIDLE e TIMBERLAKE, 1997).

**TABELA 1.** Estruturas, nomes e fontes na natureza das principais antocianinas.

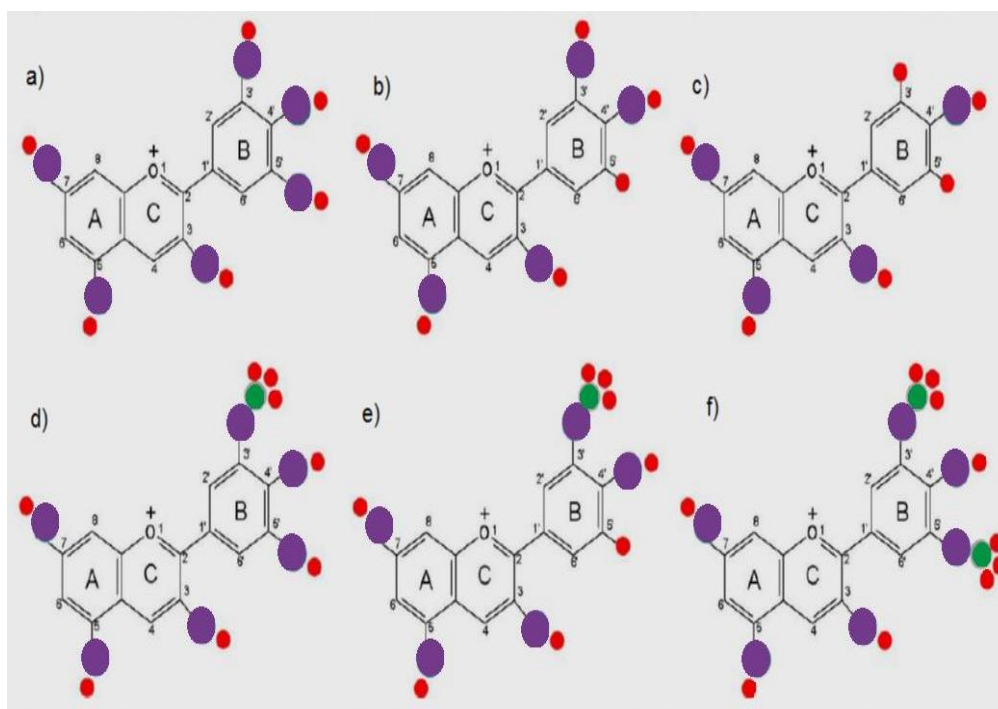
| Estrutura do Cátion flavílico                                                       | Estrutura do Anel B                                                                 | Nome          | Encontrado em:                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------|
|  |    | Pelargonidina | Morango, amora, vermelha e bananeira.                             |
|                                                                                     |   | Cianidina     | Jabuticaba, figo, cereja, ameixa, jambolão, amora e repolho roxo. |
|                                                                                     |  | Delfinidina   | Berinjela, romã e maracujá.                                       |
|                                                                                     |  | Malvidina     | Uva e feijão.                                                     |
|                                                                                     |  | Peonidina     | Uva e cereja.                                                     |
|                                                                                     |  | Petunidina    | Frutas diversas e petúnias.                                       |

Adaptado de: BOBBIO e BOBBIO, (1995).

As antocianidinas são oriundas a partir de uma biossíntese mista, ou seja, via acetato e via do ácido chiquímico, onde a tetra-hidrochalcona caracteriza-se como a molécula precursora para todas as classes de flavonoides, sendo formada pela condensação de uma molécula de p-coumaroil-CoA com três moléculas de malonil-CoA, reação catalisada pela chalcona sintase (CHS), que pertence à família das sintases de policetídeo.

Desta forma as antocianinas representam uma categoria de substâncias orgânicas que são sintetizadas em organismos vegetais a partir do aminoácido fenilalanina (TANAKA et al., 2008).

Em conformidade com Tanaka et al., (2008), as antocianinas diferem entre si a partir do número, bem como da posição dos grupos metilas e hidroxilas presentes, que estão ligados ao cátion flavílico em sua estrutura básica (Figura 3). Desta forma, as antocianidinas são alteradas pelos grupos glicosilados e acilados, resultando no surgimento de centenas de diferentes estruturas moleculares, que contemporizam entre si considerando a cromaticidade e estabilidade.



**FIGURA 3.** Substituições nos carbonos adjacentes do cátion flavílico que determinam a estabilidade das diferentes antocianidinas. a) delfinidina; b) cianidina; c) pelargonidina; d) petunidina; e) peonidina e f) malvidina. Símbolos: hidrogênio (círculo vermelho); oxigênio (círculo roxo) e carbono (círculo verde).  
Fonte: Adaptado de Coultate (2004).

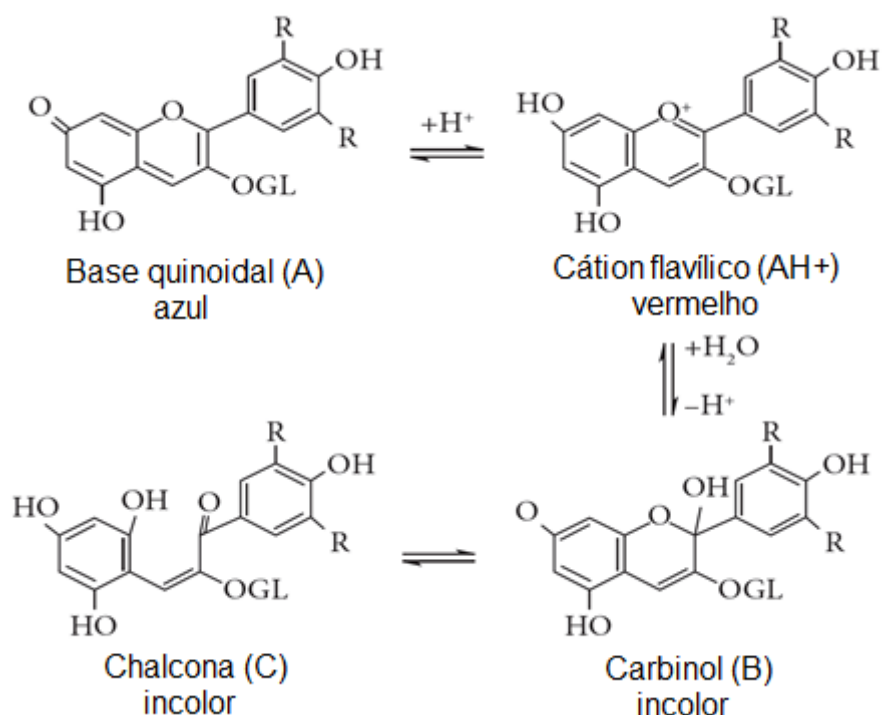
A estabilidade das antocianinas está diretamente relacionada aos carbonos adjacentes ligados à estrutura do cátion flavílico em sua forma básica, sendo que considerando o grau de metilação das moléculas em relação as seis antocianidinas presentes em alimentos, pode-se construir uma escala em níveis de estabilidade, onde a malvidina caracteriza-se como sendo a antocianina mais estável, devido à presença de dois radicais

metilados em sua estrutura, sendo determinante na estabilidade da cor em vinhos. Vale ressaltar também que os átomos de hidrogênio ligados ao carbono adjacente das antocianinas, propiciam uma mediana estabilidade a esses compostos e que o radical hidroxil representa o pigmento mais susceptível a degradação por processos que empregam variações de temperaturas (TANAKA et al., 2008).

Viguera e Bridle (1999) descrevem que o cátion flavílico apresenta deficiência de elétrons, e essa deficiência faz com que ele seja altamente reativo, instável e susceptível a ataques nucleofílicos por inúmeros reagentes, como a água, peróxidos, dióxido de enxofre, dentre outros. Esses ataques ocorrem necessariamente nas posições C-2 e C-4 (Figura 3), sendo que a posição C-4 caracteriza-se como a menos susceptível ao ataque, devido a um impedimento estérico que a posição C-4 apresenta.

Assim, considerando as diferentes formas estruturais que as antocianinas podem apresentar, elas adquirem diferentes colorações, sendo essas mudanças de cor resultantes de diversos fatores, onde a temperatura bem como o pH do meio e as ligações com outras substâncias se estabelecem como os fatores principais. E dentre esses três fatores, o pH é o que mais resulta nas alterações de cor, dado que, em função do meio ácido ou básico em que elas estão submetidas, estas podem apresentar estruturas distintas (LEE et al., 2005).

A figura 4 apresenta quatro das principais estruturas químicas das antocianinas, que podem ocorrer em equilíbrio no meio como: o cátion flavílico, a base quinoidal, o carbinol pseudobase e a chalcona (LEVI et al., 2004). Diversos trabalhos como os de Março e Scarminio (2007), que estudaram flores de *Hibiscus acetosella* Welw. Ex Hiern, demonstraram que segundo a variação do pH do meio, ocorre mudança na cor das amostras e consequentemente nos máximos de absorção do espectro.



**FIGURA 4.** Estruturas moleculares encontradas em solução aquosa com diferentes valores de pH. Cátion flavílico (AH<sup>+</sup>), a) base quinoidal; b) carbinol ou pseudobase; e c) chalcona.

Fonte: Adaptado de LEVI et al., (2004).

Segundo Gouveia-Matos (1999), as mudanças de coloração observadas para o extrato de repolho roxo, com alta concentração de cianidina, em função das variações de pH se estabelecem em: vermelho mais escuro em pH=1, que se torna mais claro em pH=3, em pH=4 e 5 apresenta-se com tonalidade roxa e lilás, no entanto menos intensa, e a partir de pH=6 passa a adquirir tons azulados, até chegar ao pH=11, no qual apresenta uma cor azul-violeta, já em pH=12 apresenta uma cor verde escura, que adquire coloração amarelada em pH 13.

## 2.5 - Decomposição de Alimentos – Variações de pH

O desenvolvimento tecnológico resultante da era industrial promoveu o surgimento das indústrias de alimentos, sendo que essas indústrias passaram a empregar aditivos químicos concomitantemente a métodos de conservação e processamento de alimentos, como a refrigeração, o congelamento, a pasteurização, a esterilização, a secagem

pelo calor e a liofilização, com a finalidade de aumentar a estabilidade e consequentemente a vida útil desses alimentos processados.

Assim, considerando as alterações que os processos de decomposição provocam em alimentos, as alterações químicas, físicas e enzimáticas, são as principais que ocorrem. As alterações químicas advêm de reações dos alimentos quando em contato com o oxigênio do ar ou com resíduos de metais (estanho, ferro e cobre), já as físicas ocorrem necessariamente através da exposição demasiada a luz e à temperaturas diferentes do que as recomendadas para manter a estabilidade dos alimentos, resultando em mudanças no aroma, sabor e cor. As alterações enzimáticas são decorrentes da ação de enzimas, presentes no próprio alimento, propiciando mudanças na cor e principalmente no sabor (FELLOWS, 2006).

De um modo geral, o principal mecanismo que provoca a deterioração em alimentos processados ou *in natura*, é a ação e desenvolvimento microbiano, devido a contaminação por micro-organismos nesses alimentos, resultando em alterações no pH do meio, pelo acúmulo de ácidos orgânicos provenientes do metabolismo microbiano, como por exemplo a decomposição da glicose em ácido láctico, que ocorre pelo metabolismo anaeróbio de *Streptococcus*, *Lactococcus*, e algumas espécies de *Lactobacillus*. Outro exemplo de formação e acúmulo de ácidos orgânicos, é a decomposição anaeróbia da glicose, por *Shigella*, que resulta no desenvolvimento dos ácidos láctico, succínico, acético e fórmico, promovendo a redução de pH do alimento para valores abaixo de 5,0 (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

O processo de decomposição do álcool (oxidação dos álcoois) em alimentos, por bactérias como a *Gluconobacter* e *Acetobacter*, promove o acúmulo de ácido acético, o que diminui o pH do meio, diferentemente da decomposição anaeróbia de proteínas, mais conhecida como putrefação, provocada por Leveduras como *Tprulopsis* e *Rhodotorula*, por bactérias do gênero *Pseudomonas* e algumas espécies de *Flavobacterium*, que neste caso, ocorre a produção de sulfeto de hidrogênio, mercaptanas, aminas e indol, resultando na elevação do pH do alimento para valores acima de 8,0 (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 – Extração das Antocianinas do Repolho Roxo (*Brassica oleracea* var *capitata*)

A extração das antocianinas foi realizada de acordo com Silva (1996). Uma amostra de aproximadamente 150,0 g de repolho roxo, foi triturada, em seguida, foi adicionado 80 mL de solvente extrator (Etanol-Água (7:3)) e o pH do meio foi ajustado para 2,0 com HCl (1 mol/L). Posteriormente o material ficou em repouso por 24 horas a 5°C, ao abrigo da luz. Após esse período, o material foi prensado manualmente em filtro de tecido, com a finalidade de reter o resíduo do repolho, e o extrato foi transferido para balão volumétrico de 100,0 mL (VEc), tendo seu volume completado com o solvente extrator. O conteúdo do balão foi centrifugado a 2000 rpm, por 10 minutos. A seguir, o sobrenadante foi filtrado, em papel Whatman nº 1 resultando no extrato de antocianinas, que em seguida foi neutralizado até pH 7,0, com uma solução de NaOH a 2,5 mol/L, para que o efeito de mudança de cor provocado pelas antocianinas, ocorresse no ITT a partir das variações de pH provenientes da deterioração de alimentos.

#### 3.2 – Preparação do ITT

O hidrogel de PVA foi preparado pela dissolução de aproximadamente 1 g de pó do polímero, (SIGMA-ALDRICH Art. No. 363146) 99+% de Grau de Hidrólise (GH), em 100 mL de água destilada, sob agitação magnética à temperatura de  $70 \pm 2^\circ\text{C}$  até completa dissolução. O hidrogel de quitosana foi preparado a partir de 1 g de quitosana (SIGMA-ALDRICH Art. No. 448877) de médio peso molecular e 70 - 80% de grau de desacetilação (GD), dissolvido em 100 mL de solução aquosa de ácido acético a 1% (v/v) e mantido sob agitação magnética por 24 horas em temperatura ambiente (25°C).

A produção dos filmes indicadores de tempo-temperatura, ocorreu a partir de hidrogéis de PVA, quitosana e do extrato de antocianinas, sendo

que a proporção definida na produção final do ITT, foi determinada a partir de testes em diferentes proporções de hidrogéis: 9:1; 7:3; 5:5 e 3:7 (v/v), de quitosana e PVA respectivamente, sendo o volume do extrato de antocianinas definido em 25% do volume total da mistura, com posterior adição de 1,5% de solução de tripolifosfato de sódio a 0,1% (m/v).

Os resultados dos testes através de caracterização térmica, espectroscópica e de índice de intumescimento, indicaram a proporção 3:7 de quitosana e PVA, como sendo a ideal para a produção do ITT. Assim, o ITT desenvolvido no trabalho ocorreu na proporção de 3:7 (v/v), para quitosana e PVA respectivamente, e a concentração do extrato de antocianina utilizada no filme se estabeleceu em 25% do volume total da mistura dos hidrogéis, com adição de 1,5% de solução de tripolifosfato de sódio a 0,1% (m/v) em relação ao volume total da mistura, no intuito promover a reticulação (Cross-linking) da blenda polimérica, para conferir maior resistência ao filme além de melhorar suas propriedades químicas. O pH final da blenda do hidrogel do ITT, se estabeleceu em 6,10, apresentando uma coloração variando entre o roxo e o azul, como pode ser visualizado na figura 5.

Posteriormente o hidrogel do ITT (Figura 5) foi vertido (70 mL) em placas de Petri (150 mm de diâmetro) e em seguida, as placas foram inseridas em estufa a 35°C de temperatura, para secagem do solvente, através da técnica de "Casting", promovendo a evaporação do solvente aquoso e resultando em uma consequente coalescência das cadeias poliméricas para formação do filme contínuo, no caso o ITT.



**FIGURA 5.** Hidrogel de ITT, produzido a partir dos hidrogeis de quitosana e PVA e extrato de antocianinas.

### 3.3 – Determinação do Índice de Intumescimento (Ii%)

Para a determinação do Índice de Intumescimento (taxa de absorção de água dos filmes), inicialmente o ITT foi cortado em peças com 4,0 cm<sup>2</sup> de área, em triplicata, as peças foram mantidas em dessecador com sílica por 7 dias. Após esse procedimento as peças foram pesadas, e em seguida submetidas ao procedimento de imersão em recipientes contendo água destilada, por diferentes intervalos de tempo (0,5 min, 1 min, 3 min, 5 min, 7 min, 10 min, 15 min e 20 min de imersão) à temperatura ambiente (25°C), a cada intervalo de tempo as peças eram retiradas, secas e pesadas, conforme metodologia descrita por Cavalcanti et al., (2002).

O cálculo do índice de intumescimento (Ii%) foi realizado utilizando a equação (1).

$$Ii\% = \frac{Massa\ Final - Massa\ Inicial}{Massa\ Inicial} \times 100 \quad (1)$$

### 3.4 – Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho FT-IR

A radiação infravermelha (IR) corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético representado entre as regiões do visível e micro-ondas. Sendo que a parte de maior utilidade para análise e consequentemente identificação de materiais, compreende os comprimentos de onda de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>, (2,5 μm e 25 μm) definido como infravermelho médio (PAVIA et al., 2010).

O processo de absorção no infravermelho, parte da ideia de que assim como ocorre em outros tipos de absorção de energia, as moléculas, quando absorvem radiação no infravermelho, são excitadas para atingir um estado de maior energia, ou seja, ocorre a vibração dos átomos da molécula. A absorção de radiação no infravermelho é, como outros processos de absorção, um processo quantizado, assim, corresponde a alterações de energia da ordem de 8 a 40 kJ/mol. A radiação nessa faixa de energia

satisfaz à faixa que engloba frequências vibracionais de estiramento e deformação angular das ligações na maioria das moléculas mais covalentes (PAVIA et al., 2010).

Ainda que o processo de absorção no infravermelho seja quantizado, o espectro normalmente surge como uma série de bandas, em vez de linhas, isso ocorre pois cada mudança de nível de energia vibracional corresponde a uma série de mudanças de níveis rotacionais. Deste modo, as linhas se sobrepõem apresentando às bandas observadas, ou seja, bandas de vibração-rotação. O comprimento de onda de absorção de uma radiação ou frequência depende das massas relativas dos átomos, das constantes de força das ligações e da geometria dos átomos na estrutura do composto. Assim, cada frequência de absorção presente num espectro no infravermelho equivale a uma frequência de vibração de uma parte de uma molécula da amostra analisada (SILVERSTEIN, 1998).

As vibrações moleculares podem ser definidas em deformações axiais e angulares. As vibrações de deformação angular, envolve alteração dos ângulos de ligação em relação a um grupo de coordenadas arbitrário da molécula, ou seja, correspondem a variações ritmadas de ligações que tem um átomo em comum ou movimento de um grupo de átomos, em relação ao resto da molécula, sem que as posições relativas dos átomos do grupo se alterem. Já a vibração de deformação axial caracteriza-se por um movimento rítmico que se estende ao longo do eixo da ligação, resultando no aumento e diminuição da distância interatômica (SILVERSTEIN, 1998).

De uma maneira geral, as ligações moleculares podem vibrar em seis modos distintos: deformação axial simétrica (estiramento simétrico), deformação axial assimétrica (estiramento assimétrico), deformação angular simétrica no plano, (tesoura, ou dobramento angular), deformação angular fora do plano (sacudida), deformação angular assimétrica no plano (balanço) e deformação angular assimétrica fora do plano (torção) (SILVERSTEIN, 1998).

Portanto, a análise de espectroscopia de absorção na região do infravermelho de um composto, determina as posições, ou picos, na região do infravermelho e os registra graficamente. Resultando deste modo em um gráfico de intensidade de absorção *versus* número de onda (ou, às vezes,

comprimento de onda), sendo denominado como espectro de infravermelho (PAVIA et al., 2010).

O espectro de absorção na região do infravermelho das amostras foram obtidos a partir do Espectrofotômetro da marca PerkinElmer, modelo Spectrum 100 (Figura 6), com resolução  $4\text{ cm}^{-1}$ , na região compreendida entre  $4.000 - 600\text{ cm}^{-1}$ , utilizando cristal de diamante/ZnSe e a técnica de reflectância atenuada (ATR) com transformada de Fourier, disponível no Laboratório de Estudos de Materiais (LEMat) da Universidade Federal de Mato Grosso – CUA.



**FIGURA 6.** Foto do Espectrofotômetro PerkinElmer, modelo Spectrum 100.

### 3.5 – Espectroscopia na Região do Ultravioleta Visível (UV-Vis)

A Espectroscopia na Região do Ultravioleta Visível (UV-Vis) é uma técnica que envolve a espectroscopia de fótons, ou seja, a espectrofotometria. A técnica utiliza luz na faixa visível do ultravioleta (UV) próximo e do infravermelho próximo, sendo que nessas faixas de energia as moléculas padecem transições eletrônicas moleculares. E a partir da Lei de Lambert-Beer, descrita na equação (2), pode-se definir de modo quantitativo a concentração de substâncias nas amostras que absorvem essa radiação.

$$A = -\log_{10}(I/I_0) = \epsilon \cdot c \cdot L \quad (2)$$

Onde  $A$  é a absorbância medida,  $I_0$  é a intensidade da luz incidente a partir de um determinado comprimento de onda,  $I$  representa a intensidade transmitida pela amostra,  $L$  o caminho óptico pela amostra, ou seja, a distância da luz percorrida por ela,  $\epsilon$  é definida como uma constante conhecida como absorvidade molar que varia de substância para substância, e  $c$  representa a concentração da substância em (mol/L) (PAVIA et al., 2010).

Durante a análise, a amostra é inserida no caminho óptico do aparelho para obter a informação sobre a absorção dela pela luz UV-Vis em dado comprimento de onda, ou uma faixa de comprimentos de ondas. Assim, o equipamento mede o quanto de luz foi absorvida pela amostra. As medidas de absorção óptica na região do ultravioleta e do visível (UV-Vis) do ITT e das outras amostras para caracterização, foram realizadas utilizando o espectrofotômetro da marca PerkinElmer, modelo Lambda 25 (Figura 7), que realiza medidas de absorção por transmitância ou absorbância, disponível no Laboratório de Estudos de Materiais (LEMat) da Universidade Federal de Mato Grosso – CUA.



**FIGURA 7.** Foto do Espectrofotômetro PerkinElmer, modelo Lambda 25.

### 3.6 – Análise Térmica (TG-DSC)

A análise térmica pode ser descrita como um conjunto de técnicas que permitem estabelecer e medir as mudanças de uma propriedade física ou química para uma substância ou material, sendo esta análise realizada em função da temperatura ou tempo, enquanto que a substância é

submetida a um programa controlado de temperatura. A análise térmica apresenta uma infinidade de estudos relacionados a decomposição térmica, bem como a resolução quantitativa de umidade, compostos voláteis, resíduos e quantidade de cinzas do material analisado (MOTHÉ & AZEVEDO, 2002).

As principais vantagens da Análise Térmica compreendem desde o uso de uma pequena quantidade de amostra para os ensaios à variedade de resultados em um único gráfico. Sendo este gráfico importante para avaliar o comportamento do material, quando submetido a um programa de variação de temperatura. Desta maneira, a Análise Térmica pode identificar no material reações de oxidação térmica, a cinética de reação de cura e cristalização, o diagrama de fases, a quantificação de calor específico, bem como a determinação de transição vítrea, de fusão e tempo de armazenamento que o material analisado apresenta (MOTHÉ & AZEVEDO, 2002). A sua aplicabilidade ocorre em diferentes áreas, como a alimentícia e a engenharia civil. Portanto, a análise térmica permite o estudo de diferentes tipos de materiais, desde orgânicos e inorgânicos.

### **3.6.1 – Termogravimetria (TG)**

A Termogravimetria (TG) conceitua-se como uma técnica na qual a variação de massa de uma substância ( $\Delta m$ ) é medida quando esta é submetida a uma programação controlada de temperatura, ou seja, é estabelecida a variação de massa de uma amostra, decorrente de uma transformação física (sublimação, evaporação, condensação) ou transformação química (degradação, decomposição, oxidação) em função do tempo ou da temperatura (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

Quando um composto é exposto a temperatura elevada pode, na maioria das vezes, modificar a estrutura química e, conseqüentemente, as propriedades físicas dos materiais, ou seja, a curva de degradação térmica, estando em condições não isotérmicas, apresenta o perfil da resistência ou estabilidade térmica que o material possui quando submetido a uma varredura de temperatura. Assim, a capacidade da substância em manter suas propriedades, durante o processamento térmico, o mais próximo

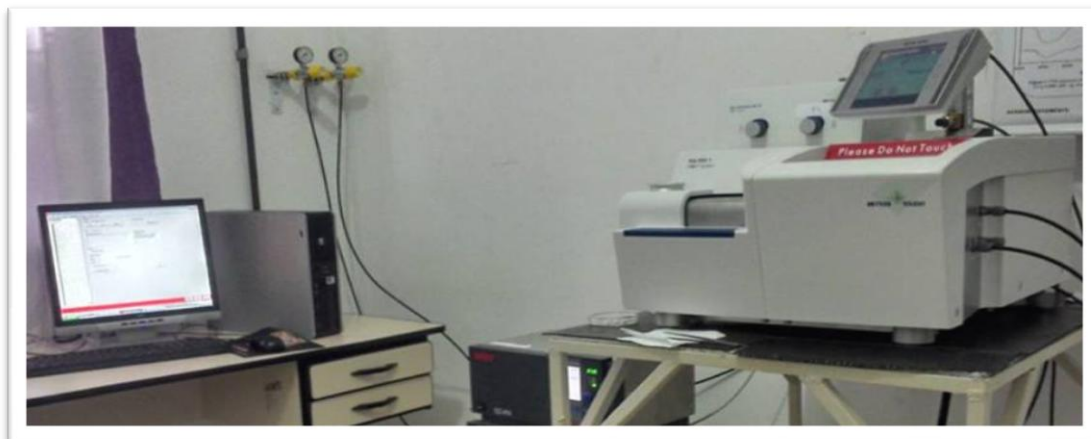
possível de suas características iniciais, é definida como estabilidade térmica, necessitando ser considerada em termos do ambiente em que o material está acondicionado e das funções que ele deve desenvolver (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

### 3.6.2 – Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é definida como a técnica que mede a diferença de energia proporcionada à substância e a um material tido como referência, enquanto são submetidos a uma variação controlada de temperatura. Portanto a calorimetria exploratória diferencial afere as temperaturas e o fluxo de calor ligado as transições dos materiais em função da temperatura e do tempo. Assim, tais medidas apresentam informações qualitativas e quantitativas relacionadas às mudanças físicas e químicas que envolvem processos de absorção de calor (endotérmicos) e evolução de calor (exotérmicos), além de medir as mudanças de capacidade calorífica do material (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

De acordo com Mothé e Azevedo (2002), o DSC caracteriza materiais com medidas específicas que compreendem a transição vítrea ( $T_g$ ), a temperatura e tempo de cristalização, o ponto de fusão, o calor específico, a oxidação, pureza e estabilidade térmica do material, bem como o ponto de ebulição, o grau de velocidade de cura e a cinética de reação.

A análise térmica TG-DSC das amostras foi realizada no equipamento da Mettler Toledo, modelo TG/DSC-1 (Figura 8), disponível no Laboratório de Estudos de Materiais (LEMat) da Universidade Federal de Mato Grosso – CUA), utilizado cadinho de  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  (70  $\mu\text{L}$ ), com massa de amostra de aproximadamente 7 mg, razão de aquecimento de  $20^\circ\text{C min}^{-1}$ , atmosfera de ar seco com vazão de 60  $\text{mL min}^{-1}$  e intervalo de temperatura de 30 -  $1000^\circ\text{C}$ .

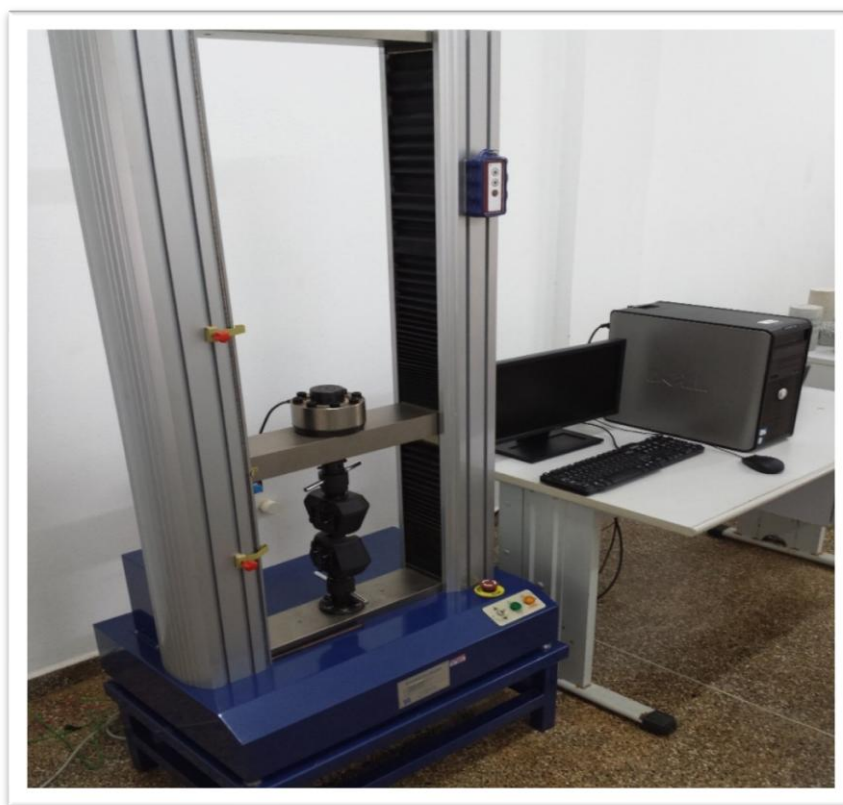


**FIGURA 8.** Foto do TG/DSC-1 da Mettler Toledo.

### **3.7 – Propriedades Mecânicas de Filmes**

Considerando que as principais propriedades mecânicas dos filmes são descritas pela resistência à tração e ao alongamento, têm-se que essas propriedades estão diretamente correlacionadas a estrutura dos filmes. Assim, a resistência à tração é definida como a tração máxima apresentada pelo filme em um teste de tensão/deformação, diferentemente da resistência ao alongamento, que é descrita como a capacidade do filme em se entender. Desta forma, a estrutura molecular dos polímeros e materiais que o concebem, influencia diretamente o seu comportamento mecânico. Diante disso, os filmes poliméricos podem ser classificados em termos de rigidez, fragilidade e tenacidade (CANEVAROLO, 2004).

Os ensaios de tração (tensão/deformação) foram realizados em uma máquina universal de ensaio, modelo WDW-300E da Time Group Inc. (Figura 9) disponível no Laboratório de Ensino II do curso de Engenharia Civil da Universidade Federal de Mato Grosso – CUA, determinando a tensão máxima de resistência, alongamento percentual e módulo de elasticidade das amostras de ITT e dos filmes de quitosana e PVA puro, com objetivo de comparação em relação ao comportamento mecânico do ITT. Foi adotado o método ASTM D1708-10, apropriado para determinação de propriedades de tensão ou tração de filmes plásticos com espessura variando de 0,0025 mm a 2,5 mm.

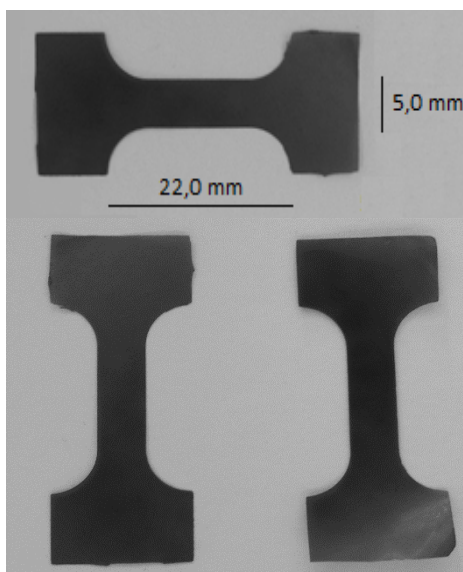


**FIGURA 9.** Foto do equipamento de ensaios de tração, modelo WDW-300E da Time Group Inc.

A figura 10 apresenta o modelo das amostras para o teste de tração, onde foram cortados em equipamento específico para cortes de corpos de prova. Todas as superfícies das amostras utilizadas nos testes, não apresentaram falhas visíveis, arranhões ou imperfeições. A separação inicial das garras se estabeleceu em 22 mm e a velocidade de tração 12,5 mm/min, com célula de carga de 150 Kgf. Foram analisados cinco corpos de prova para cada amostra, sendo que todo ensaio ocorreu em temperatura ambiente (aproximadamente 25°C). A espessura dos filmes foi medida com um micrômetro manual da marca Mitutoyo®, com divisões de 0,01 mm, em cinco pontos randômicos para as amostras analisadas, apresentando valor médio de  $0,08 \pm 0,002$  mm para o ITT,  $0,10 \pm 0,003$  mm para os filmes de quitosana e  $0,07 \pm 0,003$  mm para os filmes de PVA. Os dados para as curvas de tensão x deformação, bem como os demais dados referentes às amostras, foram obtidos com o auxílio do Software Win WDW®, desenvolvido pela Time Group Inc. e tratados pelo programa Origin Pro 8.1

para produção dos gráficos, onde foi determinada a média estatística dos dados de deformação e carga de força dos 5 corpos de prova de cada filme, sendo que a tensão suportada pelo material analisado e a deformação apresentada foram registrados.

Previamente aos testes, os corpos de prova foram acondicionados em um ambiente com  $50 \pm 5\%$  de umidade relativa e temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  em um período de tempo de 40 horas.



**FIGURA 10.** Corte padrão ASTM (Designação: D1708–10a) para análise de propriedades mecânicas das amostras de ITT e filmes de quitosana e PVA.

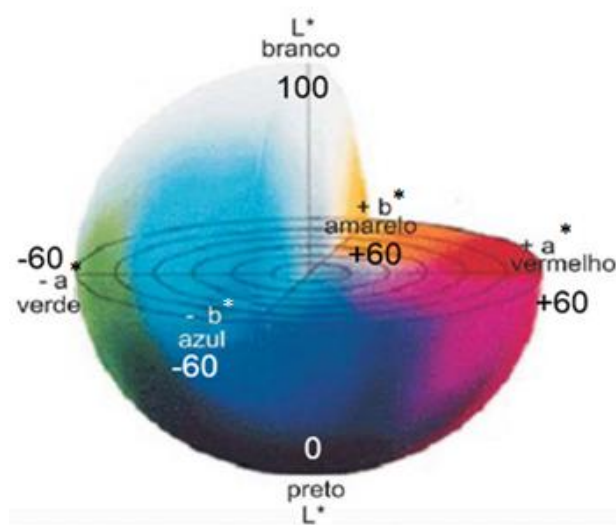
### 3.8 – Parâmetros Dinâmicos de Cor do ITT

#### 3.8.1 – Análise de Cor - Colorimetria

Em relação ao emprego da cor para determinar um parâmetro de um objeto, passou a existir a necessidade de utilizar técnicas que reduzam as variações de uma avaliação visual subjetiva. Assim, a colorimetria, é descrita como a ciência que estabelece a medição da cor, sendo utilizada principalmente na indústria e laboratório, no intuito de expressar a cor de maneira numérica, de acordo com padrões regularizados internacionalmente, para que a comunicação da cor seja fácil e expressa de maneira simples e correta (WENDT, 2006).

A despeito da cor ser um atributo de fundamental importância para um produto, poucos são os trabalhos que apresentam determinação da cor para filmes e, quando determinados, normalmente utilizam o sistema CIELab (Figura 11), esse sistema admite a especificação de percepções de cores em termos de um espaço tridimensional, ou seja, a axial  $L^*$  é conhecida como luminosidade e varia de preto (0) a branco (100),  $a^*$  apresenta variação do verde (-60) ao vermelho (+60) e  $b^*$  do azul (-60) ao amarelo (+60) (GENNADIOS et al., 1996).

Considerando os termos de espaço tridimensional Lab, existe outro sistema de mensuração de cor que é definido pela escala HunterLab (Hunter L, a, b). Sendo que, analogamente ao sistema CIELab, a HunterLab também transforma o espectro de reflectância ou transmitância do objeto (emitido nas cores primárias: vermelho, verde e azul) em variáveis x, y e z (gráfico tridimensional). No entanto, a escala CIELab é calculada usando raízes cúbicas e a HunterLab utilizando raízes quadráticas.



**FIGURA 11.** Representação do sistema CIELab no espaço tridimensional

Fonte: HUNTERLAB, (1996).

Apesar de usar a escala CIELab, que parte do modelo CIE, existem outros modelos que possuem a capacidade de expressar a cor de forma numérica, de acordo com padrões normalizados, como por exemplo o modelo RGB, que delineia as cores como o efeito da adição das três cores primárias, sendo cada uma delas expostas com uma intensidade que pode

variar de 0 a 1, onde 0 é a intensidade mínima e o 1 refere-se à amplitude máxima com que a cor pode ser apresentada no dispositivo gráfico. De tal modo que o modelo RGB é demasiadamente coligado às superfícies emissoras de luz, e por isso é empregue quase que universalmente em aparelhamentos que manejam a emissão de luz (LOPEZ, 2003).

Outros modelos também são conhecidos e utilizados para determinar os parâmetros de cor de objetos, como: CMY, que é baseado nas cores complementares, ciano, magenta e amarelo e o HSV, que utiliza três variáveis (*Hue*: cor, matiz e cambiante de cor; *Saturation*: saturação e *Value*: valor) resultando em um modelo que emprega os conceitos qualitativos de matiz, luz e tonalidade (LOPEZ, 2003).

Diversos trabalhos que desenvolveram novos Indicadores de Tempo-Temperatura, como os de Wallach (1996), Yoshida et al., (2013) e Wanihsuksombat et al., (2010), empregaram soluções aquosas ácidas e básicas em faixas de pH variando de 1,0 a 13,0 para ativação das amostras e posterior mensuração dos parâmetros dinâmicos de cor, validando a empregabilidade e aplicação dos ITTs em embalagens para alimentos.

Os parâmetros de cor do Indicador de Tempo-temperatura foram determinados através do Espectrofotômetro MiniScan EZ Hunterlab da marca BrasEq<sup>®</sup> (Figura 12), disponível no Laboratório de Análises Bromatológicas do Campus Universitário do Araguaia, da Universidade Federal de Mato Grosso; onde amostras do ITT (4 cm<sup>2</sup>) foram utilizadas para determinar o parâmetro L\* (luminosidade), a\* (vermelho-verde) e b\* (amarelo – azul), após a ativação e mudança de cor devido ao contato com soluções em diferentes pH (1,0 a 12,0). Uma placa de porcelana branca (padrão do equipamento) foi empregada como suporte na leitura, sendo que o ITT ativado, foi comparado com o ITT não ativado.



**FIGURA 12.** Foto do Espectrofotômetro BrasEq® modelo MiniScan EZ Hunterlab. Os testes foram realizados em triplicata e a diferença total de cor foi obtida segundo a equação abaixo:

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

Onde:  $\Delta L^* = L^* - L_0^*$

$$\Delta a^* = a^* - a_0^*$$

$$\Delta b^* = b^* - b_0^*$$

sendo  $L_0^*$ ,  $a_0^*$  e  $b_0^*$  os valores de cor do padrão, ou seja, o ITT não ativado, produzido com extrato de antocianinas em pH neutro.

### 3.8.2 – Potencial de Aplicação do ITT (Teste de Ativação em Leite)

Para o teste de ativação em leite, inicialmente peças com 4 cm<sup>2</sup> do ITT (triplicata) foram mantidas em contato com leite pasteurizado integral (20 mL) em placas de petri de vidro (5,5 cm de diâmetro). O leite utilizado foi da marca Favorito®, processado e empacotado pelo Laticínio Cristal LTDA. As placas contendo o leite e as peças do ITT foram mantidas tampadas, em uma sala com temperatura controlada de aproximadamente 25°C em todo o período do teste, ou seja, tempo necessário para que o leite se deteriorasse e promovesse as mudanças de cor do ITT. Durante o período do teste as placas contendo o leite foram submetidas a leituras de pH utilizando um pHmetro digital devidamente calibrado da marca TEKNA, modelo T-1000.

Após as mudanças de cor do ITT, devido as alterações de pH do leite, foram determinados os parâmetros de cor do Indicador de Tempo-

temperatura, através do Espectrofotômetro MiniScan EZ Hunterlab da marca BrasEq®, em escala CIELab, estabelecendo a variação total de cor do ITT em relação as suas condições iniciais.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 – Caracterização do ITT

#### 4.1.1 – Índice de Intumescimento

O resultado para o índice de Intumescimento é apresentado na Tabela 2, e o valor final encontrado para o índice de intumescimento do ITT, foi de 38,02%, assim, os ensaios demonstraram que, apesar das alterações registradas, houve um período de equilíbrio da hidratação entre 1 e 3 minutos (46,32 a 47,87%).

**TABELA 2.** Índice de Intumescimento para o indicador de tempo-temperatura.

| <b>Tempo (minutos)</b> | <b>li% do ITT</b> |
|------------------------|-------------------|
| <b>0,5</b>             | *34,35%±0,02      |
| <b>1</b>               | 46,32%±0,02       |
| <b>3</b>               | 47,87%±0,02       |
| <b>5</b>               | 46,73%±0,02       |
| <b>7</b>               | 43,47%±0,03       |
| <b>10</b>              | 40,76%±0,02       |
| <b>15</b>              | 38,38%±0,03       |
| <b>20</b>              | 38,02%±0,03       |

\*Média da Triplicata

O valor final encontrado para o índice de Intumescimento (38,02%±0,03), foi menor do que comparado ao período de hidratação, esse comportamento pode ser explicado pelo fato de que as cadeias presas por

ligações cruzadas da blenda polimérica formada pela quitosana e PVA, perdem a mobilidade após o período de hidratação, dificultando a entrada de solvente e consequentemente a hidratação do filme. Outro ponto relevante que pode ter contribuído para esse comportamento na taxa de absorção de água do ITT, foi a reticulação com tripolifosfato (Cross-linking) na mistura dos hidrogéis, o que pode ter resultado na interação de hidrogênio entre a hidroxila e o oxigênio do anel piranosídico da quitosana, reduzindo o número das ligações de hidrogênio com a água, ou seja, o grupamento hidroxila da quitosana pode ter apresentado um efeito estérico, restringindo a interação da água com o polímero (GEHRKE, 2000).

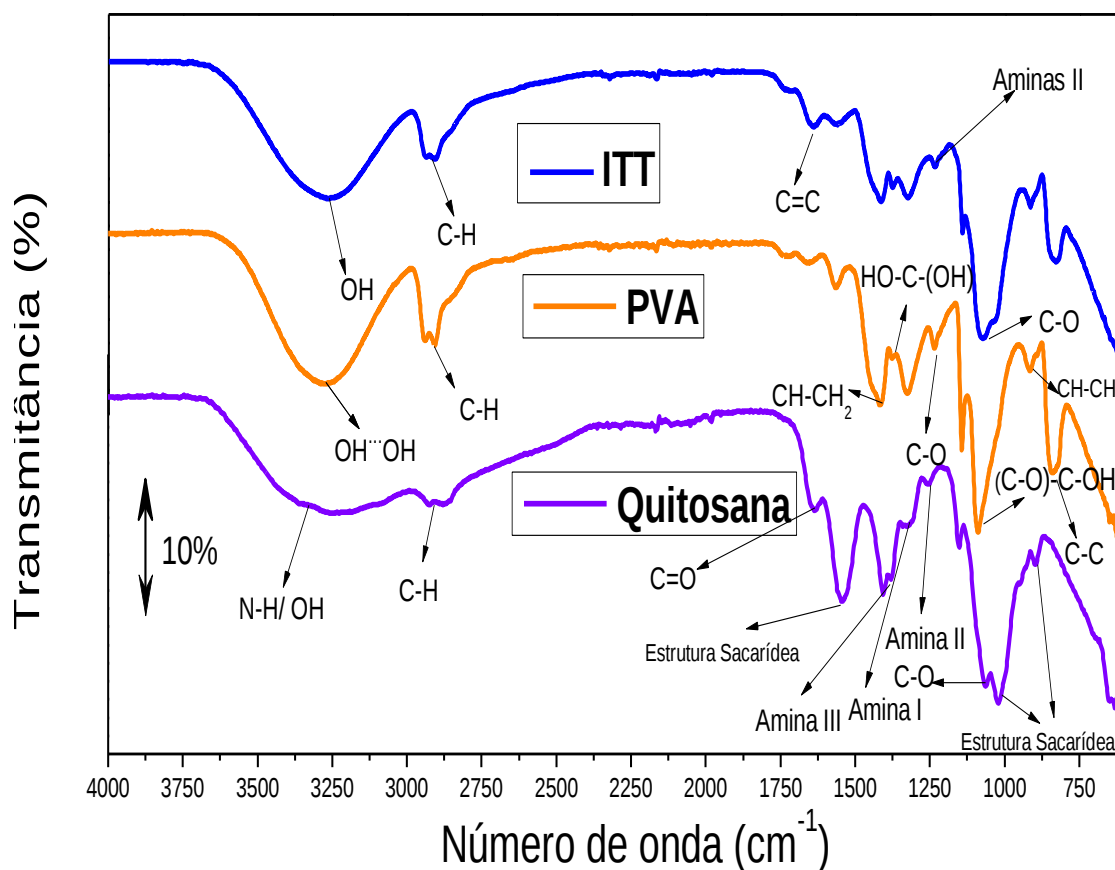
Desta forma, o PVA com 80% de grupos hidrolisados é descrito como um polímero que apresenta propriedades hidrofílicas mais acentuadas do que comparado a quitosana. Isto ocorre porque o PVA possui um número elevado de grupos hidroxilas, diferentemente da quitosana que promove ligações de hidrogênio e reduz a hidrofiliabilidade do filme devido a presença dos grupos acetatos. Portanto, a porcentagem final de intumescimento encontrada (38,02%) para o ITT, sugere-se que pode ser atribuída a alta concentração de PVA utilizada em sua produção (GINANI et al., 1999; COSTA JR., 2008).

#### **4.1.2 – Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho – FTIR**

A Figura 13, apresenta os espectros de absorção na região do infravermelho para o filmes de quitosana, PVA e ITT. O espectro do filme de PVA, apresentou bandas de absorção em aproximadamente  $3254\text{ cm}^{-1}$  (estiramento-OH) e  $1084\text{ cm}^{-1}$  para o grupamento C-O (RODRIGUES et al., 2007; ANICUTA et al., 2010).

Analisando-se o espectro do filme de quitosana, têm-se que o grau de desacetilação da quitina, promoveu o surgimento da banda de ligação amida I, correspondendo ao estiramento da ligação C=O em  $1632\text{ cm}^{-1}$ . As bandas em  $1312\text{ cm}^{-1}$ ,  $1249\text{ cm}^{-1}$  e  $1374\text{ cm}^{-1}$  correspondem às fortes vibrações de dobramento da ligação N-H primária, secundária e terciária, respectivamente. As vibrações fora do plano da ligação C-O

correspondente à estrutura sacarídea aparecem em  $1559\text{ cm}^{-1}$ ,  $1054\text{ cm}^{-1}$  e  $886\text{ cm}^{-1}$ , os resultados encontrados nos espectros de infravermelho para a quitosana estão de acordo com os de Anicuta et al., (2010).



**FIGURA 13.** Espectros de Infravermelho dos filmes de quitosana, PVA e do Indicador de Tempo-Temperatura.

Os grupos acetato e hidroxila, existentes no PVA, são relacionados a bandas características que podem ser verificados pelos espectros de infravermelho na figura 13. As principais vibrações correspondentes aos grupos químicos do PVA encontram-se descritas na Tabela 3 e estão de acordo com a literatura (MANSUR et al., 2007; COSTA JR., 2008).

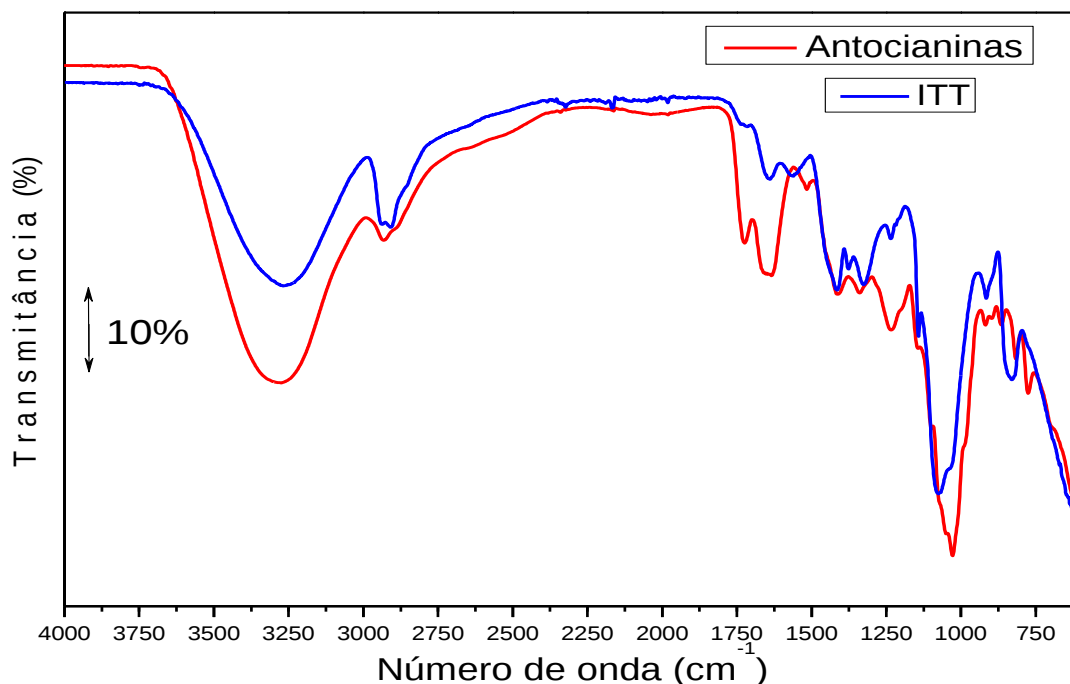
**TABELA 3.** Comprimento de onda e grupos característicos da quitosana e PVA.

| Material  | Bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Grupos Químicos Associados                     |
|-----------|-----------------------------|------------------------------------------------|
| Quitosana | 3570 – 3200<br>(3412)       | $\nu$ O-H ligado<br>N-H <sub>2</sub>           |
| Quitosana | 2955 – 2845<br>(2902)       | $\nu$ C-H <sub>2</sub> (ass)                   |
| Quitosana | 1900 – 1500<br>(1632)       | Amida I: $\nu$ C=O                             |
| Quitosana | 1547                        | $\delta$ N-H Amida I                           |
| Quitosana | 1340 – 1250<br>(1374)       | C-N (terciária)                                |
| Quitosana | 1400                        | C-N (primária)                                 |
| Quitosana | 1260                        | C-N (secundária)                               |
| Quitosana | 1054 e 886                  | $\nu$ COC (estrutura sacarídea - $\beta$ -1-4) |
| Quitosana | 1012                        | C-O (cíclico)                                  |
| PVA       | 3550 – 3200<br>(3254)       | $\nu$ (OH)<br>OH...OH                          |
| PVA       | 2937 – 2870                 | $\nu$ C-H                                      |
| PVA       | 1650 – 1630                 | $\delta$ C=C                                   |
| PVA       | 1461 – 1417                 | $\delta$ (CH) – CH <sub>2</sub>                |
| PVA       | 1254                        | $\nu$ (C-O)                                    |
| PVA       | 1084                        | $\nu$ (C-O)-C-OH                               |
| PVA       | 865                         | $\delta$ C-C                                   |
| PVA       | 937                         | $\delta$ CH-CH <sub>2</sub>                    |
| PVA       | 1583                        | $\nu$ C=C                                      |

As bandas características apresentadas na Figura 13, indicam a mistura física do PVA e da quitosana na formação do ITT, visto que não houve o aparecimento de novas bandas e nem o desaparecimento de bandas existentes no PVA ou na quitosana, sendo que a única mudança observada foi na intensidade das bandas existentes nos espectros dos polímeros puros, além do aparecimento de bandas correspondentes às antocianinas. A banda existente entre 3100 a 3500  $\text{cm}^{-1}$ , observada no espectro do ITT, refere-se a ligações de hidrogênio (estiramento O-H e N-H) entre os meros de quitosana (ANICUTA et al., 2010).

Avaliando o espectro do ITT (Figura 13), o estiramento C-H pode ser observado em  $2930\text{ cm}^{-1}$ , as amins secundárias presentes no mero da cadeia polimérica da quitosana, são estabelecidas a partir do estiramento C-N em  $1240\text{ cm}^{-1}$ . Em relação ao PVA, o espectro de infravermelho do ITT, apresentou estiramento típico de olefinas (C=C) presente no mero da cadeia polimérica do PVA em aproximadamente  $1642\text{ cm}^{-1}$ , além da deformação C-O em  $1066\text{ cm}^{-1}$ .

A figura 14 apresenta os espectros de absorção na região do infravermelho do ITT e do extrato de antocianinas. Considerando o extrato de antocianinas, as bandas entre  $2800 - 3000\text{ cm}^{-1}$  com máximo de absorção a  $2932\text{ cm}^{-1}$ , corresponde a deformação axial C-H, atribuídos aos grupos metoxilas das substâncias majoritárias do extrato de antocianinas. Na região entre  $1000 - 1125\text{ cm}^{-1}$ , pode-se observar uma banda intensa com máximo de absorção a  $1015\text{ cm}^{-1}$ , podendo ser atribuída as deformações C-H do anel aromático. A banda com máximo de absorção em aproximadamente de  $1233\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao estiramento C-O do anel pirano presente em compostos flavonoides. A banda com máximo de absorção a  $1455\text{ cm}^{-1}$  corresponde às vibrações de estiramento C=C do anel aromático. As bandas entre  $1300$  e  $1380\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas as deformações angulares C-O dos fenóis. Já a região entre  $1650$  e  $1750\text{ cm}^{-1}$  pode ser associada a combinações e sobretons dos compostos aromáticos presentes nas antocianinas (FERNÁNDEZ e AGOSIN, 2007).



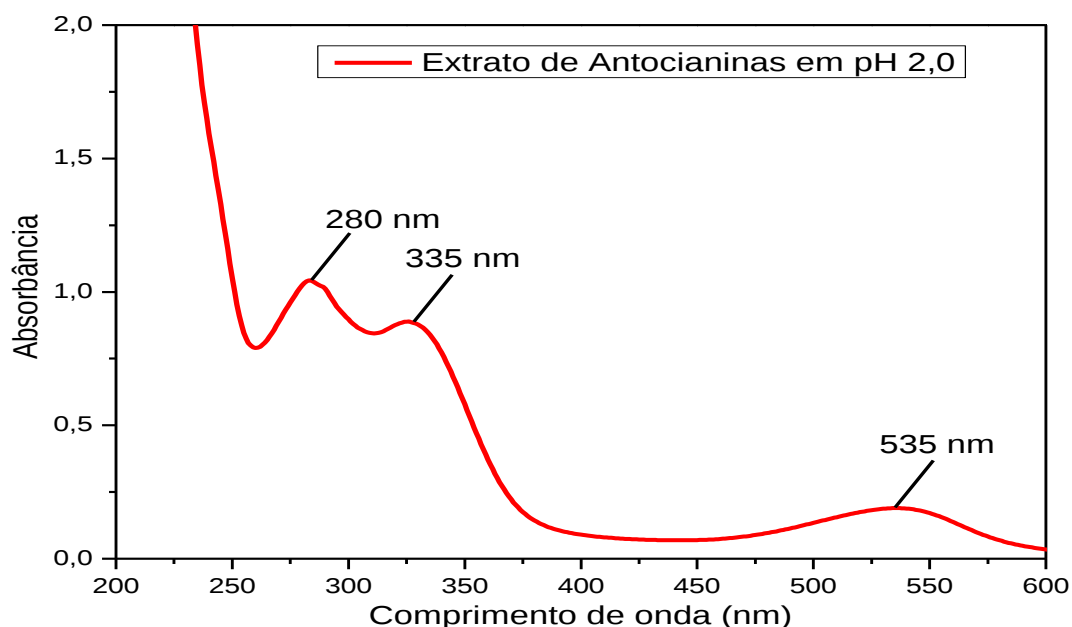
**FIGURA 14.** Espectros de Infravermelho do extrato de antocianinas e do Indicador de Tempo-Temperatura (ITT).

Portanto considerando o espectro do ITT em comparação com o do extrato de antocianinas (Figura 14), pode-se observar alteração nas bandas, entre 1500 e 1600  $\text{cm}^{-1}$  partindo tanto do espectro de quitosana quanto o de PVA. Isso mostra que as antocianinas foram incorporadas na matriz polimérica do ITT, pois a região modificada é típica de bandas pertencentes à anéis aromáticos, havendo também alterações na faixa de 750 a 1000  $\text{cm}^{-1}$ , o que indica a presença de anéis aromáticos com substituição orto e meta como pode ser verificado no espectro do extrato de antocianinas apresentado na figura 14.

#### 4.1.3 – Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível - UV-Vis

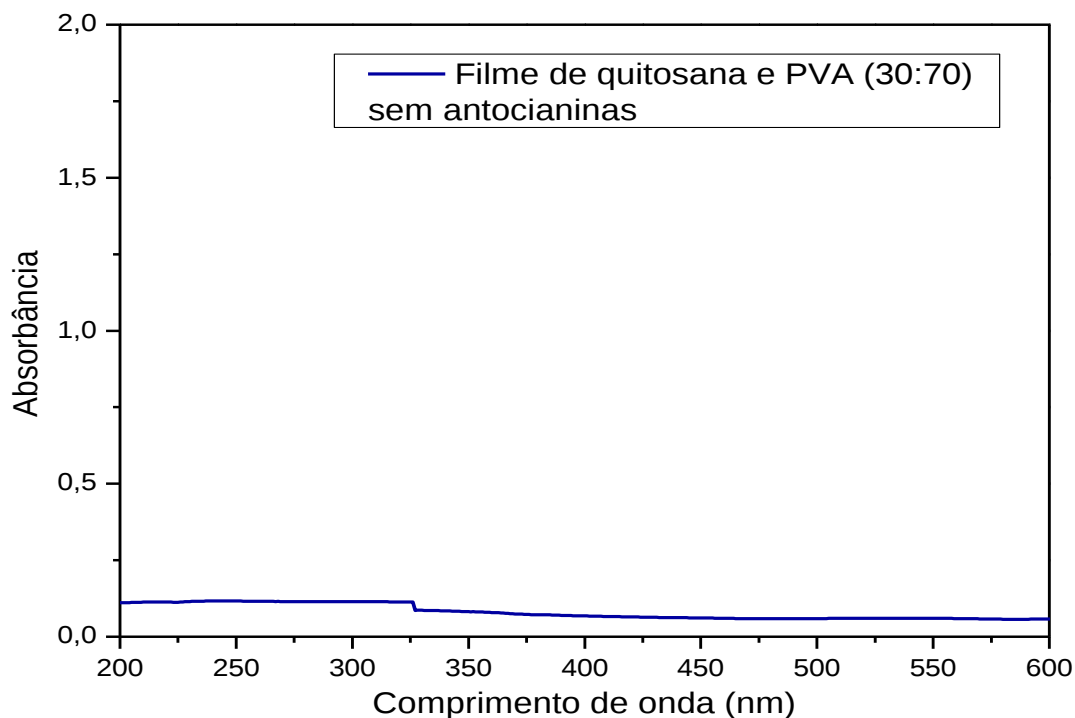
Os resultados obtidos nas análises de UV-Vis, indicam um perfil espectroscópico variado, considerando os valores de pH das amostras. O ITT foi desenvolvido com o extrato de antocianinas em pH neutro (7,0), que devido ao caráter ácido da quitosana após a mistura dos hidrogéis para formar a blenda polimérica do ITT, apresentou redução do pH para 6,10 (medição feita antes do processo de secagem do hidrogel do ITT). Já o extrato de antocianinas (Figura 15) foi analisado em meio ácido (pH 2,0), o

espectro indica a característica do equilíbrio ácido-base de protonação da estrutura do cátion flavílico, o qual possui máximos de absorção na faixa da região visível em 535 nm, na faixa de absorção da região do ultravioleta em 280 nm e em aproximadamente 335 nm, sendo esse máximo de absorção característico de compostos flavonoides. Além disso, o perfil do espectro obtido da amostra com pH 2,0 é bastante característico para antocianinas, conforme descrito na literatura (LEE et al., 2005). Os resultados obtidos, para o extrato de antocianinas, estão de acordo com o estudo desenvolvido por Março e Scarmínio (2007), que evidenciaram a formação do cátion flavílico em pH fortemente ácido (pH = 1,0 e 3,0).



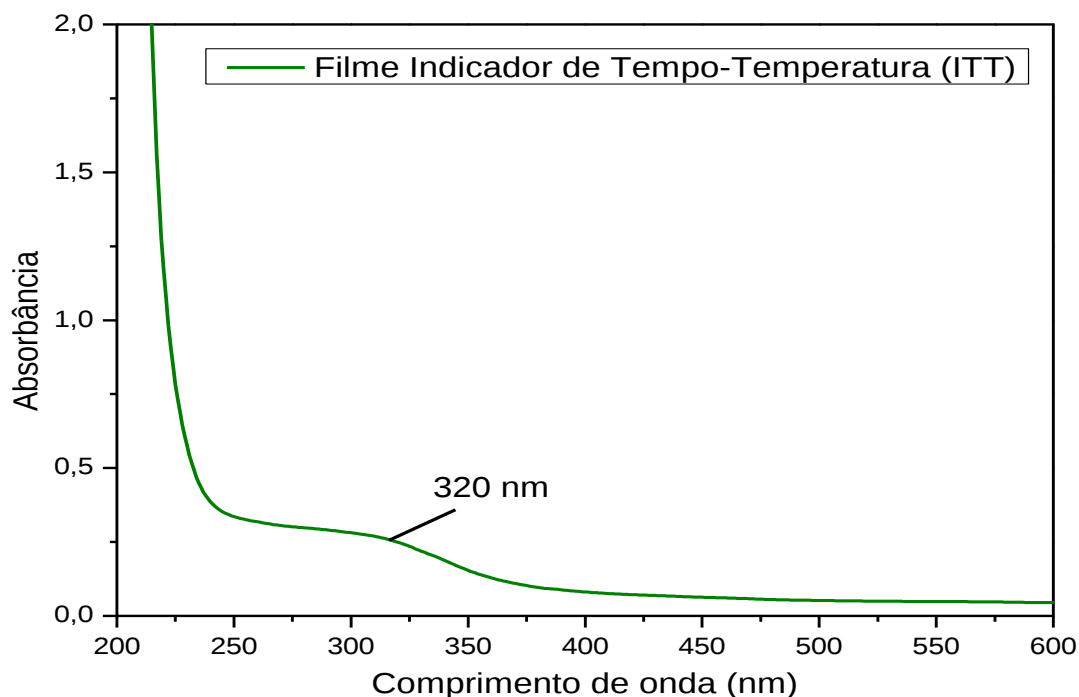
**FIGURA 15.** Espectro de UV-Vis para o extrato de antocianinas em pH 2,0.

Na Figura 16 é apresentado o espectro de UV-Vis do filme de PVA e quitosana sem a adição do extrato de antocianinas, em proporção de 7:3 (PVA:quitosana), não apresentando máximos de absorção na faixa da região visível e do ultravioleta em relação à antocianinas.



**FIGURA 16.** Espectro de UV-Vis do Filme de quitosana e PVA em proporção de 30:70 sem adição de extrato de antocianinas.

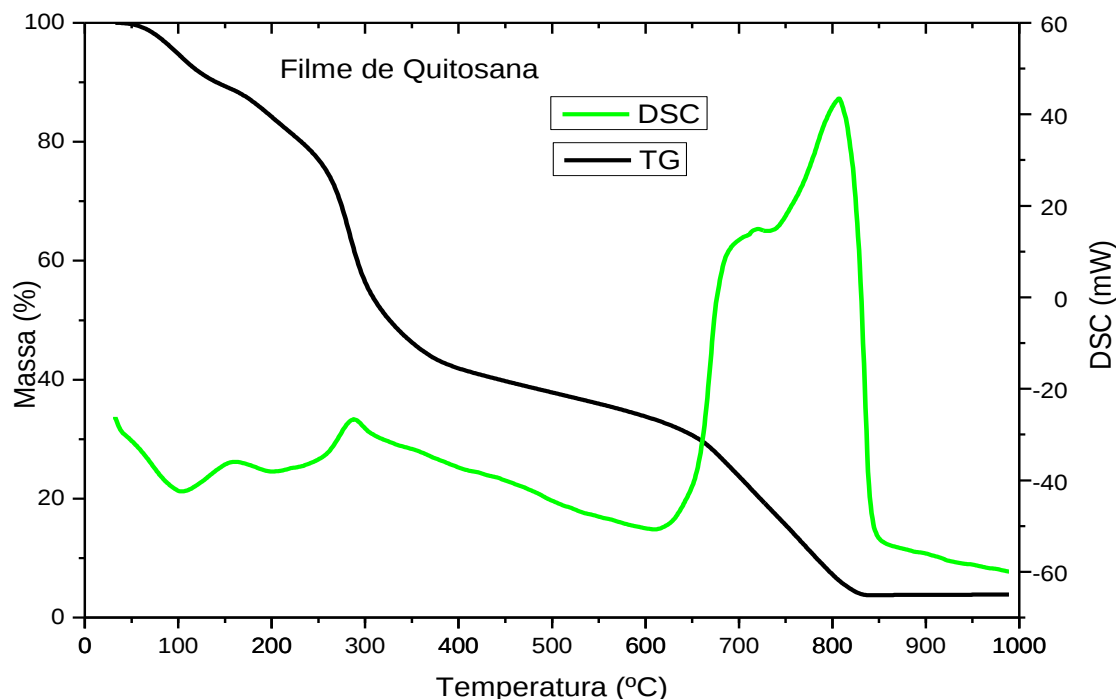
A figura 17 apresenta o espectro de UV-Vis do ITT, onde é possível notar que o ITT apresenta máximo de absorção na região do UV-Vis em um comprimento de onda de aproximadamente 320 nm, que é característico da antocianina em meio neutro, o espectro obtido estabelece a presença de antocianinas no filme indicador, observando-se no espectro um deslocamento hipsocrômico em comparação com o espectro do filme sem adição de antocianinas (Figura 16), o mesmo perfil de deslocamento é observado por Levi et al., (2004) em extrato de antocianinas em meio ácido para básico.



**FIGURA 17.** Espectro de UV-Vis do Indicador de Tempo-Temperatura.

#### 4.1.4 – Análise Térmica TG-DSC

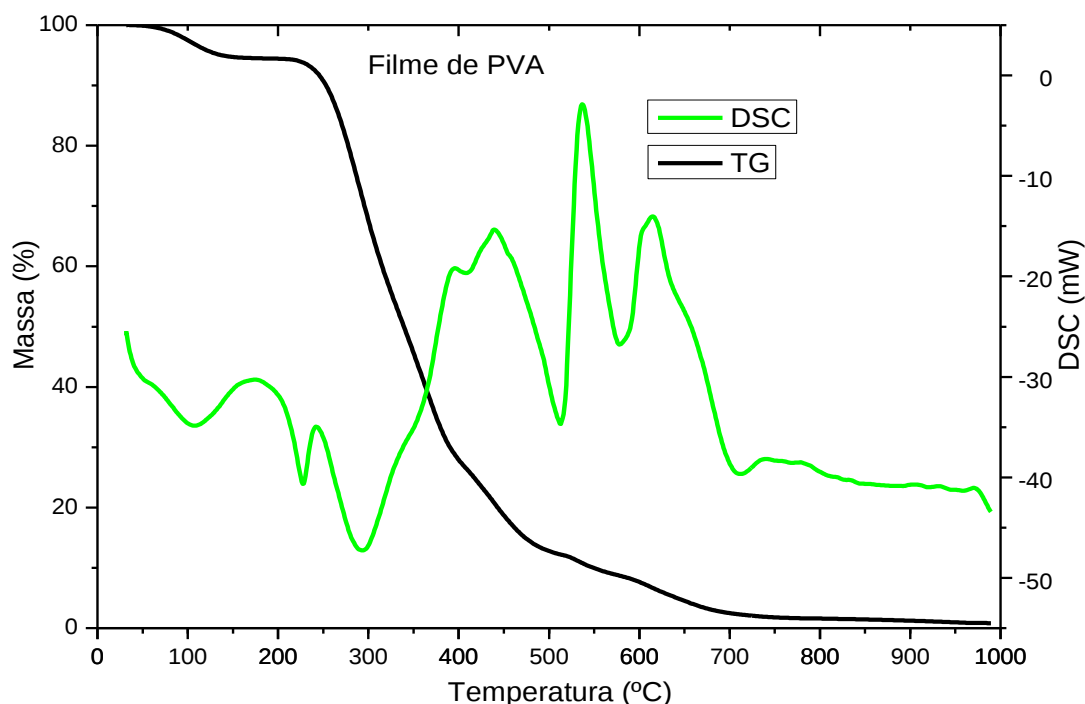
Na Curva TG-DSC do filme de quitosana (Figura 18), foi observado a perda de massa em quatro etapas consecutivas. A 1ª etapa de perda de massa (8,28% (m/m)) ocorreu entre 30°C e 155°C, com pico endotérmico em 150°C, esta perda é devido a saída de água superficial do composto. A 2ª etapa de perda de massa (10,63%) ocorre entre 161°C e 250°C, devido a saída de água intrínseca do filme. Os processos de decomposição do filme iniciam-se a partir de 250°C, sendo observado duas etapas consecutivas, com perdas de massa de 51,76% e 25,87% (3ª e 4ª etapa, respectivamente) até 830°C, com três picos exotérmicos em 290°C, 620°C e 700°C, a massa final de resíduo para o filme de quitosana se estabeleceu em 3,46% (devido a presença de compostos inorgânicos (impurezas), presentes na quitosana e que são estáveis até 1000°C).



**FIGURA 18.** Curva TG-DSC do filme de quitosana.

Em relação ao PVA, a decomposição térmica ocorreu em 4 etapas consecutivas (Figura 19). A 1ª etapa foi devido à desidratação térmica, com perda de massa de 5,49% (m/m), apresentando uma endoterma entre 80 e 133°C. A decomposição térmica do composto anidro (2ª, 3ª e 4ª etapa) ocorreu entre 196°C a 720°C, com perdas de massa de 69,37%, 13,26% e 11,06% (m/m), respectivamente 2ª, 3ª e 4ª, apresentando pico endotérmico em 227°C, atribuído a desidratação de sua cadeia polimérica e fusão do polímero, confirmado pela literatura (LEWANDOWSKA, 2009) e teste qualitativo, acompanhado da formação subsequente de produtos voláteis. O outro pico endotérmico em 300°C é decorrente da desidroxilação do PVA (LEWANDOWSKA, 2009).

O DSC para 2ª, 3ª e 4ª etapas de decomposição térmica, apresentou quatro picos exotérmicos entre 360 e 718°C. Os picos exotérmicos observados nas curvas DSC do filme de PVA (Figura 19) são devido a decomposição oxidativa da matéria orgânica em atmosfera de ar, não havendo formação de resíduo na decomposição térmica do filme de PVA.

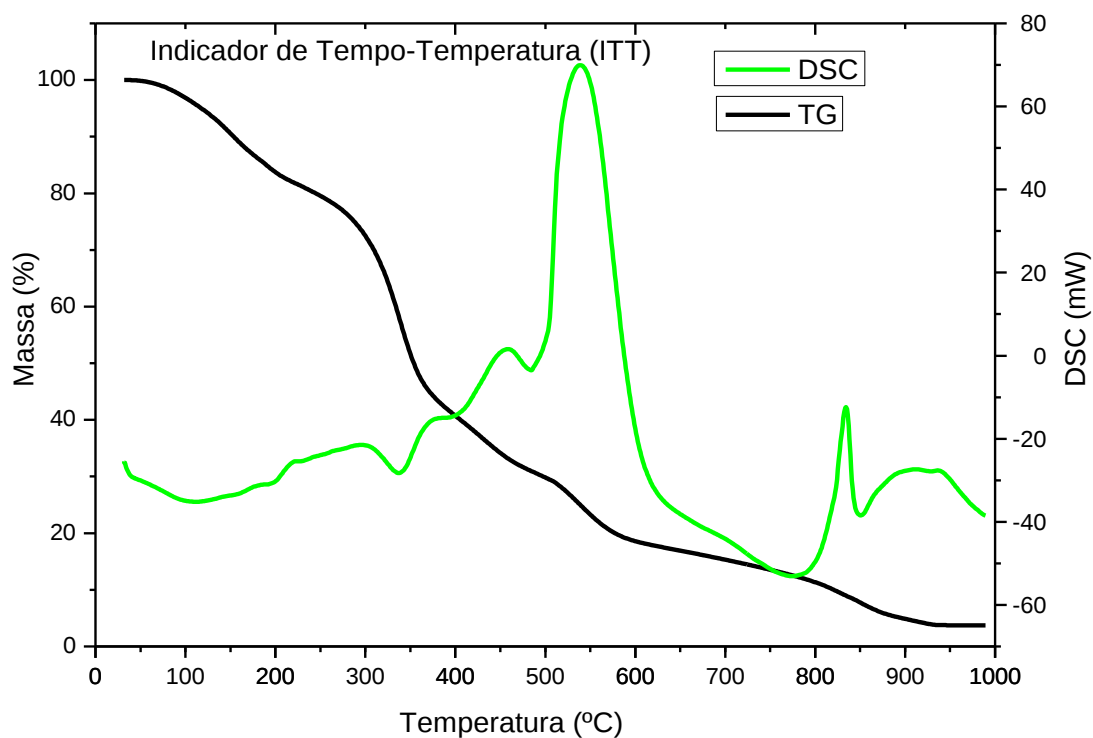


**FIGURA 19.** Curva TG-DSC do filme de PVA.

A curva TG-DSC do indicador de Tempo-Temperatura (Figura 20), apresenta a decomposição térmica ocorrendo em seis etapas, sendo a primeira etapa decorrente a saída da água superficial adsorvida (17,12%). A 2ª etapa de decomposição térmica ocorreu entre 183°C e 290°C, apresentando perda de massa de 5,03%, sendo decorrente da remoção da água intrínseca de constituição do filme. A 3ª etapa de perda de massa do indicador ocorreu em 290°C até 363°C, apresentando perda de massa de 30,77%, com pico endotérmico entre 330°C, indicando maior estabilidade térmica que os filmes de quitosana e PVA separadamente. Esta etapa de degradação térmica é devido a desidroxilação da cadeia polimérica do PVA, bem como da degradação da cadeia polimérica da quitosana, abrangendo a desidratação, despolimerização e decomposição pirolítica da estrutura polissacarídea, promovendo a formação de água, dióxido de carbono, metano e amônia (ZOHURIAAN e SHOKROLAHI, 2004). A 4ª etapa de decomposição ocorreu até 490°C, com pico exotérmico em 470°C, apresentando perda de massa de 16,44%. A 5ª etapa de decomposição térmica ocorreu até 620°C, apresentando perda de massa de 12,95%. A 6ª etapa de decomposição térmica ocorreu até 950°C com perda de massa de 14,29%. A temperatura final de decomposição térmica (950°C) é pelo

menos 120°C maior que a temperatura final de decomposição do filme de quitosana e 230°C maior que o filme de PVA. A massa final do resíduo do ITT se estabeleceu em 3,40%, que pode ser atribuída às impurezas (compostos inorgânicos) presentes na quitosana.

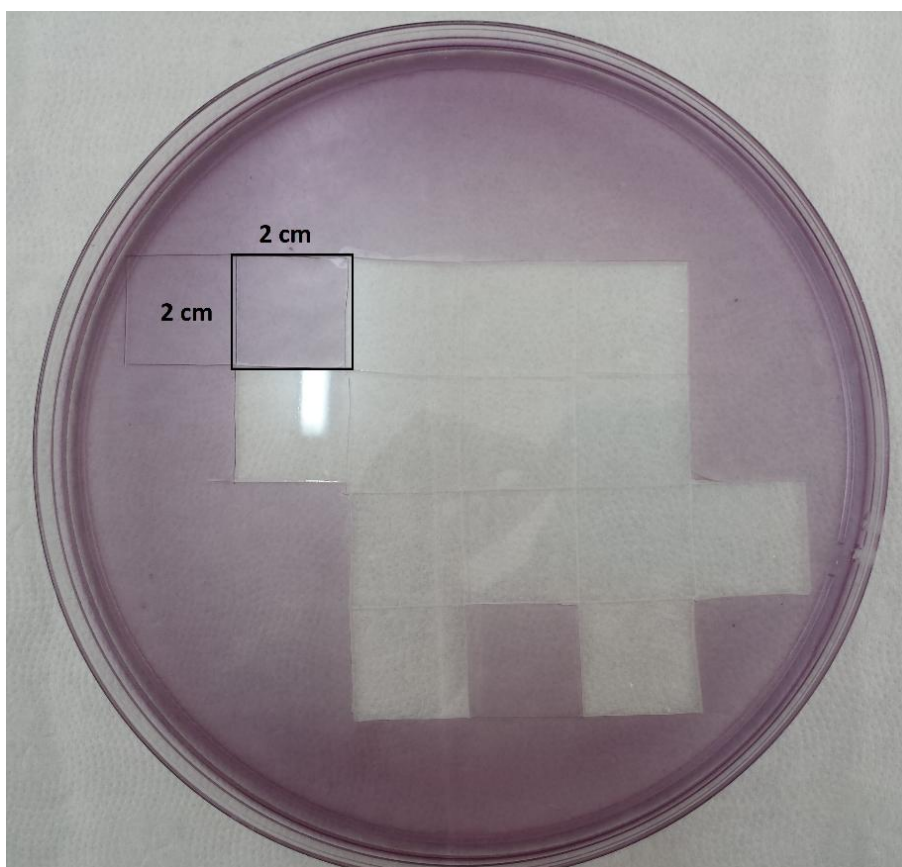
Portanto a partir da curva DSC dos filmes de quitosana e de PVA, foi possível observar as características intrínsecas desses compostos quando comparados com a curva DSC do ITT, indicando interação (mistura) de ordem física e não química no processo de formação do Indicador de Tempo-Temperatura, corroborando os dados obtidos com a espectroscopia de infravermelho e que a ação reticulante do tripolifosfato de sódio conferiu ao ITT uma maior resistência à degradação térmica quando comparado aos filmes de PVA e quitosana (SARANTÓPOULOS et al., 2002; RABELLO, 2000).



**FIGURA 20.** Curva TG-DSC do Indicador de Tempo-Temperatura a base de quitosana, PVA e antocianinas.

#### 4.2 – Sensibilidade do ITT em ácido láctico e solução aquosa de Fosfato de Sódio Monobásico

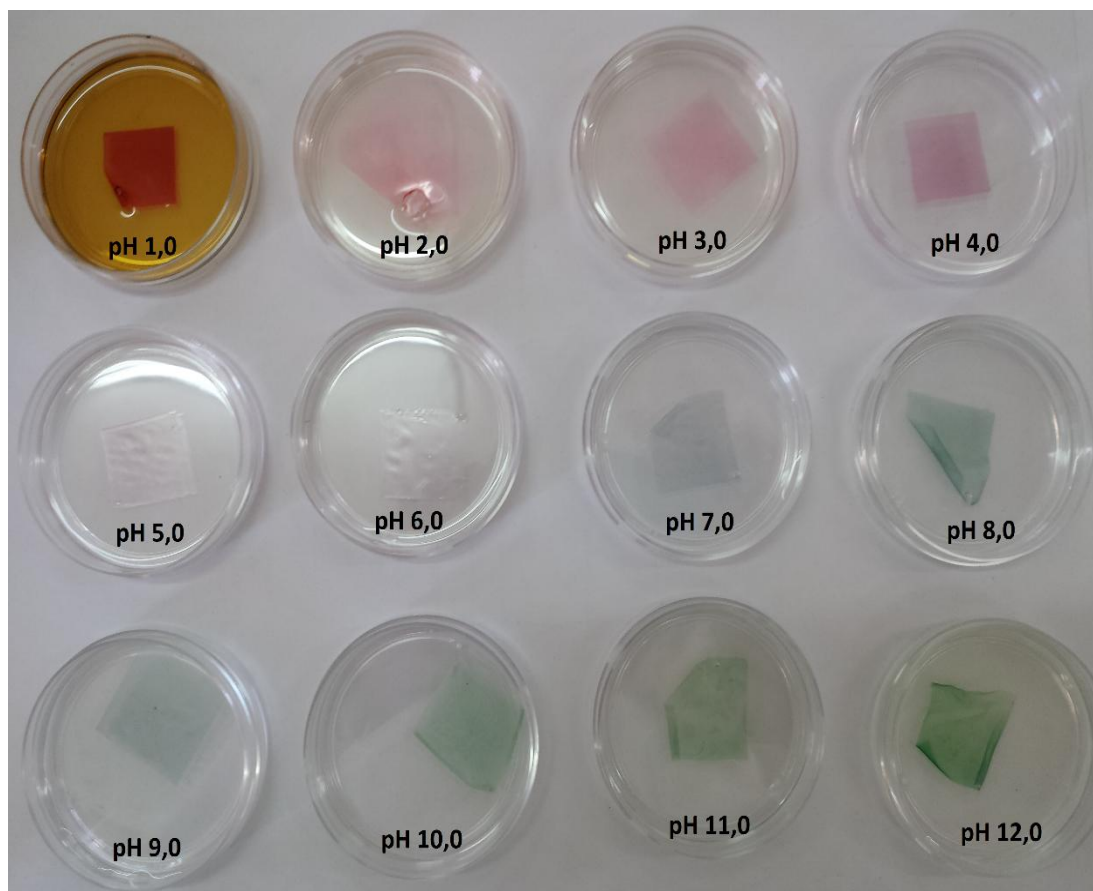
O ITT foi cortado em formato quadricular com área estabelecida em 4 cm<sup>2</sup>, Figura 21. Em seguida as amostras do ITT, foram submersas em placas com solução aquosa de ácido Lático (pH 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0) e solução aquosa de Fosfato de Sódio Monobásico 1 Mol·L<sup>-1</sup> (pH 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0 e 12,0).



**FIGURA 21.** Cortes do Indicador de Tempo-Temperatura a base de quitosana, PVA e antocianinas para o teste de ativação em solução de ácido lático e solução aquosa de fosfato de sódio monobásico.

Após o contato do ITT com as soluções em diferentes pH, uma mudança visível de cor foi detectada nas amostras, variando de vermelho-claro brilhante a verde-claro brilhante (Figura 22). A mudança de cor do ITT se estabeleceu em vermelho-claro brilhante para pH 1,0, e coloração rosa em pH 2,0 e 3,0. O ITT quando em contato com a solução de ácido lático em pH 4,0 apresentou um coloração roxa, que devido ao aumento do pH para 5,0 e 6,0 apresentou um tom lilás não muito perceptível. Em pH 7,0 o ITT apresentou uma mudança visível de cor de lilás para azul-claro. Em pH 8,0 o

ITT apresentou coloração verde-brilhante que se intensificou com o aumento do pH para 9,0; 10,0; 11,0 e 12,0 conforme visualizado na Figura 22.



**FIGURA 22.** Resposta de cor do ITT, a base de quitosana, PVA e antocianinas, em diferentes condições de pH.

Desta forma, em solução ácida (faixa de pH de 1,0 a 3,0), as antocianinas se apresentam predominantemente na forma de cátion flavílico, e que contribui para a cor roxa e principalmente cores vermelhas. Na faixa de pH entre 3,0 e 4,0, as espécies azul quinoidal são predominantes. Com a elevação do pH para 5,0 e 6,0 ocorre a diminuição na intensidade da cor e a concentração do cátion flavílico e a estrutura benzo-pirílica conjugada é interrompida devido ao ataque nucleofílico da água na posição 2 da estrutura da antocianidina (BROUILLARD e DUBOIS, 1977). Em pH entre 5,0 e 8,0 ocorre a perda de prótons do cátion flavílico e o equilíbrio é deslocado para uma base anidro de roxo quinoidal, ou seja, com a elevação do pH, ocorre a desprotonação do cátion flavílico, resultando na formação da base quinoidal, violeta ou roxo (BROUILLARD e DUBOIS, 1977). Quando o pH se eleva

consideravelmente, surge a forma carbinol, através da abertura do anel pirano central, resultando na cor verde e amarela claro (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). Portanto, as antocianinas apresentam formas diferentes de equilíbrio, sendo dependentes do pH do seu solvente (BJORØY et al., 2009).

Este espectro de cores vívidas encontrado para o ITT (Figura 22) está de acordo com Wallach (1996), que relatou que um indicador ativado a partir da variação de pH, pode aumentar a expansão da gama de mudança de cor em comparação com sensores que são ativados por reações enzimáticas.

#### 4.2.1 – Determinação dos parâmetros dinâmicos do ITT – Variação total de cor

A variação total de cor do ITT foi estabelecida a partir da medição dos parâmetros de cor do ITT não ativado, ou seja, filme produzido com extrato de antocianinas em pH neutro (7,0), os valores encontrados estão descritos na Tabela 4.

**TABELA 4.** Parâmetros de cor, no sistema CIELab do ITT inativado, produzido com extrato de antocianinas em pH 7,0.

| Parâmetros de cor do ITT inativado |            |           |
|------------------------------------|------------|-----------|
| $L_0^*$                            | $a_0^*$    | $b_0^*$   |
| 96,76±0,07                         | -1,57±0,03 | 4,05±0,07 |

A Tabela 5 apresenta os valores médios e os desvios padrão dos parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , bem como a variação total de cor ( $\Delta E$ ) em escala CIELab da triplicata das amostras, para o filme Indicador de Tempo-Temperatura, de acordo com a ativação pelo contato, nas soluções aquosas a base de ácido láctico e fosfato de sódio monobásico.

Os dados do parâmetro  $L^*$  da tabela 5, apresentam valores elevados no que se refere a indicação de luminosidade (parâmetro  $L^*$ ), isto é, quando o ITT foi ativado na faixa de pH de 5,0 a 7,0, ele apresentou uma

coloração não muito acentuada, variando do tom lilás ao verde-brilhante, o que justifica os valores elevados do parâmetro  $L^*$  ( $>99$ ) que indica transparência, e também pelo fato de que a antocianina apresenta uma coloração vermelha mais intensa quando em pH abaixo de 5,0, o que pode ser visualizado na figura 22.

**TABELA 5.** Parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e Variação total de cor ( $\Delta E$ ) do ITT a partir da ativação em soluções com diferentes pH.

| ITT<br>( $\Delta$ pH) | Parâmetros de Cor |                   |                  |            |
|-----------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------|
|                       | $L^*$             | $a^*$             | $b^*$            | $\Delta E$ |
| 1,0                   | 86,88 $\pm$ 0,08  | 19,75 $\pm$ 0,01  | 9,28 $\pm$ 0,04  | 27,01      |
| 2,0                   | 89,42 $\pm$ 0,02  | 16,96 $\pm$ 0,07  | 5,94 $\pm$ 0,08  | 22,29      |
| 3,0                   | 90,01 $\pm$ 0,01  | 15,44 $\pm$ 0,30  | 5,02 $\pm$ 0,09  | 20,42      |
| 4,0                   | 98,11 $\pm$ 0,06  | 2,86 $\pm$ 0,02   | -1,17 $\pm$ 0,04 | 5,45       |
| 5,0                   | 99,49 $\pm$ 0,04  | 1,06 $\pm$ 0,09   | -2,46 $\pm$ 0,07 | 4,11       |
| 6,0                   | 99,78 $\pm$ 0,08  | 0,90 $\pm$ 0,09   | -7,51 $\pm$ 0,09 | 5,21       |
| 7,0                   | 99,68 $\pm$ 0,11  | -2,36 $\pm$ 0,01  | -7,27 $\pm$ 0,08 | 4,41       |
| 8,0                   | 95,19 $\pm$ 0,20  | -6,27 $\pm$ 0,09  | -7,03 $\pm$ 0,07 | 5,78       |
| 9,0                   | 88,63 $\pm$ 0,06  | -9,28 $\pm$ 0,09  | -5,65 $\pm$ 0,02 | 11,31      |
| 10,0                  | 86,42 $\pm$ 0,07  | -10,66 $\pm$ 0,09 | -2,51 $\pm$ 0,09 | 13,85      |
| 11,0                  | 86,35 $\pm$ 0,04  | -12,13 $\pm$ 0,04 | 0,92 $\pm$ 0,09  | 15,63      |
| 12,0                  | 84,30 $\pm$ 0,02  | -19,24 $\pm$ 0,08 | 2,80 $\pm$ 0,03  | 22,68      |

\*Média $\pm$ Desvio Padrão

Considerando ainda os dados da tabela 5, pode-se observar que o parâmetro  $a^*$  (eixo verde – vermelho) da escala CIELab, apresentou valores com variações significativas, na faixa que compreende a cor vermelha, sendo caracterizada pelos valores encontrados para o ITT ativado em ácido láctico, com um valor máximo de 19,75 $\pm$ 0,01 em pH 1,0, até pH 4,0 (2,86 $\pm$ 0,02), sendo corroborado, pela variação da cor vermelha a rosa, (Figura 22) considerando a faixa de pH 1,0 a 4,0. A tonalidade vermelha é atribuída ao cátion flavílico que surge quando as antocianinas se encontram em meio fortemente ácido. (TERCI e ROSSI, 2002). Já na faixa de pH básico, o ITT apresentou valores negativos do parâmetro  $a^*$ , iniciando em pH 7,0 (-2,36  $\pm$ 0,01), sendo mais evidenciada no pH 12,0 (-19,24 $\pm$ 0,08) com o ITT apresentando uma coloração verde-brilhante.

Em relação ao parâmetro  $b^*$  (eixo azul – amarelo) da escala CIElab (Tabela 5), os valores negativos indicam a presença da cor azul, apresentando visualmente uma tendência de cor lilás para os ITTs, principalmente em pH 5,0 e 6,0, como pode ser visualizado na Figura 22. No entanto, diversos autores afirmam que existe uma relação de interação entre os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$ , como o croma (C), que representa a intensidade/brilho e o ângulo de tonalidade ( $h^\circ$ ), que representa as nuances de coloração, significando que as alterações de um ou de outro parâmetro ( $a^*$  e  $b^*$ ) estão diretamente ligadas à cor da amostra estudada (CHOUBERT e BACCAUNAD, 2006).

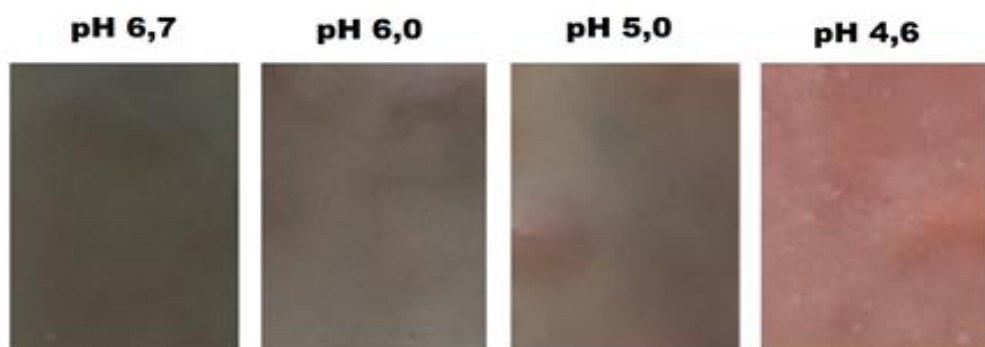
Desta forma, o padrão de valores encontrados para a variação total de cor do ITT são válidos, e semelhantes ao trabalho de Yoshida et al., (2013), onde desenvolveram filmes inteligentes a base de quitosana e antocianinas, para monitorar variações de pH em embalagens. Os resultados de  $\Delta E$ , em escala CIElab, encontrados no trabalho de Yoshida et al., (2013), caracterizam-se em 17,24 em pH 2,0 e 26,65 em pH 13,0, sendo as máximas variações de cor para os filmes inteligentes a base de quitosana e antocianinas. Analogamente ao trabalho desenvolvido por Yoshida et al., (2013), a variação total de cor ( $\Delta E$ ) em escala CIElab do ITT desenvolvido no presente trabalho, apresentou comportamento que justifica a mudança visual de cor, sendo que os maiores valores para a variação total de cor, são estabelecidos nas extremidades da faixa de pH utilizada para o teste de ativação (Tabela 5), ou seja, 27,01 em pH 1,0 e 22,68 em pH 12,0. Portanto, deve-se considerar que os resultados encontrados, estão inteiramente ligados às variações de cor apresentadas pelas antocianinas, que estão sujeitas a transformações químicas em meio aquoso no estado fundamental, abrangendo uma série de equilíbrios dependentes do pH do meio (FREITAS, 2005).

#### **4.3 – Potencial de Aplicação do ITT (Teste de Ativação em Leite)**

O pH do leite “in natura” apresenta reação ligeiramente ácida, variando entre 6,6 e 6,8, com média de 6,7 a 20°C ou 6,6 a 25°C, sendo que a acidez do leite fresco ocorre devido à presença de caseína, fosfatos,

albumina,  $\text{CO}_2$  e citratos. Desta forma, quando o leite se encontra em temperaturas acima da faixa descrita para a refrigeração (acima de  $7^\circ\text{C}$ ), inicia-se os processos de decomposição, alterando o pH do meio, ou seja, em pH ácido ocorre diminuição do potencial zeta para a sustentação da estrutura micelar, havendo a solubilização de compostos, com a mudança do cálcio da fase coloidal em solúvel, reduzindo a estabilidade do leite. Portanto, a acidez do leite pode ser influenciada por vários fatores distintos, sendo que o acúmulo de ácido láctico pelo metabolismo microbiano, representa-se como uma das principais causas para redução do pH. A acidez do leite também pode ser influenciada por ações enzimáticas endógenas e exógenas (MACHADO, 2010).

No início do teste de aplicação no leite, o valor encontrado do pH para o leite pasteurizado foi de 6,7, que ao passar do tempo apresentou uma redução do pH para 6,0 no dia seguinte, e no quarto dia 5,0 e 4,6. As leituras de pH foram realizadas utilizando um pHmetro digital devidamente calibrado da marca TEKNA, modelo T-1000. A figura 23 apresenta a mudança de cor do ITT em contato com leite pasteurizado, mantido em temperatura ambiente em diferentes intervalos de tempo.



**FIGURA 23.** Resposta de cor do ITT em contato com leite pasteurizado, mantido em temperatura ambiente ( $\sim 25^\circ\text{C}$ ) em diferentes intervalos de tempo (1 a 4 dias).

Após o contato do ITT com o leite, uma mudança visível de cor foi detectada nas amostras do ITT (Figura 23), que inicialmente, em pH 6,7 (leite não deteriorado) apresentou uma coloração próxima do cinza escuro, que com a redução do pH para 6,0 e 5,0 tornou-se gradativamente mais clara, já em pH 4,6 (ponto isoelétrico da caseína – leite deteriorado) o ITT apresentou cor rosa escuro. Devido ao leite ter sido mantido em

temperaturas diferentes do que as recomendadas para assegurar sua estabilidade, houve a deterioração, resultando em alterações no pH do meio por causa do acúmulo de ácidos orgânicos, provenientes do crescimento microbiano. Assim o leite em pH 4,6 propiciou a precipitação da caseína (coagulação ácida), e por isso houve a formação de grânulos brancos no leite, o que pode ser visualizado no ITT em pH 4,6 da figura 23 (pontos brancos no ITT).

A Tabela 6 apresenta os valores médios e os desvios padrão dos parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , bem como a variação total de cor ( $\Delta E$ ) em escala CIELab da triplicata das amostras, do filme Indicador de Tempo-Temperatura, de acordo com a ativação, pelo contato com leite pasteurizado, que foi mantido em temperaturas acima da faixa de refrigeração, em um intervalo de tempo que variou de 1 a 4 dias.

Os dados do parâmetro  $L^*$  da tabela 6, apresentam valores reduzidos no que se refere a indicação de luminosidade (parâmetro  $L^*$ ) quando comparados ao padrão (ITT não ativado), isso se deve ao fato de que o leite apresenta uma coloração branco opaco que interfere na transparência do ITT. Considerando ainda os dados da tabela 6, pode-se observar que o parâmetro  $a^*$  (eixo verde – vermelho) da escala CIELab, apresentou valores na faixa que compreende a cor vermelha, sendo que em pH 4,6 o ITT apresentou o valor máximo de  $19,82 \pm 0,08$  para o parâmetro  $a^*$ .

**TABELA 6.** Parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e Variação total de cor ( $\Delta E$ ) do ITT ativado a partir do contato com leite pasteurizado mantido em temperaturas acima da faixa de refrigeração.

| ITT<br>( $\Delta$ pH) | Parâmetros de cor do ITT ativado em Leite |                  |                 |            |
|-----------------------|-------------------------------------------|------------------|-----------------|------------|
|                       | $L^*$                                     | $a^*$            | $b^*$           | $\Delta E$ |
| 6,7                   | $75,95 \pm 0,08$                          | $1,73 \pm 0,03$  | $4,18 \pm 0,05$ | 21,07      |
| 6,0                   | $70,96 \pm 0,10$                          | $5,26 \pm 0,09$  | $5,26 \pm 0,12$ | 26,71      |
| 5,0                   | $69,18 \pm 0,08$                          | $8,28 \pm 0,02$  | $3,55 \pm 0,04$ | 29,29      |
| 4,6                   | $67,01 \pm 0,05$                          | $19,82 \pm 0,08$ | $8,00 \pm 0,09$ | 36,85      |

Em relação ao parâmetro  $b^*$  (eixo azul – amarelo) da escala CIELab (Tabela 6), os valores positivos indicam a presença da cor amarela, o que não pode ser perceptível visualmente nas amostras de ITT.

Considerando a variação total de cor (Tabela 6), a maior variação de cor após a ativação em leite pasteurizado foi quando o leite apresentou pH 4,6 ( $\Delta E = 36,85$ ), caracterizando-se em seu maior estágio de deterioração, onde a cor vermelha foi mais perceptível no ITT (Figura 23).

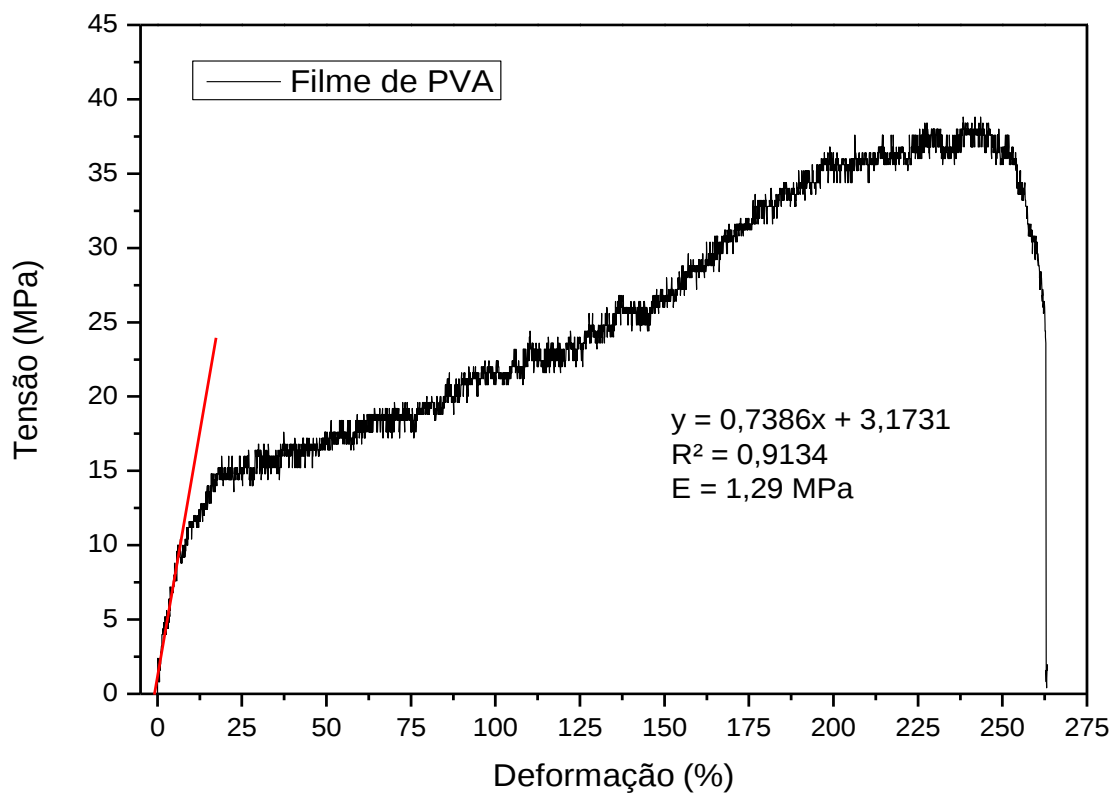
#### 4.4 – Propriedades Mecânicas

Para acoplar um filme indicador em uma embalagem de alimentos, tornando-a inteligente, é necessário estabelecer as propriedades que determinam a integridade do filme, para suportar o estresse que ocorre durante o transporte, manuseio e armazenamento desses produtos alimentícios. Assim, neste trabalho utilizou-se o ensaio de tração como forma de caracterização das propriedades mecânicas do ITT, bem como dos filmes de quitosana e PVA no intuito de comparação.

A figura 24 apresenta a curva tensão-deformação do filme de PVA, a partir da média estatística dos dados gerados nos cinco corpos de prova, sendo que o Módulo de Elasticidade ou Módulo de Young (E) foi determinado pelo trecho linear indicado (equação da reta). Para o filme de PVA o Módulo de Elasticidade encontrado se estabeleceu em 1,29 MPa, a Tensão de Tração máxima ( $\sigma_{\max}$ ) foi de 37,5 MPa, a Deformação Específica ( $\epsilon$ ) do material foi de 263,5% e a Tensão de Ruptura ( $\sigma$ ), tensão em que se atinge a ruptura do material, foi de 25,6 MPa.

Os resultados sobre as propriedades mecânicas do filme de PVA estão de acordo com as variações descritas pela literatura, 1 MPa a 64 MPa de Módulo de Elasticidade e 30 a 400% de deformação específica (COSTA JR., 2008; MANSUR, 2007; CHIELLINI, 2001), sendo que o grau de hidrólise representa influencia determinante nas propriedades mecânicas do PVA (MANSUR, 2007). E essa característica pode ser comprovada pelos resultados divergentes sobre as propriedades mecânicas do PVA encontradas por Costa Jr. (2008), que obteve 276% de deformação específica, 27,5 MPa de Tensão de Tração máxima e 0,6 MPa de Módulo de Elasticidade. Desta forma, sugere-se que a não conformidade dos resultados pode ser atribuída ao fato de que o PVA utilizado por Costa Jr. (2008) era

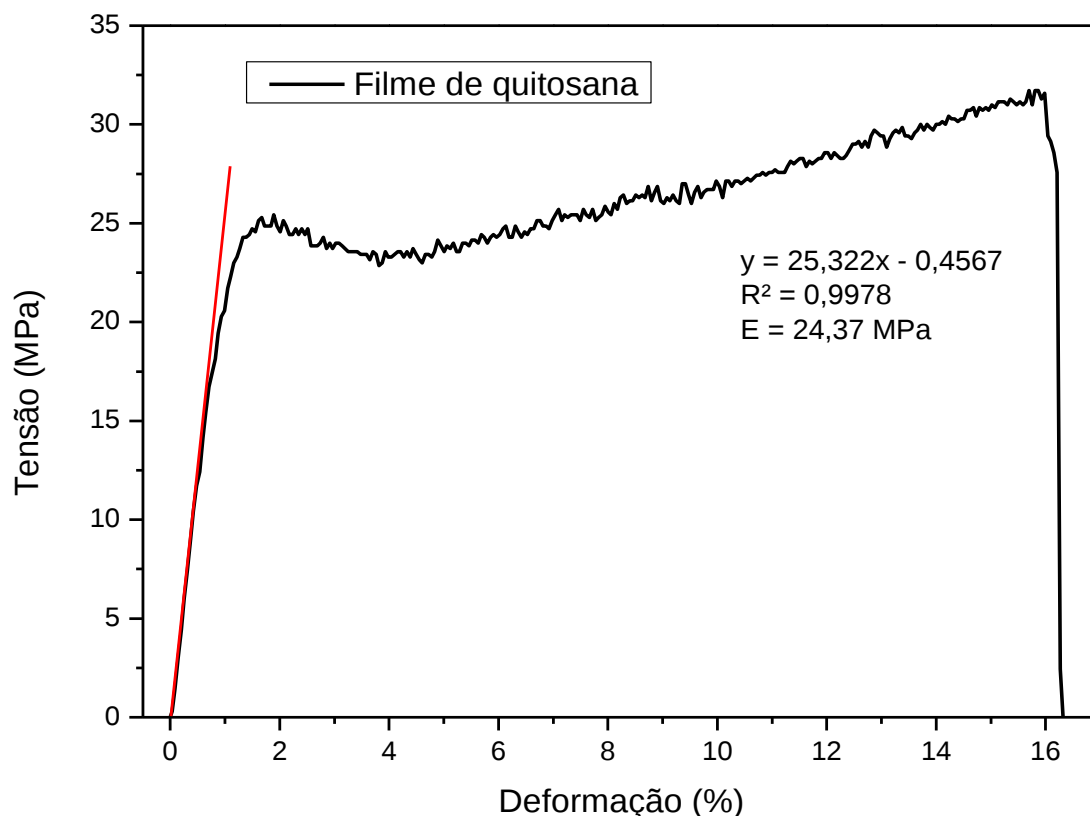
com Grau de Hidrólise (GH) de 80%, diferentemente do PVA utilizado no presente trabalho (GH=+99%).



**FIGURA 24.** Curva Tensão x Deformação do filme de PVA puro, obtida pela média estatística.

Considerando ainda a curva Tensão x Deformação do PVA (figura 24), pode-se observar que o PVA possui transição gradual do regime elástico para o plástico, ou seja, a deformação plástica se iniciou no ponto ao qual a curva tensão-deformação deixou de ser linear, sendo este ponto chamado de limite de proporcionalidade. O material começou a se deformar plasticamente acima do ponto linear da curva tensão-deformação, ou seja, ocorreu uma deformação permanente.

A figura 25 apresenta a curva tensão-deformação do filme de quitosana, produzida a partir da média estatística dos cinco corpos de prova, sendo que o Módulo de Elasticidade foi determinado pelo trecho linear apresentado em vermelho (equação da reta).



**FIGURA 25.** Curva Tensão x Deformação do filme de quitosana pura, obtida pela média estatística.

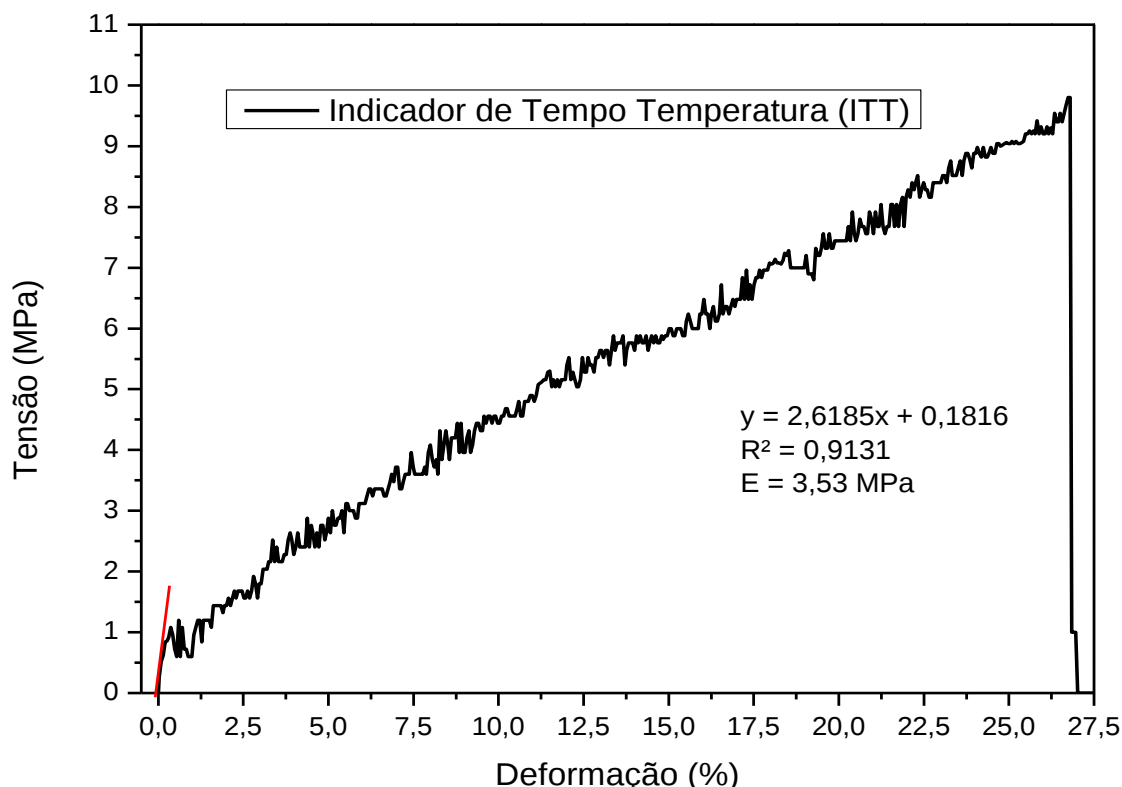
O filme de quitosana apresentou Módulo de Elasticidade de 24,37 MPa, Tensão de Tração máxima de 31,8 MPa, Deformação Específica de 16,2% e Tensão de Ruptura de 27,6 MPa. Considerando o trabalho desenvolvido por Bispo (2009), o valor encontrado para o Módulo de Elasticidade do filme de quitosana foi 4 vezes maior ( $96 \pm 28 \text{ MPa}$ ), já a Tensão de Tração máxima foi aproximadamente 3 vezes menor ( $11,8 \pm 3,1 \text{ MPa}$ ), a Deformação Específica se estabeleceu em  $9 \pm 4,4\%$ . Em relação aos dados divergentes com a literatura sobre às propriedades mecânicas do filme de quitosana, sugere-se que são por causa das diferenças de metodologia empregadas nos ensaios, como por exemplo a célula de carga, que no trabalho de Bispo (2009) foi de 50 Kgf, e no presente trabalho foi de 150 Kgf e também a velocidade de tração, que para Bispo (2009) foi de 5 mm/min e no presente trabalho 12,5 mm/min.

Considerando a figura 25, inicialmente a faixa linear é correspondente a fase elástica do material, já a região curva, consecutiva à linear, corresponde à deformação plástica uniforme. Diferentemente do PVA,

o filme de quitosana não apresentou estrangulamento, pelo gráfico pode-se observar que a quitosana apresentou um módulo de elasticidade maior do que comparado ao PVA, ou seja, a tensão suportada pelo material antes da deformação plástica foi maior.

Na região elástica o PVA apresentou uma deformação mais acentuada do que a quitosana, embora o filme de quitosana suporte maior tensão no limite de elasticidade. Já na região plástica este comportamento se estabelece ao contrário, ou seja, a quitosana passa a deformar mais que o PVA para um mesmo valor de tensão, enquanto o PVA apresenta-se capaz de suportar maiores tensões que a quitosana.

A figura 26 apresenta a curva tensão-deformação do Indicador de Tempo-Temperatura a partir da média estatística dos cinco corpos de prova.



**FIGURA 26.** Curva Tensão x Deformação do filme do ITT, obtida pela média estatística.

O ITT obteve um Módulo de Elasticidade de 3,53 MPa, Tensão de Tração máxima de 9,8 MPa, Deformação Específica de 26,8% e Tensão de Ruptura de 9,6 MPa. Considerando que a concentração do PVA utilizada no desenvolvimento do ITT foi maior em comparação que a quitosana, têm-se que o comportamento da fase elástica foi influenciado pelas características

mecânicas que o PVA possui, ou seja, o ITT apresentou uma fase elástica muito reduzida, além de apresentar um comportamento linear para a fase plástica até a Tensão de Ruptura, no entanto consideravelmente menor, algo não visto nas curvas de tensão-deformação dos filmes de quitosana e de PVA separadamente.

Costa JR., (2008) e Bispo, (2009) descrevem que para qualquer filme de quitosana, principalmente blendas poliméricas produzidas a partir dela, as propriedades mecânicas, dos materiais produzidos nas mesmas condições, podem ser influenciadas pelo grau de desacetilação da quitosana, do perfil de secagem do solvente, do uso de plastificantes e reticulantes, além dos procedimentos de mistura da blenda. Esse comportamento mecânico do filme de quitosana, pode ser verificado nos trabalhos de Chielline et al., (2001), Jin et al., (2004) e Costa JR., (2008), que encontraram valores de resistência à tração com uma variação na faixa que vai de 1,4 a 50 MPa e valores de 3,5 a 115% de deformação específica.

Essas características mecânicas do ITT, também foram observadas por Bispo (2009), onde os resultados para seus filmes com 25% de quitosana e 75% de PVA, sem agente reticulante, tiveram um ganho de 250% na Deformação Específica e na Tensão de Tração máxima com a adição de 1% de reticulante, o que é o caso do ITT, onde utilizou-se tripolifosfato de sódio a 0,1% (m/v). Bispo (2009), ainda propõe que os filmes formados a partir de blendas poliméricas apresentam resultados com valores de tensão máxima intermediários, quando comparados aos filmes puros, ou seja, contendo apenas quitosana ou PVA.

No que se refere as propriedades mecânicas do ITT, pode-se sugerir que o PVA foi o polímero que apresentou maior influência nos resultados de Tensão de Tração máxima e Deformação Específica. No entanto, o ITT obteve um comportamento elástico consideravelmente menor do que comparado aos seus constituintes de formação (quitosana e PVA).

Os principais polímeros usados em embalagem de alimentos são os seguintes: Polietileno (PE), Polipropileno (PP), Policloreto de Vinila (PVC) e o Polietilenotereftalato (PET) (CABRAL, 1992).

Assim, comparando-se os resultados das propriedades mecânicas do ITT com as propriedades do polietileno e polietilenotereftalato, o ITT

apresentou deformação específica bem abaixo, cerca de 2,6 vezes menor em relação ao PET, 3,7 e 14,8 vezes menor em comparação ao Polietileno de baixa densidade (LDPE) e alta densidade (HDPE) respectivamente. Já em relação ao Módulo de Elasticidade, o resultado encontrado para o ITT (3,53 MPa) foi consideravelmente menor quando comparados ao PET (2100 a 3100 MPa), ao Polietileno de baixa densidade (200 a 400 MPa), ao Polietileno de alta densidade (600 a 1400 MPa), ao PLA (350 a 2800 MPa), ao PA (1400 MPa) e ao PVC (25 a 1600 MPa) (PLASTIC PRODUCTS, 2010; BOEDEKER PLASTICS, 2013; NETZSCH GOUP, 2014).

Desta forma, o ITT desenvolvido no presente trabalho, apresentou um comportamento mecânico que apesar de ser divergente em relação ao Módulo de Elasticidade dos polímeros utilizados em embalagens para alimentos, o caracteriza para aplicações em embalagens, considerando que os polímeros empregados em embalagens possuem Módulo de Elasticidade bem mais baixos em comparação ao de outros materiais, variando entre 2 e 4800 MPa (CALLISTER, 2007).

## 5. CONCLUSÕES

Em virtude das características espectroscópicas, físico-químicas e mecânicas, o ITT representa boas condições de aplicação em embalagens para alimentos. Desta forma o Indicador de Tempo-Temperatura desenvolvido no presente trabalho possui grande potencial de utilização para compor uma embalagem inteligente, sendo essa aplicação corroborada pelo teste de ativação em leite pasteurizado, onde houve mudanças evidentes na coloração do filme, o que é importante para indicar ao consumidor que o alimento apresenta alterações na sua composição química, considerando que quando os alimentos se encontram mantidos em temperaturas diferentes das recomendadas, inicia-se o processo de deterioração, que na maioria das vezes, resulta em alterações no pH do meio, sendo esse parâmetro o ponto chave para ativação do ITT.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANICUTA, S. G., DOBRE, L., STROESCU, M., JIPA, I. **Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for characterization of antimicrobial films containing chitosan.** *Analele Universității din Oradea, Fascicula: Ecotoxicologie, Zootehnie și Tehnologii de Industrie Alimentară*, 815-822, 2010.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática.** Viçosa: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 1995, 283-285.

ASTM. Standard test method for tensile properties of plastics by use of microtensile specimens, D1708-10. **In Annual book of ASTM.** Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials, 2010.

AZEVEDO, V. V. C., CHAVE, S. A., BEZERRA, D. C., LIA FOOK, M. V., COSTA, A. C. F. M. **Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais.** *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, 2, 27-34, 2007.

BERGER, J., REIST, M., MAYER, J. M., FELT, O. **Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57, 19-34, 2004.

BISPO, V. M. Estudo do Efeito da Reticulação por Genipin em suportes biocompatíveis de Quitosana-PVA. 2009. 206p. **Tese** (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) - Escola de Engenharia da UFMG, Belo Horizonte. 2009.

BJORØY, Ø., RAYYAN, S., FOSSEN, T., ANDERSEN, Ø. M. **Structural properties of anthocyanins: rearrangement of C-glycosyl-3-deoxyanthocyanidins in acidic aqueous solutions.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 66-68 e 66-77, 2009.

BOBBIO, P.A., BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos: pigmentos**, 2ª ed. Campinas: Varela, 1995, 105-120, 222 p.

BOBELYN, E., HERTOOG, M.L.A.T.M., NICOLAÏ, B.M., **Applicability of an enzymatic time temperature integrator as a quality indicator for mushrooms in the distribution chain.** *Postharvest Biology and Technology*. 42 (1), 104–114, 2006.

BOEDEKER PLASTICS, INC. **Polyethylene Specifications - Typical Properties of Polyethylene.** Shiner, Texas, 2013. Disponível em: <[http://www.boedeker.com/polye\\_p.htm](http://www.boedeker.com/polye_p.htm)>. Acesso em: 10 de Janeiro de 2014.

BRAGA, L., PERES, L. **Novas Tendências em Embalagens**. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos – CEPPA*. 28 (1), 69-84, 2010.

BRIDLE, P., TIMBERLAKE, C. F. **Anthocyanins as natural food colours – selected aspects**. *Food Chemistry*. 58 (1-2), 103-109, 1997.

BROUILLARD, R., DUBOIS, J. E. **Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in aqueous media**. *Journal of American Chemistry Society*. 99, 1359-1363, 1977.

BRUGNEROTTO, J., LIZARDI, J., GOYCOOLEA, F. M., MONAL, W. A., DESBRIÈRES, J., RINAUDO, M. **An Infrared Investigation in Relation with Chitin and Chitosan Characterization**. *Polymer*. 42, 3569-3580, 2001.

CABRAL, A. C. D. *Embalagem para alimentos*, Vol 2. Campinas: ITAL, 1992.

CALLISTER, JR., W.D. **Materials Science and Engineering**. 7<sup>a</sup> ed. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2007. 408p.

CANEVAROLO, S. V. **Ciência dos Polímeros**. 1<sup>a</sup> ed. São Paulo: Artliber Editora Ltda, 2002. 183p.

CASTAÑEDA-OVANDO, A., PACHECO-HERNANDEZ, M. L., PAEZ-HERNANDEZ, M. E., RODRIGUEZ, J. A., GALAN-VIDAL, C. A. **Chemical studies of anthocyanins: a review**. *Food Chemistry*. 113, 859 – 871, 2009.

CAVALCANTI, O. A., VAN DER MOOTER, G., CARAMICO-SOARES, I., KINGET, R. **Polysaccharides as excipients for colon-specific coatings, permeability and swelling properties of casted films**. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 28 (2), 157-164, 2002.

CHIELLINI, E., CINELLI, P., IMAM, S. H., MAO, L. **Composite films based on biorelated agro-industrial waste and poly(vinyl alcohol). Preparation and mechanical properties characterization**. *Biomacromolecules*. 2, 1029-1037, 2001.

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*. 39, 1203-1212, 2006.

COSTA JR., E. S.; MANSUR H. S. **Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido**. *Química Nova*. 31, 1460-1466, 2008.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química dos seus componentes**. 3<sup>a</sup> ed. Editora Artmed, 2004, 368p.

CUCHINSKI, A. S., CAETANO, J., DRAGUNSKI, D. C. **Extração do corante da beterraba (*Beta vulgaris*) para utilização como indicador ácido-base.** *Eclética Química*. 35 (4), 17 – 23, 2010.

DAINELLI, D., GONTARD, N., SPYROPOULOS, D., ZONDERVAN, E., TOBBACK, P. **Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns.** *Trends Food Science Technology*. 19, 99-108, 2008.

DE JONG, A.R., BOUMANS, H., SLAGHEK, T., VAN VEEN, J., RIJK, R., VAN ZANDVOORT, M. **Active and intelligent packaging for food: is it the future?** *Food Additives and Contaminants*. 22 (10), 975-979, 2005.

ELLOUZE, M., AUGUSTIN, J. C., **Applicability of biological time temperature integrators as quality and safety indicators for meat products.** *International Journal of Food Microbiology*. 138 (1–2), 119–129, 2010.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos – Princípios e Prática.** 2ª ed. Editora Artmed S.A, 2006. 602p.

FERNÁNDEZ, K., E AGOSIN, E. **Quantitative Analysis of Red Wine Tannins Using Fourier-Transform Mid-Infrared Spectrometry.** *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 55, 7294-7300, 2007.

FRANCO, B. G. M. F., LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

FREITAS, A. A. Reatividade química e fotoquímica de antocianinas em sistemas organizados. 2005. 208p. **Tese** (Doutorado em Química), Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP), 2005.

FU, B., TAOUKIS, P.S., LABUZA, T.P. **Predictive microbiology for monitoring spoilage of dairy products with time–temperature integrators.** *Journal of Food Science*. 56 (5), 1209-1215, 1991.

GALAGAN, Y., SU, W. F. **Fadable ink for time–temperature control of food freshness: novel new time–temperature indicator.** *Food Research International*. 41 (6), 653–657, 2008.

GEHRKE S. H. **Synthesis and Properties of Hydrogels used for Drug Delivery.** *Fundamental Aspects of Polymers in Pharmaceuticals* (eds.: Gordon L.A., Ping I. L., Elizabeth M.T.) Marcel Dekker, New York, 473-507, 2000.

GENNADIOS, A., McHUGH, T. H., WELLER, C. L., KROCHTA, J. M. **Edible coatings e film based on proteins.** In **Edible coatings and films to improve food quality.** 1ª ed. Lancaster: Technomic Publishing, 1994. 392p.

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*. 102 (3), 323–336, 2005.

GINANI F., NAVARRO M. V., NASCIMENTO E. G., OLIVEIRA U. O. B. **Estudo da influência da natureza de reticulantes e aditivos orgânicos sobre o comportamento de filmes de quitosana.** *Química Nova*. 22, 801-804, 1999.

GOUVEIA - MATOS, J. A. M. **Mudanças nas cores dos extratos de flores e do repolho roxo.** *Química Nova na Escola*. 10, 6-10, 1999.

HOVEN, V. P., TANGPASUTHADOL, V., ANGKITPAIBOON, Y., VALLAPA, N., KIATKAMJORNWONG, S. **Surface-charged chitosan: Preparation and protein adsorption.** *Carbohydrate Polymers*. 68, 44-53, 2007.

HUNTERLAB. **CIE L\*a\*b\* color scale: applications note**, v.8, n.7, 1996. Disponível em: <[http://www.hunterlab.com/color\\_theory.php](http://www.hunterlab.com/color_theory.php)>. Acesso em: 21 de Novembro de 2013.

ISENBERG, B. C.; WONG, J. Y. **Building structure into engineered tissues.** *Materials Today*. 9, 54-60, 2006.

JACOB, R. F. Estudo das propriedades das blendas de amido termoplástico e latex natural. 2007. 118p. **Tese** (Doutorado em Ciências – Físico-Química) Universidade de São Paulo, São Carlos-SP. 2006.

JACKMAN, R. L., SMITH, J. L. **Anthocyanins and betalains.** In: HENDRY, G.A.F. and HOUGHTON, J.D. *Natural Food Colorants*. 183-241, 1992.

JAMES, S. **The chill chain - from carcass to consumer.** *Meat science*. 43 (1), 203-216, 1996.

JIN, J., SONG, M., HOURSTON, D. J. **Novel chitosan-based films cross-linked by genipin with improved physical properties.** *Biomacromolecules*. 5, 162-168, 2004.

KOUTSOUMANIS, K., TAOUKIS, P.S., NYCHAS, G.J.E., **Development of a safety monitoring and assurance system for chilled food products.** *International Journal of Food Microbiology*. 100 (1–3), 253–260, 2005.

KRUIJF, N.; VAN BEEST, M.; RIJK, R.; SIPILÄINEN-MALM, T.; LOSADA, P.P.; DE MEULENAER, B. **Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects.** *Food Additives and Contaminants*. 19, 144-162, 2002.

KUSKOSKI, E. M. Extração, identificação e estabilidade de frutos de baguaçu (*Eugenia umbelliflora*, Berg). 2000. 113p. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2000.

LABUZA, T.P., FU, B. **Use of time/temperature integrators, predictive microbiology, and related technologies for assessing the extent and impact of temperature abuse on meat and poultry products.** *Journal of Food Safety*. 15 (3), 201–227, 1995.

LEE, J., DURST, R. W., WROLSTAD, R. E. **Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study.** *Journal AOAC International*. 88 (5), 1269-1278, 2005.

LEVI, M. A. B., SCARMINIO, I. S., POPPI, R. J., TREVISAN, M. G. **Three-way chemometric method study and UV-vis absorbance for the study of simultaneous degradation of anthocyanins in flowers of the Hibiscus rosa-sinensis species.** *Talanta*. 62 (2), 299-305, 2004.

LEWANDOWSKA, K. **Miscibility and thermal stability of poly(vinyl alcohol)/chitosan mixtures.** *Thermochimica Acta*. 493, 42- 48, 2009.

LI, Y., DU, Y., TANG, Y., WANG, X. **pH sensitive chitosan/gelatin hybrid polymer network scaffold for tissue engineering.** *Polymer International*. 58, 1120-1125, 2009.

LOPES, J. M. B. Notas de Aula - **Computação Gráfica: Cor e Luz.** Texto elaborado para disciplina de Computação Gráfica do Curso de Engenharia Informática e de Computadores. Instituto Superior Técnico – Universidade Técnica de Lisboa. Portugal, 2003.

MACHADO, S. C. Fatores que Afetam a Estabilidade do Leite Bovino. 2010. 190p. **Tese** (Doutorado em Zootecnia: Área de Produção Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, 2010.

MARÇO, P. H., SCARMINIO, I. S. **Q-mode curve resolution of UV-vis spectra for structural transformation studies of anthocyanins in acidic solutions.** *Analytica Chimica Acta*. 583 (1), 138-146, 2007.

MANSUR, H. S., SADAHIRA, C. M., SOUZA, A., MANSUR, A. A. P. **FTIR Spectroscopy Characterization of Poly (vinyl alcohol) Hydrogel with different Hydrolysis Grade and Chemically Crosslinked with Glutaraldehyde.** *Materials Science and Engineering*. 28, 539-548, 2007.

MEHAUDEN, K., COX, P. W., BAKALIS, S., SIMMONS, M. J. H., TUCKER, G. S., FRYER, P. J. **A novel method to evaluate the applicability of time temperature integrators to different temperature profiles.** *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8 (4), 507–514, 2007.

MENDOZA, T.F., WELT, B.A., OTWELL, S., TEIXEIRA, A. A., KRISTONSSON, H., BALABAN, M. O. **Kinetic parameter estimation of time–temperature integrators intended for use with packaged fresh seafood.** *Journal of Food Science*. 69 (3), 90–96, 2004.

MOTHÉ, C. G., AZEVEDO, A. D. **Análise Térmica de Materiais**. 1ª ed. São Paulo: I-editora, 2002. 300p.

MUZZARELLI, R. A. A., MATTIOLI-BELMONTE, M., MILIANI, M., MUZZARELLI, C., GABBANELLI, F., BIAGINI, G. **In vivo and in vitro biodegradation of oxychitin-chitosan and oxypullulan-chitosan complexes**. *Carbohydrate Polymers*. 48, 15-21, 2002.

NETZSCH GROUP. **Thermal Properties of Polymers**. São Paulo – SP. Disponível em: <<http://bit.ly/1dJOI6R>>. Acesso em: 13 de Janeiro de 2014.

PAVIA D. L., GARY M. L., GEORGE S. K., JAMES R. V. **Introdução à Espectroscopia**. 4ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 46 – 47, 324p.

PETERSON, J., DWYER, J. **An Informatics Approach to Flavonoid Database Development**. *Journal of Food Composition and Analysis*. 13, 441-454, 2000.

PILLAI, C. K. S., PAUL, W., SHARMA, C. P. **Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation**. *Progress in Polymer Science*. 34, 641-678, 2009.

PINHEIRO, M. H. T., LIMA, W. N. **Estudo da utilização do extrato aquoso de barbatimão (*Stryphnodendron barbatimão*, M.) no ensino de química**. *Eclética Química*. 24, 9 – 16, 1999.

PLASTIC PRODUCTS, INC. **PET(polyethylene terephthalate)- Typical Property Values**. Bessemer City - NC, 2010. Disponível em: <<http://www.plastic-products.com/part12.htm>>. Acesso em: 10 de Janeiro de 2014.

QIN, C., LI, H., XIAO, Q., LIU, Y., ZHU, J., DU, Y. **Water-solubility of chitosan and its antimicrobial activity**. *Carbohydrate Polymers*. 63, 367–374, 2006.

RABELLO, M. **Aditivação de Polímeros**. 1ª ed. São Paulo: Editora Artliber, 2000, 242p.

RANI, D. N., ABRAHAM, T. E. **Kinetic study of a purified anionic peroxidase isolated from *Eupatorium odoratum* and its novel application as time temperature indicator for food materials**. *Journal of Food Engineering*. 77 (3), 594–600, 2006.

RODRIGUES I. R., DE CAMARGO FORTE M. M., AZAMBUJA D. S., CASTAGNO K. R. L. **Synthesis and characterization of hybrid polymeric networks (HPN) based on polyvinyl alcohol/chitosan**. *Reactive & Functional Polymers*. 67, 708–715, 2007.

SABNIS, R. W. **Handbook of acid-base indicators**. 1<sup>a</sup> ed. San Francisco: CRC Press, 2007, 416p.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L., OLIVEIRA, L. M., ANJOS, V. D. A., ALVES, R. M. V., ARDITO, E. F. G. **Embalagens Plásticas Flexíveis: Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades**. 1<sup>a</sup> ed. Campinas: CETEA/ITAL, 2002, 416p.

SELMAN, J.D. **Time-temperature indicators**. 1<sup>a</sup> ed. In: ROONEY, M. L. **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, 1995. 215-237.

SILVA, S.R. Extração e estabilidade de pigmentos antociânicos de frutos de maria-pretinha (*Solanum americanum*, Mill.). 1996. 65p. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1996.

SILVERSTEIN, R.M., BASSLER, G.C., MORRILL, T.C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1998.

SOUSA, L. C. F. S., DE SOUSA, J. S., BORGES, M. G. B., MACHADO, A. V., DA SILVA, M. J. S., FERREIRA, R. T. F. V., SALGADO, A. B. **Tecnologia de embalagens e conservação de alimentos quanto aos aspectos físico, químico e microbiológico**. *ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido*. 8 (1), 19-27, 2012.

STRINGHETA, P.C.; Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv.). 1991. 138p. **Tese** (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – UNICAMP, 1991.

SUNG, H. W., CHAN, Y., HUANG, L. L. H., LIANG, I., CHANG, W. H., CHEN, Y. C. **Fixation of biological tissues with a naturally occurring crosslinking agent: Fixation rate and effects of pH, temperature, and initial fixative concentration with genipin**. *Journal Biomedical Materials Research*. 52, 77-87, 1999.

TANAKA, Y., SASAKI, N., OHMIYA, A. **Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids**. *Plant Journal*. 54, 733-749, 2008.

TAOUKIS, P.S., LABUZA, T.P. **Time-temperature indicators (TTIs)**. In: **Ahvenainen, R. (ed.), Novel Food Packaging Techniques**. Illustrated ed. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. 2003. 103–126, 590p.

TEODORO, A. J., ANDRADE, E. C. B.; MANO, S. B. **Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*)**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 27 (1), 158-161, 2007.

TERCI, D.B.L.; ROSSI, A.V. **Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução?** *Química Nova*. 25 (4), 684-688, 2002.

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*. 133 (3), 272–278, 2009.

VIGUERA, C. G., BRIDLE, P. **Influence of structure on colour stability of anthocyanins and flavylum salts with ascorbic acid.** *Food Chemistry*. 64, 21-26, 1999.

WALLACH, D. F. H. **Methods and Devices for Detecting Microbial Spoilage in Food Products.** US Patent No. 6495,368. 1996.

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*. 100, 427–434, 2010.

WENDT, S. C. **Análise da Mudança de Cor em Concretos Submetidos a Altas Temperaturas como Indicativo de Temperaturas Alcançadas e da Degradação Térmica.** 2006. 183p. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia) Porto Alegre: PPGECC/UFRGS. 2006.

YAM, K. L., TAKHISTOV, P. T., MILTZ, J. **Intelligent packaging: concepts and applications.** *Journal of Food Science*. 70 (1), 1-10, 2005.

YOSHIDA, C. M. P., MACIEL, V. B. V., MENDONÇA, M. E. D., FRANCO, T. T. **Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations.** *LWT - Food Science and Technology*. 55, 83–89, 2014.

ZHANG, C., YIN A., JIANG, R., RONG, J., DONG, L., ZHAO, T., SUN, L. D., WANG, J., CHEN, X., YAN, C. H. **Time–Temperature Indicator for Perishable Products Based on Kinetically Programmable Ag Overgrowth on Au Nanorods.** *ACS Nano*. 5, 4561-4568, 2013.

ZOHURIAAN, M.J., SHOKROLAHI, F. **Thermal studies on natural and modified gums.** *Polymer Testing*. 23, 575-579, 2004.