

*Desenvolvimento de filmes à base de quitosano
com microencapsulação de agentes naturais:
cinéticas de libertação*

Bruna Patrícia Martins Rico

Mestrado em Tecnologia de Alimentos

Trabalho efetuado segundo a orientação de:

Professora Doutora Maria Margarida Cortês Vieira

Professor Doutor Rui Mariano Sousa da Cruz

Faro

2015

*Desenvolvimento de filmes à base de quitosano
com microencapsulação de agentes naturais:
cinéticas de libertação*

Bruna Patrícia Martins Rico

Mestrado em Tecnologia de Alimentos

Trabalho efetuado segundo a orientação de:

Professora Doutora Maria Margarida Cortês Vieira

Professor Doutor Rui Mariano Sousa da Cruz

Faro

2015

Declaração de autoria de trabalho

Desenvolvimento de filmes à base de quitosano com microencapsulação de agentes naturais: cinéticas de libertação

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Os autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída neste trabalho.

© 2015 Bruna Rico “A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.”

Agradecimentos

Agradeço à Professora Doutora Margarida Vieira e ao Professor Doutor Rui Cruz pela possibilidade que me concederam em realizar este trabalho, pelos conhecimentos transmitidos e partilhados, pela disponibilidade, compreensão para com os meus horários de trabalho, otimismo e incentivo para a continuação deste trabalho. Sem a vossa orientação este trabalho não teria sido possível de desenvolver.

Agradeço também ao Professor Doutor António Vicente, da Universidade do Minho, pela colaboração na análise das características físico-químicas dos filmes desenvolvidos neste estudo.

Um agradecimento muito especial e sincero à minha colega neste trabalho, Vera Alves, pela partilha, ajuda e trabalho desenvolvido, pela compreensão nos momentos mais difíceis e pela boa disposição em todos os dias do trabalho de laboratório.

A todo o pessoal de laboratório de processamento de alimentos, laboratório de química e laboratório de microbiologia, em particular à Engenheira Vera Gonçalves pela importante ajuda e esclarecimentos transmitidos durante a realização da parte prática e pela boa disposição no ambiente de trabalho.

Aos meus pais e amigos mais próximos, pelas palavras amigas e de incentivo e pela compreensão da minha ausência em determinados momentos importantes para a realização deste trabalho.

A todos os colegas que partilharam o local de trabalho para a realização das suas pesquisas.

Resumo

Este trabalho teve como objetivos o desenvolvimento e caracterização de filmes de quitosano com incorporação de microcápsulas com extrato de grão de uva e carvacrol e o estudo das cinéticas de liberação.

As microcápsulas de quitosano (1,25%), extrato de grão de uva (34,2%) e carvacrol (3,2%) foram produzidas por gelificação iônica com tripolifosfato de sódio (0,8%). Os filmes com microcápsulas foram caracterizados: $L^*=65,95\pm 4,47$, $a^*=10,46\pm 2,49$, $b^*=12,13\pm 2,80$; umidade de $13,41\pm 0,57$ %, solubilidade de $17,28\pm 1,29$ % e espessura média de $0,4136\pm 0,0415$ mm. Os filmes com microcápsulas foram colocados em soluções com pH 5 e 6,5 para estudar a liberação de compostos fenólicos totais e flavonoides, a 5, 15, 25 e 35 °C, ao longo do tempo. A liberação máxima de compostos fenólicos totais a pH 5 (0,077 mg/mL equivalentes de ácido gálico) ocorreu ao fim de 168 horas para 25 e 35 °C, e a pH 6,5 ao fim de 72 horas (0,169 mg/mL) para 25 °C. No caso dos flavonoides, a liberação máxima a pH 5 (0,016 mg/mL equivalentes de catequina) ocorreu ao fim de 336 horas a 15 °C, e a pH 6,5 ao fim de 72 horas a 25 °C (0,025 mg/mL).

O tempo de armazenamento, a temperatura e o pH influenciaram a liberação dos compostos fenólicos totais e flavonoides, o modelo de Korsmeyer-Peppas ajustou-se com sucesso a pH 5: compostos fenólicos totais $k_{ref}=0,1038\pm 0,0341$ h⁻¹, $E_a=6734,87\pm 3745,61$ J, $n=0,4127\pm 0,0672$; flavonoides $k_{ref}=0,0916\pm 0,0496$ h⁻¹, $E_a=17162,10\pm 8521,29$ J, $n=0,3918\pm 0,1122$; e o de Higuchi a pH 6,5: compostos fenólicos totais $k_{ref}=0,0995\pm 0,0082$ h⁻¹, $E_a=7103,27\pm 5340,85$ J; flavonoides $k_{ref}=0,0929\pm 0,0068$ h⁻¹, $E_a=9761,36\pm 4885,07$ J.

O estudo das cinéticas de liberação é uma importante ferramenta que permite a previsão da liberação de determinados compostos com vista à produção de embalagens ativas com liberação controlada.

Palavras-chave: quitosano, extrato de grão de uva, carvacrol, filmes, microcápsulas, cinéticas de liberação.

Abstract

This study aimed to develop and characterize chitosan films with grape seed extract and carvacrol microcapsulated and study the release kinetics of these natural agents.

Chitosan based (1,25%) microcapsules with grape seed extract (34,2%) and carvacrol (3,2%) were produced by ionic gelation with sodium tripolyphosphate (0,8%). The films with microcapsules were characterized: $L^*=65,95\pm 4,47$, $a^*=10,46\pm 2,49$, $b^*=12,13\pm 2,80$; moisture content of $13,41\pm 0,57$ %, solubility of $17,28\pm 1,29$ % and average thickness of $0,4136\pm 0,0415$ mm. The films with microcapsules were immersed in solutions at pH 5 and 6,5 to study the release of total phenolic content and flavonoids, at 5, 15, 25 and 35 °C, over time. The maximum release of total phenolic compounds at pH 5 (0,077 mg/mL gallic acid equivalents) took 168 hours to occur at 25 and 35 °C, but at pH 6,5 (0,169 mg/mL) and 25 °C took only 72 hours. As for flavonoids, at pH 5 and 15 °C, the maximum release (0,016 mg /mL catechins equivalents) took 336 hours to occur, and at pH 6,5 (0,025 mg/mL) and 25 °C, took only 72 hours.

Storage time, temperature and pH affected the release of flavonoids and total phenolic compounds, following the Korsmeyer-Peppas model at pH 5, and the estimated kinetic parameters were as follows: for total phenolic compounds $k_{ref}=0,1038\pm 0,0341$ h⁻¹, $E_a=6734,87\pm 3745,61$ J, $n=0,4127\pm 0,0672$; for flavonoids $k_{ref}=0,0916\pm 0,0496$ h⁻¹, $E_a=17162,10\pm 8521,29$ J, $n=0,3918\pm 0,1122$; At pH 6,5, the Higuchi model fit better the experimental data: total phenolic compounds $k_{ref}=0,0995\pm 0,0082$ h⁻¹, $E_a=7103,27\pm 5340,85$ J; to flavonoids $k_{ref}=0,0929\pm 0,0068$ h⁻¹, $E_a=9761,36\pm 4885,07$ J.

The study of the kinetics release is an important tool that allows predicting the release of certain compounds for the production of active packaging with controlled release.

Keywords: chitosan, grape seed extract, carvacrol, films, microcapsules, release kinetics.

Índice Geral

	Página
Agradecimentos.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Índice Geral.....	v
Índice de figuras.....	viii
Índice de tabelas.....	xi
Lista de abreviaturas.....	xii
1. Introdução.....	1
1.1 Importância do desenvolvimento de embalagens.....	1
1.2 Filmes à base de quitosano.....	4
1.3 Incorporação de agentes naturais em filmes para embalagem	
1.3.1 Carvacrol.....	8
1.3.2 Extrato de grainha de uva.....	9
1.4 Microencapsulação de agentes naturais.....	10
1.4.1 Secagem por atomização.....	12
1.4.2 Gelificação iônica.....	13
1.5 Libertação de agentes ativos.....	15
1.6 Quantificação de agentes ativos.....	17
1.6.1 Compostos fenólicos totais.....	18
1.6.2 Flavonoides.....	20
1.7 Modelos cinéticos de libertação.....	21
1.7.1 Modelo de Korsmeyer-Peppas.....	23
1.7.2 Modelo de Weibull.....	24
1.7.3 Modelo de Higuchi.....	25
1.7.4 Modelo de Fick.....	25
1.8 Objetivos.....	27

2. Materiais e métodos

2.1	Soluções base.....	28
2.1.1	Matriz de quitosano	28
2.1.2	Solução de filme de quitosano a 1,25%	28
2.1.3	Solução de quitosano a 1,25% com incorporação de extrato de grainha de uva e carvacrol.....	28
2.2	Microcápsulas.....	29
2.2.1	Secagem por atomização	29
2.2.2	Gelificação iónica.....	29
2.3	Filmes de quitosano.....	30
2.4	Filmes de quitosano com incorporação de microcápsulas.....	30
2.5	Caraterização dos filmes.....	30
2.5.1	Parâmetros da cor.....	30
2.5.2	Teor de humidade.....	30
2.5.3	Solubilidade.....	31
2.5.4	Espessura.....	31
2.6	Cinéticas de libertação.....	32
2.6.1	Preparação das amostras.....	32
2.6.2	Preparação das soluções padrão para a quantificação dos compostos fenólicos totais.....	32
2.6.3	Quantificação dos compostos fenólicos totais.....	33
2.6.4	Preparação das soluções padrão para a quantificação dos flavonoides..	34
2.6.5	Quantificação dos flavonoides.....	35
2.7	Tratamento de dados.....	35

3. Resultados e Discussão

3.1	Filmes de quitosano	36
3.2	Microcápsulas.....	37
3.3	Filmes de quitosano com microcápsulas.....	38
3.4	Dados da reta de calibração dos compostos fenólicos totais em solução de pH 5.....	42

	Página
3.5 Quantificação dos compostos fenólicos totais em solução de pH 5.....	43
3.6 Dados da reta de calibração dos compostos fenólicos totais em solução de pH 6,5.....	44
3.7 Quantificação dos compostos fenólicos totais em solução de pH 6,5.....	46
3.8 Dados da reta de calibração dos flavonoides em solução de pH 5.....	47
3.9 Quantificação dos flavonoides em solução de pH 5.....	48
3.10 Dados da reta de calibração dos flavonoides em solução de pH 6,5.....	49
3.11 Quantificação dos flavonoides em solução de pH 6,5.....	51
3.12 Modelização dos compostos fenólicos totais em solução de pH 5.....	52
3.13 Modelização dos compostos fenólicos totais em solução de pH 6,5.....	58
3.14 Modelização dos flavonoides em solução de pH 5.....	63
3.15 Modelização dos flavonoides em solução de pH 6,5.....	67
4. Conclusão	74
5. Perspetivas de trabalho futuro	76
6. Referências bibliográficas	77
7. Anexos	89

Índice de figuras

	Página
Figura 1.1 – Distribuição do consumo de plásticos na Europa.....	2
Figura 1.2 – Estruturas químicas da Quitina (a) e do Quitosano (b).....	4
Figura 1.3 – Processo geral de obtenção de quitosano a partir do exosqueleto de crustáceos.....	5
Figura 1.4 – Exemplos de filmes de quitosano.....	7
Figura 1.5 – (a) Orégão. Estruturas químicas do carvacrol (b) e do timol.....	8
Figura 1.6 – Extrato de grainha de uva.....	9
Figura 1.7 – (a) Microcápsula (b) Microesfera.....	11
Figura 1.8 – Fluxograma do processo de microencapsulação através de secagem por atomização.....	13
Figura 1.9 – Esquema do processo de gelificação iónica.....	13
Figura 1.10 – Estrutura química do tripolifosfato de sódio.....	14
Figura 1.11 – Reticulação entre o quitosano e o ião tripolifosfato.....	15
Figura 1.12 – Esquema de libertação de agentes ativos a partir de microcápsulas...	16
Figura 1.13 – Estruturas químicas de alguns ácidos hidroxibenzóicos: (a) Ácido gálico (b) Ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzóico (c) Ácido 3,4-diidroxibenzóico (d) Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico.....	19
Figura 1.14 – Estruturas químicas de alguns flavonoides.....	20
Figura 1.15 – Estruturas químicas de (a) Catequina (b) Epicatequina (c) Quercetina.....	21
Figura 3.1 – Filme de quitosano a 1,25%	36
Figura 3.2 – Microcápsulas produzidas através de: (a) secagem por atomização (b) gelificação iónica.....	38
Figura 3.3 – Filme de quitosano a 1,25% com microcápsulas	39
Figura 3.4 – Reta de calibração dos CFT em solução de pH 5.....	43
Figura 3.5 – [CFT] libertados ao longo do tempo em solução de pH 5.....	44
Figura 3.6 – Reta de calibração dos CFT em solução de pH 6,5.....	45
Figura 3.7 – [CFT] libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5.....	46
Figura 3.8 – Reta de calibração dos flavonoides em solução de pH 5.....	48

Figura 3.9 – [Flavonoides] libertados ao longo do tempo em solução de pH 5.....	49
Figura 3.10 – Reta de calibração dos flavonoides em solução de pH 6,5.....	50
Figura 3.11 – [Flavonoides] libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5...	51
Figura 3.12 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Korsmeyer-Peppas.....	55
Figura 3.13 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Weibull.....	55
Figura 3.14 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Higuchi.....	56
Figura 3.15 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Fick.....	56
Figura 3.16 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Korsmeyer-Peppas.....	59
Figura 3.17 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Weibull.....	60
Figura 3.18 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Higuchi.....	60
Figura 3.19 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Fick.....	61
Figura 3.20 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Korsmeyer-Peppas.....	64
Figura 3.21 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Weibull.....	64
Figura 3.22 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Higuchi.....	65
Figura 3.23 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Fick.....	65
Figura 3.24 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Korsmeyer-Peppas..	68
Figura 3.25 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Weibull.	68

Figura 3.26 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Higuchi.	69
Figura 3.27 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Fick.....	69

Índice de tabelas

	Página
Tabela 1.1 – Métodos de preparação de microcápsulas.....	12
Tabela 1.2 – Classes dos compostos fenólicos totais nas plantas.....	18
Tabela 1.3 – Expoente de difusão e mecanismo de libertação de soluto para formas esféricas.....	23
Tabela 2.1 – Concentração dos padrões de ácido gálico	33
Tabela 2.2 – Concentração dos padrões de catequina.....	34
Tabela 3.1 – Parâmetros de caracterização dos FQ.....	37
Tabela 3.2 – Parâmetros de caracterização dos FQM.....	40
Tabela 3.3 – Absorvância para os padrões de ácido gálico em solução de pH 5.....	42
Tabela 3.4 – Absorvância para os padrões de ácido gálico em solução de pH 6,5....	45
Tabela 3.5 – Absorvância para os padrões de catequina em solução de pH 5.....	47
Tabela 3.6 – Absorvância para os padrões de catequina em solução de pH 6,5.....	50
Tabela 3.7 – Parâmetros estimados na modelização dos CFT em solução de pH 5...54	
Tabela 3.8 – Parâmetros estimados na modelização dos CFT em solução de pH 6,5.....	59
Tabela 3.9 – Parâmetros estimados na modelização dos flavonoides em solução de pH 5.....	63
Tabela 3.10 – Parâmetros estimados na modelização dos flavonoides em solução de pH 6,5.....	67

Lista de abreviaturas

FQ - Filme de quitosano

FQM - Filme de quitosano com microcápsulas

EGU - Extrato de grainha de uva

CFT - Compostos fenólicos totais

TPP – Tripolifostato de sódio

EqAG – Equivalentes de ácido gálico

EqC – Equivalentes de catequina

1. Introdução

A segurança e qualidade dos alimentos são as principais preocupações para os produtores de alimentos, indústrias e consumidores. A deterioração dos alimentos é causada por fatores físicos, químicos e biológicos (Corrales et al., 2014).

Várias medidas de prevenção, incluindo métodos de prevenção, têm sido colocadas em prática para reduzir a deterioração dos alimentos e prolongar a sua vida útil. O sistema de análise de perigos e pontos críticos de controlo (HACCP) e as inspeções regulares no processamento dos alimentos são medidas atualmente aplicadas para produzir alimentos de alta qualidade. As embalagens são também utilizadas numa grande variedade de alimentos com o objetivo de manter ou melhorar a segurança e a qualidade dos produtos finais. Os materiais de embalagem podem ser melhorados com substâncias com propriedades antimicrobianas, criando uma barreira de proteção para prevenir e retardar a deterioração dos alimentos. Assim, podem conter agentes antimicrobianos para serem libertados de forma eficaz no alimento, prolongando o tempo de prateleira, a qualidade e a segurança do mesmo (Corrales et al., 2014).

Os sistemas de embalagem com propriedades adaptadas podem inibir ou reduzir o crescimento microbiano e evitar contaminações de alimentos, uma vez que a libertação de determinadas substâncias pode alterar as condições ideais de crescimento de certos microrganismos, tais como o pH, a percentagem de oxigénio, água ou nutrientes (Corrales et al., 2014; Yoshida et al., 2014).

1.1 Importância do desenvolvimento de embalagens

Os plásticos são materiais muito versáteis que transformaram a nossa vida quotidiana desde há mais de sessenta anos, fornecendo funcionalidades sem precedentes. A produção mundial de plásticos, principalmente a partir de matérias-primas fósseis, disparou de 1,5 milhões de toneladas (Mton) em 1950 para 299 Mton em 2013 (Velis, 2014; Plastics - the Facts 2014).

Das 299 Mton de plásticos produzidas em 2013, 46,3 Mton têm origem na Europa onde 39,6% desses plásticos são utilizados em embalagens, como se pode verificar na figura 1.1 (Plastics - the Facts 2014).

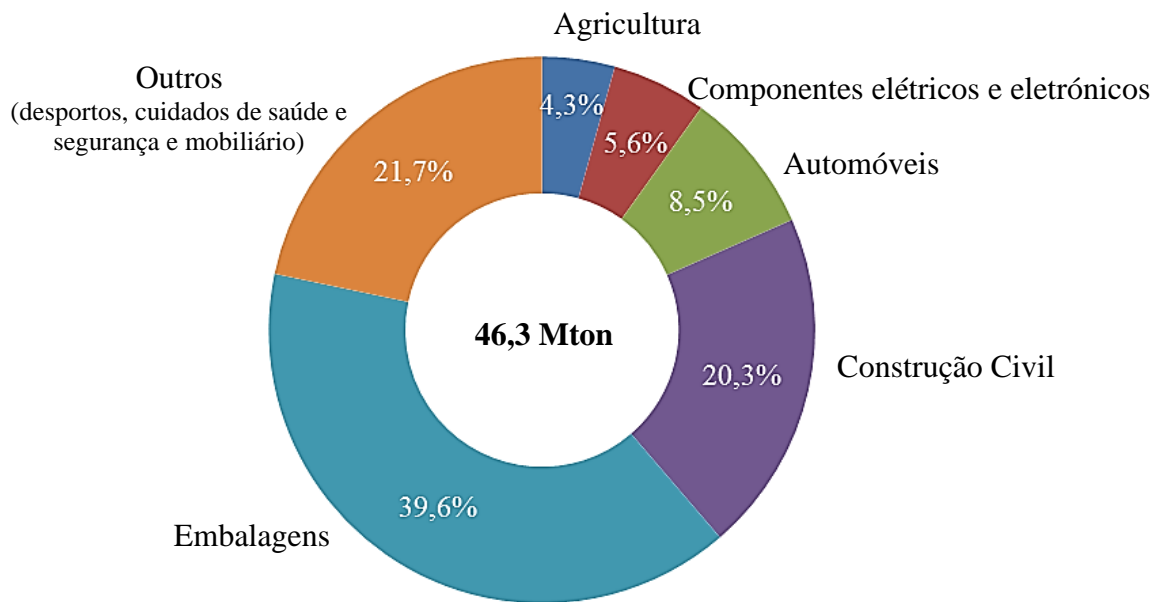


Figura 1.1 – Distribuição do consumo de plásticos na Europa (adaptado de Plastics - the Facts 2014).

A maior parte dessas embalagens são utilizadas uma vez e depois descartadas, o que contribui consideravelmente para o fluxo total de resíduos. A eliminação destes resíduos é difícil, e portanto, tem um impacto muito significativo no meio ambiente. Estes resíduos criam problemas de poluição visual e têm efeitos nocivos para o meio ambiente em geral por não serem biodegradáveis. Além disso, os plásticos são polímeros derivados do petróleo, um recurso fóssil esgotável. No entanto, estes polímeros de origem petroquímica continuam a ser largamente utilizados porque são produzidos facilmente a baixo custo e têm uma elevada resistência, flexibilidade e durabilidade (Ferreira, 2012).

As embalagens de alimentos são o maior setor em crescimento no domínio do mercado de embalagens de plástico e é parte integrante das operações de processamento de alimentos. O seu principal objetivo é manter a qualidade e segurança do alimento desde o momento de embalagem até chegar ao consumidor final. Outra função importante da embalagem é a de proteger os alimentos contra os

riscos físicos, químicos e biológicos (oxigênio, humidade, luz, contaminação microbiana, insetos, etc.), durante o armazenamento e distribuição. Outras funções da embalagem incluem contenção, conveniência, fonte de informações sobre o alimento e deve ainda ser esteticamente agradável (Majeed et al., 2013).

Além das funções básicas acima mencionadas das embalagens de alimentos, há questões secundárias de importância cada vez maior que a tecnologia de embalagens deve considerar: os custos de energia e de matérias-primas, reciclagem, sustentabilidade e o cumprimento de normas rigorosas em matéria de poluentes. Assim, os objetivos das embalagens dos alimentos são, entre outros, manter a segurança dos alimentos e minimizar o impacto ambiental. Além disso, deve haver um equilíbrio entre o papel principal e as questões de pós-utilização dos materiais de embalagem (Majeed et al., 2013).

As mudanças no modo de vida dos consumidores, que procuram opções amigas do ambiente, apresentam grandes desafios para a indústria de embalagens de alimentos e agem como forças motrizes para o desenvolvimento de conceitos novos e melhorados de embalagens onde a interação útil entre embalagens, meio ambiente e alimentos ocorre. Este é o conceito base das embalagens ativas e inteligentes (Majeed et al., 2013; Restuccia et al., 2010).

Para este propósito, o Regulamento da União Europeia 1935/2004 permitiu, pela primeira vez, a oportunidade das embalagens ativas serem utilizadas na Europa, permitindo a aplicação de materiais com agentes que poderiam migrar para os alimentos (Restuccia et al., 2010). De acordo com a Diretiva Europeia 94/62/CE relativa à gestão de embalagens e resíduos de embalagens, esta deve incluir como prioridades a redução de embalagens e a reciclagem, que permitem reduzir a disposição final dos resíduos. As embalagens ativas, isto é, os filmes, podem ajudar a resolver o problema do uso excessivo de embalagens plásticas, substituindo-as parcialmente. Estes também podem atuar como uma barreira ao exterior (nomeadamente do vapor de água e oxigênio), como um veículo para os compostos funcionais, ao mesmo tempo, reduzindo danos físicos e a quebra e, portanto, preservar/melhorar a integridade dos alimentos (Rubilar et al., 2013).

Com o intuito de resolver os problemas ambientais que advêm da utilização excessiva de plásticos, tem-se verificado um crescente interesse em desenvolver

novos materiais biodegradáveis. Estes novos materiais podem ser obtidos a partir de várias fontes naturais, como as proteínas, polissacarídeos e lípidos ou também poliésteres naturais produzidos por diversos microrganismos. A substituição total dos polímeros petroquímicos pelos biopolímeros ainda não é possível, devido às suas características físico-químicas e aos maiores custos de produção. É portanto necessário prosseguir com os estudos para melhorar as propriedades dos materiais produzidos com estes polímeros naturais para que possam ser utilizados comercialmente (Ferreira, 2012).

A utilização de polímeros naturais tem emergido como uma alternativa para enfrentar o problema das embalagens plásticas e como integrantes da base dos filmes (Abugoch et al., 2011). Há um interesse crescente no desenvolvimento de embalagens que utilizam polímeros naturais, como o quitosano, devido à sua biodegradabilidade e à capacidade de retardar o transporte de umidade, gás, sabor e lípidos (Yoshida et al., 2014).

1.2 Filmes à base de quitosano

A quitina (figura 1.2 (a)), Poli-(1,4)-N-acetil-D-glucose-2-amina, é o segundo polissacarídeo natural mais abundante depois da celulose (Liu et al., 2013). O quitosano (figura 1.2 (b)), Poli-(1,4)-D-glucose-2-amina, é um polímero natural obtido pela desacetilação da quitina (processo descrito na figura 1.3), que é o principal constituinte do exosqueleto de crustáceos (Rubilar et al., 2013; Schreiber et al., 2013).

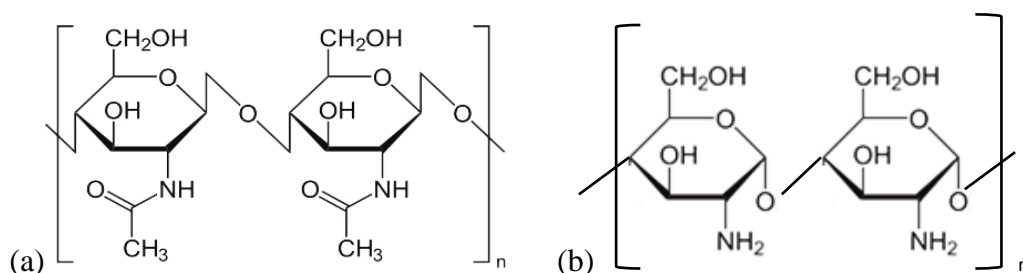


Figura 1.2 – Estruturas químicas da quitina (a) e do quitosano (b).



Figura 1.3 - Processo geral de obtenção de quitosano a partir do exosqueleto de crustáceos (adaptado de Ferreira, 2012).

Muitos estudos recentes têm sugerido o quitosano como base de desenvolvimento de filmes, que podem ser enriquecidos com compostos ativos que reforçam a segurança e qualidade dos alimentos, tais como: carvacrol, extrato de grainha de uva, extratos de chás e óleos de cascas/sementes de citrinos. O quitosano foi avaliado para várias utilizações nos alimentos, indústrias médicas, farmacêuticas, agrícolas e químicas por ser biocompatível, por apresentar baixa toxicidade, apresentar capacidade adesiva, por ser biodegradável (Abugoch et al., 2011) e por ter também atividade antimicrobiana (Fernández-Saiz et al., 2013; Rubilar et al., 2013).

O quitosano tem sido amplamente utilizado na agricultura, biomedicina e na indústria alimentar. Estudos relatam que as películas formadas por quitosano puro podem ser frágeis e quebradiças, enquanto os filmes que incorporam agentes plastificantes, tais como glicerol ou sorbitol, têm melhores propriedades físicas (Liu et al., 2013; Schreiber et al., 2013). O quitosano pode ser dissolvido em ácido clorídrico diluído ou ácidos orgânicos, tais como ácidos acético, láctico e cítrico, e os filmes são formados simplesmente por evaporação do solvente. A natureza catiónica do quitosano permite interações iônicas com outros compostos iônicos, levando a novos materiais. O quitosano é conhecido como um polímero de formação de filmes que pode ter diferentes propriedades mecânicas, de barreira e antimicrobianas (Abugoch et al., 2011).

Devido a estas características, o quitosano tem sido amplamente utilizado para a produção de filmes comestíveis. Além disso, o quitosano é um componente excelente para filmes edíveis, devido à sua capacidade de formação de filmes transparentes e boas propriedades mecânicas (figura 1.4). Os filmes de quitosano são ainda boas barreiras a gases (por exemplo: dióxido de carbono e oxigênio) e apresentam elevada permeabilidade ao vapor de água (Rubilar *et al*, 2013).

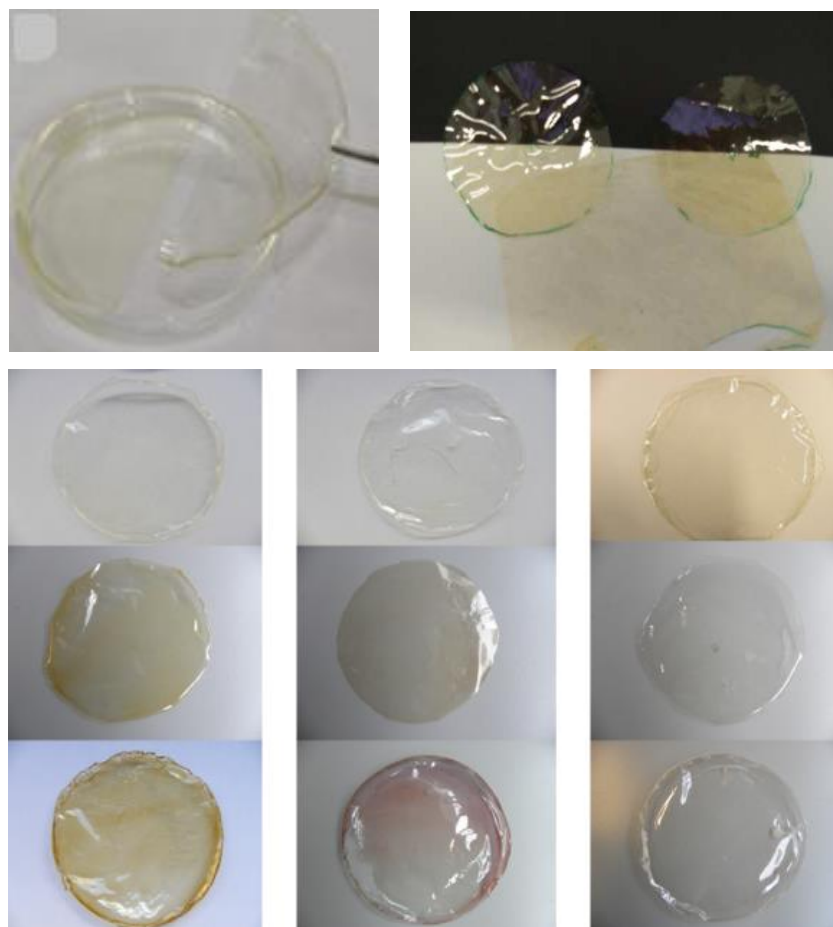


Figura 1.4 – Exemplos de filmes de quitosano (fontes: Cordeiro, 2010; Regiel et al, 2013; Wei et al, 2013).

A fim de melhorar as propriedades de barreira à água dos filmes de quitosano, vários compostos, tais como o ácido oleico, são frequentemente incorporados (Rubilar et al., 2013). As características do filme de quitosano, contudo, variam dependendo da sua origem, dos solventes usados, dos métodos de preparação do filme, das condições de secagem e dos tipos e quantidades de plastificantes ou copolímeros usados (Abugoch et al., 2011).

Sistemas de embalagem multifuncionais que contenham substâncias ativas têm um elevado potencial para aplicações em embalagens de alimentos comerciais. A permeabilidade do filme depende da sua estrutura química e morfologia, a natureza do permeante e a temperatura do meio ambiente. A permeabilidade ao vapor de água é a propriedade mais extensivamente estudada dos filmes, dada a importância da água em reações deterioradores dos alimentos. Os consumidores

preferem alimentos com maior segurança, o que é particularmente relevante no caso de alimentos frescos e minimamente processados que utilizam estes sistemas de embalagem (Rubilar et al., 2013).

A incorporação de compostos antimicrobianos ou antioxidantes de origem natural em filmes de quitosano é uma forma interessante para melhorar as propriedades funcionais dos mesmos (Rubilar et al., 2013).

1.3 Incorporação de agentes naturais em filmes para embalagem

1.3.1 Carvacrol

Hoje em dia é muito comum usar óleos essenciais e os seus componentes, que demonstram ter potencial antimicrobiano, tanto em contato direto com alimentos como através do seu vapor. O carvacrol é um fenol monoterpênico extraído principalmente dos óleos essenciais do orégão, *Origanum vulgare*, onde existe entre 61 a 72% de acordo com o estudo de Rodrigues (2002) - sobre a composição dos óleos essenciais do manjericão e do orégão - do tomilho, *Thymus vulgare*, onde existe cerca de 21% de acordo com o estudo de Rosa (2013) - sobre o teor e composição do óleo essencial do capim-limão e do tomilho - e da segurelha, *Satureja hortensis/montana L.*, onde existe aproximadamente 11% de acordo com o estudo de Oliveira (2010) - sobre a atividade do óleo essencial da segurelha. Outro composto muito abundante nos óleos essenciais é o timol, fenol da mesma família do carvacrol (Costa et al., 2013; Kurek et al., 2014).

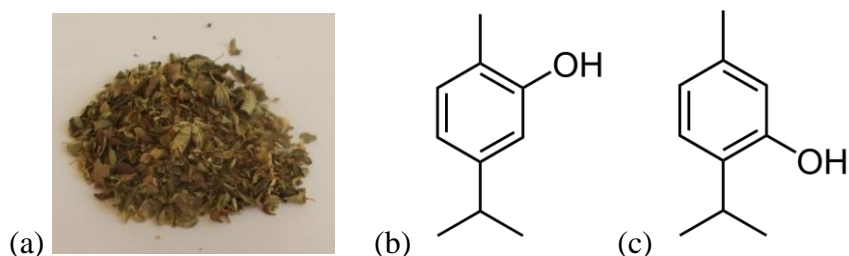


Figura 1.5 – (a) Orégão. Estruturas químicas do carvacrol (b) e do timol (c).

O efeito inibitório sobre o crescimento de vários microrganismos é bem documentado e descrito extensivamente. O carvacrol pode ser incorporado no material do biopolímero que pode ser utilizado como um filme ou que pode revestir o material de embalagem. A eficiência deste sistema é determinada pela difusão controlada e libertação que é mantida em concentrações suficientemente elevadas para promover o impacto antimicrobiano quando necessário. A utilização de agentes antimicrobianos voláteis tem muitas vantagens. Este sistema pode ser utilizado de forma eficaz para os produtos frescos, como carne, queijo, frutas, legumes ou produtos secos. Durante o armazenamento e a utilização do material de embalagem, as propriedades dos filmes de quitosano podem ser modificadas após a incorporação do composto ativo. A perda de compostos voláteis ativos a partir da matriz de base biológica, a temperatura e humidade relativa específicas, requer o conhecimento da sensibilidade à água do polímero, o coeficiente de difusão dos princípios ativos, taxas de libertação e os valores de migração de acordo com os níveis de humidade. O aumento da temperatura e humidade de armazenamento pode acelerar a migração dos agentes ativos no filme (Kamimura et al., 2014; Kurek et al., 2014; Peretto et al., 2014).

1.3.2 Extrato de grainha de uva

Para além dos óleos essenciais estudados para incorporação nos filmes de quitosano, também o extrato de grainha de uva (figura 1.6) é um produto muito estudado e incorporado nestes filmes (Alonso et al., 2010).



Figura 1.6 – Extrato de grainha de uva.

O extrato de grainha de uva é um agente antimicrobiano e uma rica fonte de compostos polifenólicos, principalmente catequinas monoméricas e epicatequinas, ácido gálico e procianidinas oligoméricas e poliméricas. Estes compostos polifenólicos apresentam vários efeitos biológicos, incluindo a capacidade antimicrobiana. A utilização de combinações de agentes antimicrobianos naturais pode aumentar o efeito antimicrobiano, reduzir a resistência de microrganismos e pode também contribuir para melhorar as propriedades físico-mecânicas dos filmes (Rubilar et al., 2013).

1.4 Microencapsulação de agentes naturais

O controle da libertação de substâncias, agentes ativos, dos filmes para os alimentos é um ponto de difícil tratamento. Durante muitos anos, a técnica da microencapsulação foi utilizada na indústria farmacêutica para a libertação controlada e maior estabilidade de formulações e para mascarar sabores/cheiros fortes. A microencapsulação é uma técnica útil para proteger os produtos de condições ambientais, para aumentar o tempo de validade/prateleira dos alimentos e em sistemas de distribuição de nutracêuticos, através da incorporação de compostos bioativos em sistemas alimentares (Nori et al., 2011).

A tecnologia associada à modificação da libertação de princípios ativos, como fármacos, pesticidas, corantes, aromatizantes ou compostos naturais, é vasta. Entre essas tecnologias, os sistemas matriciais poliméricos são amplamente aplicados na forma de micropartículas. As micropartículas são subdivididas em microesferas e microcápsulas, segundo a sua estrutura. São denominadas microesferas as partículas compactas constituídas por uma rede polimérica na qual a substância ativa se encontra distribuída no seu estado sólido ou molecular. Já as microcápsulas são as partículas constituídas por um núcleo interno contendo o agente ativo recoberto por uma camada de polímero de espessura variável. A figura 1.7 representa a estrutura de uma microcápsula e de uma microesfera (Suave et al., 2006).

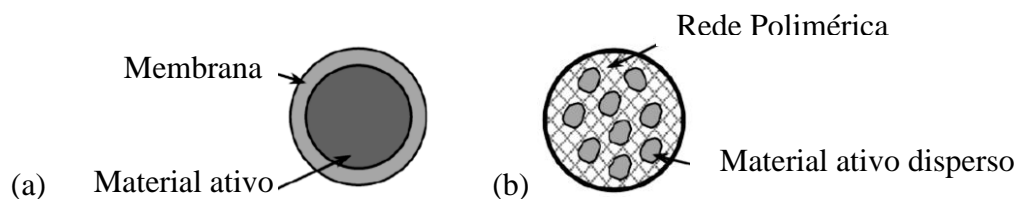


Figura 1.7 – (a) Microcápsula (b) Microesfera (fonte: Matté e Rosa, 2013).

O conceito de microcápsula surgiu da idealização do modelo celular. Neste a membrana que envolve e protege o citoplasma e os demais componentes exerce ao mesmo tempo outras funções, como controlar a entrada e a saída de material na célula. De modo semelhante, a microcápsula consiste numa camada de um agente encapsulante, geralmente um material polimérico que atua como um filme protetor, isolando a substância ativa e evitando o efeito da sua exposição inadequada. Essa membrana desfaz-se sob estímulo específico, libertando a substância no local ou momento ideais (Suave et al., 2006).

A microencapsulação tem vindo a ser estudada desde 1929, para produção de microcápsulas com aplicação no setor têxtil e desde então têm sido apresentadas inúmeras aplicações, sendo uma delas no setor alimentar, na encapsulação de óleos essenciais para prevenir a oxidação e a perda de substâncias voláteis e controlar a libertação do aroma (Butstraen e Salaün, 2014). A aplicação desta tecnologia estende-se à incorporação de corantes, temperos, acidulantes, vitaminas e minerais. A técnica de microencapsulação protege esses ingredientes contra perdas nutricionais e preserva ou mascara cor e sabores (inibindo a reação com outros materiais), além de aumentar o tempo de prateleira e incorporar nos alimentos mecanismos de controlo de libertação de certos componentes. Existem outras indústrias que desenvolvem formulações com micropartículas na área dos cosméticos, pigmentos, adesivos, agentes de cura e encapsulação de células vivas, incluindo enzimas e microrganismos (Costa et al., 2013; Santos et al., 2005; Suave et al., 2006).

A escolha do processo de microencapsulação é determinada pelas características de solubilidade do composto ativo e do material de revestimento em função da utilização final. Algumas matrizes poliméricas, tais como o quitosano, foram já utilizadas para encapsular substâncias ativas na indústria farmacêutica devido à sua baixa toxicidade, capacidade de formação de película, alta resistência à

tração e elevada adesividade (Suave et al., 2006). Existem vários métodos de preparação de microcápsulas, tal como indicado na tabela 1.1.

Tabela 1.1 – Métodos de preparação de microcápsulas (adaptado de Huertas, 2011; Matté e Rosa, 2013; Silva et al., 2003).

Métodos Físicos	Métodos Químicos	Métodos Físico-químicos
Secagem por atomização (<i>spray drying</i>)	Inclusão molecular	Coacervação
Secagem por arrefecimento (<i>spray cooling</i>)	Polimerização interfacial	Separação de fase orgânica
Liofilização (<i>freeze drying</i>)	Emulsificação	Gelificação iónica

1.4.1 Secagem por atomização

A secagem por atomização é um processo bastante utilizado na microencapsulação de agentes ativos (figura 1.8). O material ativo a ser encapsulado é misturado com uma solução do composto que constitui o material encapsulante, formando uma emulsão. Ao ser atomizado dentro do secador, ocorre a evaporação do líquido da solução do agente encapsulante com a formação da membrana ao redor das gotas do material ativo (Santos et al., 2005; Suave et al., 2006). A técnica de secagem por atomização é uma tecnologia largamente utilizada como processo de microencapsulação em alimentos para proteger compostos bioativos ou alimentos funcionais de *stress* ambiental (luz, temperatura e oxidação) (Sansone et al., 2014; Santos et al., 2005).

Este processo apresenta algumas vantagens sobre os outros métodos: as propriedades e a qualidade do produto são controladas mais eficientemente, há possibilidade de grandes produções em operação contínua com equipamento simples, produção de partículas relativamente uniformes e esféricas, boa eficiência e baixo custo do processo (Suave et al., 2006).

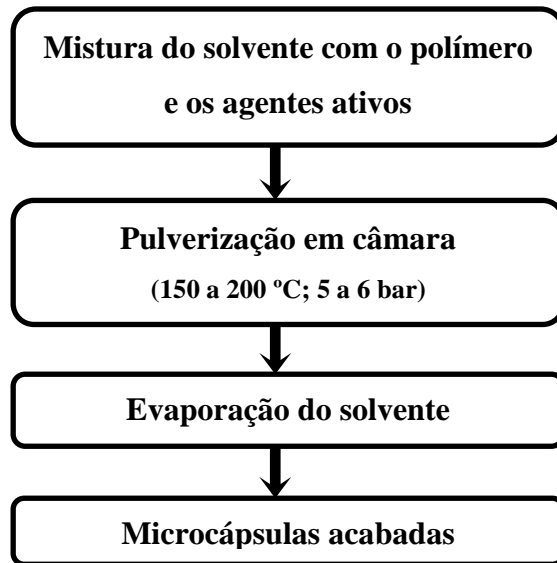


Figura 1.8 – Fluxograma do processo de microencapsulação através da secagem por atomização (fontes: Suave et al., 2006; Santos et al., 2005).

1.4.2 Gelificação iónica

A gelificação iónica, outro método de produção de microcápsulas (figura 1.9), ocorre por contacto da solução de polímero com o agente de arrefecimento de reticulação (Matté e Rosa, 2013; Rathore et al., 2013). A solidificação do material de revestimento pode ocorrer por evaporação do solvente, difusão do solvente ou reação química (Silva et al., 2003).

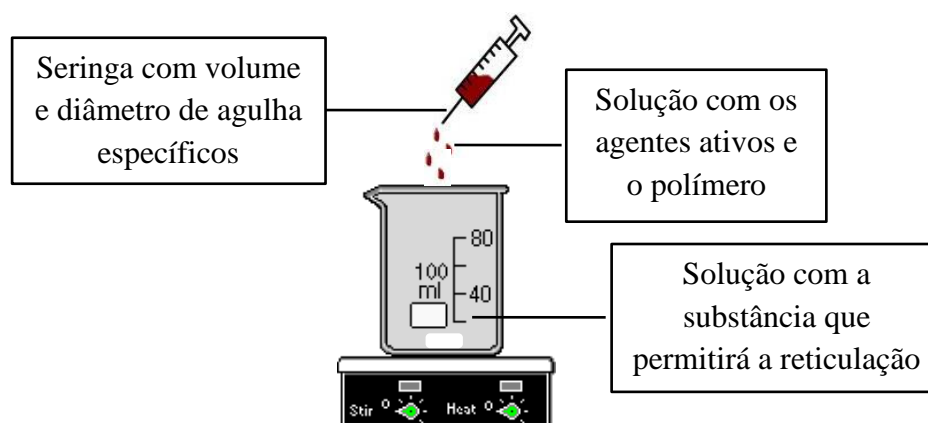


Figura 1.9 – Esquema do processo de gelificação iónica (adaptado de Wu et al., 2013).

As principais vantagens deste método são a simplicidade do seu funcionamento, baixo custo e as fáceis condições operacionais, garantindo alta fiabilidade. No entanto, há também algumas desvantagens, tais como a sua ineficiência na produção de microcápsulas de dimensões reduzidas e a exigência de baixa a moderada viscosidade das soluções poliméricas. Além disso, uma rápida reticulação e endurecimento na superfície das microcápsulas podem retardar o movimento dos iões de ligação cruzada no núcleo interno, resultando em microcápsulas menos estáveis. As microcápsulas são convenientemente produzidas em escala laboratorial mas o *scale up* (passagem para a escala industrial) do processo é geralmente difícil devido à lenta produção das partículas. Os fatores que afetam o tamanho das microcápsulas produzidas incluem o diâmetro da seringa, a viscosidade, concentração, temperatura, velocidade da solução polimérica, altura da queda ou a distância de fluxo a partir da seringa para a solução (Rathore et al., 2013).

Para aumentar as propriedades termomecânicas das microcápsulas, os polímeros hidrófilos utilizados como base precisam, como referido anteriormente, de ser reticulados. A maioria dos agentes químicos de reticulação (ligandos) mais referidos são o formaldeído e o glutaraldeído, cuja utilização nos alimentos é limitada devido à sua toxicidade (Butstraen e Salaün, 2014). Para ultrapassar esta barreira, alguns estudos propõem como potencial ligando o tripolifosfato de sódio (figura 1.10), que é um composto não tóxico e polivalente (Butstraen e Salaün, 2014; Hamamura et al., 2010; Stulzer, 2008). Este interage facilmente com os grupos amino do quitosano, por forças eletrostáticas, para formar ligações intermoleculares ou redes iónicas reticuladas, como demonstra a figura 1.11 (Butstraen e Salaün, 2014; Stulzer, 2008).

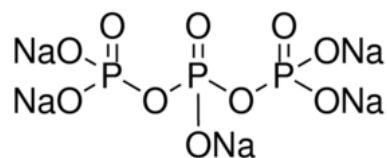


Figura 1.10 – Estrutura química do tripolifosfato de sódio.

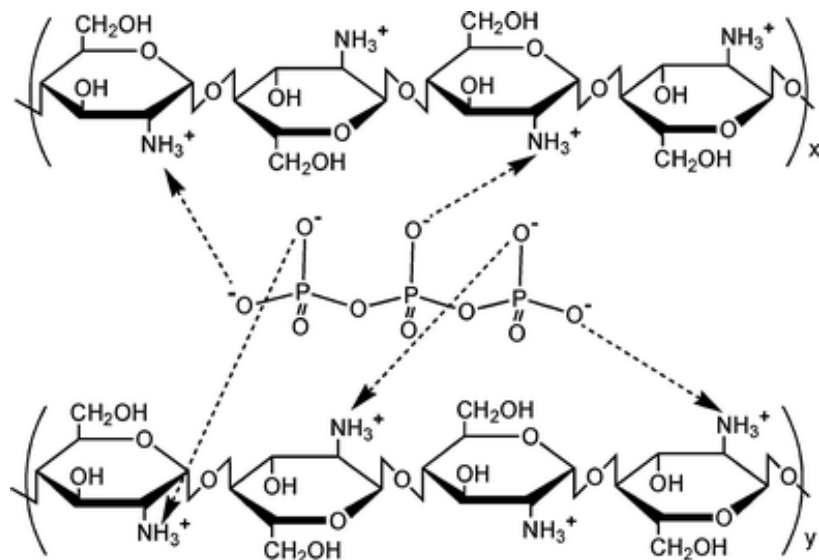


Figura 1.11 – Reticulação entre o quitosano e o ião tripolifosfato (fonte: Yang et al., 2009).

1.5 Libertação de agentes ativos

A libertação dos agentes ativos incorporados nos filmes (diretamente ou por microencapsulação) pode ocorrer através da rutura mecânica, mediante ação da temperatura e do pH, por meio da biodegradação, pela solubilidade no meio e também por difusão. A difusão dos agentes ativos na matriz polimérica é definida como um processo de transferência de massa de moléculas individuais de uma substância por intermédio de um movimento molecular aleatório e associado a um gradiente de concentração (Suave et al., 2006).

A tecnologia de libertação controlada pode ser utilizada para aumentar a eficiência no processo de produção de muitos ingredientes. Foi utilizada inicialmente pela indústria farmacêutica, com posterior expansão noutras áreas tais como: libertação controlada de agroquímicos, fertilizantes, fármacos de uso veterinário e em ativos para alimentos industrializados. A libertação controlada pode ser considerada como um método pelo qual, um ou mais ingredientes encapsulados, são disponibilizados em períodos de tempo específicos. Uma das vantagens da libertação controlada é que o ingrediente ativo é libertado durante períodos de tempo prolongados e controlados (Parize, 2009).

De modo geral, a liberação do ingrediente encapsulado depende do tipo de geometria da partícula e do agente encapsulante empregue. Estes fatores ditam o mecanismo de liberação que pode ser baseado em efeitos de solvente, difusão, degradação ou fratura. Qualquer tipo de estímulo pode ser utilizado para a liberação do ingrediente encapsulado, tais como: mudança no pH, *stress* mecânico, temperatura, atividade de enzimas e tempo (Matté e Rosa, 2013; Parize, 2009).

A partir da figura 1.12 observa-se que a liberação do agente ativo encapsulado ocorre em dois passos. No primeiro passo dá-se o início do intumescimento da matriz polimérica, solubilização rápida no meio e liberação do agente ativo livre presente na superfície do encapsulante. O segundo passo é caracterizado pelo relaxamento, e intumescimento, da matriz polimérica e pela ocorrência da difusão do agente ativo presente nas microcápsulas (Matté e Rosa, 2013; Parize, 2009).

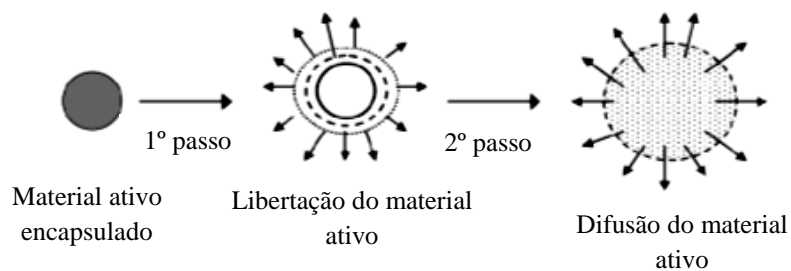


Figura 1.12 – Esquema de liberação de agentes ativos a partir de microcápsulas (adaptado de Matté e Rosa, 2013; Parize, 2009).

Um fator importante a ser considerado no processo de difusão de um agente ativo é a sua solubilidade na matriz polimérica. Quando um agente ativo se encontra disperso na matriz, a difusão acontece à medida que ocorre a sua solubilização no polímero. Já num sistema em que o agente ativo se encontra solubilizado na matriz polimérica, essa etapa será suprimida, permitindo uma difusão mais rápida. A capacidade de intumescimento de um polímero também influencia diretamente a difusão do agente ativo. Quando o sistema de microencapsulação entra em contato com a água, por exemplo, podem ocorrer a hidratação do material e a progressiva gelificação das cadeias poliméricas, formando uma camada de alta viscosidade na interface água-polímero. Essa camada viscosa aumenta de espessura à medida que a

hidratação ou o intumescimento progride. Por consequência, a difusão do agente ativo é determinada pela velocidade de intumescimento do polímero. Embora não exista um único tipo de curva de liberação do agente ativo que satisfaça todas as necessidades, quatro modelos teóricos de curva de liberação podem ser definidos. O primeiro considera um mecanismo de disparo, que inicia a liberação. O segundo mecanismo assume que a parede da microcápsula atua como um reservatório, supondo-se que a taxa de liberação seja constante. O terceiro pressupõe a migração através da parede da microcápsula. O quarto modelo considera a parede como uma membrana semipermeável e seletiva de diferentes pesos moleculares (Matté e Rosa, 2013; Parize, 2009; Suave et al., 2006).

1.6 Quantificação de agentes ativos

Métodos laboratoriais, incluindo a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), eletroforese capilar, espectrofotometria de ultravioleta-visível, espectrometria de massa e detectores eletroquímicos, têm sido usados para analisar o conteúdo de compostos fenólicos totais e flavonoides em várias substâncias (Šeruga et al., 2011).

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos no reino vegetal. São definidos como substâncias que possuem anéis aromáticos com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo os seus grupos funcionais. Entre as frutas, a uva é uma das maiores fontes de compostos fenólicos. Os principais fenólicos presentes na uva são os flavonoides (antocianinas e flavonóis), os estilbenos (resveratrol), os ácidos fenólicos (derivados dos ácidos cinâmicos e benzóicos) e uma larga variedade de taninos. As antocianinas são flavonoides que se encontram largamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho que aparecem em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas. Nas videiras, elas acumulam-se nas folhas durante a senescência e são responsáveis pela coloração das cascas das uvas tintas, sendo encontradas também na polpa e grainhas de algumas variedades de uvas (Malacrida e Motta, 2005).

1.6.1 Compostos fenólicos totais

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos deve-se à grande variedade de combinações que acontece na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis. Estas combinações fenólicas podem ser categorizadas em várias classes como mostra a tabela 1.2 (onde C_6 corresponde ao anel benzênico). De entre os compostos fenólicos totais, destacam-se os flavonoides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis como os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural (Angelo e Jorge, 2007). Os compostos fenólicos totais são de grande interesse nas indústrias de alimentos, cosméticos e farmacêuticos, como substitutos para antioxidantes sintéticos. O interesse deve-se à sua atividade antioxidante como sequestrantes de radicais livres (Biswas et al., 2012; Furlong et al., 2003).

Tabela 1.2 – Classes dos compostos fenólicos totais nas plantas (adaptado de Angelo e Jorge, 2007).

Classe	Estrutura
Fenólicos simples (benzoquinonas)	C_6
Ácidos hidroxibenzóicos	$C_6 - C_1$
Acetofenol (ácidos fenilacéticos)	$C_6 - C_2$
Ácidos hidroxicinâmicos (fenilpropanoides)	$C_6 - C_3$
Nafitoquinonas	$C_6 - C_4$
Xantonas	$C_6 - C_1 - C_6$
Estilbenos (antoquinonas)	$C_6 - C_2 - C_6$
Flavonoides (isoflavonoides)	$C_6 - C_3 - C_6$
Biflavonoides	$(C_6 - C_3 - C_6)_2$
Taninos condensados	$(C_6 - C_3 - C_6)_n$

Os compostos fenólicos distribuem-se de modo diferente pelas diversas partes das uvas:

- grainhas → taninos condensados e ácido gálico;
- polpa → taninos condensados e ácidos hidroxicinâmicos;

• película → taninos condensados, catequinas, antocianinas, ácidos fenólicos, ácido gálico, ácidos hidroxicinâmicos e resveratrol (Cabrita et al., 2003; Rockenbach, 2008).

O ácido gálico pertence à família dos ácidos hidroxibenzóicos, tal como outros ácidos exemplificados na figura 1.13 (Rockenbach, 2008).

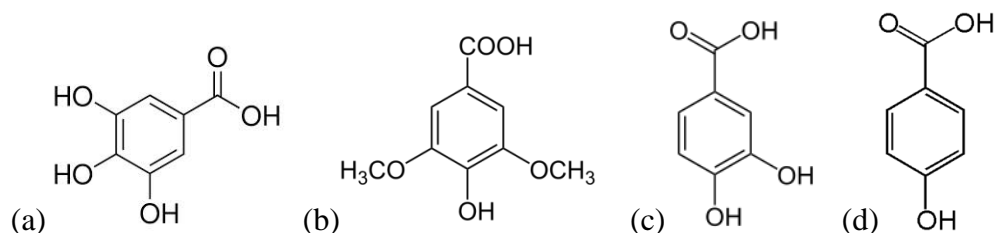


Figura 1.13 – Estruturas químicas de alguns ácidos hidroxibenzóicos: (a) Ácido gálico (b) Ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzóico (c) Ácido 3,4-diidroxi-benzóico (d) Ácido *p*-hidroxibenzóico.

A atividade antioxidante dos ácidos hidroxibenzóicos depende do número e posição dos grupos hidroxilo (OH) em relação ao grupo funcional carboxílico (COOH), aumentando com o aumento do grau de hidroxilação. Os ácidos monohidroxibenzóicos com o grupo OH ligado nas posições *orto* ou *para* em relação ao grupo COOH não apresentam atividade antioxidante. No caso do ácido gálico, como é trihidroxilado, apresenta elevada atividade antioxidante (Rockenbach, 2008).

A determinação dos níveis de compostos fenólicos totais em tecidos vegetais é a etapa inicial de qualquer investigação de funcionalidade fisiológica para posterior estímulo ao consumo, visando a prevenção de doenças crônico-degenerativas. A capacidade redutora desses compostos pode ser uma das propriedades utilizadas para guiar a quantificação inicial (Furlong et al., 2003).

A quantificação espectrofotométrica de compostos fenólicos é realizada por meio de uma variedade de técnicas, todavia, a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu figura entre as mais extensivamente utilizadas. Este reagente consiste numa mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstístico, no qual o molibdênio e o tungstênio se encontram num estado de oxidação tal que, em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos totais, formam os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, cuja coloração permite a determinação da

concentração das substâncias redutoras (compostos fenólicos totais) (Sousa et al., 2007).

1.6.2 Flavonoides

Os flavonoides constituem o maior grupo de compostos fenólicos de plantas. Ocorrem quase que exclusivamente em plantas superiores, onde são responsáveis pela coloração das flores, dos frutos, de algas e até de fungos (Angelo e Jorge, 2007; Rockenbach, 2008). Os flavonoides são substâncias pertencentes a uma classe de produtos naturais considerados micronutrientes. Estão presentes na dieta humana rica em frutas e vegetais, que são as principais fontes dessas substâncias. De modo geral, os polifenóis e em particular os flavonoides são compostos com baixo peso molecular e possuem uma estrutura ideal para o sequestro de radicais, sendo antioxidantes mais efetivos que as vitaminas C e E (Alves et al., 2007; Song et al., 2012).

Entre os flavonoides mais comuns destacam-se as catequinas (ou flavanóis), antocianidinas, flavonóis, flavonas, flavanonas e isoflavonas como mostra a figura 1.14 (Alves et al., 2007).

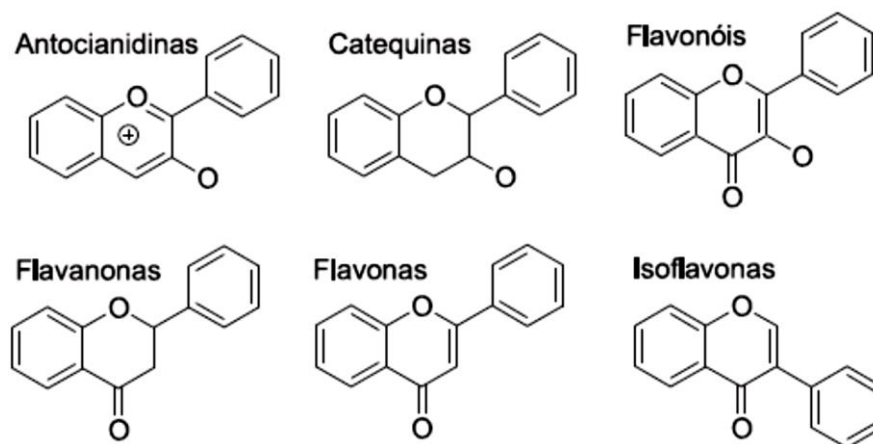


Figura 1.14 – Estruturas químicas de alguns flavonoides (fonte: Março e Poppi, 2008).

Os flavonóides maioritariamente presentes nas uvas são a catequina, epicatequina, quercetina (figura 1.15) e antocianinas, fontes ricas de antioxidantes (Giehl et al., 2007).

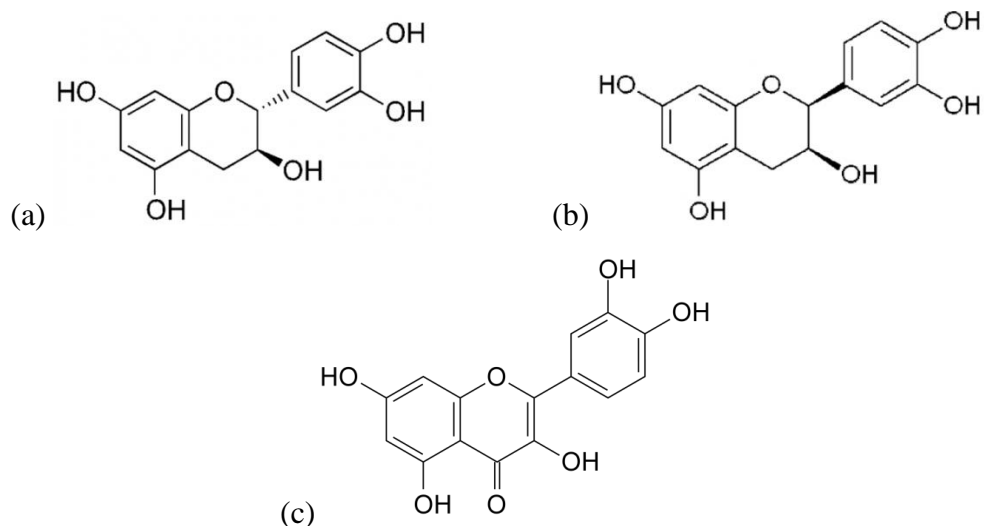


Figura 1.15 – Estruturas químicas de (a) Catequina (b) Epicatequina (c) Quercetina.

Os flavonóides são efetivos dadores de hidrogénio e o seu potencial antioxidante depende do número e da posição dos grupos de hidrogénio e das suas conjugações, e também devido à presença de eletrões nos anéis benzénicos (Rockenbach, 2008).

A estrutura das catequinas, por exemplo, permite a complexação de determinados iões de metais de transição, pelo que para a sua quantificação faz-se reagir o composto ativo com um metal (Porto, 2002). As catequinas também reagem na presença de grupos hidroxilo e iões cloreto originando um produto de condensação vermelho, que é detetado espectrofotometricamente (Rocha et al., 2011).

1.7 Modelos cinéticos de libertação

A ideia de libertação controlada de substâncias biologicamente ativas já é utilizada desde a década de cinquenta, com o desenvolvimento de materiais de natureza lipídica, inorgânica e polimérica (Witt, 2013).

Sempre que se produz um material encapsulado, existe a necessidade de prever como este se comporta em termos de libertação. É necessário garantir a libertação de uma forma adequada da substância ativa encapsulada, bem como prever como se comporta a libertação ao longo do tempo. Para a realização destes estudos é

habitual recorrer-se a modelos matemáticos que expressem o comportamento do sistema em estudo. Estes modelos tornam-se importantes no desenvolvimento de uma nova formulação e verificação experimental do processo de libertação. Os dados experimentais obtidos podem ser analisados através de equações cinéticas que relacionam a quantidade de substância ativa libertada em função do tempo (Moreira, 2010).

As formulações de libertação controlada têm como objetivo realizar produtos cada vez mais eficazes. Para este efeito, a utilização de modelagem matemática torna-se muito útil, pois permite a previsão da libertação cinética antes de os sistemas de libertação serem realizados. Mais frequentemente, isto permite a medição de alguns parâmetros físicos importantes, tais como o coeficiente de difusão da substância ativa recorrendo ao modelo de ajustamento dos dados experimentais de libertação. Assim, a modelagem matemática, cujo desenvolvimento requer a compreensão de todos os fenómenos que afetam a cinética de libertação das substâncias ativas, tem um valor muito importante para a otimização do processo (Dash et al., 2010).

O modelo pode ser simplesmente pensado como uma metáfora matemática de alguns aspetos da realidade que, neste caso, se identifica com o conjunto de fenómenos que regem a cinética de libertação. Por essa generalidade, a modelagem matemática é amplamente empregue em diferentes áreas, como a genética, medicina, psicologia, biologia, economia, engenharia e tecnologia (Dash et al., 2010).

Os métodos dependentes do modelo são baseados em diferentes funções matemáticas, as quais descrevem o perfil de dissolução. Uma vez que uma função adequada foi selecionada, os perfis de dissolução são avaliados de acordo com os parâmetros do modelo derivados. De modo a determinar a cinética de libertação de uma substância o modelo deve descrever o seu perfil de dissolução (Dash et al., 2010).

Os modelos de Korsmeyer-Peppas, Weibull, Higuchi e de Fick serão considerados por estes serem os modelos mais aplicados no estudo da libertação controlada de substâncias (Moreira, 2010).

1.7.1 Modelo de Korsmeyer-Peppas

Em 1983 Korsmeyer descreve a liberação de substâncias a partir de um sistema polimérico. Para descobrir o mecanismo de liberação foi desenvolvido o modelo de Korsmeyer-Peppas:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n \quad (\text{Equação 1})$$

onde M_t/M_∞ é a fração de agente ativo libertado ao longo do tempo t , k é a constante de velocidade e n é o expoente de liberação. O valor de n é usado para caracterizar diferentes mecanismos de liberação e fornece informações sobre o mecanismo de liberação de substâncias ativas a partir da matriz polimérica, como se pode ver na tabela 1.3 (Dash et al., 2010; Parize, 2009; Shoaib et al., 2006).

Tabela 1.3 - Expoente de difusão e mecanismo de liberação de soluto para formas esféricas (Parize, 2009).

n	Mecanismo de liberação
$\leq 0,43$	Difusão Fickiana Caso I: difusão da substância ativa através de camadas da matriz
$0,43 < n < 0,85$	Difusão não-Fickiana: difusão e intumescimento ocorrem em simultâneo (difusão anômala)
0,85	Difusão Fickiana Caso II: intumescimento/relaxação da matriz
$> 0,85$	Difusão Fickiana Super Caso II: Difusão, intumescimento, relaxação e erosão da matriz

O modelo de Arrhenius foi desenvolvido para avaliar a influência da temperatura no coeficiente de difusão efetivo de uma determinada substância ativa. Assim, um modelo pode ser transformado inserindo uma temperatura de referência,

T_{ref} . Esta transformação não só confere estabilidade à integração numérica e na estimativa dos parâmetros, mas também permite o uso da constante de velocidade de referência, k_{ref} . (Portella et al., 2014; Goneli et al., 2014a; Goneli et al., 2014b):

$$k(t) = k_{ref} \cdot e^{-\frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)} \quad (\text{Equação 2})$$

onde $k(t)$ é a constante de velocidade da reação, Ea é a energia de ativação da reação, T é a temperatura e R que é a constante dos gases ideais ($R = 8,314 \text{ J/mol.K}$).

Assim, o modelo de Korsmeyer-Peppas com dependência da temperatura pode ainda ser escrito de outra forma utilizando como referência os dados das equações 1 e 2:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{ref} \cdot e^{-\frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)} \cdot t^n \quad (\text{Equação 3})$$

1.7.2 Modelo de Weibull

Este modelo tem sido descrito por diferentes processos de dissolução de acordo com a equação:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - e^{-k(t-t')^b} \quad (\text{Equação 4})$$

onde M_t/M_∞ é a fração de agente ativo libertado ao longo do tempo t , k é a constante de velocidade, t' é o chamado *lag time*, o tempo decorrido entre o instante inicial e o início da libertação da substância ativa e b é um parâmetro de forma, que caracteriza as curvas quer como exponencial ($b = 1$), em forma de S ($b > 1$) ou parabólica ($b < 1$) (Dash et al., 2010; Kalam et al., 2007; Oms-Oliu et al., 2009).

Este modelo pode ser transformado se introduzirmos a dependência da temperatura, segundo o modelo de Arrhenius:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - e^{-k_{ref} \cdot e^{-\frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)} \cdot (t - t')^b} \quad (\text{Equação 5})$$

1.7.3 Modelo de Higuchi

Outro exemplo de um modelo matemático destinado a descrever a libertação de uma substância a partir de um sistema de matriz foi proposto por Higuchi em 1961 (Dash et al., 2010). De um modo geral o modelo de Higuchi é aplicado através da equação:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot \sqrt{t} \quad (\text{Equação 6})$$

onde M_t/M_∞ é a fração de agente ativo libertado ao longo do tempo t , k é a constante de velocidade do modelo de Higuchi (Moreira, 2010).

Este modelo pode ser transformado se introduzirmos a dependência da temperatura, segundo o modelo de Arrhenius:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{\text{ref}} \cdot e^{-\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{\text{ref}}} \right)} \cdot \sqrt{t} \quad (\text{Equação 7})$$

1.7.4 Modelo de Fick

A difusão é o processo pelo qual a matéria é transportada de um local para outro situado no interior do próprio sistema e resulta de movimentos moleculares aleatórios, que ocorrem em pequenas distâncias. Adolf Fick, em 1855, foi o primeiro a procurar quantificar o processo de difusão (Manadas et al., 2002). O modelo de Fick tem por base fluxos de difusão, onde ocorre a difusão do composto bioativo de uma região com elevada concentração para uma de menor concentração (Penim, 2015)

A taxa de transferência de difusão de uma substância pode ser expressa pela primeira lei de Fick:

$$F = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (\text{Equação 8})$$

em que F é a taxa de transferência por unidade de área, D é o coeficiente de difusão efetivo, C é a concentração da substância que se difunde e x é a distância na direção da difusão (Pires, 2011).

A segunda lei de Fick é bastante utilizada quando se tem o interesse de saber a difusão de um fluido, em função da sua concentração e da difusão do material, esta lei é especialmente abordada quando o fluido em questão é a água (Santos et al., 2014):

$$\frac{dC}{dt} = D \left(\frac{d^2C}{dx^2} \right) \quad (\text{Equação 9})$$

Crank (1975), baseado na segunda lei de Fick para uma placa plana em contato com uma solução, chegou à equação simplificada do modelo de Fick:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \left(\frac{2}{L} \right) \left(\frac{D.t}{\pi} \right)^{0.5} \quad (\text{Equação 10})$$

onde M_t/M_∞ é a fração de agente ativo libertado ao longo do tempo t , D é o coeficiente de difusão efetivo e L a espessura do filme (El-Aquar e Murr, 2003).

Para avaliar a influência da temperatura no coeficiente de difusão efetivo, foi utilizada a equação de Arrhenius, descrita da seguinte forma (Lisboa et al., 2015):

$$D = D_{ref} \cdot e^{-\frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)} \quad (\text{Equação 11})$$

Assim, o modelo de Fick pode ser transformado se introduzirmos a dependência da temperatura, segundo o modelo de Arrhenius:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \left(\frac{2}{L} \right) \left(\frac{D_{ref} \cdot e^{-\frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)} \cdot t}{\pi} \right)^{0.5} \quad (\text{Equação 12})$$

1.8 Objetivos

O objetivo geral deste trabalho consistiu em desenvolver filmes de quitosano com incorporação de microcápsulas com extrato de grainha de uva e carvacrol. Como objetivo específico este trabalho pretendeu o estudo das cinéticas de libertação dos agentes naturais microencapsulados, com a modelização dos dados obtidos para obtenção do melhor modelo para a descrição da libertação de compostos fenólicos totais e flavonoides ao longo do tempo.

Assim, prepararam-se filmes à base de quitosano com extrato de grainha de uva e carvacrol microencapsulados. Estes filmes foram, então, estudados em soluções aquosas de pH 5 e 6,5 a diferentes temperaturas e quantificada a libertação das substâncias ativas incorporadas ao longo do tempo.

2. Materiais e métodos

2.1 Soluções base

2.1.1 Matriz de quitosano

Para preparar a matriz de quitosano seguiu-se a metodologia de Rubilar et al. (2013), num estudo sobre as características de filmes de quitosano. Mediram-se 6,25 g de quitosano em pó (Sigma-Aldrich) e adicionou-se 500 mL de ácido acético a 1%. Homogeneizou-se com Ultra-Turrax T25 (IKA-Labortechnik) a 9500 rpm (cerca de 20 minutos). Deixou-se repousar por 24 horas a 20 °C e filtrou-se com o auxílio de uma gaze.

2.1.2 Solução de filme de quitosano a 1,25%

Mediram-se 498 g de matriz de quitosano aos quais se adicionou 2 g de glicerol (José Manuel Gomes dos Santos, Lda). A mistura foi colocada a agitar à temperatura de 40 °C por 30 minutos. Após este tempo a solução foi desgaseificada num banho de ultrassons (Bandelin Sonorex Super RX102H) por cerca de 30 minutos.

2.1.3 Solução de quitosano a 1,25% com incorporação de extrato de grainha de uva e carvacrol

Seguindo a metodologia de Rubilar et al. (2013) mediram-se 473,3 g de matriz de quitosano aos quais se adicionou 1,6 g de glicerol. A mistura foi colocada a agitar à temperatura de 40 °C por 30 minutos. Após este tempo adicionou-se 17,4 mL de tween-80 (VWR) e manteve-se a agitação e o aquecimento por 1 hora.

Adicionou-se 8,55 g de extrato de grainha de uva (Groupe Grap SUD) e 0,775 mL de carvacrol 1 M (Aldrich). Esta mistura foi homogeneizada com Ultra-

Turrax T25 a 9500 rpm (cerca de 30 minutos). A solução foi desgaseificada num banho de ultrassons por cerca de 30 minutos.

2.2 Microcápsulas

Neste trabalho foram desenvolvidas microcápsulas utilizando duas técnicas diferentes: secagem por atomização e gelificação iónica. Ambos os procedimentos são descritos a seguir.

2.2.1 Secagem por atomização

A mistura de quitosano a 1,25%, extrato de grainha de uva e carvacrol (preparada em 2.1.3) foi colocada num atomizador (Niro Atomizer) para produzir as microcápsulas por secagem por atomização com as seguintes condições: temperatura de entrada de 130/140 °C e temperatura de saída 85/90 °C, pressão de 6 bar, de acordo com a metodologia de Santos et al. (2005) num estudo de preparação e caracterização de microcápsulas por secagem por atomização. As microcápsulas foram recolhidas e armazenadas em frascos, colocados num exsiccador.

2.2.2 Gelificação iónica

A técnica foi desenvolvida, adaptada de Wu et al. (2013) – num estudo sobre microcápsulas de quitosano com tripolifostato de sódio e encapsulação de enzimas - fazendo a solução de quitosano a 1,25%, extrato de grainha de uva e carvacrol (preparada em 2.1.3) passar através de seringas de 0,3 mL e diâmetro de 0,30 mm (30G, BD Micro-Fine + Demi), através da técnica de gota a gota, foram colocadas em 100 mL de tripolifosfato de sódio a 0,8 % (Sigma-Aldrich) por 30 minutos a 700 rpm.

As microcápsulas foram recolhidas, lavadas duas vezes com água destilada e armazenadas em água destilada numa câmara frigorífica a 4 °C.

2.3 Filmes de quitosano

Para os filmes de quitosano utilizou-se a solução de filme de quitosano a 1,25%. Para cada filme foi utilizada a quantidade de 20 mL da solução que foram colocados numa base de uma caixa de Petri de plástico (Normax) com 8,5 cm de diâmetro e deixou-se a secar à temperatura de 20 °C.

2.4 Filmes de quitosano com microcápsulas

Para os filmes de quitosano com microcápsulas utilizou-se a solução de filme de quitosano a 1,25% e as microcápsulas produzidas por gelificação iónica.

Para cada filme foi utilizada a quantidade de 20 mL da solução de quitosano a 1,25% que foram colocados numa base de uma placa de petri de plástico (com 8,5 cm de diâmetro) e deixou-se a secar numa base lisa e direita por, cerca de, 30 horas à temperatura de 25 °C. Decorrido este tempo foram colocados 0,3 mL de microcápsulas (aproximadamente 80 microcápsulas) por cada cm² de filme. Deixou-se secar por 2 dias à temperatura de 20 °C.

2.5 Caracterização dos filmes

2.5.1 Parâmetros da cor

A cor dos filmes foi determinada com um colorímetro Minolta (CR 400; Minolta, Japão). Foi utilizada uma placa de cor branca como padrão para a calibração e como fundo para as medições de cor dos filmes. Os parâmetros L*, a* e b* foram avaliados por medições de reflectância (Rao et al., 2010). As medições foram repetidas cinco vezes para cada filme.

2.5.2 Teor de humidade

Para determinar o teor de humidade, cerca de 50 mg de cada filme foram secos a 105 °C durante 24 h (até peso constante). A perda de peso da amostra foi determinada e o teor de humidade foi calculado usando a seguinte equação:

$$\% \textit{ Humidade} = \frac{(M_i - M_f)}{M_f} \times 100$$

em que M_i e M_f são as massas das amostras iniciais e secas, respetivamente. Foram realizadas três medições para cada amostra.

2.5.3 Solubilidade

A solubilidade foi determinada de acordo com o método descrito por Cuq et al. (1996) num estudo sobre a influência da espessura de filmes à base de proteínas nas propriedades funcionais. A solubilidade é definida como o conteúdo de matéria seca solubilizado após 24 h de imersão em água. O teor de matéria seca inicial de cada filme foi determinado por secagem até obtenção de massa constante num forno a 105 °C. Foram cortados discos de cada filme (com 2 cm de diâmetro), pesados (M_i), e imersos em 50 mL de água. Após 24 h de imersão a 20 °C com agitação (60 rpm), as amostras foram retiradas e secas até massa constante (M_f) num forno a 105 °C, para determinar a massa de matéria seca, que não foi solubilizada em água. A solubilidade de cada filme foi então determinada como se segue:

$$\textit{ Solubilidade} (\%) = \frac{(M_i - M_f)}{M_f} \times 100$$

em que M_i é a massa inicial e M_f é a massa final da amostra. Foram realizadas três medições para cada amostra.

2.5.2 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada com um micrómetro digital (No. 293-5, Mitutoyo, Japão). Foram realizadas dez medições da espessura em cada amostra de filme.

2.6 Cinéticas de libertação

Para o estudo das cinéticas de libertação dos agentes ativos presentes nas microcápsulas, amostras dos filmes produzidos foram colocadas em soluções com diferentes pH e a diferentes temperaturas para medição dos compostos fenólicos totais e flavonoides libertados ao longo do tempo.

2.6.1 Preparação das amostras

Os filmes foram retirados cuidadosamente das placas, depois de devidamente secos, e recortados em quadrados de 1 cm² de área. Cada amostra de cm² de filme foi colocada num tubo eppendorf de 1,5 mL, sendo que a amostragem foi preparada em triplicado.

Em cada tubo foi colocado 1 mL de solução aquosa de pH 5 ou pH 6,5. A solução de pH 6,5 foi preparada adicionando 2 gotas de uma solução aquosa de hidróxido de sódio a 0,01 M a 400 mL de água destilada. A solução de pH 5 foi preparada adicionando 1 gota de uma solução aquosa de ácido clorídrico a 0,01 M a 400 mL de água destilada. Estas soluções foram preparadas com água destilada, de acordo com as metodologias de Minekus et al. (2014), num estudo de soluções de digestão adequadas a alimentos, e Moura et al. (2001), num estudo sobre propriedades termofísicas de soluções modelo similares a creme de leite (natas).

As amostras foram armazenadas às temperaturas de 5, 15, 25 e 35 °C (em câmaras fitoclima Climaplust 400 para as temperaturas 5 e 15 °C; estufas Memmert Edelstahl Rostfrei para 25 e 35 °C) com um tempo de armazenamento até 336 horas.

2.6.2 Preparação das soluções padrão para a quantificação dos compostos fenólicos totais

Para a quantificação da libertação dos compostos fenólicos totais foi analisado o teor em equivalentes de ácido gálico da solução em que esteve em contacto com a amostra de filme. Para tal utilizou-se uma sequência de padrões de

ácido gálico (Fluka) com concentrações de 0 a 3,2 mg/mL como mostra a tabela seguinte:

Para a preparação dos padrões foi preparada uma solução mãe com a concentração de 3,2 mg/mL, pesando 32 mg de ácido gálico para um balão volumétrico de 10 mL. Adicionou-se água destilada até perfazer o volume do balão e agitou-se até à dissolução total do ácido gálico. Para preparar os restantes padrões fez-se uma sequência de diluições como indica a tabela seguinte.

Tabela 2.1 – Concentração dos padrões de ácido gálico.

Padrão de ácido gálico	Volume de solução mãe (mL)	Volume de água destilada (mL)	[Ácido Gálico] (mg/mL)
0	0	10	0
1	0,2344	9,7656	0,075
2	0,3125	9,6875	0,100
3	0,4688	9,5312	0,150
4	0,625	9,375	0,200
5	0,9375	9,0625	0,300
6	1,25	8,75	0,400
7	2,5	7,5	0,800
8	5	5	1,600

2.6.3 Quantificação dos compostos fenólicos totais

Para proceder a esta quantificação seguiu-se a metodologia de Bilgin e Şahin (2012) – num estudo sobre os efeitos geográficos e origem dos métodos de extração para a determinação do teor de compostos fenólicos totais nas folhas de oliveira - colocou-se 10 µL de cada amostra num tubo de ensaio, adicionou-se 190 µL de água destilada, 800 µL de carbonato de sódio a 7,5 % e 1 mL do reagente folin-ciocalteu's (DC Panreac). A mistura foi homogeneizada num agitador de tubos de ensaio e deixou-se em repouso por 30 minutos. Finalmente foi medida a absorvância a 760 nm através de espectrofotometria (U-2000 Spectrophotometer, Hitachi). Os resultados

da concentração de compostos fenólicos totais foram expressos em equivalentes de ácido gálico.

2.6.4 Preparação das soluções padrão para a quantificação dos flavonoides

Para a quantificação da liberação dos flavonoides foi analisado o teor em equivalentes de catequina da solução em que esteve mergulhada a amostra de filme. Para tal utilizou-se uma sequência de padrões de catequina (Sigma) com concentrações de 0 a 1,25 mg/mL como mostra a tabela seguinte:

Para a preparação dos padrões foi preparada uma solução mãe com a concentração de 1,25 mg/mL, pesando 25 mg de catequina para um balão volumétrico de 20 mL. Adicionou-se água destilada até perfazer o volume do balão e agitou-se até à dissolução total da catequina. Para preparar os restantes padrões fez-se uma sequência de diluições como indica a tabela seguinte.

Tabela 2.2 – Concentração dos padrões de catequina.

Padrão de catequina	Volume de solução mãe (mL)	Volume de água destilada (mL)	[Catequina] (mg/mL)
0	0	20	0
1	0,04	19,96	0,0025
2	0,08	19,92	0,0050
3	0,12	19,88	0,0075
4	0,16	19,84	0,0100
5	0,24	19,76	0,0150
6	0,32	19,68	0,0200
7	0,48	19,52	0,0300
8	0,96	19,04	0,0600
9	1,92	18,08	0,1200
10	4	16	0,2500
11	8	12	0,5000
12	16	4	1,0000

2.6.5 Quantificação dos flavonoides

Para proceder a esta quantificação seguiu-se a metodologia de Cao et al. (2013) – num estudo sobre a otimização do processo de extração de folhas de oliveira e avaliação da capacidade antioxidante - colocou-se 100 μ L de cada amostra num tubo de ensaio, adicionou-se 4,90 mL de água destilada e 300 μ L de nitrito de sódio a 5 %. Agitou-se e deixou-se repousar por 5 minutos. Adicionaram-se 300 μ L de cloreto de alumínio a 10 % e agitou-se e deixou-se repousar por 5 minutos.

Adicionaram-se 2 mL de hidróxido de sódio 1 M e 2,4 mL de água destilada. Agitou-se e foi medida a absorvância a 510 nm através de espectrofotometria. Os resultados da concentração de flavonoides foram expressos em equivalentes de catequina.

2.7 Tratamento de dados

Os dados obtidos foram analisados com o programa Microsoft Excel 2010.

As cinéticas de libertação foram estudadas e os modelos foram ajustados aos dados experimentais através do programa StataIC 10, considerando um nível de significância de 0,05.

3. Resultados e Discussão

3.1 Filmes de quitosano

Os filmes de quitosano (FQ) desenvolvidos apresentaram-se maleáveis, finos, transparentes, com aspecto brilhante e fáceis de remover do molde tal como verificado por Rubilar et al. (2013) num estudo sobre as características de filmes de quitosano. Estes filmes foram utilizados como controlo no estudo da libertação dos compostos ativos microencapsulados e incorporados depois em FQ.

A figura 3.1 mostra o aspeto dos FQ desenvolvidos neste trabalho.



Figura 3.1 – Filme de quitosano a 1,25%.

A cor é o primeiro critério utilizado na aceitação ou rejeição de um produto, por isso, na indústria de alimentos a cor é um atributo importante. A adição de corantes nos alimentos é, muitas vezes, uma exigência do consumidor: se a cor for atraente, dificilmente o alimento não será ingerido ou, pelo menos, provado (Harder et al., 2007). Nesse sentido, foram avaliados três parâmetros de cor dos filmes obtidos neste estudo: L^* , a^* e b^* . A luminosidade (L^*) é definida pela escala cinza, entre o branco e o preto, assume valor 0 para o preto absoluto, e 100 para o branco total (Barros et al., 2014). O valor de a caracteriza a coloração na região do vermelho ($+a^*$) ao verde ($-a^*$) e o valor b indica a coloração no intervalo do amarelo ($+b^*$) ao azul ($-b^*$) (Harder et al., 2007).

Outros parâmetros também importantes na caracterização de filmes são o teor de humidade, a solubilidade e a espessura. A solubilidade dos filmes em água pode fornecer indicações acerca do comportamento de um filme em ambientes aquosos, sendo uma medida da sua resistência à água, e está relacionada com a hidrofiliabilidade

do material. O teor de humidade está relacionado com o volume total ocupado por moléculas de água na microestrutura da rede do filme (Rubilar et al., 2013).

Assim, os filmes foram analisados por uma equipa da Universidade do Minho para determinar os parâmetros L^* , a^* e b^* relativos à cor, teor de humidade, solubilidade e espessura (resultados completos no Anexo V). Os resultados obtidos encontram-se na tabela seguinte:

Tabela 3.1 – Parâmetros de caracterização dos FQ.

Parâmetros da cor		
L^*	a^*	b^*
$94,87 \pm 2,70$	$-0,54 \pm 0,07$	$4,82 \pm 0,22$
Humidade	Solubilidade	Espessura
(%)	(%)	(mm)
$7,48 \pm 1,90$	$33,63 \pm 4,19$	$0,0432 \pm 0,0053$

Analisando os resultados da tabela 3.1 verifica-se que os FQ apresentam elevado valor do parâmetro L , ou seja próximo de 100, o que indica que estes filmes se aproximam do branco. Quanto aos parâmetros a e b os mesmos apresentam valores positivo e negativo, respetivamente, o que indica que estes filmes, em termos de tonalidade, encontram-se na região do verde e do amarelo.

3.2 Microcápsulas

Neste trabalho foram produzidas microcápsulas de quitosano a 1,25% com incorporação de agentes ativos, extrato de grainha de uva e carvacrol, através de duas técnicas: secagem por atomização e gelificação iónica. Esta última técnica revelou-se a mais adequada para incorporar as microcápsulas nos filmes pois as microcápsulas produzidas por secagem por atomização dissolveram-se, ou perderam a forma esférica, quando foram incorporadas nos filmes de quitosano a 1,25%.

Acerca das microcápsulas desenvolvidas através de gelificação iónica, há ainda a referir que esta demonstrou ser uma técnica adequada por ser fácil de aplicar e um processo pouco dispendioso. Estas microcápsulas apresentaram uma coloração castanho avermelhada, tal como verificado em Rubilar et al. (2013), devido aos

polifenóis, em especial, as proantocianidinas presentes no extrato de grainha de uva, forma esférica e de superfície lisa, como verificado no estudo de Wu et al. (2013) sobre microcápsulas de quitosano com tripolifostato de sódio e encapsulação de enzimas, e dimensões pouco regulares, pois este aspeto está dependente da pressão realizada no êmbolo da seringa no ato de extrusão e da velocidade de agitação da solução, também verificado num estudo de produção de microcápsulas por várias técnicas levadas a cabo por Loppretti et al. (2007), num estudo sobre microencapsulação de compostos com atividade biológica.

A figura 3.2 apresenta as microcápsulas desenvolvidas neste estudo.

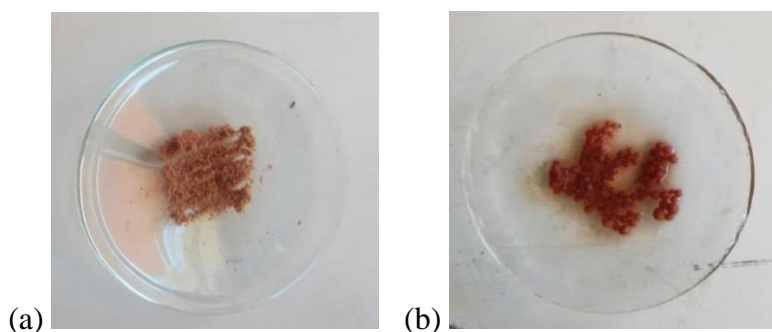


Figura 3.2 –Microcápsulas produzidas através de: (a) secagem por atomização (b) gelificação iónica.

3.3 Filmes de quitosano com microcápsulas

Os filmes de quitosano com microcápsulas (FQM) desenvolvidos apresentaram-se também maleáveis, finos e fáceis de remover do molde tal como verificado por Rubilar et al. (2013) num estudo sobre as características de filmes de quitosano com incorporação de extrato de grainha de uva e carvacrol. Aquando do estudo das cinéticas de libertação dos agentes ativos presentes nos filmes estudados, os mesmos foram colocadas em soluções aquosas com pH diferente. Uma primeira observação do aspeto destes filmes é a sua hidratação, tendo-se estes tornado numa espécie de gel e o mesmo acontecendo às microcápsulas incorporadas. Ainda é de salientar que os filmes analisados nas primeiras horas das medições estavam menos hidratados do que aqueles que foram observados na fase final das medições. Um outro aspeto a referir é que a temperatura de armazenamento não parece ter afetado a

hidratação, e conseqüente dissolução, dos filmes e microcápsulas, pois esta verificou-se de forma igual nas quatro temperaturas estudadas neste trabalho (5, 15, 25 e 35 °C).

A figura 3.3 apresenta o aspecto dos filmes desenvolvidos:

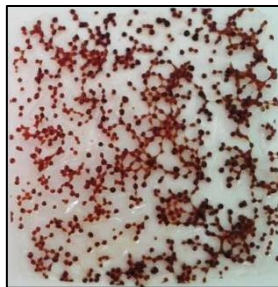


Figura 3.3 – Filme de quitosano a 1,25% com microcápsulas.

A dissolução dos filmes nas soluções estudadas deve-se à elevada solubilidade do quitosano em soluções ácidas. Abaixo de pH 6 os grupos amino do quitosano são protonados e ficam carregados positivamente, tornando o biopolímero solúvel em água. A um pH elevado o quitosano perde a sua carga, os grupos amino são desprotonados e, por conseguinte, o biopolímero é insolúvel em água, tal como verificado por Dhanasingh e Nallaperumal (2010) num estudo sobre micropartículas de quitosano/caseína.

As microcápsulas aplicadas nos filmes de quitosano não dissolveram quando colocadas em soluções de pH 5 e 6,5, verificou-se a sua hidratação e intumescimento mas não a dissolução. Este fato pode dever-se à presença de tripolifostato de sódio como agente encapsulante pois o anião tripolifostato interage rápida e eficazmente com os grupos amino do quitosano, dando mais estabilidade às microcápsulas – a fácil e rápida interação do quitosano com moléculas de cargas opostas foi comprovada por diversos autores nos seus estudos: Butstraen e Salaün, 2014; Dhanasingh e Nallaperumal, 2010; Hamamura et al., 2010; Stulzer, 2008.

Tal como aconteceu com os FQ, os FQM também foram analisados na Universidade do Minho para determinar os parâmetros L^* , a^* e b^* relativos à cor, percentagem de humidade, espessura e a sua solubilidade (resultados completos no Anexo V). Os resultados obtidos encontram-se na tabela seguinte.

Tabela 3.2 – Parâmetros de caracterização dos FQM.

Parâmetros da cor		
L*	a*	b*
65,95 ± 4,47	10,46 ± 2,49	12,13 ± 2,80
Humidade	Solubilidade	Espessura
(%)	(%)	(mm)
13,41 ± 0,57	17,28 ± 1,29	0,4136 ± 0,0415

Analisando os resultados da tabela 3.2 verifica-se que os FQM apresentam valor do parâmetro L* relativamente elevado, o que indica que estes filmes são mais escuros que os FQ. Quanto aos parâmetros a* e b* os mesmos apresentam valores positivos, o que indica que estes filmes estão, em termos de tonalidade, na região do vermelho e do amarelo.

Os parâmetros de cor de cada filme, mostrados nas tabelas 3.1 e 3.2, mostram que os FQ têm maior valor de L* do que os FQM, estando mais próximos da cor branca os primeiros. Esta alteração na luminosidade dos filmes deve-se à incorporação dos agentes ativos carvacrol e EGU tal como verificado no estudo de Rubilar et al. (2013). Quanto ao parâmetro a* da cor, os FQM apresentam um valor maior (e positivo) do que os FQ (que têm valor negativo), demonstrando que os FQM apresentam uma coloração avermelhada devido à incorporação do EGU (também com coloração avermelhada) tal como registado no estudo sobre as características de filmes de quitosano com incorporação de carvacrol e EGU de Rubilar et al. (2013). No que diz respeito ao parâmetro b* da cor, tanto os FQ como os FQM apresentaram valores positivos sendo o valor dos FQM mais elevado, ou seja, estes filmes apresentam coloração mais amarelada do que os FQ, fato que se pode dever também à incorporação do EGU.

De forma geral, para os FQM verificou-se a diminuição do parâmetro L* e o aumento dos parâmetros a* e b*, relativamente ao FQ, o que pode ser atribuído aos polifenóis, especialmente, proantocianidinas presentes no EGU. Esta propriedade pode ajudar a evitar a deterioração oxidativa em alimentos embalados causada pela exposição à luz visível e ultravioleta, levando a perda de nutrientes, descoloração e maus odores (Rubilar et al., 2013).

Quanto ao teor de humidade e à solubilidade, verificou-se um aumento dos valores dos FQ para os FQM, ou seja os FQ são mais solúveis e apresentam menos humidade na sua composição. Estes resultados são semelhantes aos obtidos no estudo de Rubilar et al. (2013).

O aumento do teor de humidade dos FQM pode dever-se ao EGU, cujos componentes principais apresentam zonas hidrofílicas na sua estrutura (Yamakoshi et al., 1999) tal como referido no estudo de Rubilar et al. (2013).

A maior solubilidade dos FQ pode ser atribuída à capacidade de ligação das moléculas de água ao plastificante (glicerol) e aos grupos funcionais do quitosano, tal como descrito no estudo de Ojagh et al. (2010) sobre o desenvolvimento e avaliação de filmes de quitosano com incorporação de óleo essencial de canela. A menor solubilidade dos FQM pode dever-se à presença de carvacrol e à sua natureza hidrofóbica, impedindo as ligações com as moléculas de água tal como descrito em Rubilar et al. (2013).

Os FQ apresentaram um valor de espessura semelhante e da mesma ordem de grandeza de valores encontrados em diversos estudos, tais como os estudos de Imran et al. (2014), sobre a libertação controlada de nisina, caseinato de sódio, ácido polilático e quitosano para aplicações em embalagens ativas, e Rubilar et al. (2013). Quanto à espessura dos FQM, estes revelaram-se mais espessos do que os FQ, o que se pode dever à incorporação das microcápsulas. O aumento da espessura do filme de quitosano também foi verificado no estudo de Ojagh et al. (2010), à medida que era incorporado óleo essencial de canela em quantidades crescentes nos filmes, e no estudo de Martins et al. (2012) sobre o estudo da influência da adição de α -tocoferol nas propriedades físico-mecânicas de filmes de quitosano.

A solubilidade dos filmes em água pode fornecer indicações acerca do comportamento de um filme em ambientes aquosos, sendo uma medida da sua resistência à água, portanto, relacionada com a hidrofiliabilidade do material. Este é também um fator importante que determina a biodegradabilidade dos filmes quando usados como materiais de embalagem. A resistência dos filmes à água, determinada pela sua solubilidade, é crítica para a sua potencial aplicação. Às vezes é desejada uma elevada solubilidade em água, quando o filme irá ser consumido em simultâneo com o alimento. No entanto, noutras aplicações tecnológicas de filmes, tais como

embalagens, uma baixa solubilidade em água é necessária, como é o caso das embalagens de alimentos altamente húmidos (Rubilar et al., 2013).

3.4 Dados da reta de calibração dos compostos fenólicos totais em solução de pH 5

Para proceder à quantificação dos compostos fenólicos totais (CFT) em solução de pH 5 foi lida a absorvância, a 760 nm, dos padrões preparados no ponto 2.5.2 dos materiais e métodos. Foram realizados vários ensaios e na tabela 3.3 estão indicados os valores médios da absorvância lida para cada padrão, tendo sido selecionados os valores mais coerentes de acordo com os resultados obtidos.

Tabela 3.3 – Absorvância para os padrões de ácido gálico em solução de pH 5.

Padrão de ácido gálico	[Ácido Gálico] (mg/mL)	Absorvância média
0	0,000	0,000
1	0,075	0,007
2	0,100	0,009
3	0,150	0,016
4	0,200	0,030
5	0,300	0,046
6	0,400	0,055
7	2,000	0,535
8	2,500	0,669

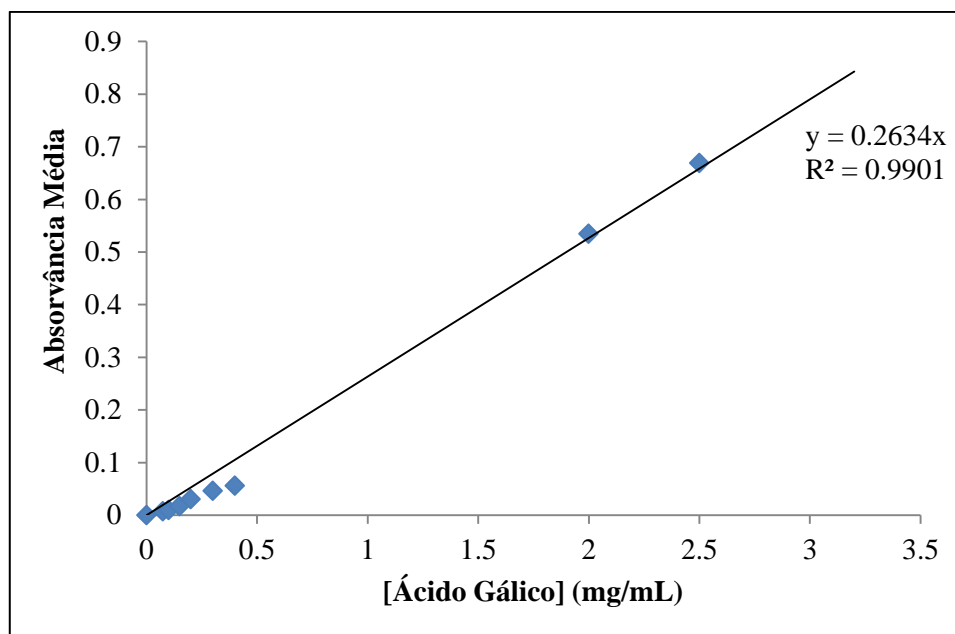


Figura 3.4 – Reta de calibração dos CFT em solução pH 5.

De acordo com os dados da figura 3.4 sabe-se que Absorvância = 0,2634*Concentração. Desta forma calcularam-se os valores de concentração de CFT, em equivalentes de ácido gálico (EqAG), libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 utilizando os valores de absorvância lidos para as amostras estudadas (consultar as absorvâncias e respectivas concentrações no Anexo I) e de acordo com a expressão matemática:

$$Concentração = \frac{Absorvância}{0,2634} \quad \text{Equação (13)}$$

3.5 Quantificação dos compostos fenólicos totais em solução de pH 5

A concentração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 foi quantificada utilizando os dados da reta de calibração do ponto anterior (3.4), utilizando a equação (13) e os valores de absorvância lidos das amostras de FQM armazenadas em solução de pH 5 (consultar dados no Anexo I). A figura 3.5 mostra a libertação dos CFT expressa em EqAG em função do tempo.

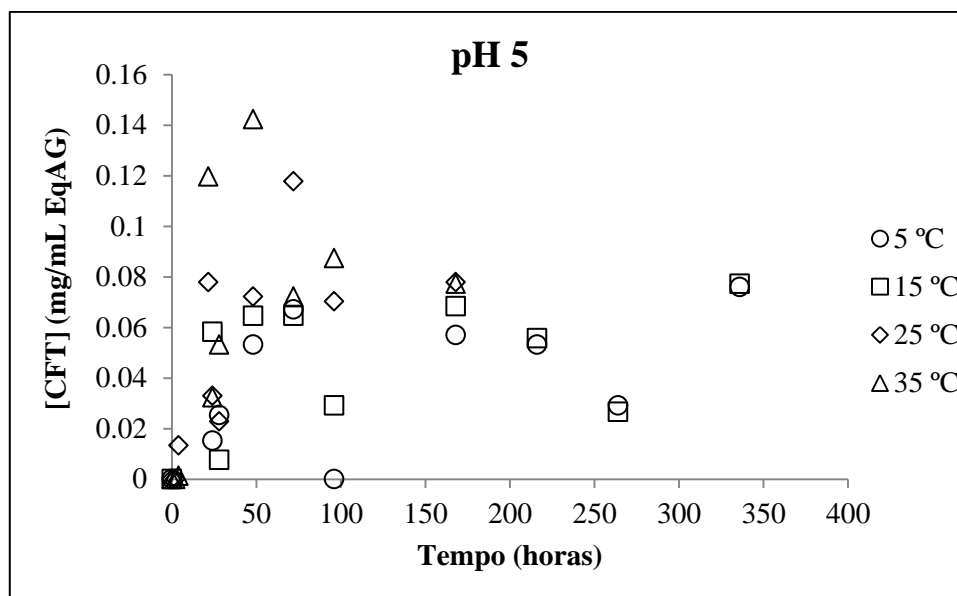


Figura 3.5 – [CFT] libertados ao longo do tempo em solução pH 5.

Para a temperatura de 5 °C a concentração média de CFT libertados às 24 horas foi de 0,015 mg/mL EqAG e às 336 horas foi de 0,076 mg/mL EqAG; para a temperatura de 15 °C a concentração média de CFT libertados às 24 horas foi de 0,058 mg/mL EqAG e às 336 horas foi de 0,077 mg/mL EqAG; para a temperatura de 25 °C a concentração média de CFT libertados às 4 horas foi de 0,013 mg/mL EqAG e às 168 horas foi de 0,078 mg/mL EqAG; para a temperatura de 35 °C a concentração média de CFT libertados às 4 horas foi de 0,001 mg/mL EqAG e às 168 horas foi de 0,077 mg/mL EqAG.

3.6 Dados da reta de calibração dos compostos fenólicos totais em solução de pH 6,5

Para proceder à quantificação dos CFT em solução de pH 6,5 foi lida a absorvância, a 760 nm, dos padrões preparados no ponto 2.5.2 dos materiais e métodos. Foram realizados vários ensaios e na tabela 3.4 estão indicados os valores médios da absorvância lida para cada padrão, tendo sido selecionados os valores mais coerentes de acordo com os resultados obtidos.

Tabela 3.4 – Absorvância para os padrões de ácido gálico em solução de pH 6,5.

Padrão de ácido gálico	[Ácido Gálico] (mg/mL)	Absorvância média
0	0,000	0,000
1	0,075	0,003
2	0,100	0,008
3	0,150	0,011
4	0,200	0,023
7	2,000	0,601
8	2,500	0,724

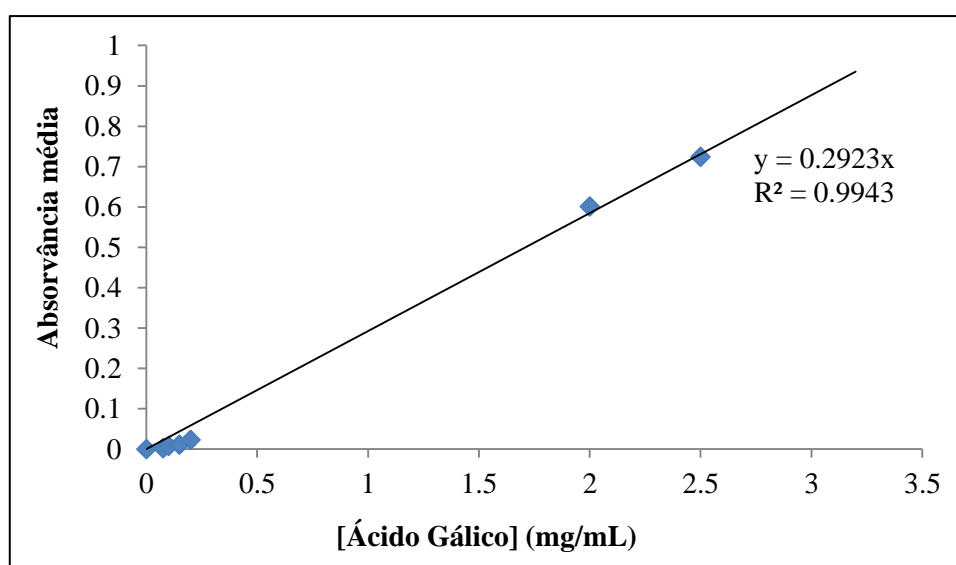


Figura 3.6 – Reta de calibração dos CFT em solução de pH 6,5.

De acordo com os dados da figura 3.6 sabe-se que Absorvância = 0,2923*Concentração. Desta forma calcularam-se os valores de concentração de CFT, em EqAG, libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 utilizando os valores de absorvância lidos para as amostra estudadas (consultar as absorvâncias e respectivas concentrações no Anexo II) e de acordo com a expressão matemática:

$$\text{Concentração} = \frac{\text{Absorvância}}{0,2923} \quad \text{Equação (14)}$$

3.7 Quantificação dos compostos fenólicos totais em solução de pH 6,5

6,5

A concentração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 foi quantificada utilizando os dados da reta de calibração do ponto anterior (3.6), utilizando a equação (14) e os valores de absorvância lidos das amostras de FQM armazenadas em solução de pH 6,5 (consultar dados no Anexo II). A figura 3.7 mostra a libertação dos CFT expressa em EqAG em função do tempo.

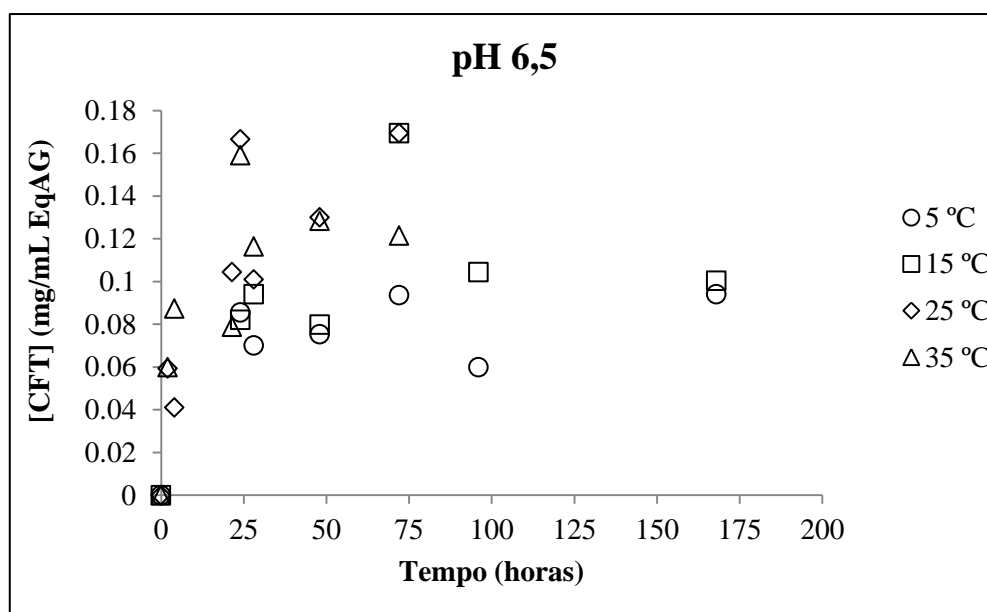


Figura 3.7 – [CFT] libertados ao longo do tempo em solução pH 6,5.

Para a temperatura de 5 °C a concentração média de CFT libertados às 24 horas foi de 0,086 mg/mL EqAG e às 168 horas foi de 0,094 mg/mL EqAG; para a temperatura de 15 °C a concentração média de CFT libertados às 24 horas foi de 0,082 mg/mL EqAG e às 168 horas foi de 0,100 mg/mL EqAG; para a temperatura de 25 °C a concentração média de CFT libertados às 4 horas foi de 0,041 mg/mL EqAG e às 72 horas foi de 0,168 mg/mL EqAG; para a temperatura de 35 °C a concentração média de CFT libertados às 4 horas foi de 0,087 mg/mL EqAG e às 72 horas foi de 0,121 mg/mL EqAG.

3.8 Dados da reta de calibração dos flavonoides em solução de pH 5

Para proceder à quantificação dos flavonoides em solução de pH 5 foi lida a absorvância, a 510 nm, dos padrões preparados no ponto 2.5.4 dos materiais e métodos. Foram realizados vários ensaios e na tabela 3.5 estão indicados os valores médios da absorvância lida para cada padrão, tendo sido selecionados os valores mais coerentes de acordo com os resultados obtidos.

Tabela 3.5 – Absorvância para os padrões de catequina em solução de pH 5.

Padrão de catequina	[Catequina] (mg/mL)	Absorvância média
0	0,0000	0,000
1	0,0025	0,002
2	0,0050	0,004
3	0,0075	0,006
4	0,0100	0,010
5	0,0150	0,014
6	0,0200	0,021
7	0,0300	0,026
8	0,0600	0,045
9	0,1200	0,105
10	0,2500	0,222
11	0,5000	0,452
12	1,0000	0,878
13	1,2500	1,125

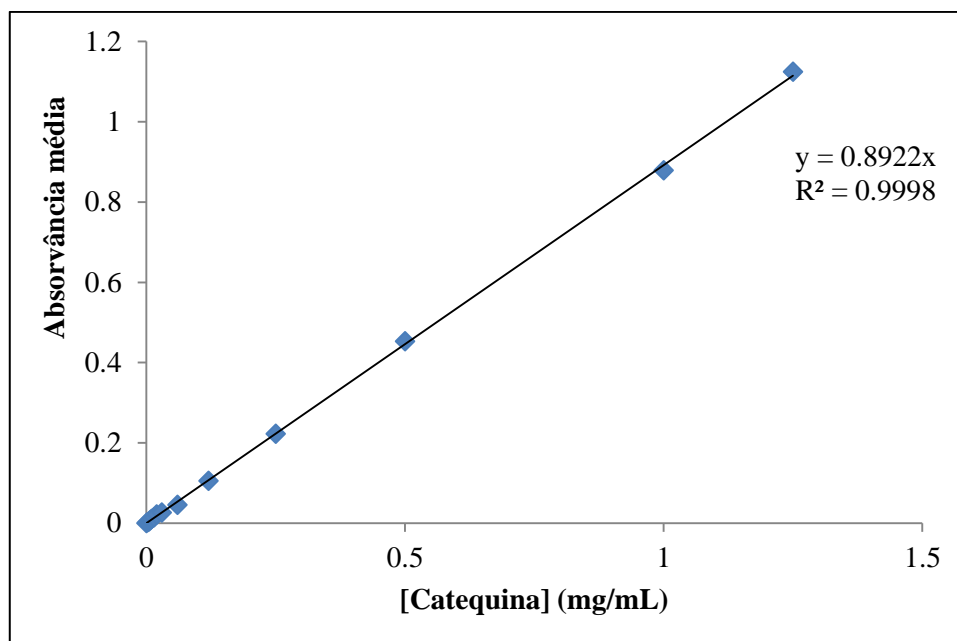


Figura 3.8 – Reta de calibração dos flavonoides em solução de pH 5.

De acordo com os dados da figura 3.8 sabe-se que Absorvância = 0,8922*Concentração. Desta forma calcularam-se os valores de concentração de flavonoides, em equivalentes de catequina (EqC), libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 utilizando os valores de absorvância lidos para as amostra estudadas (consultar as absorvâncias e respectivas concentrações no Anexo III) e de acordo com a expressão matemática:

$$\text{Concentração} = \frac{\text{Absorvância}}{0,8922} \quad \text{Equação (15)}$$

3.9 Quantificação dos flavonoides em solução de pH 5

A concentração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 foi quantificada utilizando os dados da reta de calibração do ponto anterior (3.8), utilizando a equação (15) e os valores de absorvância lidos das amostras de FQM armazenadas em solução de pH 5 (consultar dados no Anexo III). A figura 3.9 mostra a libertação dos flavonoides expressa em EqC em função do tempo.

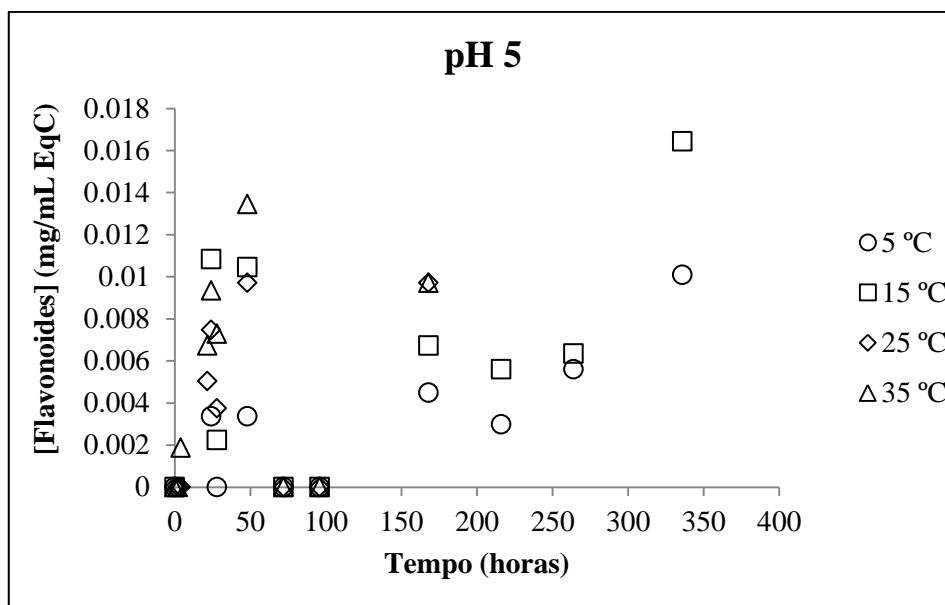


Figura 3.9 – [Flavonoides] libertados ao longo do tempo em solução de pH 5.

Para a temperatura de 5 °C a concentração média de flavonoides às 24 horas foi de 0,003mg/mL EqC e às 336 horas foi de 0,010 mg/mL EqC; para a temperatura de 15 °C a concentração média de flavonoides libertados às 24 horas foi de 0,011 mg/mL EqC às 336 horas foi de 0,016 mg/mL EqC; para a temperatura de 25 °C a concentração média de compostos flavonoides às 4 horas foi de 0,000 mg/mL EqC e às 168 horas foi de 0,010 mg/mL EqC; para a temperatura de 35 °C a concentração média de flavonoides libertados às 4 horas foi de 0,002 mg/mL EqC e às 168 horas foi de 0,010 mg/mL EqC.

3.10 Dados da reta de calibração dos flavonoides em solução de pH 6,5

Para proceder à quantificação dos flavonoides em solução de pH 6,5 foi lida a absorvância, a 510 nm, dos padrões preparados no ponto 2.5.4 dos materiais e métodos. Foram realizados vários ensaios e na tabela 3.6 estão indicados os valores médios da absorvância lida para cada padrão, tendo sido selecionados os valores mais coerentes de acordo com os resultados obtidos.

Tabela 3.6 – Absorvância para os padrões de catequina em solução de pH 6,5.

Padrão de catequina	[Catequina] (mg/mL)	Absorvância média
0	0,0000	0,000
1	0,0025	0,003
2	0,0050	0,004
3	0,0075	0,005
4	0,0100	0,008
5	0,0150	0,012
6	0,0200	0,015
7	0,0300	0,030
8	0,0600	0,057
9	0,1200	0,118
10	0,2500	0,242
11	0,5000	0,498
12	1,0000	0,851
13	1,2500	1,105

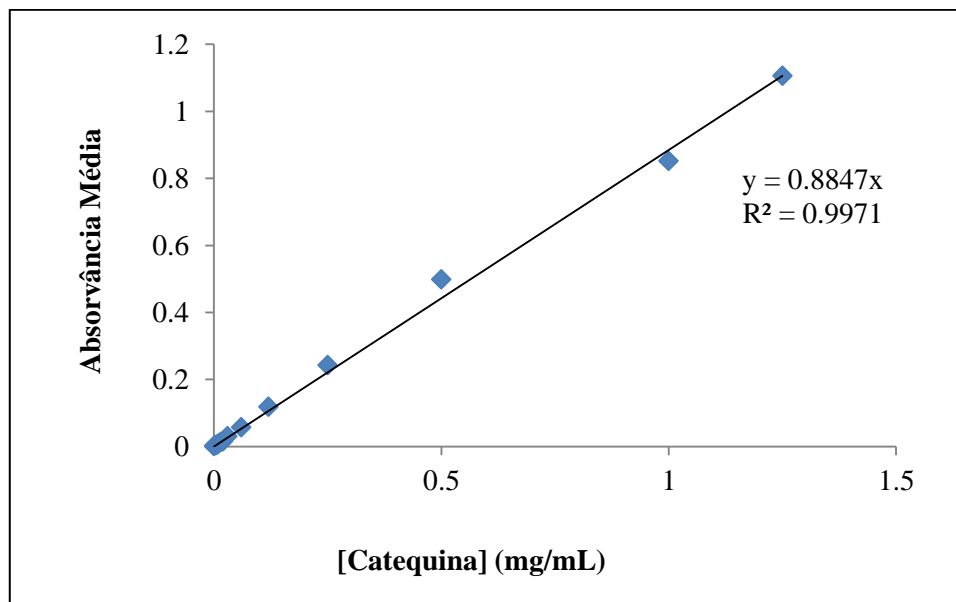


Figura 3.10 – Reta de calibração dos flavonoides em solução de pH 6,5.

De acordo com os dados da figura 3.10 sabe-se que $Absorv\hat{a}ncia = 0,8847 * Concentra\hat{c}\tilde{a}o$. Desta forma calcularam-se os valores de concentra\~c\~ao de flavonoides, em EqC, libertados ao longo do tempo em solu\~c\~ao de pH 6,5 utilizando os valores de absorv\~ancia lidos para as amostra estudadas (consultar as absorv\~ancias e respectivas concentra\~c\~oes no Anexo IV) e de acordo com a express\~ao matem\~atica:

$$Concentra\hat{c}\tilde{a}o = \frac{Absorv\hat{a}ncia}{0,8847} \quad \text{Equa\~c\~ao (16)}$$

3.11 Quantifica\~c\~ao dos flavonoides em solu\~c\~ao de pH 6,5

A concentra\~c\~ao de flavonoides libertados ao longo do tempo em solu\~c\~ao de pH 6,5 foi quantificada utilizando os dados da reta de calibra\~c\~ao do ponto anterior (3.10), utilizando a equa\~c\~ao (16) e os valores de absorv\~ancia lidos das amostras de FQM armazenadas em solu\~c\~ao de pH 6,5 (consultar dados no Anexo IV). A figura 3.11 mostra a liberta\~c\~ao dos flavonoides expressa em EqC em fun\~c\~ao do tempo.

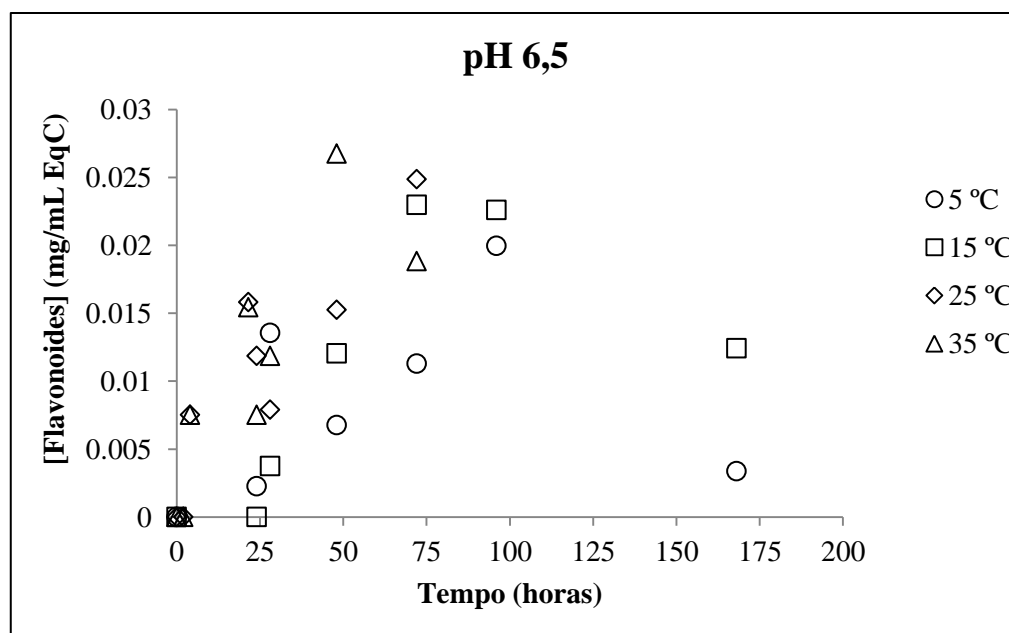


Figura 3.11 – [Flavonoides] libertados ao longo do tempo em solu\~c\~ao de pH 6,5.

Para a temperatura de 5 °C a concentração média de flavonoides às 24 horas foi de 0,000 mg/mL EqC e às 168 horas foi de 0,003 mg/mL EqC; para a temperatura de 15 °C a concentração média de flavonoides libertados às 24 horas foi de 0,000 mg/mL EqC às 168 horas foi de 0,012 mg/mL EqC; para a temperatura de 25 °C a concentração média de compostos flavonoides às 4 horas foi de 0,008 mg/mL EqC e às 72 horas foi de 0,025 mg/mL EqC; para a temperatura de 35 °C a concentração média de flavonoides libertados às 4 horas foi de 0,008 mg/mL EqC e às 72 horas foi de 0,019 mg/mL EqC.

Destes resultados verifica-se que a libertação é mais rápida nas primeiras horas de análise e que a temperatura influencia a libertação de CFT e dos flavonoides pois a concentração de ambos é superior para as temperaturas de 25 ° e 35 °C, sendo muito semelhantes nesta gama de temperaturas. Logo, a temperatura parece influenciar mais a libertação a baixas temperaturas do de que a temperaturas mais elevadas. O pH também parece ser um fato de influência na libertação dos CFT e dos flavonoides, pois os valores obtidos da concentração dos mesmos foram, para os mesmos instantes de medição, mais elevados para o pH 6,5 do que para o pH 5.

3.12 Modelização dos compostos fenólicos totais em solução de pH 5

A fim de compreender que modelo poderia explicar melhor a libertação de CFT libertados das microcápsulas, em solução de pH 5, estudadas neste trabalho foram analisados alguns modelos de cinéticas de libertação (consultar resultados da folha do programa StataIC 10 no Anexo I).

Modelo de Korsmeyer-Peppas

Para o estudo da aplicação deste modelo foi considerada a equação 3, que contempla a dependência da temperatura segundo Arrhenius:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{ref} \cdot e^{-\frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)} \cdot t^n$$

$\frac{M_t}{M_\infty}$ - fração de agente ativo libertado (ácido gálico ou catequina)

k_{ref} – constante de velocidade de referência

E_a – energia de ativação

R – constante dos gases ideais ($R = 8,314 \text{ J/mol.K}$)

T – temperatura estudada

T_{ref} – temperatura de referência (média de temperaturas estudadas, $20 \text{ °C} = 273,15 \text{ K}$)

t – tempo

n – ordem de reação

Modelo de Weibull

Para o estudo da aplicação deste modelo foi considerada a equação 5, que contempla a dependência da temperatura:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - e^{-k_{ref} \cdot e^{-\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)}} \cdot (t - t')^b$$

t' – tempo decorrido entre o instante inicial e o início da libertação da substância ativa (neste caso $t' = 0$)

b – parâmetro associado à forma da curva de libertação (neste caso $b = 1$)

Modelo de Higuchi

Para o estudo da aplicação deste modelo foi considerada a equação 7, que contempla a dependência da temperatura:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{ref} \cdot e^{-\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)} \cdot \sqrt{t}$$

Modelo de Fick

Para o estudo da aplicação deste modelo foi considerada a equação 12, que contempla a dependência da temperatura:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \left(\frac{2}{L}\right) \left(\frac{D_{ref} \cdot e^{-\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}}\right)} \cdot t}{\pi}\right)^{0.5}$$

D_{ref} – constante de difusão de referência

L – espessura do filme (em metros)

Para estes modelos foram estimados os parâmetros k_{ref} , D_{ref} , E_a e n . Estas estimativas encontram-se na tabela 3.7:

Tabela 3.7 – Parâmetros estimados na modelização dos CFT em solução de pH 5.

	Korsmeyer-Peppas	Weibull	Higuchi
k_{ref} (h^{-1})	0,1038 ± 0,0341	0,0176 ± 0,0020	0,0676 ± 0,0042
E_a (J)	6734,87 ± 3745,61	8024,18 ± 6992,70	8568,48 ± 3756,27
n	0,4127 ± 0,0672	-	-
R^2	0,9500	0,9701	0,9439
R^2 ajustado	0,9474	0,9691	0,9420
Fick			
D_{ref} ($m^2 \cdot h^{-1}$)	(6,15 ± 0,39) × 10 ⁻¹⁰		
E_a (J)	17136,96 ± 3832,93		
R^2	0,9439		
R^2 ajustado	0,9420		

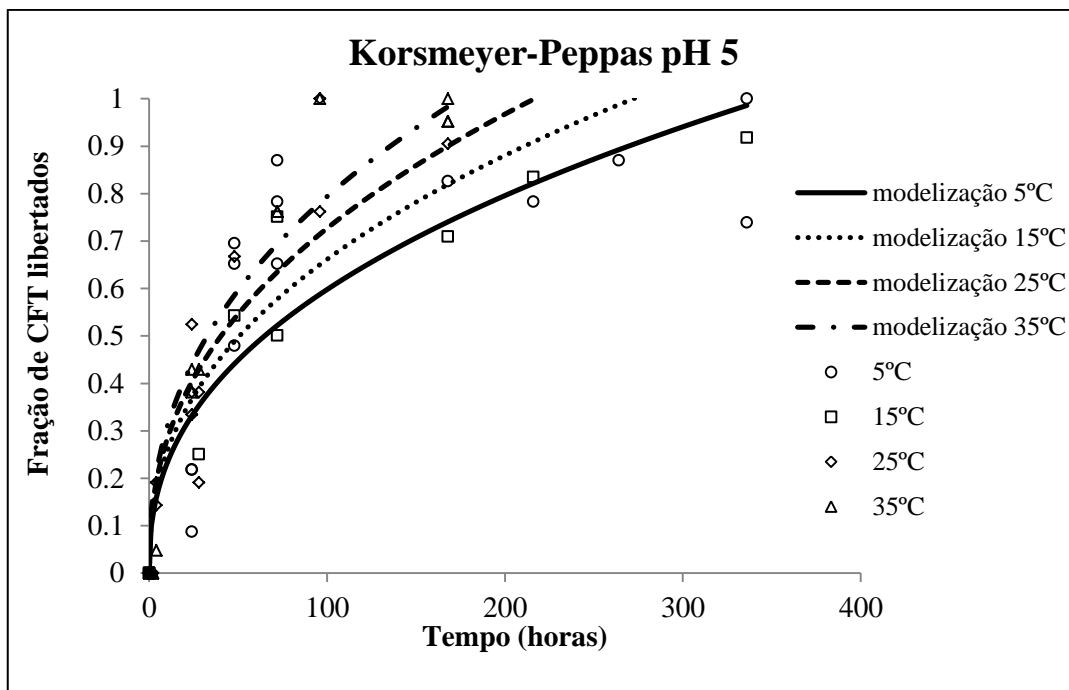


Figura 3.12 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Korsmeyer-Peppas.

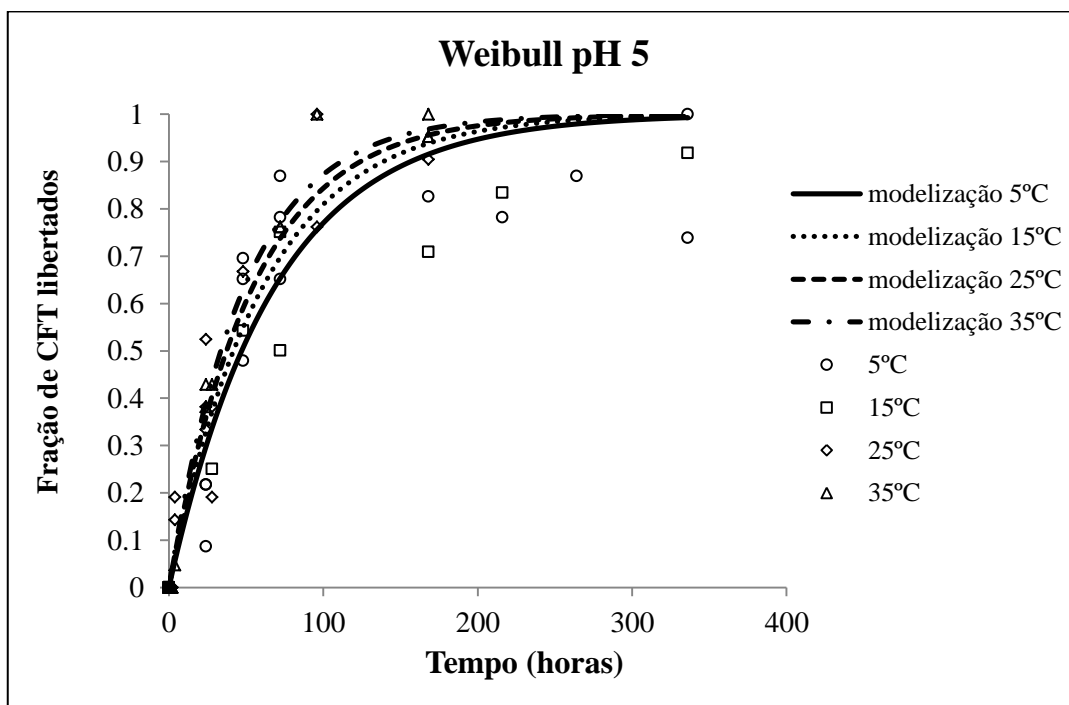


Figura 3.13 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Weibull.

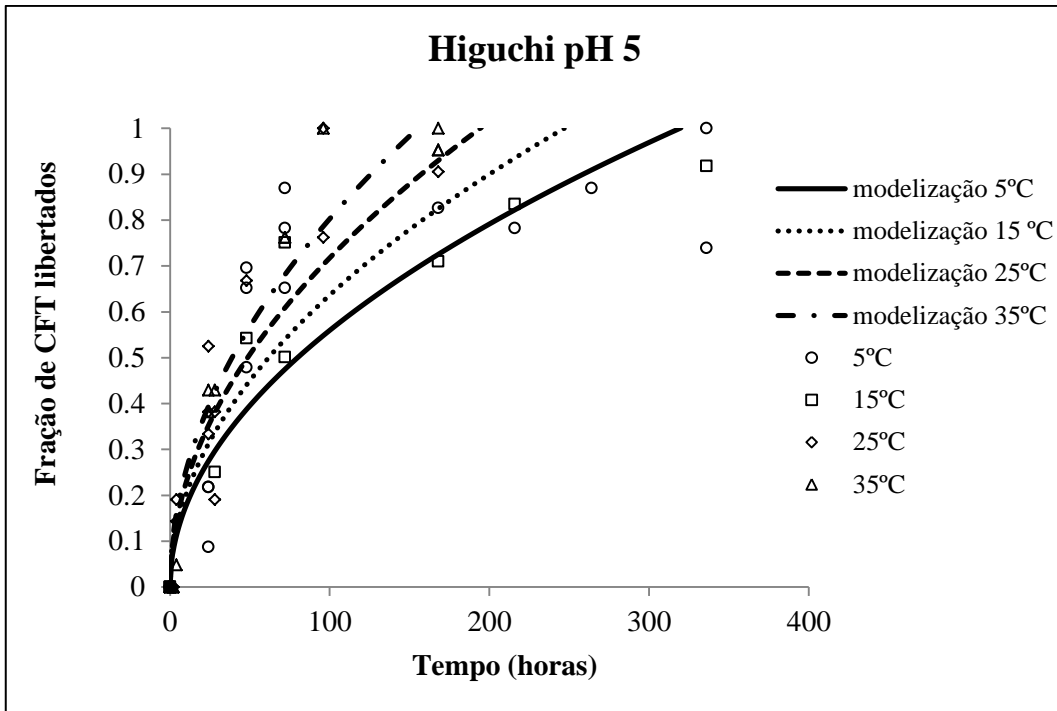


Figura 3.14 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Higuchi.

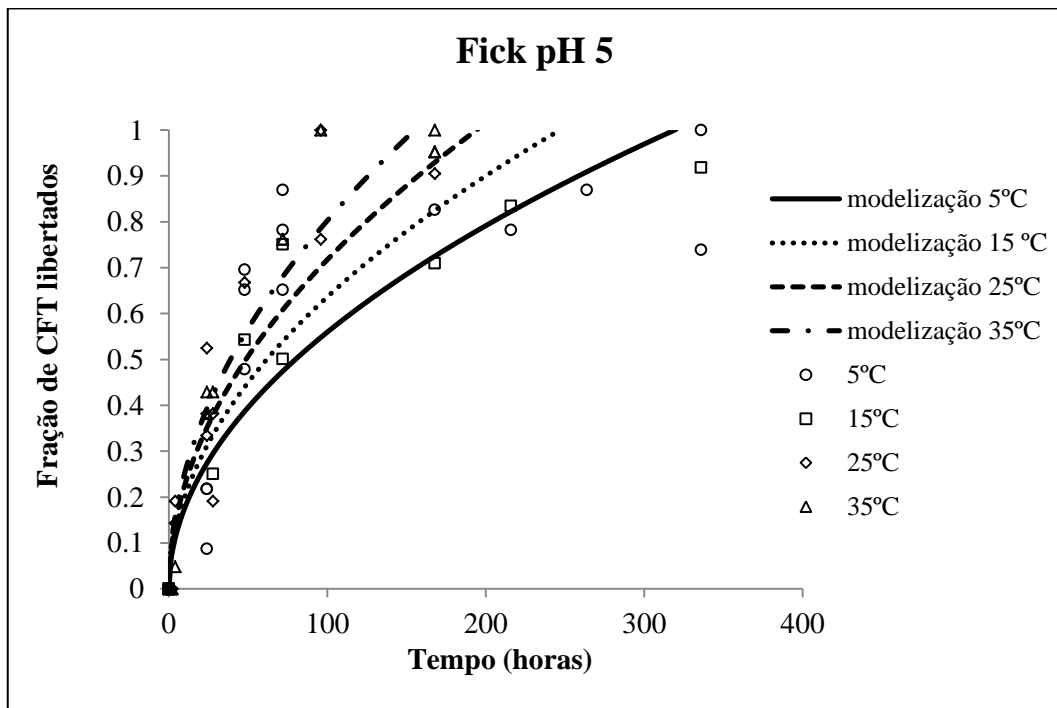


Figura 3.15 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Fick.

Analisando as figuras 3.12 à 3.15 verifica-se que a concentração de CFT aumentou ao longo do tempo. Esta concentração foi mais elevada no caso da temperatura de 35 °C e menor para a temperatura de 5 °C.

No modelo de Korsmeyer-Peppas verificou-se que a libertação de CFT obedece à difusão de Fickian, pois o valor de ordem de reação ($n = 0,4127$) estimado é inferior a 0,43.

O modelo de Weibull foi o modelo que se conseguiu ajustar melhor aos valores de concentração dos CFT libertados ao longo do tempo ($R^2 = 0,9701$) em solução de pH 5, nos modelos de Korsmeyer-Peppas ($R^2 = 0,9500$), Higuchi e Fick ($R^2 = 0,9439$) o ajuste foi um pouco mais fraco.

O modelo de Korsmeyer-Peppas foi o que apresentou maior valor de taxa de reação de referência, $k_{ref}(\text{Korsmeyer-Peppas}) = 0,1038 \text{ h}^{-1}$, e o modelo de Weibull o que apresentou menor valor deste parâmetro, $k_{ref}(\text{Weibull}) = 0,0176 \text{ h}^{-1}$. Ou seja, o modelo de Korsmeyer-Peppas previu que a libertação CFT foi mais rápida que no caso do modelo de Weibull e de Higuchi. Ainda é de salientar que nos modelos de Korsmeyer-Peppas, Higuchi e Fick a libertação dos CFT foi aumentando de forma gradual de acordo com o aumento de temperatura (figuras 3.12, 3.14 e 3.15 respetivamente). No caso do modelo de Weibull (figura 3.13) a libertação dos CFT foi muito semelhante em todas as temperaturas até perto das 48 horas, depois disso verificou-se um aumento da libertação para as temperaturas mais elevadas e após as 216 horas a libertação atingiu um valor máximo igual em todas as temperaturas. No caso do modelo de Higuchi (figura 3.14) a previsão da libertação foi mais rápida que no modelo de Weibull mas mais lenta que no modelo de Korsmeyer-Peppas, mas verificou-se também a maior libertação de CFT para as temperaturas mais elevadas.

O modelo de Fick (figura 3.15) demonstrou-se ser muito semelhante ao modelo de Higuchi em termos de rigor pois ambos apresentaram os mesmos valores de R^2 e R^2 ajustado. No entanto no modelo de Fick obteve-se um maior valor de energia de ativação, cerca do dobro da prevista no modelo de Higuchi, e mesma ordem de grandeza para o erro associado a essa previsão.

O modelo de Fick foi aquele em que a energia de ativação atingiu o valor mais elevado, $E_a(\text{Fick}) = 17136,96 \text{ J}$, e o modelo de Korsmeyer-Peppas aquele que apresentou valor mais baixo desta grandeza, $E_a(\text{Korsmeyer-Peppas}) = 6734,87 \text{ J}$. Isto

demonstrou que a reação de libertação dos CFT em solução de pH 5 necessita de pouca energia a entrar no sistema para que a reação química ocorra e que o modelo de Korsmeyer-Peppas foi o que previu a maior facilidade da reação de libertação. Esta constatação vai ao encontro do valor mais elevado de taxa de reação, obtida no modelo de Korsmeyer-Peppas, pois quanto mais rápida for a reação no início menos energia será necessário fornecer para a sua ocorrência.

Logo, o modelo que melhor explicou a libertação dos CFT ao longo do tempo em solução de pH 5 foi o modelo de Korsmeyer-Peppas, de acordo com a coerência dos valores estimados, erros associados às estimativas e da representação gráfica obtida.

3.13 Modelização dos compostos fenólicos totais em solução de pH 6,5

A fim de compreender que modelo poderia explicar melhor a libertação de CFT das microcápsulas, em solução de pH 6,5, estudadas neste trabalho foram analisados alguns modelos de cinéticas de libertação (consultar resultados da folha do programa StataIC 10 no Anexo II).

Para os modelos analisados (descritos no ponto 3.12) foram estimados os parâmetros k_{ref} , D_{ref} , E_a e n . Estas estimativas encontram-se na tabela 3.8.

Tabela 3.8 – Parâmetros estimados na modelização dos CFT em solução de pH 6,5.

	Korsmeyer-Peppas	Weibull	Higuchi
$k_{ref} (h^{-1})$	$0,2870 \pm 0,0717$	$0,0400 \pm 0,0069$	$0,0995 \pm 0,0082$
$E_a (J)$	$-196,23 \pm 4073,51$	$5643,76 \pm 10834,26$	$7103,27 \pm 5340,85$
n	$0,2417 \pm 0,0632$	-	-
R²	0,9576	0,9455	0,9150
R² ajustado	0,9553	0,9435	0,9119
Fick			
$D_{ref} (m^2 \cdot h^{-1})$	$(1,33 \pm 0,11) \times 10^{-9}$		
$E_a (J)$	$14206,55 \pm 5449,84$		
R²	0,9150		
R² ajustado	0,9119		

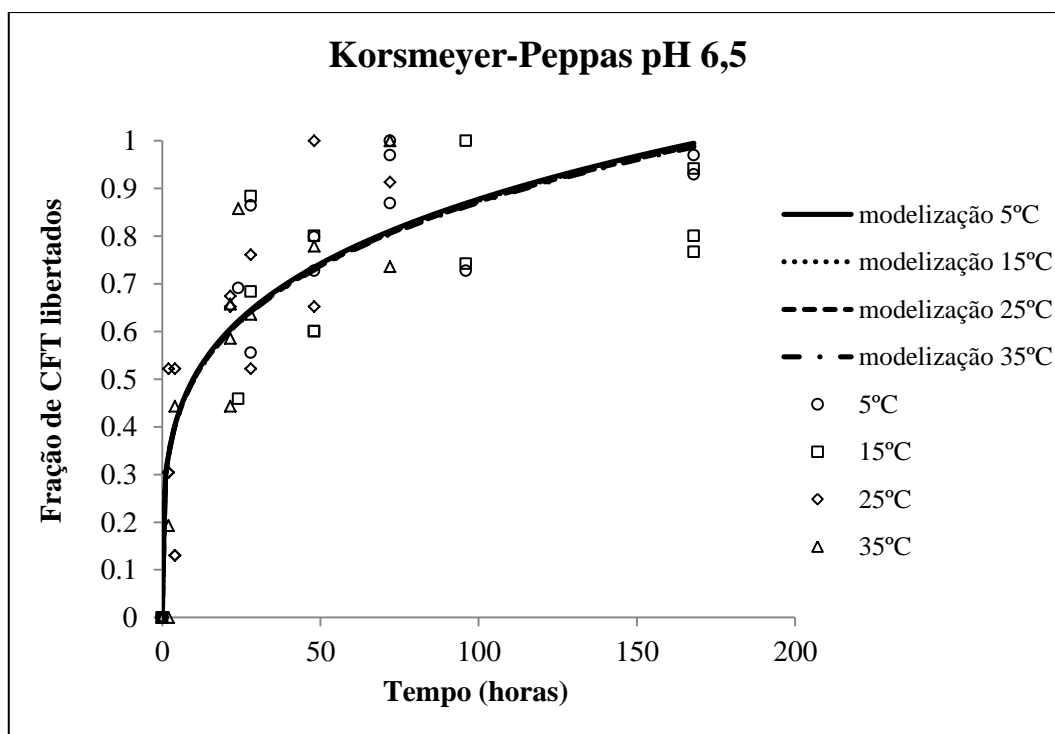


Figura 3.16 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Korsmeyer-Peppas.

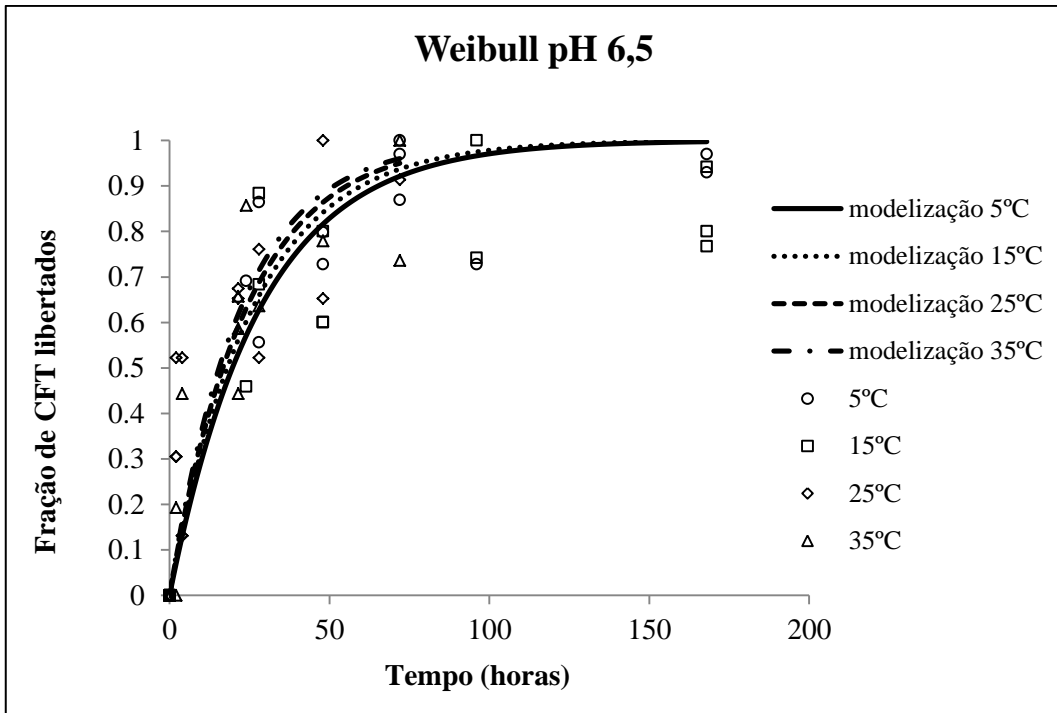


Figura 3.17 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Weibull.

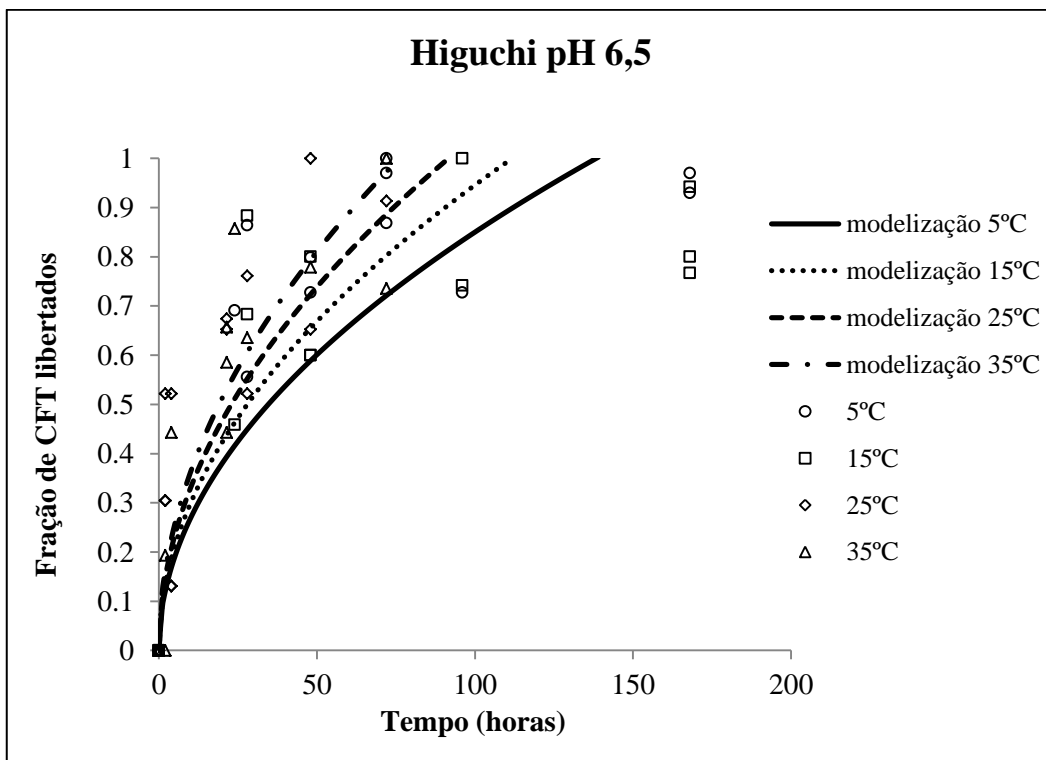


Figura 3.18 – Fração de CFT totais libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Higuchi.

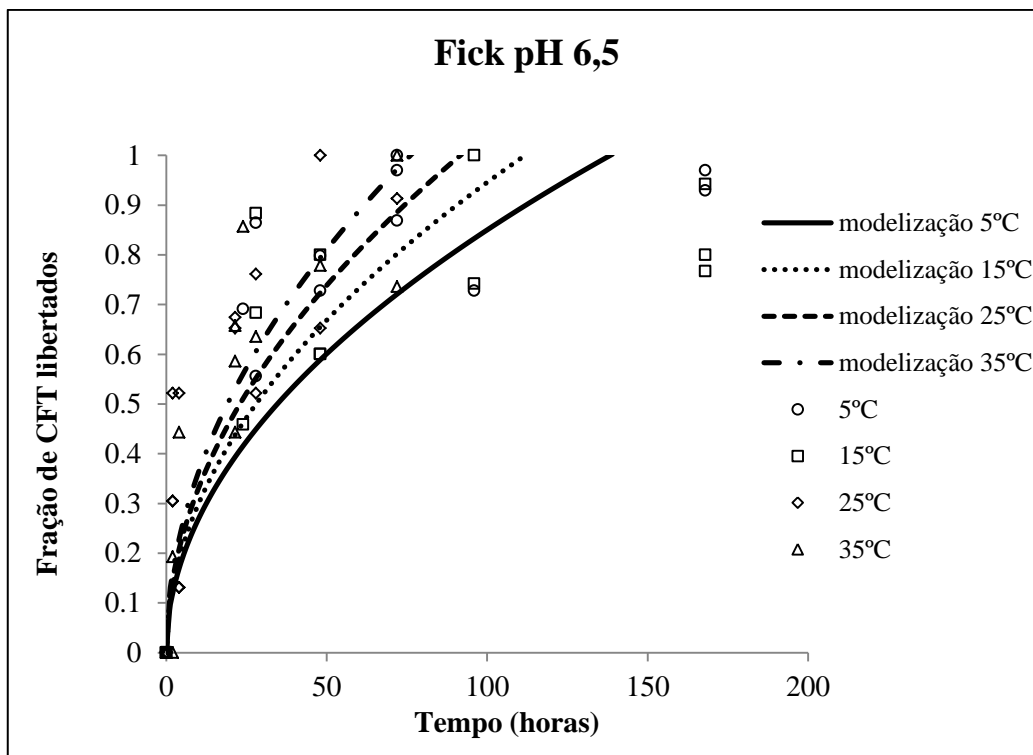


Figura 3.19 – Fração de CFT libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Fick.

Analisando as figuras 3.16 à 3.19 verifica-se que a concentração de CFT libertados aumentou ao longo do tempo. Esta concentração foi mais elevada no caso das temperaturas 25 °C e 35 °C e menor para as temperaturas de 5 °C e 15 °C, no entanto os valores foram muito semelhantes dentro destes dois grupos de temperaturas.

No modelo de Korsmeyer-Peppas verificou-se que a libertação CFT obedece à difusão de Fickian, pois o valor de ordem de reação ($n = 0,2417$) estimado é inferior a 0,43.

O modelo de Korsmeyer-Peppas foi o modelo que se conseguiu ajustar melhor aos valores de concentração dos CFT libertados ao longo do tempo ($R^2 = 0,9576$) em solução de pH 5, nos modelos de Weibull ($R^2 = 0,9455$), Higuchi e Fick ($R^2 = 0,9150$) o ajuste foi um pouco mais fraco.

O modelo de Korsmeyer-Peppas foi o que apresentou maior valor de taxa de reação de referência, $k_{ref}(\text{Korsmeyer-Peppas}) = 0,2870 \text{ h}^{-1}$, e o modelo de Weibull o que apresentou menor valor deste parâmetro, $k_{ref}(\text{Weibull}) = 0,0400 \text{ h}^{-1}$. Ou seja, o

modelo de Korsmeyer-Peppas previu que a libertação de CFT foi mais rápida que no caso do modelo de Weibull e de Higuchi. O modelo de Korsmeyer-Peppas (figura 3.16) não previu diferenças de ajuste entre as várias temperaturas, isto é, o modelo previu que a libertação de CFT em solução de pH 6,5 é igual em qualquer instante. Para o caso do modelo de Weibull (figura 3.17) a previsão de libertação de CFT é semelhante nas várias temperaturas até às 21,5 horas, depois a libertação aumenta ligeiramente de acordo com o aumento de temperatura, e partir das 96 horas a libertação de CFT atinge o ponto máximo igual para todas as temperaturas. Os modelos de Higuchi (figura 3.18) e Fick (figura 3.19) previram uma libertação de CFT diferente para cada temperatura estudada, sendo que a libertação foi maior e mais rápida para a temperatura de 35 °C e menor e mais lenta para a temperatura de 5 °C. Também se verificou que os modelos analisados preveem melhor a libertação de CFT para temperaturas mais altas pois os modelos previstos ajustam-se melhor a esses valores.

O modelo de Fick (figura 3.19) demonstrou-se ser muito semelhante ao modelo de Higuchi em termos de rigor pois ambos apresentaram os mesmos valores de R^2 e R^2 ajustado. No entanto no modelo de Fick obteve-se um maior valor de energia de ativação, cerca do dobro da prevista no modelo de Higuchi, e mesma ordem de grandeza para o erro associado a essa previsão.

O modelo de Fick foi aquele em que a energia de ativação atingiu o valor mais elevado, $E_a(\text{Fick}) = 14206,55 \text{ J}$. Os outros modelos não apresentaram valores coerentes de energia de ativação: no modelo de Korsmeyer-Peppas o valor estimado foi negativo e no modelo de Weibull o valor estimado foi menos que o erro associado a este parâmetro.

Logo o modelo que melhor explicou a libertação de CFT ao longo do tempo em solução de pH 6,5 foi o modelo de Higuchi, de acordo com a coerência dos valores estimados e da representação gráfica obtida.

3.14 Modelização dos flavonoides em solução de pH 5

A fim de compreender que modelo poderia explicar melhor a libertação de flavonoides libertados das microcápsulas, em solução de pH 5, estudadas neste trabalho foram analisados alguns modelos de cinéticas de libertação (consultar resultados da folha do programa StataIC 10 no Anexo III).

Para os modelos analisados (descritos no ponto 3.12) foram estimados os parâmetros k_{ref} , D_{ref} , E_a e n . Estas estimativas encontram-se na tabela 3.9.

Tabela 3.9 – Parâmetros estimados na modelização dos flavonoides em solução de pH 5.

	Korsmeyer-Peppas	Weibull	Higuchi
$k_{ref} (h^{-1})$	$0,0916 \pm 0,0496$	$0,0095 \pm 0,0020$	$0,0541 \pm 0,0055$
$E_a (J)$	$17162,10 \pm 8521,29$	$48954,82 \pm 13639,72$	$22121,79 \pm 7441,034$
n	$0,3918 \pm 0,1122$	-	-
R^2	0,8601	0,8294	0,8521
R^2 ajustado	0,8534	0,8241	0,8474
Fick			
$D_{ref} (m^2 \cdot h^{-1})$	$3,93 \times 10^{-10} \pm 0,41 \times 10^{-10}$		
$E_a (J)$	$44243,67 \pm 7592,89$		
R^2	0,8521		
R^2 ajustado	0,8474		

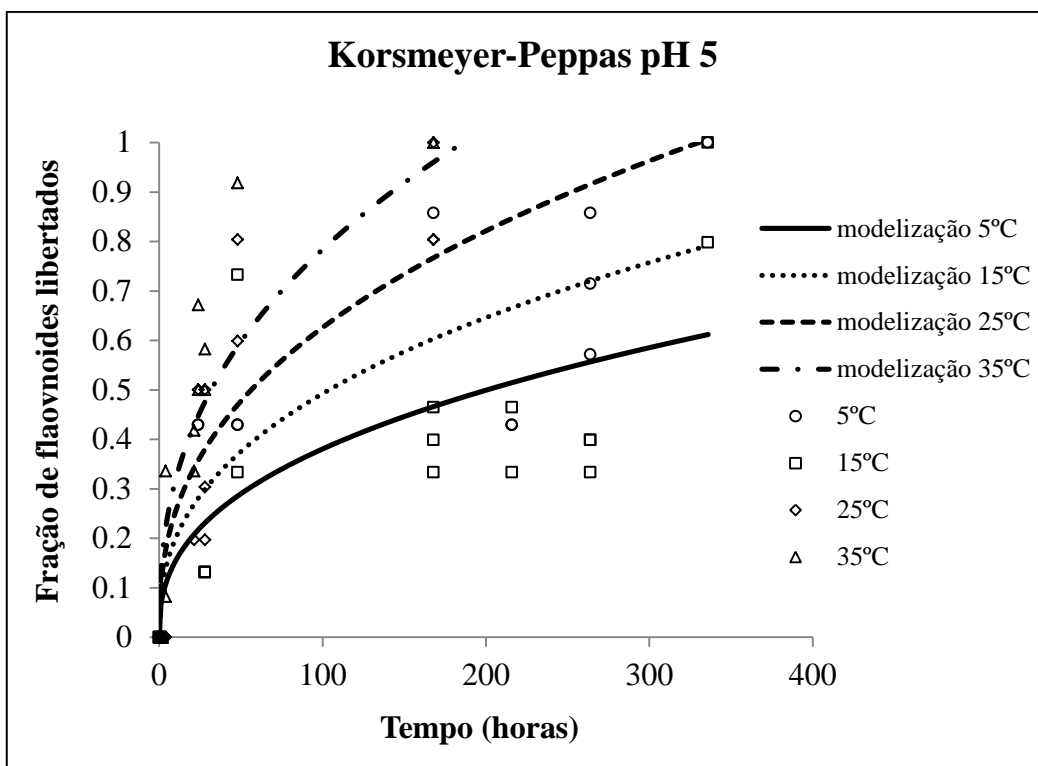


Figura 3.20 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Korsmeyer-Peppas.

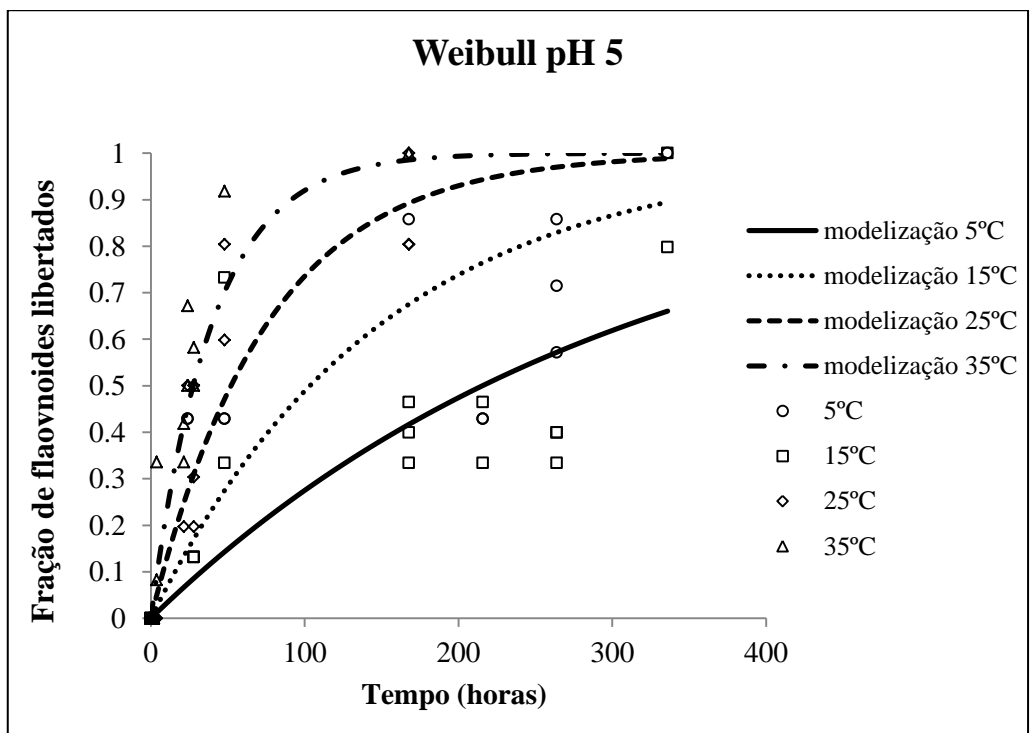


Figura 3.21 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Weibull.

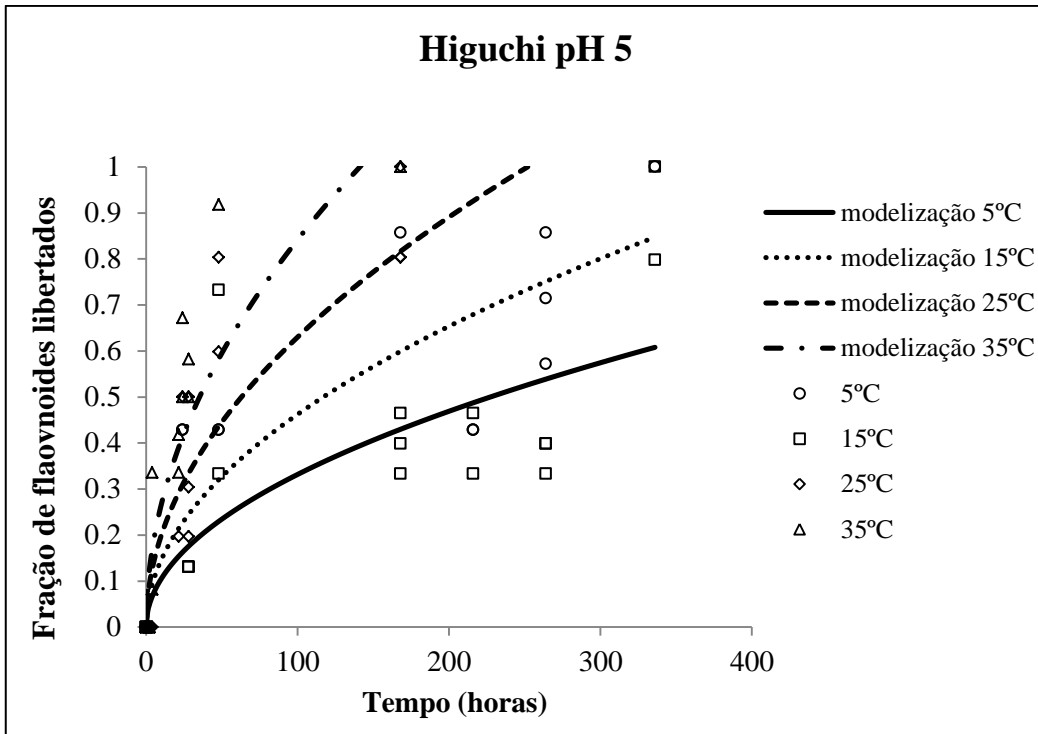


Figura 3.22 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Higuchi.

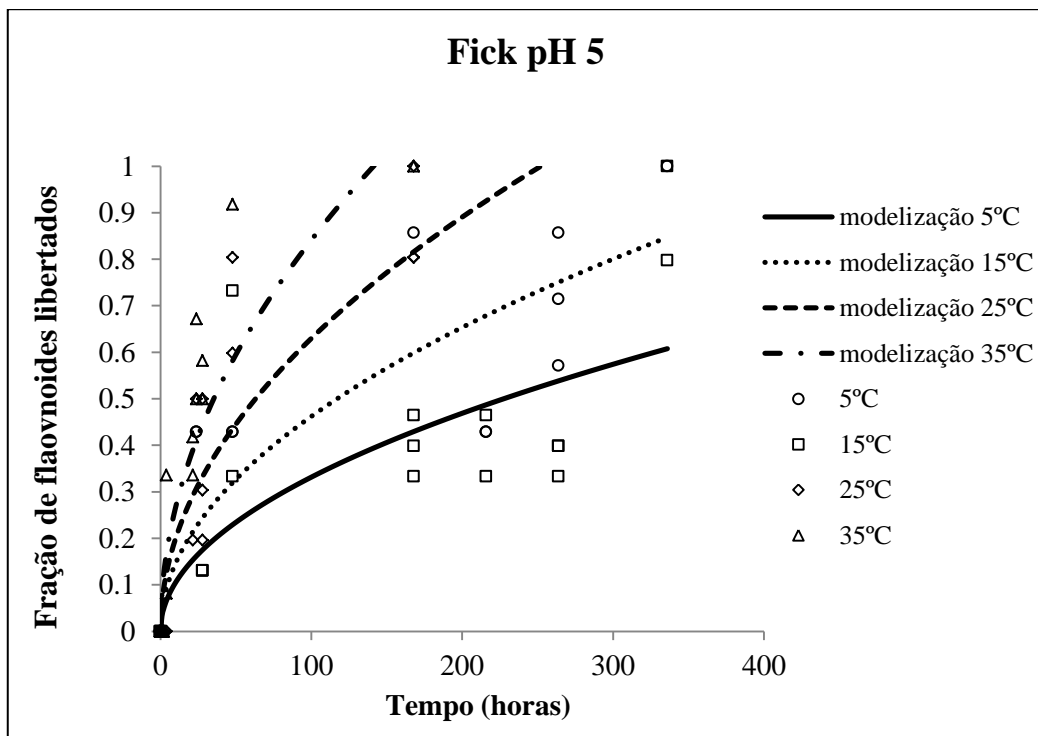


Figura 3.23 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 5 e modelização de Fick.

Analisando as figuras 3.20 à 3.23 verifica-se que a concentração de flavonoides libertados aumentou ao longo do tempo. Esta concentração foi mais elevada no caso da temperatura de 35 °C e menor para a temperatura de 5 °C.

No modelo de Korsmeyer-Peppas verificou-se que a libertação de flavonoides obedece à difusão de Fickian, pois o valor de ordem de reação estimado ($n = 0,3918$) é inferior a 0,43.

O modelo de Korsmeyer-Peppas foi o modelo que se conseguiu ajustar melhor aos valores de concentração dos flavonoides libertados ao longo do tempo ($R^2 = 0,8601$) em solução de pH 5, nos modelos de Higuchi, Fick ($R^2 = 0,8521$) e de Weibull ($R^2 = 0,8294$) o ajuste foi um pouco mais fraco.

O modelo de Korsmeyer-Peppas foi o que apresentou maior valor de taxa de reação de referência, $k_{ref}(\text{Korsmeyer-Peppas}) = 0,0916 \text{ h}^{-1}$, e o modelo de Weibull o que apresentou menor valor deste parâmetro, $k_{ref}(\text{Weibull}) = 0,0095 \text{ h}^{-1}$. Ou seja, o modelo de Korsmeyer-Peppas previu que a libertação de flavonoides foi mais rápida que a previsão dos outros dois modelos. Neste modelo (figura 3.20) os flavonoides foram libertados logo nas primeiras horas de análise e os valores mais elevados corresponderam, também, à temperatura mais elevada.

No modelo de Weibull (figura 3.21) a libertação inicial foi mais lenta verificando-se maior na temperatura mais elevada mas ao fim das 168 horas de análise a libertação parece tender a estabilizar. Para o modelo de Higuchi (figura 3.22) a libertação também foi mais lenta no início mas depois aumentou ao longo do tempo, sendo maior para a temperatura mais elevada, e no fim da análise a libertação pareceu estar ainda a aumentar.

O modelo de Fick (figura 3.23) demonstrou ser muito semelhante ao modelo de Higuchi em termos de rigor pois ambos apresentaram os mesmos valores de R^2 e R^2 ajustado. No entanto no modelo de Fick obteve-se um maior valor de energia de ativação, cerca do dobro da prevista no modelo de Higuchi, e mesma ordem de grandeza para o erro associado a essa previsão.

O modelo de Fick foi aquele em que a energia de ativação atingiu o valor mais elevado, $E_a(\text{Fick}) = 44243,67 \text{ J}$, e o modelo de Korsmeyer-Peppas foi o que apresentou valor mais baixo desta grandeza, $E_a(\text{Korsmeyer-Peppas}) = 17162,10 \text{ J}$. Estes valores estão coerentes com a estimativa da taxa de reação, sendo que o

modelo de Korsmeyer-Peppas foi o que previu uma reação de libertação mais rápida e desde a fase inicial.

Logo o modelo que melhor explicou a libertação de flavonoides ao longo do tempo em solução de pH 5 foi o modelo de Korsmeyer-Peppas, de acordo com a coerência dos valores estimados e da representação gráfica obtida.

3.15 Modelização dos flavonoides em solução de pH 6,5

A fim de compreender que modelo poderia explicar melhor a libertação de flavonoides libertados das microcápsulas, em solução de pH 6,5, estudadas neste trabalho foram analisados alguns modelos de cinéticas de libertação (consultar resultados da folha do programa StataIC 10 no Anexo IV).

Para os modelos analisados (descritos no ponto 3.12) foram estimados os parâmetros k_{ref} , D_{ref} , E_a e n . Estas estimativas encontram-se na tabela 3.10.

Tabela 3.10 – Parâmetros estimados na modelização dos flavonoides em solução de pH 6,5.

	Korsmeyer-Peppas	Weibull	Higuchi
k_{ref} (h^{-1})	0,0817 ± 0,0421	0,0236 ± 0,0034	0,0929 ± 0,0068
E_a (J)	10117,55 ± 5258,60	28320,29 ± 9698,70	9761,36 ± 4885,07
n	0,5322 ± 0,1279	-	-
R^2	0,9211	0,9232	0,9207
R^2 ajustado	0,9172	0,9208	0,9182
Fick			
D_{ref} ($m^2 \cdot h^{-1}$)	1,16x10 ⁻⁹ ± 0,09 x10 ⁻⁹		
E_a (J)	19522,71 ± 4984,77		
R^2	0,9207		
R^2 ajustado	0,9182		

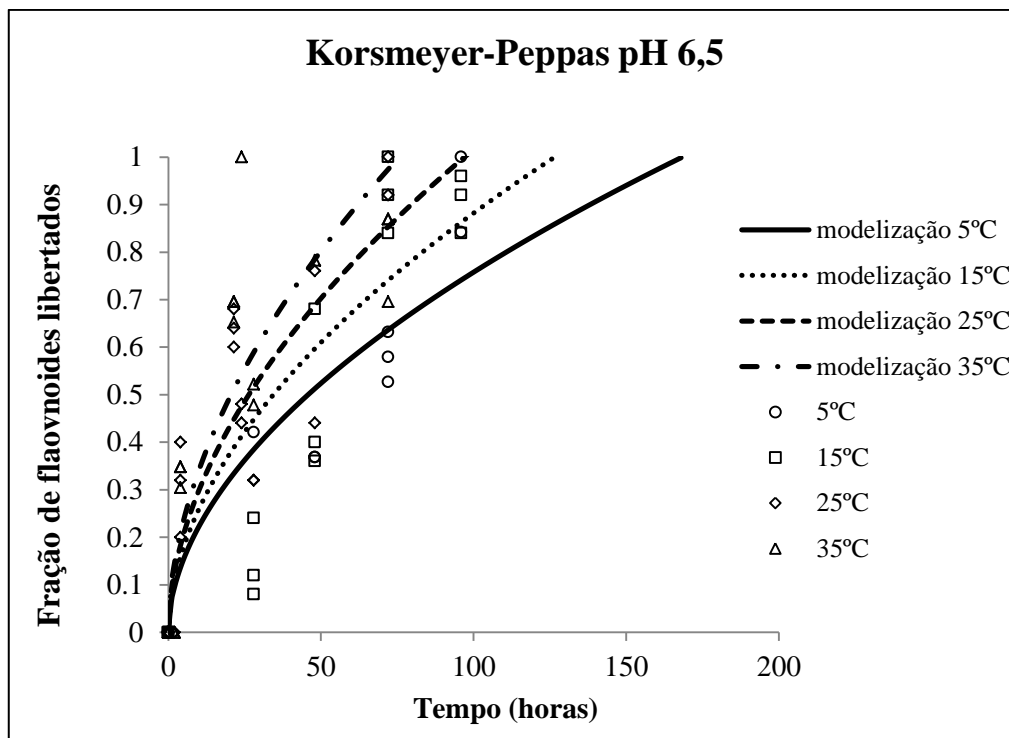


Figura 3.24 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Korsmeyer-Peppas.

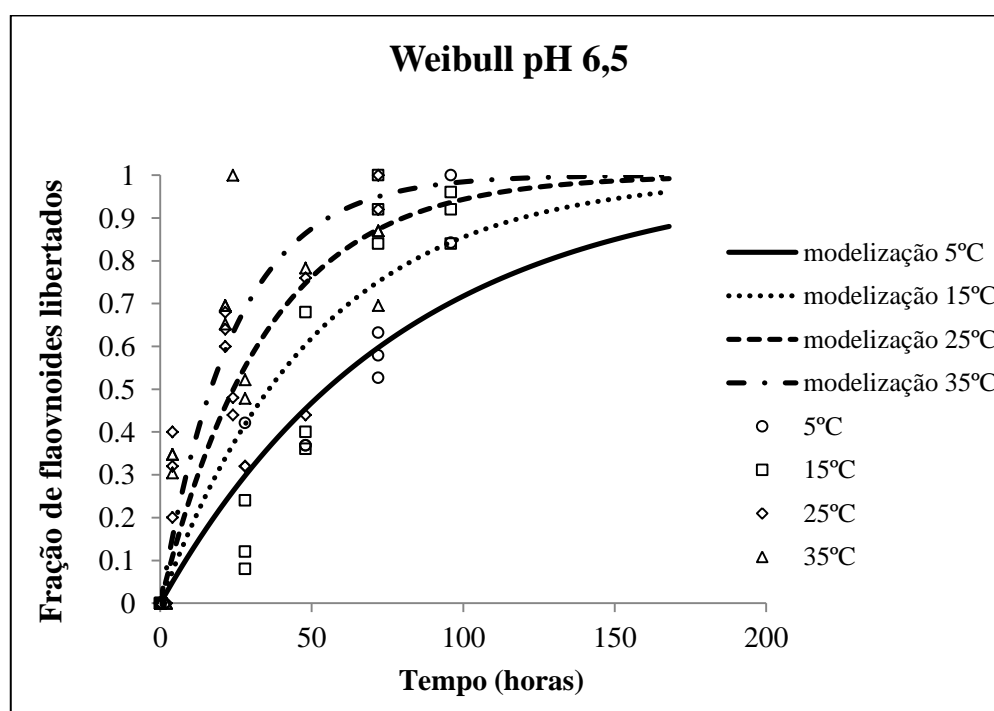


Figura 3.25 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Weibull.

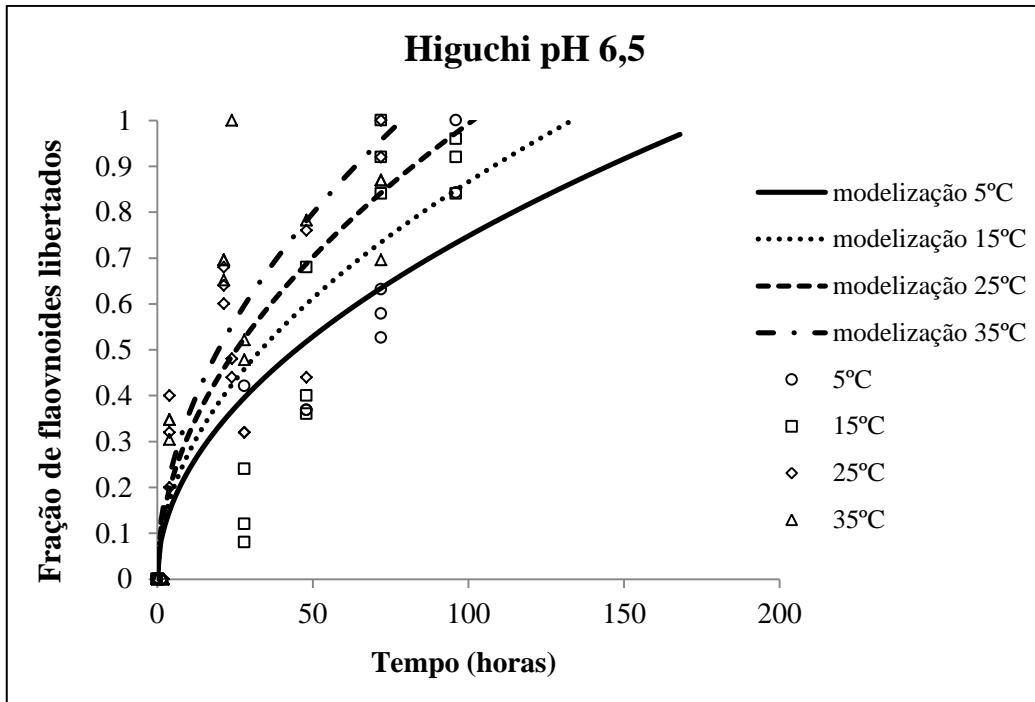


Figura 3.26 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Higuchi.

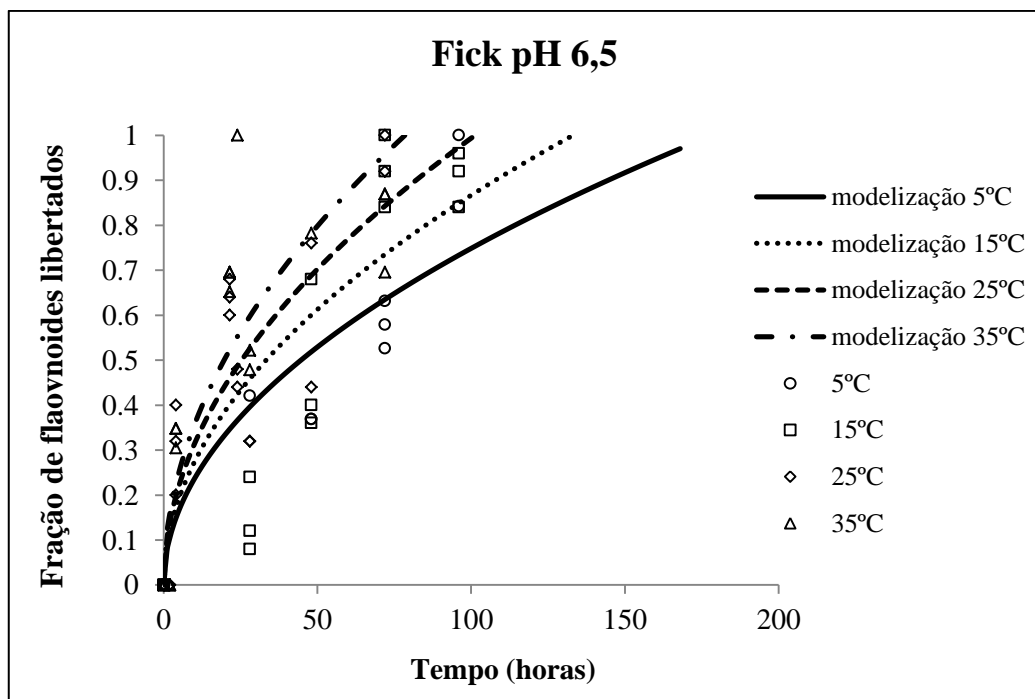


Figura 3.27 – Fração de flavonoides libertados ao longo do tempo em solução de pH 6,5 e modelização de Fick.

Analisando as figuras 3.24 à 3.27 verifica-se que a concentração de flavonoides libertados aumentou ao longo do tempo. Esta concentração foi mais elevada no caso da temperatura de 35 °C e menor para a temperatura de 5 °C.

No modelo de Korsmeyer-Peppas verificou-se que a libertação de flavonoides não obedece à difusão de Fickian, pois o valor de ordem de reação ($n = 0,5322$) estimado é superior a 0,43. Neste sentido a libertação dos flavonoides em solução de pH 6,5 é considerada anómala ou não-Fickiana ($0,43 < n < 0,85$).

O modelo de Weibull foi o modelo que se conseguiu ajustar melhor aos valores de concentração dos flavonoides libertados ao longo do tempo ($R^2 = 0,9232$) em solução de pH 6,5, nos modelos de Korsmeyer-Peppas ($R^2 = 0,9211$), Higuchi e Fick ($R^2 = 0,9207$) o ajuste foi um pouco mais fraco.

O modelo de Higuchi foi o que apresentou maior valor de taxa de reação de referência, $k_{ref}(\text{Higuchi}) = 0,0929 \text{ h}^{-1}$, e o modelo de Weibull o que apresentou menor valor deste parâmetro, $k_{ref}(\text{Weibull}) = 0,0236 \text{ h}^{-1}$. Ou seja, o modelo de Higuchi previu que a libertação de flavonoides foi mais rápida que a previsão dos outros dois modelos. Neste modelo (figura 3.26) os flavonoides foram libertados logo nas primeiras horas de análise e os valores mais elevados corresponderam, também, à temperatura mais elevada e no fim da análise a libertação pareceu estar ainda a aumentar.

No modelo de Weibull (figura 3.25) a libertação também iniciou logo nas primeiras horas, verificando-se maior na temperatura mais elevada mas ao fim das 72 horas de análise a libertação parece tender a estabilizar. Para o modelo de Korsmeyer-Peppas (figura 3.24) a libertação também iniciou nas primeiras horas, aumentando ao longo do tempo, sendo maior para a temperatura mais elevada, e no fim da análise a libertação pareceu estar, também, ainda a aumentar.

O modelo de Fick (figura 3.27) demonstrou-se ser muito semelhante ao modelo de Higuchi em termos de rigor pois ambos apresentaram os mesmos valores de R^2 e R^2 ajustado. No entanto no modelo de Fick obteve-se um maior valor de energia de ativação, cerca do dobro da prevista no modelo de Higuchi, e mesma ordem de grandeza para o erro associado a essa previsão.

O modelo de Fick foi aquele em que a energia de ativação atingiu o valor mais elevado, $E_a(\text{Fick}) = 19522,71 \text{ J}$, e o modelo de Higuchi foi o que apresentou

valor mais baixo desta grandeza, $E_a(\text{Higuchi}) = 9761,36 \text{ J}$. Estes valores estão coerentes com a estimativa da taxa de reação, sendo que o modelo de Higuchi foi o que previu uma reação de libertação mais rápida e desde a fase inicial.

Logo o modelo que melhor explicou a libertação de flavonoides ao longo do tempo em solução de pH 6,5 foi o modelo de Higuchi, de acordo com a coerência dos valores estimados, erros associados às estimativas e da representação gráfica obtida.

No que diz respeito ao estudo da libertação dos compostos ativos incorporados nos filmes, a temperatura revelou-se um fator de influência na libertação dos CFT e dos flavonoides das microcápsulas para as soluções de pH 5 e 6,5. Num estudo sobre o potencial antioxidante de melancia armazenada a várias temperaturas, Oms-Oliu et al. (2009), verificou que a temperatura de armazenamento afetou significativamente o potencial antioxidante da fruta, pois a fruta armazenada a $5 \text{ }^\circ\text{C}$ apresentou uma manutenção do potencial antioxidante inicial durante o armazenamento. Por outro lado, a melancia armazenada a temperaturas superiores a $15 \text{ }^\circ\text{C}$ verificou uma perda significativa do potencial antioxidante. Rosa et al. (2013) e Beijoca (2014) referem, nos seus estudos sobre microencapsulação de ácido gálico em quitosano e encapsulamento de extratos de própolis por secagem por atomização e estudos de libertação controlada, respetivamente, que existe uma forte relação entre a quantidade de CFT e a atividade antioxidante sendo estes alguns dos componentes que mais contribuem para a mesma. Também é referido que estes compostos podem ser bastante influenciados por fatores externos como o manuseamento, armazenamento e a temperatura.

Assim, é esperado que a quantidade de CFT e flavonoides libertados ao longo do tempo aumente e o aumento de temperatura parece ser um catalisador positivo desta libertação, como se verificou neste trabalho.

No que diz respeito ao pH, verificou-se que a libertação de CFT e flavonoides foi maior para a solução de pH 6,5, pois a taxa de reação (k_{ref}) de libertação destas substâncias ativas foi superior, de forma geral, para todos os modelos de libertação cinética estudados neste trabalho.

Num estudo sobre partículas de quitosano reticuladas com tripolifosfato, Hamamura et al. (2010) verificou que alguns fatores influenciam a estabilidade das

partículas de quitosano, tais como o efeito do tempo de contato entre o quitosano e as soluções, a força iônica da reticulação entre o quitosano e o tripolifosfato e o efeito do pH. Neste estudo foi provado que as partículas de quitosano e tripolifosfato sofrem dissolução a pH 1,2 e a pH 7,4 apenas parecem sofrer de intumescimento.

Hamamura et al. (2010) refere que se o pH de uma solução diminui, maior é a concentração de íons H^+ que neutralizam o tripolifosfato e menor é o grau de reticulação quitosano-tripolifosfato. Se o pH for demasiado baixo a dissociação iônica e dissolução da rede quitosano-tripolifosfato ocorrerem. Caso contrário, se o pH aumenta, a protonação dos grupos amino do quitosano também aumenta, o que induz uma diminuição na densidade de ligações cruzadas com o tripolifosfato, permitindo o intumescimento devido ao aumento da distância entre as cadeias de quitosano, e uma libertação rápida do quitosano para a solução envolvente.

Neste estudo a solução de pH 5 demonstrou menos libertação de CFT e flavonoides quando comparada com a solução de pH 6,5. Isto pode ter ocorrido por o pH 6,5 ser mais elevado e ter proporcionado o enfraquecimento das ligações iônicas entre o quitosano e o tripolifosfato, levando ao rápido intumescimento das microcápsulas e consequentemente à maior libertação das substâncias ativas contidas no seu interior.

Ainda no que diz respeito à utilização do tripolifosfato como reticulante e encapsulante externo das microcápsulas desenvolvidas neste trabalho, este parece ter um bom efeito na durabilidade das microcápsulas e na permissão de libertação lenta e controlada dos CFT e flavonoides presentes no EGU e carvacrol. Os processos de reticulação promovem o estabelecimento de ligações cruzadas entre as moléculas de quitosano, aumentando a sua rigidez, diminuindo a solubilidade e o grau de *swelling* (intumescimento por absorção de água) quando introduzidas em soluções aquosas. Assim, em partículas reticuladas, o processo de difusão de compostos no seu interior é dificultado devido ao menor espaço livre entre as moléculas do polímero. As reações de reticulação com o tripolifosfato envolvem interações iônicas entre os grupos negativos deste composto com os grupos amino do quitosano. Este processo dá origem a um grau de reticulação elevado obtendo-se uma matriz polimérica rígida (Beijoca, 2014). Adicionalmente, as partículas de quitosano com tripolifosfato retêm

uma maior quantidade de compostos encapsulados e não permitem a libertação rápida dos mesmos, tal como verificado em Beijoca (2014) no seu estudo.

Esta interação encapsulante-quitosano pode ser desejável para controlar a taxa de libertação e melhorar a biodisponibilidade das substâncias ativas (Ribeiro et al., 1999). Estes aspetos da ligação quitosano-tripolifosfato podem ser positivos no caso da aplicação em alimentos para aumentar o tempo de prateleira ou propriedades especiais dos mesmos a longo prazo.

4. Conclusão

O quitosano é um biopolímero que permite a obtenção de filmes biodegradáveis transparentes e de fácil manuseio. A este polímero pode ser adicionado extrato de grainha de uva e carvacrol microencapsulados com tripolifosfato de sódio, para melhorar as propriedades mecânicas das microcápsulas, a sua durabilidade, evitar a sua dissolução e permitir a libertação controlada dos agentes ativos.

A técnica utilizada para produzir as microcápsulas, gelificação iónica, foi considerada eficaz porque se conseguiram obter microcápsulas com formas esféricas, mesmo que com alguma variação no diâmetro da microcápsula. Esta técnica foi fácil de implementar e de baixo custo, permitindo o desenvolvimento de microcápsulas para futuras aplicações em embalagens ativas com possível melhoria do tempo de prateleira de alimentos perecíveis.

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que a incorporação de agentes ativos microencapsulados alterou as características físico-químicas dos filmes. A incorporação de microcápsulas com carvacrol e extrato de grainha de uva tornaram os filmes de quitosano mais escuros, com tonalidade na gama de cores avermelhada e amarelada, aumentaram o seu teor de humidade, reduziram a sua solubilidade e aumentaram a sua espessura.

Com este trabalho verificou-se que o tempo de armazenamento, a temperatura e o pH influenciam a libertação dos compostos fenólicos totais (equivalentes de ácido gálico) e flavonoides (equivalente de catequina). O tempo de armazenamento e as temperaturas elevadas aumentaram também a libertação de ácido gálico e catequina. O aumento do pH da solução fez aumentar a taxa de libertação destas espécies.

A libertação do ácido gálico seguiu a modelização de Korsmeyer-Peppas em solução de pH 5 e de Higuchi em solução de pH 6,5. Quanto à libertação de catequina, também se pode concluir que segue a modelização de Korsmeyer-Peppas para pH 5 e de Higuchi para pH 6,5. Ainda se pode concluir que a libertação de ácido gálico e catequina neste estudo não pode ser explicada pelo modelo de Weibull.

Com o desenvolvimento deste trabalho ainda se pode concluir que o estudo dos modelos das cinéticas de liberação é uma importante ferramenta na previsão da liberação de determinados compostos, nomeadamente para produção de embalagens ativas, compreendendo o seu comportamento e os fatores que o influenciam. Este estudo permite ainda verificar que se pode otimizar a liberação de agentes ativos, controlando-a de forma a obter melhorias na extensão do tempo de vida útil dos alimentos e, conseqüentemente, na satisfação do consumidor.

5. Perspetivas de trabalho futuro

Como perspetiva de trabalho futuro seria interessante:

- Estudar a libertação dos compostos fenólicos totais e flavonoides para soluções de simulação de outros alimentos, alterando mais a gama de valores de pH e até incluindo soluções de outra natureza;
- Estudar o efeito da variação da concentração de tripolifosfato nas propriedades das microcápsulas e na libertação de compostos fenólicos totais e flavonoides;
- Efetuar uma caracterização química mais aprofundada das partículas produzidas, designadamente, a avaliação da distribuição dos agentes ativos nas partículas, a análise das interações químicas entre os agentes e a matriz, a extensão da modificação química do quitosano pela ação do grau de reticulação com o tripolifosfato.
- Avaliar as características físicas das partículas ao longo dos ensaios de libertação, de modo a perceber os mecanismos envolvidos na libertação, designadamente, a desintegração, degradação e *swelling* por absorção de solvente acompanhado por difusão.

6. Referências bibliográficas

Abugoch, L. E.; Tapia, C.; Villamán, M. C.; Yazdani-Pedram, M.; Díaz-Dosque, M. (2011) *Characterization of quinoa proteinchitosan blend edible films*. Food Hydrocolloids, nº 25, 879-886

Angelo, Priscila Milene; Jorge, Neuza (2007) *Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão*. Rev. Inst. Adolfo Lutz, nº 66(1), 1-9

Alonso, D.; Gimeno, M.; Sepúlveda-Sánchez, J. D.; Shirai, K. (2010) *Chitosan-based microcapsules containing grapefruit seed extract grafted onto cellulose fibers by a non-toxic procedure*. Carbohydrate Research, nº 345, 854–859

Alves, C. Q.; Brandão, H. N.; David, J. M.; David, J. P.; Lima, L. S. (2007) *Avaliação de atividade antioxidante de flavonoides*. Diálogos & Ciência – Revista da Rede de Ensino FTC, ano V, nº 12.

Barros, Sâmia Valéria dos Santos; Muniz, Graciela Inês Bolzon de; Matos, Jorge Luís Monteiro de (2014) *Caracterização colorimétrica das madeiras de três espécies florestais da Amazônia*. CERNE, volume 20, nº 3, 337-342

Beijoca, M. S. R. (2014) *Encapsulamento de extratos de própolis por secagem por atomização e estudos de liberação controlada*. Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar, Universidade de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia.

Bilgin, M., Şahin, S. (2012) *Effects of geographical origin and extraction methods on total phenolic yield of olive tree (Olea europaea) leaves*. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, nº 44, 8-12

Biswas, A.; Chatterjee, A.; Bahdhopadhyay, S. K. (2012) *Quantitative estimation of gallic acid in amLa extract by gradient RP-HPLC method*. International Journal of Pharmaceutical Innovations, volume 2, issue 1

Butstraen, C.; Salaün, F. (2014) *Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan*. Carbohydrate Polymers, nº 99, 608-616

Cabrita, Maria João; Silva, Jorge Ricardo da; Laureano, Olga (2003) *Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos*. I Seminário internacional de vitivinicultura, Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia.

Cao, Z.; Meng, F.; Zhao, G. (2013) *Optimization of extraction process of olive leaves by RSM and evaluation of antioxidant capacity*. Journal of Food Science and Engineering, nº 3, 525-533

Cordeiro, Cláudia Maria dos Santos (2010) *Desenvolvimento de filmes bioativos a partir do quitosano*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar, Universidade Técnica de Lisboa – Instituto Superior de Agronomia.

Corrales, M.; Fernández, A.; Han, J. H. (2014) *Antimicrobial Packaging Systems (chapter 7)*. Innovations in Food Packaging, 133-170

Costa, J. M. G.; Borges, S. V.; Hijo, A. A. C. T.; Silva, E. K.; Marques, G. R.; Cirillo, M. Â.; Azevedo, V. M. (2013) *Matrix structure selection in the microparticles of essential oil oregano produced by spray dryer*. Journal of Microencapsulation, nº 30(8), 717–727

Crank, J. (1975) *The Mathematics of Diffusion*. Second Edition, Oxford, Clarendon Press

Cuq, B.; Gontard, N.; Cuq, J.L.; Guilbert, S. (1996) *Functional properties of myofibrillar protein based biopackaging as affected by film thickness*. Journal of Food Science, volume 61, nº 3, 580–584.

Dash, S.; Murthy, P. N.; Nath, L.; Chowdhury, P. (2010) *Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems*. Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, volume 67, nº 3, 217-223

Dhanasingh, S.; Nallaperumal, S. K. (2010) *Chitosan/Casein microparticles: preparation, characterization and drug release studies*. World Academy of Science, Engineering and Technology nº 44

El-Aquar, Ânoar Abbas; Murr, Fernanda E. Xidieh (2003) *Estudo e modelgame da cinética da desidratação osmótica do mamão formosa (Carica papaya L.)*. Ciência e Tecnologia Alimentar, Campinas, nº 23 (1), 69-75

Fernández-Saiz, P.; Sánchez, G.; Soler, C.; Lagaron, J.M.; Ocio, M.J. (2013) *Chitosan films for the microbiological preservation of refrigerated sole and hake fillets*. Food Control, nº 34, 61-68

Ferreira, A. F. S. (2012) *Filmes à base de quitosana enriquecidos com extratos de bagaço de uva*. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia Alimentar, Universidade de Aveiro – Departamento de Química

Furlong, E. B.; Colla, E.; Bortolato, D. S.; Baisch, A. L. M.; Souza-Soares, L. A. (2003) *Avaliação do potencial de compostos fenólicos em tecidos vegetais*. Vetor, Rio Grande, nº 13, 105-114

Giehl, Mara Rúbia; Bosco, Simone Moreno dal; Laflor, Camila Maurenre; Weber, Bernardete (2007) *Eficácia dos flavonóides da uva, vinho tinto e suco de uva tinto na prevenção e no tratamento secundário da aterosclerose*. Scientia Medica, Porto Alegre, volume 17, nº 3, 145-155.

Goneli, A.L.D.; Nasu, A.K.; Gancedo, R.; Araújo, W.D.; Sarath, K.L.L. (2014a) *Cinética de secagem de folhas de erva baleeira (Cordia verbenacea DC.)*. Revista Brasileira Pl. Med., Campinas, volume 16, nº 2, suplemento I, 434-443

Goneli, A. L. D.; Vieira, M. C.; Vilhasanti, H. C. B.; Gonçalves, A. A. (2014b) *Modelagem matemática e difusividade efetiva de folhas de aroeira durante a secagem*. Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, volume 44, nº 1, 56-64

Hamamura, N. R.; Negrón, A. V.; Cavero, H. A.; Milla, A. L. (2010) *Preparación de partículas de quitosano reticuladas con tripolifosfato y moificadas com polietilenglicol*. Revista da Sociedade Química do Perú, nº 76 (4)

Harder, Marcia Nalesso Costa; Canniatti-Brazaca, Solange Guidolin; Arthur, Valter (2007) *Avaliação quantitativa por colorímetro digital da cor do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com urucum (Bixa orellana)*. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, nº 102, 339-342

Huertas, R. A. P. (2011) *Revisión: Microencapsulación de Alimentos*. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín, nº 63(2), 5669-5684

Imran, Muhammad; Klouj, Amira; Revol-Junelles, Anne-Marie; Desobry, Stéphane (2014) *Controlled release of nisin from HPMC, sodium caseinate, poly-lactic acid and chitosan for active packaging applications*. Journal of Food Engineering, nº 143, 178–185

Kamimura, J. A.; Santos, E. H.; Hill, L. E.; Gomes, C. L. (2014) *Antimicrobial and antioxidant activities of carvacrol microencapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin*. LWT - Food Science and Technology, nº 57, 701-709

Kalam, M.A.; Humayun, M.; Parvez, N.; Yadav, S.; Garg, A.; Amin, S.; Sultana, Y.; Ali, A. (2007) *Release Kinetics of modified pharmaceutical dosage forms: a review*. Continental J. Pharmaceutical Sciences, nº 1, 30-35

Kurek, M.; Guinault, A.; Voilley, A.; Galić, K.; Debeaufort, F. (2014) *Effect of relative humidity on carvacrol release and permeation properties of chitosan based films and coatings*. Food Chemistry, nº 144, 9–17

Lisboa, Jemima F.; Silva, José N.; Cavalcanti, Mônica T.; Silva, Emanuelle M. C.; Gonçalves, Mônica C. (2015) *Análise da hidratação de grãos de alpiste*. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, volume 19, nº 3, 218-223

Liu, M.; Zhou, Y.; Zhang, Y.; Yu, C.; Cao, S. (2013) *Preparation and structural analysis of chitosan films with and without sorbitol*. Food Hydrocolloids, nº 33; 186-191

Lopretti, M.; Barreiro, F.; Fernandes, I.; Damboriarena, A.; Ottati, C.; Olivera, A. (2007) *Microencapsulación de compuestos de actividad biológica*. Publicacion anual del laboratorio Tecnológico del Uruguay, nº 2

Majeed, K.; Jawaid, M.; Hassan, A.; Bakar, A. A.; Khalil, H.P.S. A.; Salema, A.A.; Inuwa, I. (2013) *Potential materials for food packaging from nanoclay/natural fibres filled hybrid composites*. Materials and Design, nº 46; 391–410

Malacrida, C. R.; Motta, S. (2005) *Composto fenólicos totais e antocianinas em suco de uva*. Ciência e Tecnologia Alimentar, Campinas, nº 25(4), 659-664

Manadas, Rui; Pina, Maria Eugénia; Veiga, Francisco (2002) *A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, volume 38, nº 4.

Março, Paulo Henrique; Poppi, Ronei Jesus (2008) *Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais*. Química Nova, volume 31, nº 5, 1218-1223.

Martins, Joana T.; Cerqueira, Miguel A.; Vicente, António A. (2012) *Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films*. Food Hydrocolloids, nº 27, 220-227

Matté, G. M.; Rosa, S. (2013) *A tecnologia de microencapsulação através das microesferas de quitosana*. Revista Iberoamericana de Polímeros, volume 14(5)

Minekus, M.; Alming, M.; Alvito, P.; Ballance, S.; Bohn, T.; Bourlieu, C.; Carrière, F.; Boutrou, R.; Corredig, M.; Dupont, D.; Dufour, C.; Egger, L.; Golding, M.; Karakaya, S.; Kirkhus, B.; Le Feunteun, S.; Lesmes, U.; Macierzanka, A.; Mackie, A.; Marze, S.; McClements, D. J.; M'énard, O.; Recio, I.; Santos, C. N.; Singh, R. P.; Wickham, S. J.; Weistschies, W.; Brodkorb, A. (2014) *A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus*. The Royal Society of Chemistry, Food Funct., nº 5, 1113–1124

Moreira, J. S. (2010) *Estudo de síntese e cinética de libertação controlada em bionanocompósitos*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade de Aveiro, Departamento de Química

Moura, Silvia Cristina Sobottka Rolim de; Vitali, Alfredo de Almeida; França, Vitor Correia Lima (2001) *Propriedades termofísicas de soluções modelo similares a creme de leite*. Ciência e Tecnologia Alimentar, Campinas, nº 21(2), 209-215.

Nori, M. P.; Favaro-Trindade, C. S.; Alencar, S. M.; Thomazini, M.; Balieiro, J. C. C.; Castillo, C. J. C. (2011) *Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation*. LWT - Food Science and Technology, nº 44, 429-435

Ojagh, Seyed Mahdi; Rezaei, Masoud; Razavi, Seyed Hadi; Hosseini, Seyed Mohamad Hashem (2010) *Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water*. Food Chemistry, nº 122, 161–166

Oliveira, Thales Leandro Coutinho de (2010) *Atividade do óleo essencial de segurelha (Saruteja montana L) sobre Clostridium perfringens em sistemas de emulsão cárneas elaborados com diferentes níveis de nitritos*. Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil.

Oms-Oliu, G.; Odriozola-Serrano, I.; Soliva-Fortuny, R.; Martín-Belloso, O. (2009) Use of Weibull distribution for describing kinetics of antioxidant potential changes in fresh-cut watermelon. *Journal of Food Engineering*, nº 95, 99-105

Parize, A. L. (2009) *Desenvolvimento de sistemas microparticulados e de filmes à base de quitosana e corante natural cúrcuma*. Dissertação de Doutorado em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis

Penim, Diana Filipa Lopes (2015) *Microencapsulação de própolis em matrizes de polissacáridos e estudos de libertação controlada*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar, Universidade de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia.

Peretto, G.; Du, W.; Avena-Bustillos, R. J.; Sarreal, S. B. L.; Hua, S. S. T.; Sambo, P.; McHugh, T. H. (2014) *Increasing strawberry shelf-life with carvacrol and methyl cinnamate antimicrobial vapors released from edible films*. *Postharvest Biology and Technology*, nº 89, 11-18

Pires, Rafaeli Oleques (2011) *Modelagem matemática de perfis de liberação de fármacos a partir de nanocarregadores*. Dissertação de Mestrado em Nanociências, Centro Universitário Franciscano de Santa Maria.

Plastics – the Facts 2014 (2014) *An analysis of European plastics production, demand and waste data*. Plastics Europe, Association of Plastics Manufactures (www.plasticseurope.org).

Portella, A. C. F.; Munaro, M.; Ascêncio, S. D.; Siqueira, C. A.; Ferreira, T. P. S.; Aguiar, R. W. S. (2014) *Caracterização físico-química do óleo essencial da Siparuna guianensis Aublet*. Química Nova, volume 37, nº 5, 844-849

Porto, P. A. L. S. (2002) *Estudo da actividade antioxidante de catequinas e procianidinas oligoméricas*. Dissertação, Universidade do Porto, Faculdade de Ciências, Departamento de Química

Rao, M.S.; Kanatt, S.R.; Chawla, S.P.; Sharmam, A. (2010) *Chitosan and guar gum composite films: preparation, physical, mechanical and antimicrobial properties*. Carbohydrate Polymers, volume 82, nº 4, 1243–1247.

Rathore, S.; Desai, P. M.; Liew, C. V.; Chan, L. W.; Heng, P. W. S. (2013) *Microencapsulation of microbial cells*. Journal of Food Engineering, nº 116, 369-381

Regiel, Anna; Irusta, Silvia; Kyziol, Agnieszka; Arruebo, Manuel; Santamaria, Jesus (2013) *Preparation and characterization of chitosan–silver nanocomposite films and their antibacterial activity against Staphylococcus aureus*. Nanotechnology, número 1, volume 24.

Restuccia, D.; Spizzirri, U. G.; Parisi, O. I.; Cirillo, G.; Curcio, M.; Iemma, F.; Puoci, F.; Vinci, G.; Picci, N. (2010) *New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications*. Food Control, nº 21; 1425-1435

Ribeiro, A. J.; Neufeld, R. J.; Arnaud, P.; Chaumeil, J. C. (1999) *Microencapsulation of lipophilic drugs in chitosan-coated alginate microspheres*. International Journal of Pharmaceutics, nº 187, 115-123

Rocha, W. S.; Lopes, R. M.; Silva, D. B.; Vieira, R. F.; Silva, J. P.; Agostini-Costa, T. S. (2011) *Composto fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do Cerrado*. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, volume 33, nº 4, 1215-1221

Rockenbach, Ismael Ivan (2008) *Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (Vitis vinífera L. e Vitis labrusca L.)*. Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Rodrigues, Maria Regina Alves (2002) *Estudo dos óleos essenciais presentes em manjerona e orégano*. Dissertação de Doutorado em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Porto Alegre.

Rosa, C. G.; Borges, C. D.; Zambiasi, R. C.; Nunes, M. R.; Benvenuti, E. V.; Luz, S. R.; D'Avila, R. F.; Rutz, J. K. (2013) *Microencapsulation of gallic acid in chitosan, β -cyclodextrin and xanthan*. Industrial Crops and Products, nº 46, 138-146

Rosa, Gilnei Machado (2013) *Teor e composição de óleo essencial de capim-limão (Cymbopogon citratos (DC) Stapf) e tomilho (Thymus vulgaris L.) submetidos a diferentes temperaturas e períodos de secagem*. Dissertação de Mestrado em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Rubilar, J. F.; Cruz, R. M. S.; Silva, H. D.; Vicente, A. A.; Khmelinskii, I.; Vieira, M. C. (2013) *Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract*. Journal of Food Engineering, nº 115, 466-474

Sansone, F.; Picerno, P.; Mencherini, T.; Porta, A.; Lauro, M. R.; Russo, P.; Aquino, R. P. (2014) *Technological properties and enhancement of antifungal activity of a Paeonia rockii extract encapsulated in a chitosan-based matrix*. Journal of Food Engineering, nº 120, 260-267

Santos, A. B.; Fávaro-Trindade, C. S.; Grosso, C. R. F. (2005) *Preparo e caracterização de microcápsulas de oleorresina de paprica obtidas por atomização*. Ciências e Tecnologia Alimentar, Campinas, nº 25(2), 322-326

Santos, J. A.; Lima, D. R.; Cardoso, A. O.; Reis, A. B. (2014) *Comparativo entre diferentes solubilizadores usados na produção de filmes de quitosana*. XX Congresso brasileiro de Engenharia Química, Florianópolis

Schreiber, S. B.; Bozell, J. J.; Hayes, D. G.; Zivanovic, S. (2013) *Introduction of primary antioxidant activity to chitosan for application as a multifunctional food packaging material*. Food Hydrocolloids, nº 33, 207-214

Šeruga, M.; Novak, I.; Jakobek, L. (2011) *Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods*. Food Chemistry, nº 124, 1208-1216

Shoab, M H.; Tazeen, J.; Merchant, H. A.; Yousuf, R. I. (2006) *Evaluation of drug release kinetics from ibuprofen matrix tablets using HPMC*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, nº 19 (2), 119-124

Silva, C.; Ribeiro, A.; Ferreira, D.; Veiga, F. (2003) *Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, volume 39, nº 1

Song, R.; Cheng, Y.; Tian, Y.; Zhang, Z. (2012) *A validated solid-phase extraction HPLC method for the simultaneous determination of gallic acid, catechin and epicatechin in rhubarb decoction*. Chinese Journal of Natural Medicines, nº 10(4), 275-278

Sousa, C. M. M.; Silva, H. R.; Vieira-Jr., G. M.; Ayres, M. C. C.; Costa, C. Luis S.; Araújo, D. S.; Cavalcante, L. C. D.; Barros, E. D. S.; Araújo, P. B. M.; Brandão, M. S.; Chaves, M. H. (2007) *Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais*. Quim. Nova, volume 30, nº 2, 351-355

Stulzer, H. K. (2008) *Desenvolvimento e avaliação de sistemas microparticulados de liberação modificada a base de quitosana contendo o antiviral aciclovir*. Dissertação de Doutorado em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de

Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química,
Florianópolis

Suave, J.; Dall'agnol, E. C.; Pezzin, A. P. T.; Silva, D. A. K.; Meier, M. M.; Soldi, V. (2006) *Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas*. Revista Saúde e Ambiente/Health and Environment Journal, volume 7, nº 2

Velis, Costas (2014) *Global recycling markets - plastic waste: A story for one player – China*. Report prepared by FUELogy and formatted by D-waste on behalf of International Solid Waste Association - Globalisation and Waste Management Task Force. ISWA, Vienna.

Wei, Qiang; Wang, Jian; Shen, Xiaoyuan; Zhang, Xiao A.; Qin, Anjun; Tang, Ben Zhong (2013) *Self-healing hyperbranched poly(aroyltriazole)s*. Scientific Report number 3, Article number 1093.

Witt, E. P. (2013) *Produção de blendas poliméricas obtidas a partir de fécula de mandioca e álcool polivinílico – PVA para estudo cinético de liberação controlada de fármaco*. Dissertação de Bacharelato em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco

Wu, Q.; Yao, S.(2013) *Novel NaCS–CS–PPS microcapsules as a potential enzyme-triggered release carrier for highly-loading 5-ASA*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, nº 109, 147-153

Yamakoshi, Jun; Kataoka, Shigehiro; Koga, Takuro; Ariga, Toshiaki (1999) *Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits*. Atherosclerosis, nº 142, 139–149

Yang,Chih-Hui, Lin, Yung-Sheng; Huang, Keng-Shiang; Huang, Yu-Che; Wang, Eng-Chi; Jhong, Jia-Ying; Kuo, Chun-Yen (2009) *Microfluidic emulsification and*

sorting assisted preparation of monodisperse chitosan microparticles. Lab on a Chip, Issue 1.

Yoshida, C. M. P.; Maciel, V. B. V.; Mendonça, M. E. D.; Franco, T. T. (2014) *Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. LWT - Food Science and Technology, n° 55; 83-89*

7. Anexos

Página

Anexo I

- Quantificação dos compostos fenólicos totais em solução de pH 5.....I
- Modelização dos compostos fenólicos totais em solução de pH 5.....III

Anexo II

- Quantificação dos compostos fenólicos totais em solução de pH 6,5.....VIII
- Modelização dos compostos fenólicos totais em solução de pH 6,5.....X

Anexo III

- Quantificação dos flavonoides em solução de pH 5.....XV
- Modelização dos flavonoides em solução de pH 5.....XVII

Anexo IV

- Quantificação dos flavonoides em solução de pH 6,5.....XXII
- Modelização dos flavonoides em solução de pH 6,5.....XXIV

Anexo V

- Parâmetros de caracterização dos filmes de quitosano a 1,25%.....XXIX
- Parâmetros de caracterização dos filmes de quitosano a 1,25% com microcápsulas.....XXXI

Anexo I

• Quantificação dos compostos fenólicos totais em solução de pH 5

Tabela 7.1 – Absorvância lida para os CFT em solução de pH 5 para o FQM.

Tempo (h)	Absorvância a 760 nm		Tempo (h)	Absorvância a 760 nm	
	5° C	15 °C		25° C	35 °C
0	0	0,000	0	0,000	0,000
24	0,005	0,018	2	0,000	0,000
	0,005	0,015		0,000	0,000
	0,002	0,013		0,000	0,000
28	0,000	0,000	4	0,003	0,001
	0,020	0,000		0,025	0,000
	0,000	0,006		0,004	0,000
48	0,015	0,019	21,5	0,017	0,032
	0,016	0,013		0,029	0,031
	0,011	0,019		0,024	0,084
72	0,015	0,021	24	0,008	0,008
	0,020	0,018		0,011	0,009
	0,018	0,012		0,007	0,021
96	0,000	0,000	28	0,004	0,009
	0,000	0,023		0,000	0,019
	0,000	0,000		0,008	0,003
168	0,006	0,024	48	0,024	0,037
	0,011	0,017		0,040	0,038
	0,019	0,013		0,014	0,049
216	0,010	0,014	72	0,031	0,016
	0,002	0,010		0,031	0,025
	0,018	0,020		0,014	0,016
264	0,000	0,010	96	0,012	0,025
	0,020	0,006		0,016	0,04
	0,003	0,005		0,021	0,021
336	0,023	0,022	168	0,015	0,021
	0,009	0,024		0,019	0,020
	0,017	0,015		0,022	0,020

Tabela 7.2 – [CFT] e respectivo desvio padrão em solução de pH 5 para o FQM.

Tempo (h)	[CFT] para 5 °C (mg/mL EqAG)	Desvio padrão para 5 °C	[CFT] para 15 °C (mg/mL EqAG)	Desvio padrão para 15 °C
0	0,000	0,000	0,000	0,000
24	0,015	0,007	0,058	0,010
28	0,025	0,044	0,008	0,013
48	0,053	0,010	0,065	0,013
72	0,067	0,010	0,065	0,017
96	0,000	0,000	0,029	0,050
168	0,057	0,021	0,068	0,021
216	0,053	0,021	0,056	0,019
264	0,029	0,041	0,027	0,010
336	0,076	0,016	0,077	0,018

Tempo (h)	[CFT] para 25 °C (mg/mL EqAG)	Desvio padrão para 25 °C	[CFT] para 35 °C (mg/mL EqAG)	Desvio padrão para 35 °C
0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0,013	0,003	0,001	0,002
21,5	0,078	0,019	0,120	0,003
24	0,033	0,008	0,032	0,003
28	0,023	0,011	0,053	0,027
48	0,072	0,027	0,142	0,003
72	0,118	0,000	0,072	0,020
96	0,070	0,013	0,087	0,011
168	0,078	0,008	0,077	0,002

• Modelização dos compostos fenólicos totais em solução de pH 5

Tabela 7.3 – Dados para análise dos modelos dos CFT em solução de pH 5.

Tempo (h)	Temperatura (K)	$\frac{M_t}{M_\infty}$	Tempo (h)	Temperatura (K)	$\frac{M_t}{M_\infty}$
0	278,15	0	0	298,15	0
0	278,15	0	0	298,15	0
0	278,15	0	0	298,15	0
24	278,15	0,21764	2	298,15	0
24	278,15	0,21764	2	298,15	0
24	278,15	0,087056	2	298,15	0
48	278,15	0,651776	4	298,15	0,143036
48	278,15	0,695304	4	298,15	0,190715
48	278,15	0,478809	24	298,15	0,38143
72	278,15	0,651776	24	298,15	0,524467
72	278,15	0,869416	24	298,15	0,333752
72	278,15	0,78236	28	298,15	0,190715
168	278,15	0,825888	28	298,15	0,38143
216	278,15	0,78236	48	298,15	0,667503
264	278,15	0,869416	96	298,15	0,761606
336	278,15	1	96	298,15	1
336	278,15	0,738832	168	298,15	0,904642
0	288,15	0	0	308,15	0
0	288,15	0	0	308,15	0
0	288,15	0	0	308,15	0
28	288,15	0,250319	2	308,15	0
48	288,15	0,542358	2	308,15	0
72	288,15	0,750958	2	308,15	0
72	288,15	0,500638	4	308,15	0,047679
168	288,15	0,709238	24	308,15	0,38143
216	288,15	0,834397	24	308,15	0,429109
336	288,15	0,917837	28	308,15	0,429109
336	288,15	1,001277	72	308,15	0,761606
			72	308,15	0,761606
			96	308,15	1
			168	308,15	1
			168	308,15	0,952321
			168	308,15	0,952321

Dados do modelo de Korsmeyer-Peppas

```

. program define nlfil4
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def s_1 "kref Ea n"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         mac def n =0.1
6.         exit
7.     }
8.     replace `1'=$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15)))*t^n
9. end

```

```

.
.
end of do-file

```

```

. nlfil4 F
(obs = 61)

```

```

Iteration 0: residual SS = 19.11807
Iteration 1: residual SS = 11.35231
Iteration 2: residual SS = 11.25995
Iteration 3: residual SS = 11.03283
Iteration 4: residual SS = 10.84787
Iteration 5: residual SS = 10.4758
Iteration 6: residual SS = 8.483573
Iteration 7: residual SS = 1.369965
Iteration 8: residual SS = 1.133648
Iteration 9: residual SS = .9987935
Iteration 10: residual SS = .9976291
Iteration 11: residual SS = .9975515
Iteration 12: residual SS = .9975478
Iteration 13: residual SS = .9975476
Iteration 14: residual SS = .9975476
Iteration 15: residual SS = .9975476

```

Source	SS	df	MS
Model	18.9511719	3	6.3170573
Residual	.99754757	58	.017199096
Total	19.9487195	61	.327028188

```

Number of obs = 61
F( 3, 58) = 367.29
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.9500
Adj R-squared = 0.9474
Root MSE = .1311453
Res. dev. = 77.80259

```

(fil4)

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]	
kref	.1037631	.0173919	5.97	0.000	.0689494	.1385768
Ea	6734.869	1911.025	3.52	0.001	2909.537	10560.2
n	.4126665	.0342864	12.04	0.000	.3440348	.4812981

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.1 – Folha de programa do modelo Korsmeyer-Peppas com dependência da temperatura para os CFT em solução de pH 5.

Dados do modelo de Weibull

```
. program define nlfil5
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "kref Ea"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=1-(exp(-$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15))))*t))
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nlfil5 F
(obs = 61)
```

```
Iteration 0: residual SS = 1.487271
Iteration 1: residual SS = .658193
Iteration 2: residual SS = .5977224
Iteration 3: residual SS = .596249
Iteration 4: residual SS = .5962282
Iteration 5: residual SS = .5962279
Iteration 6: residual SS = .5962279
Iteration 7: residual SS = .5962279
```

Source	SS	df	MS	Number of obs =	61
Model	19.3524916	2	9.67624579	F(2, 59) =	957.52
Residual	.596227907	59	.010105558	Prob > F =	0.0000
Total	19.9487195	61	.327028188	R-squared =	0.9701
				Adj R-squared =	0.9691
				Root MSE =	.1005264
				Res. dev. =	109.1979

(fil5)

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
kref	.0175573	.0010417	16.86	0.000	.015473 .0196416
Ea	8024.18	3567.702	2.25	0.028	885.226 15163.13

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.2 – Folha de programa do modelo Weibull com dependência da temperatura para os CFT em solução de pH 5.

Dados do modelo de Higuchi

```
. program define nlfil6
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "kref Ea"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15)))*t^(1/2)
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nl fil6 F
(obs = 61)
```

```
Iteration 0: residual SS = 14.68544
Iteration 1: residual SS = 4.926829
Iteration 2: residual SS = 2.2314
Iteration 3: residual SS = 1.133678
Iteration 4: residual SS = 1.118259
Iteration 5: residual SS = 1.118246
Iteration 6: residual SS = 1.118246
```

Source	SS	df	MS
Model	18.8304737	2	9.41523684
Residual	1.11824581	59	.018953319
Total	19.9487195	61	.327028188

```
Number of obs = 61
F( 2, 59) = 496.76
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.9439
Adj R-squared = 0.9420
Root MSE = .1376711
Res. dev. = 70.83537
```

(fil6)

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
kref	.0676373	.002157	31.36	0.000	.063321 .0719535
Ea	8568.48	1916.466	4.47	0.000	4733.641 12403.32

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.3 – Folha de programa do modelo Higuchi com dependência da temperatura para os CFT em solução de pH 5.

Dados do modelo de Fick

```
. program define nlfil7
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "dref Ea"
3.         mac def dref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=(2/0.0004136)*($dref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15)))*t/3.1416)^(1/2)
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nl fil7 F
(obs = 61)
```

```
Iteration 0: residual SS = 3.28e+08
Iteration 1: residual SS = 79443.13
Iteration 2: residual SS = 1004.578
Iteration 3: residual SS = 72.18785
Iteration 4: residual SS = 11.5552
Iteration 5: residual SS = 2.436734
Iteration 6: residual SS = 1.147881
Iteration 7: residual SS = 1.118251
Iteration 8: residual SS = 1.118246
Iteration 9: residual SS = 1.118246
```

Source	SS	df	MS
Model	18.8304737	2	9.41523684
Residual	1.11824581	59	.018953319
Total	19.9487195	61	.327028188

```
Number of obs = 61
F( 2, 59) = 496.76
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.9439
Adj R-squared = 0.9420
Root MSE = .1376711
Res. dev. = 70.83537
```

```
(fil7)
```

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
dref	6.15e-10	3.92e-11	15.68	0.000	5.36e-10 6.93e-10
Ea	17136.96	3832.931	4.47	0.000	9467.284 24806.64

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.4 – Folha de programa do modelo Fick com dependência da temperatura para os CFT em solução de pH 5.

Anexo II

• Quantificação dos compostos fenólicos totais em solução de pH 6,5

Tabela 7.4 – Absorvância lida para os CFT em solução de pH 6,5 para o FQM.

Tempo (h)	Absorvância a 760 nm		Tempo (h)	Absorvância a 760 nm	
	5° C	15 °C		25° C	35 °C
0	0,000	0,000	0	0	0
24	0,030	0,032	2	0,024	0,058
	0,020	0,042		0,014	0,008
	0,036	0,016		0,014	0,027
28	0,092	0,031	4	0,006	0,033
	0,025	0,048		0,006	0,018
	0,016	0,024		0,024	0,047
48	0,023	0,021	21,5	0,030	0,027
	0,021	0,028		0,008	0,018
	0,010	0,021		0,031	0,024
72	0,029	0,067	24	0,052	0,092
	0,028	0,044		0,048	0,035
	0,025	0,055		0,046	0,058
96	0,021	0,018	28	0,012	0,026
	0,014	0,035		0,035	0,042
	0,010	0,026		0,024	0,007
168	0,027	0,033	48	0,013	0,032
	0,028	0,028		0,030	0,043
	0,045	0,027		0,046	0,000
			72	0,057	0,041
				0,059	-
				0,042	0,030

Tabela 7.5 – [CFT] e respectivo desvio padrão em solução de pH 6,5 para o FQM.

Tempo (h)	[CFT] para 5 °C (mg/mL EqAG)	Desvio padrão para 5 °C	[CFT] para 15 °C (mg/mL EqAG)	Desvio padrão para 15 °C
0	0,000	0,000	0,000	0,000
24	0,086	0,024	0,082	0,039
28	0,070	0,022	0,094	0,017
48	0,075	0,005	0,080	0,014
72	0,094	0,007	0,169	0,027
96	0,060	0,017	0,104	0,022
168	0,094	0,002	0,100	0,011
Tempo (h)	[CFT] para 25 °C (mg/mL EqAG)	Desvio padrão para 25 °C	[CFT] para 35 °C (mg/mL EqAG)	Desvio padrão para 35 °C
0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,059	0,020	0,060	0,046
4	0,041	0,036	0,087	0,036
21,5	0,104	0,002	0,079	0,016
24	0,166	0,010	0,159	0,056
28	0,101	0,027	0,116	0,039
48	0,130	0,039	0,128	0,027
72	0,169	0,036	0,121	0,027

• Modelização dos compostos fenólicos totais em solução de pH 6,5

Tabela 7.6 – Dados para análise dos modelos dos CFT em solução de pH 6,5.

Tempo (h)	Temperatura (K)	$\frac{M_t}{M_\infty}$	Tempo (h)	Temperatura (K)	$\frac{M_t}{M_\infty}$
0	278,15	0	0	298,15	0
0	278,15	0	0	298,15	0
0	278,15	0	0	298,15	0
24	278,15	0,69114	2	298,15	0,521739
28	278,15	0,863925	2	298,15	0,304348
28	278,15	0,555556	2	298,15	0,304348
48	278,15	0,79798	4	298,15	0,130435
48	278,15	0,727273	4	298,15	0,130435
72	278,15	1	4	298,15	0,521739
72	278,15	0,969697	21,5	298,15	0,652174
72	278,15	0,868687	21,5	298,15	0,673913
96	278,15	0,727273	28	298,15	0,76087
168	278,15	0,929293	28	298,15	0,521739
168	278,15	0,969697	48	298,15	0,652174
			48	298,15	1
			72	298,15	0,913044
0	288,15	0	0	308,15	0
0	288,15	0	0	308,15	0
0	288,15	0	0	308,15	0
24	288,15	0,458333	2	308,15	0
28	288,15	0,883333	2	308,15	0,192857
28	288,15	0,683333	4	308,15	0,442857
48	288,15	0,6	21,5	308,15	0,657143
48	288,15	0,8	21,5	308,15	0,442857
48	288,15	0,6	21,5	308,15	0,585714
96	288,15	1	24	308,15	0,857143
96	288,15	0,741667	28	308,15	0,635714
168	288,15	0,941667	48	308,15	0,778571
168	288,15	0,8	72	308,15	1
168	288,15	0,766667	72	308,15	0,735714

Dados do modelo de Korsmeyer-Peppas

```
. program define nlfil4
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def s_1 "kref Ea n"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         mac def n =0.1
6.         exit
7.     }
8.     replace `1'=$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15))) *t^$n
9. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nl fil4 F
(obs = 58)
```

```
Iteration 0: residual SS = 22.56254
Iteration 1: residual SS = 12.73536
Iteration 2: residual SS = 12.43463
Iteration 3: residual SS = 11.66657
Iteration 4: residual SS = 1.208022
Iteration 5: residual SS = 1.154076
Iteration 6: residual SS = .9958719
Iteration 7: residual SS = .9949777
Iteration 8: residual SS = .9949674
Iteration 9: residual SS = .9949672
Iteration 10: residual SS = .9949672
Iteration 11: residual SS = .9949672
```

Source	SS	df	MS
Model	22.4569621	3	7.48565402
Residual	.99496717	55	.018090312
Total	23.4519292	58	.404343608

```
Number of obs = 58
F( 3, 55) = 413.79
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.9576
Adj R-squared = 0.9553
Root MSE = .1345002
Res. dev. =71.20147
```

(fil4)

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
kref	.2870392	.0365772	7.85	0.000	.2137368 .3603416
Ea	-196.227	2078.322	-0.09	0.925	-4361.277 3968.823
n	.2417492	.0322652	7.49	0.000	.1770883 .3064102

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.5 – Folha de programa do modelo Korsmeyer-Peppas com dependência da temperatura para os CFT em solução de pH 6,5.

Dados do modelo de Weibull

```
. program define nlfil5
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "kref Ea"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=1-(exp(-$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15))))*t))
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nlfil5 F
(obs = 58)
```

```
Iteration 0: residual SS = 6.441955
Iteration 1: residual SS = 2.309815
Iteration 2: residual SS = 1.389821
Iteration 3: residual SS = 1.28562
Iteration 4: residual SS = 1.279206
Iteration 5: residual SS = 1.278954
Iteration 6: residual SS = 1.278945
Iteration 7: residual SS = 1.278945
Iteration 8: residual SS = 1.278945
```

Source	SS	df	MS
Model	22.1729844	2	11.0864922
Residual	1.27894486	56	.022838301
Total	23.4519292	58	.404343608

```
Number of obs = 58
F( 2, 56) = 485.43
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.9455
Adj R-squared = 0.9435
Root MSE = .1511235
Res. dev. =56.63877
```

```
(fil5)
```

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
kref	.0399981	.0034992	11.43	0.000	.0329882 .0470079
Ea	5643.759	5527.685	1.02	0.312	-5429.526 16717.04

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.6 – Folha de programa do modelo Weibull com dependência da temperatura para os CFT em solução de pH 6,5.

Dados do modelo de Higuchi

```
. program define nlfil6
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "kref Ea"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15)))*t^(1/2)
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nl fil6 F
(obs = 58)
```

```
Iteration 0: residual SS = 19.22664
Iteration 1: residual SS = 7.46606
Iteration 2: residual SS = 4.29761
Iteration 3: residual SS = 2.056133
Iteration 4: residual SS = 1.994658
Iteration 5: residual SS = 1.994364
Iteration 6: residual SS = 1.994363
Iteration 7: residual SS = 1.994363
```

Source	SS	df	MS
Model	21.4575661	2	10.728783
Residual	1.99436314	56	.035613628
Total	23.4519292	58	.404343608

```
Number of obs = 58
F( 2, 56) = 301.25
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.9150
Adj R-squared = 0.9119
Root MSE = .1887157
Res. dev. = 30.86999
```

```
(fil6)
```

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
kref	.0994892	.0041959	23.71	0.000	.0910838 .1078946
Ea	7103.27	2724.923	2.61	0.012	1644.594 12561.95

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.7 – Folha de programa do modelo Higuchi com dependência da temperatura para os CFT em solução de pH 6,5.

Dados do modelo de Fick

```
. program define nlfil7
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "dref Ea"
3.         mac def dref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=(2/0.0004136)*($dref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15))))*t/3.1416^(1/2)
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nl fil7 F
(obs = 58)
```

```
Iteration 0: residual SS = 1.74e+08
Iteration 1: residual SS = 61410.35
Iteration 2: residual SS = 919.014
Iteration 3: residual SS = 71.43174
Iteration 4: residual SS = 12.42509
Iteration 5: residual SS = 3.087668
Iteration 6: residual SS = 2.013871
Iteration 7: residual SS = 1.994366
Iteration 8: residual SS = 1.994363
Iteration 9: residual SS = 1.994363
```

Source	SS	df	MS	Number of obs =	58
Model	21.4575661	2	10.728783	F(2, 56) =	301.25
Residual	1.99436314	56	.035613628	Prob > F =	0.0000
Total	23.4519292	58	.404343608	R-squared =	0.9150
				Adj R-squared =	0.9119
				Root MSE =	.1887157
				Res. dev. =	30.86999

```
(fil7)
```

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
dref	1.33e-09	1.12e-10	11.86	0.000	1.11e-09 1.55e-09
Ea	14206.55	5449.842	2.61	0.012	3289.207 25123.9

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.8 – Folha de programa do modelo Fick com dependência da temperatura para os CFT em solução de pH 6,5.

Anexo III

• Quantificação dos flavonoides em solução de pH 5

Tabela 7.7 – Absorvância lida para os flavonoides em solução de pH 5 para o FQM.

Tempo (h)	Absorvância a 510 nm		Tempo (h)	Absorvância a 510 nm	
	5° C	15 °C		25° C	35 °C
0	0,000	0,000	0	0	0
24	0,003	0,010	2	0,000	0,000
	0,003	0,011		0,000	0,000
	0,005	0,008		0,000	0,000
28	0,000	0,002	4	0,000	0,001
	0,000	0,002		0,000	0,004
	0,000	0,002		0,000	0,000
48	0,003	0,011	21,5	0,007	0,004
	0,008	0,005		0,009	0,009
	0,003	0,012		0,002	0,005
72	0,000	0,000	24	0,005	0,008
	0,000	0,000		0,008	0,006
	0,000	0,000		0,007	0,011
96	0,000	0,000	28	0,002	0,002
	0,000	0,000		0,005	0,007
	0,000	0,000		0,003	0,006
168	0,000	0,007	48	0,012	0,013
	0,002	0,005		0,006	0,012
	0,006	0,006		0,008	0,011
216	0,003	0,007	72	0,000	0,000
	0,002	0,003		0,000	0,000
	0,003	0,005		0,000	0,000
264	0,004	0,006	96	0,000	0,000
	0,006	0,006		0,000	0,000
	0,005	0,005		0,000	0,000
336	0,010	0,017	168	0,008	0,008
	0,007	0,015		0,010	0,006
	0,010	0,012		0,008	0,012

Tabela 7.8 – [Flavonoides] e respectivo desvio padrão em solução de pH 5 para o

FQM.

Tempo (h)	[Flavonoides] para 5 °C (mg/mL EqC)	Desvio padrão para 5 °C	[Flavonoides] para 15 °C (mg/mL EqC)	Desvio padrão para 15 °C
0	0,000	0,000	0,000	0,000
24	0,003	0,000	0,011	0,002
28	0,000	0,000	0,002	0,000
48	0,003	0,000	0,010	0,004
72	0,000	0,000	0,000	0,000
96	0,000	0,000	0,000	0,000
168	0,004	0,003	0,007	0,001
216	0,003	0,001	0,006	0,002
264	0,006	0,001	0,006	0,001
336	0,010	0,002	0,016	0,003

Tempo (h)	[Flavonoides] para 25 °C (mg/mL EqC)	Desvio padrão para 25 °C	[Flavonoides] para 35 °C (mg/mL EqC)	Desvio padrão para 35 °C
0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0,000	0,000	0,002	0,002
21,5	0,005	0,004	0,007	0,003
24	0,007	0,002	0,009	0,003
28	0,004	0,002	0,007	0,001
48	0,010	0,003	0,013	0,001
72	0,000	0,000	0,000	0,000
96	0,000	0,000	0,000	0,000
168	0,010	0,001	0,010	0,003

• Modelização dos flavonoides em solução de pH 5

Tabela 7.9 – Dados para análise dos modelos dos flavonoides em solução de pH 5.

Tempo (h)	Temperatura (K)	$\frac{M_t}{M_\infty}$	Tempo (h)	Temperatura (K)	$\frac{M_t}{M_\infty}$
0	278,15	0	0	298,15	0
0	278,15	0	0	298,15	0
0	278,15	0	0	298,15	0
24	278,15	0,4286	2	298,15	0
24	278,15	0,4286	2	298,15	0
48	278,15	0,4286	2	298,15	0
48	278,15	0,4286	4	298,15	0
168	278,15	0,8571	4	298,15	0
216	278,15	0,4286	21,5	298,15	0,196429
216	278,15	0,4286	24	298,15	0,5
264	278,15	0,5714	28	298,15	0,196429
264	278,15	0,8571	28	298,15	0,5
264	278,15	0,7143	28	298,15	0,303571
336	278,15	1	48	298,15	0,598214
			48	298,15	0,803571
			168	298,15	0,803571
			168	298,15	1
			168	298,15	0,803571
0	288,15	0	0	308,15	0
0	288,15	0	0	308,15	0
0	288,15	0	0	308,15	0
28	288,15	0,130952	2	308,15	0
28	288,15	0,130952	2	308,15	0
28	288,15	0,130952	2	308,15	0
48	288,15	0,732143	4	308,15	0,08209
48	288,15	0,333333	4	308,15	0,335821
168	288,15	0,464286	21,5	308,15	0,335821
168	288,15	0,333333	21,5	308,15	0,417911
168	288,15	0,39881	24	308,15	0,671642
216	288,15	0,464286	24	308,15	0,5
216	288,15	0,333333	28	308,15	0,58209
264	288,15	0,39881	28	308,15	0,5
264	288,15	0,39881	48	308,15	0,917911
264	288,15	0,333333	168	308,15	1
336	288,15	1			
336	288,15	0,797619			

Dados do modelo de Korsmeyer-Peppas

```
. program define nlfil4
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "kref Ea n"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         mac def n =0.1
6.         exit
7.     }
8.     replace `1'=$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15)))*t^n
9. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nlfil4 F
(obs = 66)
```

```
Iteration 0: residual SS = 14.74167
Iteration 1: residual SS = 9.712201
Iteration 2: residual SS = 9.405544
Iteration 3: residual SS = 8.800718
Iteration 4: residual SS = 7.790717
Iteration 5: residual SS = 3.871799
Iteration 6: residual SS = 3.834858
Iteration 7: residual SS = 3.709706
Iteration 8: residual SS = 3.638953
Iteration 9: residual SS = 3.240679
Iteration 10: residual SS = 2.1729
Iteration 11: residual SS = 2.166675
Iteration 12: residual SS = 2.166663
Iteration 13: residual SS = 2.166663
Iteration 14: residual SS = 2.166663
Iteration 15: residual SS = 2.166663
```

Source	SS	df	MS
Model	13.3216722	3	4.44055741
Residual	2.16666274	63	.034391472
Total	15.488335	66	.234671742

```
Number of obs = 66
F( 3, 63) = 129.12
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.8601
Adj R-squared = 0.8534
Root MSE = .1854494
Res. dev. = -38.18691
```

(fil4)

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]	
kref	.0915875	.0253007	3.62	0.001	.0410281	.1421469
Ea	17162.1	4347.596	3.95	0.000	8474.121	25850.08
n	.391789	.0572259	6.85	0.000	.2774322	.5061459

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.9 – Folha de programa do modelo Korsmeyer-Peppas com dependência da temperatura para os flavonoides em solução de pH 5.

Dados do modelo de Weibull

```
. program define nlfil5
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "kref Ea"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=1-(exp(-$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15))))*t))
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nlfil5 F
(obs = 66)
```

```
Iteration 0: residual SS = 4.173639
Iteration 1: residual SS = 2.657237
Iteration 2: residual SS = 2.643274
Iteration 3: residual SS = 2.64239
Iteration 4: residual SS = 2.642325
Iteration 5: residual SS = 2.64232
Iteration 6: residual SS = 2.64232
Iteration 7: residual SS = 2.64232
Iteration 8: residual SS = 2.64232
```

Source	SS	df	MS
Model	12.8460151	2	6.42300754
Residual	2.64231988	64	.041286248
Total	15.488335	66	.234671742

```
Number of obs = 66
F( 2, 64) = 155.57
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.8294
Adj R-squared = 0.8241
Root MSE = .2031902
Res. dev. =25.08795
```

```
(fil5)
```

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
kref	.0094985	.0010217	9.30	0.000	.0074575 .0115395
Ea	48954.82	6959.039	7.03	0.000	35052.54 62857.09

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.10 – Folha de programa do modelo Weibull com dependência da temperatura para os flavonoides em solução de pH 5.

Dados do modelo de Higuchi

```
. program define nlfil6
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "kref Ea"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15)))*t^(1/2)
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nl fil6 F
(obs = 66)
```

```
Iteration 0: residual SS = 10.80398
Iteration 1: residual SS = 4.61079
Iteration 2: residual SS = 2.42291
Iteration 3: residual SS = 2.296553
Iteration 4: residual SS = 2.291339
Iteration 5: residual SS = 2.291155
Iteration 6: residual SS = 2.291149
Iteration 7: residual SS = 2.291149
Iteration 8: residual SS = 2.291149
Iteration 9: residual SS = 2.291149
```

Source	SS	df	MS
Model	13.197186	2	6.59859301
Residual	2.29114895	64	.035799202
Total	15.488335	66	.234671742

```
Number of obs = 66
F( 2, 64) = 184.32
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.8521
Adj R-squared = 0.8474
Root MSE = .1892068
Res. dev. = -34.4998
```

(fil6)

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
kref	.0541155	.0028238	19.16	0.000	.0484742 .0597568
Ea	22121.79	3796.446	5.83	0.000	14537.51 29706.06

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.11 – Folha de programa do modelo Higuchi com dependência da temperatura para os flavonoides em solução de pH 5.

Dados do modelo de Fick

```
. program define nlfil7
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "dref Ea"
3.         mac def dref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=(2/0.0004136)*($dref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15))))*t/3.1416)^(1/2)
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nl fil7 F
(obs = 66)
```

```
Iteration 0: residual SS = 4.14e+08
Iteration 1: residual SS = 80589.58
Iteration 2: residual SS = 940.0311
Iteration 3: residual SS = 69.49243
Iteration 4: residual SS = 12.93706
Iteration 5: residual SS = 3.37357
Iteration 6: residual SS = 2.315595
Iteration 7: residual SS = 2.291208
Iteration 8: residual SS = 2.291151
Iteration 9: residual SS = 2.291149
Iteration 10: residual SS = 2.291149
Iteration 11: residual SS = 2.291149
```

Source	SS	df	MS
Model	13.197186	2	6.59859301
Residual	2.29114895	64	.035799202
Total	15.488335	66	.234671742

```
Number of obs = 66
F( 2, 64) = 184.32
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.8521
Adj R-squared = 0.8474
Root MSE = .1892068
Res. dev. = -34.4998
```

```
(fil7)
```

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]	
dref	3.93e-10	4.11e-11	9.58	0.000	3.11e-10	4.75e-10
Ea	44243.67	7592.888	5.83	0.000	29075.13	59412.2

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.12 – Folha de programa do modelo Fick com dependência da temperatura para os flavonoides em solução de pH 5.

Anexo IV

• Quantificação dos flavonoides em solução de pH 6,5

Tabela 7.10 – Absorvância lida para os flavonoides em solução de pH 6,5 para o FQM.

Tempo (h)	Absorvância a 510 nm		Tempo (h)	Absorvância a 510 nm	
	5° C	15 °C		25° C	35 °C
0	0,000	0,000	0	0,000	0,000
24	0,000	0,010	2	0,003	0,000
	0,006	0,000		0,000	0,000
	0,000	0,000		0,000	0,000
28	0,022	0,003	4	0,009	0,007
	0,007	0,005		0,004	0,006
	0,017	0,002		0,007	0,007
48	0,006	0,008	21,5	0,015	0,014
	0,000	0,015		0,013	0,013
	0,006	0,009		0,014	0,014
72	0,009	0,019	24	0,010	0,000
	0,010	0,022		0,000	0,020
	0,011	0,020		0,011	0,000
96	0,017	0,019	28	0,006	0,011
	0,022	0,020		0,007	0,006
	0,014	0,021		0,007	0,010
168	0,002	0,010	48	0,005	0,021
	0,004	0,006		0,017	0,016
	0,003	0,012		0,010	0,034
			72	0,024	0,018
				0,020	0,018
				0,022	0,014

Tabela 7.11 – [Flavonoides] e respectivo desvio padrão em solução de pH 6,5 para o FQM.

Tempo (h)	[Flavonoides] para 5 °C (mg/mL EqC)	Desvio padrão para 5 °C	[Flavonoides] para 15 °C (mg/mL EqC)	Desvio padrão para 15 °C
0	0,000	0,000	0,000	0,000
24	0,002	0,004	0,000	0,000
28	0,014	0,008	0,004	0,002
48	0,007	0,000	0,012	0,004
72	0,011	0,001	0,023	0,002
96	0,020	0,005	0,023	0,001
168	0,003	0,001	0,012	0,002

Tempo (h)	[Flavonoides] para 25 °C (mg/mL EqC)	Desvio padrão para 25 °C	[Flavonoides] para 35 °C (mg/mL EqC)	Desvio padrão para 35 °C
0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0,008	0,003	0,008	0,001
21,5	0,016	0,001	0,015	0,001
24	0,012	0,001	0,023	0,013
28	0,008	0,000	0,012	0,001
48	0,015	0,006	0,027	0,011
72	0,025	0,002	0,019	0,003

• Modelização dos flavonoides em solução de pH 6,5

Tabela 7.12 – Dados para análise dos modelos dos flavonoides em solução de pH 6,5.

Tempo (h)	Temperatura (K)	$\frac{M_t}{M_\infty}$	Tempo (h)	Temperatura (K)	$\frac{M_t}{M_\infty}$
0	278,15	0	0	298,15	0
0	278,15	0	0	298,15	0
0	278,15	0	0	298,15	0
28	278,15	0,421053	2	298,15	0
48	278,15	0,368421	2	298,15	0
48	278,15	0,368421	4	298,15	0,4
72	278,15	0,526316	4	298,15	0,2
72	278,15	0,578947	4	298,15	0,32
72	278,15	0,631579	21,5	298,15	0,68
96	278,15	1	21,5	298,15	0,6
96	278,15	0,842105	21,5	298,15	0,64
			24	298,15	0,44
			24	298,15	0,48
			28	298,15	0,32
			28	298,15	0,32
			48	298,15	0,76
			48	298,15	0,44
			72	298,15	0,92
			72	298,15	1
0	288,15	0	0	308,15	0
0	288,15	0	0	308,15	0
0	288,15	0	0	308,15	0
28	288,15	0,12	2	308,15	0
28	288,15	0,24	2	308,15	0
28	288,15	0,08	2	308,15	0
48	288,15	0,36	4	308,15	0,347826
48	288,15	0,68	4	308,15	0,304348
48	288,15	0,4	4	308,15	0,347826
72	288,15	0,84	21,5	308,15	0,695652
72	288,15	1	21,5	308,15	0,652174
72	288,15	0,92	21,5	308,15	0,695652
96	288,15	0,84	24	308,15	1
96	288,15	0,92	28	308,15	0,521739
96	288,15	0,96	28	308,15	0,478261
			48	308,15	0,782609
			72	308,15	0,869565
			72	308,15	0,869565
			72	308,15	0,695652

Dados do modelo de Korsmeyer-Peppas

```
. program define nlfil4
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def s_1 "kref Ea n"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         mac def n =0.1
6.         exit
7.     }
8.     replace `1'=$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15)))*t^n
9. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nlfil4 F
(obs = 64)
```

```
Iteration 0: residual SS = 18.84066
Iteration 1: residual SS = 13.03285
Iteration 2: residual SS = 12.76716
Iteration 3: residual SS = 12.53264
Iteration 4: residual SS = 12.09631
Iteration 5: residual SS = 12.06221
Iteration 6: residual SS = 6.876362
Iteration 7: residual SS = 1.673133
Iteration 8: residual SS = 1.551149
Iteration 9: residual SS = 1.550635
Iteration 10: residual SS = 1.550628
Iteration 11: residual SS = 1.550628
Iteration 12: residual SS = 1.550628
```

Source	SS	df	MS
Model	18.0925757	3	6.03085858
Residual	1.55062837	61	.025420137
Total	19.6432041	64	.306925064

```
Number of obs = 64
F( 3, 61) = 237.25
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.9211
Adj R-squared = 0.9172
Root MSE = .1594369
Res. dev. =56.47013
```

(fil4)

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
kref	.0817245	.021483	3.80	0.000	.0387665 .1246824
Ea	10117.55	2682.961	3.77	0.000	4752.642 15482.47
n	.5322001	.0652472	8.16	0.000	.4017303 .6626699

Figura 7.13 – Folha de programa do modelo Korsmeyer-Peppas com dependência da temperatura para os flavonoides em solução de pH 6,5.

Dados do modelo de Weibull

```
. program define nlfil5
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "kref Ea"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=1-(exp(-$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15))))*t))
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nl fil5 F
(obs = 64)
```

```
Iteration 0: residual SS = 4.838901
Iteration 1: residual SS = 1.69192
Iteration 2: residual SS = 1.511645
Iteration 3: residual SS = 1.507793
Iteration 4: residual SS = 1.5077
Iteration 5: residual SS = 1.507698
Iteration 6: residual SS = 1.507698
Iteration 7: residual SS = 1.507698
```

Source	SS	df	MS
Model	18.1355065	2	9.06775325
Residual	1.50769762	62	.024317704
Total	19.6432041	64	.306925064

```
Number of obs = 64
F( 2, 62) = 372.89
Prob > F = 0.0000
R-squared = 0.9232
Adj R-squared = 0.9208
Root MSE = .1559413
Res. dev. =58.26703
```

```
(fil5)
```

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
kref	.0236448	.0017344	13.63	0.000	.0201778 .0271119
Ea	28320.29	4948.318	5.72	0.000	18428.75 38211.84

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.14 – Folha de programa do modelo Weibull com dependência da temperatura para os flavonoides em solução de pH 6,5 (obtido com StataIC 10).

Dados do modelo de Higuchi

```
. program define nlfil6
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "kref Ea"
3.         mac def kref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=$kref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15)))*t^(1/2)
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nl fil6 F
(obs = 64)
```

```
Iteration 0: residual SS = 15.98512
Iteration 1: residual SS = 5.362705
Iteration 2: residual SS = 3.810632
Iteration 3: residual SS = 1.608022
Iteration 4: residual SS = 1.557165
Iteration 5: residual SS = 1.557128
```

Source	SS	df	MS	
Model	18.0860765	2	9.04303826	Number of obs = 64
Residual	1.5571276	62	.025114961	F(2, 62) = 360.07
Total	19.6432041	64	.306925064	Prob > F = 0.0000
				R-squared = 0.9207
				Adj R-squared = 0.9182
				Root MSE = .158477
				Res. dev. =56.20244

(fil6)

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]	
kref	.0928515	.0034846	26.65	0.000	.0858859	.0998172
Ea	9761.355	2492.383	3.92	0.000	4779.152	14743.56

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.15 – Folha de programa do modelo Higuchi com dependência da temperatura para os flavonoides em solução de pH 6,5.

Dados do modelo de Fick

```
. program define nlfil7
1.     if "`1'" == "?" {
2.         mac def S_1 "dref Ea"
3.         mac def dref =0.01
4.         mac def Ea =200
5.         exit
6.     }
7.     replace `1'=(2/0.0004136)*($dref*(exp(-$Ea/8.314*(1/T-1/293.15)))*t/3.1416)^(1/2)
8. end
```

```
.
.
end of do-file
```

```
. nl fil7 F
(obs = 64)
```

```
Iteration 0: residual SS = 1.57e+08
Iteration 1: residual SS = 52155.48
Iteration 2: residual SS = 756.0084
Iteration 3: residual SS = 57.43203
Iteration 4: residual SS = 9.806968
Iteration 5: residual SS = 2.623836
Iteration 6: residual SS = 1.572667
Iteration 7: residual SS = 1.557133
Iteration 8: residual SS = 1.557128
```

Source	SS	df	MS	Number of obs =	64
Model	18.0860765	2	9.04303826	F(2, 62) =	360.07
Residual	1.5571276	62	.025114961	Prob > F =	0.0000
				R-squared =	0.9207
				Adj R-squared =	0.9182
				Root MSE =	.158477
				Res. dev. =	56.20244

(fil7)

F	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]	
dref	1.16e-09	8.69e-11	13.32	0.000	9.85e-10	1.33e-09
Ea	19522.71	4984.77	3.92	0.000	9558.296	29487.12

(SEs, P values, CIs, and correlations are asymptotic approximations)

Figura 7.16 – Folha de programa do modelo Fick com dependência da temperatura para os flavonoides em solução de pH 6,5.

Anexo V

• Parâmetros de caracterização dos filmes de quitosano a 1,25%

Tabela 7.13 – Parâmetros de caracterização da cor dos FQ.

	L					Média	Desvio
	1	2	3	4	5		
FQ1	96,47	96,45	96,78	96,20	96,51	96,48	0,21
FQ2	92,53	90,67	92,56	89,70	91,09	91,31	1,24
FQ3	96,40	96,76	96,86	96,82	97,26	96,82	0,31

	a					Média	Desvio
	1	2	3	4	5		
FQ1	-0,47	-0,47	-0,58	-0,60	-0,59	-0,54	0,07
FQ2	-0,51	-0,57	-0,46	-0,63	-0,57	-0,55	0,06
FQ3	-0,47	-0,63	-0,54	-0,56	-0,41	-0,52	0,08

	b					Média	Desvio
	1	2	3	4	5		
FQ1	4,74	4,76	4,90	5,13	4,77	4,86	0,16
FQ2	4,60	5,06	4,59	5,14	4,69	4,82	0,26
FQ3	4,51	5,18	4,58	4,87	4,76	4,78	0,27

Tabela 7.14 – Teor de humidade e solubilidade dos FQ.

	m_{cadinhos} (g)	m_{amostra} (g)	m_{cadinhos +} amostra (0h) (g)	m_{cadinhos +} amostra (24h) (g)	Humidade (%)	Média (%)	Desvio (%)
FQ1	23,8636	0,0144	23,878	23,877	6,9444	7,48	1,90
	24,1314	0,0165	24,1479	24,1464	9,0909		
	24,6913	0,0139	24,7052	24,7041	7,9137		
FQ2	25,0888	0,0165	25,1053	25,1038	9,0909		
	24,8181	0,0149	24,833	24,8316	9,3960		
	24,401	0,0136	24,4146	24,414	4,4118		
FQ3	24,0686	0,013	24,0816	24,0808	6,1538		
	23,4525	0,0117	23,4642	23,4636	5,1282		
	23,6696	0,0142	23,6838	23,6825	9,1549		
	m_{cadinhos +} amostra (72h) (g)	Solubilidade (%)	Média (%)	Desvio (%)			
FQ1	23,8731	29,1045	33,63	4,19			
	24,1421	28,6667					
	24,7003	29,6875					
FQ2	25,0978	40,0000					
	24,8271	33,3333					
	24,4095	34,6154					
FQ3	24,0761	38,5246					
	23,4595	36,9369					
	23,6784	31,7829					

Tabela 7.15 – Espessura dos FQ.

	Ensaio	Espessura (mm)	Média (mm)
FQ1	1	0,051	0,0429
	2	0,05	
	3	0,044	
	4	0,041	
	5	0,037	
	6	0,045	
	7	0,041	
	8	0,04	
	9	0,042	
	10	0,038	
FQ2	1	0,039	0,0434
	2	0,04	
	3	0,038	
	4	0,053	
	5	0,047	
	6	0,049	
	7	0,04	
	8	0,043	
	9	0,039	
	10	0,046	
FQ3	1	0,044	0,0432
	2	0,037	
	3	0,034	
	4	0,054	
	5	0,047	
	6	0,042	
	7	0,043	
	8	0,053	
	9	0,04	
	10	0,038	

- **Parâmetros de caracterização dos filmes de quitosano a 1,25% com microcápsulas**

Tabela 7.16 – Parâmetros de caracterização da cor dos FQM.

	L					Média	Desvio
	1	2	3	4	5		
FQM1	69,62	68,69	66,75	66,04	57,96	65,81	4,62
FQM2	69,10	73,97	71,35	61,67	64,47	68,11	5,01
FQM3	65,81	67,71	58,33	64,14	63,59	63,92	3,51

	a					Média	Desvio
	1	2	3	4	5		
FQM1	7,18	7,98	8,68	8,22	11,10	8,63	1,48
FQM2	10,29	7,20	8,00	12,95	11,59	10,01	2,41
FQM3	13,47	10,72	14,91	11,65	13,02	12,75	1,63

	b					Média	Desvio
	1	2	3	4	5		
FQM1	7,95	8,86	9,80	9,10	11,18	9,38	1,21
FQM2	13,85	10,17	9,68	13,89	11,84	11,89	1,98
FQM3	16,44	14,68	16,13	13,41	14,91	15,11	1,22

Tabela 7.17 – Teor de humidade e solubilidade dos FQM.

	m_{cadinhos} (g)	m_{amostra} (g)	m_{cadinhos +} amostra (0h) (g)	m_{cadinhos +} amostra (24h) (g)	Humidade (%)	Média (%)	Desvio (%)
FQM1	1,5401	0,0407	1,5808	1,5756	12,7764	13,41	0,57
	1,5491	0,0475	1,5966	1,5901	13,6842		
	1,5304	0,0443	1,5747	1,5687	13,5440		
FQM2	1,5084	0,0428	1,5512	1,5458	12,6168		
	1,5324	0,0355	1,5679	1,5633	12,9577		
FQM3	1,5478	0,0357	1,5835	1,5784	14,2857		
	1,5293	0,0395	1,5688	1,5634	13,6709		
	1,548	0,0423	1,5903	1,5845	13,7116		
	m_{cadinhos +} amostra (72h) (g)	Solubilidade (%)	Média (%)	Desvio (%)			
FQM1	1,5696	16,9014	17,28	1,29			
	1,5836	15,8537					
	1,5623	16,7102					
FQM2	1,5388	18,7166					
	1,5572	19,7411					
FQM3	1,5734	16,3399					
	1,5576	17,0088					
	1,5783	16,9863					

Tabela 7.18 – Espessura dos FQM.

	Ensaio	Espessura (mm)	Média (mm)
FQM1	1	0,433	0,4293
	2	0,401	
	3	0,403	
	4	0,441	
	5	0,417	
	6	0,393	
	7	0,427	
	8	0,421	
	9	0,487	
	10	0,47	
FQM2	1	0,454	0,4049
	2	0,392	
	3	0,429	
	4	0,435	
	5	0,365	
	6	0,39	
	7	0,463	
	8	0,376	
	9	0,355	
	10	0,390	
FQM3	1	0,326	0,4066
	2	0,357	
	3	0,399	
	4	0,4	
	5	0,391	
	6	0,475	
	7	0,368	
	8	0,476	
	9	0,398	
	10	0,476	