AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

APLICAÇÃO DA IRRADIAÇÃO NA FORMAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS PROTÉICOS

SUSY FREY SABATO

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Doutor em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações.

Orientadora:
Dra. Nélida Lúcia del Mastro

São Paulo
2000

).5

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

APLICAÇÃO DA IRRADIAÇÃO NA FORMAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS PROTÉICOS

SUSY FREY SABATO

IPEN
LIVRO
Nº 2198
BIBLIOTECA

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicação

Orientadora:
Dra. Nélida Lúcia del Mastro

SÃO PAULO
2000

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Dedico este trabalho aos meus queridos

José Augusto

Rodrigo

Renato

Brian

por ordem de entrada em minha vida.

"Excelência é uma habilidade conquistada através de treinamento e prática. Nós somos aquilo que fazemos repetidamente. Excelência, então, não é um ato, mas um hábito."

(Aristóteles, 384-322 a.C)

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, na pessoa de seu superintendente Dr. Cláudio Rodrigues, pela oportunidade de realizar este trabalho;

À Dra. Nélida Lúcia del Mastro, minha orientadora, pelo apoio e incentivo ao meu trabalho e pela amizade durante estes anos;

À Prof. Dra. Monique Lacroix, pesquisadora chefe do Institut Armand-Frapier, que permitiu estagiar em seus laboratórios e que contribuiu com valiosas discussões;

Aos colegas canadenses que me incentivaram e me apoiaram durante meu treinamento;

À Nordion, que realizou as operações de irradiação no Canadian Irradiation Center;

À Agência Internacional de Energia Atômica, pela bolsa concedida para meu treinamento no Canadá;

Aos meus colegas do IPEN que direta ou indiretamente colaboraram no meu trabalho;

Aos meus pais, que sempre incentivaram meus estudos e à minha sogra (in memorian), que tanto gostaria de participar desta conquista;

Aos meus queridos José Augusto, Rodrigo e Renato, que pacientemente e com compreensão aguardaram meu tão demorado retorno,

meus sinceros agradecimentos

APLICAÇÃO DA IRRADIAÇÃO NA FORMAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS PROTÉICOS

Susy Frey Sabato

RESUMO

Na última década tem havido considerável interesse no desenvolvimento de filmes comestíveis a base de proteínas para aplicação na indústria de alimentos e como substituto aos filmes plásticos tradicionais. O emprego da soja e do soro de leite na formação desses filmes tem sido pesquisado, empregando processos químicos, térmicos e enzimáticos. Apenas recentemente a irradiação gama foi estudada na formação de filmes comestíveis a partir de caseinatos, relatando aumento da fôrça de coesão entre as moléculas de proteína, devido às ligações cruzadas geradas.

Este trabalho objetivou verificar o papel da irradiação na formação de filmes comestíveis a base de proteína isolada de soja (SPI) sozinha e em misturas complexas, isto é, misturadas com proteína isolada de soro de leite (WPI), com carboximetil celulose (CMC) e com álcool polivinílico (PVA).

A irradiação gama melhorou significativamente as propriedades mecânicas dos filmes estudados. O comportamento mecânico é fortemente relacionado com a formulação, apresentando sinergia entre a irradiação gama e o CMC, principalmente para filmes a base de proteína isolada de soja. Filmes a base SPI apresentaram tendência a decrescer a permeabilidade ao vapor de água quando irradiados. O CMC mostrou melhorias significativas na permeabilidade para filmes a partir de SPI e a partir de mistura de SPI com WPI.

APPLICATION OF GAMMA IRRADIATION ON FORMING PROTEIN-BASED EDIBLE FILMS

Susy Frey Sabato

ABSTRACT

In the last decade considerable interest has been addressed to the development of protein-based edible films due to their application in the food industry, as a substitute to traditional plastic films. The use of soy and whey proteins to form those films has been investigated, using heat, chemical and enzymatic processes. Gamma irradiation was recently reported to form caseinate-based edible films, due to the increase of the cohesive strength of the proteins by the formation of cross-links.

This work aimed to verify the role of the gamma irradiation in the process of forming edible films from soy protein isolate (SPI) alone and in complex mixtures, that is, mixed with whey protein isolate (WPI), with carboxymethil cellulose (CMC) and with poly(vynil)alcohol (PVA).

Gamma irradiation treatment improved significantly the mechanical properties for all films. The mechanical behavior is strongly related to the formulation, showing synergy between the gamma irradiation and the CMC, mainly for SPI-based films. SPI-based films presented a trend to decrease the water vapor permeability values when irradiated. The CMC addition showed significant improvements on the permeability for films from SPI and from the mixture of SPI with WPI.

SUMÁRIO

		Página
1	**INTRODUÇÃO**	
1.1	Filmes comestíveis: sua inserção no contexto atual	1
1.2	Objetivo	4
2	**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**	
2.1	Filmes comestíveis: aspectos gerais	5
2.2	Filmes baseados em proteínas	8
2.3	Proteínas	13
2.3.1	Proteína isolada de soja (SPI)	16
2.3.2	Proteína isolada de soro de leite	17
2.4	Outros componentes de interesse para o estudo de filmes comestíveis	18
2.4.1	Carboximetil celulose (CMC)	18
2.4.2	Álcool polivinilalcool (PVA)	19
2.4.3	Glicerol	20
2.5	O processo de irradiação	21
2.5.1	Definição e tipos de radiação	21
2.5.2	Vantagens e desvantagens das diferentes fontes de irradiação.	22
2.5.2.1	Vantagens e desvantagens da fonte de radioisótopo (^{60}Co)	22
2.5.2.2	Vantagens e desvantagens da fonte de feixe de elétrons	23
2.5.3	Quantidade de radiação (dose)	23
2.5.4	Interação da radiação com proteínas	25
2.5.5	Aspectos regulatórios sobre o processo de irradiação	29
2.5.6	Aspectos nutricionais	31
2.5.7	Aceitação dos consumidores	32
2.6	Propriedades mecânicas	32
2.6.1	Resistência à perfuração e deformação	32
2.6.2	Viscoelasticidade	34
2.7	Permeabilidade ao vapor de água (WVP)	35
2.8	Cromatografia por permeação de gel	37
3	**MATERIAIS E MÉTODOS**	
3.1	Materiais	39
3.2	Ensaios preleminares	40

SUMÁRIO

		Página
1	**INTRODUÇÃO**	
1.1	Filmes comestíveis: sua inserção no contexto atual	1
1.2	Objetivo	4
2	**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**	
2.1	Filmes comestíveis: aspectos gerais	5
2.2	Filmes baseados em proteínas	8
2.3	Proteínas	13
2.3.1	Proteína isolada de soja (SPI)	16
2.3.2	Proteína isolada de soro de leite	17
2.4	Outros componentes de interesse para o estudo de filmes comestíveis	18
2.4.1	Carboximetil celulose (CMC)	18
2.4.2	Álcool polivinilalcool (PVA)	19
2.4.3	Glicerol	20
2.5	O processo de irradiação	21
2.5.1	Definição e tipos de radiação	21
2.5.2	Vantagens e desvantagens das diferentes fontes de irradiação.	22
2.5.2.1	Vantagens e desvantagens da fonte de radioisótopo (^{60}Co)	22
2.5.2.2	Vantagens e desvantagens da fonte de feixe de elétrons	23
2.5.3	Quantidade de radiação (dose)	23
2.5.4	Interação da radiação com proteínas	25
2.5.5	Aspectos regulatórios sobre o processo de irradiação	29
2.5.6	Aspectos nutricionais	31
2.5.7	Aceitação dos consumidores	32
2.6	Propriedades mecânicas	32
2.6.1	Resistência à perfuração e deformação	32
2.6.2	Viscoelasticidade	34
2.7	Permeabilidade ao vapor de água (WVP)	35
2.8	Cromatografia por permeação de gel	37
3	**MATERIAIS E MÉTODOS**	
3.1	Materiais	39
3.2	Ensaios preleminares	40

3.3 Procedimento para formação de filmes 41
3.3.1 Preparação de soluções estoques 41
3.3.2 Procedimento 42
3.3.3 Irradiações 43
3.4 Medida de peso molecular por cromatografia por exclusão de tamanho 44
3.5 Medidas de propriedades mecânicas 44
3.5.1 Medidas de resistência à perfuração e deformação no ponto de perfuração 45
3.5.2 Medidas de viscoelasticidade 46
3.6 Medidas de permeabilidade ao vapor de água (WVP) 46
3.7 Análise estatística dos dados 49
4 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**
4.1 Resultados dos ensaios preliminares 50
4.2 Resultados do peso molecular por cromatografia por exclusão de tamanho 51
4.3 Resultados de propriedades mecânicas: resistência à perfuração, deformação no ponto de perfuração e viscoelasticidade 53
4.4 Resultados de permeabilidade ao vapor de água 61
5 **CONCLUSÕES** 64
Apêndice 1 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S..... 66
Apêndice 2 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S1.. 67
Apêndice 3 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S2... 68
Apêndice 4 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW. 69
Apêndice 5 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW1 70
Apêndice 6 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW2 71
Apêndice 7 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S irradiado 72
Apêndice 8 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S1 irradiado 73
Apêndice 9 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S2 irradiado 74
Apêndice 10 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW irradiado 75
Apêndice 11 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW1 irradiado 76

Apêndice 12 - Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW2 irradiado 77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 78
Anexos 91

LISTA DE TABELAS

		Pág.
Tabela 2.1	Propriedades funcionais possíveis de filmes e coberturas comestíveis	5
Tabela 2.2	Valor nutricional de algumas proteínas	15
Tabela 2.3	Composição de amino ácidos da proteína isolada de soja e da proteína isolada do soro de leite	17
Tabela 2.4	Lista de materiais de embalagem para uso durante a irradiação de alimentos pré-embalados aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA).	31
Tabela 3.1	Condições avaliadas nos ensaios preliminares.	41
Tabela 3.2	Tipos de filmes estudados e suas composições.	45
Tabela 4.1	Resistência à perfuração de filmes a base de proteínas.	54
Tabela 4.2	Deformação no ponto de perfuração de filmes a base de proteínas.	55
Tabela 4.3	Viscoelasticidade de filmes a base de proteínas.	58
Tabela 4.4	Efeito da irradiação gama (32kGy) no comportamento mecânico de filmes baseados em SPI e na mistura de SPI e WPI (1:1).	60
Tabela 4.5	Permeabilidade ao vapor de água (WVP) de filmes a base de proteínas.	61

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 3.1	Secagem de filmes.	43
Figura 3.2	Medição de permeabilidade ao vapor de água.	47
Figura 3.3	Curva de ganho de peso em função do tempo para estabelecer o período de condição estável.	48
Figura 4.1	Perfil de eluição de SPI (5%) aquecida(a) e aquecida e irradiada (32kGy) (b).	52
Figura 4.2	Perfil de eluição da mistura (5%) de SPI e WPI (1:1) aquecida (a) e aquecida e irradiada a 32kGy (b).	52
Figura 4.3	Resistência à perfuração de filmes à base de SPI e mistura de SPI e WPI.	53
Figura 4.4	Deformação no ponto de perfuração de filmes à base de SPI e mistura de SPI e WPI.	56
Figura 4.5	Viscoelasticidade de filmes à base de SPI e mistura de SPI e WPI.	58
Figura 4.6	Permeabilidade ao vapor de água (WVP) de filmes à base de SPI e mistura de SPI e WPI.	62

LISTA DE ANEXOS

		Pág.
Anexo 1	Definições de termos relativos a propriedades mecânicas	91
Anexo 2	Doses de irradiação e finalidades por classe de alimentos.	92

SIGLAS E ABREVIATURAS

CMC	Carboxi metil celulose
FAO	Organização para Agricultura e Alimentos das Nações Unidas
FDA	"Food and Drug Administration"
GPC	Cromatografia por permeação em gel (ver SEC)
Gli	Glicerol
Gy	Gray; unidade para dose de energia absorvida
IAEA	Agência Internacional de Energia Atômica ("International Atomic Energy Agency")
ICGFI	International consultative group on food irradiation
IFEC	Intituto Francês de Embalagem
MeV	Unidade de energia (milhão de elétron volt)
PD	Deformação no ponto de perfuração ("Puncture deformation")
PDCAAS	Pontuação corrigida de amino ácidos ("Protein Digestibility – Corrected Amino Acid Score")
PEG	Polietileno glicol
PEO	Polioxietileno
PER	Índice de eficiência protéica ("Protein Efficiency Ratio")
PET	Poli(tereftalato de etileno)
PS	Resistência à perfuração ("Puncture strength")
PVA	Álcool polivinílico
SEC	Cromatografia por exclusão de tamanho
SPI	Proteína isolada de soja ("Soy Protein Isolate")
WHO	Organização Mundial da Saúde ("World Health Organization")
WPI	Proteína isolada de soro de leite ("Whey Protein Isolate")
WVP	Permeabilidade ao vapor de água ("Water Vapor Permeability")

1 INTRODUÇÃO

1.1 Filmes comestíveis: sua inserção no contexto atual

A expansão das indústrias de alimentação vem causando um grande impacto nas indústrias de embalagem, uma vez que os alimentos representam dois terços do mercado de embalagem. De acordo com um estudo recente do Intituto Francês de Embalagem (IFEC), os produtos alimentícios constituem 88% do mercado de vidro, 63% do plástico, 51% de papel e cartão e 78% dos metais. No setor de madeira, 46% do material são destinados aos alimentos (EMBANEWS, 1997). Uma pesquisa americana mostra o grau de exigência crescente por parte dos consumidores com relação à embalagem, impondo mais requisitos quanto à proteção, uso e material (GLOBAL DESIGN NETWORK, 1997).

Neste contexto, os filmes para serem utilizados em contato com o alimento têm sido pesquisados no mundo inteiro e vêm apresentando extraordinário desenvolvimento, acompanhando a tendência do mercado. Grande diversidade de materiais para a formação desses filmes são estudados e empregados para atingir diferentes funções (KATZ, 1998). Existem, por exemplo, filmes que favorecem a conservação de frutas, modificando a atmosfera ao seu redor, mantendo a umidade relativa, evitando o ressecamento e promovendo uma permeabilidade seletiva de gases. Há 30 anos foram concebidos, mas somente hoje a tecnologia permite sua utilização.

Para atender a requisitos específicos de preservação de alimentos são bastante empregados materiais poliméricos compostos de diversas camadas. No caso particular da irradiação de alimentos, o Food and Drug Administration (FDA) dos EUA possui regulamentação contendo a lista de materiais aprovados para estar em contato com alimentos quando irradiados. O exército dos EUA concluiu que o melhor material para esterilização de alimentos por irradiação (doses maiores que 25kGy) era: 25μm

nylon 6 + 6μm copolímero de etileno-ácido acrílico + 9μm Al + 6μm sistema epoxi-poliéster + 62μm PET-PE (U.S. CODE OF FEDERAL REGULATIONS, 1985).

Esse exemplo de embalagem complexa conduz a um outro aspecto importante, que é o desenvolvimento de tecnologias que minimizem o impacto ambiental, seja pela redução de efluentes poluentes, pela redução de descartes, pela reciclagem de materiais ou pela redução de consumo de energia gerada por fontes não renováveis. Dentro de um mercado globalizado, este pode ser um fator de sucesso, ou não, de um produto.

Embora já existam esforços na reutilização e reciclagem de materiais de embalagens, como exemplo, a regulamentação européia, o consumidor entende a embalagem plástica como um produto não renovável, não biodegradável e nem reciclável (KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997).

No Brasil a situação da reciclagem é grave, pois apenas 2% das 90mil toneladas de lixo doméstico produzido diariamente são reciclados; e somente 10% desse total são depositados em aterros sanitários oficiais (INFORMATIVO ABCQ, 1997). FARRO (1997) relata que 15% dos materiais plásticos, no Brasil, são reciclados, porém considera, essencialmente, a reciclagem de garrafas de bebidas (poli(tereftalato de etileno) - PET) sem mencionar a situação de filmes multicamadas cuja reciclagem é complexa e onerosa. Dos 2,2 milhões de toneladas de resíduos plásticos despejados no meio ambiente a cada ano, só no estado de São Paulo são descartadas 900 mil toneladas anuais, das quais 40% de plásticos derivados das indústrias de embalagens (GAZETA MERCANTIL, 1998).

Os chamados filmes ou coberturas comestíveis são elaborados a partir de materiais considerados seguros para a saúde e podem ficar em contato com o alimento e ser ingeridos junto com o alimento. "Pratos e talheres comestíveis" feitos de polpa de maçã foram empregados na olimpíada (de inverno) de Nagano, em 1998 (O ESTADO DE SÃO PAULO, 1998).

Polímeros biodegradáveis obtidos a partir do amido de milho e do açúcar de beterraba tem sido desenvolvidos para substituir alguns plásticos como o polietileno (sacos de lixo), o poliestireno (espumas), o poli(tereftalato de etileno) (vasilhames) (GAZETA MERCANTIL, 1997). O uso de filmes biodegradáveis não se restringe apenas a alimentos.

Filmes comestíveis e biodegradáveis se constituem em boa alternativa para reduzir a quantidade de material de embalagem. Uma cobertura comestível que atue eficientemente como barreira contra umidade, oxigênio, ou aroma, permite que uma embalagem plástica multicamadas, cuja reciclagem é difícil, passe a ser de camada única. Artigos recentes enfatizam este aspecto da reciclabilidade utilizando filmes ou coberturas comestíveis e aspectos de biodegradabilidade (MILLER e KROCHTA, 1997; KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997; FISHMAN, 1997; McHUGH *et al.*, 1996; MATÉ *et al.*, 1996; HWANG e DAMODARAN, 1997; PISKIN, 1994; SWIFT, 1993; KAPLAN *et al.*, 1993).

O Instituto Francês de Embalagem e de Acondicionamento menciona a multiplicação das embalagens inteligentes como uma das principais inovações para os próximos dez anos, entre as quais se encontram as embalagens comestíveis, inteiramente biodegradáveis, à base de proteínas texturizadas, que farão parte do produto como se fôsse a pele de uma fruta, e que assegurarão a devida proteção, podendo ser retirada ou degustada (LA TRIBUNE, 1996).

O principal interesse em tratar alimentos com radiação ionizante é garantir sua preservação, através da inativação de diversos tipos de microorganismos que podem contaminar o alimento e causar sua deterioração. A grande vantagem da irradiação é justamente preservar os alimentos através de um processo limpo, a frio, que não deixa resíduos, e principalmente, não se torna radioativo, já que as energias envolvidas no processo são insuficientes para isso (ver item 2.5.1).

A irradiação de alimentos pode ter outras finalidades: retardar o amadurecimento ou senescência de frutas e vegetais, inibir o brotamento de bulbos, garantir a descontaminação ou desinfestação com relação a bactérias, fungos e insetos e ainda, garantir uma mudança química no alimento em si de forma que tal mudança melhore alguma característica do alimento ou de seu processamento. Por outro lado, o processo de irradiação gama tem também aplicações na área de polímeros, onde a reticulação (ligações cruzadas) das moléculas causada pela radiação confere melhoria às propriedades dos materiais.

1.2 Objetivo

O objetivo deste trabalho é estudar os efeitos da irradiação na formação de filmes comestíveis formulados a partir de proteínas. As proteínas empregadas são de origem vegetal (soja) e de origem animal (soro do leite).

A reticulação de proteína (polímero natural) pela irradiação, com a finalidade de formar filmes comestíveis é inédita no País e em fase inicial de desenvolvimento no Canadá. As pesquisas canadenses tem enfatizado o uso da caseína (proteína do leite) e o soro do leite. O emprego da soja combinado com a irradiação na formação de filmes comestíveis continua sendo uma inovação.

Cabe ressaltar, que o Brasil é um grande produtor de soja e o foco deste trabalho é mais voltado para esta proteína, estudando-se aspectos que contribuam para a formação de filmes a partir da soja. A incorporação de componentes e do próprio processo de irradiação na formação dos filmes é o principal estudo deste trabalho, com a finalidade de se observar as contribuições individuais de cada fator bem como o sinergismo entre eles.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Filmes comestíveis: aspectos gerais

A demanda crescente de alimentos, com qualidade superior e tempo de prateleira mais longo, associada às necessidades de redução e de reciclabilidade da embalagem, tem levado a um aumento em pesquisas de filmes comestíveis.

Os filmes e coberturas comestíveis baseados em proteínas do leite, por exemplo, apresentam um excelente valor nutricional, um potencial crescente em sua aceitação e amplo uso dos produtos lácteos (FOX 1989). A necessidade de proteínas, para a população mundial, esperada para o ano 2000, indica um déficit de aproximadamente 100 milhões de refeições ricas em proteínas (expressas em termos de refeições de feijão-soja (soybean) contendo 44% de proteína) (FENNEMA, 1985).

Geralmente, um filme comestível é definido como uma camada fina de material comestível formado sobre o alimento como uma cobertura; quando pré-formado é colocado sobre o alimento ou no meio de seus componentes.

A Tabela 2.1 apresenta uma lista de propriedades funcionais de coberturas e filmes comestíveis (KESTER e FENNEMA, 1986).

Tabela 2.1 - Propriedades Funcionais Possíveis de Filmes e Coberturas Comestíveis

Retardar a migração da umidade
Retardar o transporte de gás (O_2, CO_2)
Retardar a migração de óleo e gordura
Retardar o transporte de soluto
Melhorar as propriedades mecânicas e de manuseio de alimentos
Proporcionar integridade estrutural aos alimentos
Reter componentes flavorizantes voláteis
Carregar aditivos aos alimentos

Filmes comestíveis podem ser usados como barreira para gases e vapor de água. Para isto eles são colocados tanto na superfície do alimento, por exemplo, na cobertura de frutas, como no interior do alimento, separando componentes com atividade de água marcadamente diferente.

Primeiramente, a função é restringir a perda da umidade da fruta para o ambiente (VICENTINI *et al.*, 1999) ou diminuir a absorção do oxigênio pela fruta e conseqüentemente diminuir a respiração (KESTER E FENEMMA, 1986). Em última instância, o filme pode servir para estabilizar os gradientes de atividade de água e preservar as propriedades de textura diferentes para cada componente do alimento. Por exemplo, um filme comestível poderia ser usado para separar o componente crocante de uma pizza do componente úmido (semi-sólido) (LABUZA E HYMAN, 1998; KAMPER E FENNEMA, 1985).

Filmes comestíveis podem ser usados como coberturas protetoras para ingredientes alimentícios que são susceptíveis à oxidação. Coberturas de polissacarídeos aplicadas a alimentos contendo nozes constituem um exemplo (MURRY E LUFT, 1973).

Diminuir a migração de lipídeos é outra aplicação potencial para filmes comestíveis. Migração de óleos e gorduras podem ser um problema na indústria de doces, especialmente em produtos envolvendo chocolate. Por exemplo, se o óleo do recheio de pasta de amendoim migra para a cobertura de chocolate, isto provocará um efeito adverso nas propriedades do chocolate (NELSON E FENNEMA, 1991; PAULINKA, 1986).

Filmes e coberturas comestíveis podem também melhorar as propriedades mecânicas de manuseio, ou a integridade estrutural de um alimento. No caso de pizzas, onde a cobertura é constituída por diversos componentes, um filme comestível poderia ser usado para segurar esses componentes em seus lugares durante a distribuição do produto. As coberturas podem dar proteção física aos produtos propensos a danos durante o transporte, como no caso de frutas e vegetais.

Um estudo da resistência da casca de ovos foi realizado, avaliando as propriedades mecânicas e de barreira quando foram aplicadas diferentes coberturas. As coberturas a base de proteínas melhoraram as propriedades mecânicas das cascas, reduzindo perdas econômicas devido a quebras (WONG *et al.*, 1996).

Aditivos alimentares, tais como sabores, agentes antimicrobianos, antioxidantes e cor podem ser incorporados aos filmes comestíveis e usados para controlar taxa de liberação desses aditivos no alimento (KROCHTA, *et al.*, 1994).

Existem vários métodos para desenvolver coberturas e filmes comestíveis. De forma geral, eles se distingüem pela variação do material (componente) principal envolvido, que pode pertencer a uma das seguintes classes: celulose, amido, pectinatos, polissacarídeos, gelatina, proteína do trigo, proteínas do leite, proteína da soja, e outras. Para cada material de partida, existe um método diferente onde as condições de desenvolvimento, de controle e os demais componentes a serem envolvidos variam.

Para o desenvolvimento de um filme comestível, diversos tipos de agentes formadores podem ser empregados. KESTER e FENNEMA (1986) apresentam os agentes (polissacarídeos, proteínas e lipídeos) e, para cada um destes, detalham os tipos de filmes, a preparação, as propriedades e as aplicações. KROCHTA e MULDER-JOHNSTON (1997) relacionaram para cada filme comestível ou biodegradável, o principal componente do filme, o custo e as principais características. Para cada classe de filme detalham, ainda, sua função e suas aplicações.

GREENER e FENNEMA (1989b) estudaram a propriedade de barreira contra a umidade em filmes comestíveis de duas camadas, compostas de metilcelulose e cera de abelha. Realizaram ensaios em condições extremas para simular as condições de transporte e manuseio do alimento. PARK *et al.* (1993) verificaram os efeitos da massa molar, da espessura e do plastificante em filmes comestíveis de metilcelulose e de hidroxipropilcelulose.

McHUGH *et al.*(1996) estudaram as propriedades de permeabilidade em filmes comestíveis feitos a partir de purê de frutas e as comparou com outros filmes comestíveis e sintéticos.

GHAOUTH *et al.* (1991) empregaram o chitosan, um polissacarídeo de alta massa molar, como cobertura para morangos a fim de comparar sua ação anti fungos em relação ao fungicida comercialmente empregado. Esta característica fungicida, associada à sua capacidade de modificar a atmosfera interna nos tecidos, se constitui num fator de segurança quando um rigoroso controle da temperatura e de distribuição não podem ser assegurados.

BALDWIN *et al.*, (1995) estudaram laranjas com cobertura a base de polissacarídeo para verificar o nível de gases internos (O_2 e CO_2), voláteis, perda de água, Brix e ácido ascórbico, comparando com controle e com cobertura comercial a base de verniz (laca).

2.2 Filmes baseados em proteínas

A capacidade de diversas substâncias protéicas em formar filmes vem sendo utilizadas em aplicações industriais há muito tempo. Os antigos egípcios, chineses, gregos e romanos usavam a caseína em colas. Com o tempo a caseína passou a ser utilizada em tintas, acabamentos de couro e recobrimentos em papel. A gelatina foi um dos primeiros materiais empregado na formação de paredes de cápsulas poliméricas em microencapsulação.

Mais recentemente, a indústria alimentícia reconheceu que proteínas com propriedades de formação de filmes poderiam ser empregadas no desenvolvimento de filmes e coberturas comestíveis uma vez que sua comestibilidade fosse mantida em cada etapa de preparação do filme ou cobertura. Duas aplicações comerciais deste conceito incluem a extrusão de colágeno reconstituído para invólucro de produtos cárneos (lingüiças) e o uso de cobertura a base de grãos de cereal ("corn zein") para nozes e itens de confeitaria.

Embora existam numerosos estudos sobre propriedades funcionais de proteína de soja, a maioria deles foi conduzida usando sistemas simples que contém somente a proteína dispersa em água. Maiores informações sobre o comportamento funcional da proteína isolada de soja em sistemas complexos são necessárias, envolvendo outros tipos componentes como, outras proteínas, lipídeos, carboidratos, etc (KINSELLA, 1979; AOKI *et al.*, 1984).

As referências mais antigas sobre filmes a partir da soja tratam das condições em que os filmes são formados, os principais fatores que interferem na formação, tais como pH, temperatura e tempo de aquecimento. As referências mais recentes passam a analisar como se comportam misturas complexas contendo soja e outros componentes (DEMETRIADES E McCLEMENTS, 1999).

A seguir são apresentados trabalhos que envolveram a soja e o soro de leite, separados ou misturados, para dar uma visão das diferentes pesquisas que vem sendo estudadas no mundo.

AVENA-BUSTILLOS e KROCHTA (1993) estudaram filmes baseados em caseína (a principal proteína do leite). As propriedades funcionais desejadas e a redução da permeabilidade do vapor ao água foram obtidas com formulação e modificação da proteína, através de ajuste de pH, reticulação com cálcio e incorporação de lipídios. Estes filmes tem a vantagem da caseína formar emulsão aquosa com os lipídios estudados, o que facilita sua aplicação como cobertura em alimentos à temperatura ambiente.

McHUGH, T.H. e KROCHTA, J.M. (1994a) discute diversos aspectos sobre filmes e coberturas comestíveis a partir de proteína do leite, apresentando comparações de suas permeabilidades (ao vapor de água e ao oxigênio) e propriedades mecânicas, com as de polímeros sintéticos.

McHUGH, *et al.* (1994) estudaram os efeitos da umidade relativa em filmes a partir de soro de leite, com o uso de diferentes plastificantes: glicerol, polietileno glicol e sorbitol.

MATÉ e KROCHTA (1996) desenvolveram uma cobertura comestível para amendoins a partir de solução contendo proteína de soro de leite. Estudos de permeabilidade, espessura e formulação levaram à conclusão de que essa cobertura aumenta o tempo de prateleira. Pesquisas adicionais devem ser feitas com o objetivo de reduzir a quantidade de plastificante.

AVENA-BUSTILLOS *et al.* (1997) estudaram a respiração, a produção de etileno e a resistência ao vapor da água em maçãs e aipos (cortados), que foram recobertos com filmes comestíveis a partir de caseinato com monoglicerídeo acetilado.

Os filmes a partir de soja produzidos tradicionalmente no oriente passaram a ser objeto de estudo científico. Os primeiros trabalhos sobre a formação propriamente dos filmes, envolveram estudos sobre parâmetros básicos.

BATES E WU (1975) determinaram a qualidade protéica de filmes preparados a partir da soja vegetal e de frações provenientes do processo de formação de filme. A otimização desses filmes foi estudada por eles, considerando a extração da proteína da soja em água e os diversos fatores envolvidos (WU E BATES, 1972). A fim de maximizar a eficiência de incorporação da proteína em filmes, a solução de partida deve ter um pH entre 8 e 9,5; a concentração da proteína deve ser entre 4 e 5%, e os sólidos totais, incluindo lipídeos e carboidratos, até 9% (WU E BATES, 1973). FLINT E JOHNSON (1981) estudaram a formação de filmes de proteína isolada de soja na faixa de pH de 1 a 10.

Alguns trabalhos já focalizavam o estudo das propriedades funcionais de misturas de proteínas. AOKI, *et al.*, (1984) verificaram a estabilidade da emulsão quando a proteína de soja foi misturada com o caseinato de sódio.

SIAN E ISHAK (1990) pesquisaram o efeito de vários pHs, da composição química e da resistência à fervura na formação de filmes a partir de leite extraído da soja.

GENNADIOS E WELLER (1991) apresentam uma revisão de diversas preparações de filmes comestíveis a partir de leite de soja e de proteína isolada de soja.

Por volta do início da década de 1990, os estudos de filmes a partir da proteína de soja começam a envolver outros componentes formando misturas mais complexas. BRANDENBURG *et al.* (1993) formaram filmes a partir de proteína isolada de soja com e sem tratamento alcalino, a fim de comparar as diferenças nas propriedades mecânicas e na permeabilidade ao vapor de água.

GENNADIOS *et al.* (1993) estudaram a relação da permeabilidade ao oxigênio com a temperatura de filmes a partir da mistura de proteína isolada de soja com glúten de trigo. Em outro estudo estudaram esses filmes quanto a sua tração de ruptura, alongamento na ruptura e permeabilidade ao vapor de água (GENNADIOS *et al.*, 1993). WERE *et al.* (1999) também misturaram esses dois componentes juntamente com a adição de cisteína, verificando as propriedades mecânicas e de barreira (vapor de água e oxigênio).

STUCHELL e KROCHTA (1994) pesquisaram o efeito do calor e de enzimas nas propriedades fisicas e de barreira contra umidade em filmes comestíveis de proteína de soja. Uma das propriedades não se comportou como esperado e os autores sugerem a utilização da enzima transglutaminase que é bem específica no modo de ação e cuja reticulação pode ser facilmente monitorada.

RHIM *et al.* (1999), e SHIH (1994) verificaram os efeitos da interação de proteína isolada de soja com polissacarídeo (alginato e propilenoglicol alginato) na formação dos filmes multicomponentes e em propriedades funcionais.

GHORPADE *et al.* (1995) misturaram proteína isolada de soja com várias quantidades de polioxietileno (PEO) e determinaram os efeitos da adição de PEO nas propriedades mecânicas e de barreira dos filmes.

JO *et al.* (1996) preparam filmes a partir de proteína isolada de soja variando diversos parâmetros e estudaram as propriedades mecânicas e de barreira desses filmes.

KUNTE *et al.* (1997) compararam as propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade em água e propriedades de cores entre filmes a base de proteína isolada de soja e filmes preparados a partir das frações 7S e 11S.

RANGAVAJHYALA, *et al.*, (1997) estudaram o aumento da massa molar de soluções de proteína isolada de soja devido ao tratamento térmico enquanto que YILDIRIM *et al.* (1996 e 1997) estudaram a formação de biopolímeros através da reticulação de soja (subunidade 11S) com soro de leite utilizando a enzima transglutaminase.

RHIM *et al.* (1998) verificaram o efeito da adição do amido modificado (dialdehyde starch) em propriedades físicas de filmes a partir de proteína isolada de soja.

As diversas pesquisas, apresentadas acima, mostram a formação de filmes e coberturas a partir de proteínas e as diversas condições empregadas para melhorar suas propriedades funcionais. Os diversos métodos empregam tratamentos térmicos ou químicos; entretanto poucos, no mundo, incluem tratamentos físicos. BANERJEE *et al.* (1996) verificaram o efeito da radiação de freqüência ultrasônica na melhoria das propriedades mecânicas de filmes a base de proteína concentrada do soro de leite e de caseinato de sódio.

Outro tratamento físico, o processo de irradiação gama tem sido pouco explorado. Um grupo canadense tem utilizado a irradiação na formação de filmes a partir de caseinatos e de soro de leite para verificar a melhoria das propriedades mecânicas e de barreira dos filmes (BRAULT *et al.*, 1997; MEZGHENI *et al.*, 1998; LACROIX, *et al.*, 1998; RESSOUANY, *et al.*, 1998; VACHON, *et al.*, 1999).

Vantagens e limitações de filmes a base de proteínas são bem definidas. De modo geral, os filmes a base de proteínas são excelentes barreiras contra o oxigênio e contra o dióxido de carbono, enquanto que a resistência à transmissão do vapor da água é limitada. As

boas propriedades de barreira contra gas são drasticamente reduzidas em ambientes com alta umidade devido à susceptibilidade à absorção da umidade e de inchamento. Melhoria na resistência ao vapor de água continua a ser um dos principais objetivos de filmes a partir de proteínas. Diversos tratamentos (tratamento com aldeídos, tratamento da proteína no ponto isoelétrico, tratamento com enzimas) mostram alguma eficácia na promoção de reticulação, endurecimento da estrutura do filme a base de proteína e melhoria nas propriedades mecânicas e de barreira do filme.

Uma abordagem interessante parece ser o uso de proteínas com outros componentes tais como lipídeos e polissacarídeos (KROCHTA *et al.*, 1994). Recentemente, o processo de irradiação gama foi relatado como método efetivo no aperfeiçoamento da coesão de filmes a partir de caseinatos (BRAULT *et al.*, 1997). A reticulação, produzida pela irradiação, formou bitirosina, que é a responsável pela melhoria do comportamento mecânico dos filmes.

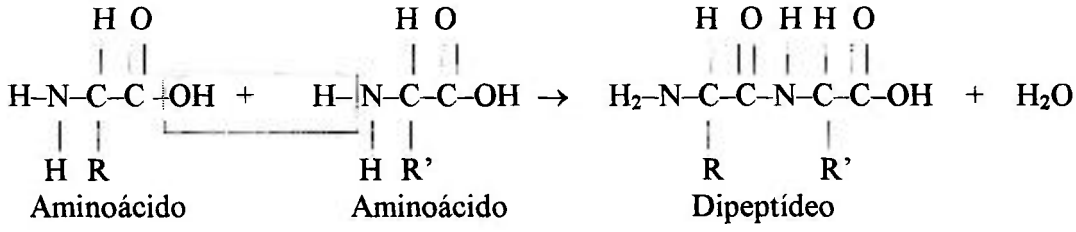
O efeito da irradiação associado ao uso de plastificantes e de íons de cálcio foi estudado na formação de filmes baseados em caseinatos e em suas propriedades mecânicas (MEZGHENI *et al* 1998; LACROIX, 1998).

Apenas recentemente, a irradiação tem sido estudada na formação de filmes comestíveis. Além de trazer melhorias nas propriedades mecânicas, a irradiação tem a vantagem de formar filmes estéreis, podendo estar em contato com os alimentos ou ser ingerido com eles.

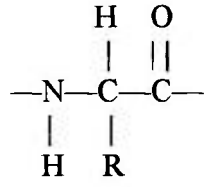
2.3 Proteínas

As proteínas são polímeros de α-aminoácidos, onde o amino grupo e o radical R estão ligados ao primeiro (α) átomo de carbono depois do grupo ácido carboxílico. Os

aminoácidos são ligados entre si, formando proteínas, por uma ligação peptídica. Esta ligação pode ser visualizada como o resultado da condensação do grupo carboxílico de um ácido com o amino grupo de outro, acompanhado de eliminação de água.



A ligação entre o carbono carbonílico e o nitrogênio amínico é que se denomina ligação peptídica. A continuação do processo de condensação, ligando muitos aminoácidos entre si, produz um polipeptídeo. A unidade de repetição na cadeia polipeptídica



é chamada resíduo de aminoácido, uma vez que contém o que resta do aminoácido, após a eliminação dos elementos da água. Cadeias moleculares de 70 ou menos aminoácidos são, usualmente denominadas polipeptídeos, ao passo que as moléculas maiores que ocorrem na natureza são chamadas de proteínas.

Em muitos casos, as cadeias podem ser ramificadas ou reticuladas. Os pesos moleculares das proteínas variam de milhares a milhões (ACKERMAN, 1962).

Há 20 aminoácidos que ocorrem em moléculas de proteínas naturais e as propriedades individuais destes ácidos são estabelecidas pela natureza do grupo R. As características singulares das diferentes proteínas são uma conseqüência do número total, variedade e sequência dos aminoácidos que ocorrem na cadeia polimérica e também da configuração espacial da cadeia propriamente dita.

O estudo dos aminoácidos fornece informações que ajudam na compreensão da estrutura de moléculas de proteínas muito mais complexas. A ordem detalhada desses aminoácidos é conhecida para poucas proteínas.

A qualidade nutricional das proteínas depende, basicamente, de sua composição em aminoácidos essenciais e de sua digestibilidade. Existem vários métodos para avaliar a qualidade nutricional de cada proteína. Embora o PER (Índice de eficiência da proteína – "Protein Efficiency Ratio") seja bastante empregado, o PDCCAS (Digestibilidade protéica – Pontuação corrigida de aminoácidos; "Protein Digestibility – Corrected Amino Acid Score) foi recomendado como método de avaliação de proteína, em 1989, pelo Comitê de Especialistas na Avaliação da Qualidade de Proteína da FAO/WHO e adotado pelo FDA, em 1991, para avaliação da qualidade de todos os alimentos destinados a adultos e crianças acima de 1 ano de idade.

O valor nutricional de algumas proteínas são apresentados na Tabela 2.2. Todas as proteínas com PDCAAS igual a 1.0 são proteínas de alta qualidade nutricional e que atendem às necessidades de aminoácidos essenciais dos seres humanos.

Tabela 2.2 – Valor nutricional de algumas proteínas.

Fonte Protéica	**PDCAAS**
Clara de ovos	1.00
Proteína isolada de soja	1.00
Caseína	1.00
Carne bovina	0.92
Farinha de ervilhas	0.69
Feijão em lata	0.68
Aveia em flocos	0.57
Lentilhas em lata	0.52
Farinha de amendoim	0.52
Farinha integral de trigo	0.40
Glúten	0.25

2.3.1 Proteína isolada de soja (SPI)

O conteúdo protéico dos grãos de soja (38-44%) é muito maior do que o conteúdo protéico dos grãos de cereais (8-15%) (SNYDER E KWON, 1987). A maior parte das proteínas nos grãos de soja podem ser classificadas como globulinas. A nomenclatura usual para as proteínas de soja é baseada nas taxas relativas de sedimentação das frações centrifugadas da proteína. Quatro frações são separáveis e designadas por 2S, 7S, 11S E 15S; mas as principais são a 7S e a 11S que atingem 37 e 31%, respectivamente, da proteína extraível total.

A proteína isolada de soja contém no mínimo 90% da proteína em base seca. Sua manufatura é a partir da matéria-prima limpa e descascada. Após extração do óleo pelo processo clássico por solvente, o solvente é retirado da farinha desengordurada em condições brandas para preservar a integridade estrutural, funcional e nutricional da porção protéica. Segue-se o processo aquoso, onde as frações não protéicas são removidas sucessivamente. A etapa final do processo é a secagem da pasta protéica em torre tipo "spray".

A capacidade de formação de filmes a partir da proteína de soja tem sido notada juntamente com outras propriedades funcionais, tais como, coesão, adesão, capacidade de melhorar a textura e o batimento ("whippability"). A composição dos aminoácidos essenciais da proteína isolada de soja é mostrada na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 – Composição de aminoácidos da Proteína Isolada de Soja (SPI) e da Proteína Isolada do Soro de Leite (WPI).

AMINO ÁCIDO	SPI (gAA/100g proteína)	WPI (gAA/100g proteína)
Lisina	6.4	8.3
Histidina	2.5	7.8
Arginina	7.2	1.9
Ácido aspártico	11.7	10.0
Treonina	3.9	4.7
Serina	5.1	7.9
Ácido glutâmico	18.7	13.3
Prolina	5.5	4.9
Glicina	4.2	2.6
Alanina	4.3	6.6
Cistina	1.3	2.4
Valina	4.8	4.0
Metionina	1.3	1.6
Isoleucina	4.5	4.7
Leucina	7.8	12.3
Tirosina	3.1	2.5
Fenilalanina	4.9	2.5
Triptofano	1.3	1.2

Fonte: KROCHTA et al., 1994.

2.3.2 Proteína isolada do soro de leite (WPI)

O soro é uma mistura de proteína, lactose, minerais e um pouco de gordura. Atualmente todos estes componentes podem ser modificados de acordo com as necessidades específicas de cada cliente. Isto se aplica sobretudo ao teor de proteína, o qual pode ser ajustado a qualquer valor entre 12 até acima de 90% dos sólidos (em base seca), oferecendo uma ampla gama de possibilidades e opções aos profissionais responsáveis pela formulação e

desenvolvimento de produtos alimentícios. O soro é um subproduto da fabricação do queijo ou de caseína. Muito do soro de leite produzido não é utilizado, criando problemas sérios de descarte. Com o desenvolvimento de novas tecnologias, o soro e suas frações se tornaram ingredientes alimentares versáteis e muito valorizados hoje em dia.

O soro do leite contem aminoácidos essenciais, apresenta boa digestibilidade e índice de eficiência protéica (PER) maior do que 3,0. Além disso, é rico em vitaminas, tais como tiamina, riboflavina, ácido pantotênico e as vitaminas B6 e B12 (LAGRANGE E DALLAS, 1997). A composição dos aminoácidos essenciais da proteína isolada de soro de leite é mostrada na Tabela 2.3.

A proteína isolada do soro de leite possui excelentes propriedades de geleificação, aeração, emulsificação. As principais aplicações da proteína isolada do soro de leite incluem produtos lácteos, de panificação e de confeitaria, "snacks", salgadinhos, aperitivos e carnes processadas (LAGRANGE E DALLAS, 1997).

2.4 Outros componentes de interesse para o estudo dos filmes

2.4.1 Carboxi metil celulose (CMC)

Carboxi metil celulose ou goma da celulose, um éter aniônico da celulose, é produzido pela reação alcalina da celulose com monocloroacetato de sódio sob condições rigidamente controladas. O CMC é de longe o mais importante derivado da celulose para aplicações em alimentos (aprovado pelo Codex Alimentarius). Sua função básica é ligar a água ou conferir viscosidade à fase aquosa assim estabilizando os outros ingredientes ou prevenindo sinérese. Sua capacidade em formar filmes fortes, resistentes a óleo é de grande importância em muitas aplicações. Plastificantes tais como glicerol, poliglicóis, propileno glicol ou etanolamina são tidos como efetivos no uso conjunto com a goma de celulose.

A adição de CMC em formulações de filmes a base de caseinatos mostrou contribuir na resistência dos filmes bem como em seu melhor manuseio (RESSOUANY *et al.*, 1998).

Complexos eletrostáticos entre proteínas e alguns polissacarídeos, tais como, alginato, pectina e carboxi metil celulose são possíveis mas instáveis devido a sua sensibilidade às mudanças de pH (IMESON *et al.* 1977). Estudos de incompatibilidade termodinâmica entre proteínas e polissacarídeos em soluções foram realizados por GRINBERG E TOLSTOGUZOV (1997). Os diagramas de fases para o sistema soja-polissacarídeos permitem verificar as composições onde há compatibilidade e o tipo de polissacarídeo mais compatível com a proteína. SHIH (1994) estudou as interações da proteína isolada de soja com polissacarídeos (alginato e alginato propilenoglicol), obtendo bom filme, que destaca fácilmente, obtido a pH igual ou superior a 8,0.

A celulose e seus compostos derivados, quando submetidos à exposição a alta dose de irradiação, sofrem degradação da cadeia principal e outras mudanças químicas de caráter menos definido (CHARLESBY, 1960). Por este motivo, a adição do carboxi metil celulose foi feita sempre após a irradiação da solução formadora do filme.

2.4.2 Álcool polivinílico (PVA)

O PVA é um polímero reticulável e tem aplicações em alimentos, filmes, em artigos médicos, em cosmética, entre outras. Ele tem boa aceitação na formação de hidrogéis para uso em medicina, devido a suas características de formar ligações cruzadas quando submetidos à irradiação gama (YOSHII *et al.*, 1995). O PVA tem sido adicionado a outro polímero base a fim de modificar a superfície do substrato, formando biomateriais para uso em medicina (RABINOW *et al.*, 1994). O PVA é admitido pelo Codex Alimentarius para compor materiais que ficam em contato com alimentos.

A reticulação do PVA induzida por irradiação gama, tanto na presença como na ausência de oxigênio, foi estudada por radiólise de pulso (ULANSKI *et al.*, 1994). Em soluções diluídas, polímeros absorvem diretamente somente uma pequena parte da energia. Conseqüentemente, o efeito direto é relativamente pequeno, e a grande parte do processo é causada pela ação dos produtos primários da radiólise (CHARLESBY, 1960). Entre os produtos primários da radiólise estão os radicais hidroxilas, elétrons hidratados e átomos de hidrogênio altamente reativos. Radicais hidroxilas são os principais precursores dos macroradicais pois reagem com moléculas do polímero pela abstração de hidrogênio originando:

```
—CH2—CH—CH2—C*—CH2—CH—          70%    α
      |        |        |
      OH       OH       OH

-CH2—CH—C*H—C—CH2—CH—           30%    β
      |        |        |
      OH       OH       OH
```

Esta característica de reticulação induzida por radiação gama, associada à sua função geleificante, torna o PVA um coadjuvante de grande interesse na formação de filmes e coberturas comestíveis, objetos de estudo do presente trabalho.

2.4.3 Glicerol

O glicerol, um poliol, é bem conhecido por seu efeito plastificante e seu emprego na tecnologia de alimentos. O plastificante confere flexibilidade, reduz a fragilidade (característica quebradiça e de escamação) e aumenta a dureza de filmes através da redução das forças intermoleculares entre cadeias poliméricas adjacentes (BANKER, 1966).

O plastificante, ou emulsificador, é empregado em formulações de filmes ou pode ser usado como o maior constituinte do filme, como no caso dos compostos lipofílicos (BALDWIN *et al.*, 1997).

O glicerol é um plastificante bastante empregado na formação de filmes comestíveis (RHIM *et al.*, 1998; RANGAVAJHYALA *et al.*, 1997; MATÉ E KROCHTA, 1996; JO, *et al.*, 1996; GHORPADE, *et al.*, 1995; McHUGH *et al.*, 1994; STUCHELL E KROCHTA, 1994; GENNADIOS *et al.*, 1993; GONTARD *et al.*, 1993).

A reticulação de proteínas de leite induzidas por irradiação, formando bitirosina, mostrou ser mais significante na presença de glicerol do que na sua ausência (BRAULT *et al.*, 1997). Comportamento semelhante foi obtido com o uso de propileno glicol e trietileno glicol (MEZGHENI *et al.*, 1998).

As propriedades mecânicas estão intimamente relacionadas com a quantidade de plastificante presente no filme. Geralmente, o aumento da quantidade de plastificante resulta em filmes com menor tração à ruptura e maior deformação.

2.5 O processo de irradiação

O tipo de radiação utilizado em alimentos se limita às radiações procedentes dos raios gama de alta energia, os raios X e os elétrons acelerados. Estas radiações se denominam radiações ionizantes porque sua energia é suficientemente alta para desalojar os elétrons dos átomos e moléculas, e para convertê-los em partículas carregadas eletricamente, que se denominam íons. Contudo a energia dessa radiação não é suficiente para tornar os núcleos radioativos.

2.5.1 Tipos de radiação

Os raios gama e os raios X são semelhantes às ondas de rádio, às microondas, aos raios ultravioleta e aos raios de luz visível. Eles formam parte do espectro eletromagnético na faixa de curta amplitude de onda e alta energia. Têm as mesmas propriedades e os mesmos efeitos sobre os materiais, sendo somente diferenciados entre si pela sua origem. Os raios X

com energias variáveis são produzidos por instrumentos, ou seja, fonte de feixe de elétrons. Os raios gama com energia específica provêm da desintegração espontânea de radionuclídeos ou radioisótopos, e em geral é usado o ^{60}Co.

O fato de se empregar fontes de radionuclídeos/radioisótopos não significa que o alimento vá se tornar radioativo, pois o alimento não entra em contato com a fonte, e apenas é submetido à radiação proveniente desse radionuclídeo/radioisótopo, gerador de radiação gama.

Segundo a legislação brasileira, com base no Codex Alimentarius, poderão ser utilizadas em alimentos, radiações cuja energia seja inferior ao limiar das reações nucleares que poderiam induzir radiatividade no material irradiado. Essas radiações são:

- Raios γ provenientes de: ^{60}Co (T1/2 = 5,263 anos, γ = 1,173MeV e 1,332MeV) ou ^{137}Cs (T1/2 = 30 anos, 1,176MeV);
- Raio-X com energia até 5MeV;
- Feixes de elétrons com energia até 10MeV.

Os equipamentos que geram a radiação gama ou o feixe de elétrons são denominados irradiadores. Esses irradiadores podem ser multipropósito, ou seja, irradiar diferente tipos de produtos, com diferentes finalidades.

2.5.2 Vantagens e desvantagens dos diferentes tipos de irradiadores

2.5.2.1 Vantagens e desvantagens da fonte de radioisótopos (^{60}Co)

- Vantagens
  - Tecnologia simples
  - Boas características de penetração
  - Fácil implementação (pode-se aumentar a capacidade conforme necessidade)
  - Bom suprimento de ^{60}Co energia ao redor do mundo
  - Baixoconsumo de eletricidade

- Desvantagens
  - Não pode ser desligada (implicações na eficiência e segurança)
  - Multidirecional (a direção da emissão não pode ser, exceto por colimação, ocorrendo implicações na eficiência)
  - Implicações no refugo (envolve material radioativo; poderia afetar a aceitação pública da instalação em determinadas juridições)

(*Fonte:* BORSA, 1997)

2.5.2.2 Vantagens e desvantagens de feixe de elétrons

- Vantagens
  - Controle da corrente e energia (flexibilidade na penetração e eficiência)
  - Pode ser usada "on-line" em aplicações apropriadas
  - Capacidade de conversão elétrons para raios-X
  - Direcional (utilização mais eficiente da energia)
  - Pode ser desligada (evita desperdício)

- Desvantagens
  - Alta tecnologia
  - Maior manutenção
  - Difícil implementação (máquina tem que ser comprada completa)
  - Elétrons tem poder de penetração limitado
  - Conversão ao raio-X é ineficiente (<10%)
  - Alto consumo de eletricidade

(*Fonte:* BORSA, 1997)

2.5.3 Quantidade de radiação (dose)

Quando a radiação ionizante penetra num determinado meio, toda radiação ou parte dela é absorvida pelo meio. A quantidade de energia absorvida é chamada de dose de energia absorvida ou dose. A unidade no Sistema Internacional de Unidades para a dose é o Gray (Gy) e é igual à absorção de um Joule (J) por quilograma do material absorvedor. (A unidade antiga era o rad; 100rad = 1Gy). A quantidade de energia absorvida, em parte, é uma

função da emissão de energia por unidade de tempo da fonte de radiação, do tempo total durante o qual o material absorvedor recebe radiação, do arranjo total entre a fonte e o material absorvedor e das características do material absorvedor. A dose é o parâmetro de controle mais importante do processo de irradiação.

Desde que a dose absorvida pelo material é a quantidade que relaciona o efeito desejado aos parâmetros do irradiador (geometria, energia, eficiência), se faz essencial o uso de um sistema dosimétrico adequado e preciso. Esse sistema é também importante para demonstrar conformidade com os limites determinados pela legislação vigente. O sistema de dosimetria tem que ser calibrado e rastreado a sistema ou padrões nacionais ou internacionais.

De modo geral esse sistema é constituido de:

- um sistema de referência (boa precisão e reprodutibilidade)
- um sistema de rotina (fácil de manipular, precisão aceitável)

A distribuição da dose absorvida depende de muitos fatores, tais como, projeto da instalação, tipo do produto, tipo e energia da radiação. Assim, um fator de extrema importância no projeto de uma instalação de irradiação é a uniformidade da dose absorvida, desejada ou exigida, em um produto.

A geometria "produto-fonte" deve ser de tal forma a se obter:

- um valor mínimo de dose no produto, Dmin, maior ou igual à dose que atenda ao efeito desejado pelo qual se está irradiando o alimento;
- um valor máximo da dose no produto, Dmax, menor ou igual à dose que o alimento tolere sem comprometimento organoléptico.

A relação, Dmax/Dmin, é definida como relação de uniformidade de dose (U).

INSTITUTO ... NUCLEARES

2.5.4 Interação da radiação com proteínas

O estudo dos aminoácidos podem fornecer informações que ajudam na compreensão das mudanças em moléculas de proteínas muito mais complexas. As principais mudanças radiolíticas em soluções aquosas de aminoácidos alifáticos simples são desaminação e descarboxilização. Os produtos formados incluem NH_3, CO_2, H_2, aminas, ácidos alifáticos e aldeidos. Aminoácidos contendo enxofre são provavelmente mais sensíveis à irradiação (INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION (ICGFI), 1992).

Cisteína, contendo o grupo SH, forma ligação dissulfídrica. Aminoácidos com anel aromático em sua estrutura, podem sofrer ruptura do anel. Desaminação de aminoácidos aromáticos ocorre mas em menor extensão do que em aminoácidos alifáticos. Hidroxilação dos anéis aromáticos é a principal reação da fenilalanina e da tirosina. O efeito indireto da radiação aumenta com o decréscimo da concentração dos aminoácidos.

A molécula da proteína responde à radiação de dois modos: como uma entidade protéica e como aminoácidos individuais e outros constituintes. Na faixa de dose usada para irradiar alimentos (Anexo II), o efeito nas proteínas é, em geral, pequeno e independente da proteína. O efeito da radiação é relacionado com a estrutura da proteína, sua composição, se nativa ou desnaturada, se seca ou em solução, se líquida ou congelada, e na presença ou ausência de outras substâncias. O fenômeno geral de desnaturação por irradiação se manifesta em mudanças comumente associadas com o tipo de alteração da proteína, isto é, mudanças na viscosidade das soluções, na solubilidade, no comportamento eletroforético, nas mudanças de absorção do espectro, em reações com enzimas, na exposição de grupos SH e em mudanças imunológicas. A degradação, isto é, a divisão das moléculas de proteínas em unidades menores, bem como a agregação tem sido observadas em ocorrer simultaneamente.

A maior parte das proteínas são moléculas grandes, macromoléculas. Por esta razão, elas podem fornecer mais de um lugar para mudanças induzidas por radiação. A energia absorvida pode ser deslocada para um local mais sensível, onde uma ligação inicialmente quebrada pode conduzir a mudanças químicas específicas, tais como foram indicadas para aminoácidos isolados. Em proteínas contendo enxofre, o local sensível é na ligação do enxofre. Para uma determinada proteína existe um conjunto característico de locais sensíveis à radiação e isto resulta numa resposta preferencial e consistente, em contraste a um efeito variado e aleatório.

Em termos da proteína como um todo, os resultados das mudanças descritas podem variar, como por exemplo, desnaturação, mudanças de cor, conferir ou alterar características funcionais em sistemas biológicos ou no uso em alimentos.

Todos esses efeitos resultam da combinação dos efeitos primários (diretos) e secundários (indiretos). A importância relativa de cada tipo de efeito variará em função de vários fatores, como concentração, disponibilidade do oxigênio, temperatura, natureza da proteína e presença de outras substâncias.

A irradiação de proteínas secas, entretanto, envolvem quase que inteiramente o efeito primário ou direto. Quando proteínas são irradiadas na presença de água, todas as reações que são possíveis com aminoácidos são também possíveis com a proteína contendo esses aminoácidos. A irradiação na ausência de água é de menor interesse no contexto deste trabalho.

Uma grande proporção de energia (radiação) depositada numa proteína irradiada, vai aparentemente para a desnaturação da proteína, isto é, mudanças nas estruturas secundárias e terciárias e ocorre preferencialmente à destruição dos amino-ácidos constituintes. Esta desnaturação é muito menos extensa do que a causada pelo aquecimento.

Como os alimentos são essencialmente sistemas aquosos, praticamente toda a energia de radiação é absorvida pela água, e são os radicais gerados nessa interação que vão reagir com os solutos do alimento:

$$H_2O \longrightarrow {}^{\cdot}OH,\ e_{aq}^{-},\ {}^{\cdot}H,\ H_2,\ H_2O_2$$

(INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 1995).

Com cerca de vinte tipos de aminoácidos, constituintes das proteínas, e com as espécies reativas da radiólise da água são possíveis interações bastante complexas.

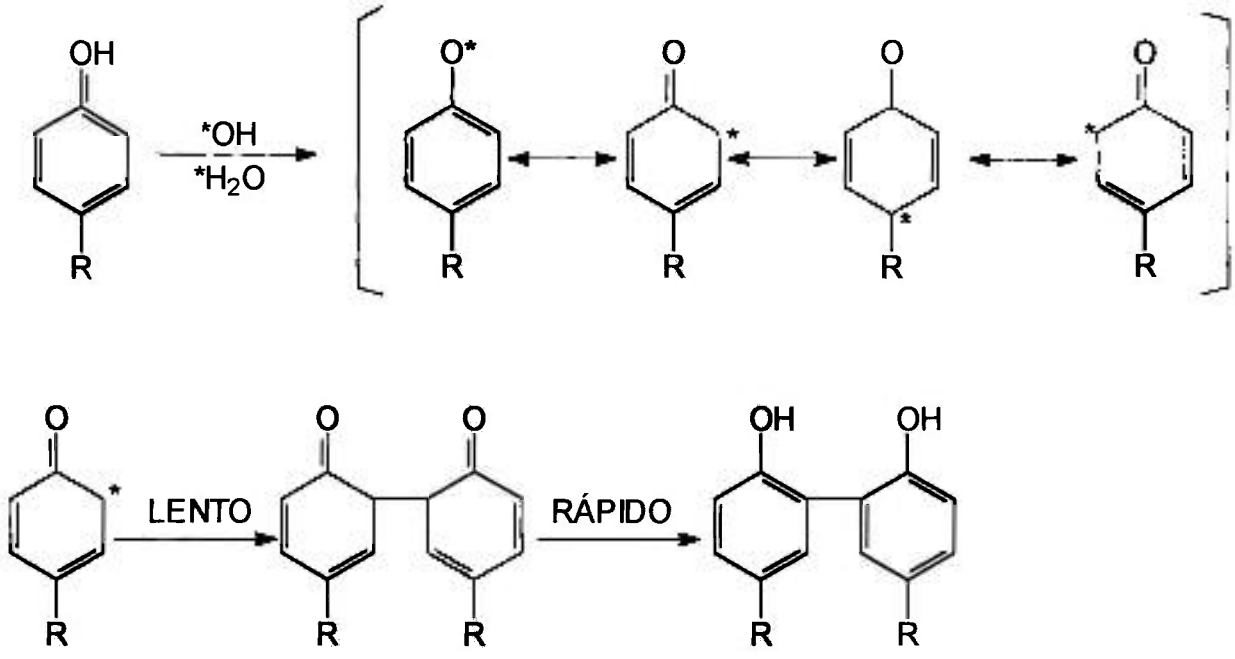
As duas principais mudanças que ocorrem em proteínas quando submetidas à irradiação são a reticulação e a cisão. Entretanto, dependendo do polímero, um efeito predomina sobre o outro (ACKERMAN, 1962). Efeitos adicionais são exercidos pela configuração espacial das cadeias de proteínas, determinadas pelas ligações de hidrogênio, bissulfídicas, hidrofóbicas e ligações iônicas. Aminoácidos, sensíveis ao ataque de radicais quando irradiados, isolados, são muito menos sensíveis quando estão profundamente inseridos numa estrutura de proteína e assim, menos acessíveis às reações de radicais. Outro fator que contribui para uma maior resistência da proteína à radiação, quando comparada aos aminoácidos isolados: na estrutura espacial mais ou menos rígida da molécula de proteína, os radicais formados como resultado da irradiação, são mantidos em posição e tem forte chance de recombinação (DIEHL, 1990).

Além de cisões das ligações C — N no esqueleto da cadeia polipeptídica, outras reações, tais como, a quebra das pontes de bissulfeto podem causar degradação em proteínas menores. Tais reações de degradação, indicadas por um decréscimo da viscosidade da solução de proteína, tem sido observadas em proteínas fibrosas. Por outro lado, proteínas globulares irradiadas em soluções diluidas sofrem reações de agregação, resultando em aumento de viscosidade. A natureza das ligações responsáveis pela formação de agregados não é bem conhecida, mas é concebível que radicais formados no esqueleto ou nos lados das cadeias se

juntem (se estiverem espacialmente e suficientemente próximos), formando ligações intermoleculares. O uso de tratamentos físicos, tais como a irradiação, aumenta a força de coesão da proteína através de ligações cruzadas (reticulação).

Em geral, filmes a base de proteínas apresentam-se barreira pouco efetiva ao vapor de água devido à natureza hidrofílica de seus aminoácidos. Melhorias nas propriedades mecânicas e de permeabilidade podem ser atingidas através da reticulação química, por enzimas ou por tratamento físico. Diversas pesquisas estudaram a ação da transglutaminase em sistemas alimentares (YILDIRIM e HETTIARACHCHY, 1997; GERRARD *et al.*, 1998). A enzima transglutaminase catalisa reações, introduzindo ligações cruzadas covalentes nas proteínas (NONAKA *et al.*, 1989). Essas ligações ocorrem entre resíduos de lisina e de glutamina formando a ligação ε-(γ-Glu)-Lis sem decomposição da qualidade nutricional do resíduo de lisina (SEGURO *et al.*, 1996). Embora o valor potencial da transglutaminase como um ingrediente alimentício seja reconhecido, sua aplicação tem sido limitada devido ao alto custo da enzima (SINGH, 1991).

Recentemente, o processo de irradiação gama foi apontado como método efetivo no aperfeiçoamento da coesão de caseinatos (BRAULT *et al.*, 1997). Na radiólise de uma solução aquosa de proteínas, os radicais hidroxilas ($^{\cdot}OH$) gerados (VON SONTAG, 1987) reagem prontamente com os aminoácidos (THAKUR E SINGH, 1994). Por exemplo, a tirosina (amino ácido essencial de proteínas) reage com $^{\cdot}OH$ para produzir radicais tirosilas (Esquema 1). Os radicais tirosilas reagem, então, com outros radicais tirosilas ou com moléculas de tirosina para formar diversos compostos estáveis bifenólicos, nos quais as partes fenólicas são ligadas através de uma ligação covalente (PRÜTZ *et al.*, 1983). O composto 2',2-bifenol bitirosina que exibe fluorescência, parece ser o maior produto devido ao efeito direto do grupo hidroxila (PRÜTZ *et al.*, 1983; VON SONTAG, 1987). A formação da bitirosina é certamente um mecanismo de reticulação de proteína embora outros tipos de ligações cruzadas possam ocorrer (DAVIES *et al.*, 1987).



Esquema 1 – Formação da bitirosina por radicais formados na radiólise.

O processo de irradiação gama apresenta a conveniência de ser um processo bem conhecido, aplicado na esterilização, a frio, de itens (THAKUR E SINGH, 1994) e é menos caro que o uso de enzimas.

A formação de ligações cruzadas (reticulação) entre as moléculas aumenta a massa molar da macromolécula. BRAULT *et al* (1997) estudaram a reticulação em proteínas do leite irradiadas, através da fluorescência da bitirosina. Outro método para demonstrar mudanças no tamanho molecular é a cromatografia por exclusão de partícula que apresenta o perfil da distribuição da massa molar (ver item 2.8).

2.5.5 Aspectos regulatórios sobre o processo de irradiação

Diversos esforços tem sido feitos para atualizar a legislação brasileira sobre alimentos irradiados. Com relação a materiais em contato a alimentos que se submeterão ao

processo de irradiação não existe ainda legislação pertinente no País. Diversos países (40) possuem legislação específica para o processo de irradiação de alimentos, entretanto apenas seis (Canadá, França, Índia, Polônia, UK e USA) aprovaram lista de materiais para uso em alimentos a serem irradiados. A seguir é apresentada uma visão geral sobre o assunto.

Na França, os materiais em contato com os alimentos podem ser irradiados até a dose de 10kGy utilizando fonte de raios gama (radioisótopo ^{60}Co ou ^{137}Cs), com fonte de raios beta (acelerador de elétrons com energia até 10MeV) ou com fonte de raios-X (energia até 5MeV), sujeitos a condições e controles rigorosos nos alimentos pré-embalados no material (J. OFF. REPUBL. FR., 1986).

A legislação francesa sobre irradiação de embalagem envolve os mesmos requisitos da legislação francesa e brasileira sobre irradiação de alimentos. As limitações de dose ou de energia impostas nessas legislações se baseiam em estudos exaustivos consolidados pelo comitê de especialistas em salubridade de alimentos irradiados da FAO (Organização para Agricultura e Alimentos das Nações Unidas), IAEA (Agência Internacional de Energia Atômica) e WHO (Organização Mundial da Saúde) que estabelecem que "a irradiação de produtos alimentícios com uma dose média de 10kGy não apresenta risco toxicológico e não induz problemas nutricionais ou microbiológicos para seus consumidores". Recente revisão de dados relacionados com aspectos toxicológicos, microbiológicos, nutricionais, físicos e químicos de alimentos irradiados acima de 10kGy foi realizada, concluindo que não se faz necessário estabelecer limite superior de dose para alimentos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

A legislação mais abrangente sobre doses aplicadas a materiais de embalagem para alimentos pré-embalados é a dos Estados Unidos da América. Os estudos conduzidos pelo US Atomic Energy Commission sobre os efeitos da radiação em materiais de embalagem, na faixa de dose entre 10 e 60 kGy, concluiram que grande parte dos materiais em contato com o alimento possuem um desempenho satisfatório quando irradiados em doses até 10kGy. Como resultado direto, a legislação foi publicada pelo Food and Drug Administration (FDA) em 1964 e essa legislação foi atualizada em 1982 (ver Tabela 2.4).

Tabela 2.4 - Lista de Materiais de Embalagem para Uso durante a Irradiação de Alimentos Pré-embalados aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA).

DOSE (kGy)	MATERIAL PARA EMBALAGEM
0,5	Papel kraft (somente para farinha)
10	Papel glassine Celofane recoberto com nitrocelulose Cartão parafinado Nylon-11 Poli(tereftalato de etileno) com ou sem aditivos ou recoberto de cloreto de vinilideno ou polietileno Filme de polipropileno com ou sem aditivos Filme poliolefínico com ou sem aditivos ou recoberto de cloreto de vinilideno Filme de poliestireno com ou sem aditivos Borracha hidroclorada com ou sem aditivos Filme de policloreto de vinilideno-cloreto de vinila(saran) Cloreto de vinilideno-copolímero recoberto com celofane
60	Nylon-6 com ou sem aditivos Filme de polietileno com ou sem aditivos Polietileno tereftalato com ou sem aditivos Cloreto de vinila-acetato de vinila com ou sem aditivos Etileno vinil acetato

Fonte: U.S. CODE OF FEDERAL REGULATIONS, 1985

2.5.6 Aspectos nutricionais

A aplicação da irradiação na faixa de doses baixa a média (ver anexo 2) tem sido fortemente investigada em proteínas isoladas e em alimentos, e foi demonstrado que tais tratamentos não causam degradação na proteína maior que a convencional esterilização a vapor. Pesquisas demonstraram que a irradiação de proteínas e aminoácidos em alimentos tem pequeno ou nenhum efeito no valor biológico da proteína. Os valores, de fato, são equivalentes aos controles não irradiados. Dados experimentais de uma variedade de proteínas de alimentos (incluindo carne bovina, leite e feijão) irradiadas entre 30 e 100kGy não apresentaram mudança em suas digestibilidades (HAYES *et al.*, 1995).

O bom crescimento de várias espécies de animais, alimentados com rações irradiadas, levaram à conclusão que valores biológicos e de digestibilidade das proteínas não

INSTITUTO ... NUCLEARES

mudam essencialmente quando utilizados tratamentos com doses de até 50kGy (EGGUM, 1977).

2.5.7 Aceitação dos consumidores

Organismos internacionais, bem como, autoridades da área da saúde de diversos países consideram a irradiação de alimentos segura e sadia. Por volta do início da década de 90, vários países realizaram estudos sobre a atitude do consumidor e divulgação de alimentos irradiados. Os resultados indicam que os consumidores aceitarão alimentos irradiados e essa tendência será crescente à medida que informações sobre o processo e suas vantagens atinjam maior número de pessoas (BRUHN, 1995).

Resultados de testes de mercado de alimentos irradiados realizados em 20 países, envolvendo 40 ensaios, foram positivas em favor da irradiação de alimentos. Esses resultados mostraram que em 58% dos casos, consumidores foram indiferentes à irradiação e estavam mais interessados na qualidade dos produtos do que propriamente no tratamento usado. Em 42% dos casos, consumidores preferiram alimentos irradiados devido à sua qualidade. Nenhum dos estudos mostrou qualquer evidência de que os consumidores rejeitariam os alimentos irradiados (LOAHARANU, 1994).

2.6 Propriedades mecânicas

2.6.1 Resistência à perfuração e deformação

Entre as propriedades dos materiais plásticos, as propriedades mecânicas são as de maior importância pois a maioria das aplicações finais envolvem algum grau de carga mecânica. As comparações entre filmes usando dados sobre propriedades mecânicas e de barreiras fornecidos pela literatura devem ser feitas com cautela. Os valores relatados são

freqüentemente medidos utilizando procedimentos, instrumentos ou parâmetros de ensaios diferentes. Filmes a base de proteínas são geralmente hidrofílicos e susceptíveis à absorção de umidade e o acondicionamento do filme antes do ensaio é um fator muito importante. Umidade relativa, temperatura e intervalo de tempo de acondicionamento podem ter um impacto significativo nas propriedades dos filmes.

Uma quantidade significativa de informação para o desenvolvimento e produção de filmes e coberturas comestíveis, tanto a partir de proteínas como de outros materiais biológicos, é originária de patentes atribuídas ao setor privado. Métodos de produção de filmes estão descritos em literatura de patentes, entretanto, as propriedades dos filmes raramente são reveladas. O resultado é uma lacuna nos dados comparativos de propriedades de filmes, tornando-se muito difícil prever a aptidão do filme em aplicações potenciais (KROCHTA *et al.*, 1984).

A resistência à tração e a porcentagem de alongamento na ruptura são as duas propriedades mecânicas mais comumente medidas para filmes comestíveis. A resistência à tração expressa a força máxima desenvolvida numa espécime de filme durante o ensaio de tração enquanto que o valor da deformação na ruptura representa a capacidade do filme em estirar. Além destas, a resistência ao rasgo, ao impacto e à perfuração são importantes para a integridade da embalagem (MARK *et al.*, 1985). A resistência à perfuração é menos freqüentemente relatado com relação à resistência à tração, para descrever o comportamento mecânico dos filmes. Entretanto, dados de resistência à perfuração fornecem informações úteis para projetos de embalagem (BANERJEE *et al.*, 1996).

O Anexo 1 apresenta algumas definições de termos empregados nos estudos sobre propriedades mecânicas.

Ensaios de perfuração com filmes comestíveis tem sido feitos para determinar a resistência à perfuração e deformação (MEZGHENI *et al.*, 1998; BRAULT *et al.*, 1997; BANERJEE *et al.*, 1996; GONTARD *et al.*, 1992 E 1993). As curvas de força-deformação são registradas e os valores da resistência (N) e da deformação (mm) no momento da perfuração

são calculados, permitindo avaliar a dureza e a capacidade de deformar dos filmes (GONTARD, 1992). Para contornar variações devidas à espessura, os valores de resistência à perfuração, no presente trabalho, foram divididos pelo valor da espessura do filme conforme BRAULT (1997). Os valores passam a ser expressos em N/mm.

As condições de formação de filmes tem influência marcante em várias propriedades dos filmes. A metodologia de resposta de superfície tem se mostrado uma ferramenta eficiente para estudos da formação de filmes devido à complexidade da formação de filmes envolvendo diversas variáveis interrelacionadas (GONTARD *et al.*, 1992; PARK *et al.*, 1996).

2.6.2 Viscoelasticidade

Nenhum material é perfeitamente elástico no sentido estrito de obedecer a lei de Hooke (a tensão é proporcional à deformação, cuja constante de proporcionalidade é o módulo de Young). Para materiais poliméricos existe um elemento de fluidez em suas respostas à força aplicada, e a extensão dessa fluidez varia com o tempo. Tal comportamento, que pode ser considerado um híbrido de resposta perfeitamente elástica e de fluidez verdadeiramente viscosa, é conhecido como viscoelasticidade (NICHOLSON, 1991).

Uma forma de medir a viscoelasticidade é através de teste de relaxação. A relaxação da tensão é definida como um decréscimo gradual na tensão com o tempo, sob uma deformação constante. Este comportamento característico dos polímeros é estudado pela aplicação de uma quantidade fixa de deformação à amostra e medindo a carga, necessária para mantê-la, em função do tempo. No início do experimento, a deformação é aplicada à amostra a uma taxa constante até atingir o alongamento desejado. Uma vez que a amostra atinja o alongamento desejado, a deformação é mantida constante por um período pré-determinado de tempo. O decaimento da tensão, que ocorre devido à relaxação da tensão, é observado em função do tempo (SHAH, 1984).

Neste trabalho, a viscoelasticidade foi determinada através de curvas de relaxação. Seguiu-se procedimentos já descritos (MEZGHENI *et al.*, 1998; BRAULT *et al.*, 1997; BANERJEE *et al.*, 1996; GONTARD *et al.*, 1992 E 1993).

2.7 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)

A incorporação de materiais como lipídeos, ácidos graxos, ou ceras em filmes a base de proteínas ou de carboidratos foram estudados para melhorar suas propriedades de barreira. Com esta finalidade, filmes de duas camadas lipídicas (KAMPER E FENNEMA, 1984a,b; GREENER E FENNEMA, 1989a,b; GONTARD *et al.*, 1995) e filmes com emulsões (McHUGH E KROCHTA, 1994a,b; SHELLHAMMER E KROCHTA, 1997) tem sido testados. Outra abordagem para melhorar propriedades físicas de filmes biopoliméricos tem sido preparar filmes compósitos através do uso combinado de proteínas com polissacarídeos (SHIH, 1994 e 1996; JANE *et al.*, 1993). As propriedades dos filmes devem melhorar não somente pela resistência de um material compensando a fraqueza do outro, mas também pela efeito sinergístico entre os componentes (RHIM *et al.*, 1999). A formação de ligações cruzadas entre cadeias poliméricas podem abaixar os valores de permeabilidade devido à diminuição da difusão do permeante (KROCHTA, 1994).

A grande parte dos comportamentos anômalos comumente observados nas propriedades de permeabilidade de filmes comestíveis advém da natureza hidrofílica da maioria de filmes comestíveis, como da presença de não homogeneidades nas estruturas de seus filmes.

Permeabilidade ao vapor de água (WVP) é uma medida de quão fácil um material pode ser penetrado pelo vapor de água. O método da ASTM E96-80 define melhor permeabilidade como a taxa de transmissão de vapor de água através da unidade de área de material plano de espessura unitária induzida por diferença unitária de pressão de vapor entre duas superfícies específicas, sob condições de temperatura e umidade específicas (ASTM,

1983). A permeabilidade não deve ser confundida com transporte através de poros. A permeabilidade verdadeira consiste de um processo de solução e difusão onde o vapor dissolve em um lado do filme e então difunde para o outro lado.

A permeabilidade ao vapor de água é diretamente proporcional à quantidade do vapor de água e à espessura do filme e inversamente proporcional à área do filme, ao tempo e à diferença de pressão parcial do vapor de água.

Numerosas combinações de diferentes unidades são encontradas na literatura, o que dificulta a comparação dos dados de permeabilidade de diferentes fontes.

As técnicas gravimétricas são comumente empregadas para determinar a permeabilidade ao vapor de água. Estes testes estão padronizados pela ASTM E96-80 e envolvem basicamente duas versões da técnica, ou seja, o método do dessecante e método da água. Vamos abordar apenas o método do dessecante que foi o utilizado neste trabalho.

A amostra de filme é selada na boca do recipiente de teste contendo o dessecante e o conjunto é colocado numa câmara com temperatura e umidade relativa controladas. Pesagens periódicas permitem determinar a taxa de transmissão de água através da amostra. Estas pesagens devem ser feitas após ser atingido o estado estável da taxa de transmissão de umidade, freqüentemente várias horas após as células de teste entrarem em equilíbrio na câmara.

Diversos fatores afetam as medidas de permeabilidade ao vapor de água, sendo de grande importância a estabilidade da umidade relativa dentro da célula de teste.

O intervalo de ar estagnado entre a amostra e o dessecante no recipiente pode resultar em diferenças significantes entre a pressão de vapor do dessecante e a condição experimental verdadeira da pressão parcial de vapor dentro do recipiente e abaixo do filme. O método da ASTM assume que a resistência na transferência de massa dentro do recipiente é desprezível. Entretanto, isso não é verdadeiro para filmes com baixa resistência na

transferência de massa. McHUGH *et al.* (1993) desenvolveram um método de correção da permeabilidade ao vapor de água que permite corrigir esses erros.

Outros aspectos importantes são a vedação da amostra do filme no recipiente de teste e a câmara com temperatura e umidade relativa controladas.

As vantagens do método gravimétrico se constitui no fato de permitir o controle dos parâmetros experimentais e o custo relativamente baixo. A maior desvantagem é o tempo necessário para obtenção dos resultados. Como a maioria dos filmes comestíveis são barreiras pouco efetivas contra a umidade, o tempo de teste pode variar de um a quatro dias.

2.8 Cromatografia por permeação em gel

Cromatografia por permeação em gel (GPC), também chamada por cromatografia por exclusão de tamanho (SEC), é um método que determina a distribuição de massa molar de um polímero. Esta técnica vem ganhando aceitação por produtores e processadores de materiais plásticos devido a seu baixo custo, simplicidade e sua capacidade de fornecer informações confiáveis e precisas num período de tempo curto. GPC detecta polímeros, oligômeros e monômeros, bem como, aditivos e outros compostos em baixo teor.

A separação das moléculas do polímero por GPC é baseada nas diferenças de seus "tamanhos efetivos" na solução. (Tamanho efetivo é próximo à massa molar). A separação é realizada através da injeção da solução do polímero num fluxo contínuo de solvente, que passa por partículas de gel altamente porosas, minúsculas, rígidas, empacotadas firmes num tubo (coluna). O tamanho do poro das partículas de gel varia. Como a solução flui através das partículas de gel, moléculas com tamanho efetivo pequeno (baixa massa molar) penetrarão mais nos poros do que as moléculas com tamanho efetivo maior e assim, levarão mais tempo para eluir do que as moléculas maiores. Se o gel envolve a faixa certa de tamanhos

moleculares, o resultado será a separação por tamanho, com as moléculas maiores saindo da coluna de empacotamento antes.

As espécies de diferentes pesos moleculares são separadas pela diferença no tempo de eluição através da coluna e passa pelo detetor em ordem descendente de tamanho. O detetor mede a concentração de cada espécies de massa molar e registra a distribuição da massa molar da amostra.

A distância do início do cromatograma até o ponto médio da curva de distribuição da massa molar é uma indicação da massa molar média. A distância, a posição da curva e a forma da distribuição da massa molar conduzem à predição de características físicas e de processamento do polímero. Qualquer mudança na posição ou forma da curva reflete uma mudança no comportamento do polímero. Uma quantidade excessiva da fração de massa molar alta presente no polímero é indicado por um deslocamento da curva em direção à região de massa molar alta. Inversamente, uma quantidade excessiva da fração de massa molar baixa é indicado por um deslocamento da curva em direção à região de massa molar baixa. Um pico, ainda que discreto, que apareça, em qualquer região da curva de distribuição mostra uma mudança no polímero.

O mais direto, e algumas vezes mais informativo, uso da curva do GPC está na comparação de materiais diferentes pela sobreposição de seus cromatogramas sobre uma caixa iluminada. Diferenças nas distribuições de pesos moleculares, forma dos picos e deslocamentos são facilmente observados. Comparações de aditivos e outras espécies de massa molar menor são simples (SHAH, 1984).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As medidas foram feitas no laboratório Canadian Irradiation Center (CIC), no Institut Armand-Frapier da Universidade du Quebec e nos laboratórios do IPEN.

3.1 Materiais

Os materiais para a preparação das soluções formadoras de filmes são:

- Proteína isolada de soja (SPI): SUPRO 500E: Dupont Campbell Protein Tecnologies (St.Louis, MO, USA). O teor de proteína é 90%.
- Proteína isolada de soro de leite (WPI): liofilizada e seca por 3 horas, a 80°C num forno à vácuo (Precision Scientific Inc., Modelo 19, Chicago, IL, USA) a partir de solução purificada no "Food Research Centre" (St-Hyacinthe, Qc, Canadá), conforme procedimento estabelecido pelo laboratório. O teor de proteína é 90%.

Outros componentes que foram empregados nos estudos são:

- Glicerol, 99,5%: American Chemicals Ltd. (Montreal, Qc, Canadá).
- Carboxi metil celulose, sal de sódio, baixa viscosidade: Sigma Chemicals Co. (St.Louis, MO, USA).
- Álcool polivinílico, 98% hidrolizado, AvMw 9000-10000: Aldrich Chemical Co. (St.Louis, MO, USA).
- Carbonato de sódio monohidratado: American Chemicals Ltd. (Montreal, Qc, Canadá).
- Brometo de sódio, 99%: BDH Inc. (Toronto, On, Canadá)
- Pentóxido de fósforo: BDH Inc. (Toronto, On, Canadá)
- Graxa de silicone: High Vacuum Grease, Dow Corning (Midland, MI, USA)

3.2 Ensaios preliminares

Nesta etapa foram estudados parâmetros básicos de formação de filmes: composição e pH, sendo observados visualmente a aparência, a cor, a homogeneidade e a transparência dos filmes formados bem como a facilidade em destacá-los.

Testes preliminares foram realizados para determinar a concentração dos diversos componentes na formulação. A literatura mostra que a concentração da proteína de soja que oferece melhor compromisso (entre a resistência do filme, a eficiência de incorporação de proteína na solução aquosa e a velocidade de formação) é 4.3% em pH 8,5 ou 5,3% em pH 9,5 (KROCHTA *et al.*, 1994). Concentrações mais elevadas perturbam a formação do filme devido à geleificação das soluções (WU e BATES, 1973). Para os testes preliminares, as proteínas (SPI sozinha, WPI sozinha e a mistura de SPI com WPI, na relação 1:1) foram testadas nas concentrações 5%, 5,5% e 6%. Para cada uma dessas concentrações, variou-se o pH entre 7 e 9. Essas condições foram estabelecidas de acordo com a experiência prévia do laboratório (BRAULT *et al.*, 1997; MEZGHENI *et al.*, 1998; LACROIX *et al.*, 1998) e conciliando com as condições ótimas mencionadas. Os filmes resultantes dessas soluções foram comparados visualmente.

Em todos os filmes, o glicerol foi utilizado como plastificante, na concentração de 2,5% conforme testado anteriormente em filmes a base de proteínas de leite (caseinatos e soro de leite) (BRAULT *et al.*, 1997; MEZGHENI *et al.*, 1998; LACROIX *et al.*, 1998).

Estudos anteriores com filmes a partir de caseinato de cálcio demonstraram que a adição de CMC na formulação contribuia para formar filmes menos colante/pegajoso e mais resistente ao manuseio (RESSOUANY *et al.*, 1998). Dentre as concentrações testadas, a de 0,25% resultou em filmes com melhor aspecto. Esta concentração foi testada neste trabalho e filmes com e sem CMC foram comparados.

O uso de PVA em sistemas alimentares tem sido pouco relatado na literatura, entretanto é altamente empregado em filmes e na área da medicina. Por ser um polímero reticulável por irradiação gama, sua adição foi testada na formulação dos filmes, nas

concentrações de 0,1%, 0,15%, 0,2% e 0,5%. A Tabela 3.1 apresenta as condições testadas nos ensaios preliminares.

Tabela 3.1 – Condições utilizadas nos ensaios preliminares.

Concentração de Proteína	**pH**	**Outros componentes**
5% WPI e SPI (1:1)	7, 8 e 9	---
5.5% WPI e SPI (1:1)	7, 8 e 9	---
6% WPI e SPI (1:1)	7, 8 e 9	---
5% SPI	7, 8 e 9	---
5% SPI	8,5	0% e 0,5% de PVA
5% SPI	8,5	0 e 0,25% de CMC
5% SPI e WPI (1:1)	8,5	0%, 0,1%, 0,15%, 0,2% e 0,5% de PVA
5% SPI e WPI (1:1)	8,5	0 e 0,25% de CMC

Com as observações desta etapa preliminar pôde-se estabelecer condições de formação dos filmes para estudo de suas propriedades. Entretanto, já nesta etapa preliminar, a preparação dos filmes seguiu procedimento anteriormente utilizado para formação de filmes baseados em caseinatos (BRAULT *et al.*, 1997; MEZGHENI *et al.*, 1998; LACROIX *et al.*, 1998). Com a definição das condições de estudo, o procedimento de preparação da solução formadora dos filmes foi estabelecido. Este procedimento está descrito no item 3.3.

3.3 Procedimento para formação dos filmes

3.3.1 Preparação de soluções estoques

- Solução de PVA (1%):

1g de PVA foi dissolvido em 100mL de água destilada a frio, sob agitação até total dissolução. A solução foi mantida na geladeira, a 4°C.

- Solução de CMC (2,5%):

2,5g de CMC foi dissolvido em 100mL de água destilada a frio, sob agitação até total dissolução. A solução foi mantida na geladeira, a 4°C.

- Solução de Na_2CO_3 (1M):

10,6g de Na_2CO_3 foi dissolvido em 100mL de água destilada a frio, sob agitação até total dissolução. A solução foi mantida na geladeira, a 4°C.

3.3.2 Procedimentos

A proteína (SPI ou mistura de WPI com SPI na relação 1:1) na concentração de 5% (peso/volume) foi solubilizada em água destilada sob agitação e em banho de água a 80°C, durante 30 minutos. O pH foi acertado em 8,5 com Na_2CO_3 (1M) e nas soluções pertinentes, o PVA foi adicionado na concentração de 0,5% (peso/volume). Após a dissolução, o glicerol foi acrescentado na concentração 2,5% (peso/volume). As soluções a serem irradiadas foram submetidas a vácuo (10 minutos) e colocadas em fluxo de N_2 (15 minutos). Após a irradiação (ver item 3.3.3), nas soluções pertinentes, o CMC foi adicionado na concentração de 0,25% (peso/volume). Alíquotas de 5mL foram pipetadas das soluções e colocadas em placas de polimetacrilato ("plexiglass"), com diâmetro interno de 8,5cm. Estas placas foram colocadas em superfície niveladas (com prumo) em câmara climatizada com temperatura (20 ± 2°C) e umidade relativa (45-50%) controladas. Após a secagem (período de uma noite) os filmes foram destacados intactos das placas. Cada filme foi identificado e guardado em dessecador com umidade relativa de 56% (Figura 3.1).

Figura 3.1 – Secagem de filmes.

3.3.3 Irradiações

A irradiação das soluções foi feita no Canadian Irradiation Center (CIC) utilizando um irradiador comercial de ^{60}Co UC-15A (MDS-Nordion International Inc., Kanata, On, Canadá). As irradiações foram feitas num dispositivo projetado pela própria Nordion, submerso na água da piscina ("under water"). A distribuição de dose neste dispositivo é monitorada pela equipe de operadores da Nordion, consistindo de dosimetria da fonte realizada previamente conforme metodologia de Fricke. Assim, em cada irradiação foi considerado o valor de dose, certificada pela Nordion, levando em consideração o decaimento radiativo diariamente.

Para entrada no irradiador, os frascos contendo as soluções formadoras de filmes (após vácuo e N2) foram selados e embrulhados em papel alumínio para melhor vedação. Cada amostra foi submetida à dose de 32 kGy e numa taxa de dose de 31,24kGy/h. A dose de 32 kGy foi estabelecida em função de estudo anterior das propriedades mecânicas de filmes em função da dose de irradiação (MEZGHENI *et al.*, 1998).

3.4 Medida da massa molar por cromatografia por exclusão de tamanho

A cromatografia por exclusão de tamanho foi conduzida na fração da solução de proteína usando um sistema de cromatografia líquida de alta resolução HPLC Varian Vista 5500 acoplado com um amostrador automático Varian modelo 9090. A detecção da solução de proteína foi feita usando um detector padrão UV em 280nm. Duas colunas Supelco Progel TSK PWH e GMPW seguidas de duas colunas Waters Hydrogel (2000 e 500) foram usadas para determinar a massa molar das soluções de proteínas reticuladas e das soluções controle. O limite de exclusão da massa molar foi de 25.10^6 baseado no polietilenoglicol (PEG) linear. O eluente (80% fase aquosa e 20% acetonitrila, v/v) foi passado através das colunas numa taxa de fluxo de 0,8mL por minuto. A porção aquosa do eluente foi tris buffer (0,02M, pH=8) e NaCl (0,1M). A curva de calibração da massa molar foi estabelecida usando uma série de marcadores de massa molar de proteína (Sigma, MW-GF-1000, USA) num intervalo de 2.10^6 a $2,9.10^4$. Todas as soluções de proteínas (0.5% peso/volume) foram filtradas (0,45μm) previamente à injeção.

3.5 Medidas de propriedades mecânicas

Todos os filmes, após serem destacados do substrato, foram guardados em dessecador com umidade relativa de 56% (na presença de solução de brometo de sódio saturada) e em câmara climatizada com temperatura (20 ± 2°C) e umidade relativa (45-50%) controladas, até o momento das medições. As medidas foram realizadas após o período de 24 horas (no mínimo) para acondicionamento adequado dos filmes.

A espessura dos filmes foi medida usando um indicador Mitutoyo Digimatic Indicator (Tokio, Japan). As medidas foram feitas através da redução gradual do micrômetro até a primeira indicação de contato. Para cada filme, a espessura foi medida em cinco posições diferentes e aleatórias, dentro da área a ser exposta ao ensaio. A média dessas cinco medidas foi usada nos cálculos das medidas das propriedades mecânicas, bem como para as medidas de permeabilidade ao vapor de água.

Os tipos de filmes estudados quanto às propriedades mecânicas e de barreira, bem como suas composições, estão apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Tipos de filmes estudados e suas composições.

Tipo de Sistema	Código (Tipo de filme)	Composição	Relação
Sistema S	S	SPI:Gli	(2:1)
	S 1	SPI:Gli:CMC	(20:10:1)
	S 2	SPI:Gli:CMC:PVA	(20:10:1:2)
Sistema SW	SW	SPI:WPI:Gli	(1:1:1)
	SW 1	SPI:WPI:Gli:CMC	(10:10:10:1)
	SW 2	SPI:WPI:Gli:CMC:PVA	(10:10:10:1:2)

(S= filmes a base de SPI; SW= filmes a base de mistura de SPI e WPI; SPI= proteína isolada de soja; WPI=proteína isolada de soro de leite; Gli=glicerol; CMC= carboxi metilcelulose; PVA= álcool polivinílico)

3.5.1 Medidas de resistência à perfuração e deformação no ponto de perfuração

As medidas de resistência à perfuração foram realizadas num analisador de textura Stevens LFRA texture analyser modelo TA/1000 com registrador modelo L6512 (Textures Technologies Co., NY, USA), segundo método descrito por GONTARD *et al.*, 1992. Cada amostra de filme foi posicionada entre duas placas de acrílico, contendo um orifício central de área circular com diâmetro de 3,2cm, e mantidos juntos por parafusos. Uma sonda cilíndrica (2mm de diâmetro) desceu perpendicularmente à superfície do filme, com velocidade constante (1mm/s), até passar através do filme. Os valores de resistência à perfuração e deformação no ponto de perfuração foram registrados e calculados. Para cada tipo de filme, foram feitas dezoito medidas.

O valor da resistência à perfuração (PS) foi calculado pela equação:

$PS = 9{,}81 \,.\, (F / e \,.1000)$ (N / mm) onde : *F* é a fôrça

e é a espessura

O valor da deformação no ponto de perfuração (PD) foi medido no registro e multiplicado pelo valor da constante de calibração do registrador. A unidade é o mm.

3.5.2 Medidas de viscoelasticidade

As medidas de viscoelasticidade foram avaliadas através de curvas de relaxação. Foi empregado o mesmo procedimento descrito em 3.5.1 porém a sonda foi parada quando a deformação atingiu 3mm. Permitiu-se, então, a relaxação do filme. As curvas de relaxação da força-tempo foram registradas durante um minuto seguido da deformação. O parâmetro Y(1min), uma relação sem dimensão, foi usado para representar o decaimento da força, calculado pela equação:

$$Y(1\text{min}) = (F_0 - F_1) / F_0,$$

onde Fo e F_1 são as forças medidas inicialmente e após um minuto de relaxação, respectivamente (PELEG, 1979). Um baixo coeficiente de relaxação ($Y \rightarrow 0$) indica filme com alta elasticidade enquanto que um alto coeficiente ($Y \rightarrow 1$) indica um filme com alta viscosidade. Para cada tipo de filme foram feitas quatro medidas.

3.6 Medidas de permeabilidade ao vapor de água (WVP)

A permeabilidade ao vapor de água (WVP) dos filmes foi determinada gravimetricamente usando procedimento ASTM (1983) modificado. Após acondicionamento dos filmes e de suas espessuras serem medidas (ver item 3.5), os filmes foram selados com

graxa de silicone na célula (de vidro) de permeação, contendo 10g de pentóxido de fósforo em seu interior para assegurar umidade relativa igual a 0% (pressão de vapor de água = 0 mmHg). O lado brilhante de cada filme ficou para cima e o opaco virado para o secante, durante as medições. As dimensões das células de permeação foram 3,8 cm (diâmetro interno), 8,3 cm (diâmetro externo) e 13,0 cm (altura), com uma área de exposição de 12,56 cm^2. O frasco foi colocado num dessecador com água destilada, mantida a umidade relativa em 100% (pressão de vapor de água = 17,54 mmHg, a 20°C). O vapor de água transferido através do filme e absorvido pelo secante foi determinado a partir do ganho de massa da célula.

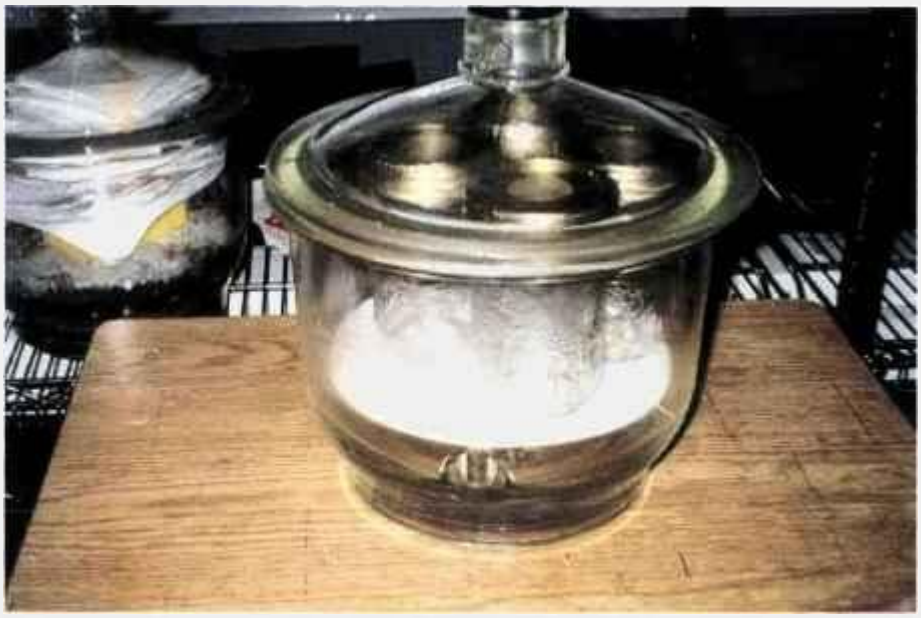


Figura 3.2 – Medição de permeabilidade ao vapor de água.

Os conjuntos (Figura 3.2) foram pesados inicialmente e nos intervalos de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24, e 48 horas. A relação de ganho de massa em função do tempo foi ajustado em a equação de uma reta (Figura 3.3) com coeficiente de correlação significante (r = 0.997). Inicialmente o ganho de massa é alto e após certo período (≈6h), a taxa de mudança do peso comneça a ser constante. As medidas de ganho de massa para cada filme foram estabelecidas para serem feitas após 24h. Os valores de permeabilidade de água foram calculados por (HEISS, 1958; KAREL *et al.*. 1959; LABUZA e CONTRERAS-MEDELLIN, 1981):

$$WVP = (w.x / A . T . (p_2 - p_1) \qquad (g.mm / m^2.dia.mmHg)$$

onde: *w* é o ganho de massa (g)
x é a espessura do filme (mm)

Os outros parâmetros são fixos para a condição de trabalho, a saber:

A é a área de exposição do filme ($12{,}56.10^{-4}$ m^2)
T é o tempo (24h)
$p_2 - p_1$ é a diferença de pressão de vapor através do filme (sendo p_1 =0mmHg e p_2=17,54mmHg, a 20°C).

Para cada tipo de filme foram feitas oito repetições.

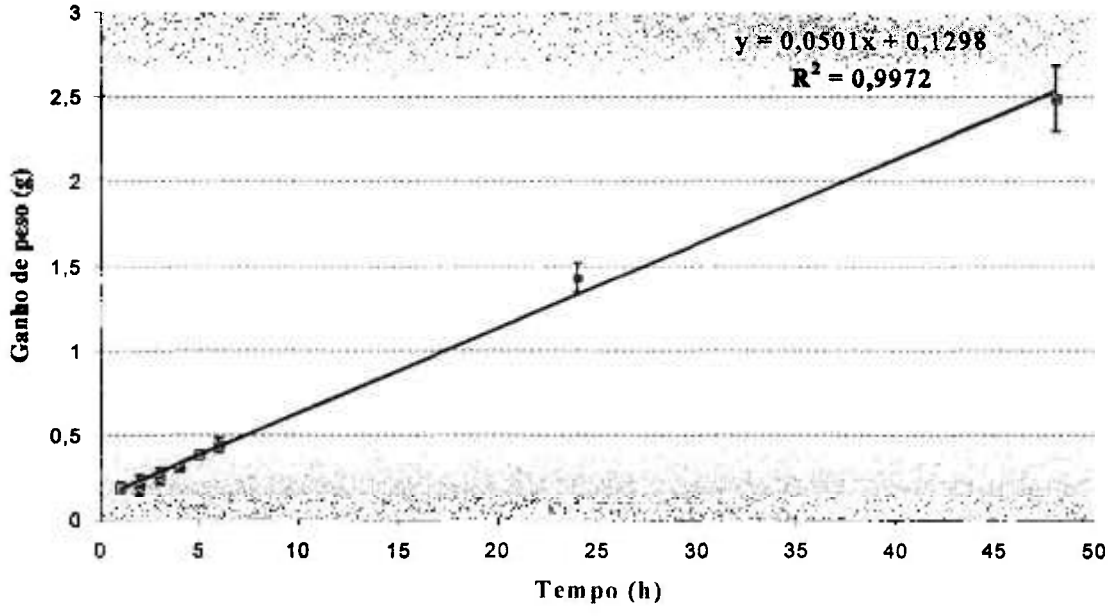


Figura 3.3 – Curva de ganho de massa em função do tempo para estabelecer o período de condição estável.

3.7 Análise estatística dos dados

Diferenças específicas entre filmes irradiados e não irradiados foram determinadas pela menor diferença significativa (LSD), utilizando-se o teste t-Student. A análise de variança foi empregada para analisar estatisticamente todos os resultados. Todas as comparações foram feitas no nível de significância de 5%. O programa utilizado para a análise estatística foi o SPSS for MS Windows, versão 6.1 (Microsoft Inc., USA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resultados dos ensaios preliminares

Nesta fase preliminar várias informações foram obtidas e serviram para orientar a escolha das principais formulações a serem estudadas quanto as propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água. As observações nesta etapa foram apenas visuais e não foram quantificadas.

Notou-se que com o aumento da concentração de proteína na solução formadora de filme, a sua dissolução foi dificultada, exigindo um pH um pouco mais elevado. A dissolução em pH 7 foi mais difícil que em pH mais elevados (8 e 9). A adição de CMC ou PVA na forma de solução não causou dificuldades na formação da solução. A tentativa inicial de adicionar o CMC na forma de pó resultou em filmes não homogêneos. Com relação à homogeneidade, evidenciou-se que as soluções que tiveram menor dificuldade na solubilização, apresentaram filmes com melhor aparência.

Os filmes apresentaram cor ligeiramente amarelada, sendo que para pH mais elevados (principalmente acima de 9) essa coloração foi mais acentuada. A adição de CMC ou PVA nas concentrações estudadas não modificou a coloração, quando os filmes foram comparados visualmente.

Os filmes obtidos apresentaram-se transparentes e a adição de CMC ou PVA nas concentrações ensaiadas não comprometeram a transparência dos filmes.

Todos os filmes obtidos nessas condições preliminares puderam ser destacados do substrato. Filmes formados em pH 7 foram mais difíceis de manusear. Os filmes contendo CMC apresentaram mais facilidade de destaque e manuseio.

4.2 Resultados da massa molar por cromatografia por exclusão de tamanho

O aquecimento da proteína causa desnaturação, induzindo ligações bissulfídricas e assim, agregação da proteína. A proteína isolada de soja desnaturada mostrou dois principais picos de massa molar, na faixa de 60.10^3 e 2000.10^3 (Figura 4.1). Quando a irradiação gama foi combinada com o aquecimento, adicionais ligações cruzadas foram geradas em ambos os sistemas estudados, S e SW, como sugerido pelas curvas de eluição da cromatografia de exclusão por tamanho (Figuras 4.1 e 4.2).

A irradiação do sistema S induziu uma diminuição do pico de $60.\ 10^3$ e um aumento do pico de $200\text{-}2000.10^3$ (Figura 4.1b). O desvio da fração de baixa massa molar para valores mais altos é interpretado como um aumento da agregação da proteína do sistema S devido a formação de bitirosina (isto é, ligações cruzadas). Está claro na Figura 4.1 que a combinação do processo de irradiação gama ao tratamento térmico gerou uma agregação de proteína mais importante, uma vez que adicionais ligações cruzadas foram formadas, ou seja, bitirosina em acréscimo a ligações bissulfídricas. Baseado na curva de calibração da proteína, o efeito da agregação da proteína aumentou a massa molar em mais de 15 vezes (Figura 4.1). A integração da área do pico indicou que o aumento da massa molar afetou somente 15% do total da proteína de soja. Estudos prévios demonstraram que a irradiação gama de soluções de caseinato induziram a formação de bitirosina, resultando num aumento de massa molar de caseinato mais de 60 vezes (DAVIES *et al.*, 1987; BRAULT *et al.*, 1997; MEZGHENI *et al.*, 1998; RESSOUANY *et al.*, 1998; LACROIX *et al.*, 1998; VACHON *et al.*, 1999). Desde que o conteúdo de tirosina na proteína isolada de soja é menor do que no caseinato, 3,3% vs. 4,0% respectivamente (STUCHELL e KROCHTA, 1994), menos bitirosina (isto é, ligações cruzadas) são geradas por irradiação gama, levando a um comportamento de agregação menos importante na proteína de soja em relação ao caseinato.

Quando SPI foi misturado com WPI na relação 1:1 (sistema SW), o padrão de eluição exibiu um pico principal em 60.10^3, com um ombro em 2000.10^3 (Figura 4.2a). A irradiação do sistema SW aumentou a agregação da proteína, como confirmado pelo desvio da massa molar de 60.10^3 para 200.10^3, e o aumento da intensidade da fração de massa molar alta

para 2000.10^3 (Figura 4.2b). A formação de bitirosina, induzida por irradiação gama é responsável por este desvio de massa molar para valores mais altos (Figura 4.2b). Entretanto, a agregação de proteína no sistema SW não foi tão importante como no sistema S, sendo o desvio menor que 5 vezes comparado com 15 vezes, respectivamente. O comportamento é devido ao fato que WPI contem menos tirosina do que SPI, 2,5% vs. 3,3% respectivamente (STUCHELL e KROCHTA, 1994). Comparando com outros sistemas complexos, o desvio da massa molar foi relatado ser mais importante no sistema caseinato/WPI (VACHON *et al.*, 1999). A quantidade maior de bitirosina no caseinato (4,0%) contribui para esse comportamento.

O uso do processo de irradiação gama provou ser eficiente pois resultou em aumento de reticulações (ligações cruzadas) nos dois sistemas estudados.

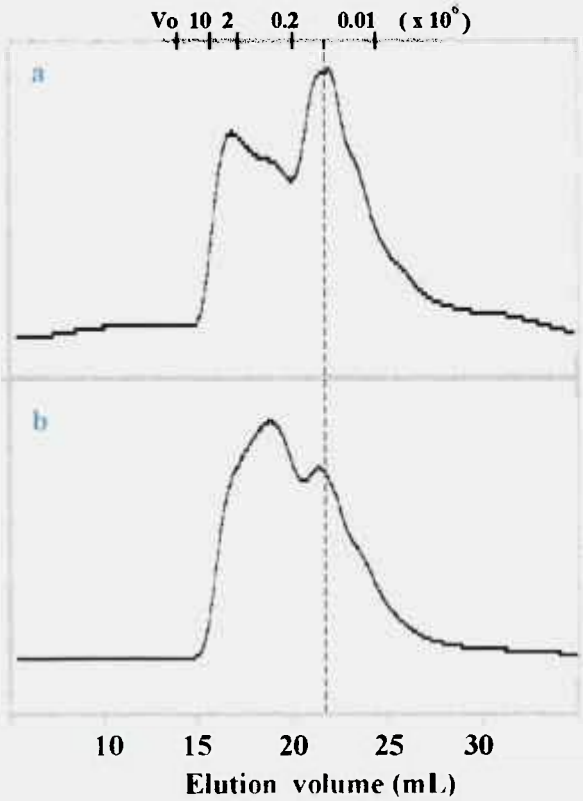


Figura 4.1 – Curva de eluição de SPI (5%) aquecida (a) e aquecida e irradiada a 32kGy (b).

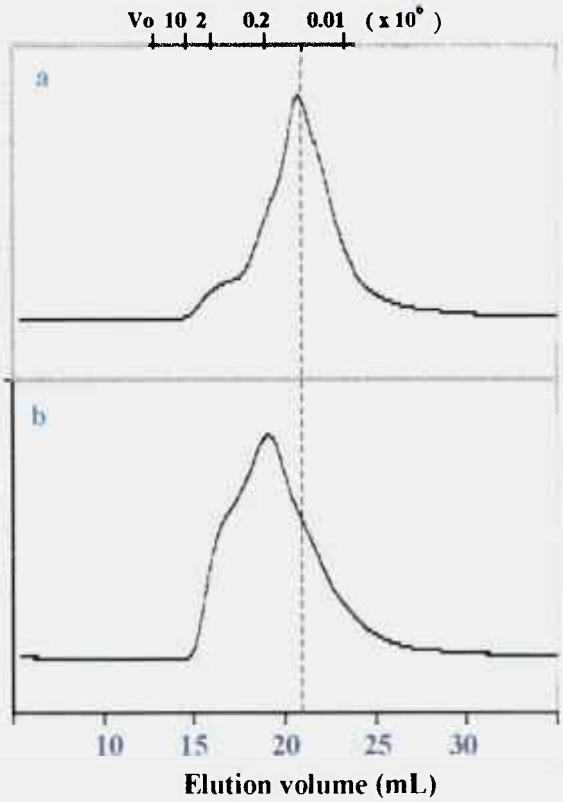


Figura 4.2 – Curva de eluição da mistura de SPI e WPI (1:1) aquecida (a) e aquecida e irradiada a 32kGy (b).

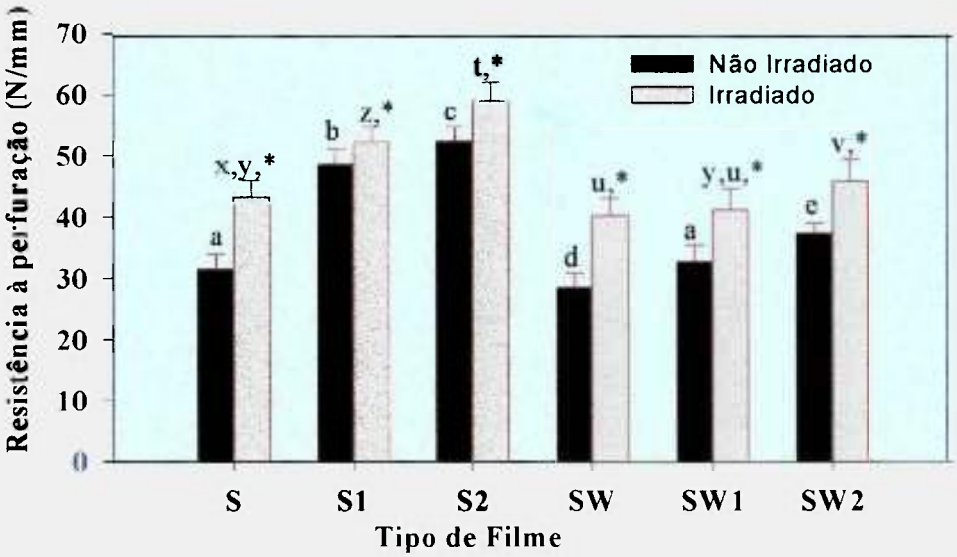


Figura 4.3 Resistência à perfuração de filmes a base de SPI e mistura de SPI e WPI. Médias com letras diferentes são significativamente diferentes ($p<0.05$). Amostras irradiadas com asterisco são significativamente diferentes ($p<0.05$) das correspondentes não irradiadas.

4.3 Resultados das propriedades mecânicas: resistência à perfuração, deformação no ponto de perfuração e viscoelasticidade

Os valores individuais das medidas de resistência à perfuração, de deformação no ponto de perfuração e de viscoelasticidade, das espessuras, bem como as médias e desvios-padrão para cada tipo de filme estão nos apêndices 1 a 12. As médias, desvios-padrão e a comparação estatística para estas propriedades estão apresentadas nas Tabelas 4.1, 4.2 e 4.3 e nas Figuras 4.3, 4.4 e 4.5.

Tabela 4.1 – Resistência à perfuração de filmes a base de proteínas.

	Resistência à Perfuração (N/mm)	
Tipo de filme	**Não Irradiado**	**Irradiado (32kGy)**
S	31,53 ± 2,34 [a]	43,30 ± 2,75 [x,y*]
S 1	48,63 ± 2,67 [b]	52,20 ± 2,52 [z,*]
S 2	52,49 ± 2,25 [c]	59,00 ± 3,10 [t,*]
SW	28,60 ± 2,40 [d]	40,32 ± 2,87 [u,*]
SW 1	32,79 ± 2,83 [a]	41,27 ± 3,52 [y,u,*]
SW 2	37,48 ± 1,64 [e]	46,07 ± 3,56 [v,*]

Médias com diferentes letras em cada coluna são significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).
Médias seguidas por asterisco em cada fila são significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

As ligações cruzadas conferem aos materiais propriedades elastoméricas, sendo que quanto mais as cadeias forem ramificadas, mais rígido é o material (Stevens, 1990). O efeito da combinação do processo de irradiação gama ao tratamento térmico para os dois sistemas S e SW foram estudados com relação às propriedades mecânicas, resistência à perfuração e deformação no ponto de perfuração.

As Figuras 4.3 e 4.4 (e Tabelas 4.1 e 4.2) ilustram o aumento significativo ($p \leq 0,05$) da resistência à perfuração e da deformação no ponto de perfuração, para os filmes com diferentes formulações, quando irradiados. Estes resultados claramente enfatizam que a irradiação gama combinada com o tratamento térmico aumenta a formação de ligações cruzadas tornando, assim, possível a formação de filmes com propriedades mecânicas melhoradas.

A melhoria do comportamento mecânico dos filmes mostrou-se fortemente relacionada com as formulações. Em ambos sistemas investigados, o efeito da irradiação na resistência à perfuração foi mais pronunciada na presença somente de glicerol (S e SW). No sistema S, uma melhoria significante de 37% foi observada, enquanto que em sistema mais complexo, sistema SW, a irradiação-γ aumentou significativamente a resistência à perfuração em 41%. A adição de CMC aumentou significativamente a resistência à perfuração dos dois sistemas (S1 e SW1): de 31,5N/mm para 48,6 N/mm no sistema S (tratado termicamente), e de 28,6N/mm para 32,8N/mm no sistema SW (mesmo tratamento) (Tabela 4.1). A irradiação-γ resultou num aumento significativo da resistência à perfuração de 7% e de 26% no sistema S e SW respectivamente (Tabela 4.1). A incorporação de PVA nos dois sistemas (S2 e SW2) aumentou ainda mais a resistência à perfuração, passando de 48,6N/mm para 52,5N/mm no sistema S (com aquecimento) e de 37,5N/mm para 46,1N/mm no sistema SW (Tabela 4.1). Como para formulações prévias, quando a irradiação-γ foi aplicada nos dois sistemas que continham CMC e PVA (S2 e SW2), uma melhoria significativa nos valores de resistência à perfuração ocorreu: 12% no sistema S e 23% no sistema SW (Tabela 4.1).

Tabela 4.2 – Deformação no ponto de perfuração de filmes a base de proteínas.

	Deformação (mm)	
Tipo de Filme	**Não Irradiado**	**Irradiado (32kGy)**
S	6,20 ± 0,30 [a]	6,31 ± 0,25 [x]
S 1	4,80 ± 0,34 [b]	6,21 ± 0,35 [x,*]
S 2	5,07 ± 0,35 [c]	5,85 ± 0,26 [y,*]
SW	3,71 ± 0,30 [d]	4,78 ± 0,45 [z,*]
SW 1	4,12 ± 0,49 [e]	4,76 ± 0,44 [z,*]
SW 2	4,38 ± 0,21 [e]	4,83 ± 0,26 [z,*]

Médias com diferentes letras em cada coluna são significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).
Médias seguidas por asterisco em cada fila são significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

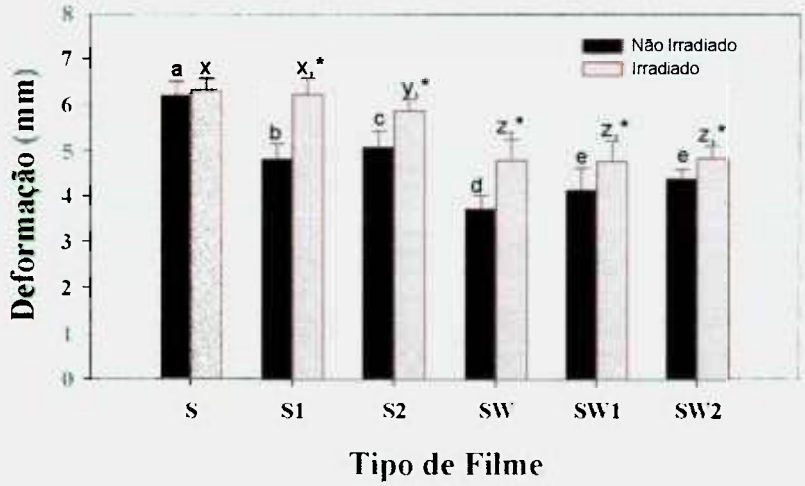


Figura 4.4 Deformação no ponto de perfuração de filmes a base de SPI e mistura de SPI e WPI. Médias com letras diferentes são significativamente diferentes ($p<0.05$).
Amostras irradiadas com asterisco são significativamente diferentes ($p<0.05$) das correspondentes não irradiadas.

Entre as formulações estudadas nos dois sistemas, o valor medido de resistência à perfuração foi o maior nas formulações irradiadas S2 e SW2 (Tabela 4.2). Os valores de resistência à perfuração podem ser relacionados à quantidade de ligações cruzadas produzidas, que podem ser bitirosina e pontes bissulfídricas, durante o processo de irradiação. Consequentemente, ligações cruzadas foram significativamente mais imporatantes nas formulações que continham mais componentes, especialmente PVA (S2 e SW2) (Tabela 4.1). Este resultado pode ser explicado pelo fato que o PVA reticula pela indução de irradiação-γ (ULANSKI, 1994). Como mencionado anteriormente, sob a radiólise, radicais hidroxilas (˙OH) são gerados a partir da água (VON SONTAG, 1987; BRAULT *et al.*, 1997). Esses radicais são os principais precursores de macroradicais e reagem com a cadeia de PVA pela abstração de hidrogênio.

Se compararmos somente formulações irradiadas nos sistemas S e SW, a presença de CMC (S1) em adição à irradiação-γ teve um efeito mais pronunciado no valor de resistência à perfuração no sistema S (Tabela 4.1), indo de 43,3N/mm para 52,2N/mm, que representa uma aumento de 21% contra 13% quando o PVA está presente (de 52,2N/mm em S1 para 59,9M/mm em S2). Enquanto no sistema SW (Tabela 4.1), um efeito maior foi obtido na

presença de CMC com PVA (SW2), em adição à irradiação-γ: de 41,3N/mm (SW1) para 46,1N/mm (SW2), que é um aumento de 12% *versus* 2% na presença de CMC sozinho (de 40,3N/mm em SW para 41,3N/mm em SW1).

Finalmente, os valores de resistência à perfuração foram significativamente mais importantes no sistema S, irradiado e não irradiado, do que no sistema SW (Tabela 4.1 e Figura 4.3). Consequentemente, a geração de ligações cruzadas foi mais importante no sistema S.

Exceto para a formulação S, a deformação no ponto de perfuração aumentou significativamente ($p \leq 0,05$) pela irradiação-γ (Tabela 4.2), indicando que o tratamento com a irradiação gerou filmes elásticos, isto é, flexíveis. Nas formulações que contém somente glicerol, S1 e SW1, o processo de irradiação-γ teve um impacto somente no sistema SW, De fato, com a irradiação-γ uma melhoria significativa de 29% na deformação foi observada em SW1 (Tabela 4.2). A melhoria da elasticidade é tambem confirmada pelo decréscimo significativo de 27% do coeficiente de relaxação (Tabela 4.3). A adição de CMC diminuiu significativamente a deformação no sistema S, de 6,20mm para 4,80mm em S1 (tratado termicamente) (Tabela 4.2). No sistema SW, comportamento oposto ocorreu, isto é, um aumento significativo da deformação de 3,71mm para 4,12mm com adição de CMC (Tabela 4.2). Embora a adição de CMC não mudou significativamente o coeficiente de relaxação no sistema S, um decréscimo dramático de 32% foi observado no sistema SW (Tabela 4.3), confirmando a melhoria na flexibilidade na formulação SW1. A irradiação-γ resultou num aumento significante da deformação de 29% e 16% no sistema S e SW respectivamente (Tabela 4.2). Entretanto, a irradiação-γ não afetou significativamente o coeficiente de relaxação (Tabela 4.5). A incorporação de PVA para ambos os sistemas (S2 e SW2) aumentou a deformação de 4,80mm para 5,07mm na formulação S2 não irradiada, e de 4,12mm para 4,38mm na formulação SW2 não irradiada (Tabela 4.2). Uma diminuição significante de 11% no coeficiente de relaxação resultou para S2, enquanto que no sistema SW, o coeficiente de relaxação não variou significativamente (Tabela 4.3). Por outro lado, a deformação em S2 foi significativamente menor do que a deformação em S, 5,07mm *versus* 6,20mm (Tabela 4.3).

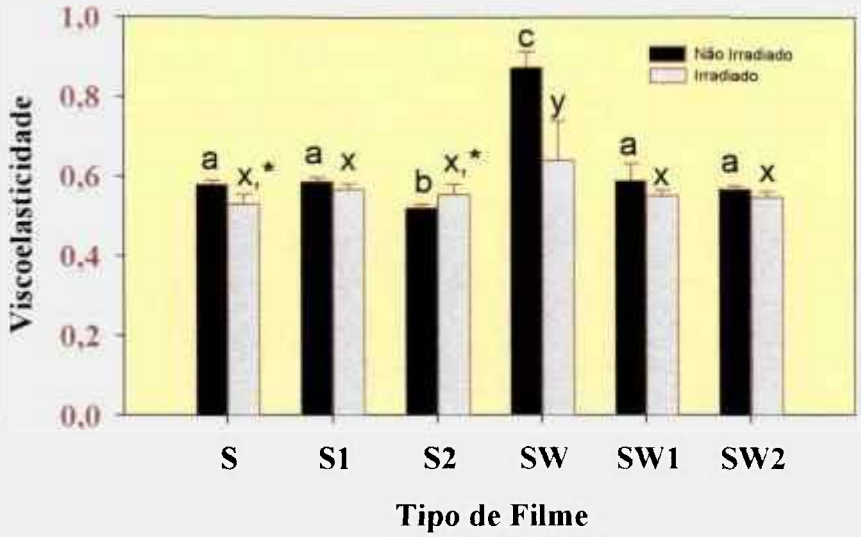


Figura 4.5 Viscoelasticidade de filmes a base de SPI e mistura de SPI e WPI. Médias com letras diferentes são significativamente diferentes ($p<0.05$). Amostras irradiadas com asterisco são significativamente diferentes ($p<0.05$) das correspondentes não irradiadas.

Tabela 4.3 – Viscoelasticidade de filmes a base de proteínas.

	Viscoelasticidade	
Tipo de Filme	**Não Irradiado**	**Irradiado (32kGy)**
S	0,579 ± 0,012 [a]	0,530 ± 0,026 [x,*]
S 1	0,586 ± 0,011 [a]	0,567 ± 0,014 [x]
S 2	0,519 ± 0,006 [b]	0,554 ± 0,026 [x,*]
SW	0,874 ± 0,040 [c]	0,639 ± 0,098 [y]
SW 1	0,588 ± 0,043 [a]	0,550 ± 0,015 [x]
SW 2	0,566 ± 0,008 [a]	0,547 ± 0,014 [x]

Médias com diferentes letras em cada coluna são significativamente diferentes ($p\leq0.05$).
Médias seguidas por asterisco em cada fila são significativamente diferentes ($p\leq0.05$).

Como observado para a resistência à perfuração, os valores da deformação foram fortemente dependentes da formulação dos filmes. O maior valor da deformação para cada sistema (S e SW) foi obtido com a formulação S e SW2 (Tabela 4.2). O coeficiente de relaxação dos filmes para esta última formulação foram comparáveis 0,59 vs. 0,55 (Tabela 4.3). Por isto, a presença de componentes no sistema S não influenciaram o comportamento elástico dos biofilmes, enquanto que a adição de CMC e PVA ao SW melhorou a elasticidade dos filmes, como confirmado pelo importante decréscimo do coeficiente de relaxação em SW1 e SW2 com relação a SW (Tabela 4.3).

A contribuição da irradiação-γ foi mais importante nas formulações S1 e em SW. Os dois casos apresentaram um aumento significativo de 29% na deformação, enquanto menor contribuição da irradiação-γ nos valores de deformação foram encontrados para as formulações relativas a S, S2, SW1 e SW2. Estes resultados podem ser interpretados em termos do conteúdo de bitirosina, isto é, ligações cruzadas ou cadeias ramificadas. Parece que muitas ligações cruzadas são produzidas em S, S2, SW1 e SW2, levando a um filme rijo, ao passo que a quantidade de cadeias ramificadas produzidas em S1 e em SW pareceu ser suficiente o bastante para conferir propriedades viscoelásticas aos filmes. A deformação dos filmes foram significativamente mais importantes no sistema S (não irradiado e irradiado) do que no sistema SW (Figura 4.4). Por isso, a adição de WPI na formulação tende a formar filmes mais rijos com relação a SPI, como pode ser confirmado pelo valor mais alto do coeficiente de relaxação encontrado na formulação SW (Figura 4.5).

Os resultados discutidos demonstram que o comportamento mecânico dos filmes comestíveis e o efeito do tratamento da irradiação-γ é fortemente sensivel à formulação (Tabela 4.4). O maior efeito do tratamento da irradiação-γ na formação da bitirosina, isto é, ligações cruzadas, no sistema S ocorreu na formulação S, levando a um aumento de 37% no valor de resistência à perfuração (Tabela 4.4). Entretanto, a irradiação-γ não induziu uma variação significativa na deformação (Tabela 4.4). Aparentemente, muitas ligações cruzadas foram produzidas, levando a uma rede tridimensional rígida. Por outro lado, o efeito mais importante na deformação foi observado quando CMC foi adicionado à formulação S1 (Tabela 4.4): um aumento de 29% foi medido após a irradiação. Estes podem ser explicados pelo fato

de menor quantidade de ligações cruzadas serem produzidas em S1 com relação a S, como confirmado pelo baixo efeito da irradiação-γ nos valores de resistência à perfuração (Tabela 4.4). Como consequência, filmes se comportam similarmente a elastômeros.

A maior contribuição nas propriedades mecânicas pela irradiação-γ no sistema SW foi observado na formulação SW: um aumento de 41% na resistência ã perfuração foi notado entre as amostras não irradiadas e irradiadas (Tabela 4.4). Ligações cruzadas geradas por esta formulação parecem não serem muitas, mas suficientes para conferir boas propriedades elastoméricas ao filme: um aumento de 29% na deformação foi medido após o tratamento da irradiação (Tabela 4.4). Embora a adição de CMC na formulação, SW1, abaixou a quantidade de ligações cruzadas, como inferido a partir do menor aumento do valor da resistência à perfuração, 26%, um aumento importante de 16% na deformação ocorreu quando a irradiação-γ foi aplicada que não é desprezível.

O maior aumento da deformação (29%) pelo tratamento da irradiação-γ foi observado com as formulações S1 e SW, sugerindo que as ligações cruzadas formadas são próximas ao ótimo nessas formulações, irradiadas a 32kGy. A contribuição do CMC em melhorar as propriedades mecânicas dos filmes, especialmente no sistema S, confirma a sinergia entre o CMC e a irradiação-γ.

Tabela 4.4 – Efeito da irradiação gama (32kGy) no comportamento mecânico de filmes baseados em SPI e na mistura de SPI e WPI (1:1).

	Sistema S			**Sistema SW**		
	S	**S1**	**S2**	**SW**	**SW1**	**SW2**
Resistência à Perfuração (%)	37	7	12	41	26	23
Deformação (%)	-	29	15	29	16	10

4.4 Resultados de permeabilidade ao vapor de água (WVP)

Os valores individuais das medidas de permeabilidade ao vapor de água, bem como as médias e desvios-padrão de cada tipo de filme estão nos apêndices 1 a 12. As médias, desvios-padrão e a comparação estatística para esta propriedade está apresentada na Tabela 4.5 e na Figura 4.6. Todos os valores de permeabilidade ao vapor de água (WVP) estão expressos na unidade descrita em 3.6.

Tabela 4.5 – Permeabilidade ao vapor de água (WVP) de filmes a base de proteínas.

	WVP (g.mm/m^2.24h.mmHg)	
Tipo de Filme	**Não Irradiado**	**Irradiado (32kGy)**
S	3,03 ± 0,51 ^{a,b}	2,64 ± 0,47 ^{x}
S 1	3,16 ± 0,39 ^{a}	2,03 ± 0,28 ^{y,*}
S 2	2,90 ± 0,39 ^{a,b}	2,75 ± 0,47 ^{x}
SW	3,28 ± 0,42 ^{a}	2,65 ± 0,47 ^{x}
SW 1	2,68 ± 0,29 ^{b}	2,95 ± 0,31 ^{x}
SW 2	3,23 ± 0,27 ^{a}	2,82 ± 0,36 ^{x}

Médias com diferentes letras em cada coluna são significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).
Médias seguidas por asterisco em cada fila são significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

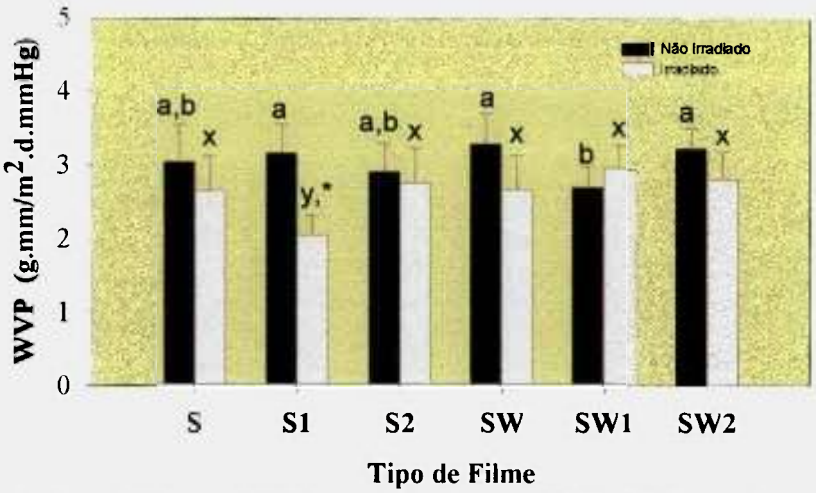


Figura 4.6 Permeabilidade ao vapor de água (WVP) de filmes a base de SPI e mistura de SPI e WPI.
Médias com letras diferentes são significantivamente diferentes ($p<0.05$).
Amostras irradiadas com asterisco são significativamente diferentes ($p<0.05$) das correspondentes não irradiadas.

Os valores de WVP no sistema S não irradiado ficaram no intervalo de 2,90 a 3,16 (Tabela 4.5). A contribuição da irradiação-γ foi significativa somente na formulação S1, em presença de CMC. De fato, com a irradiação, a WVP de S1 foi de 3,16 para 2,03, representando um decréscimo de 36% (Tabela 4.5). Este comportamento pode ser explicado pelo aumento de interações proteína-proteína resultante da formação de bitirosina, ligações cruzadas, que resultam da diminuição da difusão do permeante (KROCHTA *et al.*, 1994). Para o sistema SW, o único impacto significativo advindo da formulação foi observado na formulação SW1. A presença de CMC deu filmes com menor permeabilidade em relação às formulações SW e SW2, 2,68 comparado com 3,23 e 3,28 respectivamente. O impacto da irradiação-γ não influenciou a WVP dos filmes no sistema SW como no caso do sistema S. Além disso, a adição de WPI não agregou valor à propriedade de barreira.

A adição de CMC foi efetiva em ambos os sistemas (S e SW). No sistema S, seu efeito foi combinado com o processo de irradiação-γ, ao passo que no sistema SW, o efeito foi

observado na formulação não irradiada. O impacto do CMC pode ser atribuido a sua característica em formar complexos eletrostáticos com proteínas (IMESON *et al.*, 1977; SHIH, 1994). Entretanto, o efeito do CMC pode também ser explicado por uma das funções básicas do CMC que é conferir viscosidade à fase aquosa, estabilizando, assim, outros ingredientes ou prevenindo a sinerese (KROCHTA *et al.*, 1994). Embora mais ligaçoes cruzadas foram gerados na presença de PVA, este componente não trouxe diminuição da permeabilidade dos filmes correspondentes com relação ao CMC.

Os valores de WVP obtidos neste trabalho são comparáveis aos reportados anteriormente por STUCHELL e KROCHTA (1994) e por JO *et al.* (1996) para filmes a base de proteína de soja. Filmes não irradiados mostraram valores de WVP na faixa de 2,9 a 3,2 para o sistema S e 2,7 a 3,3 para o sistema SW, enquanto que os valores de WVP para filmes irradiados ficaram na faixa de 2,0 a 2,75 para o sistema S e 2,65 a 2,95 para o sistema SW. Assim, pode-se concluir que a adição de WPI não teve um impacto significante nas propriedades de barreira dos filmes. Apesar disso, cabe ressaltar que as propriedades de barreira para o sistema SW (mistura de SPI e WPI na relação 1:1), se mostraram mais eficientes do que para o sistema SPI/PEO relatado: 2,65 a 3,3 versus 34,6 a 46,1 respectivamente (GHORPADE *et al.*, 1995).

5 CONCLUSÕES

A partir dos diversos resultados no presente estudo, envolvendo soluções complexas de proteínas com outros componentes e combinadas com o tratamento por irradiação gama, pode-se concluir o seguinte:

As soluções de proteína isolada de soja e de mistura de proteínas de soja com soro de leite (1:1) quando irradiadas formam ligações cruzadas adicionais com relação ao tratamento térmico, para ambos os sistemas.

A agregação no sistema contendo mistura de proteína isolada de soja e de soro de leite não foi tão importante como no sistema contendo apenas a proteína isolada de soja.

A irradiação gama aumentou significativamente a resistência à perfuração e a deformação no ponto de perfuração, enfatizando que o processo de irradiação combinado com o térmico forma filmes com propriedades mecânicas melhoradas.

O comportamento mecânico é fortemente relacionado com a formulação. O carboxi metil celulose apresentou sinergia com o processo de irradiação gama, principalmente para o sistema contendo apenas proteína isolada de soja.

A irradiação gama abaixou significativamente a permeabilidade ao vapor de água para o sistema de proteína isolada de soja contendo carboxi metil celulose.

A permeabilidade ao vapor de água foi afetada pelo carboxi metil celulose em ambos os sistemas enquanto que a adição de álcool polivinílico não trouxe a contribuição esperada.

O processo de irradiação gama contribuiu na elaboração de filmes comestíveis com propriedades mecânicas melhoradas. Embora ainda incipiente, seu emprego na confecção de filmes comestíveis tem potencial de forte crescimento. A formação de filmes comestíveis estéreis, inerente ao nível de dose aplicada, permite visualizar a utilização do processo de irradiação em segmentos que requerem alta assepsia. Por outro lado, a melhoria do comportamento mecânico demonstrado por este trabalho, permite vislumbrar estudos complementares, com objetivo de aumentar a aplicabilidade de certos produtos agrícolas, tais como a soja, extrapolando seu uso apenas em alimentos, e ganhando novas dimensões como substituto de plásticos.

TRABALHOS FUTUROS

Diversos linhas de pesquisas poderão ser desenvolvidas a partir das informações e conclusões deste trabalho:

- Estudos das propriedades mecânicas de filmes protéicos com variação das doses de radiação e da taxa de dose.
- Estudos da permeabilidade ao vapor de água de filmes protéicos com variação de doses de radiação.
- Estudos da permeabilidade ao vapor de água de filmes protéicos com variação do teor de CMC.
- Aplicação de filmes comestíveis protéicos em sistemas alimentares com controle microbiológico para estudos de aumento de tempo de prateleira.
- Análise sensorial de alimentos recobertos por filmes comestíveis protéicos.

Apêndice 1 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S.

Tabela 1.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme S.

	PS (N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	29,65	6,02	2,88	0,585
	30,22	6,30	2,62	0,588
	28,83	6,30	3,60	0,579
	27,12	6,51	2,50	0,562
	29,69	6,30	3,53	
	34,34	6,02		
	30,01	6,58		
	31,94	5,81		
	30,07	6,44		
	34,46	5,67		
	32,75	6,54		
	31,94	5,92		
	34,70			
	33,83			
	33,38			
Média	31,53	6,20	3,03	0,579
Desv.Padr.	2,34	0,30	0,51	0,012

(*) expresso em g.mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 1.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes S (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)															
	Amostra número															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
	50	59	52	59	57	59	56	52	58	56	58	56	56	57	57	45
	45	52	48	60	54	57	56	48	58	51	57	51	56	56	52	46
	48	58	53	58	58	57	56	51	52	52	56	53	58	53	59	40
	52	52	55	61	54	55	55	53	54	52	56	57	54	54	56	43
	54	63	54	57	58	52	55	54	52	56	54	55	56	52	64	33
Média	49,8	56,8	52,4	59,0	56,2	56,0	55,6	51,6	54,8	53,4	56,2	54,4	56,0	54,4	57,6	41,4
Desv.Padr.	3,5	4,8	2,7	1,6	2,0	2,6	0,5	2,3	3,0	2,4	1,5	2,4	1,4	2,1	4,4	5,2

Apêndice 2 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S1.

Tabela 2.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme S1.

	PS (N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	48,86	4,41	2,88	0,574
	47,80	4,69	3,32	0,588
	45,11	4,69	3,30	0,596
	51,57	4,27	3,65	
	49,52	4,69	2,66	
	44,70	5,32		
	46,38	4,41		
	52,24	5,04		
	50,58	4,69		
	43,76	5,25		
	50,18	5,04		
	50,61	5,04		
	47,05			
	50,92			
	50,18			
Média	48,63	4,80	3,16	0,586
Desv.Padr.	2,67	0,34	0,39	0,011

(*) expresso em g.mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 2.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes S1 (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA																		
	Amostra número																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
	51	43	53	51	50	47	51	54	52	51	54	52	54	53	52	54	54	55	52
	46	49	49	51	52	50	52	53	51	49	54	48	53	51	55	55	55	55	50
	50	49	54	51	52	49	52	52	53	63	52	50	51	51	52	53	55	53	50
	52	52	51	49	51	51	51	49	51	49	53	50	49	51	49	57	52	51	52
	48	48	51	51	52	51	50	51	54	53	53	54	51	51	50	51	54	52	54
Média	49,4	48,2	51,6	50,6	51,4	49,6	51,2	51,8	52,2	53,0	53,2	50,8	51,6	51,4	51,6	54,0	54,0	53,2	51,6
Desv.Padr.	2,4	3,3	1,9	0,9	0,9	1,7	0,8	1,9	1,3	5,8	0,8	2,3	1,9	0,9	2,3	2,2	1,2	1,8	1,7

Apêndice 3 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S2.

Tabela 3.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme S2.

	PS (N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	54,85	5,04	2,60	0,514
	50,47	4,69	3,09	0,518
	54,47	5,18	3,08	0,525
	52,99	5,46	2,99	0,517
	52,82	5,46	2,79	
	49,46	4,69	3,01	
	50,23	5,18	3,48	
	51,50	5,32	2,18	
	48,23	4,62		
	53,97	5,53		
	50,77	5,46		
	57,03	4,62		
	52,87	4,69		
	53,50	4,97		
	52,82			
	53,82			
Média	52,49	5,07	2,90	0,519
Desv.Pad.	2,25	0,35	0,39	0,005

(*) expresso em g.mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 3.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes S2 (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)																	
	Amostra número																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
	65	62	60	61	61	63	59	61	61	64	62	70	61	59	58	59	60	58
	65	62	60	58	60	58	65	55	53	59	58	55	61	60	55	63	55	62
	66	56	56	59	58	55	59	60	59	60	65	57	58	55	60	51	54	65
	60	61	63	60	62	65	58	58	60	65	54	61	56	60	57	61	59	60
	62	57	56	62	58	61	55	66	66	66	60	60	53	55	62	52	61	63
Média	63,6	59,6	59,0	60,0	59,8	60,4	59,2	60,0	59,8	62,8	59,8	60,6	57,8	57,8	58,4	57,2	57,8	61,6
Desv.Padr.	2,5	2,9	3,0	1,6	1,8	4,0	3,6	4,1	4,7	3,1	4,1	5,8	3,4	2,6	2,7	5,4	3,1	2,7

Apêndice 4 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW.

Tabela 4.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme SW.

	PS (N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	32,08	3,57	2,83	0,846
	32,50	3,50	3,34	0,902
	32,27	3,50	3,77	0,831
	27,65	3,15	2,88	0,915
	27,28	3,43	3,60	
	25,97	3,85		
	27,97	3,50		
	25,78	4,06		
	27,47	4,20		
	26,35	3,57		
	27,76	3,50		
	29,17	3,92		
	27,06	3,99		
	31,10	3,85		
		4,06		
Média	28,60	3,71	3,28	0,874
Desv.Padr.	2,40	0,30	0,42	0,041

(*) expresso em g.mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 4.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes SW (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)														
	Amostra número														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	63	61	59	58	62	59	63	65	63	38	45	60	59	55	55
	49	57	55	61	61	65	57	64	70	45	56	66	50	61	63
	57	66	63	54	56	54	61	62	62	48	38	62	57	60	54
	65	56	56	57	64	57	61	62	60	35	50	59	57	55	57
	50	65	66	52	55	52	66	60	58	34	39	56	63	52	47
Média	56,8	61,0	59,8	56,4	59,6	57,4	61,6	62,6	62,6	40,0	45,6	60,6	57,2	56,6	55,2
Desv.Padr.	7,3	4,5	4,7	3,5	3,9	5,0	3,3	1,9	4,6	6,2	7,6	3,7	4,7	3,8	5,8

Apêndice 5 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW1.

Tabela 5.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme SW1.

	PS (N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	37,56	3,43	2,62	0,544
	30,17	3,64	3,03	0,574
	31,01	3,50	3,09	0,647
	37,77	3,71	2,39	0,587
	31,77	3,99	2,33	
	31,58	4,62	2,62	
	31,16	4,69	2,65	
	31,66	4,34		
	32,41	4,41		
		4,76		
		4,27		
Média	32,79	4,12	2,68	0,588
Desv.Padr.	2,83	0,49	0,29	0,043

(*) expresso em g.mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 5.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes SW1 (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)														
	Amostra número														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	61	55	55	38	51	56	58	18	54	62	27	65	67	65	67
	62	57	57	38	53	55	56	18	60	58	35	63	63	66	67
	59	63	55	36	54	51	55	17	61	64	31	64	62	66	67
	62	53	55	42	56	52	54	28	54	60	33	68	60	66	66
	59	56	56	41	51	55	53	26	60	65	29	70	60	66	61
Média	60,6	56,8	55,6	39	53	53,8	55,2	21,4	57,8	61,8	31	66	62,4	65,8	65,6
Desv.Padr.	1,5	3,8	0,9	2,4	2,1	2,2	1,9	5,2	3,5	2,9	3,2	2,9	2,9	0,4	2,6

Apêndice 6 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW2.

Tabela 6.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme SW2.

	PS (N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	38,01	4,34	3,20	0,557
	39,89	4,27	2,81	0,571
	39,76	4,20	3,24	0,571
	35,54	4,48	3,40	
	36,50	4,20	3,52	
	37,14	4,41		
	34,68	4,90		
	36,14	4,48		
	38,99	4,20		
	39,19	4,55		
	35,43	4,20		
	36,72	4,28		
	37,85			
	38,91			
	38,48			
	38,35			
	37,95			
	35,12			
Média	37,48	4,38	3,23	0,566
Desv.Padr.	1,64	0,21	0,27	0,008

(*) expresso em g.mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 6.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes SW2 (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)																	
	Amostra número																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
	56	47	58	59	54	48	60	57	56	58	50	57	60	60	60	58	59	62
	56	46	60	56	58	50	62	57	62	56	51	58	57	59	60	53	53	58
	55	49	58	58	55	48	63	60	62	51	51	60	58	61	57	54	54	66
	57	48	53	58	58	50	55	55	56	61	51	56	60	58	57	58	60	59
	54	46	57	55	59	50	58	57	58	57	49	57	58	62	56	59	59	63
Média	55,6	47,2	57,2	57,2	56,8	49,2	59,6	57,2	58,8	56,6	50,4	57,6	58,6	60,0	58,0	56,4	57,0	61,6
Desv.Padr.	1,1	1,3	2,6	1,6	2,2	1,1	3,2	1,8	3,0	3,6	0,9	1,5	1,3	1,6	1,9	2,7	3,2	3,2

Apêndice 7 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S irradiado.

Tabela 7.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme S irradiado.

	PS (N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	44,02	6,44	2,52	0,511
	43,07	6,02	3,33	0,548
	39,47	6,02	2,33	0,556
	43,96	6,23	2,39	0,504
	40,39	6,16	2,15	
	39,70	6,65	3,11	
	41,23	6,02		
	40,06	6,58		
	43,40	6,58		
	47,33	6,58		
	45,01	6,30		
	45,78	6,09		
	47,31			
	45,50			
Média	43,30	6,31	2,64	0,530
Desv.Padr.	2,75	0,25	0,47	0,026

(*) expresso em $g.mm/m^2.24h.mmHg$

Tabela 7.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes S irradiado (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)															
	Amostra número															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
	56	56	55	56	54	58	52	56	56	40	50	52	56	51	53	59
	50	58	54	53	62	60	50	56	50	22	50	54	53	50	47	59
	57	50	57	52	50	57	49	55	48	25	45	48	50	46	44	58
	57	58	53	52	56	55	53	50	55	37	49	52	53	54	56	57
	53	57	55	51	50	58	50	53	56	29	49	50	55	45	54	61
Média	**54,6**	**55,8**	**54,8**	**52,8**	**54,4**	**57,6**	**50,8**	**54,0**	**53,0**	**30,6**	**48,6**	**51,2**	**53,4**	**49,2**	**50,8**	**58,8**
Desv.Padr,	**3,0**	**3,3**	**1,5**	**1,9**	**5,0**	**1,8**	**1,6**	**2,5**	**3,7**	**7,7**	**2,1**	**2,3**	**2,3**	**3,7**	**5,1**	**1,5**

Apêndice 8 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S1 irradiado.

Tabela 8.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme S1 irradiado.

	PS(N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	49,35	5,53	2,46	0,564
	56,05	5,74	2,04	0,557
	51,22	5,74	2,10	0,587
	56,17	5,95	2,02	0,560
	54,88	6,09	1,57	
	49,62	6,23	2,01	
	53,50	6,02		
	52,02	6,16		
	55,40	6,65		
	50,68	6,65		
	52,04	6,44		
	49,42	6,44		
	48,44	6,58		
	54,68	6,51		
	53,38	6,16		
	52,72	6,51		
	49,54			
	50,41			
Média	52,20	6,21	2,03	0,567
Desv.Padr.	2,52	0,35	0,28	0,014

(*) expresso em g.mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 8.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes S1 irradiado (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)																	
	Amostra número																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
	44	50	56	55	52	51	48	54	55	52	57	50	16	63	52	51	52	51
	51	46	59	52	52	54	38	49	47	54	53	47	23	55	50	47	49	50
	51	48	54	52	52	49	47	51	56	56	56	47	18	58	46	48	55	56
	52	47	54	55	53	51	46	52	57	47	54	46	25	53	53	53	52	48
	55	49	49	55	47	44	52	45	56	47	60	51	16	58	55	55	54	47
Média	50,6	48	54,4	53,8	51,2	49,8	46,2	50,2	54,2	51,2	56	48,2	19,6	57,4	51,2	50,8	52,4	50,4
Desv.Padr.	4,0	1,6	3,6	1,6	2,4	3,7	5,1	3,4	4,1	4,1	2,7	2,2	4,2	3,8	3,4	3,3	2,3	3,5

Apêndice 9 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme S2 irradiado.

Tabela 9.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme S2 irradiado.

	PS (N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	60,59	5,53	3,14	0,568
	59,40	5,88	3,27	0,570
	54,24	6,23	2,15	0,562
	60,56	5,53	2,41	0,514
	60,81	6,23	2,76	
	63,58	6,02		
	57,57	5,39		
	55,78	5,74		
	58,56	5,74		
	57,23	5,74		
	62,66	6,02		
	64,22	5,81		
	54,91	5,95		
	59,03	6,09		
	55,92			
Média	59,00	5,85	2,75	0,554
Desv.Padr.	3,10	0,26	0,47	0,026

(*) expresso em g.mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 9.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes S2 irradiado (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)																	
	Amostra número																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
	65	62	60	61	61	63	59	61	61	64	62	70	61	59	58	59	60	58
	65	62	60	58	60	58	65	55	53	59	58	55	61	60	55	63	55	62
	66	56	56	59	58	55	59	60	59	60	65	57	58	55	60	51	54	65
	60	61	63	60	62	65	58	58	60	65	54	61	56	60	57	61	59	60
	62	57	56	62	58	61	55	66	66	66	60	60	53	55	62	52	61	63
Média	63,6	59,6	59,0	60,0	59,8	60,4	59,2	60,0	59,8	62,8	59,8	60,6	57,8	57,8	58,4	57,2	57,8	61,6
Desv.Padr.	2,5	2,9	3,0	1,6	1,8	4,0	3,6	4,1	4,7	3,1	4,1	5,8	3,4	2,6	2,7	5,4	3,1	2,7

Apêndice 10 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW irradiado.

Tabela 10.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme SW irradiado.

	PD (mm)	PS (N/mm)	Viscoelasticidade	WVP (*)
	5,46	36,06	0,569	2,11
	5,18	42,45	0,708	2,96
	4,97	39,34	0,541	2,89
	4,06	36,66	0,738	2,14
	5,04	40,51		3,09
	4,48	42,21		
	5,39	36,75		
	4,76	36,79		
	4,62	40,82		
	4,62	42,77		
	4,34	42,92		
	4,41	43,06		
	5,32	43,89		
	4,27			
Média	4,78	40,32	0,639	2,64
Desv.Padr.	0,45	2,87	0,098	0,47

(*) expresso em g mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 10.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes SW irradiado (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)														
	Amostra Número														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	60	56	61	60	54	62	61	62	56	62	60	61	58	62	58
	61	50	55	63	49	64	64	74	54	69	50	53	54	60	59
	55	49	55	61	50	53	66	71	59	56	56	56	47	59	52
	58	60	59	57	57	70	50	76	52	61	58	61	61	63	59
	56	60	58	54	57	52	57	58	59	64	62	62	56	63	56
Média	58,0	55,0	57,6	59,0	53,4	60,2	59,6	68,2	56,0	62,4	57,2	58,6	55,2	61,4	56,8
Desv.Padr.	2,5	5,3	2,6	3,5	3,8	7,6	6,3	7,8	3,1	4,7	4,6	3,9	5,3	1,8	2,9

Apêndice 11 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW1 irradiado.

Tabela 11.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme SW1 irradiado.

	PS (N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	46,37	4,20	3,23	0,564
	42,12	4,20	2,96	0,534
	43,47	4,27	3,12	0,551
	40,75	4,27	3,18	
	38,88	4,76	2,80	
	41,23	4,20	2,40	
	43,14	5,32		
	42,48	5,32		
	38,08	4,76		
	49,45	5,46		
	42,62	4,83		
	38,15	5,04		
	34,82	4,83		
	36,64	5,04		
	39,66	4,83		
	42,25			
	41,45			
Média	41,27	4,76	2,95	0,550
Desv.Padr.	3,52	0,44	0,31	0,015

(*) expresso em g.mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 11.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes SW1 irradiado (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)																	
	Amostra número																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
	60	54	51	50	57	57	57	52	57	53	61	61	29	54	58	56	64	52
	56	54	54	52	58	57	55	51	56	53	51	63	28	51	56	62	57	52
	56	55	56	51	60	58	52	52	50	54	53	62	27	50	60	57	51	49
	52	54	50	50	54	53	54	52	59	48	64	55	27	59	61	56	67	53
	50	52	52	54	58	54	51	50	53	51	61	56	19	52	51	56	59	52
Média	54,8	53,8	52,6	51,4	57,4	55,8	53,8	51,4	55	51,8	58	59,4	26	53,2	57,2	57,4	59,6	51,6
Desv.Padr.	3,9	1,1	2,4	1,7	2,2	2,2	2,4	0,9	3,5	2,4	5,7	3,6	4,0	3,6	4,0	2,6	6,2	1,5

Apêndice 12 – Medidas das propriedades mecânicas e de barreira do filme SW2 irradiado.

Tabela 12.1 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão da resistência à perfuração (PS), da deformação no ponto de perfuração (PD), da viscoelasticidade e da permeabilidade ao vapor de água (WVP) do filme SW2 irradiado.

	PS (N/mm)	PD (mm)	WVP (*)	VISCOELASTICIDADE
	46,11	4,62	2,94	0,531
	42,70	4,69	2,50	0,554
	42,08	5,04	2,56	0,557
	43,82	5,18	3,28	
	44,23	4,55	3,17	
	42,01	4,76	2,48	
	47,61	4,62		
	43,88	4,62		
	45,60	4,76		
	44,11	5,18		
	50,46	4,41		
	49,05	4,83		
	53,88	4,97		
	49,49	5,32		
		4,90		
Média	46,07	4,83	2,82	0,547
Desv.Padr.	3,55	0,26	0,36	0,014

(*) expresso em g.mm/m^2.24h.mmHg

Tabela 12.2 – Medidas individuais, médias e desvios-padrão das espessuras dos filmes SW2 irradiado (relativas às amostras usadas nas medições de PS e PD).

	ESPESSURA (micra)																
	Amostra número																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	67	63	48	64	63	33	68	66	41	70	70	83	68	66	63	67	63
	62	63	41	58	53	32	70	65	49	66	69	69	62	66	65	68	60
	57	58	40	64	61	29	71	59	46	71	79	69	67	64	56	62	59
	67	70	56	62	58	44	66	67	47	63	67	65	63	62	67	67	65
	62	58	50	71	69	35	74	63	40	70	73	71	71	65	62	58	64
Média	63	62,4	47	63,8	60,8	34,6	69,8	64	44,6	68	71,6	71,4	66,2	64,6	62,6	64,4	62,2
Desv.Padr.	4,2	4,9	6,6	4,7	5,9	5,7	3,0	3,2	3,9	3,4	4,7	6,8	3,7	1,7	4,2	4,3	2,6

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMAN, E. ***Biophysical Science,*** 1ed., Prentice-Hall, Inc., N.J., USA, 1962.

AOKI, H.; SHIRASE, Y.; KATO, J.; WATANABE, Y. Emulsion satilizing properties of soy protein isolates mixed with sodium caseinates. ***J. Food Sci.,*** v.49, p.212-216, 1984.

ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials, ***ASTM Book of Standards,*** E96-80, 1983.

AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslink and lipid content. ***J. Food Sci.,*** v.58, n.4, p.904-907, 1993.

AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M; SALTVEIT, M.E. Water Vapor Resistance of Red Delicious Apples and Celery Sticks with Edible Caseinate-Acetylated Monoglyceride Films. ***J. Food Sci.,*** v.62, n.2, p.351-354, 1997.

BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O.; SHAW, P.E.; BURNS, J.K. Effect of coating and prolonged storage conditions on fresh orange flavor volatiles, degrees Brix and ascorbic acid levels. ***J. Agric. Food Chem.,*** v.43, p.1321-1331, 1995.

BALDWIN, E.A; NISPEROS- CARRIEDO, M.O.; HAGENMAYER, R.D.; BAKER, R.A. Use of lipids in coatings for food products. ***Food Technology,*** v.51, n.6, p.56-60,61,64, 1997.

BANERJEE, R.; CHEN, H.; WU, J. Milk protein-based edible film mechanical strength changes due to ultrasound process. . ***J. Food Sci.,*** v.61, n.4, p.824-828, 1996.

BANKER, G.S.; Film Coating Theory and Practice. ***Journal of Pharmaceutical Sciences,*** . v.55, n.1, p.81-89, 1966.

BATES, R.P.; WU, L.C. Protein quality of soy protein-lipid films (yuba) and derived fractions. ***J. Food Sci.,*** v.40, p.425-426, 1975.

BORSA, J. Irradiation Facilities: Machine Source Options and Considerations. In: ***FOOD IRRADIATION PROCESS CONTROL SCHOOL,*** June,30-July,11, 1997, Montreal, Canadá.

BRANDENBURG, A.H.; WELLER, C.L.; TESTIN, R.F. Edible Films and Coatings from Soy Protein. ***J. Food Sci.,*** v.58, n.5, p.1086-1089, 1993.

BRAULT, D.; D'APRANO, G.; LACROIX, M. Formation of free-standing sterilized edible films from irradiated caseinates. ***J. Agric. Food Chem.,*** v.45, p.2964-2969, 1997.

BRUHN, C.M. Consumer attitudes and market response to irradiated food. ***Journal of Food Protection,*** v.58, february, 1995.

CHARLESBY, A. ***Atomic Radiation and Polymers***. Pergamon Press, 1ed., New York, N.Y., USA, 1960.

CLEGG, D.W.; COLLYER, A.A. ***Irradiation Effects on Polymers.*** Elsevier Applied Science, 1ed., New York, N.Y., USA, 1991.

DAVIES, J.A.; DELSIGNORE, M.E.; LIN, S.W. Protein damage and degradation by oxigen radicals, II Modification of amino acids. ***J. Biol. Chem.,*** v.262, p.9902-9907, 1987.

DIEHL, J.F. ***Safety of Irradiated Foods***, 1. ed. New York, N.Y.: Marcel Dekker Inc., 1990.

EGGUM, B.O. Effect of radiation treatment on protein quality and vitamin content of animal feeds. *In*: Decontamination of animal feeds by irradiation, ***Proceedings of a meeting held in Sofia***, Oct.1977. International Atomic Energy Agency, Vienna, 1979.

EMBANEWS, p.24-28, Janeiro, 1997.

FARRO, W. Sucata vira matéria-prima e gera lucro. ***Revista da Indústria***, ano 2, n.59, p.22-26, Setembro, 1997.

FENNEMA, O.R. ***Food Chemistry***. 2.ed. New York, N.Y.: Marcel Dekker Inc., 1985

FISHMAN, M.L. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. ***Food Technology,*** v.51, n.2, p.16, 1997.

FLINT, F.O.; JOHNSON, F.P. A study of film formation by soy protein isolate. ***J. Food Sci.,*** v.46, p.1351-1353, 1981.

FOX, P.F. Developments in dairy chemistry - 4. Functional milk proteins. Elsevier Applied Science, New York, 1989, *apud*: AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslink and lipid content. ***J. Food Sci.,*** v.58, n.4, p.904-907, 1993.

GAZETA MERCANTIL, p.A-9, 21 de fevereiro de 1998.

GAZETA MERCANTIL, p.A-6, 28 de novembro de 1997

GENNADIOS, A.; WELLER, C.L. Edible films and coatings from soymilk and soy protein. ***Cereal Foods World,*** v.36, n.12, 1004-1009, 1991.

GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; TESTIN, R.F. Temperature effect on oxygen permeability of edible protein-based films. ***J. Food Sci.,*** v.58, n.1, p.212-214/9, 1993.

GENNADIOS, A.; BRANDENBURG, A.H.; WELLER, C.L.; TESTIN, R.F. Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. ***J. Agric. Food Chem.,*** v.41, p.1835-1839, 1993.

GERRARD, J.A.; FAYLE, S.E.; WILSON, A.J.; NEWBERRY, M.P.; ROSS, M. KAVALE, S. Dough properties and crumb strength of white pan bread as affected by microbial transglutaminase. ***J. Food Sci.,*** v.63, n.3, p.472-475, 1998.

GHAOUTH, A.E.; ARUL, J.; PONNAMPALAM, R.; BOULET, M. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. ***J. Food Sci.,*** v.56, n.6, p.1618-1631, 1991.

GHORPADE, V.M.; GENNADIOS, A.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L. Soy protein isolate/poly(ethylene oxide) films. ***Cereal Chem.,*** v.72, n.6, p.559-563, 1995.

GLOBAL DESIGN NETWORK, Research International, DIL, 1997.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodoogy. ***J. Food Sci.,*** v.57, n.1, p.190-199, 1992.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L.Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. ***J. Food Sci.,*** v.58, n.1, p.206-211, 1993.

GONTARD, N.; MARCHESSEAU, S.; CUQ, J.L; GUILBERT, S.; Water vapor permeability of edible bilayer films of wheat gluten and lipids. ***Journal of Food Sci. Technol.,*** v.30, p.49-56, 1995.

GREENER, I.K.; FENNEMA, O. Barrier protperties and surface characteristics of edible, bilayer films. ***J. Food Sci.,*** v.54, n.6, p.1393-1399, 1989a.

GREENER, I.K.; FENNEMA, O. Evaluation of edible, bilayer films for use as moisture barriers for food. ***J. Food Sci.,*** v.54, n.6, p.1400-1406, 1989b.

HAYES, D.J.; MURANO, E.A; MURANO, P.S.; OLSON, D.G.; SAPP, S.G. ***Food irradiation: A sourcebook*** 1ed. E.A.Murano, 1995.

HWANG, D.C.; DAMODARAN, S. Metal-chelating properties and biodegradability of an ethylenediaminetetraacetic acid dianhydride modified soy protein hydrogel. ***J. Appl. Polym. Sci.,*** v.64, p.891-901, 1997.

IMESON, A.P.; LEDWARD, D.A.; MITCHELL, J.R. ***J. Sci. Food Agric.,*** v.28, p.661, 1977. *Apud*: SHIH, F.F. Edible films from rice protein concentrate and pullulan. ***Cereal Chem.,*** v.73, p. 406-409, 1996.

INFORMATIVO ABCQ (Associação Brasileira de Controle da Qualidade), Agosto, 1997.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY - IAEA. ***Advanced Radiation Chemistry Research: Current Status,*** Vienna, 1995 (TECDOC n. 834).

INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION (ICGFI). ***Training Manual on Operation of Food Irradiation Facilities***, Document n.14, Vienna, 1992.

JANE, J.L.; LIM, S.T.; PAETAU, I. Degradable plastics made from starch and protein. In: ***Biodegradable Polymers and Packaging,*** C.Ching, D.L. Kaplan, e E.Thomas (Ed), p.63-73, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA, USA, 1993.

J. OFF. REPUBL. FR., v.192, n.10111, 1986. *Apud:* CLEGG, D.W.; COLLYER, A.A. ***Irradiation Effects on Polymers.*** Elsevier Applied Science, 1ed., New York, N.Y., USA, 1991.

JO, K.H.; PARK, H.J.; JUNG, S.T.; RHIM, J.W.; WELLER, C.L. Water vapor permeability and mechanical properties of soy protein filmsas affected by plasticizer, solvent, pH and salt. ***Foods and Biotechnology,*** v.5, n.3, p.243-248, 1996.

KAMPER, S.L.; FENNEMA, O. Water vapor permeability of edible bilayer films. ***J. Food Sci.,*** v.49, p.1478-1481/85, 1984a.

KAMPER, S.L.; FENNEMA, O. Water vapor permeability of edible, fatty acid, bilayer films. ***J. Food Sci.,*** v.49, p.1482-1485, 1984b.

KAMPER, S.L.; FENNEMA, O. Use of an edible film to maintain water vapor gradients in foods. ***J. Food Sci.,*** v.50, p.382-384, 1985.

KAPLAN, D.L.; MAYER, J.M.; BALL, D.; McCASSIE, J.; ALLEN, A.L.; STENHOUSE, P. Fundamentals of biodegradable polymers. *In*: ***Biodegradable polymers and packaging***, ed. C.Ching, D.Kaplan and E. Thomas, p. 225-232. Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, P.A., USA, 1993.

KATZ, F. "Fresh" foods require technologically superior packaging. ***Food Technology***, v.52, n.10, p.92, 1998.

KESTER, J.J.; FENNEMA, O.R. Edible films and coatings: A review. ***Food Technology***, v.40, n.12, p.47-59, 1986.

KINSELLA. J. Functional properties of soy proteins. ***J. Am. Oil Chem. Soc.,*** v.56, p.242-258, 1979.

KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. ***Edible coatings and films to improve food quality,*** 1.ed. Lancaster, Pensylvania, USA, Technomic Pub. Co., Inc., 1994.

KROCHTA, J.M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. ***Food Technology***, v.51, n.2, p.60-74, 1997.

KUNTE, L.A.; GENNADIOS, A.; CUPPETT, S.L.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L. Cast films from soy protein isolates and fractions. ***Cereal Chem.,*** v.74, n.2, p.115-118, 1997.

LABUZA, T.P.; HYMAN, C.R. Moisture migration and control in multi-domain foods. ***Trends in Foos Sci. Technology,*** v.9, p.47-55, 1998.

LACROIX, M; JOBIN, M.; MEZGHENI, E.; SROUR, M.; BOILEAU, S. Polymerization of calcium caseinates solutions induced by gamma irradiation. ***Radiat. Phys. Chem.***, v.52, n.1-6, p.223-227, 1998.

LAGRANGE, V.; DALLAS, P. Produtos de soro dos EUA: Disponibilidade, recursos tecnológicos, aplicações. ***Engenharia de Alimentos,*** n.15, p.27-29, 1997.

LA TRIBUNE, Novembre, 1996.

LOAHARANU, P. Cost/benefit aspects of food irradiation. ***Food Technology***, p.104-108, January, 1994.

MARK, H.F.; BIKALES, W.M.; OVERBERGER, C.G.; MENGES, G. ***Encyclopedia of polymer science and engineering,*** v.7, 2.ed, John Wiley & Sons, Inc., USA, 1985.

MATÉ, J.I.; KROCHTA, J.M. Whey protein effect on the oxygen uptake of dry roasted peanuts. ***J. Food Sci.,*** v.61, n.6, p.1202-1206, 1996.

McHUGH, T.H.; AUJARD, J.F.; KROCHTA, J.M. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. ***J. Food Sci.,*** v.59, n.2, p.416-419/23, 1994.

McHUGH, T.H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROCHTA, J.M. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. ***J. Food Sci.,*** v.58, n.4, p.899-903, 1993.

McHUGH, T.H.; HUXSOLL, C.C.; KROCHTA, J.M. Permeability properties of fruit puree edible films. ***J. Food Sci.,*** v.61, n.1, p.88-91, 1996.

McHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M.. Milk protein-based edible films and coatings: ***Food Technology***, v.48, n.1, p.97-103, January, 1994a.

McHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Water vapor permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films. ***J. Am. Oil. Chem. Society,*** v.71, p.307-312, 1994b.

MEZGHENI, E.; D'APRANO, G.; LACROIX, M. Formation of sterilized edible films based on caseinates: Effects of calcium and plasticizers. ***J. Agric. Food Chem.,*** v.46, p.318-324, 1998.

MILLER, K.S.; KROCHTA, J.M. Oxigen and aroma barrier properties of edible films: A review. ***Trends in Food Science & Technology,*** v.8, p.228-237, 1997.

MURRY, D.G.; LUFT, L. Low D.E. corn starch hydrolysates. ***Food Technology,*** n.27, v.3, p.32-39, 1973.

NELSON, K. FENNEMA, O. Methylcellulose films to prevent lipid migration in confectionery products. ***J. Food. Sci.,*** v.56, n.2, 504-508, 1991.

NICHOLSON, J.W. ***The Chemistry of Polymers***, 1ed, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, USA, 1991.

NONAKA. M.; TANAKA,H.; OKIYAMA, A.; MOTOKI, M.; ANDO, H.; URNEDA, K.; MATSURA,A. Polymerization of several proteins by Ca^{2+}, independent transglutaminase derived from micro-organisms. ***Agric. Biol. Chem.***, v.53, p. 2619-2623, 1989.

O ESTADO DE SÃO PAULO, de 13 de fevereiro de 1998.

PARK, H.J.; WELLER, C.L.; VERGANO, P.J.; TESTIN, R.F. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. ***J. Food Sci.,*** v.58, n.6, p.1361-1364, 1993.

PARK, J.W.; TESTIN, R.F; VERGANO, P.J; PARK, H.J.; WELLER, C.L. Application of laminated ediblle films to potato chip packaging. ***J. Food Sci.,*** v.61, n.4, p.766-768/77, 1996.

PAULINKA, F. Quality consideration in the selection of confectionery fats. ***The Manufacturing Confectioner,*** p.75-81, maio, 1986.

PISKIN, E. Review: Biodegradable polymers as biomaterials. ***J. Biomater. Sci. Polymer Edn.,*** v.6, p. 775-995, 1994.

PELEG, M. Characterization of the stress relaxation curves of solid foods. ***J. Food Sci.,*** v.44, p.277, 1979.

PRÜTZ, W.A.; BUTLER, J.; LAND, E.J. Phenol coupling initiated by one-electron oxidation of tyrosine units in peptides and histone. ***J. Radiat. Biol.,*** V.44, P.183-196, 1983.

RABINOW, B.E.; DING, Y.S.; QIN, C.; McHALSKY, M.L.; SCHNEIDER, J.H.; ASHLINE, K.A.; SHELBOURN, T.L.; ALBRECHT, R.M. Biomaterials with permanent hydrophilic surfaces and low protein adsorption properties. ***J.Biomater. Sci. Polymer Edn.,*** v.6, n.1, p.91-109, 1994.

RANGAVAJHYALA, N.; GHORPADE, V.; HANNA, M. Solubility and molecular properties of heat-cured soy protein films. ***J. Agric. Food Chem.,*** v.45, p.4204-4208, 1997.

RESSOUANY, M.; VACHON, C.; LACROIX, M. Irradiation dose and calcium effect on the mechanical properties of cross-linked caseinate films. ***J. Agric. Food Chem.,*** v.46, p.1618-1623, 1998.

RHIM, J.W.; GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; CEZEIRAT, C.; HANNA, M.A. Soy protein isolate – dialdehyde starch. ***Industrial Crops and Products,*** v.8, p.195-203, 1998.

RHIM, J.W.; WU, Y.; WELLER, C.L.; SCHNEPF, M. Physical charactesistics of a composite film of soy protein isolate and propyleneglycol alginate. ***J. Food Sci.,*** v.64, n.1, p.149-152, 1999.

ROARK, R.J.; YOUNG, W.C. ***Formulas for Stress and Strain***, 5ed., McGraw-Hill, Ltd,. USA, 1975.

SEGURO, K.; KUMAZAWA, Y.; KURAISHI, C.; SAKAMOTO, H.; MOTOKI, M. The ε-(γ-Glutamyl)-Lysine moiety in crosslinked casein is an available source for lysine for rats. ***J. Nutrition,*** v.126, p.2557-2562, 1996.

SHAH, V. ***Handbook of Plastics Testing Technology,*** John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y., USA, 1984

SHELLHAMMER, T.H.; KROCHTA, J.M. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. ***J. Food Sci.,*** v.62, p.390-394, 1997.

SHIH, F.F. Interaction of soy isolate with polysaccharide and its effect on film properties. ***J. Agric. Food Chem.,*** v.71, n.11, p. 1281-1285, 1994.

SHIH, F.F. Edible films from rice protein concentrate and pullulan. ***Cereal Chem.***, v.73, p. 406-409, 1996.

SIAN, N.K.; ISHAK, S. Effect of pH on yield, chemical composition and boiling resistance of soybean protein-lipid film. ***Cereal Foods World,*** v.35, n.8, p.748-752, 1990.

SINGH, H. Modification of food proteins by covalent crosslinking. ***Trends Food Sci. Technol.,*** August, 1991.

SNYDER, H.E.; KWON, T.W. ***Soybeam Utilization,*** New York, N.Y., Van Nostrand Reinhold Co., Inc., USA, 1987.

STEVENS, M.P. ***Polymer Chemistry: An Introduction,*** 2ed., Oxford University Press, New York, 1990.

STUCHELL, Y.M.; KROCHTA, J.M. Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. ***J. Food Sci.,*** v.59, n.6, p. 1332-1337, 1994.

SWIFT, G. Directions for environmentally biodegradable polymer research. ***Acc. Chem. Res.,*** v.26, p.105-110, 1993.

THAKUR, B.R.; SINGH, R.K. Food irradiation chemistry and applications. ***Food Rev. Int.,*** v.10, p.437-473, 1994.

ULANSKI, P.; BOTHE, E.; ROSIAK, J.M.; VON SONTAG, C. OH-radical-induced cross-linking and strand breakege of poly(vinyl alcohol) in aqueous solution in the absence and presence of oxygen. A pulse radiolysis and product study. ***Macromol. Chem. Phys.*** v.195, p.1443-1461, 1994.

U.S. CODE OF FEDERAL REGULATIONS, ***CFR Title 21***, Part 179, Sub-part C 179.45, 1985

VACHON, C.; YU, H.L.; YEFSAH, R.; ALAIN, R.; ST-GELAIS, D.; LACROIX, M. 1999. Mechanical and structural properties of cross-linked milk protein edible films. ***J. Agric. Food Chem.*** (submetido para publicação).

VON SONTAG, C. ***The Chemical Basis of Radiation Biology,*** Taylor & Francis (Ed), London, 1987

VICENTINI, N.M.; CASTRO, T.M.R.; CEREDA, M.P. Influência de películas de fécula de mandioca na qualidade pós-colheita de frutos de pimentão. ***Ciênc. Tecnol. Aliment.,*** v.19, n.1, p.127-130, 1999.

WERE, L.; HETTIARACHCHY, N.S.; COLEMAN, M. Properties of cysteine-added soy protein-wheat gluten films. ***J. Food Sci.,*** v.64, n.3, p.514-518, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. High-dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10kGy. ***WHO TechnicalReport Series,*** v.890, Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Study Group, Geneva, Suiça, 1999.

WONG, Y.C.; HERALD, T.J.; HACHMEISTER, K.A. Evaluation of mechanical and barrier properties of protein coatings on shell eggs. ***Poultry Science,*** v.75, p.417-422, 1996.

WU, L.C.; BATES, R.P. Soy protein-lipid films. 1. Studies on the film formation phenomenon. ***J. Food Sci.,*** v.37, p.36-39, 1972.

WU, L.C.; BATES, R.P. Soy protein-lipid films. 2.Optimization of film formation. ***J. Food Sci.,*** v.37, p.40-44, 1972.

WU, L.C.; BATES, R.P. Influence of ingredients upon edible protein-lipid film characteristics. ***J. Food Sci.,*** v.38, p.783-787, 1973.

YILDIRIM, M.; HETTIARACHCHY, N.S. Biopolymers produced by cross-linking soybean 11S globulin with whey proteins using transglutaminase. ***J. Food Sci.,*** v.62, n.2, p. 270-275, 1997.

YILDIRIM, M.; HETTIARACHCHY, N.S; KALAPATHY, U. Properties of biopolymers from cross-linking whey protein isolate and soybean 11S globulin. ***J. Food Sci.,*** v.61, n.6, p. 1129-1131/64, 1996.

YOSHII, F.; MAKUUCHI, K.; DARWIS, D.; IRIAWAN, T.; RAZZAK, M.T.; ROSIAK, J.M. Heat resistance poly(vinyl alcohol) hydrogel. ***Radiat. Phys. Chem.,*** v.46, n.2, p.169-174, 1995.

Anexo 1 - Definições de termos relativos a propriedades mecânicas

Tração ("Stress"):	A força aplicada para produzir deformação em uma área unitária de uma amostra de teste. A força é uma proporção da carga aplicada ao corte transversal da área original (SHAH, 1984)
Deformação ("Strain"):	A razão do alongamento do comprimento de uma amostra com a mudança de comprimento por unidade do comprimento original ($l/\Delta l$). Ë uma relação sem unidade (SHAH, 1984). Mudança na forma ou dimensão de um corpo produzido pela força/tração (ROARK E YOUNG, 1975).
Alongamento ("Elongation"):	O aumento do comprimento da amostra roduzido por uma carga tensora (SHAH, 1984).
("Yield Point")	O primeiro ponto na curva de tração-deformação onde o aumento da deformação ocorre sem o aumento da tensão (SHAH, 1984).
Tensão de Escoamento ("Yield Strength")	A força na qual um material exibe um desvio da proporcionalidade da tensão em relação à deformação. A menos que especificado, esta força será a mesma que a do "Yield Point".
Módulo de Elasticidade:	A razão da tração à correspondente deformação abaixo do limite proporcional de um material. É também conhecido por módulo de Young. Um módulo é a medida da rigidez do material (SHAH, 1984).
Limite proporcional:	A maior tração na qual um material é capaz de sustentar uma carga aplicada sem qualquer desvio de proporcionalidade da tração para a deformação. (Lei de Hooke) (SHAH, 1984).

Anexo 2 – Doses de irradiação e finalidades por classe de alimentos.

	ALIMENTO	FINALIDADE	DOSE (kGy)
Doses	Batatas, Cebolas, Alho...	Inibição do brotamento	0,05 - 0,15
baixas	Certas frutas e vegetais	Retardo do amadurecimento	0,25 - 1
(até 1 kGy)	Grãos, frutas frescas e secas	Desinfestação ou esterilização sexual de insetos	0,2 - 0,7
	Carne	Destruição de parasitas (trichinae, tenia)	0,3 - 0,5
Doses	Certas frutas e vegetais, pão.em fatias	Redução de populações de bactérias, fungos e leveduras	1 - 3
médias	Carne, aves, ovos, ovo em pó, pernas de rãs, frutos do mar	Controle de microorganismos patogênicos	3 - 10
(1 a 10 kGy)			
	Especiarias, vegetais desidratados e outros ingredientes alimentícios	Redução da população de microorganismos	3 - 10
Doses altas	Carne, aves	Destruição de microorganismos e patógenos (esterilidade comercial)	25 - 45
(acima de 10 kGy)	Refeições hospitalares (completas ou seus constituintes)	Destruição de microorganismos e patógenos (esterilidade comercial)	25 - 45

(*Fonte*: DIEHL, 1990)